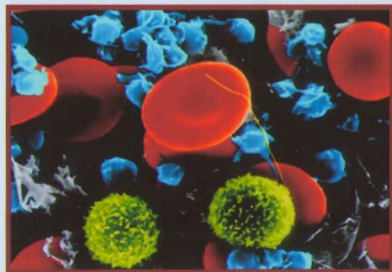


Ikrom Cho'liyev
Iroda Sattorova

**ICHKI MUHIT
FIZIOLOGIYASIDAN LABORATORIYA
MASHG'ULOTLARI**



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

**QARSHI DAVLAT UNIVERSITETI
BIOTEXNOLOGIYA KAFEDRASI**

**Ikrom Cho'liyev,
Iroda Sattorova**

ICHKI MUHIT FIZIOLOGIYASI

dan laboratoriya mashg'ulotlari

**5A140101 - biologiya mutaxassisligi
magistrantlari uchun**

O'QUV-USLUBIY QO'LLANMA

Qarshi - 2017

Ushbu o'quv-uslubiy qo'llanmada ichki muhit suyuqligi bo'lmish, qonning olish texnikasi, fizik-kimyoviy xossalari, qon guruhlari, rezus omili va qon guruhlarini aniqlash bo'yicha laboratoriya mashg'ulotlari keltirilgan. Ushbu laboratoriya mashg'ulotlaridan magistrantlar va biologiya yo'nalishida ta'lim olayotgan bakalavriat talabalari hamda tibbiyot kollejlari talabalari, shuningdek, barcha qiziquvchilar foydalanishlari mumkin.

Mas'ul muharrir:

O.R.Karimov Qarshi davlat universiteti anatomiya va fiziologiya kafedrasini mudiri, biologiya fanlari nomzodi, dotsent.

Taqrizchilar:

Sh.Q.Qurbonov Qarshi davlat universiteti anatomiya va fiziologiyasi kafedrasini professori, biologiya fanlari doktori, O'zR "Turon" FA akademigi

R.Tog'ayev Qashqadaryo viloyat ko'p sohali bolalar shifoxonasi oliy toifali vrachi

Ushbu o'quv-uslubiy qo'llanma Qarshi davlat universiteti Ilmiy kengashning 2016-yil 23-iyun 11-sonli yig'ilish qaroriga asosan nashrga tavsiya etilgan.

KIRISH

Respublikamiz mustaqillikka erishgach, barcha jabhalarda bo'lgani kabi, ta'lim tizimida ham katta islohotlar amalga oshirildi. Jumladan, "Ta'lim to'g'risidagi qonun" hamda "Kadrlar tayyorlash milliy dasturi" qabul qilindi. Shunga muvofiq, ta'lim jarayoni sifatini yaxshilash maqsadida zamon talablariga javob beradigan o'quv adabiyotlari (darslik, o'quv qo'llanmalar hamda o'quv-uslubiy qo'llanmalar) ni yaratish va yangilab borish bugungi kundagi kechiktirib bo'lmaz vazifalardan biridir.

Organizmدا sodir bo'ladigan fiziologik jarayonlarni tushinishda faqat ma'ruza darslarning o'zi kamlik qilishi barchamizga ma'lum. Shu sababli, nazariy bilimlarni amalda qo'llay olish maqsadida tajriba, kuzatish va amaliy hamda laboratoriya mashg'ulotlari olib boriladi.

Iski muhit fiziologiyasi kursi magistraturaning biologiya mutaxassisligi talabalari uchun mo'ljallangan bo'lib, ushbu fandan namunaviy o'quv dasturiga mos keluvchi laboratoriyadan o'quv qo'llanmalar deyarli yo'q va borlari ham ancha oldingi yillarda chop etilgan. O'quv-uslubiy qo'llanmaga kiritilgan laboratoriya ishlari namunaviy o'quv dasturiga kiritilgan mavzular yuzasidan yoritildi. Har bir laboratoriya ishi, nazariy tushuncha, kerakli asbob va reaktivlar, ishni bajarish tartibi hamda nazorat uchun savollardan tarkib topgan.

O'quv-uslubiy qo'llanmada keltirilgan laboratoriya ishlari uchun oldingi yillarda chop qilingan materiallar asos qilib olindi, hamda yuqorida aytib o'tganimizdek, biologiya mutaxassisligi magistrantlari uchun "Ichki muhit fiziologiyasi" fanining namunaviy va ishchi o'quv dasturlariga moslashtirildi.

1-LABORATORIYA ISHI

«Ichki muhit fiziologiyasi» fanini o'rganish usullari, laboratoriyada qo'llaniladigan asbob-uskunalar

Organizmning ichki muhit atamasi fransuz fiziologi Klod Bernar tomonidan taklif etilgan. Organizm ichki muhitiga organizmdagi barcha suyuqliklarning - qon, limfa, to'qima (interstial, hujayra tashqarisidagi), bosh va orqa miyalar, bo'g'inlar, plevra va boshqa suyuqliklarning umumiy yig'indisi kiradi. Bu suyuqliklar qon hujayralari va to'qimalarning hujayralaridagi strukturalarni yuvadi, shuning bilan organizmdagi almashinish reaksiyalarini amalga oshishida bevosita ishtirok qiladi.

“Ichki muhit fiziologiyasi” fanining o'rganish obyekti bo'lib, ichki muhit suyuqliklarini tashkil qiluvchi, asosan qon, limfa, to'qimalararo suyuqliklar va boshqa maxsus suyuqliklar hisoblanadi. Ichki muhit fiziologiyasi fanida ushbu suyuqliklarning tarkibi, ularning organizmda harakatlanishi, hosil bo'lishi hamda funksiyasi turli xil metodlar yordamida o'rganiladi. Bu borada bir qancha tadqiqotlar olib boriladi.

Fiziologik laboratoriyalarda qonning morfologik va biokimyoviy tarkibini o'rganishga, shuningdek, serologik va bakteriologik tekshirish usullariga alohida ahamiyat beriladi. Morfologik metod yordamida, qonning asosiy shaklli elementlarining miqdor va sifat tarkibi, ularning tuzilishi va nisbatlariga doir tushunchaga ega bo'lish mumkin. Biokimyoviy usullar qon plazmasi tarkibini: azot, oqsil, lipid, mineral almashinuvi mahsulotlarining miqdorini, fermentlar, vitaminlar, gormonlar va boshqa moddalar miqdorini, shuningdek, qonning fizik-kimyoviy xossalarini (yopishqoqligi, ivish vaqti, rezistenligi, shaklli elementlari, ROE-eritrotsitlarning cho'kish reaksiyasi va boshqalar) aniqlash va o'rganish imkonini beradi. Bakteriologik tekshiruvlar yordamida qonda infeksiyon kasalliklarning qo'zg'atuvchilari topiladi. Serologik usullar kasallikni aniqlashga yordam beradi va muayyan odam qoni tarkibining antigenligi to'g'risida xulosa chiqarish imkonini beradi.

Ko'rsatib o'tilgan usullarning hammasi ichki organlar va sistemalarning turli kasalliklarini aniqlash uchun katta diagnostik

ahamiyatga ega. Tashqi muhitning juda ko'p omillari: tevarakatdagi havo temperaturasi, atmosfera bosimining oshishi va pasayishi, turli xil toksinlar, kimyoviy agentlar, nur energiyasi, infeksiyalar va shu kabilar qon sistemasida bir talay fiziologik va patologik o'zgarishlar keltirib chiqarishi mumkin. Qon va ko'mik tarkibini o'rganish asosida qon yaratish organlaridagi o'zgarishlarinigina emas, balki boshqa organlar, sistemalar va to'qimalardagi o'zgarishlar va kasalliklarni ham aniqlashga imkon tug'iladi, bu esa turli tadqiqotlar olib borish yoki bemorni davolashda yordam beradi.

Gemoglobin miqdorini aniqlash, qonning shaklli elementlari: eritrotsitlar, leykotsitlar, trombotsitlar, retikulotsitlarni sanash, rang ko'rsatkichini hisoblash, ROE ni aniqlash, leykotsitar formulani hisoblash qonning klinik analizi tushunchasiga kiradi.

Yuqorida sanab o'tilgan biologik ichki suyuqliklarni o'rganish biokimyo, fiziologiya va tibbiyot laboratoriyalarida olib boriladi. Bu tajribalar albatta, turli xildagi katta va kichik asbob-uskunalaridan hamda kompyuter texnologiyasidan foydalanilgan holda olib boriladi. Bu asbob-uskunalar shu yo'nalishdagi laboratoriya ishlarini olib borishga mo'ljallangan.

Ichki muhit suyuqliklarini o'rganish bilan bog'liq ko'pgina biologik tadqiqotlarda tibbiyotning zamonaviy diagnostik tahlil tekshirish usullaridan keng foydalaniladi. Shunga ko'ra, organizmga aniq tashxis qo'yiladi va u davolanadi yoki boshqa tadqiqotlar olib boriladi. Keyingi yillarda elektron qurilmalarning rivojlanishi natijasida juda murakkab bo'lgan tekshirishlarni ham aniqlik bilan olib borish imkonini bermoqda. Hozirgi zamonaviy biofizika va meditsinada tekshirishlarning ko'pgina usullari joriy etilmoqda. Shulardan ayri-ayrilariga to'xtalib o'tamiz.

Spektrofotometriya - bioobyektlardan o'tgan nurni bir qismining yutilishini o'lchashga asoslangan. Bu metod bilan biomolekulalarning konsentratsiyasini o'lchash mumkin.

Elektrokardiografiya - yurak faoliyatini aks ettiruvchi biopotensiallarni yozishdir.

Fluorensiya usuli - molekulani ma'lum bir to'liq uzunlikdagi nur bilan ta'sir ettirganimizda, molekula qo'zg'aladi va o'zidan boshqa to'liq uzunlikdagi nurni chiqazadi, bu nurni fluometr

asbobi bilan o'lchash mumkin. Bu usulda maxsus kimyoviy moddalar zontlar ishlatiladi. Zontlar o'rganilayotgan molekula bilan birikkanida yuqoridagi nurlantirish oqibatida o'zidan nur chiqaradi.

Sali usuli - qondagi gemoglobin miqdorini aniqlash mumkin.

Panchetkov usuli - eritrotsitlarning cho'kish tezligini aniqlash mumkin.

Mikroskopiya - ko'zga ko'rinmaydigan mayda hujayra qismlarini kattalashtirib (bir necha yuz yoki ming marotaba) o'rganishga asoslangan. Mikroskopning tibbiy va biologik tadqiqotlardagi ahamiyati nihoyatda katta. Totali optikaga asoslangan asboblari organizmning ichki bo'shliqlarini ko'rishga imkon bermoqda.

Fizika va kimyo fanlarida qo'lga kiritilgan yutuqlar natijasida bir qancha diagnostikada va biologik tadqiqotlarda foydalanish mumkin bo'lgan metodlar ishlab chiqildi. Bu metodlar: rentgen va nishonlangan atomlar. Bularidan tashqari pH - metr, elektron mikroskopiya va potensimetriya va boshqa metodlardan biofizikaviy tadqiqotlarda foydalaniladi.

Laboratoriyada qo'llaniladigan asbob-uskunalar. Fiziologiya laboratoriyasida juda ko'p turdagi jihozlar (Sali gemometri, mikroskoplar, fotoelektrokolorimetrlar, Panchenkov asbobi, skarifikator, pinset, probirkalar, sentrifuga, Gorayev hisoblash kamerasi, fluorimetr va boshqalar) dan hamda turli xildagi moddalar va preparatlardan foydalaniladi. Ya'ni, bular yurak qorinchasiga ilgak bilan tutashtirilgan oddiy richaglardan tortib, o'lchash va qayd qilishni bajara oladigan elektron apparatlargacha bo'lgan sistemalarni o'z ichiga oladi. Bunday laboratoriya jihozlarning ko'pchiligi fizik asboblardir. Shuningdek, biologik tekshirishlarda ba'zan turli xildagi preparatlar ishlatiladi, bu preparatlarning tarkibi, va pH to'g'ri tanlash katta ilmiy ahamiyatga ega.

Nazorat uchun savollar

1. Ichki muhit suyuqliklariga nimalar kiradi?
2. Qonning klinik analizi deganda nimani tushunasiz?
3. Qon laboratoriyada necha xil usulda tekshiriladi?
4. Gemoglobinni aniqlashning necha xil usuli mavjud?

2-LABORATORIYA ISHI

Odam barmog'idan va laboratoriya hayvonlaridan (it, quyon, kalamush va sichqon) qon olish texnologiyasi

1-topshiriq. Quyon qulog'idan qon olish (xronik-surun-kali tajriba). Bir qator masalalarni yechish uchun eksperimentda hayvonlardan muntazam ravishda qon olish lozimdir, masalan, emlangan quyonlardan immunli zardobni olish. Shu maqsad uchun quyon qulog'ining chekka venasidan qon olinadi. Quyon qulog'i-ning chekka venasidan qon olish usuli murakkab emas.

Kerakli jihozlar va reaktivlar: pinset, lezviya, stakancha yoki probirkalar, paxta, quyon mahkamlanadigan stanok, pinset, qisqich, qaychilar, shisha ilmoqlar, shprits, polietilen naychasi, stakancha yoki probirkalar, 2% li novokain eritmasi, iplar, bintlar, quyon.

Tajriba o'tkazish tartibi. Qon olish intakt (sog'lom) hayvonda narkozsiz (uxlatmasdan) olib boriladi. Quyon oldindan to'yg'aziladi (suv bilan).

Pinset bilan quyon qulog'ining chekkasidan junlar yulib olinadi. Terisi orqali chekka vena yaxshi ko'rinib turadi. Lezviya bilan vena ustidan uzunasiga kesiladi, qon idishga yig'iladi. Kerakli qonning miqdori olinganidan so'ng (bir olishda 70-80 ml gacha) kesilgan joy paxta bilan qisiladi.

2-topshiriq. Quyonning uvqu arteriyasidan qon olish (o'tkir tajriba). Bir qator fiziologik, biokimyoviy, immunologik va boshqa ishlarni bajarishda hayvonlardan ko'p miqdorda qon olish lozim bo'ladi. Quyonda bu bevosita (to'g'ridan-to'g'ri) uyqu arteriyasidan olish bilan o'tkaziladi.

Tajriba o'tkazish tartibi. Quyon qorin tomonini yuqoriga qilib, qo'l va oyoqlaridan bog'lanadi (mahkamlanadi). Bo'yin sohasidagi teri ostiga 2 ml 2% li novokain eritmasi yuboriladi. Bo'yindagi junlar qiriladi. Novakain yuborilganidan 5 minut o'tgach, bo'yining o'rta chizig'i bo'ylab uzunasiga kesiladi. Terilar 2 tomonga ochilib, bo'yin mushaklari orasiga 2 ml 2% li novakain eritmasi yuboriladi. Undan tashqari, mushaklar novakain

eritmasi bilan ho‘llanadi. Ular chekkaga kesib suriladi, kerak bo‘lsa, olib tashlanadi. Traxeya va vena orasida yotgan uyqu arteriyasi uzunligi 2-4 sm qilib atrofdan ajratilib, boshga yaqin joydan bog‘lanadi, yurakka yaqin joydan bog‘lanadi, yurakka yaqin joydan esa bog‘lam o‘tkazilib, qisqich quyiladi. Bog‘langan joy bilan qo‘yilgan qisqich orasidagi arteriya devori yarmigacha burchak ostida kesiladi va unga burchak ostida polietilen trubkachasi kiritilib, bog‘lam bilan mahkamlanadi. Trubkaching bo‘sh tomoni bilan probirkaga ergashtirilib, qisqich olinadi va bir necha sentrifuga probirkalari to‘lg‘aziladi. Qon yo‘qotishda kuyonda qaltirash, sapchishlar paydo bo‘lishi mumkin, shuning uchun u qo‘l bilan ushlab turiladi. Sut emizuvchilarda qon tana vaznining 1/13 qismini tashkil etadi, shuning uchun 2 kg vaznli quyonda 150 ml gacha qon bo‘ladi, lekin amalda 100 ml gacha qon olish mumkin.

3-topshiriq. Itdan qon olish. Ba’zi bir tajribalar uchun ko‘p miqdordagi qon talab qilinadi. Bunday vaqtlarda odatda yirikroq hayvonlardan, jumladan, itlardan foydalaniladi.

Ish anjomlari va reaktivlar: qaychi, pinset, ip, shprits, kanyula, skarifikator, paxta, spirt, efir, yod.

Ishni bajarish tartibi. Buning uchun itni maxsus stolga orqasi bilan yotqizilib, oyoqlari bog‘lanadi. Orqa oyog‘ining vena tomiri joylashgan yerini jundan tozalab, yod bilan artiladi va oyoqning tana tomonini siqib vena tomiridagi qon harakati to‘xtatiladi. Bu vaqtda qon vena tomiriga yig‘ilib, tomir shishadi, keyin shu vena tomiriga shprits ninasini kirgizib qon olinadi. Ba’zan ko‘p miqdorda qon arteriya qon tomirlaridan ham olinadi. Arteriyadan qon olish uchun terini kesib, arteriya tashqariga chiqariladi va tagidan ikkita ip o‘tkaziladi, bunda ipning bittasi bilan artemyaning periferik qismi bog‘lanadi. Ikkinchi ipdan 2-3 sm yuqoriroqda arteriyaga qisqich qo‘yib, uning devori kesiladi va shu kesilgan joyga shisha kanyula tiqib, u arteriya devori bilan qo‘shib bog‘lanadi. Keyin qisqichni bo‘shatib, kanyuladan oqib chiqayotgan qon probirkaga yig‘ib olinadi.

4-topshiriq. Odamdan qon olish. Analiz uchun qon olishda hamma e’tirof qilgan ayrim qoidalarga rioya qilish zarur. Bular quyidagilar: qon hamisha bir xil sharoitda, ertalab uyqudan turgan hamono nahorda olinadi, chunki ovqat yeyish va bunga bog‘liq

bo'lgan hazm protsesslari, mushak harakatlari, emotsional zo'riqish, temperatura reaksiyalari, ochlik hissi va boshqalar sutka mobaynida qon tarkibida turli morfologik va biokimyoviy o'zgarishlar keltirib chiqarishi mumkin.

Klinik amaliyotda va bir qator masalalarni yechishda odamdan muntazam qon olish lozim bo'ladi. Shu maqsad uchun qon ko'l barmog'idan olinadi.

Kerakli jihozlar va reaktivlar: skarifikator, paxta, spirt, efir, yod.

Tajriba o'tkazish tartibi. Qon odam chap qo'lining IV barmog'i oxirgi bo'g'imi yumshoq uchini teshib olinadi. Terisi dag'al yoki qattiq bo'lib qolgan, shuningdek barmoqlari shishgan kishilardan qon quloq yumshog'idan, yangi tug'ilgan chaqaloqlarda esa oyog'ining bosh barmog'idan yoki tovonidan (ko'p qon olish kerak bo'lganda) olinadi. Qo'l sovuq bo'lsa, barmoqni iliq (45°C 450S dagi) suvga bir necha minutgacha solib turish lozim.

Qon beruvchi stolga nisbatan yoni bilan o'tirib, kaftini yuqoriga qaratgan holda qo'lini stolga qo'yadi. IV barmoqning oxirgi panjasi (falanga) ning terisi spirt, keyin esa efir bilan yaxshilab artiladi. Sanchishdan oldin teri quruq holda bo'lishi kerak. Oxirgi panjaning uchi yon tomonlaridan siqiladi va sterilangan skarifikatorning bexosdantez harakati orqali teri teshiladi. Teshikning chuqurligi shunday bo'lishi kerakki (kamida 2 mm, lekin 3-5 mm dan oshib ketmasin), natijada oxirgi panja uchining yonlaridan barmoqni siqmasidan qonning o'z holicha chiqishi ta'minlanishi lozim. Qonning birinchi tomchisi artib tashlanadi, keyingisi analiz uchun ishlatiladi. Tomchi teri bo'ylab oqmasligi kerak.

Qon olib bo'lgandan keyin barmoqqa yod surtiladi va yumaloqlangan paxta bo'lakchasini teshilgan barmoq bilan kaftga bosib turiladi.

Qonni fibrinsizlantirish usuli. Qon ishlatish vaqtida ivib qolmasligi uchun fibrinsizlantiriladi. Buning uchun yuqoridagi usullar bilan olingan qon stakanga solinadi. So'ngra u 20-30 minut davomida cho'p bilan aralashtiriladi. Bu vaqtda qonda hosil bo'lgan fibrin cho'pga yopishib, qon fibrinsizlanadi. Fibrinsizlangan qon stakanda biroz turgandan keyin 2 qismga bo'linadi – ustki qismida qon zardobi va ostki qismida shaklli elementlari bo'ladi.

Nazorat uchun savollar

1. Tekshirish uchun qon qanday olinadi?
2. Quyvon qulog'idan qon olish tartibi qanday, tushuntirib bering?
3. Tekshiriluvchidan olingan qondan nimalarni aniqlash mumkin?
4. Tekshirish uchun qon olishda qanday jihozlardan foydalaniladi?

3-LABORATORIYA ISHI

Qon plazmasi va zardobini olish. qon zardobining bufer xususiyatlarini kuzatish

1A-topshiriq. Qon plazmasini olish. Klinika va tadqiqotda bir qator tekshirishlar qon plazmasi bilan o'tkaziladi. Masalan, qon ivish sistemasidagi plazma rekalsifikatsiyasi vaqtini aniqlash, plazmaning gepariga bo'lgan tolerantligi va boshqa testlari plazmada o'rganiladi.

Kerakli jihozlar va reaktivlar: shisha stakanча, probirkalar, probirkalarni muvozanatlovchi tarozi, sentrifuga, penitsillin flakonlari, steklograf (shishaga yozuvchi qalam), sof qon, limon kislotasi natriyli tuzining 3,8% li eritmasi.

Tajriba o'tkazish tartibi. Quyvonning qoni 3,8% li limon kislotasining natriyli tuzi eritmasi quyilgan shisha stakanchaga yig'iladi (konservant, qon nisbati - 1:9). Qon sentrifuga probirkalariga quyilib, muvozanatga keltiriladi, 20 minut davomida minutiga 1500 marta aylanadigan tezlikda sentrifugalanadi. Cho'kma usti suyugligi (plazma) penitsillin flakonlariga solinib, keyingi tekshirishlar uchun ishlatiladi.

1B-topshiriq. Qon zardobini olish. Qon zardobi ko'plab fiziologik, biokimyoviy, immunologik va boshqa tekshirishlarni bajarishda, masalan, qon gruppasini aniqlash, immunoglobulinlarni olish uchun va h.k. da zarurdir.

Kerakli jihozlar va reaktivlar: probirkalar, Paster pipetkalari, probirkalarni muvozanatlovchi tarozi, sentrifuga penitsillin

flakonlari, steklograf (shishaga yozuvchi qalam), sof qon.

Tajriba o'tkazish tartibi. Quyoning qoni va bir necha sentrifuga probirkalariga yig'iladi va Paster pipetkasi probirka devoriga yopishgan qavatini ajratish uchun devor bo'ylab "aylantiriladi". Bu ish vaqti-vaqti bilan qayta takrorlanadi. Probirkalar 4 °C haroratga ega bo'lgan xolodelnik (sovutgich) ka 60 daqiqa joylashtiriladi. Probirkalarni muvozanatga keltirib, 20 minut davomida minutiga 1000 marta aylanadigan tezlikda sentrifugalanadi. Qon zardobi penitsillin idishlarga solib olinadi.

2-topshiriq. Qon zardobining bufer xususiyatlarini kuzatish. Yuqori tabaqali hayvonlar, xususan, odam qoni o'zining faol reaksiyasining nisbatan doimiyligi bilan ajralib turadi. Qonning pH kattaligi 7,36 ga teng bo'lib, 7,3-7,4 chegarasidan chiqmaydi, ya'ni kuchsiz ishqoriydir. Metabolizm natijasida kislotali va ishqoriy moddalar uzluksiz qonga tushib turishiga qaramasdan, qonning pH-domiyligi saqlab turiladi. Ayniqsa, to'qimalarda kislotali moddalar ko'p hosil bo'ladi (ko'mir, sut kislotalar va h.k.). ma'lumki, zardob reaksiyasini ishqoriy qilish uchun, unga distillangan suvga nisbatan bir necha o'n marotaba (40-70) o'yuvchi natriyni ko'p qo'shishga to'g'ri keladi. Reaksiyani kislotali qilish uchun esa, zardobga bir necha yuz marotaba (300-400) distillangan suvga qaraganda xlorid kislotasini ko'p qo'shish kerak. Van-Slayk bo'yicha qon bufer sig'imining aniq o'lchami sifatida 10 ml qonning pH ni bitta birlikda o'zgartirish uchun qo'shish kerak bo'lgan kuchli ishqor kislotaning gramm ekvivalent miqdori hisoblanadi. Qonning pH doimiyligi butun bir qator regulyator mexanizmlar va birinchi navbatda, qonning bufer sistemalari evaziga ta'minlanadi.

Kerakli jihozlar va reaktivlar: 2 ta byuretka, 5 ml li 2 ta pipetka, 4 ta stakanchalar, 0,01 M o'yuvchi kaliy eritmasi, distillangan suv, indikatorlar: metiloranj va fenolftalein; 10 marta suyultirilgan qon zardobi.

Tajriba o'tkazish tartibi. 2 ta toza stakan olinib, ularning biriga 5 ml qon zardobi, 2-siga 5ml suv quyiladi, stakanlarga 1 tomchi metiloranj tomizilib, sanagan holda 0,1 N vodorod xlorid kislota eritmasi bilan chayqasa, yo'qolmaydigan qizil rang hosil bo'lguncha titrlanadi va tomchilar soni aniqlanadi. Titrlash bufer xususiyatlari bo'lmagan suvdan boshlanib, kontrol uchun ishlatiladi.

Odatda titrlash hisobi sodda bo'lishi uchun tirlangan eritmaning millilitrlarida emas, balki tomchilarida olib boriladi. Ikkita stakan-cha olinib, ularning biriga 5 ml zardob 2-siga esa 5 ml suv quyiladi. Har bir stakanchaga 1 tomchidan fenolftalein tomizilib, tomchilar sanalgan holda 1 minut davomida yo'qolmaydigan och binafsha rang hosil bo'lguncha 0,01 N o'yuvchi kaliy eritmasi bilan titrlanadi (rangni yana ham aniqroq taqqoslash uchun ikkala stakanchalarni oq qog'ozga qator holda qo'yib olish kerak).

Nazorat uchun savollar

1. Qon necha qismdan iborat?
2. Qonning bufer xususiyatlarini tushuntirib bering.
3. Qon plazmasi va zardobi qanday tadqiqotlar uchun ishlatiladi?

4-LABORATORIYA ISHI

Qonning shaklli elementlarini o'rganish. Mazoklar tayyorlash va ularni bo'yash

Qon suyuq to'qima bo'lib, yurak va qon tomirlaridan tashkil topgan yopiq sistema ichida tinimsiz harakatlanadi. Qon limfa va to'qima suyuqligi bilan birgalikda organizmning ichki muhitini tashkil qiladi. Qon gavda vaznining 7-8% ni tashkil etadi.

Odam va issiq qonli hayvonlar qoni tarkibiy jihatidan 2 qismga - qon plazmasiga va qon shaklli elementlariga bo'linadi. Umumiy qon miqdorining 55-60% qon plazmasi, qolgan 40-45% esa qon shaklli elementlari (eritrotsit, trombosit va leykotsit), ya'ni qon hujayralarini tashkil qiladi.

Qon shaklli elementlarining shakli, katta-kichikligi va nisbatini o'rganish, shuningdek, ularning tuzilish xususiyatlarini aniqlash uchun qon surtmalari tayyorlanadi. Qonni umumiy obzor qilish uchun ba'zan nativ (tabiiy) preparatlardan foydalaniladi.

Kerakli jihozlar va reaktivlar: preparovka asboblari jamlanmasi, mikroskop, yumaloq teshigi bo'lgan probkali plastinka, Ringer eritmasi, xloroform, efir, spirt, yod, probirkalar, shprints, skarifikator, sentrifuga, oq kalamush, quyon.

1-topshiriq. Qondan surtma tayyorlash. Dastlab osma tomchi deb ataladigan tomchi tayyorlanadi. Pardoziangan o'ymachasi bor buyum oynasini qon tomchisi fiziologik eritma tomchisi bilan aralashtirilgan qoplag'ich oyna ustiga quyiladi va uni tezlik bilan ag'darib, mikroskopning kichik va katta obyektivlarida tekshiriladi. Qon tomchisi yoyilib ketmasligi uchun buyum oynasi o'yiqchasining chetlariga yupqa qilib vazelin surtib qo'yiladi. Osmat omchilarda qonning o'zgargan shakllarini, eritrotsitlar razmerini va tanga stunlarning hosil bo'lishini ko'rish mumkin.

Qon surtmalari yog'sizlantirilgan toza buyum oynalarida tayyorlanadi. Hamma yangi oynalar, shuningdek, ilgari ishlatilgan oynalar sovunli issiq eritmalarda yuviladi yoki qaynatiladi va distillangan suvda chayiladi. Toza oynalar, ularni yog'sizlantirish uchun efir bilan spirt aralashmasi quyib (Nikiforovning 1:1 aralashmasi) tiqini zich berkitilgan shishalarda saqlanadi. Kerak bo'lganda oynalarni pinset bilan olinadi, quritiladi va surp yoki trikotaj latta bilan artiladi.

Qon surtmasi tayyorlash uchun burchaklarini qirqib pardoziangan buyum oynasi yoki pardoziangan qoplag'ich oynadan foydalaniladi. Toza, quruq, yog'sizlantirilgan buyum oynasini chiqayotgan qon tomchisiga uni surkatmasdan qo'yiladi. Oynani tezda aylantirib, tomchisini yuqoriga qilib stolga qo'yiladi yoki chap qo'lning bosh barmog'i bilan bir tomonidan, o'rta va ko'rsatkich barmoq bilan ikkinchi tomonidan ushlab turiladi. Tomchidan chap tomonga pardoziangan oynani 450 burchak ostida qirrasi zich qilib qo'yiladi va uni tomchiga tutashtiriladi. tomchi qirra bo'ylab batamom yoyilguncha bir necha sekund kutib turiladi. Shundan so'ng bir tekis harakat bilan oyna bo'ylab tomchidan qarama-qarshi tomonga juda qattiq bosib yubormasdan yo'l qilinadi. Surtma juda ham yupqa va yarim tiniq bo'lmasligi kerak, u kichkina supurgi ko'rinishida notekis egri-bugriliklar bilan tugashi kerak. Qalin surtmalar tekshirish uchun yaramaydi, chunki shaklli elementlar ularda bir necha qavat bo'lib joylashadi, natijada ularni ko'zdan kechirish qiyinlashadi. Tayyorlangan surtmalar havoda quritiladi. Quruq surtmadagi preparatning o'rtasiga uchi ingichka, oddiy qalam, oynaning uchi yoki igna bilan bemorning ismi, familiyasi yozib qo'yiladi. Tayyorlangan surtmalar fiksatsiya qilinadi.

Surtmalarni fiksatsiya qilish. Surtmalarni fiksatsiya qilish uchun quyidagi fiksatsiyalovchi suyuqliklar qo'llaniladi: metil spirti, Nikiforov aralashmasi, etil spirti, xloroform va 1% li formalin eritmasi. Fiksatsiya qilishdan maqsad surtmalardagi shaklli elementlarning yemirilishdan saqlash va ularni oynada mustahkamlashdir. Metil spirtida 3 minut, spirt bilan efir aralashmasida (Nikiforov aralashmasi 1:1) 15 minut mobaynida fiksatsiya qilinadi; bunda efirni bug'lanib ketishdan saqlash uchun fiksatsiya o'tkazilayotgan idish yopiq bo'lishi kerak.

96⁰ li etil spirtida 20 minut, xloroformda bir necha sekund, formalinning 1% li spirtidagi eritmasida 1 minut fiksatsiya qilinadi. Fiksatsiya qilingan preparatlar fiksatsiyalovchi aralashmalardan pinset bilan olinadi va quritish maqsadida buyum oynalari uchun ishlatiladigan maxsus shtativlarga joylashtiriladi. Quritilgan preparatlarni bo'yash uchun shisha tayoqchalardan maxsus tayyorlangan stellajlarga joylashtiriladi.

Surtmalarni bo'yash. Rezina naychalar bilan tutashtirilgan ikkita shisha tayoqchani shisha katalizator ustiga yoki kyuveta yoki likopchali fotografiya vannachasi ustiga ko'prikcha ko'rinishida qo'yiladi. Fiksatsiya qilingan quruq preparatlarni surtmali tomonini yuqoriga qilib, tayyorlab qo'yilgan ko'prikchaga bir-biridan yaqin masofaga gorizontal holatda qo'yiladi. Surtmalar metilen ko'ki bilan Romanovskiy-Gimza, May-Gryunvald, Pappengeym-Kryukov, Noxt, Freyfeld usullari va boshqa usullarda bo'yaladi.

1. Myetilyen ko'ki bilan bo'yash. Metilen ko'kingin suvdagi 1% li eritmasi bilan 30 soniya mobaynida bo'yaladi. Bunday usulda bo'yash polixromatifikasiya va bezgak plazmodiylari borligini aniqlash maqsadida qilinadi.

2. Romanovskiy – Gimza usulida bo'yash. Bu juda keng tarqalgan usuldir. Bo'yoq tarkibida eozin va metilen ko'ki bor. Bo'yoqni flakonlarda tayyor holda chiqariladi. Ishlatishdan oldin bo'yoqning har bir yangi partiyasi avtiviligini tekshirish lozim. Buning uchun 1 ml neytral distillangan suv olinadi va uni avval bir, keyin ikki, uch va ko'proq tomchi bo'yoq bilan aralashtiriladi. Aralashma surtmalarga qo'yiladi. 25-40 daqiqadan so'ng surtmalar neytral distillangan suv bilan yuviladi, quritiladi va qanday konsentratsiyada eng yaxshi bo'yalganini mikroskop ostida qaraladi. Bo'yoqli aralashmaning eng yaxshi nisbatini aniqlagach, flakonga

tegishli belgi qo'yiladi. 1 ml bo'yoq 20 tomchidan oshmasligini bilgan holda uning kerakli konsentratsiyasini oldindan tayyorlab qo'yish mumkin. Romanovskiy-Gimza usulida bo'yash protoplazma va qon hujayralarining tuzilishini aniqlashga erishiladi, bu esa ularni differentsiatsiya qilishda juda zarurdir.

3. *May – Gryunvald usulida bo'yash.* Surtmalarni oldindan fiksatsiya qilmasdan amalga oshiriladi. Bo'yoq tarkibida metil spirtida eritilgan eozin va metilen ko'ki bor. Ba'zan bo'yoq tabletkalarda chiqariladi. Bo'yashni boshlashdan oldin bitta shunday tabletkani bu o'rinda fiksator hisoblangan 10 ml metil spirtida eritiladi. Tayyorlangan surtmaga 2 ml bo'yoqni 2 daqiqaga qo'yiladi, keyin bo'yoqni 2 ml suv bilan aralashtirib, yana 15 daqiqa kutiladi. Bo'yashning bu usulida eritrotsitlar yaxshi bo'yaladi, ayni vaqtda leykotsitlar esa sust bo'yaladi.

4. *Pappyen gveym – Kryukov usulida bo'yash.* Surtmalarni bu usulda bo'yashda ko'rsatilgan nuqson bartaraf etiladi. Ikkita bo'yoq: Romanovskiy-Gimza bo'yog'i yoki azur-eozin va May-Gryunvald bo'yog'i ishlatiladi. Fiksatsiya qilinmagan quruq surtmalarga avval 2 ml dan May-Gryunvald bo'yog'idan 2-3 daqiqaga quyiladi. Shundan so'ng 2 ml dan distillangan neytral suvni 2 daqiqaga qo'shiladi va surtmadan bo'yoqni to'kib, yana Romanovskiy-Gimza bo'yog'ining ortiqchasini yoki yangi tayyorlangan azur-eozin aralashmasini 20 daqiqaga quyiladi. Shundan so'ng bo'yoqni distillangan suvda yuvib tashlanadi va surtmalarni ochiq havoda quritiladi.

2-topshiriq. Baqa va odam qonining bo'yalgan preparatini mikroskop ostida ko'rish. Baqa bilan odam qonidagi eritrotsitlarni bir-biriga taqqoslash va odam qonidagi leykotsitlarni ko'rishdan iborat.

Eritrotsitlarning asosiy vazifasi kislorodni hamda karbonat anhidridni tashib berishdan iborat. Kislorod va karbonat anhidrid eritrotsitlardagi gemoglobin yordamida yetkazib beriladi. Hayvonot olami takomillashgan sari ularning evolyutsiyasi jarayonida kislorodga bo'lgan ehtiyoji tobora ortib borishi natijasida eritrotsitlarning shakli, tuzilishi va miqdori ham o'zgarib boradi. Baqa eritrotsitlari yirik, yapaloq, ellips shaklida bo'lib, yadro o'zagi bor. Odam eritrotsitlari esa yadrosiz, ikki qayta bukilgan disk shaklida

bo'lib, markazi atrofidagi uchastkalar kabi yuzaga yaqindir. Bunday tuzilish kislorod bilan yaxshi to'yinishga yordam beradi. Ularning yadrosi yo'qolib, o'rniga gemogloblin miqdori ko'paygan bo'ladi. Odam eritrotsitlari juda mayda bo'lib, diametri 7,2-7,7 mm dan oshmaydi, ularning miqdori ko'pligi sababli umumiy nafas olish sathini juda kengaytiradi.

Kerakli jihozlar va reaktivlar: mikroskop, odam va baqa-ning bo'yalgan qoni.

Ishni bajarish tartibi. Buning uchun mikroskopni eng yirik ko'rsatadigan darajada moslab, odam va baqaning bo'yalgan qon preparati ko'riladi. Eritrotsitlarning shakli, yirik-maydaligiga va yadrosi bo-yoqligiga e'tibor berib, ko'rgan rasmni daftarga chizib olish kerak.

3-topshiriq. Qonning shaklli elementlarini ajratib olish.

Dastlab sentrifuga probirkasiga geparin yoki natriy sitrat eritmasidan ozroq miqdorda (3:1 nisbatda) solib, ustiga qon quyiladi. Qon turli xil hayvonlar yoki odamdan olinishi mumkin. Misol tariqasida quyvon qulog'idan qon olish texnikasini ko'rib o'tamiz. Quyovni harakatlanmasligi uchun mahkam ushlab, qulog'idagi junlari tozalanadi. Shundan so'ng, ehtiyotlik bilan quyvon qulog'ining uch qismi qaychi yordamida ozgina kesiladi, dastlab chiqqan qon spirtga namlangan bint yordamida artib olinib, so'ng oqib chiqayotgan qon birdaniga probirkaga tushirib olinadi. Oqib tushayotgan qon geparin bilan yaxshi aralashishi uchun probirkani sekinlik bilan harakatlantirib turish lozim. Tajriba uchun yetarli bo'lishi uchun kamida 5 ml atrofida qon olish yetarli bo'ladi. Keyin qonli probirkani sentrifuganing rotoriga joylashtiriladi va 5 daqiqa davomida 1500 aylanish tezligida aylantiriladi. Qonning shaklli elementlari probirka ostiga cho'kadi. Qon plazmasi quyib olinadi. Tayyor qon plazmasi turli tajribalar uchun foydalanilishi mumkin.

Nazorat uchun savollar

1. Qonning shaklli elementlariga nimalar kiradi?
2. Qon shaklli elementlarining vazifalarini aytibbering.
3. Qonning shaklli elementlari bir-biridan qanday farq qiladi?
4. Odam va baqa qonidagi eritrotsitlar bir-biridan qanday farq qiladi?
5. Nima maqsadda odam va hayvonlar qonidan surtmalar tayyorlanadi va bo'yaladi?

5-LABORATORIYA ISHI

Qonni fizik-kimyoviy tekshirish usullari: qonning rang ko'rsatkichi, eritrotsitlarning cho'kish tezligi va qonning yopishqoqligini aniqlash

Tibbiyotda qonni normal fiziologik holatini aniqlashda fizik-kimyoviy tekshirish usullaridan keng miqyosda foydalaniladi. Bu insonlar organizmida mavjud kasalliklarga to'g'ri tashxis qo'yishda katta ilmiy ahamiyatga egadir.

Bizga ma'lumki, qon suyuq plazma va undagi muallaq shaklli elementlardan tashkil topgan. Qonning bu ikki qismi orasida ma'lum nisbat saqlanadi. Qon hajmining 54-60% plazma, 40-46% i shaklli elementlarga to'g'ri keladi. Suvning yopishqoqligi birga teng deb olinsa, plazmaniki 1,7-2,2 ga, butun qonniki esa taxminan 5,0 ga teng bo'ladi. Qonning solishtirma og'irligi juda kam o'zgaradi. Qonniki 1,060-1,064, plazmaniki esa 1,025-1,034 atrofida tebranib turadi.

1-topshiriq. Qonning rang ko'rsatkichini hisoblash. Qonning nafas funksiyasiga baho berish uchun faqat eritrotsitlar soni va gemogloblin miqdorini aniqlash yetarli bo'lmasdan, balki har bir eritrotsitdagi gemogloblinning o'rtacha miqdorini ham bilish zarur.

Qondagi gemogloblin miqdori bilan eritrotsitlar soni o'rtasidagi nisbat rang ko'rsatkichi deb ataladi. Rang ko'rsatkichi eritrotsitlarning gemogloblin bilan to'yinish darajasini baholashga imkon beradi. Normada 1 mkl qonda $166 \cdot 10^{-9}$ g gemogloblin bo'lib, shunga ko'ra, 1 ta eritrotsitdagi gemogloblinning miqdori $\frac{166 \cdot 10^{-9}}{5,0 \cdot 10^6} = 33 \cdot 10^{-12}$ g yoki 33 pg (pikogramma) ga teng. 33 pg kattalik, ya'ni eritrotsitdagi gemogloblinning normadagi miqdorini bitta (birlik) deb qabul qilinadi va rang ko'rsatkichi deb ifodalanadi.

Amalda rang ko'rsatkichi (RK) g/l larda ifodalangan gemogloblin konsentratsiyasini 1 mkl qondagi eritrotsitlar miqdorining dastlabki 3 ta raqamiga bo'lib, olingan qiymatni 3 ga ko'paytirish bilan hisoblab chiqiladi:

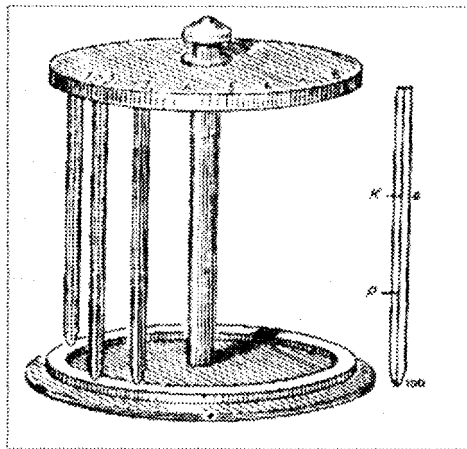
$$RK = \frac{\text{gemoglobin, g / l}}{\text{1mkl dagi eritrositlar soni}} \cdot 3$$

(dastlabki 3 ta raqam)

Patologik holatlarda RK birdan katta yoki kichik bo'lishi mumkin (giperxromaziya yoki gipoxromaziya). Patologik holatlarda RK ni hisoblash katta amaliy ahamiyatga ega. Normada RK 0,8-1,0 ga teng.

2-topshiriq. Eritritsitlarning cho'kish tezligini Pachekov usuli bo'yicha aniqlash. Qon harakatlanayotgan paytida barqaror suspenziya (biror moddaning boshqa suyuq modda ichida mayda zarra yoki tomchi holida suzib yuradigan eritmasi) holida bo'ladi. U shisha idishga joylashtirilganda, eritrotsitlar o'z og'irlik kuchi bilan cho'kadi. Eritrotsitlarning cho'kish tezligi organizmning holatiga bog'liq. Ba'zi bir fiziologik holatlarda (masalan, homiladorlik) va bir qator boshqa kasalliklarda (sil, revmatizm va boshqalarda) eritrotsitlarning cho'kish tezligi juda tezlashgan bo'ladi.

Eritrotsitlarning cho'kish tezligini aniqlash uchun Pachekov qurilmasi (1-rasm) qo'llaniladi. Kapillyarlar millimetrlarga bo'lingan bo'lib, 0 belgisi oxiridan 100 mm masofada turadi. Kapillyarda yana ikkita belgi bor: K (qon) nul darajasida va P belgisi (reaktiv) – 50 mm uzoqlikda.



1-rasm. Pachekov qurilmasi

Kerakli jihozlar va reaktivlar: Pachenkov qurilmasi, soat oynasi, sterillangan skarifikator, paxta, 5% li limon kislotasining natriyli tuzi eritmasi, spirt, efir, yod. Ishni odamda olib borish mumkin.

Tajriba o'tkazish tartibi. Kapillyar 5% li limon kislotasi-ning natriyli tuzi eritmasida yuvilib, 50 ml sathida P belgisigacha olinadi va soat oynasiga puflab to'kiladi. Keyin o'sha kapillyarga odam barmog'idan K belgisigacha ikki marta qon olinadi.

Shuni hisobga olish kerakki, qonning yaxshi olinishi uchun barmoqning sanchilish chuqurligi yetarli bo'lishi shart. Kapillyarlarni gorizontal holda ushlagancha, uning uning oxiri barmoqdagi tomchi qonga botirilib turiladi. Bunda kapillyarni qon o'zi to'lg'azadi. Qonning ikkala porsiyasi soat oynasiga to'kilib, undagi limon kislotasining natriyli tuzi eritmasi bilan ralashtiriladi. Shunday qilib, soat oynasidagi 4:1 nisbatdagi qon va limon kislotasining natriyli tuzi aralashmasi kapillyarning 0 belgisigacha olinadi va kapillyar shtativga vertikal holda qo'yiladi. Bir soatdan keyin kapillyar ustunining yuqori qismida hosil bo'lgan plazmaning millimetrlardagi balandligi aniqlanadi. Bu balandlik kattaligi eritrotsitlar cho'kish tezligining o'lchami bo'ladi. Eritrotsitlarning cho'kish tezligi soatiga 4 dan 10 mm gacha bo'lganda, tezlik o'lchami me'yorda, 10 mm dan 15 mm/soat da esa tezlik biroz ortgan deb baholanadi. Shuningdek, 15-30 mm o'rtacha tezlashish, 30 mm va undan yuqorisi o'ta tezlashish hisoblanadi.

3-topshiriq. Qonning yopishqoqligini aniqlash. Qonning yopishqoqligi eritrotsitlar miqdori va hajmiga (kamqonlikda kamayadi), gemogloblin miqdoriga, qonda ko'mir kislotasi, xalus-oqsillar, tuzlar va boshqalarning bo'lishiga bog'liqdir.

Yopishqoqlikni aniqlash suyuqliklarning bir xil kapillyarda, bir xil harorat va bosimda harakatlanish tezligi faqat ularning ichki ishqalanish (sirpanishga), ya'ni yopishqoqligiga asoslangandir. Qonning yopishqoqligi bitta birlik deb qabul qilingan distillangan suv yopishqoqligiga nisbatan aniqlanadi.

Qonning yopishqoqligi "0" dan "10" gacha bo'lingan ikkita bir xil shisha kapillyardan iborat bo'lgan viskozimetr yordamida aniqlanadi. Kapillyar shtativga mahkamlangan va shisha uchlik (troynik) orqali uzun rezina naylar bilan tutashtirilgan. Chap

kapillyar qon uchun mo'ljallangan, o'nggi esa, suv uchun va u to'g'ri yo'lli jo'mrak bilan ta'minlangan.

Ishdan oldin kapillyarlar suv, ammiak eritmasi va spirt bilan yaxshilab yuvilgan va quritilgan bo'lishi kerak.

Kerakli jihozlar va reaktivlar. viskozimetr, sterillangan skarifikator, paxta, ammiak eritmasi, spirt, yod, distillangan suv. Tekshirish uchun qon odamdan olinadi.

Tajriba o'tkazish tartibi. Kapillyar jo'mragi ochilsin (ya'ni u kapillyarga parallel holatda o'rnatilsin). Kapillyarning suvga mo'ljallangan oxiri distillangan suvga tushirilsin va og'iz bilan ehtiyotkorona tortilganicha, rezina nay mundshugi orqali aniq "0" raqamiga qadar suv olinsin. Jo'mrak yopilsin. Barmoqning yumshoq to'qimalariga qonning oson chiqishi uchun chuqurroq qilib sinchilsin. Boshqa kapillyarga tezda "0" raqamiga qadar qon olinsin. Qon ivib qolishdan saqlash uchun suyuqlik ustunlarida havo bo'lmasligi kuzatilsin. Qon "0" raqamiga qadar olingach, viskozimetr stolga qo'yilsin. O'ng kapillyar jo'mragi ochilsin va kapillyarda vakuum hosil qilish uchun nay mundshugi orqali ehtiyotlik bilan havo tortilsin. Qon "1" belgisi darajasiga qadar olib borilgach, tortilish to'xtatilsin. Suvning qaysi bo'linishida qaysi bo'linishida to'xtatilganligi belgilansin. Ikkala suyuqliklarning bir vaqt, bir sharoitda bosib o'tgan masofalari ularning yopishqoqligiga teskari proporsionaldir. O'z navbatida qonning yopishqoqligi suv bosib o'tgan masofa kattaligining qon bosib o'tgan masofa kattaligiga bo'lgan nisbatiga teng. Agar qonning yopishqoqligi normadan ancha baland bo'lsa, qon "1/2" yoki "3/4" belgisigacha olinishi kerak, keyin esa tegishli hisob o'tkazilsin.

Nazorat uchun savollar

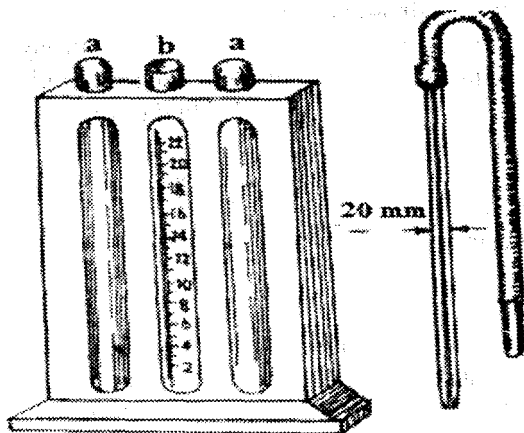
1. Qonning cho'kish tezligi deb nimaga aytiladi?
2. Eritrotsitlarning cho'kish tezligini o'rganish qanday ahamiyaga ega?
3. Qonning rang ko'rsatkichi deganda nimani tushunasiz?
4. Qonning rang ko'rsatkichi nima maqsadda aniqlanadi?

6-LABORATORIYA ISHI

Gemoglobin miqdorini aniqlash: gematin (sali) usuli va fotometriya usuli

1-topshiriq. Qondagi gemoglobin miqdorini Sali usuli bo'yicha aniqlash. Gemoglobin eritrotsitlarning asosiy tarkibiy qismi bo'ladi. Bu oqsil – globin va pigment – gemdan tuzilgan murakkab xromoproteid bo'lib, qonning rangi unga bog'liq. Gemning tarkibiga uni kislorod bilan birikma hosil qilish qobiliyatini beruvchi bir atom temir kiradi. Qonda gemoglobin miqdori sog'lom ayollarda 120-140 g/l, erkaklarda esa, 130-160 g/l ni tashkil qiladi.

Qonda gemoglobin miqdori kalorimetrik usullar bilan aniqlanadi, ulardan biri (Salining gematin usuli) gemoglobin vodorod xlorid kislotasi bilan jigarrang turg'un eritmaning hosil bo'lishiga asoslangan.



2-rasm. Sali gemometri va kapillyar

Sali gemometri shtativ bo'lib (2-rasm), uning orqa devor-chasi oq, jilosiz, xira shishadan iborat. Shtativga bir xil diametrdagi 3 ta probirka qo'yilgan. 2ta chekka probirkalar (a) payvandlangan bo'lib, o'zida xlorid gematinning standart eritmasini tutadi; o'rtan-chasi (b) darajalarga bo'lingan. U tadqiqot (solishtirish) uchun

mo'ljallangan. Asbobga 20 mm^3 belgisi bilan pipetka va shisha tayoqcha ilova qilinadi. Xlorid gematinning standart eritmasi 167 g/l gemoglabinga to'g'ri keladi.

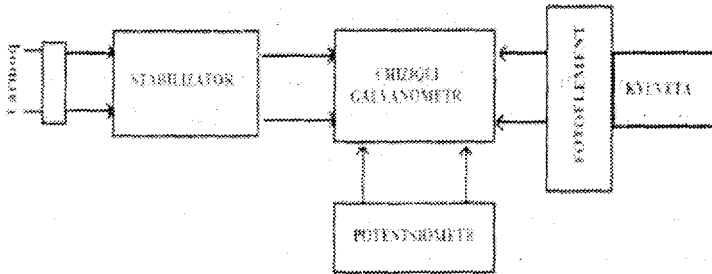
Kerakli jihozlar va reaktivlar: Sali gemometri, pipetka, skarifikator, paxta, $0,1 \text{ N}$ vodorod xlorid kislotasi eritmasi, spirt, efir, yod, distillangan suv. Ish odamda olib boriladi.

Tajriba o'tkazish tartibi. O'rancha probirkaning belgisi-gacha $0,1 \text{ N}$ vodorod xlorid kislotasi quyiladi. Pipetka bilan barmoqdan 20 mm^3 qon olinib, u paxtada artilib, o'sha zahotiyoq qon probirka ichidagi aralashma barmoq bilan probirka tubiga shunday qilib puflanadiki, bunda kislotaning yuqori qatlami bo'yalmagan holda qolsin. Pipetka chiqarilmasdan, kislotaning bo'yalmagan yuqori qatlami bilan chayqaladi, shundan keyin probirka tubiga chertib aralashtiriladi va 5-10 minutga shtativga qo'yiladi. Bu vaqt ichida gemogloblin xlorid kislotaga gematiniga to'la aylanishi kerak. Keyin probirkaga distillangan suvdan eritma rangi standart rang bilan bir xil bo'lguncha tomchilab qo'shib boriladi (suv qo'shib, eritma shisha tayoqcha bilan ralashtiriladi).

Olingan eritma sathida turgan raqam tekshirilayotgan qonda gemogloblin miqdorini ko'rsatadi. Normada gemogloblin miqdori ayollarda $12,1-13,8 \text{ g/protsent}$, erkaklarda $13,3-15,6 \text{ g/protsent}$ bo'ladi.

2-topshiriq. Qondagi gemogloblin miqdorini fotometriya usuli bo'yicha aniqlash. Qondagi gemogloblin miqdorini fotoelektrokolorimetr yordamida aniqlash mumkin. Asbobning ishlash prinsipi quyidagidan iborat. Agar o'zida gemogloblin tutuvchi eritma yorug'lik manbai bilan fotoelement o'rtasiga joylashtirilsa, fotoelementning yoritilish darajasi eritmadagi gemogloblin miqdoriga bog'liqligi aniqlanadi. Shunday qilib, eritmadagi gemogloblin miqdori qancha ko'p bo'lsa, shunchalik ma'lum uzunlikdagi yorug'lik nurlarining miqdori fotoelementga kam tegadi va shu bilan birga unda shuncha kam fototok qo'zg'aladi.

Fotoelektrokolorimetr kuchlanish stabilizatoridan, strelkali galvanometr, suyultirilgan va gemolizlangan qon namunasi uchun kyuvet (vannacha) va potensiometrdan tuzilgan (3-rasm).



3-rasm. Fotoelektrokolorimetrning blok-sxemasi.

Kerakli jihozlar va reaktivlar: fotoelektrokolorimetr, sterillangan skarifikator, filtr qog'oz, paxta, qonni suyultirish uchun maxsus eritma, spirt, efir, yod. Tekshirish obyekti – odam qoni.

Tajriba o'tkazish tartibi. Gemoglobinni aniqlash uchun qon barmoqdan oddiy usul bo'yicha kapillyarning qon belgisigacha olinadi va u probirkada 4 ml I eritma bilan aralashiriladi. Shu probirkaga 0,1 ml III eritma qo'shiladi. Aralashma kyuvetaga quyiladi. 1-2 minutdan so'ng gemoliz kuzatiladi. Galvanometr stabilizator bilan oxirgisi esa tarmoq bilan ulanadi. Keyin asbob panelidagi (oldida) tutqichlarni tegishli instruksiya bo'yicha boshqarib, gemogloblin miqdori tarkibidagi gemoglobinning nisbiy miqdori foiz hisobida aniqlanadi. Olingan natijalarga asoslanib, qondagi gemoglobinning absolyut miqdori hisoblab topiladi. Analizning hamma muolajasi (qon olish vaqti hisoblanmaydi) 1-2 minutni tashkil etadi.

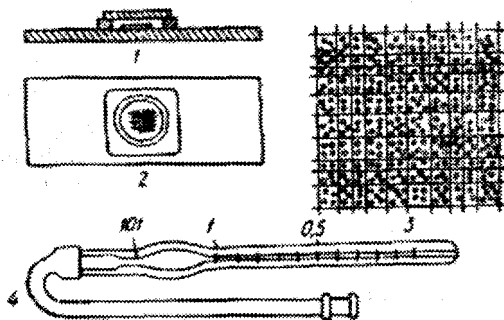
Nazorat uchun savollar

1. Gemoglobin nima va uning tarkibiy qismlarini aytib bering?
2. Gemoglobinning organizm hayotiy faoliyatida tutgan o'rnini aytib bering?
3. Gemogloblin miqdori nima uchun aniqlanadi?

7-LABORATORIYA ISHI

Qonning shaklli elementlari miqdorini aniqlash. eritrotsitlar, leykotsitlar va trombositlarning sonini sanash

Qonning shaklli elementlariga qizil qon tanachalari – eritrotsitlar, oq qon tanachalari – leykotsitlar va qon plastinkalari – trombositlar kiradi. Eritrotsitlar bilan leykotsitlarni sanash uchun maxsus qon suyultirgich (aralastirgich) va shisha kameralardan foydalaniladi (4-rasm).



4-rasm. Qonning shaklli elementlarini sanash uchun ishlatiladigan kameʼra va suyultirgich. 1-kameraning yonidan; 2-yuqorisidan koʻrinishi; 3-kamera kataklarining (eritrotsitlar bilan) mikroskopda koʻrinishi; 4-qon suyultirgich.

Qon suyultirgich oʻrtasi tuxumsimon kengaygan shisha naychadan iborat boʻlib, unda 0,5; 1,0 va 101 belgilari bor. 0,5 belgisi shisha naychanning oʻrta qismida, tuxumsimon kengaymaning tagida 1,0 va yuqorisida 101 belgisi boʻladi. Kengaygan joy ichida yumaloq shisha munchoq boʻlib, u qonni yaxshi aralastirish uchun xizmat qiladi.

Leykotsitlarni sanash uchun ishlatiladigan aralastirgich ham yuqorida aytilgan aralastirgich singari tuzilgan, lekin belgilari boshqacha (0,5; 1,0 va 11,0) va kengaygan joyi biroz kichik boʻladi; chunki eritrotsitlarni sanashda qon 100 yoki 200 marta suyultirilsa, leykotsitlarni sanashda 10-20 marta suyultiriladi.

Sanash kameralari. Qonning shaklli elementlarini sanash uchun Toma-Seys, Predtechinskiy, Goryayev va Byurker kameralaridan foydalaniladi. Bu kameralarning tuzilishi bir xil bo'lsa ham, katak (kvadrat) larining soni turlicha.

Toma-Seys kamerasi qalin oynadan iborat bo'lib, uning o'rtasiga kvadrat shaklida mayda katakchalarga bo'lingan yupqa shisha plastinka yopishtirilgan. Bu plastinkadagi kvadratlarining har bir tomoni 1/20 mm ga teng. Demak har bir kvadratning sathxi $1/20 \cdot 1/20 = 1/400$ mm² ga teng bo'ladi. Katakchalar bo'lingan shisha plastinka qoplab turadi. U birinchi shishadan 1/10 mm ko'tarilib turadi. Shuning uchun har bir kichik kvadratning hajmi $(1/10 \cdot 1/400$ mm²) = 1/4000 mm² ga teng bo'ladi. Toma-Seys kamerasida 16 ta mayda kvadratga bo'lingan. Mayda kvadratlarining umumiy soni 400 ta.

Predtechinskiy kamerasi 100 ta katta kvadratdan tuzilgan bo'lib, shundan 25 tasining har biri yana 16 tadan mayda kvadratga bo'lingan.

Goryayev kamerasi 225 ta katta kvadratdan tuzilgan bo'lib, shundan 25 tasining har biri yana 16 tadan mayda kvadratga bo'lingan.

Byurker kamerasi 144 ta katta kvadratdan tuzilgan bo'lib, bu katta kvadratlarining yuqori va past tomonlarida mayda kvadratlar bo'ladi.

Kerakli jihozlar va reaktivlar: mikroskop, Frank ninasi, skarifikator, sanash kamerasi, aralashtirgich, osh tuzining 0,85% li eritmasi, gensian-violet bo'g'i, sirka kislotasining 0,3% li eritmasi, spirt, efir, paxta, odam qoni.

1-topshiriq. Odam qonidagi eritrotsitlarni sanash. Buning uchun sanash kamerasini mikroskopda ko'rib, uning tuzilishi daftarga chizib olinadi. So'ngra qon olinadigan barmoqni efir va spirt bilan artib, uning uchiga Frank ninasi sanchiladi va bir tomchi qonni oqirib yuborib, ikkinchi tomchi qon aralashtirgichning 0,5 yoki 1,0 belgisigacha so'riladi, so'ngra 101 belgisigacha osh tuzining 0,85% li eritmasi to'ldiriladi. Agar qon 0,5 belgisigacha olingan bo'lsa, 200 marta, 1,0 belgisigacha olingan bo'lsa, 100 marta suyultirilgan bo'ladi. Eritrotsitlar osh tuzi eritmasida bir xil aralashishi uchun aralashtirgichning 2 tomonini 2-3 minut davomida

barmoq bilan bekitib turib silkitiladi. So'ngra suyultirilgan qonning bir tomchisini oqizib yuborib, ikkinchi tomchisi sanash kamerasiga tomiziladi va yupqa qoplag'ich oyna bilan yopiladi. Keyin sanash kamerasini mikroskop ostiga qo'yib, undagi eritrotsitlar sanaladi. Bunda 5 ta katta yoki 80 ta mayda kvadrat ichidagi eritrotsitlar sanaladi. Kvadrat chetida joylashgan eritrotsitlar sanalmaydi.

Kvadratlardagi eritrotsitlar sonini sanab, quyidagi formula yordamida 1 mm^3 qonda qancha eritrotsit borligi aniqlanadi.

$$x = \frac{N \cdot 4000 \cdot 200 \cdot 100}{5 \cdot 16}$$

Bunda: x – 1 mm^3 qondagi eritrotsitlar soni, N – 5 ta katta kvadratdagi yoki 80 ta mayda kvadratdagi eritrotsitlar soni; 4000 – mayda kvadratlarining umumiy hajmi; 200 yoki 100 – qonning suyuqlik darajasi.

Sanab chiqilgan eritrotsitlar sonini yuqoridagi formulaga qo'yib, 1 mm^3 qonda qancha eritrotsit borligini hisoblab toping.

2-topshiriq. Leykotsitlarni sanash. Leykotsitlar turli shakldagi, har xil yadroli hujayralardan iborat bo'lib, organizmga tushgan mikroba va begona moddalarni yutish (fagotsitoz) xususiyatiga ega. Shu bilan birga organizmda immunitetni hosil bo'lishini ta'minlab beradi.

Leykotsitlar sonini sanash uchun yuqoridagi topshiriqda aytib o'tilgan usul bilan barmoqdan qon chiqarib, undan aralash-tirgichning 0,5 yoki 1,0 belgisigacha olinadi va 11 belgisigacha gensian-violet bo'yog'i aralashgan sirka kislotaning 0,3% li eritmasi bilan suyultiriladi. Sirka kislota ta'sirida eritrotsitlar parchalanadi, leykotsitlarning yadrosi esa, gensian-violet bilan bo'yalib, mikroskopda ko'rinish boshlaydi. Agar qon aralash-tirgichning 0,5 belgisigacha olingan bo'lsa, 20 marta; 1,0 belgisigacha olingan bo'lsa, 10 marta suyultirilgan bo'ladi. Aralash-tirgichdagi suyuqlik-ni bir tomchisini chiqarib tashlab, ikkinchi tomchisi sanash kamerasi ustiga tomiziladi va mikroskopda qarab sanaladi. Buning uchun odatda 25 ta katta kvadrat yoki 400 ta mayda kvadrat ichidagi leykotsitlar sanaladi va eritrotsitlar sonini aniqlashda qo'llanilgan formulaga muvofiq 1 mm^3 qondagi leykotsitlar soni aniqlanadi. Masalan, 25 ta katta kvadratda 35 dona leykotsit topilgan bo'lsa,

1 mm³ qondagi leykotsitlar soni: $x = \frac{35 \cdot 4000 \cdot 20}{25 \cdot 16} = 7000$ ta bo'ladi.

Sog'lom odamning 1 mm³ qonida 6000-8000 ta leykotsit bo'ladi.

Leykotsitlar tuzilishi, bo'yalishi va yadrosining shakliga ko'ra bir necha turga bo'linadi. Shunga ko'ra, ularni asosan ikkiga – donasiz leykotsitlar, ya'ni agronulotsitlarga va donador leykotsitlar, ya'ni granulotsitlarga bo'lish mumkin.

Donasiz leykotsitlar protoplazmasida hech qanday donalar bo'lmaydi. Donador leykotsitlar protoplazmasida esa, yirik-mayda har xil donalar (granulalar) bo'ladi. O'zagining tuzilishi va kattaligi bilan farq qiladigan monotsit va limfotsitlar donasiz leykotsitlarga kiradi. Donador leykotsitlarga eozinofillar (donasi kislotali bo'yoq bilan bo'lgan) va bazofillar (donasi ishqorli bo'yoq bilan bo'yalgan), shuningdek, neytrifillar (donasi neytral bo'yoq bilan bo'yalgan) kiradi. Har xil turdagi leykotsitlar miqdorining o'zaro nisbati *leykotsitar formula* deb yuritiladi. Bu formula ayrim leykotsit turlarining qondagi miqdorini ifodalaydi. Normal leykotsitar formula quyidagicha bo'ladi (1-jadval).

1-jadval.

| Leykotsit turi | Qondagi miqdori (% da) |
|----------------|------------------------|
| Neytrifillar | 55-60 |
| Limfotsitlar | 25-35 |
| Monotsitlar | 5-8 |
| Eozinofillar | 3-5 |
| Bazofillar | 0,5-1,0 |

Turli kasalliklarda leykotsitlar miqdorining nisbati (leykotsitar formula) o'zgaradi. Shuning uchun leykotsitar formulani aniqlash klinik jihatdan katta ahamiyatga ega.

3-topshiriq. Trombotsitlarni Javadyan usuli bo'yicha sanash. Trombotsitlar qonning ivish protsessida katta hajmdagi ishni bajaradi, chunki ularda qon ivishida qatnashuvchi noaktiv ferment – protrombokinaza bor. Normada 1 mkl qonda 200000-300000 trombotsit bo'ladi.

Tajribani boshlashdan avval, qonni suyultirishda ishlatiladigan maxsus eritma tayyorlab olish zarur. Buning uchun 100 ml

distillangan suvga 3,8 g limon kislotasi, 0,57 g osh tuzi, 0,15 g metilen ko'ki olinadi. Eritma qaynatiladi, sovutiladi, filtrlanadi, keyin esa unga 2-3 tomchi o'tkir formalin qo'shiladi.

Shundan so'ng, ishni boshlash mumkin. Skarifikatorni barmoq uchiga sanchib, birinchi oqib chiqqan qon artib tashlanib, keyingi chiqqan qondan eritrotsitlar melanjerining, 5 belgisigacha qon olinadi. O'sha zahotiy oq u 101 (200 marta) belgisigacha eritma bilan suyultiriladi. Uni qo'lning I va III barmoqlari orasida melanjerning oxirlari qisilib, ehtiyotkorlik bilan aralashtiriladi. Trombotsitlar metilen ko'kiga bo'yalishi uchun melanjer 10-15 minutga tinch holatda qoldiriladi.

Qayta aralashtirgach, 2-3 tomchi eritma paxtaga, so'ng I tomchisi qoplash oynagi ostidagi hisoblash kamerasiga tomiziladi. Trombotsitlarni sanash katta aralashtirgich ostida o'tkaziladi. Agar hamma sharoitlarga to'g'ri amal qilinsa, kameradagi trombotsitlar havo rang bo'lak-palaxsa ko'rinishga ega bo'lib, eritrotsitlar orasida muntazam ravishda joylashgan bo'ladi. Ularning 25 ta katta kvadratlardagi soni sanaladi va trombotsitlarning soni quyidagi formula bo'yicha hisoblab chiqiladi:

$$x = \frac{N \cdot 4000 \cdot 200}{400}$$

bu yerdagi N – trombotsitlarning 25 ta katta kvadratlardagi soni.

Mustahkamlash uchun savollar.

1. Eritrotsitlarning funksiyasi nimalardan iborat?
2. 1 mm³ qon tarkibidagi eritrotsitlar soni odam jinsiga bog'liqmi?
3. Leykotsitlar qanday funktsiya bajaradi?
4. Umurtqali hayvonlar qonida leykotsitlarning qanday turi uchraydi?
5. Leykotsitar formula nima va uning ahamiyati nimadan iborat?
6. Trombotsitlarning funksiyasini aytib bering.

8-LABORATORIYA ISHI

Qonning gematokrit ko'rsatkichini aniqlash

Qonning shaklli elementlari miqdorini sof qonning plazma miqdoriga nisbatining % larda ifodalanishi *gematokrit ko'rsatkichi* deyiladi. Normada bu ko'rsatkich kattalarda 40-45%, chaqaloqlarda 50-55%, 5 yoshda esa, 30-40% ga teng. Gematokrit soni qonning asosiy konstantalaridan biri bo'lib, uning o'zgarishi ko'pgina patologik holatlarda kuzatiladi.

Kerakli jihozlar va reaktivlar: Shklyar sentrifugasi, gematokrit kapillyari, 5%li limon kislotasining natriyli tuzi eritmasi, qon.

Tajriba o'tkazish tartibi. Analiz uchun qon odam qo'li-ning barmog'idan olinadi yoki bu ish quyovning qoni bilan qilinadi. Gematokrit kapillyari limon kislotasining natriyli tuzi eritmasi bilan yuvilib, qon bilan to'lg'aziladi va minutiga 3000 marta sentrifuga apparatida 30 minut davomida aylantiriladi. Bunda markazga intilish kuchi ta'sirida qonning shaklli elementlari kapillyarning periferik (chekka) qismiga yig'iladi. Sentrifuga o'qi yaqinida esa plazma ustuni qoladi. Sentrifugalab bo'lingach, shaklli elementlar ustunining uzunligini aniqlanadi. So'ngra gematokrit son hisoblab topiladi.

Eritrotsitlarning cho'kish tezligi uchun olingan limon kislotasining natriyli tuzi bilan aralashirilgan qon aralashmasidan ham foydalanish mumkin. Bunda hisob quyidagicha bo'ladi: 80 – 100% A-X.

A – gematokritda topilgan son, ikkiga ko'paytirilishi kerak, chunki kapilyarda 0-50 sonlari bor xolos. 80 – aralashmadagi qon yaxlit (suyultirilmagan) holatga keltirilgan (aralashmada) qon va eritma nisbati 4:1 ga teng (200 qon:50 eritma).

Nazorat uchun savollar

1. Qonning gematokrit ko'rsatkichi deb nimaga aytiladi?
2. Gematokrit ko'rsatkichi erkak va ayollarda farq qiladimi?
3. Gematokrit ko'rsatkichi o'zgarsa, organizmda qanday o'zgarishlar sodir bo'ladi?

9-LABORATORIYA ISHI

Qon guruhlari (avo sistemalari) ni, rezus omil (Rh) va ivish tezligini aniqlash

Hozirgi vaqtda qonni fiziologik, biokimyoviy tekshirish bilan shug'ullanuvchi laboratoriyalarda serologik reaksiyalarni qo'yish ham muhim amaliy ahamiyatga ega. Bu tipdagi analiz ishlarida qondagi turli xil antigenlar va antitelolarni aniqlanadi. Zamonaviy fiziologiya va gematologiya fani odam qonida (uning eritrotsitlarida) har xil moddalar – AVO sistemasi antigenlari, rezus sistemalar, MN, Pp, Kell, Daffy, Le, Kidd va boshqalar bor deydi. Bular orasida eng ko'p tarqalgani AVO sistemasi antigenlari, rezus sistemalar, MN, Pp, faktorlardir.

Bu faktorlarni (AVO sistemasi antigenlari, rezus omilni) aniqlash, qon guruhlarini o'rganish va qon quyishda, ayniqsa yosh kelin-kuyovlar uchun muhim ahamiyatga ega. (davomi bor.)

1-topshiriq. Qon guruhlarini aniqlash. Yuqorida ta'kidlanganidek, qon guruhlarini aniqlash qon quyishda agglyutinatsiyaning oldini olish uchun juda zarur. Ma'lumki, agglyutinatsiya (bir-biriga yopishish) reaksiyasi aralashtiriladigan bir qon zardobida aglyutinini, ikkinchi qon eritrotsitlarida esa agglyutinogen bo'lgandagina yuz berishi mumkin.

Qon zardobida α va β agglyutininlar, eritrotsitlarda esa A va B aglyutinogenlar bo'ladi. Agglyutinini α - aglyutinogen A bilan yoki aglyutinini β - aglyutinogen B bilan qo'shilgan hollardagina aglyutinatsiya reaksiyasi ro'y beradi.

Eritrotsitlarida agglyutinogenlar, plazmasida esa agglyutininlar bor yoki yo'qligiga ko'ra hamma kishilarni to'rt gruppaga bo'lingan. Ma'lum bir qon guruhiga mansublik odam umrining oxirigacha o'zgarmasdan saqlanadi.

Qon guruhlari ta'rifi:

I guruh 0 ($\alpha\beta$) – eritrotsitlarda agglyutinogenlar bo'lmaydi, ularni birorta zardob aglyutinatsiya qila olmaydi. Qon zardobida ikkala agglyutinini α va β bor, bular boshqa uchchala gruppaga eritrotsitlarini agglyutinatsiya qilish xususiyatiga ega.

II guruh A (β) – eritrotsitlarda aglyutinogen A bo'ladi, bu

o'zida aglyutinini α saqlaydigan guruhlarning zardoblari bilan aglyutinatsiyalanadi. Zardobida aglyutinini β bo'ladi, bu agglyutinogen B saqlaydigan guruhlarning eritrotsitlarini agglyutinatsiya qiladi.

III guruh B (α) - eritrotsitlarda agglyutinogen B bo'ladi, bu agglyutinini β saqlaydigan zardoblar bilan agglyutinatsiya qiladi. Zardob agglyutinini α saylaydi, bu agglyutinogen A saqlaydigan guruhlarning eritrotsitlarini agglyutinatsiya qiladi.

IY guruh AB (0) – eritrotsitlarda har ikkala agglyutinogen A va B bo'ladi va ular bundan oldingi uchala guruhning zardoblari bilan agglyutinatsiyalanadi. Zardob esa agglyutinogen saqlamaydi va sanab o'tilgan guruhlarning birortasida ham eritrotsitlarni agglyutinatsiya qilmaydi.

Qon guruhlarini I, II, III guruhlarning standart zardoblari yordamida aniqlanadi. Bu zardoblarning hammasi izoagglyutinatsiya reaksiyasiga, ya'ni eritrotsitlarni yopishtirish xususiyatiga ega. IY guruh qon zardobi izoagglyutinatsiya qilish qobiliyatiga ega emas, chunki unda agglyutininlar yo'q.

Kerakli jihozlar va reaktivlar: Buyum oynasi, shisha tayoqchalar, skarifikator, I, II, III gruppaga qonning standart zardobi, spirt, efir, paxta.

Ishni bajarish tartibi. Qon gruppasini aniqlash uchun buyum oynasiga I, II, III gruppaga qonning standart zardoblari tomiziladi. So'ng barmoq uchi skarifikator bilan teshib, qon chiqariladi va shisha tayoqcha uchini qonga tekkizib, birinchi zardob bilan tayoqchani ikkinchi uchi yana qonga tegizib ikkinchi zardob bilan va boshqa tayoqcha uchini qonga tekkizib uchinchi zardob bilan aralashtiriladi. 3-5 minut o'tgach har bir zardob tomchisida aglyutinatsiya ro'y bergan-bermaganligi aniqlanadi. Aglyutinatsiya ro'y berganda eritrotsitlar bir-biriga yopishib, cho'kmaga tushadi va aralashma tiniqlashadi. Qaysi zardobda aglyutinatsiya ro'y berishiga qarab qon gruppasi aniqlanadi. Uchchala gruppada zardobda aglyutinatsiya ro'y bermasa tekshirilgan qon birinchi gruppaga kiradi. Agar 1 va 3 gruppaga zardobda aglyutinatsiya ro'y berib, ikkinchi gruppada ro'y bermasa qon ikkinchi gruppaga kiradi. Bordi-yu, 1 va 2 gruppaga zardobda aglyutinatsiya ro'y berib, 3 – gruppaga zardobda bo'lmasa tekshirilgan

qon 3-gruppaga kiradi. Har uchchala zardob tomchisida ham aglyutinatsiya ro'y bermasa qon 4-gruppaga kiradi.

2-topshiriq. Rezus omil (Rh) ni aniqlash. Rezus omil (Rh) ni 1940 yilda Landshteyner va Viner kashf etishgan, ular *Macacus rhesus* turidagi maymun eritrotsitlari bilan immunlangan quyonlar qon zardobining maymunlargina emas, balki ba'zi bir odamlarning eritrotsitlarini agglyutinatsiyalaydigan maxsus xossalari borligini aniqlashgan.

Ma'lumki, rezus omil nasldan-naslga o'tadi. Rezus-agglyutinogen mavjudligi embrionning 3-4 oylaridanoq ma'lum bo'ladi. Uchta rezus antigen bo'ladi: $Rh_0(D)$, $Rh_1(C)$, va $Rh_{11}(E)$. Antigen $Rh_0(D)$ kishilarning qariyb 86% ida bo'ladi, 14% ida esa bo'lmaydi. Eng yuqori faollikka ega bo'lgan antigen $Rh_0(D)$ ning katta amaliy ahamiyati bor. Shunga ko'ra "rezus omil" deganda, odatda antigen $Rh_0(D)$ tushuniladi. $Rh_0(D)$ saqlagan barcha turlari rezus-musbat ($Rh+$), uni saqlamagan turlari esa rezus-manfiy ($Rh-$) sanaladi.

Rezus omili bo'lmagan odam organizmiga rezus antigen tushgan taqdirda qon quyishda yoki homiladorlikda organizmda rezus-antitelolar hosil bo'ladi. Rezus-mansublikni rezus-antitelolari bor rezus-manfiy subyektlardan olingan zardoblar yordamida aniqlanadi.

Rezus omilni aniqlash usuli standart zardobning o'zida to'liq yoki noto'liq rezus antitelolar saqlashiga bog'liq. Antitelolar to'liq bo'lsa, tuzli muhitdagi agglyutinatsiya usulidan foydalaniladi, noto'liq bo'lsa, konglyutinatsiya usulida yoki Petri kosachalaridagi zardobli muhitda yoki jelatinada aniqlanadi.

Kerakli jihozlar va reaktivlar. Buyum oynasi, shisha tayoqchalar, skarifikator, I, II, III grupp qonning standart zardobi, standart-antirezus zardob, odam qoni, natriy sulfatsil (albutsid), 10% li jelatina eritmasi, natriy xlorning 0,9% li eritmasi, sentrifuga, sentrifuga probirkalari, termostat, natriy sitrat, spirt, efir, paxta, maxsus chinni idish.

Ishni bajarish tartibi. Chinni idishga bir tomchidan kontrol zardob (o'ngdan-K) va standart antirezus zardob (Chapdan - Rh) tomiziladi. Har bir zardobning yoniga bir tomchidan tekshirilayotgan qon tomiziladi (tekshirilayotgan qonning tomchisi zardob tomchisidan 2 marta kichik bo'lishi kerak).

Keyingi qilinadigan harakatlar zardobdan boshlanmog'i kerak (kontrol zardob), lekin teskarisiga emas (aks holda tayoqchani bir oxiri bilan foydalanish mumkin emas)! Shisha tayoqcha bilan qon tomchisi zardob (kontrol) tomchisi bilan besh tiyinlik tanga kattaligida aralastiriladi. Keyin shu tarzda qon antirezus zardob bilan aralastiriladi. Maxsus chinni idishni tebratib reaksiya kuzatiladi. Agglyutinatsiyaning bor-yo'qligini yaxshiroq aniqlash uchun ikkala namunaga bir tomchidan fiziologik eritma qo'shish mumkin.

Agar tekshirilayotgan qon rezus musbat bo'lsa, unda standart antirezus zardobida eritrotsitlarning agglyutinatsiyasi sodir bo'ladi (kontroldagisida uning bo'lmasligi kerak). Agar qon rezus-manfiy bo'lsa, ikkala namunalarda agglyutinatsiya sodir bo'lmaydi. Kontrol zardob bilan agglyutinatsiya sodir bo'lgan taqdirda aniqlashni qaytarish yoki boshqa usullar bilan o'tkazish kerak.

3-topshiriq. Qonning ivish tezligini aniqlash.

Altgauzen bo'yicha. Ushbu usul klinik amaliyotda keng qo'llanilayotgan usullardan biri bo'lib, butun qondagi birinchi fibrin iplarining spontan (o'z-o'zidan) paydo bo'lish vaqtini aniqlashga asoslangan. Boshqa usullar singari u ivishda qatnashuvchi omillarning dag'al kamomadini aniqlashga imkon beradi. Ushbu usul bilan ivish tezligi xona sharoitida aniqlansa, norma sifatida 5-6 minutni tashkil etadi.

Kerakli jihozlar va reaktivlar. sekundomer, sterillangan skarifikator, soat oynasi, paxta, doka bo'lagi, yod, efir. Tekshirish obyekti – odam qoni.

Tajriba o'tkazish tartibi. Qon odam qo'lining barmog'idan olinadi. Yaxshilab yuvilgan va quritilgan oyna kaftda tana haroratigacha isitiladi, so'ngra unga 2-3 tomchi qon tomiziladi. Skarifikator uchlari bilan birinchi fibrin iplari paydo bo'lib, cho'lgunga qadar, har yarim minutda qon orqali skarifikator uchi olib o'tiladi. Bunda shisha kaftda ushlab turiladi yoki doka ustida turadi. Qonning ivish vaqti qo'llangan usulga bog'liq bo'lib, natijalarda har doim foydalanilgan usul ko'rsatilishi shart.

Suxaryov bo'yicha. Ushbu usulning prinsipi yaxlit qonning spontan (o'z-o'zidan) ivish vaqtini aniqlashdan iborat bo'lib, ivish omillarining (fibrinogen, antigemofil globulinlari, protrombin)

qo'pol kamomadini aniqlashga imkon beradi. Ivish vaqtining ozayishi, giperkoagulyatsiyaga bo'lgan tendensiya (intilish) ni ko'rsatadi. Normal ko'rsatgichlar. ushbu usul bo'yicha ivishning boshlanishi $\frac{1}{2}$ minutdan 2 minutgacha, ivishning oxiri 3 minutdan 5 minutgacha.

Kerakli jihozlar va reaktivlar. sekundomer, Panchenkov tipidagi kapillyarlar, sterillangan skarifikator, paxta, spirt, efir. Tekshirish obyekti – odam qoni.

Tajriba o'tkazish tartibi. Analiz uchun qon odam qo'lining barmog'idan olinadi. Kapillyarga balandligi 25-30 mm bo'lgan qon ustunchasi olinadi. Sekundomer bo'yicha vaqt belgilanadi. Kapillyarni engashtirib, qon naychanning o'rtasiga o'tkaziladi. Kapillyar ikki barmoq orasida ushlanib, 30-45^o ostidaniki tomonga tebratiladi. Qonning bema'ol siljishi hali ivishning boshlamaganini ko'rsatadi.

Ivishning boshlanishi, kapillyar engashtirilganda, qon harakatining sekinlab qolishi bilan tavsiflanadi. Uning ichki devorchasida uncha katta bo'lmaganivlalar paydo bo'ladi (qonning qotgan parchalari). Qon harakatining to'xtashi, uning to'liq iviganidan dalolat beradi.

Nazorat uchun savollar

1. Qon guruhleri haqida tushuncha bering?
2. Qon guruhlerini aniqlashning qanday ahamiyati bor?
3. Qon guruhleri qanday aniqlanadi?
4. Qon guruhlerini aniqlash nimaga asoslanadi?
5. Qon guruhlerini aniqlashning qon quyishdagi ahamiyati nimada?

ILOVALAR

1-jadval

Turli fiziologik eritmalarning kimyoviy tarkibi (1,0 l distillangan suvda gramm hisobida)

| Kimyoviy modda larning nomi | Fiziologik eritma | | | Ringer eritmasi | | | Ringer-Lokk eritmasi | | | Iltirod eritmasi |
|----------------------------------|----------------------------|----------------------------|---------|----------------------------|----------------------------|---------|----------------------------|----------------------------|---------|------------------|
| | sovuqqonli hayvonlar uchun | issiqqonli hayvonlar uchun | 8,0-9,0 | sovuqqonli hayvonlar uchun | issiqqonli hayvonlar uchun | 8,0-9,0 | sovuqqonli hayvonlar uchun | issiqqonli hayvonlar uchun | 8,0-9,0 | |
| NaCl | 6,0-7,0 | 8,0-9,0 | | 6,0-7,0 | 8,0-9,0 | | 6,0-7,0 | 8,0-9,0 | | 0,8 |
| KCl | - | - | | 0,075-0,3 | 0,075-0,4 | | 0,075-0,3 | 0,075-0,4 | | 0,2 |
| CaCl ₂ | - | - | | 0,1-0,25 | 0,1-0,25 | | 0,1-0,25 | 0,1-0,25 | | 0,1-0,2 |
| NaHCO ₃ | - | - | | 0,1-0,2 | 0,1-0,5 | | 0,1-0,2 | 0,1-0,2 | | 1,0 |
| MgCl ₂ | - | - | | - | - | | - | - | | 0,1 |
| NaH ₂ PO ₄ | - | - | | - | - | | - | - | | 0,05 |
| Glyukoza | - | - | | - | - | | 0,5 | 1,0 | | 1,0 |

Qon guruhlarining mos kelishini aniqlash

| Donor agglutogeni | Retsipiient agglutinini | | | |
|----------------------|-------------------------|--------------|----------------|--------|
| | α, β (I) | β (II) | α (III) | 0 (IV) |
| 0 (I) | - | - | - | - |
| A (II) | + | - | + | - |
| B (III) | + | + | - | - |
| AB (IV) | + | + | + | - |

Qon sistemasining yoshga qarab fiziologik ko'rsatkichlari

| Yosh guruhlari | Gavda vazniga nisbatan % hisobida | Gavdaning 1 kg og'irligiga |
|-------------------|-----------------------------------|----------------------------|
| Chaqaloqlarda | 14,7 | 150 |
| 1 yoshlilarda | 10,9 | 110 |
| 6-11 yoshlilarda | 7 | 70 |
| 12-16 yoshlilarda | 7 | 70 |
| Kattalarda | 7-8 | 50 |

Eritrotsitlarning morfofiziologik xossalari

| Ko'rsatkichlar | Miqdori |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| Suv | 64 % |
| Gemoglobin | 33 % |
| Eritrotsitlarning o'rtacha diametrik | 7-8 mk |
| Eritrotsitlarning qalinligi | 1,9-2,1 mk |
| Rang ko'rsatkichi | 0,9-1,1 |
| Eritrotsitlarning rezistentligi: | |
| maksimal | NaCl tuzining 0,32-0,30 % li eritmasi |
| minimal | NaCl tuzining 0,46-0,42 % li eritmasi |
| Eritrotsitlarning yashash muddati | 125-127 kun |

5-jadval

Qonning tarkibi va xossalari
(I. Azimov va Sh.Sobitovlar bo'yicha)

| Ko'rsatkichlar | Miqdori |
|---|------------------------------------|
| Plazma hajmi | 55-60% |
| Plazma tarkibi | |
| suv | 90-91% |
| quruq moddalar | 9-10% |
| Shundan | |
| oqsillar | 6,6-8,2% |
| albuminlar | 4,0-4,5% |
| globulinlar | 2,8-3,1% |
| fibrinogen | 0,2-0,4% |
| anorganik moddalar | 0,9% |
| Oqsilsiz organik moddalar | 1% |
| Eritrotsitlarning plazmaga nisbati | 0,44-0,45 |
| Tomirlarda aylanadigan qon | 5-6 l (gavda vaznining 7-8 % i) |
| Qonning qovushqoqligi | 4,2-5,0 |
| Qonning osmotik bosimi (atm) | 7,7-8,1 |
| Qonning onkotik bosimi (mm.s.u) | 20-30 |
| Qonning reaksiyasi (pH) | 7,36 |
| SOE: | |
| erkaklarda (mm/soat) | 3-9 |
| ayollarda | 7-12 |
| Gemogloblin (gramm-protsent) | |
| erkaklarda | 13,3-18,0 (o'rtacha 15,8) |
| ayollarda | 11,7-15,8 (o'rtacha 13,7) |
| Glyukoza (mg %) | 80-120 |
| Sut kislotasi | 10-30 |
| Eritrotsitlar soni (1 mm ³ qonda) | |
| Erkaklarda | 5-5,5 mln |
| Ayollarda | 4-5 mln |
| Leykotsitlar soni (1 mm ³ qonda) | 6000-8000 |
| Trombotsitlar soni (1 mm ³ qonda) | 200000-400000 |

Qonning leykotsitar formulasi

| Leykotsitlar turlari | | Miqdori (1 mm^3 qonda raqamlarda) | Miqdori % larda |
|----------------------|--------------|--|-----------------|
| Donali | Bazofillar | 35-70 | 0-1 |
| | Eozinofillar | 140-350 | 3-5 |
| | Neytrofillar | 4200-5250 | 57-73 |
| Donasiz | Limfotsitlar | 1750-2450 | 25-35 |
| | Monotsitlar | 350-560 | 3-5 |

GLOSSARIY

Agglyutinoskop – agglyutinatsiya reaksiyasini kuzatish uchun ishlatiladigan asbob.

Agronulotsitlar – sitoplazmasida maxsus donachalar saqlamaydigan oq qon tanachalari (leykotsitlar). A. limfotsitlar va monotsitlarga bo'linadi. Sog'lom odam qonida limfotsitlar oq qon tanachalarining 20-35% ni, monotsitlar esa, 6-8% ini tashkil etadi.

Agronulotsitoz – tomirlarda aylanib yurgan qonda donador leykotsitlar – neytrofil granulotsitlarning keskin kamayishi yoki butunlay yo'qolishi; isitma, stomatit, angina, og'iz bo'shlig'i shilliq qavatining nekrozi, qon ketishi, sepsisga sabab bo'ladi. A. ko'mikning toksik zararlanishi va boshqa qon kasalliklarida kuzatiladi.

Anizatsitoz – qonda odatdagi normal eritrotsitlardan katta yoki kichik bo'lgan eritrotsitlarning paydo bo'lishi.

Arterial-venoz anastomoz (AVA) – arteriola va mushak venulasi qon tomirlarini bog'lovchi qon tomiri bo'lib, to'qimalardagi kapillyarlarda tiqinlar bo'lganda, bu tomirlarning qopqoqlari ochilib, qon to'g'ridan-to'g'ri venulaga o'tib ketadi va to'qimalar orasiga qon quyilish xavfini kamaytiradi.

Bilirubinemiya – qon zardobida bilirubin miqdorining ko'payishi.

Gematologiya – qon to'g'risidagi fan.

Gemotokrit son – qonning umumiy hajmidan eritrotsitlarga to'g'ri keladigan qismi bo'lib, u erkaklarda 44-46%, ayollarda 41-43% ni tashkil qiladi.

Giperglikemiya – qonda qand miqdorining ko'payishi, 120 mg % dan ortiq bo'lishi. Adrenal, alimentar, diabetik, tranzitor va b. xildagi G. farq qilinadi.

Gipertonik eritma – osmotik bosimi qonni osmotik bosimidan yuqori bo'lgan eritma. Gipertonikli eritmalardagi hujayralardan suvning chiqib ketishi natijasida hujayra bujmayib qoladi.

Gipertonikli degidrotatsiya – organizmda suv yetishmaganida kuzatiladi. Suvning yetishmovchiligi, eng avvalo hujayra tashqarisidagi suyuqlikni osmomolyarligini ko'payishiga olib keladi va natijada hujayra ichidagi bo'shliqdan suv tashqariga chiqadi.

Gipertonikli gipergidratatsiya – natriyni musbat balansida natijasida paydo bo‘ladi (masalan, organizmga natriy xlorning gipertonikli eritmasi quyilganida). Bunda avval hujayra tashqarisidagi osmotik miqdor ko‘payadi, undan keyin hujayra ichidan suv chiqib boshlaydi.

Gipotonik eritma – osmotik bosimi qonni osmotik bosimidan kam bo‘lgan eritma. Gipotonik eritmalardan hujayralarga suvning ko‘p kirishi natijasida hujayra shishib yorilib ketadi.

Gipotonikli gipergidratatsiya – musbat suv balansida paydo bo‘ladi. Masalan, suv chiqishi sekinlashganda bunday holat kuzatiladi. Bu sharoitda hujayra tashqarisidagi suvning miqdori, uning osmotik miqdori esa kamayadi va suv hujayraga kira boshlaydi.

Gipotonikli degidratatsiya – natriy balansida manfiy bo‘lganda sodir bo‘lib, hujayra tashqarisidagi suyuqlik hajmi kamayadi. Buyrak yetishmovchiligi va boshqa shunga o‘xshash holatlarda, ya‘ni kanallarda natriy reabsorbsiyasi buzilganida, suvni chiqarilishiga nisbatan, natriyning haddan tashqari yo‘qotilishi kuzatiladi.

Glikemiya – qondagi glyukoza miqdori; mmol/l da ifodalanadi.

Gomeostaz – ichki muhit suyuqliklari tarkibi va miqdorining doimiy saqlanishi.

Dializ – mayda molekularli moddalarni o‘tkazadigan va yirik molekularlarni ushlab qoladigan yarim o‘tkazgich membrana-dan moddalarning diffuziyalanishi.

Izotonik eritma – osmotik bosimi qonning osmotik bosimiga teng bo‘lgan eritma.

Kreator faoliyat – qon plazmasi va shaklli elementlarning axborotga ega makromolekulalarni tashishda ishtirok etishi.

Leykotsitlar – oq qon tanachalari. Ularning ikki xil turi mavjud, granulotsitlar-donali, agranulotsitlar-donasi.

Onkotik bosim – qonning kolloid birikmalar va oqsillarga bog‘liq osmotik bosimi. Onkotik bosim o‘rtacha 30 ml s.u ga teng yoki qonning umumiy osmotik bosimining 1/200 qismiga teng.

Osmos – bu ayrim erigan moddalarni yarim o‘tkazgich membrana-dan o‘tkazmaydigan, ammo erituvchini o‘tkazadigan membrana diffuziyasi.

Pinotsitoz – hujayra tashqarisida turgan “tanachalar” membrana ichiga botib kirishi natijasida “cho‘ntak” hosil bo‘ladi, keyinchalik membranadan ajralib chiqib pufakcha ko‘rinishida hujayra ichkarisiga harakatlanadi.

Prekapillyar sfinkter – Metarteriola va haqiqiy kapillyar qon tomirlar orasidagi to‘siq (qopqoq) lar bo‘lib, qonning bir tomonlama harakatlanishini ta‘minlab beradi.

Termoregulyatsiya – tana haroratining doimiy saqlanishi. Bu qonning asosiy funksiyalaridan biridir.

Qon plazmasi – qonning shaklli elementlari ajratib olingandan keyin qolgan suyuq qismi bo‘lib, tarkibida suvda erigan tuzlar oqsillar, uglevodlar, biologik faol birikmalar hamda karbonat angidrid va suv bor. Plazma 90-91% suvdan, 6,5-8% oqsillardan, 1,1% boshqa organik birikmalardan iborat.

Qonning shaklli elementlari – qon hujayralari. Ularga eritrotsitlar, trombotsitlar va leykotsitlar kiradi. Shaklli elementlar umumiy qon hajmining 44-45% ini tashkil etadi.

Fagotsitoz – leykotsitlarning bakteriyalarni yutib yuborish qobiliyati.

Ekzotsitoz – hujayra ichidagi granula (tanacha) plazmatik membrana tomon siljiy boshlaydi va uning membranasini plazmatik membrana bilan qo‘shilib ketadi va keyincharoq granula hujayradan siqib chiqarib yuboriladi.

Ekskretor faoliyat – moddalar almashinuvi natijasida hosil bo‘lgan qoldiq moddalarni, tasodifan yoki ma‘lum maqsad bilan kiritilgan moddalarni chiqarib tashlash.

Eritrotsitlar – qizil qon tanachalari. 1 mm³ qonda 4,5-5,5 mln gacha eritrotsitlar bo‘ladi. Ular asosan gazlar (kislород va karbonat angidrid) tashilishini ta‘minlab beradi.

Eritromiya – eritrotsitlar sonining normadan ko‘payib ketishi.

Eritropeniya – eritrotsitlar sonining normadan kamayib ketishi (anemiya).

ADABIYOTLAR

1. Allamuratov SH.I., Axmerov R.N., Almatov K.T. va boshqalar. Qonning biokimyoviy komponentlarini aniqlash ushblari bo'yicha laboratoriya mashg'ulotlariga metodik qo'llanma. Toshkent: Universitet, 1994 y.

2. Allamuratov SH.I., Almatov K.T. Ichki muhit fiziologiyasi. (Darslik). Toshkent, 2007 yil.

3. Borodin YE.A. Bioximicheskiy diaqnoz. Blogoveshensk, ch. 1,2. 1991 g.

4. Azimov I.G., Sobitov SH.S. Umumiy va sport fiziologiyasidan amaliy mashg'ulotlar. Toshkent: "O'qituvchi", 1985 y.

5. Azimov I.G., Hamroqulov A.Q., Sobitov SH.S. Umumiy va sport fiziologiyasidan amaliy mashg'ulotlar (Tuzatilgan va to'ldirilgan ikkinchi nashri). Toshkent: "O'qituvchi", 1992 y.

6. Fiziologiyadan amaliy mashg'ulotlar uchun qo'llanma. (Rossiya MFA ning muxbir a'zosi professor G.I.Kositskiy va professor V.A. Polyansevlar tahriri ostida). Toshkent: "Ibn Sino", 1995 y.

7. Odam va hayvonlar fiziologiyasidan amaliy mashg'ulotlar (Mualliflar jamoasi). Toshkent: "O'qituvchi", 1977 y.

MUNDARIJA

| | |
|--|----|
| Kirish | 3 |
| 1-laboratoriya ishi. «Ichki muhit fiziologiyasi» fanining o'rganish usullari, laboratoriyada qo'llaniladigan asbob-uskunalar..... | 4 |
| 2-laboratoriya ishi. Odam barmog'idan va laboratoriya hayvonlaridan (it, quyon, kalamush va sichqon) qon olish texnologiyasi..... | 7 |
| 3-laboratoriya ishi. Qon plazmasi va zardobini olish. Qon zardobining bufer xususiyatlarini kuzatish..... | 10 |
| 4-laboratoriya ishi. Qonning shaklli elementlarini o'rganish. Mazoklar tayyorlash va ularni bo'yash..... | 12 |
| 5-laboratoriya ishi. Qonni fizik-kimyoviy tekshirish usullari: qonning rang ko'rsatkichi, eritritsitlarning cho'kish tezligi va qonning yopishqoqligini aniqlash..... | 17 |
| 6-laboratoriya ishi. Gemoglobin miqdorini aniqlash: gematin (Sali) usuli va fotometriya usuli..... | 21 |
| 7-laboratoriya ishi. Qonning shaklli elementlari miqdorini aniqlash. Eritrotsitlar, leykotsitlar va trombositlarning sonini sanash..... | 24 |
| 8-laboratoriya ishi. Qonning gematokrit ko'rsatkichini aniqlash..... | 29 |
| 9-laboratoriya ishi. Qon guruhlari (AVO sistemalari) ni, rezus omil (Rh) va ivish tezligini aniqlash..... | 30 |
| Glossariy | 39 |
| Adabiyotlar | 42 |

O'quv-uslubiy nashr

**Ikrom Cho'liyev,
Iroda Sattorova**

**ICHKI MUHIT FIZIOLOGIYASI
dan laboratoriya mashg'ulotlari**

Texnik muharrir:
Musahhih:

**M. Raxmatov
M. Primova**

Terishga 06.12.2017 yilda berildi. Bosishga 12.12.2017 yilda ruxsat etildi. Bichimi 84x108 1/32. Nashr bosma tabog'i 2,36. № 44– буюртма. 100 nusxada. Erkin narxda.

Qarshi davlat universiteti
kichik bosmaxonasida bosildi.
Qarshi shahri, Ko'chabog' ko'chasi, 17-uy.

