

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ
СОҒЛИҚНИ САҚЛАШ ВАЗИРЛИГИ**

ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ

ФАРМАКОЛОГИК БИОКИМЁ

**ФАРМАЦИЯ ВА КЛИНИК ФАРМАЦИЯ ЙЎНАЛИШЛАРИ
БЎЙИЧА ТАЛАБАЛАР УЧУН ЎҚУВ КУЛЛАНМА**

ТОШКЕНТ 2007

Муаллиф: органик ва биокимё кафедра профессори,
тиббиёт фанлари доктори Обидов О.О.

Такризчилар:

Ўзбекистон фанлар академияси биокимё институти директори,
биология фанлари доктори, академик Соатов Т.С.

Тошкент фармацевтика институти тиббий фанлари кафедра мудири,
тиббий фанлари доктори, профессор Алиев Х.У.

Тошкент медицина Академияси биологик кимё кафедра мудири,
тиббиёт фанлари доктори, профессор Собирова Р.А.

Мундарижа:

- Сўз боши
- Кириш
- I Дори моддалари биотрансформациясида (метаболизмида) жигар эндоплазматик ретикулумининг вазифаси.
- Машғулот-1. Микросамол фракцияни жигардан ажратиш, цитохром P-450 ни аниқлаш .
- Машғулот 2. Жигар микросомаларида цитохром P450 ни миқдорини спектрофотометрик услуб билан аниқлаш.
- Машғулот 3 Каламушларга цитохром P450 ни индукцияловчи фенобарбитал натрий юбориб уни жигар микросомаларида аниқлаш.
- Машғулот- 4. Микросомаларнинг нафас олиш фаоллигини аниқлаш.
- Машғулот- 5. Жигар микросомаларида оксидланишли N-деметилланишни Наша услуби бўйича текшириш.
- Машғулот -6 Жигар микросомаларининг гидроксилаза фаоллигини Кото ва Жилете услуби бўйича аниқлаш.
- Машғулот 7. Т.А.Попов ва О.Д.Леоненко услубида жигар эндоплазматик тўри монооксигеназаси фаоллигининг амидопирин метаболитларини сийдик билан ажралиши бўйича баҳолаш.
- Машғулот 8. Интакт ва фенобарбитал юборилган каламушлар қонида кофеиннинг охириги метаболити бўлган сийдик кислотасини Мюллер ва Зейферт услубида аниқлаш.
- 9-10 машғулот. Экспериментал хайвонлар сийдигида сульфадимезин ва унинг метаболитлари миқдорини аниқлаш.
- Машғулот 11. Ксенобиотикларни эндоплазматик ретикулумда оксидланишида $\text{НАД}^*\text{Н}_2$ ва НАДФН_2 га боғлиқ бўлган реакциялар .
- Машғулот 12. Адреналин миқдорини колориметрик услуба аниқлаш.
- Машғулот 13. Қондаги гистамин миқдорини diaзотирланган p-нитроанилин билан Н.В.Климкина ва С.И.Плитмон бўйича аниқлаш.
- Машғулот 14. Антигистамин дори моддаларининг (аллергияга қарши) таъсир механизмини гистаминаза фаоллиги бўйича аниқлаш.
- Машғулот 15. Кининлар системасининг аналъгин таъсирида ўзгаришини калликреинни қон таркибида аниқлаш орқали ўрганиш.
- Машғулот 16. Организмда изоникотин кислотаси гидразидини (ИНКГ) ацетилланишини (инактивацияланишини) аниқлаш.
- Машғулот 17. Қон зардобиде алкогольдегидрогеназа фаоллигини аниқлаш (Шкурски услубига И.В.Бокия, М.С.Усатенко ва В.Ф.Трюфанов қўшимчалари билан).
- Машғулот 18. Биологик мембраналарда липидларни пероксидли оксидланишини текшириш.
- Машғулот 19. Биомембраналарда липидларнинг пероксидланиш оксидланиш тезлигини ўрганиш.
- Машғулот 20. Тўқима гомогенатида липидлар пероксидли оксидланиши тезлигини аниқлаш.

- Машғулот N21 Жигарда гликоген миқдорини Зейфтер услубида аниқлаш.
- Машғулот N22 қонда глюкоза миқдорини О-толуидин услубида аниқлаш
- Машғулот N23 Сут кислотасини қон ва тўқималарида Баркер ва Саммерсон бўйича аниқлаш.
- Машғулот N24 Пироузум кислотасини қон ва тўқималарда Фридеман ва Хауген бўйича аниқлаш
- Машғулот N25. қон зардобидида сиал кислоталари миқдорини аниқлаш.
- Машғулот N26 қон зардобидида гексокиназа фаоллигини Нейфах ва соавторлар бўйича аниқлаш.
- Машғулот N27. Глюкоза-6-фосфат дегидрогеназа фаоллигини аниқлаш
- Машғулот N 28. қон зардобиди ва тўқималардаги холестерин миқдорини аниқлаш.
- Машғулот N29. β ва пре- β - липопропротеидларнинг қон зардобидида Бурштейн ва Самаи бўйича аниқлаш.
- Машғулот N30. қон плазмасида липидлар гидропероксиди миқдорини спектрофотометрик услубида аниқлаш.
- Машғулот N31. Малон диальдегиди миқдорини аниқлаш.
- Машғулот N32. қоннинг пероксидаза фаоллигини аниқлаш.
- Машғулот N33. Глутатионредуктаза фаоллигини аниқлаш.
- Машғулот N34. Супероксиддисмутаза (СОД) фаоллигини эритроцитларда аниқлаш.
- Машғулот N35. Оксил миқдорини Лоури усули билан аниқлаш.
- Машғулот N36. Аланин ва аспарат аминотрансфераза фаоллигини жигарда ва қон зардобидида аниқлаш.
- Машғулот N37. қон зардобидида гистидаза фаоллигини Табор ва Мелер услубини В.А.Буробин модификациясида аниқлаш.
- Машғулот N38. Жигар микросомаларида ксенобиотиклар биотрансформациясининг монооксигеназа системасини ўрганиш
- Машғулот №39 Микросома монооксигеназа системаси ферментлари фаоллигини аниқлаш
- Машғулот N40. Анилиннинг оксидланишли Р-гидроксилланиш реакциясини ўрганиш.
- Машғулот N41. Жигар оксигеназа системаси фаоллигини организмда аниқлаш.
- Баъзи буфер ва реактивлар тайёрлаш.
- Адабиётлар.

Сўз боши

Биокимё ва унинг таркибий қисми бўлган молекуляр биологиянинг тараққиёти биологик системалардаги кўпчилик жараёнларни кимёвий табиатини аниқлашга, уларнинг кечиши ва йўналишини ҳар хил бирикмалар ёрдамида бошқариш мумкинлигини асослаб берди.

Фармакологик биокимё дори моддаларининг таъсири оқибатида кимёвий ўзгаришларни ўрганувчи фан бўлиб, амалий медицинада улардан унумли ва мақсадга мувофиқ фойдаланиш имкониятини яратди. Бундай йўналиш фармакологик моддаларни синтез қилишда олдиндан кутилган хусусиятларга эга бўлган дорилар яратишда ўз ўрнини топди. Мазкур фанни ўзлаштиришда талабалар биокимё ва фармакология асослари билан мукамал таниш бўлишлари лозим бўлганликлари учун маъруза ва амалиёт дастурлари фармацевтика факультети талабаларининг тўққизинчи семестрига мўлжалланган. Кўрсатилган вазифаларни ёритишда дорилар транспорти, мембрана ва рецепторларнинг аҳамияти, дорилар метаболизмида хужайра органоидлари ва ферментларининг иштироки, модда алмашинуви ва патологик ҳолатларда дори воситаларининг таъсир механизмлари атрофлича таҳлил қилинади.

Кириш

Фармакологик биокимё фани дори моддаларининг организмда метаболизмга учраши жараёнларини ўрганади. Бу борада фармакологик биокимё фани дори моддалари сифатини назоратлаш ва стандартлаш, уларни тахлиллаш ва ишлаб чиқариш, янги самарали дори моддаларини яратиш ва улар таъсирини баҳолашда биокимёвий билимлардан фойдаланади. Шу сабабдан бу фан бошқа фармацевтик фанлар- дори технологияси, фармацевтик кимё, фармакология, токсикология билан ўзаро боғлиқ.

Ҳар қандай дори моддаси организм кимёвий жараёнларига таъсир этиб ферментлар фаоллигини ўзгартиради, бу эса дори моддасининг таъсири самарасини баҳолаш ва асослаб беришда, турли патологик ҳолатлардаги ножўя ёки акс таъсирини тушунтиришда муҳим аҳамиятга эга. Дори моддалари организмга нисбатан ёт (бегона-ксенобиотиклар) ва табиий бўлган (аутобиоген) моддаларга бўлинади. Табиий моддалар организмда доимо мавжуд бўлганлиги сабабли ундаги биокимёвий жараёнларда бевосита иштирок этадилар.

Ксенобиотиклар одатда организмда учрамайдиган ёки жуда кам миқдорда бўлган моддалар бўлиб, синтетик йўл билан ёки бошқа организмлардан олинган бирикмалардир.

Биокимё фанининг дастлабки текширишлари бутун организмда олиб борилган бўлса, ҳозирги кунга келиб тажрибаларни алоҳида орган, тўқима, хужайра, хужайра таркибий қисмлари даражасида олиб бориш имконияти мавжуд. Бунда алоҳида органни ажратиб олиб, унинг табиий қон томир системаси орқали перфузат эритма юборилиб, унга тажрибавий модда қўшилганда юз берадиган ўзгаришлар кузатилиб борилади.

Дори моддалари метаболизмни ўрганиш учун эса тўқима кесмаларидан фойдаланиш жуда қулайдир. Бунда ажратиб олинган кесма организм суюқлигига яқин бўлган эритмада сақланиб, эритмага текшириляётган дори

моддаси кўшилади ва ундаги биокимёвий жараёнлар ўрганилади. Бу усул инкубациялаш усули деб аталади.

Агарда, текширишларни алоҳида хужайра ёки унинг таркибий қисмларида олиб бориш зарурияти бўлганда, тўқима кесмаларини гомогенизатор (Поттер гомогенизатори) асбоби ёрдамида яна ҳам майда қисмларга бўлиш мумкин. Бунинг учун гомогенатни юқори тезликда центрифугалаб, хужайра таркибий қисмларини алоҳида ажратиб олиш мумкин.

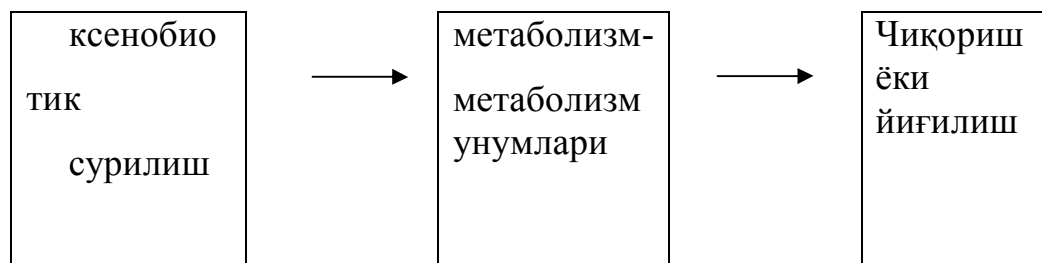
Тажрибалар бутун организмда олиб борилганда *in vivo*, унинг алоҳида қисмларида олиб борилса *in vitro* деб айтилади. *in vitro* усулида олиб борилган тажриба натижалари асосида *in vivo* жараёнларини кечиши тўғрисида тахминий хулоса чиқорилади.

Дори моддалари организмга тушгандан сўнг қон таркибидаги ҳар – хил биологик брикмалар билан боғланган ёки эркин ҳолда тарқалиши мумкин. Эркин ҳолдаги дори воситаларини тўқималарга кириши осон кечади. Қон оқсиллари билан боғланганлари эса қонда узокроқ вақт сақланиб, таъсир қилаш муддати ҳам давомлироқ бўлади. Дори моддаларининг қондаги концентрацияси доимо ўзгариб туради. Унинг қондаги миқдори тўқима ширасига ўтиши, буйракларда филтрланиши, ўт суюқлиги, тер, кўкрак сути, нафас чиқариш йўли билан ажралиши натижасида камайиб борса; ичакдан қайта сўрилиши, буйракда реабсорбцияланиши орқали ортиб боради.

Организмда дори моддасининг кимёвий тузилишини ўзгариш жараёни метаболизм ёки биотрансформация деб аталади. Метаболизм натижасида молекулалар заряди ўзгариши бу моддаларнинг фармакологик хоссалари ўзгаришига сабаб бўлади ва уларнинг организмдан чиқиб кетишини тезлаштиради. Биотрансформация натижасида дори моддаларининг фаоллиги ортиши, камайиши, ўзгармаслиги мумкин. Ксенобиотиклар организмда табиий бўлмаган жараёнлар орқали ўзгаришларга учрайди.

Ксенобиотиклар метаболизми асосан хужайралар эндоплазматик ретикулуми (ЭПР) даги ферментлар системаси ёрдамида амалга оширилади.

Дорилар метаболизмини қуйидагача ифодалаш мумкин;



Ксенобиотиклар метаболизмини ёки унинг метаболитларини биологик суюқликлардаги миқдорини уларнинг метаболизмида иштирок этувчи ферментларнинг фаоллиги ва кинетикасини аниқлаш орқали ўрганилади. Ксенобиотиклар метаболизми икки фазада кечади: модификация (носинтетик) ва конъюгация (синтетик). Модификация жараёнида дори моддасининг кимёвий тузилишида ўзгариш содир бўлмайди, лекин унга қўшимча функционал группалар киритилиши ёки ажралиб чиқиши мумкин. Бу босқичда модданинг эрувчанлиги ортади. Конъюгация босқичида эса хосил бўлган функционал группалар ферментлар иштирокида организмдаги молекулалар билан боғланади. Бунда бир қисми ксенобиотик ва иккинчи қисми организм молекуласидан иборат бўлган биомолекула хосил бўлади. Агарда ксенобиотик молекуласида функционал группалар бўлмаса бу модда конъюгацияга учрамайди, ёки аввалдан функционал группа бўлган бўлса, модификацияга учрамасдан тўғридан – тўғри конъюгацияланиши мумкин.

Ксенобиотикларнинг кимёвий тузилиши ва уларнинг ферментлар таъсирида кечадиган ўзгаришлари асосларини билган холда дори моддаларининг организмдаги метаболизми тақдирини аввалдан айтиш мумкин.

Дори моддаларини организмнинг қайси қисмида метаболизмга учрашига қараб ичак, тўқимадан ташқари, хужайра метаболизмларига ажратилади.

Ичак метаболизми ошқозон - ичак йўлларидаги гидролитик ферментлар ёрдамида амалга оширилади. Тўқимадан ташқари ёки гуморал метаболизм тўқималар аро суюқлик, қон, плазма, лимфа, орқа мия суюқлигида протеиназа, псевдохолинэстераза, фосфатаза каби гидролитик ферментлар ёрдамида кечади.

Тўқимавий ёки хужайра метаболизми хужайранинг турли таркибий қисмларида кўпинча эса эндоплазматик ретикулумда (хужайра ичи тўри) амалга ошади. Эндоплазматик ретикулум мембранасида ксенобиотикларни метаболизми учун керакли бўлган барча ферментлар мавжудлиги аниқланган. Организмда ксенобиотиклар асосан жигар эндоплазматик ретикулумида метаболизмга учрайди. Тўқималарни гомогенизациялаганда ЭПР мембраналари бўлакчалари бирлашиб, пуфакчалар шаклини олади ва у микросома деб номланади. Ксенобиотиклар метаболизми хужайранинг қайси таркибий қисмларида кечишига қараб, микросомал ва номикросомал метаболизмга ажратилади. Номикросомал метаболизм гиалоплазма, лизосомалар, пероксисомалар, митохондрияларда бориши мумкин.

I Дори моддалари биотрансформациясида (метаболизмида) жигар эндоплазматик ретикулумининг вазифаси.

Машғулот мақсади:

1. Микросомал фракция шаклида эндоплазматик ретикулум (ЭПР) мембранасини ажратиш услубини билиш.
2. Микросомалли гидроксилловчи ферментларни ўрганмоқ. Цитохром Р-450 ни спектрофотометрик услубда аниқлаш билан танишиш.
3. Цитохром Р-450 миқдорини дори моддалари таъсирида ўзгаришини кузатиш.

Цитохром Р-450 ни индукцияловчи фенobarбитал натрий юборилган каламуш жигари микросомаларида цитохром Р-450 микдорини аниқлаш.

Дори моддалари организмга тушгандан сўнг бир неча физиологик тўсиқлардан ўтиб, метаболик ўзгаришларга учрайди. Натижада уларнинг биологик фаоллиги пасаяди ёки бутунлай йўқолади, гоҳида эса, аксинча, фаоллиги ошиши мумкин. Дори моддаларининг биотрансформациясида энг асосий орган жигар эндоплазматик ретикулум ферментлари эканлиги аниқланган.

Одам ва хайвон организмида ксенобнотикларнинг умумий детоксикация жараёнида уларнинг метаболизмини катализловчи ферментлар ичида жигар микросоми гидроксилловчи комплекси марказий ўринни тутди. Бу оксидланиш реакцияси натижасида- яъни гидроксил группасини фармакологик препарат структурасига киргандан сўнг дори моддасини кутбланиши (эрувчанлиги) ошади ва уни буйрак орқали чиқиб кетиши енгиллашади. Микросомал гидроксилланиш системаси камида иккита каталитик қисмдан иборат: 1.Цитохром Р-450 ва 2.флавопротид. Флавопротид НАДФ-Н₂ иштирокида цитохром Р-450 қайтаради, шу сабаб уни НАДФ-цитохром Р-450 редуктаза, деб аталади. Цитохром Р-450 гемпротеид бўлиб, субстрат билан боғланади ва уларни электрон структураси ўзгаради.

Иккинчидан, цитохром Р-450 молекуляр кислородни фаоллаштиришда ҳам қатта аҳамиятга эга.

Кўпчилик дори моддаларининг таъсирини давомийлиги ва кучи уларнинг жигар ЭПР-да метаболизмга учраш тезлигига боғлиқ. Метаболизмга учратувчи ферментлар фаоллиги эса, ўз навбатида, диэтага, гормонал фонни ўзгаришига, фармакологик фаол дорилар таъсирига боғлиқ. Ҳақиқатан бир хил дорилар ферментлар фаоллигини оширади, бу эса ферментатив оқсиллар синтезини ошиши билан тушунтирилади ва “ферментатив индукция” деб аталади. Бунга ўхшаш кеснобиотиклар сони юздан ошиқ бўлиб, булар ичида

энг тўла ўрганилган цитохром Р- 450 индуктори фенобарбитал натрий хисобланиб, дорилар метаболизмини асосий йўллари индукциялайди. (ароматик гидросилланиш, О ва N деалкилланиш). Демак, жигар микросомалари дори моддаларининг метаболизмга учратибгина қолмай, бир вақтнинг ўзида ксенобиотикларни метаболизмида қатнашувчи ферментлар фаоллигини ҳам ўзгартирар экан. Булар ичида жигар ЭПРнинг монооксигеназли ферментатив системаси дориларнинг оксидланиш реакциясида алоҳида ўрин тутди. Яъни микросомал занжирида икки хил оксидланиш реакцияси кечади: табиий (аутобиоген) ва бегона (ксенобиотик) бирикмалар гидроксидланиш реакцияси ва тўйинмаган ёғ кислоталарининг пероксидли оксидланиш реакцияси.

Ксенобиотиклар метаболизмини ўрганишни икки хил йўли бор: 1) Юборилган ксенобиотикларнинг таркибий қисми ва миқдорини биологик суюқликларда ва экстрактларда аниқлаш.

2) Ксенобиотиклар метаболизмида қатнашувчи ферментлар фаоллигини аниқлаш ва шу ферментлар таъсир кинетикасини ҳар хил субстратларда ўрганиш.

Кўрсатилган иккала йўл эксперимент шароитида қўлланилади. Клиникада эса- дори моддаларининг метаболизми асосан уларнинг миқдори ва модда алмашинув унумларининг биологик суюқликларда аниқлаш билан ўрганилади.

Машғулот-1.

1 Микросомал фракцияни жигардан ажратиш, цитохром Р-450 ни аниқлаш *.

Услуг тартиби.

Эндоплазматик ретикулум (ЭПР) мембраналари микросома фракциялари сифатида (тўқималарни гомогенизация вақтида ЭПР мембраналари морфологик ёпиқ пуфакчаларга айланади) препаратив дифференциал центрифугалаш услуги билан ажратилади. Микросомалар-центрифугалаш жараёнида жуда ҳам секинлик билан чўкамага тушувчи субхужайра

заррачаси (бўлаги) ҳисобланади. Микросома олиш учун гомогенат аввало 15-20 минут давомида 10000-12000g центрифугаланади. Бунда хужайранинг парчаланган қисмлари (ядро, митохондрия, лизосома ва преоксисома, плазматик мембрананинг катта бўлаклари) чўкмага тушади. Чўкма усти суюқлиги (супернатант)ни яна 7800-10000 g 60-120 минут давомида центрифугаланса мембрана цитоплазматик тўри (ЭПР) чўкмага тушади. Бу йўл билан микросома олиш усули юқори тезликдаги вакуумли центрифугани талаб қилади.

Цитохром P-450 аниқлаш. Ушбу гемпротеидни қайтарилган ҳолатида СО билан комплекс ҳосил қилишига асосланган бўлиб, нурни максимум ютиши 450 нм тенг.

Текшириш материали:

1. интакт каламуш жигари.
2. 4 кун давомида хар куни қорин ичига 80 мг/мл цитохром р 450 индуктори фенобарбитал юборилган каламуш жигари.

Реактивлар:

1. 1.15 % КСІ эритмаси.
2. таркибида 10мМ трис-НС1 бўлган 0.25 М сахароза эритмаси рН 7.4
3. СаСl₂, кристалл холда.
4. таркибида 10 мМ трис-НС1 бўлган 0.150 М КСІ эритмаси, рН 7.4

Жиҳозлар:

1. Кимёвий пробиркалар.
2. Хажми 50 мл цилиндр.
3. Пипеткалар.
4. Центрифугаловчи пробиркалар.
5. Гомогенизатор.
6. Музли хаммом.
7. Центрифуга К-24.
8. Спектрофотометр СФ-20.

Амалий ишнинг бориши:

Каламушлар декапитация йўли билан жонсизлантирилиб, юрак орқали пастки ковак венага қўйилган канюла ёрдамида жигарни қондан тозалаш учун совутилган KCL эритмаси юборилади. Жигар майдаланиб, таркибида 10 mM трис бўлган 0.25 M сахароза эритмасида 1:9 хажмда pH 7.4 гомогенизацияланади. Жигарнинг 10 % ли гомогенати 12000 айланиш тезлигида 15 дақиқа давомида центрифугаланиб, ядро, лизосомалар, пероксисомалари чўктирилади. Чўкма ташланади, усти суюклигини ўлчаб олиб аралаштирилган ҳолатда кристалланган CaCl_2 ни концентрацияси 8 mM га етгунча қўшилади. Аралашмани 16000 айланиш тезлигида 15 дақиқа давомида центрифугалаб, микросомалар чўкмаси олинади. Чўкмага 1 мл 1.15 % KCl эритмаси қўшилиб, суюлтирилади ва қайта а 16000 айланиш тезлигида 20 дақиқа давомида ювилган микросомалар чўкмаси фракциясини олиш учун центрифугаланади. Чўкмани 1 мл 1.15 % ли KCl эритмасида суюлтирилади. Барча муолажалар 0-4 O C хароратда олиб борилади. Олинган микросомалар фракциясида дори моддалари метаболизмини, ферментлар фаоллигини ўрганиш мумкин.

Мустақил тайёрлашниш учун саволалар:

1. Фармакологик биокимё фани ва вазифалари. Фармакологик биокимёнинг назарий асослари, текшириш усуллари, йўналишлари, бошқа фармакологик фанлар билан боғлиқлиги.
2. Дори моддаларини кимёвий хоссаларига, юбориш усулига, организмнинг функционал ҳолатига кўра сўрилиши, тарқалиши ва чиқарилиши.
3. Ксенобиотикларнинг организмда тақдири: детоксикация, активлик ёки захарлиликнинг кучайиши, тўқималарга ташилиши.
4. Мембраналар, тузилиши, функцияси, метаболизми. Дори моддаларини хужайра ичига ўтишида мембраналарнинг ўрни.

Моддаларнинг мембраналар орқали транспорти (оддий диффузия, енгиллаштирилган диффузия, фаол транспорт). K^+ Na^+ га боғлиқ АТФазанинг тузилиши ва функцияси.

Машғулот 2.

Жигар микросомаларида цитохром Р450 ни миқдорини спектрофотометрик услуб билан аниқлаш.

Ксенобиотикларни метаболизмида жигар микросомалари гидроксилловчи ферментлар комплекси алоҳида ўрин тутди. Бу комплекснинг асосий таркиби цитохром Р450 ва флавопротеиддан иборат. Цитохром Р450 гемопроteid бўлиб, ксенобиотиклар билан боғланади ва уларнинг электрон тузилишини ўзгартиради. Ундан ташқари молекуляр кислородни фаоллаштиришда муҳим ўрин тутди.

Текшириш материали:

Каламушлар жигаридан тайёрланган микросомалар фракцияси (1 машғулотга қаранг).

Реактивлар:

1. Дитионин
2. СО гази

Амалий ишнинг бориши:

Аввалги машғулотда тайёрланган микросомалар эритмасида оқсил миқдорини (Лоури усулига кўра) аниқлаб олиб, таркибида 2 мг/мл оқсил бўлган суспензия тайёрланади. Цитохром Р450 миқдори Эстабрук бўйича дифференциал спектроскопия усулида икки нурли ёзиб олувчи спектрофотометрда аниқланади. Дитионин билан қайтарилган микросомалар суспензияси СО билан тўйинтирилади ва ундан дифференциал спектр ёзиб

олинади. Цитохром Р450 миқдори моляр экстинкцияси коэффициентини кўллаб $100 \times 10^3 \text{ м} - 1 \text{ см} - 1 \text{ дельта ОП } 450-520 \text{ нм}$ хисобланади.

Хисоблаш мисоли:

$$\frac{0,18}{100 * 10^3 * 2 * 10^3} = 0,9 * 10^{-9} \text{ (М цитохром Р450/мг оксил)}$$

Бу ерда:

0.18 - дельта ОП (450-500)

100×10^3 - цитохрома Р-450 моляр экстинкция коэффициенти 2 - мг/мл да оксил миқдори

10^3 - 1л да оксил миқдорига нисбатан

Амалий ишни хужжатлаш.

Тажриба	ЦитР450 Экстинкцияси кўрсаткичи	ЦитР450 оксилга кўра хисобланган миқдори	Хисоблаш %
Каламушлар жигари			
Контроль			

Амалий ишнинг моҳияти:

Микросомалар фракциясидаги цитохром Р450 ни фаоллигини аниқлаш микросомалардаги ксенобиотиклар метаболизмини ўрганишда, самарали даволаш усулларини ишлаб чиқишда муҳимдир.

Мустақил тайёрлаш учул саволлар:

1. Ксенобиотиклар метаболизмида иштирок этувчи ферментлар занжирининг хужайрада жойлашиши. Жигар эндоплазматик ретикулумнинг

тузилиши, фермент таркиби, ксенобиотиклар биотрансформациясидаги роли.

2. Цитохром P450 нинг индукция ва ингибирланиши. Турли дори моддаларнинг биотрансформацион кўшилувчанлиги хақида тушунча.

Машғулот 3

Каламушларга цитохром P450 ни индукцияловчи фенobarбитал натрий юбориб уни жигар микросомаларида аниқлаш.

Ксенобиотикларнинг метаболизми жигар эндоплазматик ретикулуми ферментлар фаоллигига, организмнинг турли ҳолатларига, гормонал ўзгаришларга боғлиқ. Баъзи ксенобиотиклар ЭПР даги ферментлар фаоллигини ошириши мумкин. Масалан, фенobarбитал натрий цитохром P450 синтезини кучайтиради ва фаоллигини оширади.

Текшириш материали: интакт ва фенobarбитал натрий юборилган каламушлар жигари.

Реактив ва жихозлар: 1 ва 2 машғулотдагилар.

Амалий ишнинг бориши:

Интакт ва фенobarбитал натрий юборилган каламушлардан жигар микросомалари аввалги машғулотдагидек тайёрланади. Цитохром P450 микдорини 2 машғулотда ёзилганидек иккала каламуш жигарида аниқланади. Олинган натижалар жадвалга ёзилиб, солиштирилади.

Цитохром P450 микдори хисоблаш протоколи:

Вариант	P экстинкция	Мг/мл	н моль/мг оксил	%
Контроль				

Интакт каламуш				
ФБН юборилган каламуш				

Амалий ишнинг моҳияти.

1. Дори моддалари биотрансформациясини ўрганиш уларни турли касалликларни даволашда самарали йўллари ишлаб чиқишда муҳимдир.

2. Дорилар метаболизмини микросомал фракция орқали *in vitro* ўрганиш организмда кечувчи метаболизм жараёнларини пробиркада моделлаштириш имконини беради.

Машғулот- 4.

Микросомаларнинг нафас олиш фаоллигини аниқлаш.

Машғулот мақсади. Микросомаларни нафас олиш жараёни шу моддаларнинг кислород билан оксидланиши натижасида сув ҳосил бўлишидан иборат бўлиб, реакция давомида истеъмол қилинган кислород ёки қайтарилган НАДФ, НАД миқдорини аниқлаш билан ўлчанади.

Реактивлар. Калий хлориднинг 1,15 % ли эритмаси, 0,1 м трис буфер эритмаси, РН-7,4 *; кальций хлориди 0,04 м эритмаси; НАДФ.Н-янги тайёрланган 10 мМ ли эритмаси; янги тайёрланган НАДН ни 1 мМ эритмаси.

Жихозлар: 1. Кимёвий пробиркалар

2. Цилиндр-25 мл

3. Пипеткалар 0,1; 1,5; 10 мл

4. Центрифугали пробиркалар

5. гомогенизатор

6. Фильтр қғози

7. Центрифуга ЦЛР

8. Аптека тарозуси

9. Петр косачаси

10. Флуороскоп

Текшириш материали. Янги хайвон жигари.

Микросомаль фракцияни жигардан ажратиб олиш.*

Услуб жигар субхужайра қисмларини центрифугалаганда уларнинг ўлчами ва зичлигига қараб ҳар хил чўкиш тезлигига асосланган. Чўктиришда кальций хлорид қўшилади.

Ишнинг бажарилиши. Янги олинган хайвон жигари шприц ёрдамида калий хлорид эритмаси билан қондан ювилади, филтр қоғозида қуритилиб, музда сақланаётган Петр косачасига солинади. 3 г жигар тўқимасини қайчи билан майдалаб, 9 мл совутилган калий хлорид эритмаси қўйилган гомогенизатор стаканига солинади ва айланиши тезлиги минутага 1000 га тенг шароитда майдаланади. Гомогенат иккита центрифуга пробиркаларига қуйилиб, ЦПР да 10000 g давомида 0-4⁰ С 20 мин центрифуга қилинади. Чўкма усти суюқлиги бошқа центрифугали пробиркалага қуйилиб, устига нисбати хажми бўйича 1:5 бўлган кальций хлорид эритмаси қўшилади. Аралаштириб, яна 15 мин давомида 0-4⁰ С 3000 g да центрифугаланади. Чўкма усти суюқлиги олиб ташланиб, микросома сақловчи чўкмага 3 мл трис –буфер эритмаси қўшилади ва суспензия тайёрланади.

Жигар микросамалари нафас олиш фаоллигини флуориметрик услубда аниқлаш.

Ушбу услуб микросома препаратлари билан оксидланаётган НАДФН ёки НАДН ларнинг флуоресценция тезлигини пасайишини кузатишга асосланган. (1-3 ишлардаги услубдан ҳам фойдаланиш мумкин)

Ишнинг бажарилиши. Иккита пробиркага 2,8 мл трис-буфер қуйилади. Сўнгра уларнинг биттасига 0,1 мл тайёрланган микросома суспензияси, иккинчисига эса 0,1мл дистилланган сув қўшилади (назорат). Иккила пробирка олдиндан уланган флуороскоп штативларига ўрнатилиб, уларга 0,1 мл дан НАДФН ёки НАДН эритмаси қўшилади ва тезликда шиша

таёқча билан аралаштирилиб, пробиркалардаги флуоресценцияни ўзгариши кузатилади.

Ишни хужжатлаш. Флуоресценцияни ўзгариши бўйича микросомаларда нафас олиш функцияси борлигини кўрсатиш.

Амалий ишнинг моҳияти. Микросомаларни ажратиш-илмий-тадқиқот текширишларида уларнинг нафас олиш ва бошқа функцияларини ҳар хил физиологик ва паталогик шароитларда, шулар қатори дорилар ва захарли моддалар таъсирини ўрганишда фойдаланилади.

Машғулот- 5.

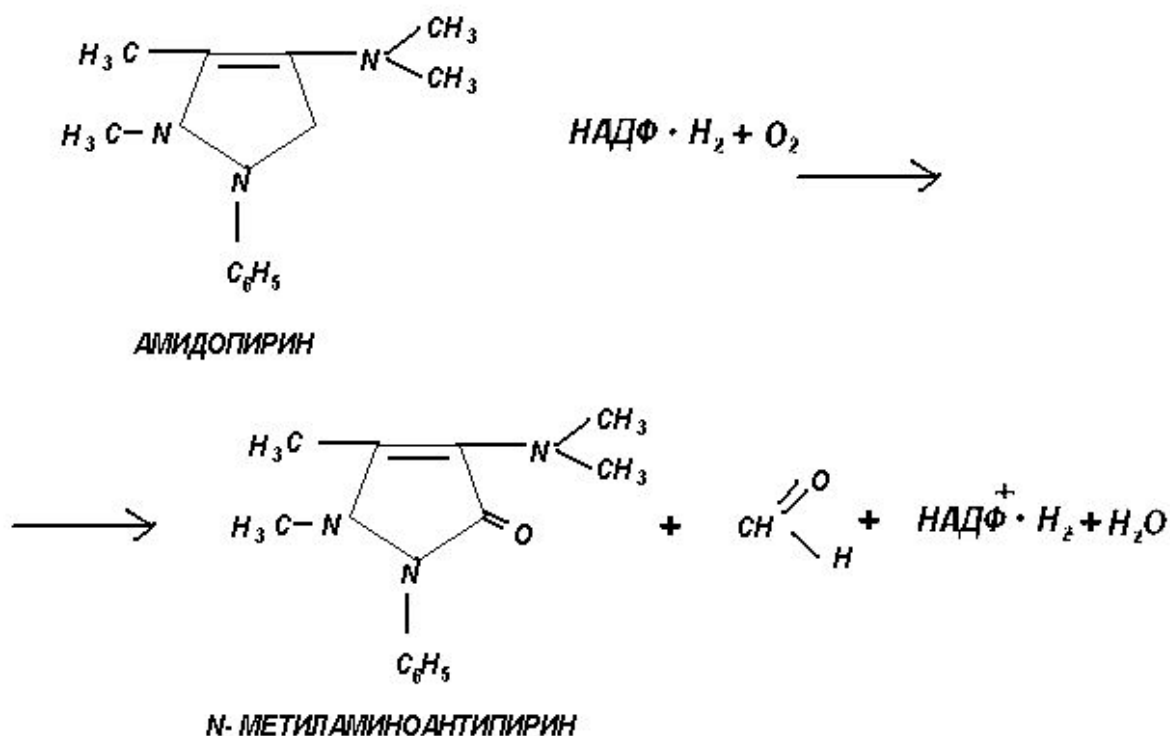
Жигар микросомаларида оксидланишли N-деметилланишни
Наша услуби бўйича текшириш.

Машғулот мақсади: микросомаларда дори моддаларининг оксидланишли N-деметилланиш йўли билан инактивланишини жигар монооксигеназа системаси иштирокида ўрганиш.

Реактивлар: натрий гидроксид 3 %-ли эритма; биурет реактиви*;
Трис-буфер 0,1 м эритма; рН 7,4 *;НАДФН, янги тайёрланган 1 мМ эритма;
магний хлорид, 2,5 мкМ эритма; амидопирин 80мМ эритма;
Цинк сульфат 2,5 % -ли эритма;
Барий гидроксид тўйинган эритма;
Реактив Наша*

Жиҳозлар: пробиркалар, пипеткалар 0,1; 0,5 ва 5 мл,
спектрофотометр.

Текшириш материали: 4 машғулотда олинган жигар микросома суспензияси. Текшириш услуби микросомаларда амидопиринни оксидланишли N-деметилланиши натижасида ҳосил бўлган формальдегид миқдорини ўлчашга асосланган.



Формальдегид наша реактиви билан сариқ рангли комплекс ҳосил қилади.

Ишнинг бажарилиши. Аввало микросомал фракцияларда оксил миқдори аниқланади. Бунинг учун пробиркага 0,05 мл микросома суспензияси олиниб, устига 3,95 мл натрий гидроксид эритмаси ва 0,2 мл биурет реактиви қўшилади, яхшилаб аралаштириб, 30 минутдан сўнг тажриба намунаси контролга нисбатан (контроль 4 мл NaOH эритмаси ва 0,2 мл биурет реактиви) СФ да 330 нм, қалинлиги 1 см бўлган кюветада ўлчанади. Экстинкция кўрсаткичи 0,30-0,60 бўлганда 0,1 мл микросома суспензиясида оксил миқдори 2-4 мг га тўғри келади. Агарда экстинкция кўрсаткичи юқори бўлса, керак бўлган оксил концентрациясини олиш учун микросома суспензиясини трис-буфер билан суюлтириш лозим. Тажриба ва контроль пробиркаларга 0,4 мл дан трис-буфер эритмаси ва магний хлорид, 0,2 мл дан НАДФН ва 0,1 мл микросома суспензияси солинади ва аралаштирилади. Тажриба намунасига 0,11 мл амидопирин эритмаси қўшилади, контроль пробиркага эса- олдин 0,25 мл дан цинк сульфат ва барий гидроксид эритмалари, сўнгра 0,11 мл амидопирин қўшилади. Иккала пробирка

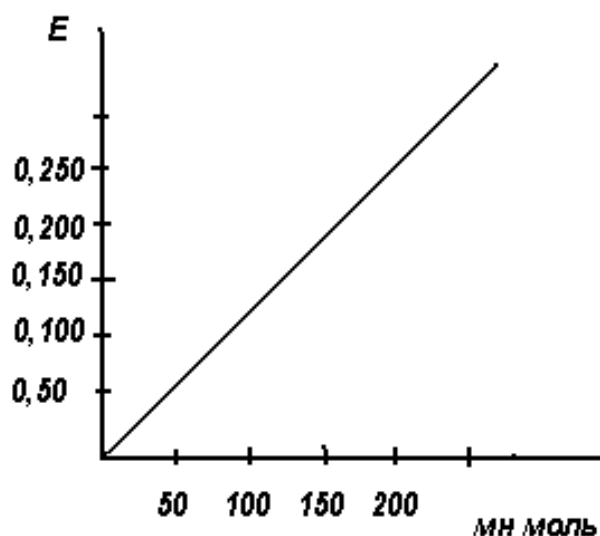
ичидагилари аралаштирилиб, 20 мин 37° С сув ҳаммомига қуйилади ва вақт-оралиғида намуналар чайқатилиб турилади.

Инкубация муддати тугагач, тажриба намунасига 0,25 мл дан цинк сульфат эритмаси ва борий гидроксид қўшилиб, реакция тўхтатилади, яхшилаб аралаштириб, иккала намуна 10 минут давомида 3000 айланиш/ мин центрифугирланади. Иккита янги пробиркага 1мл чўкма усти суюқлиги олинади ва улар устига 2 мл дан Наша реактиви қўшилиб, 45 мин. 37° С ли сув ҳаммомида сақланади. Сўнгра тажриба намунасини экстиницияси контрольга нисбатан қалинлиги 1 см бўлган кюветада СФ да 412 нм да ўлчанади.

Ҳисоблаш. қуйидаги формула бўйича ўтказилади.

$$X = aV * 1,71 * 333 / 20 * 0,1 * 1000$$

Бунда –X- амидопиринни N-деметилланиш тезлиги, мк моль/мин.кгжигар; а-калибрловчи графикдан топилган формальдегид миқдори (расмга қаранг-№1), н моль; V-микросома суспензиясининг трис-буфердаги хажми, мл; 1,71-инкубацион аралашма хажми, мл; 0,1 –текширишга олинган микросома суспензиясининг хажми, мл; 20-мин, инкубация вақти; 333-1кг жигар тўқимаси учун қайта ҳисоб коэффиценти; 1000-нмоль ни мкмоль га ўтказиш ҳисоб коэффиценти.



Расм 1. Формальдегид миқдорини аниқлаш учун калибрлаш графиги.

Ишни хужжатлаш: Амидопиринни микросомаль оксидланиш тезлигини хисоблаш. Хулосада ушбу жараённинг аҳамиятини кўрсатиш.

Амалиш ишнинг моҳияти. Ксенобиотикларнинг микросомалар монооксигеноза занжирида оксидланишини текшириш- бу жараённи норматологияда аҳамиятини билиш билан бирга ҳар хил моддаларнинг организмга таъсир қилиш йўллари урганишга, уларни метаболизми, захарлилиги ва улардан ҳосил бўлган унумларини организмга таъсирини билиш имкониятини яратади.

Машғулот -6

Жигар микросомаларининг гидроксилаза фаоллигини Кото ва Жилете услуби бўйича аниқлаш.

Машғулот мақсади: микросомалар монооксигеназа ферментлар системасининг цитохром Р-450 иштирокида гидроксилланиш жараёнини дорилар инактивациясидаги аҳамиятини аниқлаш ва дорилар метаболизми унумларининг организмдан чиқиб кетиш йўллари билиш.

Реактивлар: 1. Трис-НСl буфер, 0,08 м эритма рН 7,4%*;

2. магний хлорид, 0,16 м эритма;

3. қайта хайдалган анилин 0,03 м эритма;

4. учхлорсирка кислота (ТХУК), 15 % -ли эритма;

5. натрий карбонат, 10 % -ли эритма;

6. 0,2 м гидроксид натрий эритмасидаги 2 %-фенол эритмаси;

7. НАДФ.Н 0,03 м эритмаси;

8. Биурет реактиви*;

9. натрий гидроксид, 3 %-ли эритма;

10. микросомаларни ажратиш реактивлари (4-нчи машғулотда кўрсатилганидек);

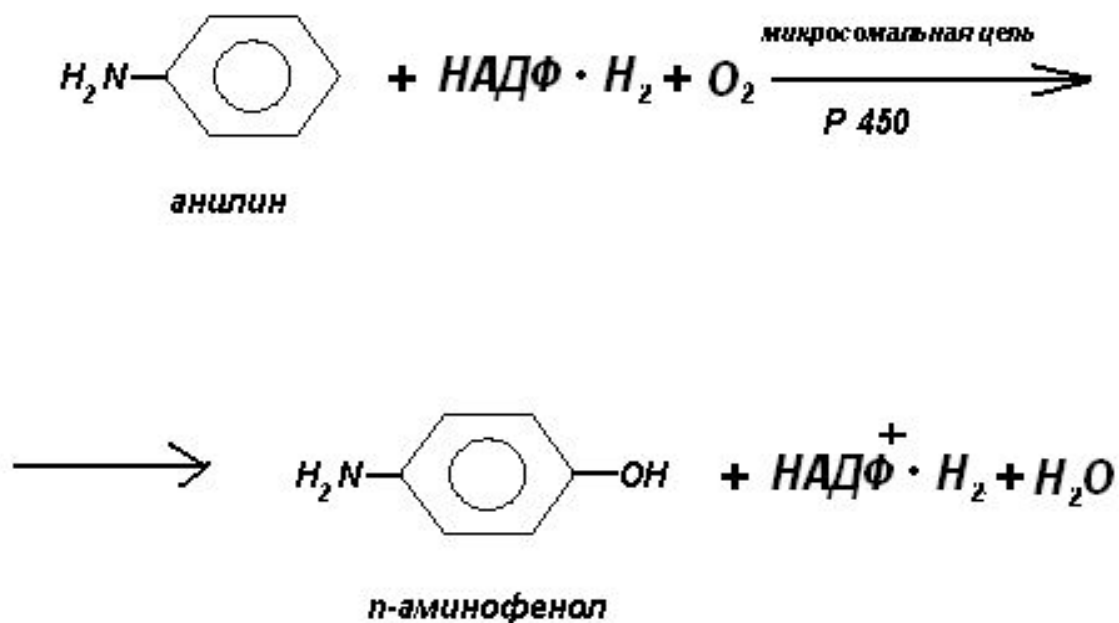
11. 4-аминофенол калибрлаш графиги қуриш учун янги тайёрланган эритма; (5,45мг/г)

Жихозлар: пробиркалар; пипеткалар-0,1; 0,2; 1 ва 5 мл; сув хаммоми; лаборатория центрифугаси (центрифуга тарозуси билан) рефрижераторли центрифуга ЦЛР;

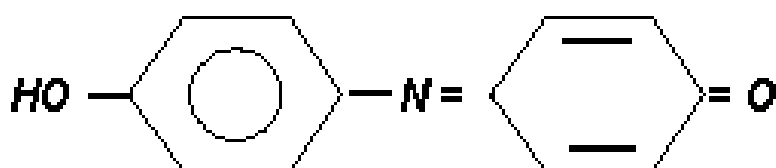
ФЭК (КФК-2 типдаги) ёки СФ.

Текшириш материали. Янги олинган хайвон жигари.

Услубнинг асоси: Микросомалар монооксигеназа системасида цитохром Р-450 иштирокида анилинни гидроксилланишидан ҳосил бўлган 4-аминофенол миқдорини аниқлаш.



4-аминофенол фенол билан ўзаро таъсирланиб, натрий карбонат иштирокида кўк рангли индефенол комплекси ҳосил қилади.



Ишнинг бажарилиши: Жигар микросомаси 4-машғулота кўрсатилганидек ажратилади ва унинг таркибидаги оксил миқдори аниқланади. Бунинг учун пробиркага 0,05 мл микросома суспензияси олиниб, 3,95 мл натрий гидроксид эритмаси ва 0,2 мл биурет реактиви қўшилади.

Аралашма шиша таёқча билан аралаштириб, 30 мин.дан сўнг контрольга (4 мл натрий гидроксид + 0,2 мл биурет реактиви) нисбатан ФЭК да ёки СФ 330 нм да экстинкцияси ўлчанади. Оксил миқдори калибрловчи график ёрдамида ҳисобланади. (Оксил миқдори 0,1 мл микросома суспензиясида тахминан 2-4 мг бўлиши керак).

Анилинни гидроксилланишини ўрганиш учун 2 та тоза пробирка олиниб, тажриба ва контроль намуналари тайёрланади.

Қуйидаги жадвалда реакция таркибий қисмларини солиш кетма-кетлиги ва уларнинг ҳажми келтирилган.

Контроль		Тажриба	
Моддалар	ҳажми	моддалар	ҳажми
Трис-НСl буфер	0,4	Трис-НСl буфер	0,4
Магний хлорид	0,4	Магний хлорид	0,4
Микросома суспензияси	0,1	НАДФН	0,2
Учхлорсирка кислотаси (ТХУК)	0,5	Микросома суспензияси	0,1
Анилин	0,11	Анилин	0,11
НАДФН	0,2		

Иккала пробиркани 20 мин давомида 37⁰ С да сув ҳаммомида ушлаб, сўнгра тажриба намунасига реакцияни тўхтатиш учун 0,5 мл учхлорсирка кислотаси

томизилади. Сўнгра иккала намуна 10 мин давомида 3000 айланиш/мин. центрифугирланади. Ҳар бир намунанинг чўкма усти суюқлигидан 1 мл олиниб, бошқа 2 та пробиркага солинади, иккаласига 0,5 мл натрий карбонат ва 1,5 мл дан фенол эритмаси қўйилади, чайқатилиб, аралаштирилади. Ранг хосил бўлиши учун пробиркалар 30 мин га 37⁰ С сув ҳаммомида ушланади. Сўнгра қизил светофильтрада ФЭК ёки СФ да 630 нм экстинкцияси ўлчанади. Калибрловчи график тузиш учун эритмалар сериясини қуйидаги жадвал бўйича тайёрланади.

пробиркалар	4-аминофенол мл	Сув мл	Na ₂ CO ₃ мл	Фенол мл	4-аминофенол миқдори тажриба. н моль
1.	0,1	0,9	0,5	1,5	5,0
2.	0,2	0,8	0,5	1,5	10,0
3.	0,3	0,7	0,5	1,5	15,0
4.	0,4	0,6	0,5	1,5	20,0
5.	0,5	0,5	0,5	1,5	25,0
6.	0	1.0	0,5	1,5	0(контроль)

Сўнгра пробиркалар 30 минт га 37⁰ С сув ҳаммомига қўйилади ва юқорида кўрсатилганидек экстинкцияси ўлчаниб (контролга нисбатан), калибрловчи график тузилади.

Ҳисоблаш. Формула бўйича ўтказилади,

$$X = AV/20m,$$

бу ерда x - гидроксилаза фаоллиги нмоль/(мин.мг.белка);

A-4-аминофенолнинг калибрловчи графикдан топилган тажриба намунасидаги миқдори нмоль; V-намуна ҳажми, 1,71 мл га тенг; 20-инкубация вақти, мин; m-намуна таркибидаги оқсил миқдори, мг.

Амалий ишнинг моҳияти. Жигарнинг микросомаль занжирини оксидланиш функциясини нормаль ва патологик ҳолатларда ўрганишда ҳар

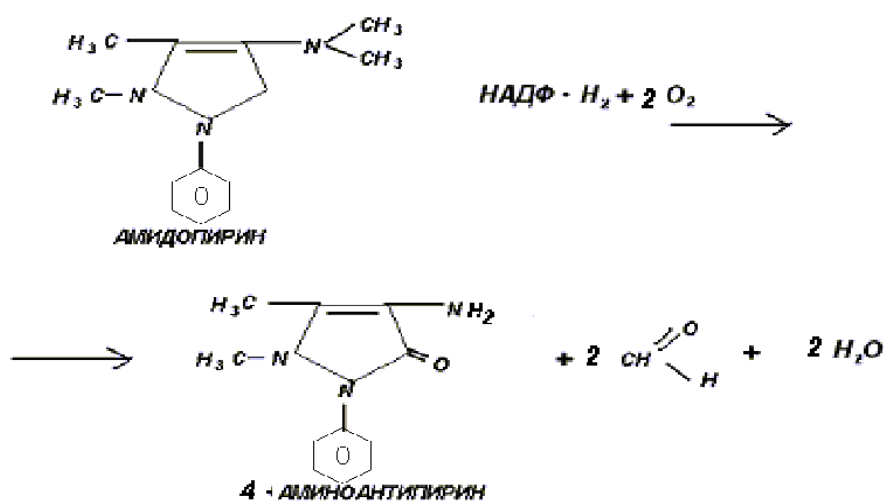
хил субстратлардан фойдаланилади, уларнинг метаболик ўзгаришлари асосан цитохром Р-450 иштирокида кечади.

Гидроксилланиш реакцияси тезлиги кўпчилик ташқи факторлар (радиация, гипероксия, гипоксия, тўртхлор кислотаси билан захарланиш ва бошқа) ва бошқариш субстратлари (витаминлар, гормонлар) таъсирида ўзгаради. Микросомаларнинг гидроксилаза фаолиятини ўзгариши хақида тўла маълумотга эга бўлиш учун ҳар хил дори моддаларини патологияда цитохром-Р-450 субстрати сифатида ўрганилади.

Машғлот 7.

Т.А.Попов ва О.Д.Леоненко услубида жигар эндоплазматик тўри монооксигеназаси фаоллигининг амидопирин метаболитларини сийдик билан ажралиши бўйича баҳолаш.

Машғулот мақсади: Амидопирин метаболизми оксидланиш ва конъюгация каби ферментатив реакциялар ёрдамида бажарилади. Булардан биринчиси (N-деметилланиш) жигар эндоплазматик тўрининг монооксигеназали ферментлар системаси билан қуйидагича катализланади.

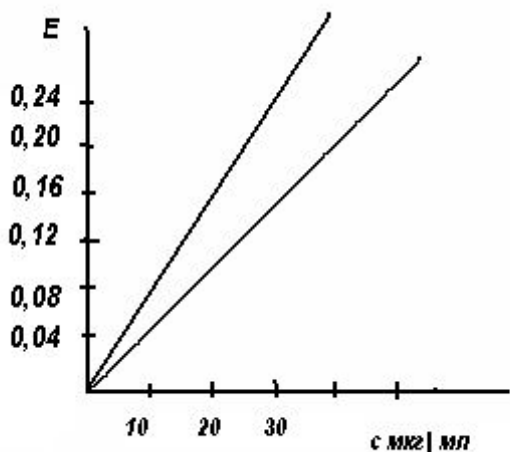


Сўнгра 4-аминоантипирин тегишли N-ацетилтрансфераза ва ацетил-КоА иштирокида ацетилланиш реакциясига берилади.

Ишнинг бажарилиши: Иккита пробиркага 1,5 мл. дан филтрланган сийдик олинади. Биринчисига, эркин 4-аминоантипиринни аинқлаш учун, 0,3 мл аммиакли буфер солинади, иккинчи пробиркага, метаболитларнинг умумий миқдорини аниқлаш учун (яъни– 4 аминиантипирин ва N-ацетил-4 аминоантипирин йиғиндиси) 0,3 мл хлорид кислотаси томизилади. Намуналар аста чайқатилиб, аралаштирилади. Биринчи пробирка ичидаги 15 мин дан сўнг қоғоз филтр орқали филтрланади; иккинчи пробирка фольгага ўралган пробка билан бекитилиб 15 мин.га қайнаб турган сув ҳаммомига ўрнатилади, сўнгра тезликда муз солинган сувда совутилиб, гидролизат шишали филтр орқали бошқа пробиркага филтрланади. Биринчи пробиркадан 0,6 мл филтрат тоза пробиркага олиниб, кетма-кет 0,5 мл учхлор сирка кислотаси эритмаси, 2 мл фенол эритмаси ва 0,1 мл калий гексацианферрат эритмалари қўшилади. Намуна ичидагилари аралаштирилиб, 10 мин.дан кейин (лекин бир соатдан кеч бўлмаган вақтда) ФЭК да (кўк светофилтрда) ёки СФ да 510 нмда 1 см қалинликдаги кюветада контрольга нисбатан экстинкцияси ўлчанади. (контрольда ҳамма компонентлар бўлиб, фенол ўрнига 2 мл дистилланган сув солинади). Олинган экстинкция (E_1) сийдикдаги 4-аминоантипирин миқдорига тўғри келади. Иккинчи намунани филтрланган гидролизатига 0,6 мл аммиакли буфер қўшиб аралаштирилади ва яна қайтадан қоғоз филтр орқали филтрланади.

Тиниқ филтратдан 0,8 мл тоза пробиркага олиниб, устига кетма-кет 0,2 мл дистилланган сув, 2 мл фенол эритмаси ва 0,1 мл калий гексацианоферрат (III) қўшилади. Пробирка ичидагилари аралаштирилиб, 10 мин.дан сўнг иккинчи намунани экстинкцияси ФЭК ёки СФ-да биринчи намуна сингари ўлчанади. Кўрсатилган экстинкция (E_2) сийдик таркибидаги метаболитларнинг умумий миқдорига (4-аминоантипирин ва N-ацетил-4 аминоантипирин) тенг бўлади.

Ҳисоблаш. Амидопирин метаболитларининг сийдикдаги миқдори ва ксенобиотикларнинг ўзгаришида (метаболизмида) қатнашувчи жигар ферментлар системасини фаоллигини кўрсатгичи калибрланган график бўйича ҳисобланади. График тузишда 5 та пробирканинг ҳар бирига 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; ва 0,4 мл дан 4-аминоантипириннинг стандарт эритмаси солиниб, умумий ҳажми 5 мл га етгунча дистилланган сув ва 1 мл дан аммиак буфери қўшилади. Аралаштириб, филтрланади ва 0,6 мл филтрат олиниб, унга сийдикдаги эркин 4-аминоантипиринни аниқлашдаги (биринчи тажрибали намуна) бажарилган ишлар қайтарилди. Олинган экстинкция кўрсаткичлари 4 –аминоантипириннинг 5,10,20,30 ва 40 мкг/мл концентрациясига борабор.



(Намунавий калибровчи графиги расм 2 да келтирилган)

E_1 бўйича ажратилган 4-аминоантипириннинг умумий миқдори топилади ва унинг намунадаги миқдорини бир суткалик сийдик ҳажмига кўпайтирилади (мл-да). Шунга ўхшаш E_2 бўйича амидопириннинг умумий миқдори бир суткадаги ажратилган сийдикда аниқланади.

Расм 2. Калибровчи график, 4-амино-антипирин миқдорини аниқлаш учун.

Жигар монооксигеназасининг нисбий фаоллиги юборилган амидопиринни миқдори фоизларда (%) формула бўйича $A \cdot 100\% / B$ ҳисобланади.

Бунда А-бир суткада сийдик билан ажратилган метаболитлар умумий миқдори; В-хайвонга юборилган амидопирин миқдори:

Организм ферментлар системасининг ацетилловчи фаоллиги

Х(%-ларда) формула : $X = (E_2 - E_1) \cdot 100\% / E_1$ бўйича топилади,

Бунда E_1 ва E_2 тажриба намуналарининг экстинкция кўрсаткичи.

Ишни хужжатлаш. Текширилаётган ҳайвонларда N-деметилланиш ва ацетилланиш ферментлар системасининг нисбий фаоллиги ҳисобланиб, мазкур услубнинг амалий аҳамияти бўйича хулоса чиқарилади.

Амалий ишнинг моҳияти. Кўпчилик бирикмалар конъюгациясида иштирок этувчи жигар гидроксилловчи ферментлар системасини ўрганиш организмга тушувчи ҳар хил ксенобиотикларнинг биотрансформация натижасида ҳосил бўлган метаболитларини таркиби ва миқдорини баҳолашга ёрдам беради. Бундай услублар клиникада жигар детоксикацияловчи функциясини ўзгаришини барвақт билишга, ҳар хил захарли моддалар ва дориларнинг гидроксилланиш ва ацетилланиш ферментлар системасига таъсирини аниқлашда қўлланади.

Мустақил тайёрланиш учун вазифалар:

1. Жигар микросомаларининг гидроксилловчи комплекси.
2. Гидроксилловчи ферментлар комплексини молекуляр тузилиши.
3. Гидроксилловчи комплекс реакциялари.
4. Фармакопрепаратлар тузилиши ва уларнинг хужайра ферментлар системаси таъсирида ўзгариш йўллари: оксидланиш, қайтарилиши, гидролиз.
5. Ксенобиотикларнинг эндоплазматик ретикулумда оксидланишини НАДФ.Н га боғлиқ бўлган реакциялари.
 - А) N-, S-, O-деалкинланиш,
 - Б) алифатик углеводородларнинг гидроксилланиши,
 - В) ароматик углеводородларнинг гидроксилланиши,
 - Г) гетероциклик бирикмаларнинг гидроксилланиши.
6. Ксенобиотикларнинг НАД.Нга боғлиқ бўлган оксидланиши
7. Ксенобиотикларнинг қайтарилиш реакциялари.

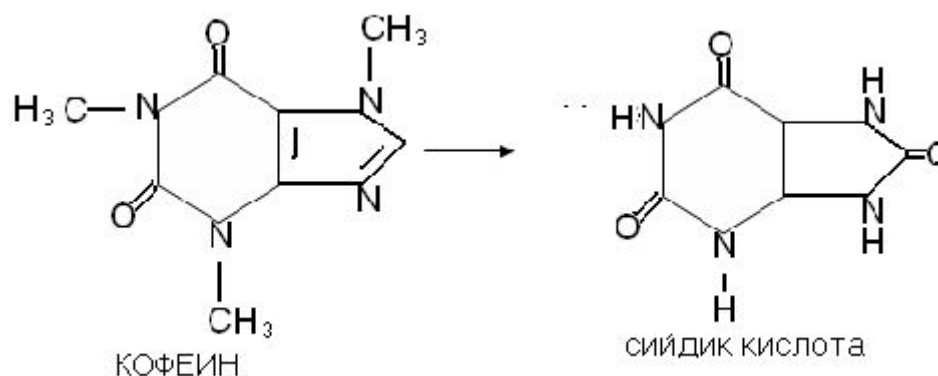
Машғулот 8.

Интакт ва фенобарбитал юборилган каламушлар қонида кофеиннинг охирги метаболити бўлган сийдик кислотасини Мюллер ва Зейферт услубида аниқлаш.

Амалий ишдан мақсад.

Организмда кофеин жигар ЭПР ида уч марта N-деметилланиши ва C8-гидроксилланиши натижасида унинг сўнги метаболити сийдик кислотаси ҳосил бўлади. Маълумки, ҳайвонлар фенобарбитал натрий қабул қилганда цитохром P450 нинг синтези кучайиб, гидроксилаза комплексининг фаоллиги ортади.

Организмда сийдик кислотаси пурин ҳосилаларидан ҳосил бўлиб ўртача миқдори 2-4 мг%ни ташкил қилади.



Амалий ишнинг мақсади.

Интакт ва фенобарбитал қабул қилган каламушлар қонида сийдик кислотаси миқдорини кофеин инъекциясидан кейин 30, 60, 120 дақиқада ўзгаришини аниқлаш.

Услубнинг асоси.

Сийдик кислотаси таркибида фосфорли вольфрам бўлган Фолин реактивини қайтарилиши натижасида вольфрамнинг кўк рангли оксидлари ҳосил бўлади ва рангнинг интенсивлиги сийдик кислотаси миқдорига пропорционалдир.

Текшириш материали:

Амалий ишни бажаришда уч гурух хайвонлар (оқ каламушлар) ишлатилади:

- 1 гурух - контрол гурухи , - норма
- 2 гурух - қорин оркали 25 мг/кг миқдорида кофеин юборилган интакт оқ каламушлар.
- 3 гурух - 4 кун давомида хар куни 80 мг/кг миқдорда фенобарбитал натрий қабул қилган оқ каламушларга 25 мг/кг миқдорда кофеин юборилган.

Реактивлар:

1. 10% ли учхлор сирка кислотаси (ТХУК)
2. Na_2CO_3 нинг тўйинган эритмаси.
3. Фолин реактиви

Жихозлар:

1. Пробиркалар,
2. Центрифугаланувчи пробиркалар
3. Хажми 1, 2, 5 мл ли пипеткалар
4. Центрифуга
5. ФЭК

Амалий ишнинг бориши:

Кофеин юборилгандан кейин каламушлардан 30, 60, 320 дақиқада дум венасидан қон олиниб, сийдик кислотасини аниқлаш учун зардоби центрифугалаш йўли билан ажратилади. 7 та центрифугаланувчи пробиркага 1,5 мг дан интакт ва тажриба зардоби солиб 1,5 мл учхлор кислотаси билан қон оқсиллари чўктирилади ва 10 дақиқадан сўнг 3000 айланиш тезлигида 10 минут давомида центрифугаланади. 1,5 мл центрифугатга 0,7 мл тўйинган Na_2CO_3 ва Фолин реактивидан бир томчи солинади. 10 дақиқа ўтгач хар бир пробиркага 2,8 мл сув солиб аралашма хажмини 5 мл га етказилади. Хосил булган кук ранг интенсивлиги ФЭК да қизил филтёрда қалинлиги 5 мм бўлган кюветада сувга нисбатан нур ютилиш узунлиги ўлчаниб, контроль билан солиштирилади.

Хисоблаш:

$$\text{Сийдик кислота} = C \times 2 \times 100 / 1,5 \times 1000 = (\text{мг}\%)$$

Бунда: С – стандарт эгри чизиғи бўйича аниқланган сийдик кислотаси концентрацияси, мкг да.

1000 - мг га ўтказиш.

100 - % хисобига ўтказиш.

Контроль ва тажриба гуруҳидаги каламушлар қонидаги сийдик кислотасининг миқдори кофеин юборилгандан кейинги олинган вақтига нисбатан солиштирилади. Фенобарбитал натрийнинг кофеин метаболизмида иштирок этувчи цитохром Р-450 нинг синтезига таъсири ҳақида хулоса қилинади.

Тажрибавий каламушлар қонидага сийдик кислотаси миқдори {мг%}

Тажриба	0 дақиқа	30 дақиқа	60 дақиқа	120 дақиқа
Интакт				
Кофеин юборилган				
ФБН+ кофеин юборилган				

Амалий ишнинг моҳияти:

Дори моддалари фармакокинетикаси ва метаболитларини ўрганиш уларнинг даволовчи ва токсик хусусиятларини тавсифлашда ва даволашнинг самарали усулларини яратишда муҳимдир.

Ишни ҳужжатлаш.

1. Теманинг номи.
2. Машғулотдан мақсад
3. Ишнинг бажарилиши
4. Хулоса

Нормада сийдик кислотасининг қон зардобидаги миқдори 0,10-0,40 ммоль/л, сийдик билан суткада 2,36-5,9 м моль ажралади.

Сийдик кислотасининг миқдори ҳар хил патологик ҳолатларда – нуклеопроteidларни парчаланиши билан боғлиқ (диабет, лейкоз, аллергия ва бошқалар). Айниқса унинг миқдори подагра касаллигида қонда юқори даражада кўпайиб (урикемия), тузлари бўғин юзаларида тўпланади ва қаттиқ оғриққа сабаб бўлади. Миқдорини камайиши анемия касаллигида ва пиперазин, атофан, салицилатлар, кортикотропин (АКТГ) каби дорилар қабул қилингандан сўнг кузатилади.

Мустақил тайёрланиш учун саволлар:

1. Дори моддалари ва биомолекулалар. Дори моддаларининг организмда метаболик ўзгаришлари.

2. Жигар - дори моддалари ўзгариши кечадиган асосий орган. ЭПР ферментлари тизими ва унинг дорилар биотрансформациясидаги ўрни.

3. НАД Н ва НАДФ Н га боғлиқ электрон узатув занжирлари, улар орасидаги боғлиқлик. Цитохром Р450 нинг оксидланиш-кайтарилиш реакцияларидаги роли.

4. ЭПР да дорилар ўзгаришида иштирок этувчи асосий реакциялар турлари.

Алифатик бирикмаларни С-гидроксидланиши. Оксидланувчи деалкилланиш, дезаминланиш.

9-10 машғулот.

Экспериментгал хайвонлар сийдигида сульфадимезин ва унинг метаболитлари миқдорини аниқлаш.

Машғулот мақсади. Сульфадимезин препарати қабул қилган (перорал) оқ каламушлар сийдигида 12 соатдан сўнг эркин сульфадимезиннинг, унинг ацетилланган унумини ва сульфадимезин глюкуронидини аниқлаш.

Сульфадимезин препаратлари организмда бўлиш вақтига қараб қисқа, ўрта, узоқ ва ўта узоқ вақт таъсир этувчи гуруҳларга бўлинади. Бу препаратларнинг организмда таъсир давомийлиги уларнинг буйрак экскрецияси хусусиятига боғлиқ. Узоқ вақт таъсир этувчи препаратлар буйрак коптокчаларидан филтрланиб, буйрак найчаларида 80-90% қайта сўрилади.

Бир қатор дорилар организмда параллел ва кетма - кет бир неча йўллар билан метаболизмланиши мумкин. Масалан, сульфаниламидлар бир вақтнинг ўзида гидроксилланиши ва сирка кислотаси билан конъюгацияланиши мумкин.

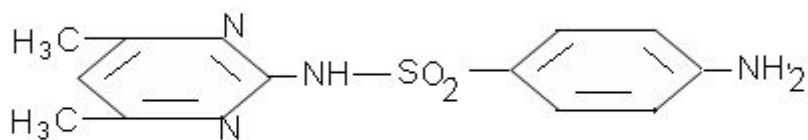
Сульфаниламидларнинг фенол халқаси ёки гетероцикли орқали гидроксилланган хосиласи глюкурон кислотаси билан конъюгация хосил қилаолади. Ундан ташқари сульфаниламидлар кичик миқдорда амид азоти N_4 ёки гетероцикл азоти орқали глюкурон кислотаси билан боғланиши мумкин.

Сульфаниламидлар микросомалардаги ариламинацетилтрансферазалар ёрдамида аминогруппа ацетати билан актив бирикиб, ацетамидлар хосил қилади. Бу реакцияни тўла детоксикация деб айтиш қийин, чунки ацетилланган унумлари сувда ёмон эриши туфайли сийдик йўлларида қайта конденсацияланиши ва ножўя таъсир кўрсатиши мумкин. Шу сабабли сульфаниламидларнинг ёмон ацетилланадиган бирикмалари қидирилмоқда.

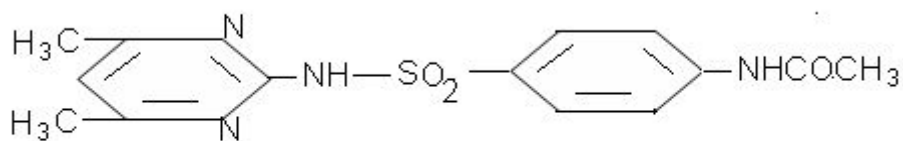
Микросомалардаги уридинфосфоглюкуронилтрансфераза ёрдамида сульфаниламидлар глюкурон кислотаси билан бирикади ва бунда карбоксил группа эркин қолиб, суюқликларда эрувчан бирикма хосил бўлишига ва буйрак орқали тез чиқиб кетишига олиб келади.

Услубнинг асоси:

Сульфадимезинни аниқлаш услуги нитрит натрий билан диазотланиш ва резорцин билан азотланиш реакцияси натижасида қўнғир рангли диазо бирикма хосил бўлиши ва ФЭК орқали ўлчашга асосланган. Рангнинг интенсивлиги сульфадимезин миқдorigа пропорциональ.



СУЛЬФАДИМЕЗИН



АЦЕТИЛСУЛЬФАДИМЕЗИН

Текшириш материали:

Каламушларга оғиз орқали 200 мг/кг миқдорда сульфадимезин юборилгандан сўнг 12 соат давомида йиғилган сийдик, 200 марта суюлтирилади.

Реактивлар:

1. 10% ли учхлор сирка кислота эритмаси
2. Ацетат натрийнинг туйинган эритмаси
3. 0,2 М ли NaOH эритмаси
4. 0,5% ли нитрит натрий эритмаси
5. 0,5% ли резорцин эритмаси
6. 8% ли HCl эритмаси
7. 0,2 ли HCl эритмаси
8. Индикатор қоғози

Жихозлар:

1. Пробиркалар.
2. 10 мл хажмли пробиркалар.
3. 1,0 ; 5 ва 10 мл хажмдаги пипеткалар.

4. Пробкалар ва қайта совуткичли кимёвий стаканлар.
5. Воронкалар, филтър.
6. Сувли хаммом.
7. ФЭК.

I. Эркин сульфадимезинни аниқлаш.

Амалий ишнинг бориши:

1. 5 мл суюлтирилган сийдикка 1 мл 0,2 н NaOH қўшилиб, чайқатилади ва 5 дақиқадан кейин 4 мл 10% ли учхлор сирка кислота қўшилиб, 15 дақиқага қолдирилади. Эритма хажмланган пробиркага филтърланади ва филтърдаги чўкма 0,2 н HCl билан ювилиб, эритма хажми 10 мл га етказилади.

2. 5 мл филтратга 0,2 мл 0,5 % ли нитрит натрий эритмаси қўшилиб 15 дақиқага қолдирилади (қолган 5 мл филтратда умумий сульфадимезин аниқланади)

3. 4,6 мл ацетат натрийнинг тўйинган эритмаси ва 0,2 мл 0,5% ли резорцин эритмаси кетма-кет қўшилиб, 15 дақиқага қолдирилади. Аралашма қўнғир рангга киради.

4. Тажрибавий эритмалар нур ютиши ФЭК да қўк светофилтърда қалинлиги 10 мм бўлган кюветаларда ўлчанади. Контрол пробиркада филтрат ўрнига 5 мл сув олинади, қолган реактивлар услубда кўрсатилган миқдорда қўшилади.

5. Сульфадимезин миқдори қуйидаги формула орқали хисобланади:

$$\text{сулфадимезин} = C \times 2 \times 200 \times 100 / 1000 = (\text{мг}\%)$$

Бу ерда: С- эгри чизиқли стандарт бўйича аниқланган намунадаги сульфадимезин концентрацияси, мкг да,

2 - намуна суюлганлик даражаси

200 - сийдикнинг суюлганлик даражаси

1000 – мг га ўтказиш

100 - % га ўтказиш

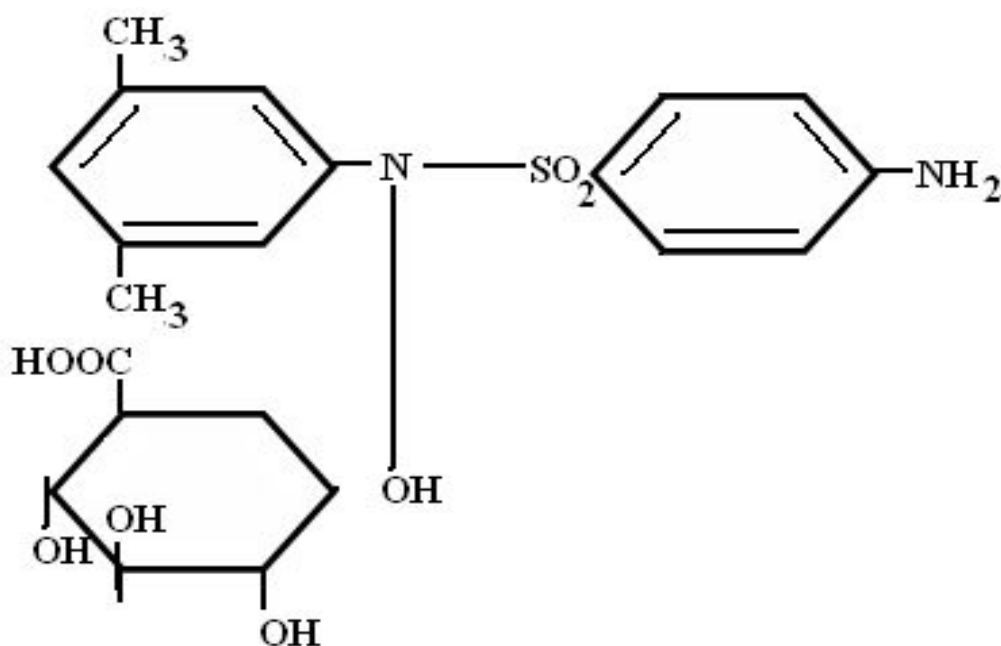
II. Ацетилланган сульфадимезинни аниқлаш

Амалий ишнинг бориши:

1. Оқсили учхлорсирка кислотаси билан чўктирилгандан кейин фильтратнинг қолган қисмига (5 мл) 2 мл 8% ли хлорид кислота қўшилади.
2. Пробиркалар қайта совутилгач, қайнаб турган сув хаммомида 30 дақиқа гидролизланади.
3. Пробиркалар ичидаги аралашма чўктирилиб, ўлчовли пробиркаларга кўйилади ва 2 мл 10% ли учхлор сирка кислотаси қўшилиб, шу эритма билан қолдиқ чайилади ва яна қўшилади.
4. Пробиркага хажми 10 мл га етгунча дистилланган сув кўйиб, аралаштирилади ва қоғоз филтар орқали филтрланади.
5. 5 мл фильтрат олиниб, унда I эркин сульфадимезин миқдори ўлчанган схема бўйича анализ ўтказилади. Ацетилланган сульфадимезин миқдори умумий ва эркин сульфадимезин айирмасидан топилади.

III Сийдикда сульфадимезин глюкуронидини аниқлаш

сульфадимезин глюкурониди



Амалий ишнинг бориши:

1. 5 мл суюлтирилган сийдикка бир неча томчи 0,2 н HCl эрвтмаси куйилиб,

индикатор коғози ёрдамида рН 5 га етказилади.

2. 5 мл хлороформ кўшилиб, пробирка чайқатилади. Бу вақитда эркин сульфадимезин ва ацетилланган унумли хлороформга ўтади, сув сув кисмида кўпроқ гидрофил бўлган сульфадимезин глюкурониди қолади.

3. Пастер пипеткаси билан пастки сув қисм тортиб олиниб, унда сульфадимезин глюкурониди аниқланади. (I - иш қисмида кўрсатилганидек). 12 соат давомида тўпланган сийдик хажми ва унинг 200 мартаба суюлтирилганлиги ҳисобга олиниб, шу вақт давомида организмдан чиқарилган эркин сульфадимезин ва унинг метаболитлари /ацетилланган унуми ва глюкурониди / микдорини юборилган дори микдорига нисбатан /мг%/ ва /%/ ларда ҳисобланади.

Сульфадимезин = Эркин сульф адимезин + Ацтил сульф адимезин + Сульф адимезин глюкурониди

Амалий ишнинг моҳияти:

Сульфадимезин фармакокинетикаси ва унинг метаболитларини ўрганиш уларнинг даволаш ва токсик хусусиятларини тавсифлашда, илмий асосланган янги препаратлар синтезини ўрганишда, тиббиётда даволаш самарасини ошириш йўллари топишда муҳимдир.

Ишни ҳужжатлаш.

1. Машғулот темаси.
2. Иш мақсади.
3. Услубни моҳияти ва бажарилиш йўли (I, II ва III ишлар учун алоҳида).
4. Машғулот натижалари ва хулоса жадвал шаклида ифодаланади.

Жадвал.

Каламуш сийдигида сульфадимезин ва унинг конъюгатлари микдори.

иш	Текширилаётган модда	Микдори			% - умумий чиқарилган сульфадимезин микдорига нисбатан	хулосалар
		Е	Мкг- тажриба намуналари	Мк- анализга олинган сийдик микдори		
I	Эркин сульфадемин					
II	Ацетилланган сульфадимезин					
III	Сульфадимезин глюкурониди					

Мустақил тайёрланиш учун саволлар:

1. Конъюгация ва унинг турлари. Ксенобиотикларни захарсизлантиришда конъюгациянинг ўрни. Конъюгация механизми ва иштирок этувчи ферментлари.
2. Ксенобиотикларнинг метилланиши. Метилтрансферазаларни тузилиши ва роли.
3. Ксенобиотикларни сульфат билан конъюгацияланиши. Сульфотрансферазанинг тузилиши ва роли.
4. Глюкуронидлар ҳосил бўлиши механизми. Уридинфосфатглюкуронил трансфераза тузилиши ва роли. Альфа-аминокислоталар билан конъюгацияланиш.
5. Ксенобиотикларни ацетилланиши. Арилацетилтрансферазанинг роли.
6. Биологик мембраналар ўтказувчанлиги. Тарқалиш коэффициенти. Дори моддаларининг тўпланиш, парчаланиш, йўқотиш механизми. Дорилар

ва бошқа моддаларга резистентлик. Метаболик ўзгариш дори моддаларини чиқариб юборишдаги асосий йўл.

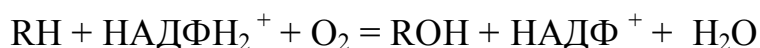
Машғулот 11.

Семинар. Ксенобиотикларни эндоплазматик ретикулумда оксидланишида НАД*Н₂ ва НАДФН₂ га боғлиқ бўлган реакциялар .

Дори воситалари, канцероген, токсик моддалар ва эндоген субстратлар (гормонлар) жигар хужайраларининг эндоплазматик ретикулумига жойлашган ферментлар системаси иштирокида метаболик ўзгаришиларга учраши аниқланган. Бу системалар махсус специфик реакциялар саналиб, биттаси НАДФН₂ иккинчиси эса НАДН₂ тааллуқлидир.

Захарли моддалар ва айрим эндоген субстратларни детоксикациясида қатнашувчи оксидланиш реакцияларининг асосида гидроксилланиш, яъни гидроксил (ОН) гуруҳини фармакологик препарат структурасига киргизиш бўлиб, унинг натижасида дорини қутбланиши ортади ва буйрак орқали чиқиб кетиши осонлашади. Гидроксил гуруҳини дори молекуласига киргизиш оксидланиш, қайтарилиш ёки гидролизлаш йўллари билан амалга оширилади.

Нишонланган кислород ёрдамида аниқланишича, гидроксилланиш реакцияларида хаво молекуляр кислороди қатнашиб, кислородни битта атоми сувгача қайтарилади, иккинчи атоми эса гидроксил группаси таркибида метаболизмга учраётган субстрат молекуласига қўшилади. Жараёни ушбу тенглама шаклида кўрсатиш мумкин:



(бунда - RH - фармакологик препарат)

Микросомал гидроксилланиш системаси камида иккита каталитик қисмдан иборат: цитохром Р-450 ва флавопротеиддан (ФП). ФП цитохром Р -450 ни НАДФН₂ воситасида қайтарилиш реакциясини катализлагани учун НАДФН - цитохром - Р450 - редуктаза, деб аталади. Цитохром Р -450 фосфолипидпротогемсульфид - протеин комплексидан ташкил топиб,

қайтарилган шаклида CO (углерод оксиди) билан мустахкам комплекс ҳосил қилади ва 450 нм да максимал нур ютгани учун цитохром P-450 номини олган.

Ксенобиотиклар организмда биотрансформация жараёнида турли хил кимёвий ўзгаришларга учрайдилар. Бу ўзгаришларни кимёвий реакциялар турига қараб бир неча гуруҳга ажратиш мумкин:

1. Оксидланиш. Бу тур реакциялар жуда кенг тарқалган бўлиб, алкогольнинг алкогольдегидрогеназага таъсирида, фенобарбиталнинг ўзгаришида кўрилади.

2. Қайтарилиш. Бу хил реакциялар иккиламчи - боғларнинг тўйинишида, нитрогруппаларини аминогруппаларига ўтишида, анаприлин, фенамин каби дорилар ўзгаришида ўрин тутди.

3. Дезаминланиш реакцияларида охирги аминогруппанинг ажратилишида кузатилади.

4. Гидролиз кўпроқ эстеразалар ёрдамида кечади. Мисол қилиб юқори эфирларни кўришимиз мумкин: новокаин, юрак гликозидлари.

5. Хар хил органик ва ноорганик моддалар билан бирикиш реакциялари. Бунга мисол қилиб ацетилланиш, эфирли сульфатланиш, глюкуронидлар ҳосил бўлишини кўриш мумкин.

Организмда дори моддалари бир вақтда бир неча хил ўзгаришларга учраши мумкин. Масалан сульфадимезин бир вақтнинг ўзида ацетилланиши, глюкурон кислотаси билан бирикиши мумкин.

Микросомлардаги ксенобиотикларнинг метаболизмлашда қатнашувчи ферментлар аввал айтиб ўтилганидек икки занжирга ажратилган эди. Микросомаларда кечадиган реакциялар қуйидаги гуруҳларга ажратилади: НАДФН₂ га боғлиқ реакциялар:

1. Ксенобиотикларнинг оксидланиши.
2. Табиий субстратларнинг оксидланиши.
3. Ксенобиотикларнинг қайтарилиши.

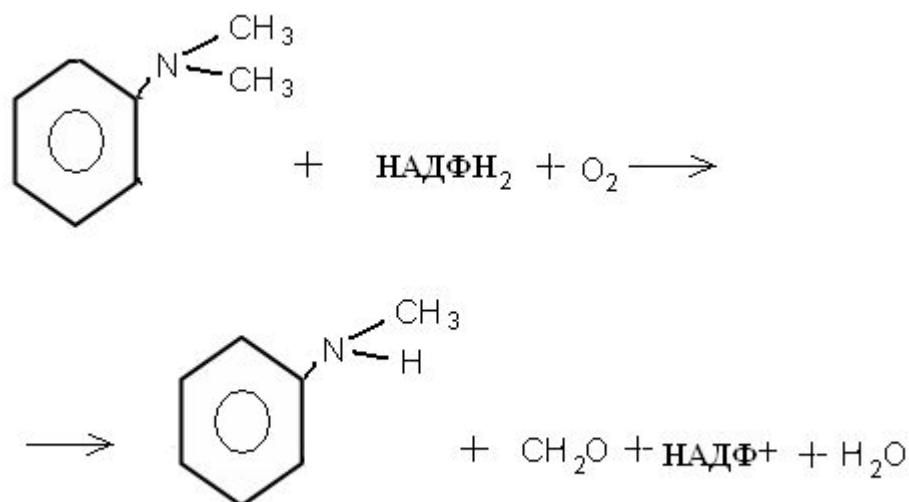
НАДН₂ га боғлиқ реакциялар:

1. Тўйинган ёғ кислоталаридан тўйинмаган ёғ кислоталари ҳосил бўлиши.
2. Семигидроаскорбин кислотасининг қайтарилиши.
3. Гидроксилланиш реакциялари.

НАДФН 2 га боғлиқ реакцияларга мисол:

1. Ксенобиотикларнинг оксидланувчи N-S-O- деалкилланиши.

Препаратларнинг алкил группасини йўқотиши кўпроқ кислород азот, олтингугурт атомидан ажралади. Шу сабали O-N-S- деалкилланиш деб айтилади.



Диметиланилин

монометиланилин

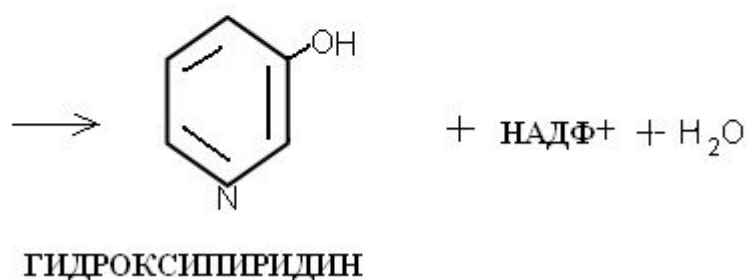
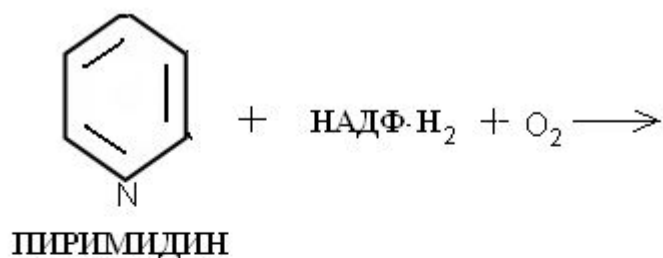
формальдегид

диметиланилин $\text{НАДФН}_2 + \text{O}_2 =$ монометиланилин + формальдегид + H_2O

ёки фенацетиннинг O – дезалкилланиши:

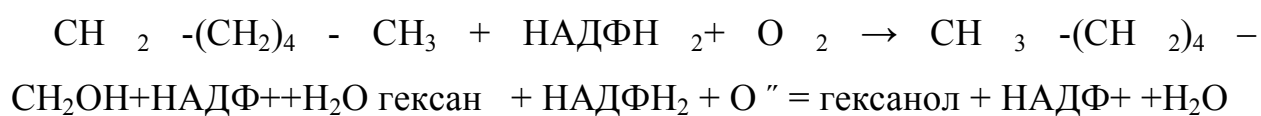
Фенацетиннинг иситма туширувчи таъсири унинг N ацетил-пара-аминофенол (парацетамол) ҳосил қилиши билан боғлиқ.

2. Карбоциклик ва гетероциклик бирикмалар гидроксилланиши:

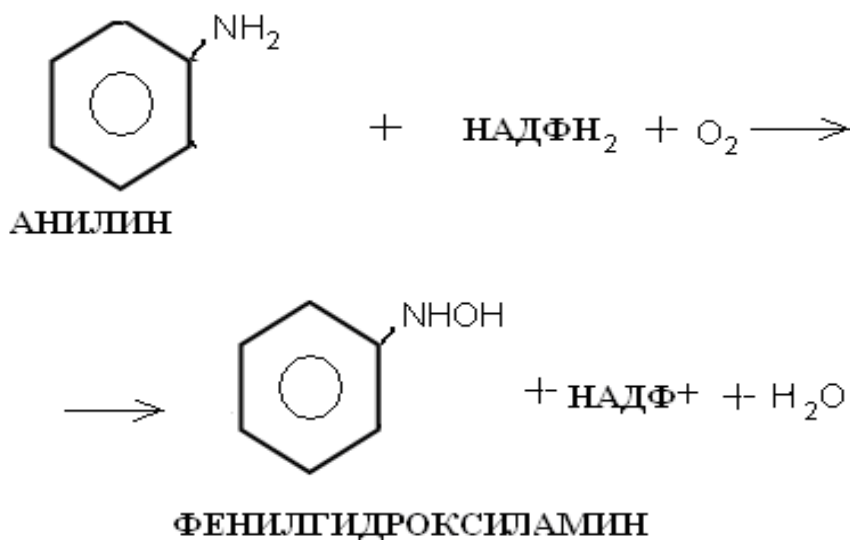


пиридин + НАДФН₂ + О₂ = гидроксипиридин + НАДФ + +Н₂О ёки мисол қилиб салицил кислотасининг гентизин кислотасига ўтишини кўриш мумкин.

3. Алифатик бирикмалар гидроксилланиши:

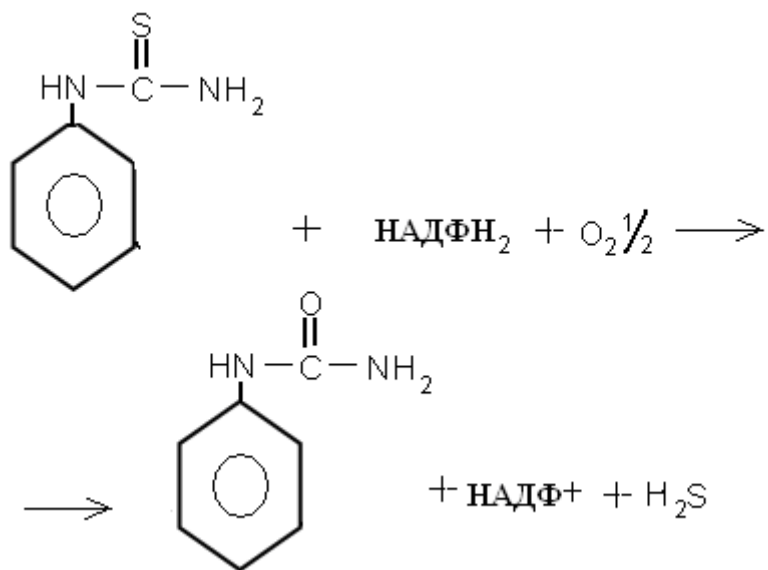


4. N оксид хосил қилувчи N оксидланиш:



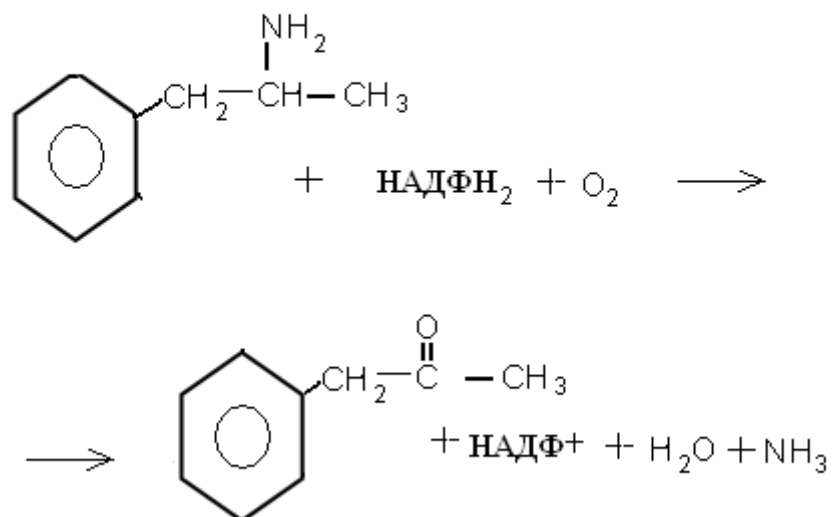
анилин + НАДФН₂ + O₂ → фенилгидроксиламин + НАДФ⁺ + H₂O

5. S оксидланиш ва десульфидланиш



фенилтиомочевина + НАДФН₂ + 1/2O = фенилмочевина + НАДФ⁺ + H₂S

6. Оксидловчи дезаминланиш: фармпрепаратлар молекуласидан аминогруппани ажралиши. Мисол қилиб амфетаминнинг (фенамин) фенилацетонга ўтишини кўриш мумкин. Бу реакция фенобарбитал билан индукцияланади.



Мустақил тайёрланиш учун саволлар:

1. Жигар микросомалари гидроксилловчи комплекси. Жигар микросомалари гидроксилловчи комплекси ферментларининг молекуляр жойлашиши.

Гидроксилловчи комплексда кечувчи реакциялар.

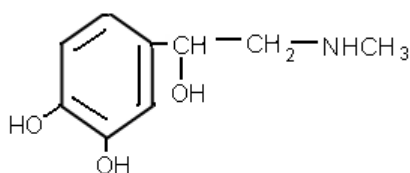
2. Фармакологик препаратларнинг тузилиши ва уларнинг организмда ўзгаришга учраш йўллари.

3. Рецептор - фермент қисми сифатида. Рецептор - нуклеин кислота қисми сифатида. Дори моддаларининг рецепторлар билан биокимёвий муносабати. Ксенобиотиклар таъсирида синнергизм, антагонизм.

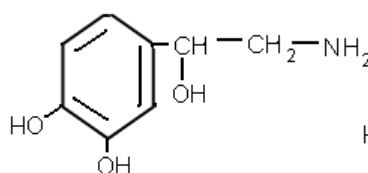
Машғулот 12.

Адреналин миқдорини колориметрик услуба аниқлаш.

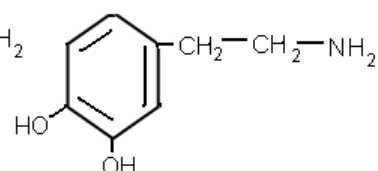
Адреналин дастлаб Takamine томонидан 1901 йилда прессор модда сифатида ажратилиб олинган. Адреналин, норадреналин - буйрак усти беzi мағиз қисми гормонлари бўлиб, фенилаланин, тирозин аминокислоталаридан синтезланади. Организмда бу гормонлар таъсирида қон томирларини торайиши, қон босимини ошиши, юрак қоринчалари қисқаришини тезлашиши, гликогенни парчаланиши, фосфорилазани фаолланиши кузатилади. Адреналиннинг қондаги миқдори нормада 0.04 мкг % ни ташкил қилади.



АДРЕНАЛИН



НОРАДРЕНАЛИН



ДОФАМИН

Адреналин миқдори буйрак усти беzi мағиз қисми ўсма касалликларида, (Феохромоцитома), Иценко-Кушинг касаллигида, буйрак

касалликларида ортиши кузатилади.Фенилкетонурия, буйрак усти беги носпецифик яллиғланиши (туберкулез). Уотерхауз-Фридрексен синдромида адреналинни миқдори камайиши кузатилади.

Услубнинг асоси:

Адреналин миқдорини калориметрик услубда аниқлаш уни Фолин реактиви билан кўк ранг бирикма хосил қилишига асосланган.

Текшириш материали:

Каламушлар дум венасидан олинган қон зардоби.

Реактивлар:

1. Адреналин стандарт эритмаси.
2. 10 % Натрий карбонат эритмаси.
3. Фолин реактиви.

Амалий ишнинг бориши:

Пробиркага 1 мл қон зардоби олиниб, 4 мл 10 % Na_2CO_3 ва 0,5 мл Фолин реактиви қўшилади. 5 дақиқа ўтгач пробиркага 10 мл га етгунча 10% ли Na_2CO_3 солинади ва ФЭК да кизил филтлда кўрилади. Контроль пробиркага 1 мл адреналиннинг стандарт эритмаси солиниб юқоридагидек амалий иш бажарилади ва натижа ФЭК да кўрилади. Олинган натижалар солиштирилиб, адреналиннинг каламуш қонидаги миқдори куйидаги формула орқали хисобланади:

$$\text{Адреналин концентрацияси} = \frac{C_1 * E_1}{E} = \text{мг}$$

Бу ерда: C_1 - адреналиннинг стандарт эритмасидаги концентрацияси, мг

E_1 - текширув материали экстинкцияси

E - стандарт эритма экстинкцияси

Амалий ишнинг моҳияти:

1. Катехоламинлар миқдорини қонда аниқлаш эндоген ёки ташқаридан юборилган катехоламинлар метаболизми тезлигини ўрганишда, тиббиётда дори препаратлари таъсирини баҳолашда ахамиятли.

Мустақил тайёрланиш учун саволлар:

1. Адренергик рецепторлар ва адренорецепция. Адреналиннинг биосинтези, ажралиши, физик - кимёвий хусусияти. Адреноактиваторлар ва адреноблокаторлар. Катехоламинлар ферментлар фаоллигининг иштирокчиси сифатида. Катехоламинлар метаболитлари, антиметаболитларининг ҳосил бўлиши.

2. Аденилатциклаза ва 3' – 5' АМФ катехоламинлар таъсир қилишида универсал воситачи. Синтетик адренергик дори моддаларининг тузилиши ва биокимёвий таъсир реакциялари.

Машғулот 13.

Қондаги гистамин миқдорини diaзотирланган n-нитроанилин билан Н.В.Климкина ва С.И.Плитмон бўйича наиклаш.

Услубнинг асоси. Услуб гистамин билан diaзотирланган n-нитроанилин ўзаро таъсирланганда қўнғир-қизил рангли бирикма ҳосил бўлишига асосланган. Гистамин-биоген амин бўлиб, гистидинни декарбоксилланишидан ҳосил бўлади, асосан базафил леткоцитлар таркибида учрайди. Организмда тўқима регулятори, нерв системаси медиатори сифатида аҳамияти бор. Аллергик реакцияларда қон таркибида кўпаяди, контомир-деворларини ўтказувчанлигини оширади, ошқазонда хлорид кислота ишнанишини кўпайтиради, унинг таъсирида бачодон мушакларини қисқариши кучаяди.

Реактивлар.

1. Diaзотирланган n-нитроанилин фойдаланиш олдида тайёрланади: (нитроанилиннинг 0,1 %ли 0,1 моль хлорид кислотасидаги совутилган эритмасини 10мл га 1 мл 4 % ли нитрит натрий қўшилади).
2. Гистамин, концентрацияси 200 мкмоль/л бўлган стандарт эритмаси.
3. Натрий карбонати, 20 % ли эритмаси.
4. Натрий гидроксиди, 5 м эритма.
5. Учхлорсирка кислотаси (ТХУК), 10 % ли эритмаси.
6. Универсаль индикатор қоғози.

Жихозлар. Пробиркалар; қоғоз фильтрли воронкалар; шиша таёқчалар; сув хаммоми; 1 ва 5 мл ли пипеткалар, ФЭК.

Текшириш метериали. Гистамин экстракцияси учун 10 % ТХУК билан оксили чўктирилган қон (9:1 нисбатда холодильникда бир сутка сақланган).

Ишнинг бажарилиши. Қоннинг ТХУК-ли экстракти қоғоз фильтри орқали филтрланди. Биринчи пробиркага 2 мл филтрат олиниб (тажриба), иккинчисига гистаминнинг стандарт эритмасидан 0,2 мл ва 1,8 мл дистилланган сув қуйилади (стандарт). Сўнгра иккала пробиркага 3 мл дан сув ва 1 мл дан натрий нитрит эритмаси қўшилади. Пробиркалар яхшилаб чайқатилиб, 2 мин.га қайнаб турган сув хаммомида ушланади. Пробиркалар сув оқимида совутилгач 1 мл диазотирланган п-нитроанилин қўшилади. Намуналар яхшилаб аралаштирилиб, аввал 1,5 мл, сўнгра 0,5 мл натрий карбонат эритмаси қўшилагандан кейин рН и индикатор қоғоз бўйича 10 га етказилади. Пробиркалар чайқатилиб, сув остида совутилади ва ранг ҳосил қилгунча 2-3 томчи натрий гидроксид томизилади. Тажриба ва стандартли намуналар ФЭК да 520-540 (кўк светофильтр)да 0,5 см қалинликдаги кюветларда контролга нисбатан (10 мл сув + 2 мл натрий нитрит ва диазотирланган п-нитроанилин эритмаси + 4 мл натрий кабонат эритмаси аралаштирилиб, 0,6 мл натрий гидроксид эритмаси қўшилади) ўлчаланади.

Хисоблаш формула бўйича

$$X = \frac{E \text{ тажриба} * 200}{E \text{ стандарт}}$$

E стандарт

бунда, X-гистаминнинг қондаги миқдори, мк моль/л;

E- тажриба намунаси экстинкцияси;

E-стандарт эритма экстинкцияси; 200-гистаминнинг стандарт эритмасини концентрацияси, мк моль/л.

Иш натижасини хужжатлаш. Қондаги гистамин миқдорини ҳисоблаб, унинг миқдорини ўзгариш сабаблари тўғрисида ҳулоса чиқарилади.

Ишнинг амалий моҳияти. Гистамин миқдорини ошириши организмда вегетатив бузилишларга ва аллергия реакцияларни келтириб чиқаришга

сабаб бўлади. Унинг қондаги миқдори нормада лаборатория хайвонларида 90-220 мк моль/л, соғлом одамда эса 0,02-0,04 мк моль/л га тўғри келади. Ушбу услуб заводда тайёрланган 0,1 % гистамин ампулаларини назорат қилишда ишлатилади (услубга қўшимча адабиёт сифатида В.В.Меншиков, “Справочник лабораторных работ”, М, 1987г.258 бет).

Машғулот 14.

Антигистамин дори моддаларининг (аллергияга қарши) таъсир механизмини гистаминаза фаоллиги бўйича аниқлаш.

Аллергия жараёни намоён бўлишига қараб икки турда бўлади: тез ва суст ҳосил бўладиган жавоб.

Тез ҳосил бўладиган аллергик жавобни гуморал иммунитет тизими амалга оширади, В лимфоцитлар антителалар қарши таначалар синтезлайди ва организм семиз хужайралари ва базофиллардан биологик фаол моддалар брадикинин, гистамин, серотонин, простагландинлар ажралиб чиқиб, томирлар ўтказувчанлигини кучайтиради ва бошқа тўқималарни жароҳатлайди. Бунда қондаги В лимфоцитлар сони, гистамин, брадикинин, серотонинлар миқдори қисқа вақт ичида ортади. Бундай ҳолатларда тезликда гистаминга қарши дорилар юборилади.

Суст кечадиган аллергик реакцияда Т лимфоцитлар сони ортиши кузатилади. Бу ҳолларда иммунитет тизимини сусайтирувчи иммунодепрессантлар қўлланилади.

Услубнинг асоси:

Организмда антигистамин дорилар метаболизмни тўқималарда ва биологик суюқликларда гистаминаза активлиги орқали ўрганиш мумкин.

Гистаминаза активлигини аниқлаш гистаминнинг ортафтал альдегиди билан флуоресценцияланувчи бирикма ҳосил қилишига асосланган.

Текшириш материали:

интакт ва қорин орқали 1 мл гистаминни 1 % эритмаси юборилган каламушлар

1. 1,34% ли натрий оксалатни сувдаги эритмаси

2. концентранган 1 н ва 0.4 н HCl
3. бутанол - хлороформ аралашмаси 3:2 нисбатда
4. Абсолют метил спирти
5. 5 н ли натрий хлор
6. кристалланган NaCl
7. 0,1 NaOH
8. 1 н ли NaOH
9. 1.4 М ортофтал кислотаси ва ортофтал альдегиди
10. гистаминнинг стандарт эритмаси
11. 0,2 М фосфат буфери pH 7.2
12. 10 % ли учхлор сирка кислотаси (ТХУК)

Амалий ишнинг бориши:

Колбага 2.9 мл фосфат буфери солиниб 0,5 мл кон зардоби кўшилади. Контрол колбаларга 0,5 мл дистилланган сув ва гистамин эритмаси солинади, кейин 37⁰ С термостатга 1 соатга қолдирилади. Инкубациядан кейин колбаларга 5 мл учхлор сирка кислотаси солиниб, центрифуга пробиркаларига солинади ва 15 дақиқа 4000 мин. айланиш тезлигида центрифугаланади. 4 мл чўкма усти суюқлигига 0.5 мл 5 н ли NaOH; 1,5 г NaCl; 10 мл хлороформ - бутанол аралашмаси кўшилади. 3 дақиқа давомида силкитилиб, 4000 айланиш тезлигида 5 дақиқа центрифугаланади. Сув қисмини олиб ташлаб, 5 мл 0,1 н NaOH NaCl билан солинади. Пробиркалар 3 минут силкитилиб 5 минут 4000 айланиш тезлигида центрифугаланади. Сув қисми олиниб унга 0,5 мл 1 н NaCl ва 0,12 мл ортофтал альдегиди кўшилади. 4 дақиқадан кейин 0.2 мл H₃PO₄ солинади ва 365 нм узунликда СФ да кўрилади.

Амалий ишнинг моҳияти:

Гистаминазанинг активлигини аниқлаш гистамин метаболизмини ўрганишда, аллергияга қарши дорилар самарасини билишда, ахамиятга эга.

Мустақил тайёрланиш учун саволлар:

1. Биоген дори моддаларини таъсир қилиш йўллари. Рецептор-лиганд мослиги.
2. Биологик фаол моддаларга ҳосил бўлувчи антителалар ва улардан фойдаланиш имкониятлари
3. Аллергияга қарши моддаларнинг таъсир механизми ҳақида тушунча.
4. Хужайра ва молекуляр иммунитет ҳосил бўлиш механизмида фармакологик моддаларнинг таъсир қилиш йўллари.

Машғулот 15.

Кининлар системасининг анальгин таъсирида ўзгаришини калликреинни қон таркибида аниқлаш орқали ўрганиш.

Кининлар (брадикинин, каллидин, метионил-лизил-брадикинин) биологик фаол моддалар бўлиб, қон оқсиллари кининогенлардан калликреинлар, трипсин, катепсин ферментлари таъсирида қонга ажралиб чиқадилар. Кининлар организмда қон оқими тезлиги, қон босими, қон томирлар ўтказувчанлигини бошқаришда, силлиқ мушакларнинг қисқаришида фаол иштирок этадилар. Тўқималардаги кининлар системаси фаоллиги ҳақида контаркибидаги калликреинни аниқлаш орқали фикр юритиш мумкин.

Услубнинг асоси: Калликреинни аниқлаш услуги бензоил L-аргинин этил эфирининг бензоил L-аргинин ва этил алкогольга ўтишига асосланган. Бу реакция калликреин таъсирида кечади.

Текшириш материали: интакт ва қориничига 1 мл 50 % аналгин эритмаси юборилган ҳайвонлардан олинган қон зардоби.

Реактивлар:

1. 0.067 М триэтанолламиннинг буфер эритмаси.
2. бензоиларгининнинг этил эфири эритмаси: 12,9 мг бензоил аргинин этилэфирига 12,5 мл буфер кўшилади.
3. калликреиннинг стандарт эритмаси.

Амалий ишнинг бориши:

Қорин териси орқали 1,0 мл 50 % аналгин эритмаси юборилган каламушдан декапитация йўли билан 2,0 мл қон олиниб, зардоб центрифугалаш йўли билан ажратилади.

Кюветага 0,5 мл бензоил аргинин этил эфири эритмаси ва 1,5 мл буфер солиниб, 5 дақиқа давомида харорати 25⁰ С 0 сув хаммомида сақланади. Кюветага 1,0 мл қон зардоби солиниб, 1 дақиқадан кейин 253 мкм тўлқин узунлигида СФ да кўрилади. Натижа калликреиннинг стандарт эритмасига солиштирилиб, хисобланади.

Текшириш протоколи:

Тажриба	СФ кўрсаткичи /экстинкция/	Қондаги калликреин микдори
Интакт каламуш		
Қорин орқали 1,0 мл 50% аналгин эритмаси юборилган каламуш		

Амалий ишнинг аҳамияти:

Калликреин микдорини аниқлаш уни эндоген таъсири ва дори препаратлари метаболизмини ўрганишда, аҳамиятга эга.

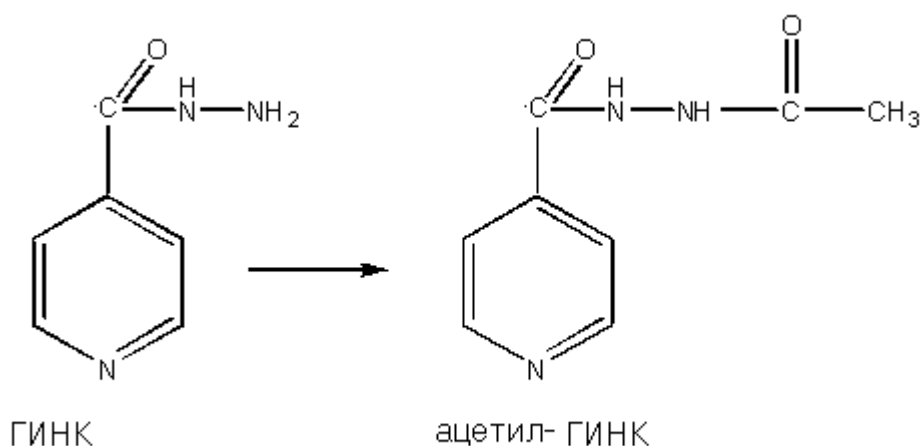
Мустақил тайёрланиш учун саволлар:

1. Калликреин-кинин системасининг биокимёси, молекуляр таъсир қилиш механизми, дорилар таъсиридаги аҳамияти.
2. Брадикинин фаоллигини фармакобиокимёвий бошқаришда қўлланиладиган дори моддалари.

Машғулот 16.

Организмда изоникотин кислотаси гидразидини (ИНКГ) ацетилланишини (инактивацияланишини) аниқлаш.

Услуб асоси. Услуб эркин изоникотин кислотаси гидрозидини кислотали мухитда аммоний метаванадат билан қўнғир-қизил рангли комплекс ҳосил қилишига асосланган. Сийдик намуналарини гидролиздан олдинги ва гидролиздан кейинги рангини фарқи изоникотин кислота гидразидини организмда ацетилланиш даражасини кўрсатади.



Реактивлар. Аммоний метаванадат реактиви *; хлорид кислотасининг 0,5 м эритмаси.

Жиҳозлар: пробиркалар; фольгага ўралган пробкалар; 1 ва 2 мл хажмдаги пипеткалар; сув ҳаммоми.

Текшириш материали. Таркибида эркин ва ацетилланган ИНКГ бўлган сийдик намунаси. Сийдик намунасини олиш учун оқ каламушларга оғиз орқали махсус зонд билан 3 мл суюлтирилган (100 мг/1 кг тана оғирлиги ҳисобида) ИНКГ юборилади. 12 соат ўтгач сийдик йиғилиб, сув билан 10 мл га етказилади ва қоғоз фильтри орқали филтрланади.

Ишнинг бажарилиши. Йиғилган сийдик дистилланган сув билан 20 мартаба суюлтирилади. Иккита пробиркага 1 мл дан суюлтирилган сийдик олиниб, биринчисига ИНКГ миқдорини (яни эркин ва ацетилланган ИНКГ нинг умумий миқдори) аниқлаш учун 1 мл хлорид кислотаси; иккинчи пробиркага эса (эркин ИНКГ ни аниқлаш учун) 1 мл сув қўшилади. Сўнгра

иккала пробиркаларга 2 мл дан аммоний метаванадат реактиви қуйилиб, текшириладиган намуналарда ҳосил бўлган ранг ўзгариши солиштирилади.

Иш натижасини ҳужжатлаш. Сийдик намуналаридаги рангни фарқига қараб, ИНКГ ни организмда ацетилланганлиги ҳақида тахминий хулоса чиқарилади ва бу реакциянинг амалиётдаги аҳамияти тўғрисида фикр юритилади.

Амалий ишнинг моҳияти. ИНКГ нинг N-ацетилланиш реакцияси организм тўқималаридаги махсус ацетилтрансфераза ферменти иштирокида бажарилади. Ҳар хил одамларда фермент фаоллиги ҳар хил бўлганлиги туфайли уни “тез” ва “секин” инактиваторларга (ацетилляторларга) бўладилар. Бу ҳолат фармакогенетикада ва касалликларни самарали даволашда муҳим аҳамиятга эга, чунки ИНКГ инактивланиш (ацетилланиш) даражаси асосида ҳар бир беморга препаратнинг индивидуал дозаси белгиланади.

Машғилот 17. Қон зардобида алкогольдегидрогеназа фаоллигини аниқлаш (Шкурски услубига И.В.Бокия, М.С.Усатенко ва В.Ф.Трюфанов қўшимчалари билан).

Услуб асоси. Услуб алкогольдегидрогеназани (АДГ) иккита кетма-кет реакцияни –бутанолни НАД га боғлиқ бўлган оксидланиш ва n-нитрозодиметиланилинни биринчи реакция давомида ҳосил бўлган НАДН₂ иштирокида қайтарилиши - катализлаш хусусиятига асосланган. Реакцияда эритмада қуюқ сариқ рангли n-нитрозодиметиланилин рангсизланади. АДГ фаоллиги рангли модданинг СФ – 440 нм да нур ютиш тезлигига қараб ҳисобланади.

Ишнинг бажарилиши. СФ-ишчи тўлқини узунлигини 440 нм га тўғрилаб, ҳисоблаш шкаласи стрелкасини парда ёпиқлигида “О” қуйилади. СФ кюветасига 2 мл n-нитрозодиметиланилин ва 0,5 мл қон зардобини солинади. Кювета қаршисига ҳисоблаш шкаласи 0,300 қуйилади. Сўнгра кюветага 0,1 мл НАД нинг бутанолдаги эритмасини қўшилади. Аралашма шиша таёкча

билан аралаштирилиб, 25° С да 2 мин давомида инкубацион муҳитнинг экстинкциясини пасайиши аниқланади.

Эслатма. Зардобнинг ҳар бир намунасида АДГ фаоллигини 2 мартадан аниқланади, бордию аниқлаш натижаларининг фарқи 10 % дан кўп бўлса, уч марта аниқланади. Шундан сўнг экстинкцияни 1 минутдаги ўзгаришини ўртача миқдори аниқланиб, формула бўйича ҳисобланади.

$$X=320,5 \Delta E-$$

бунда X-АДГ фаоллиги мкмоль/мин*л; 320,5-ҳисобланган фаоллик коэффициенти, кўрсатилган инкубация шароитида ўзгараётган субстратнинг мкмоль даги кўрсаткичи; ΔE -1 мин давомида 440 нм да экстинкцияни ўзгариши. Агарда 440 нм да экстинкция ўзгариши 1 мин да 0,050 дан ошса, қон зардобини натрий фосфат буфери билан 2-4 марта суюлтирилади ва фаоллик кўрсаткичини шу сонга кўпайтирилади. АДГ ни аниқлашда янги олинган қон зардобини керак бўлади, чунки вақт ўтиши билан фермент фаоллиги пасаяди.

Амалий ишни хужжатлаш. Олинган АДГ фаоллигини норма билан солиштириб, ҳулоса чиқарилади.

Амалий ишнинг моҳияти. АДГ да абсолют субстрат специфиглиги йўқ, фермент этанолдан бўлак, бошқа бирламчи ва иккиламчи спиртлар этиленгликол ва бошқаларни оксидланишини катализлайди. АДГ кўпчилик органлар хужайра гиалоплазмасида учрайди, айниқса жигар тўқимасида унинг фаоллиги бошқаларга қараганда 20-40 марта баландроқ. Соғлом одамлар қон зардобини АДГ фаоллиги жуда ҳам паст, деярли аниқланмайди (0,32-2,56 ўртача 1,18 мкмоль/мин/л).

Алкоголь суйистемол қилувчиларда унинг фаоллиги (истемол вақтининг давомийлига қараб ва алкоголизмда) юқори даражада бўлади. Шу сабаб АДГ алкоголизм диагностикасида ва уни даволашда қўлланилади. Умуман алкологнинг 90 % жигарда оксидланади, унинг касаллигида ёки ирсий (генетик) етишмовчилигида алкогольни захарсизлаттириш камаяди ва унинг организмга салбий таъсири ошади.

Диальдегидлар орасида малон диальдегиди $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$ катта аҳамиятга эга, линолен в арахидон кислоталарнинг эркин радикалли оксидланишидан ҳосил бўлади (аммо олеин ёки линол кислоталаридан эмас). Уни аниқлаш услуби орқали липидларни пероксидли оксидланишига баҳо бериш мумкин. Биомембраналар таркибига кирувчи фосфолипидлар ва тўйинмаган ёғ кислоталарининг пероксидли оксидланиши оқибатида мембрананинг липидли асосини бутунлай парчалаш (бузиш) мумкин. Лекин бунга R ва RO_2 радикалларнинг бир-бирига таъсири, уларнинг Fe^{2+} ва антиоксидантлар билан бўлган ўзаро таъсирланишига тўсқинлик қилади. Кўрсатилган шароитда бошланғич икки реакцияда ҳосил бўлган молекуляр унумлар, учинчи реакциядаги-фаоллиги паст бўлган антиоксидантлар эркин радикалли оксидланиш занжирини узадилар. Хужайраларда липидлар пероксидли оксидланишини икки хили-ферментли ва ферментсиз ажратилиб, улар айрим белгилари билан фарқланди. Ферментли система фермент оксигенини пирофосфат, темир иони қайтаруви сифатида НАДФН иштирокини талаб қилади (шу сабаб ферментсиздан фарқли ўлароқ қиздириш билан инактивланади).

Ферментсиз системанинг қиздиришга сезгирлиги йўқ, лекин у темир иони ва қайтарувчи сифатида аскорбат талаб қилади (аскорбатга боғлиқ ноферментли пероксидли оксидланиш-АБП). Бу икки системанинг бир-биридан фарқлайдиган белги уларнинг темир иони, пирофосфат ва фосфатга нисбатан сезувчанлигидир. НАДФН га боғлиқ пероксидли оксидланишни ферментли системаси темир ионларига юқори даражада сезучан бўлганлиги учун унинг жуда оз миқдори ҳам реакция тезлигини максимал даражада боришини тامينлайди, аскорбатлигида эса (АБП) реакцияни боришига катта миқдорда темир иони қўшиш керак. Иккала система хужайра органоидларининг мембраналарида аниқланган, лекин энг фаоли микросома мембраналарида. Преоксидли оксидланишни унуми бўлган липид гидропероксидини тўпланиши ферментлар фаоллигини ингибирлайди ва кетонлар, альдегидлар ва диальдегидлар, оксиллар ва бошқа биомолекулар

билан ковалент боғ ҳосил қилиб, хужайра функциясини ўзгаришига олиб келади.

Липидлар оксидланиши эркин радикаллик реакциясининг ривожланишига прооксиданлар олиб келади, антиоксидантлар эса тўхтатади. Кейинги гуруҳ моддаларига α -токоферол, селен, гормонлардан тироксин ва стероидлар киради. Глутатионпероксидаза ферментлар системаси ҳам липид гидропероксидларини парчалаб, уларни захарли таъсиридан хужайраларни ҳимоя қилади.

Липидлар пероксидли оксидланишини ўрганишда қуйидаги услублардан фойдаланилади: а) липидлар пероксидли оксидланиш унумларини аниқлаш; б) эркин радикалларини реакция давомида аниқлаш; в) тўқималар антиоксидловчи (антиоксидантли) фаоллигини аниқлаш.

Биринчи ва иккинчи услуб ўзининг оддийлиги ва нисбатан кўпроқ ўрганилган пероксидло оксидланиш унуми малон диальдегидини аниқлашга йўналтирилгани учун амалиётда кенг қўламда қўлланилади.

Машғулот 19.

Биомембраналарда липидларнинг пероксидланиш оксидланиш тезлигини ўрганиш.

Реактивлар.

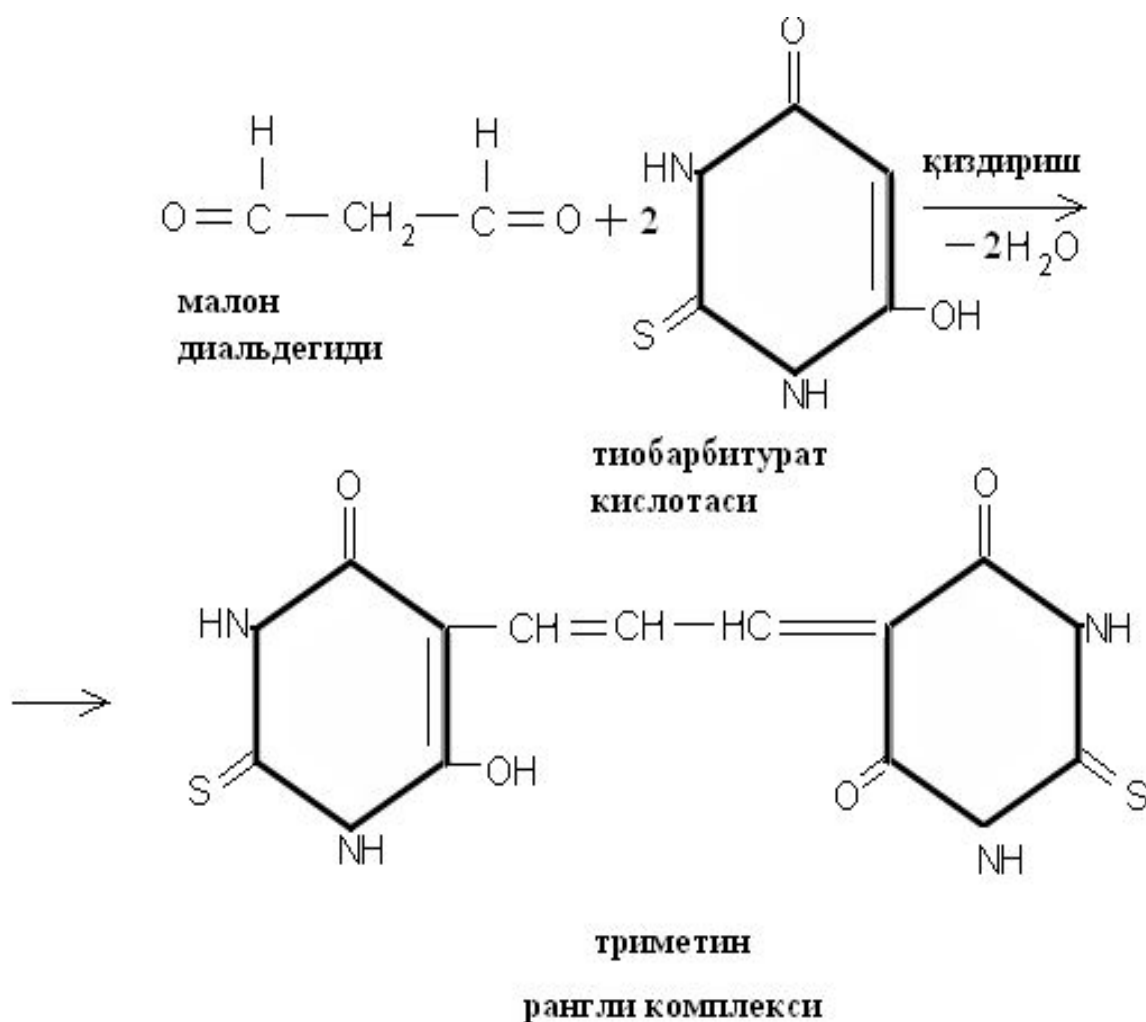
1. Трис-НСI буфери, 0,04 м рН.7,4*;
2. Мор тузи-Fe (NH₄)₂ (SO₄)₂, 4.10⁻⁵ м –янги тайёрланган эритма;
3. Аскорбин кислотаси, 2,6 мМ янги тайёрланган эритма;
4. Учхлор сирка кислотаси (ТХУК), 40% -ли эритмаси;
5. Тиобарбитурат кислотаси, 0,8 % -ли янги тайёрланган эритмаси;
6. Натрий оксалати, 1,34 % -ли эритмаси;
7. Натрий хлорид, 0,9 % - ли эритмаси;
8. Калий хлорид, 1,2 % эритмаси.

Жихозлар. Пробиркалар; 0,1; 1 ва 5 мл хажмидаги пипеткалар; пастер пипеткалари; резинали груша; сув ҳаммоми термометр билан; аптека тарозуси; СФ ёки ФЭК КФК-типидаги.

Текшириш материали: Қон,- натрий оксалат эритмаси билан, нисбати хажми бўйича 10:1; хайвон янги жигари.

А) Липидларнинг пероксидли оксидланиш тезлигини эритроцитлар мембранасида наиклаш.

Услуб асоси. Услуб липидлар пероксидланишини охириги унумли бўлган малон диальдегидини тиобарбитурат кислотаси билан 530-532 нм нур ютувчи пушти рангли триметин комплекс ҳосил қилишига асосланган.



Эритма ранги малон диальдегиди концентрациясига пропорциональ.
 Экстинкция моляр коэффиценти $1,56 \cdot 10^5 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$

Ишнинг бажарилиши. Оксалатли қонни 10 мин 3000 айланиш/мин центрифугалаб, эритроцитлар чўктирилади. Юқори суяқ қавати сўриб олиниб, эритроцит чўкмаси натрий хлорид эритмаси билан 3 марта ювилиб, кўрсатилган йўл билан яна центрифугаланади. 0,5 мл эритроцит чўкмаси тоза центрифуга пробиркасига олиниб, тенг хажмда дистилланган сув солинади ва 30 мин.га тўла гемолиз учун қолдирилади. Намуна 30 мин давомида 3000 айланиш/мин центрифугаланиб, пастер пипеткаси билан чўкма усти суяқлиги эритроцитлар мембранаси кулранг қавати биргалигида асталик билан бошқа пробиркага сўриб олинади.

Учта тоза пробирка олиниб, биринчисига 0,3 мл дан мор тузи эритмаси, трис буфер, аскорбин кислотаси ва 0,1 мл олинган эритроцит мембранаси суспензияси солинади. Иккинчисига 0,3 мл трис буфер 0,1 мл эритроцит мембранаси суспензияси ва 0,6 мл дистилланган сув қуйилади.

Учинчисига (контроль) биринчи пробиркага солинган реактивлар қуйилиб, тезликда 1 мл ТХУК қўшилади.

Ҳамма пробиркалар сув ҳаммомига жойлаштирилиб, 20 мин. 37⁰С да инкубацияланади. Сўнгра тажрибавий пробиркаларга (1,2 пробиркалар)1 мл дан ТХУК қўшилиб, реакция тўхтатилади. Ҳамма пробиркалар 15 мин 3000 айланиш/мин центрифугаланиб, чўкма усти суяқлиги (ҳажми 2 мл) учта бошқа пробиркаларга қуйилиб, 1 мл дан тиобарбитурат кислотаси қўшилади ва намуналар 10 мин қайнаб турган сув ҳаммомида сақланади, сўнгра пробиркалар музли сувда совитилиб, экстиницияси контрольга нисбатан СФ да 532 нм да ёки ФЭЖ да (кўк светофильтрада) қалинлиги 1 см ли кюветада ўлчанади.

Ҳисоблаш формула бўйича.

$$X_1 = \frac{E_1 \cdot 3 \cdot 6}{0,156}$$

ва

$$X_2 = \frac{E_2 \cdot 3 \cdot 6}{0,156}$$

Бунда X_1 -прооксидантлар иштирокида (липидлар пероксидли оксидланишини индукцияловчи) намунада малон диальдегиди ҳосил бўлиши тезлиги, нмоль-(соат)⁻³;

X_2 - прооксидантсиз (липидларни спонтан пероксидли оксидланиши) малон диальдегидини намунада ҳосил бўлиш тезлиги, нмоль-соат⁻¹; 3-намуна хажми мл; 6-қайта ҳисоблаш коэффициенти 1 соатга; 0,156-1 нмольнинг 532 нм даги экстинкцияси; E_1 ва E_2 - биринчи ва иккинчи намуналарнинг контролга нисбатан экстинкцияси.

Машғулот 20.

Тўқима гомогенатида липидлар пероксидли оксидланиши тезлигини аниқлаш.

Услуб асоси.

Юқорида (машғулот 19) келтирилган.

Ишнинг бажарилиши: 0,5 г жигарни 0-4⁰С совутилган калий хлорид эритмасида гомогенизацияланади. Учта пробирка олиниб, биринчисига 2 мл гомогенат ва 0,2 мл дистилланган сув, иккинчисига 2 мл гомогенат ва 0,1 мл дан эритилган аскорбин кислотаси ва мор тузи; учинчисига 2 нчи пробиркага қўйилган реактивлар ва 1 мл ТХУК қўшилади.

Ҳамма пробиркалар 10 мин 37⁰ С сув ҳаммомида сақлангандан кейин 1 ва 2 пробиркаларга 1 мл ТХУК қўшилади, сўнгра уччала намуна 10 мин 3000 айланиш/мин центрифугирланади. Учта тоза пробиркага 2 мл дан чўкма усти суюқлиги олинади ва 1 мл дан тиобарбитурат кислота эритмаси қўшилиб, намуналар 10 мин га қайнаб турган сув ҳаммомига жойлаштирилади. Сўнгра уларни музли сувда уй хороратигача совитилади. Намуналар экстинкцияси контрольга нисбатан (2 мл калий хлорид + 1 мл ТХУК + 1 мл тиобарбитурат кислота эритмаси, 10 мин қайнаб турган сув ҳаммомида ушланган ва музлатилган сувда хона хороратигача совутилган) 532 нм СФ да ёки ФЭЖ да кўк светафильтрада 1 см қалинликдаги кюветада ўлчанади.

Ҳисоблаш формула бўйича.

$$X_1 (X_2) = \underline{E_1 (E_2)} 3 * 3,2 * 6$$

$$0,156 * 2$$

ва

$$X_3 = \underline{E_3} 3 * 3,2$$

$$0,156 * 2$$

Бунда X_1 -гомогенатдаги липидларни спонтанли пероксидли оксидланиш тезлиги, намунада 1 соат инкубация давомида ҳосил бўлган малон диальдегидини нмоль даги миқдори; X_2 - аскорбатга боқлиқ ноферментатив липидлар пероксидли оксидланиши тезлигини ҳосил бўлган малон диальдегидини нмольдаги миқдори; X_3 -малон диальдегидини гомогенатдаги бошланғич миқдори, нмоль; E_1 ; E_2 ; E_3 - биринчи, иккинчи ва учинчи намуналарни экстинкцияси; 3,2 – текширилаётган намуналарни умумий ҳажми, мл; 2-малон диальдегидини аниқлаш учун олинган чўкма уста суюқлигини ҳажми, мл; 3-фотометрлаш учун олинган намуна ҳажми, мл; 0,156-1 нмоль малон диальдегидини 1 мл даги 532 нм даги экстинкцияси.

Амалий ишни хужатлаш. Олинган натижалар асосида липидларни спонтанли ва индукцияланган пероксидли оксидланиш тезлигини солиштириб, уларни амалиётда ишлатилиши тўғрисида хулоса чиқарилади.

Амалий ишнинг моҳияти. Биомембрана липидларини пероксидли оксидланиш тезлигини аниқлаш бу системага таъсир қилиувчи табиий ва синтетик (ксенобиотиклар) моддаларни прооксидантли, ёки антиоксидантли хусусиятини билишда ва шулар қатори ҳар хил дори воситаларидан фойдаланишда аҳамиятга эга. Кексаларда, Е гиповитаминозида, селен дефицитида, радиация таъсирида ва паталогик ҳолатларда липидларни пероксидли оксидланиш тезлиги ошади. Эритроцитлар таркибидаги гемоглабин ва кислород липидлар пероксидли оксидланиш тезлигини ошириб, эритроцитлар мембранасини шкастлайди ва гемолиз чақаради. Эритроцитлар мембранасини химоялашда антиоксидантлардан фойдаланилади. Булар плазма таркибидаги токафероллар, липидлар

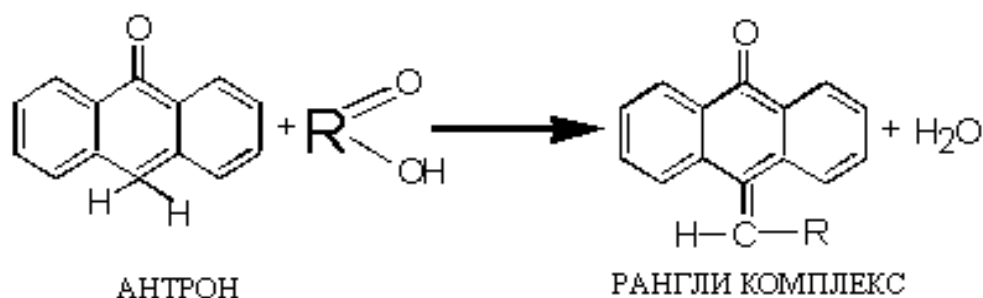
гидропероксидларини захарсизлантирувчи глутатион-пероксидаза, липидлар пероксидини боғлаб олувчи плазма альбуминларидир. Антиоксидант системаси етишмовчилигида гемолитик ҳолатлар кузатилади. Бу каби ҳолатлар овқат омиллари ва дори воситалари туфайли келиб чиқиши мумкин.

Машғулот N21 Жигарда гликоген миқдорини Зейфтер услубида аниқлаш.

Гликоген $(C_6H_{10}O_5)_n$ -полисахарид, хайвон организмида углеводларнинг асосий запас шакли. Организм фаолиятида жигарнинг гликоген ва глюкоза ҳосил қилиш функцияси алоҳида ўрин тутди. Бунинг асосида бир томондан, унинг қон таркибидаги глюкозадан гликоген синтез қилиши бўлса, иккинчи томондан, гликогенни глюкозага парчалаб, организм эҳтиёжига =араб, =онга чи=ариши ётади. Хар хил шайвонларда жигарда гликоген миқдори 2-8%, айрим ҳолатларда эса 15-20% гача етиши мумкин. Патологияда, айни=а гепатотроп захарлар ва фармакологик препаратлар таъсирида жигарда гликоген синтезини бузилиши натижасида унинг миқдори камайиши кузатилади. Бунга мисол =илиб CCl_4 , гелиотрин, фосфор билан хроник заҳарланишни келтирса бўлади.

Ишнинг моцияти

Концентрланган сульфат кислотасида гликоген антрон билан =издирилганда кык рангли комплекс ҳосил =илишига асосланган. Рангнинг интенсивлиги гликоген концентрациясига боғлиқ.



Жихозлар ФЭК, сув хамоми, центрифуга, 100 мл ылчамли колбалар, центрифугали ва оддий пробиркалар, шар шил хажмдаги пипеткалар, шиша таё=чалар.

Реактивлар 1. 5% глюкозани стандартли эритмаси;

2. 30% ыюувчи калий,

3. 96⁰ этил спирти

4. Антрон реактиви: концентрланган сульфат кислотасидаги 0,3% антрон эритмаси (солиштира массаси 1,74) Кырсатилган кислота концентрациясини =уйидагича тайёрланади: 100 мл хажмдаги колбага 20 мл дистилланган сув =уйилади ва эҳтиётлик билан белгигача солиштира

массаси 1,84 былган кимёвий тоза сульфат кислотаси тылдирилади. Антрон реактиви тажриба ытказиладиган куни тайёрланади.

Ишнинг бажарилиши.

Хайвондан янги олинган жигарни 0,5г 3мл 30% ыюувчи калий са=лаган пробиркага солинади ва =айнаб турган сув хамомига 20-30 минут гомоген эритма шолатига келгунча =ыйилади. Сынгра пробиркага 4 мл 96⁰ этил спирти =ышилиб, шиша таё=ча билан яхшилаб аралаштирилади ва сув щамомида 30-40 секунд давомида =айнагунча ушланади. Пробирка сувда совитилиб, 15 минут 3000 айланиш тезлигида центрифугаланади. Пробиркадаги чыкма дистилланган сувда эритилиб, 100мл ли колбага =уйилади ва яхшилаб аралаштириб, эритма хажмини 100мл етказилади. Эритмадан 1мл пробиркага олинади, бош=а пробиркага эса 1мл глюкозани стандарт эритмаси солинади. 2та бош=а пробиркаларга 1мл дан дистилланган сув =уйилиб, контроль сифатида фойдаланилади.

Хамма пробиркаларга бмл дан антрон реактиви =ышилиб, аралаштирилади ва 10 минутга =айнаб турган сув хамомига =ыйилади. Сову= сувда совитилиб, стандарт ва тажриба намуналари контрольга нисбатан 660 нм 10 мл ли кюветаларда =изил светофильтра колориметрланади.

Щисоблаш

$0,05\text{мг} \cdot \text{Е тажриба} \cdot \text{А} \cdot \text{Б} \cdot 10 \text{ (г/кг)}$

Е стандарт $\cdot 1000 \text{ мг} \cdot 1,1$

Бу ерда-0,05 мг-1мл стандарт эритмадаги глюкоза ми=дори;

А-гликоген эритилган сувнинг ми=дори;

Б-100г жигар былагы;

1,1-глюкоза ва гликогенни экстинкция нисбати

Нормада оч =олган каламушнинг жигарида гликоген ми=дори 15-20 г/ кг, тыяда 40 г/ кг гача. Текшириш натижаларига сульфат кислотасининг тозалигы ва антрон реактивининг тайёрланган муддати (янги тайёрланган былиши керак) таъсир =илади.

Машғулот N22 +онда глюкоза ми=дорини О-толуидин услубида ани=лаш

Ишнинг мощияти

услуг глюкозани О-толуидин билан сирка кислотаси эритмасида издирилганда кык ранг беришига асосланган. Рангнинг интенсивлиги глюкоза концентрациясига бо\ли=.

Реактивлар

Учхлорсирка кислотаси (УХСК), 30 г/ л эритмаси;

О-толуидин реактиви;

Глюкозани янги тайёрланган 27,8 мМ стандарт эритмаси

Жихозлар-пробиркалар; 0,1; 1 ва 5мл хажмдаги даражаланган пипеткалар; центрифуга, ФЭК.

Материал- бармо=дан олинган =он

Ишнинг бажарилиши

Центрифуга пробиркасыга 0,9 мл учхлорсирка кислотаси олинади. Текширилаётган бармо\идан микропипетка билан 0,1 мл =он олиниб,

учхлорсирка кислотали пробиркага пуфланади ва яхшилаб аралаштириб, минутга 3000 айланиш тезлигида 10 минут давомида центрифугаланади.

Центрифугатдан 0,5 мл олиниб, бошга тоза пробиркага уйилади ва устига 2мл О-толуидин реактиви уйилади. Пробирка 8 минутга айнаб турган сув хамомига жойлаштирилиб, сынгра оиб турган сув билан совутилади.

Стандарт намуна учун он ырнига 0,1 мл 5 мартта суюлтирилган глюкоза эритмаси олинади, устига 0,9мл учхлорсирка кислотаси уйилади ва аралашмани 0,5 мл да О-толуидин реактиви билан реакция ытказилади.

Тажриба ва стандарт намуналар ФЭК да 590-650 нм (изил светофильтр)да аинлиги 0,5 см былган кюветада дистилланган сувга нисбатан фотометрланади.

Щисоблаш

Глюкозанинг ондаги ми=дори х (моль/л)формула быйича щисобланади.

$$X = \frac{E_{тэ. Ссн}}{E_{тс}} \cdot C_{сн}$$
 бунда E тэ-тажриба экстинкцияси
E тс-стандарт экстинкцияси
C сн-стандарт намунадаги глюкоза концентрацияси, 5,55 ммоль/ л га тенг.

Ишни хужжатлаш.

Текширилаётган субъектни ондаги глюкоза концентрацияси щисобланади ва унинг даражасини ызгариш сабаблари тырисида хулоса илинади.

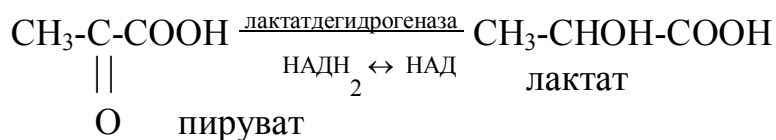
Ишнинг амалий мохияти.

Глюкоза мидорини аниаш учун ылланиладиган услублар ханй глюкоза мидорини доимо бирхилда анианмаганлиги учун, ханй глюкоза ва ондаги анд деган тушунчалар бор. ондаги анд кырсакичи таркибига хамма айтарилувчи углеводлар ва углевод былмаган (глутатион, креатин, сийдик кислотаси) моддалар киради. Натижада ондаги анд ми=дори ха=ий глюкоза кырсакичидан баландро= былади. О-толуидин ва глюкооксидаза услублари бошаридан фаря ыларо = биологик материалларда ща=ий глюкоза концентрациясини ани=лайди.

Нормада ондаги анд ми=дори 0,8-1, 2г/л, глюкозаники эса 2,8-4,0 ммоль/ л га баробар. ондаги анд даражасини ошиши (гипергликемия) андли диабетда, организмда буйрак усти беши пыстло= исми гормонлари былган глюкокортикоидларни кыпайганида, зыри=иш (стресс) холатларида, кыпро= углеводли таомлар истемол =илинганида кузатилади. анд ми=дорини онда камайиши (гипогликемия) эса глюкозани ингичка ичакдан сырилиши бузилишига, оч =олганда, организмда инсулин секрециясини ортишига (гиперинсулинизм) в.б. боли= былиши мумкин.

Машгулот N23 Сут кислотасини он ва ты=ималарида Баркер ва Саммерсон быйича ани=лаш.

Сут кислотаси (лактат) углеводларнинг анаэроб (гликолиз) парчаланишини охирги махсулота сифатида пироузум (пируват) кислотасидан лактатдегидрогеназа ферменти иштрокида щосил былади.

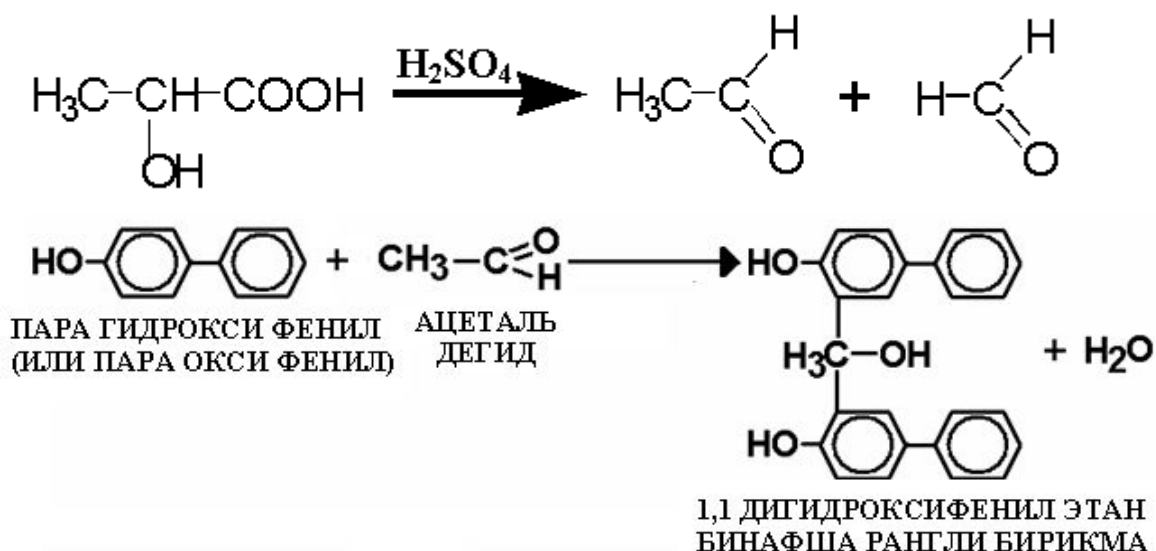


Буларнинг ызаро нисбати коэффиценти

$$K = \frac{\text{лактат}}{\text{пируват}} \quad \text{углеводлар алмашинувининг}$$

гликолитик ва оксидланиш жараёнларини интенсивлигини ифодалайди. Интенсив жисмоний харакат, юрак фаолияти етишмовчилиги, жигар касаллиги, айни=са, гипоксия шароитларида =он ва ты=ималар таркибида сут кислотаси ми=дори ошади . Ушбу шолат бир томондан оксидланиш жараёнининг заифланганини билдирса, иккинчидан уни жигарда глюкозага айланиш имконияти пасайганини кырсатади.

Машғулот моцияти. Услуб сут кислотасининг концентрланган сульфат кислотаси таъсирида =издирилиши оябатида ацетальдегидга айланиб , параоксидефенил билан характерли бинафша ранг беришига асосланган. Рангнинг интенсивлиги сут кислотаси ми=дорида баробар.



Жищозлар. ФЭК, сув хаммоми лаборатория термометри билан; пробиркалар, 0,1 ва 1мл пипеткалар; секундомер; ылчамли колбалар; фарфорли ховонча дастаси билан

Реактивлар.

1. Кальций оксиди, =ышимча моддалардан тозалаш учун ишлатишдан аввал Муфелв печкасида 90⁰ бирнеча соат =издириш тавсия этилади. Совутилгандан кейин майдаланилади ва махкам беркитиладиган шиша идишда са=ланади;
2. Концентрланган сульфат кислотаси (солиштирма массаси 1,84 Савал намунали)
3. 10% учхлорсирка кислотаси эритмаси
4. 20% мис сульфат (CuSO₄ · 5H₂O)эритмаси
5. 4% мис сульфат (CuSO₄ · 5H₂O)эритмаси

6. 5% натрий иш=ори эритмаси
7. 5% натрий иш=ори эритмасида тайёрланган 1,5% пара-оксидифенил эритмаси. (2-3 хафта совутгичда са=лаш мумкин.)
8. Суюлтирилган азот
9. Сут кислотаси кальцийли тузининг стандарт эритмаси. (17,1мг сут кислотаси калцийли тузини 100мл дистилланган сувда эритилади. Ушбу эритмани 1мл 100 мкг сут кислотаси са=лайди. Эритма фойдаланиладиган куни тайёрланади.)

Текширувчи материални тайёрлаш.

Текширилувчи материал сифатида =он, мушак ва органлар ты=имаси (бош мия, жигар, буйрак, юрак) ишлатилади. Каламуш =они декапитациядан кегин, =уёнларда =уло= четидаги венадан, итлардан -ор=а оё= тери ости венасидан олинади. Пробиркадаги 1мл дистилланган сув ва 3 мл 10% учхлорсирка кислота аралашмаси устига 1 мл =он =ышиб, яхшилаб аралаштирилади ва 10 минут давомида хона щароратида са=ланиб, чыкмага тушган о=сил =айно= сувда чайилган филтрдан ытказилади. Сут кислотаси бош мияда ани=ланадиган былса, мия сую= азотда музлатилиб, 10мл 10% учхлорсирка кислотаси билан ховончада эзиб майдаланилади ва совутилган центрифуга пробиркаларида минутига 3000 айланиш тезлигида центрифугаланиб, хосил былган тини= центрифугатдан текширишда фойдаланилади.

Агар сут кислотаси жигарда, буйракда, юракда ани=ланадиган былса, хайвон жонсизлантирилгандан сынг тезликда олинган орган былакчаси сую= азотда музлатилади ва ю=орида мия учун =ылланилган амаллар бажарилади.

Ишнинг бажарилиши

Тоза центрифуга пробиркасидаги 0,5 мл =он филтрати ёки тынма центрифугати устига 0,5мл 20% мис сульфат эритмаси, 0,5 г кальций оксиди кукуни =ышилиб, хажми дистилланган сув билан 5мл га етказилади. Аралашма шиша таё=ча билан яхшилаб аралаштирилганда мовий (феруза) рангга ытади. (кыкимтир ранг бериши кальций оксидини сифати пастлигини кырсатади ва бундай анализда текшириш давом эттирилмайди.) 30 минутдан сынг (бу ва=тда ичида углеводлар чыкади) аралашма 15 минут давомида минутига 3000 айланиш тезлигида центрифугаланади ва тини=ашган центрифугатда сут кислотаси ани=ланади. Бунинг учун центрифугатдан 0,5 мл пробиркага олиниб, бир томчи концентрланган сульфат кислотаси томизилади, чай=атилиб, пробирка музли ваннага жойлаштирилади. Сынгра эхтиётлик билан 3 мл концентрланган сульфат кислотаси =ышилади, яхшилаб аралаштириб, аралашма хона температурасигача совитилади ва сут кислотаси ацетальдегидга ытиши учун 5 минутга =айнаб турган сув хаммомида ушланади, музли ваннада совитилиб, бир томчи пара-оксидифенил эритмаси томизилади. Пробирка 28-30⁰ ли или= сувда 30 минут ушлаб, ва=ти-ва=ти билан чай=атилади, токи щосил былган ипир-ипир чыкма эригунча. Шу ва=т ичида эритма щаво рангга киради ва намуна роппароса 1,5 минутга =айнаб турган сув хаммомига =ыйилади (исси= сувда узо=о = ушлаш анализ натижасини ызгартириб юборади.) +айнатиш

давомида шаворанг ты= бинафша рангга ытади, унинг интенсивлиги 18 соат ичида щам деярли ызгармайди. Намуна =айно= сувдан олиниб, яхли сувда совутилади ва контрольга нисбатан 574 нм фотометрланади. Контроль намуна худди тажриба намунаси сингари бажарилиб, о=чилсиз фильтрат ырнига дистилланган сув ишлатилади. Контроль намунасининг экстинкция ылчами 0,04 ошмаслиги лозим. Тажриба намунасидаги сут кислотасининг ми=дори 1мл да 171 мкг, яъни 100 мкг сут кислотасига тенг сут кислотаси калцийли тузи тутган стандартли эгри чизи= ёрдамида ани=ланади. Стандарт эгри чизи= тузишда таркибида 10, 20, 30, 40 ва 50мкг сут кислотаси са=лаган эритмадан фойдаланилади ва бунда намунада =ылланилган барча ишлар бажарилади.

+он таркибидаги сут кислотаси концентрацияси =уйдаги формула быйича щисобланади.

$$C = \frac{x \cdot 5 \cdot 5}{0,5 \cdot 0,5 \cdot 90}$$

Бунда x-калибмли график быйича ани=ланган сут кислотасининг ми=дори (мкг)

Ты=малар таркибидаги сут кислотаси =уйдаги формула билан щисобланади.

$$C = \frac{x \cdot 10 \cdot 5}{a \cdot 0,5 \cdot 0,5 \cdot 90} \text{ мкмоль/мл}$$

бунда a-ты=има ми=дори (г)

Таблицада ю=оридаги услуб билан ани=ланган =уйдаги щайвон =они ва ты=имасидаги сут кислотасининг тахминий ми=дорлари келтирилган.

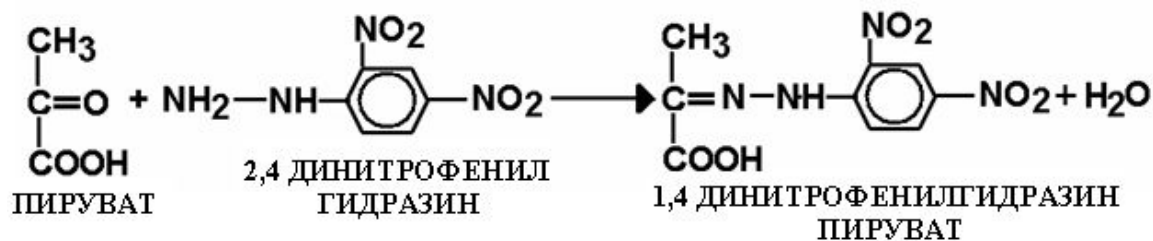
Биологик тури	сут кислотаси ми=дори, мк моль/мл ёки мк моль/г		
	+он	жигар	бош мя
Ит	2,5±0,3	3,6±0,4	-
каламуш	1,5±0,2	3,5±0,5	2,6±0,3
=уён	2,8±0,2	-	-

Машғулот N24

Пироузум кислотасини =он ва ты=ималарда Фридеман ва Хауген быйича ани=лаш

Пироузум (пируват) кислотаси углеводлар алмашинувининг марказий метаболитларидан бири щисобланади. Глюкоза ва гликогенни парчаланиш жараёнида, сут кислотаси ва бир =атор аминокислоталар глицериндан щосил былган пироузум кислотаси организм эхтиёжига кыра щужайраларда ацетил-КоА гача оксидланиб, Кребс циклига кириши ёки бош=а моддаларга (сут кислотаси, оксало ацетат, сирка кислотаси, амина кислоталар ва б.=)айланиши мумкин.

Услуб асоси. Пироузум кислота 2,4-динитрофенилгидразининг (2,4-ДНФГ) кислотали эритмаси билан реакцияга киришиб, пироузум кислотанинг 2,4-динитрофенилгидразонини щосил =илади. У бош=а гидразонлардан фар =илиб, толуолда яхши эрийди. Шу сабабли уни реакцион аралашмадан осон экстракция =илиб олиш мумкин. Толуолли экстрактга иш=орнинг спиртдаги эритмаси =ышилганда пироузум кислотанинг 2,4-динитрофенилгидразонига щос =изил-сар\иш ранг пайдо былади. Рангнинг равшанлик даражаси текширилаётган эритмадаги пироузум кислотанинг концентрациясига ты=ри пропорционал.



- Реактивлар.**
1. Учхлорсирка кислотасининг 5%ли эритмаси;
 2. 2,4-динитрофенилгидразининг 2м хлорид кислотаси эритмасидаги 0,1%ли эритмаси;
 3. толуол;
 4. натрий карбонат, 10%ли эритмаси;
 5. натрий гидроксиднинг 1,5м эритмаси;

Жихозлар. Пробиркалар, 1 ва 5мл хажмдаги пипеткалар, 25мл хажмдаги бюретка, центрифуга, ФЭК

Ишнинг бажарилиши. Анализ учун 1мл биологик сую=лик (=он, сийдик) ёки 1г ты=яма олинади . Агар текширишга ты=яма олинса , 5%ли сову=щолдаги Учхлорсирка кислотадан 1: 9 нисбатда =ышилади ва щовончада 10-15 минут яхшилаб эзилади. Сынгра 10 минут 3000 марта айланиш тезлигида центрифугаланади. Ты=яманинг о=илсиз =исмидан алошида пробиркага 1мл, контрол сифатида бош=а пробиркага 1мл дистилланган сув =уйилади. Анализ =илинаётган шар бир намунадан 2-3та параллел намуна олиш ма=адга мувофи=ир . Тажриба ва контрол эритма учун олинган пробиркалардаги сую=ликлар устига 0,5мл дан 2,4-динитрофенил эритмаси уйиб , аралаштирилгач, 5минутдан сынг сув билан тыйинтирилган толуолдан 2,5мл =ышилиб, 1-2 минут чай=атилади . Эритма =аватларга ажралгач, тоза, =уру= пробиркага устки-толуолли =атламдан 1мл олиб, унинг устига 2мл калий гидроксиднинг спиртдаги эритмасидан (2,5%ли) =ышилади ва 15 минутдан кейин ФЭКнинг кык светофильтрида (465нм) фотометрланади.

Калибрлаш эгри чизи\и чизиш. Бунинг учун бир нечта номерланган пробиркалар олиб, пироузум кислотасининг стандарт эритмасидан 0,2 0,4 , 0,6 , 0,8 ва 1мл олинади ва уларнинг устига умумий хажми 1мл былгунча дистилланган сув =уйилади. Стандарт эритмалар билан =олган ишлар ю=орида кырсатилгандек бажарилади.

Калибрлаш эгри чизи\и чизиш учун ордината ы\ига ылчалган оптик зичлик, абцисса ы\ига пироузум кислотасининг мг-даги концентрацияси ы\ийилади. Щисоблаш калибирлаш графиги асосида, суюлтириш даражасида щисобга олган шолда бажарилади.

Ишнинг хужжатлаш. Топилган пироузум кислотаси ми\дорини ызгариш сабаблари ты\рисида хулоса ы\илинади.

Ишнинг амалий ахамияти.

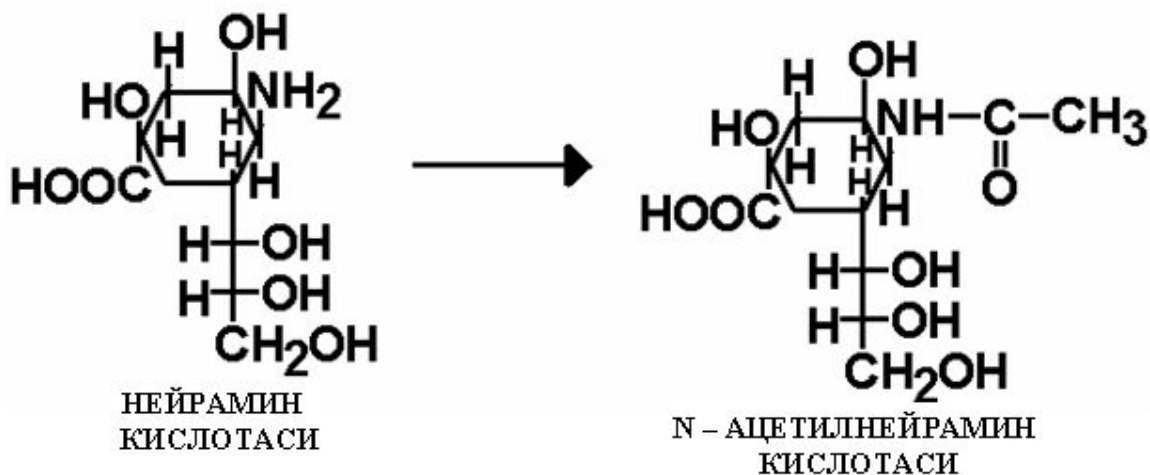
Нормада ы\ондаги пироузум кислотасининг ми\дори 0,1-0,13 ммоль/л га ты\ри келади. Унинг даражаси организмда тиамин (витамин В₁) етишмаслиги, пируватоксидаза комплекси ингибирланганда (арсенат, люзит ва б.) ошиши мумкин, ундан таш\ари жигар касаллигида, диабетда, юрак фаолияти етишмаслигида щам кузатилади.

Маш\улот N25. +он зардобида сиал кислоталари ми\дорини ани\лаш.

N-ацетил нейрамин кислота унуми былган сиал кислота организмда мухим ахамиятга эга былиб, полисахаридларнинг таркибий ы\исми щисобланади. Сиал кислота гликопротеинлар таркибига кирувчи полисахаридларнинг охирги ы\исмига жойлашган. Гликопротеинлар организмда щимоя ва таянч функциясини бажаради. Айрим касалликларда жумладан ялли\ланиш жараёнларида (ревматизм, миокард инфаркти, ыпка ва ысма касалликлари) ы\он зардобиде таркибиде ва ты\маларда сиал кислота ми\дори ызгаради. Шу сабаб ы\он зардобиде сиал кислота ми\дорини ани\лаш касаллик холатини ани\ловчи кырсагич былаолади. Со\лом одам ы\он зардобиде сиал кислота ми\дорини ыртача кырсагичи 0,62-0,73 г/л (62-73мг/дл) ни ташкил этади.

Услуб асоси.

+он зардобиде учхлорсирка кислотаси ы\ышилганда гидролизланиш реакцияси натижасида нейрамин кислотаси ажралиб чи\шига асосланган. Ажралган нейрамин кислота сиркали сульфат реактиви билан реакцияга киришиб, рангли бирикме щосил ы\илади. Щосил былган ы\ын\ир-пушти рангли эритма равшанлик даражаси сиал кислота концентрациясига ты\ри пропорционалдир.



Текширилувчи материал. +он зардоби

Реактивлар. Сирка-сульфат реактиви (95г сирка кислота ва 5г концентранган сульфат кислотаси аралашмаси), 10%ли сирка-сульфат кислота эритмаси, N-ацетил нейрамин кислотасининг стандарт эритмаси.

Жихозлар. Штатив ва пробиркалар, центрифуга пробиркалари, 1,2мл ли пипеткалар, 10мл ли ылчов цилиндрлари, сув хаммоми, центрифуга

Ишнинг бажарилиши. 1. +уру= тоза центрифуга пробиркасига 1мл =он зардоби, 1мл УХСК солинади ва аралаштирилади, пробирка о\зи зар =о\оз (фольга) билан беркитилиб, =айнаб турган сув хаммомига роса 5 минутга нейрамин кислотасини ажратиш учун =ыйилади.

Пробиркалар сув хаммомидан олингач, музли сувда совутилиб, аралашма центрифугаланади ёки эхтиётлик билан филтрланади. Агарда центрифугаланса, чыкма усти сую=лигини =уру= пробиркага олинади.

2. Биринчи текширилаётган пробиркага 0,4мл центрифугат ёки филтрланган эритма, иккинчисига (назорат) эса 0,4мл дистилланган сув солинади. Щар иккала пробиркага сиркасульфат кислотали реактивдан 5мл дан =уйилади, о\зи зар =о\оз билан беркитилади, =айнаб турган сув хаммомида роса 30 минут ушланади. Сынгра пробиркалар сув хаммомидан олиниб, совутилади ва щосил былган рангли эритма яшил рангли филтрда (540нм тыл=ин узунлиги), 1см =алинликдаги кюветаларда контроль намунасига нисбатан ФЭК да колориметрланади. Эритмалар оптик зичлигини билган щолда калибрланган эгри чизи\и быйича сиал кислота ми=дори ани=ланади.

3. Калибрланган эгри чизи= тузищда таркибида 0,05; 0,1; 0,2 ва 0,3мл сиал кислотаси саанган стандарт эритмалари (1мл да 0,5мг) 4 хажмини дистилланган сув билан 0,4мл етказилади. Барча пробиркаларга 5мл дан сульфат-сирка кислота реактивдан =уйилиб, аралаштирилади, юёрида айтилгани быйича сиал кислотасининг стандарт эритмасидаги ми=дори ани=ланади ва унга асосан калибрланган эгри чизи\и тузилади. Ордината ы=ига оптик зичлик, абцисс ы=ига стандарт эритмаларидаги сиал кислотанинг ми=дори =ыйилади. Кесишган ну=талар быйича чизи= ытказилади.

Ишни хужжатлаш.

Олинган натижалар асосида сиал кислота ми=дори щисобланиб, нормадаги зардоб таркибидаги сиал кислота ми=дори билан солиштирилади, унинг клиник ахамияти кырсатилади.

Муста=ил тайёрланиш учун саволлар.

1. +он ва =он зардобидеги о=сил =айси реактивлар билан ажратилади? +ондаги =анд ми=дорини ани=лаш учун уни оёилдан тозалаш сабабини айтинг.

2. Гликолиз, пентозофосфатли цикл ва неоглюкогенезни организм модда алмашинувида ызаро бо\ли=лиги.

3. Организмда углеводлар алмашинуви бузилишидаги биокимёвий

ызгаришлар.

4. +анд ми=дорини ылчашдаги О-толуидин, ферментатив усулларининг асосланиши, «ха=и=ий глюкозани» ани=лашнинг биокимёвий ахамияти.

5. Сиал кислота ми=дорини ани=лашнинг диагностик ахамияти?

Машғулот N26 +он зардобида гексокиназа фаоллигини Нейфах ва соавторлар быйича ани=лаш.

Гексокиназа (АТФ: Д -глюкоза -6- фосфотрансфераза-КФ 2·7·1·1) глюкозани АТФ хисобига фосфорланиш реакциясини катализлайди.

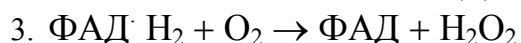
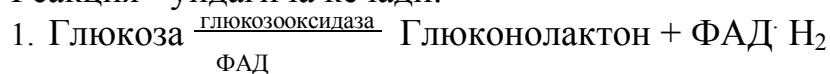


Гексокиназа углеводлар алмашинувини бош=арувчи ферментлар =аторига киради, ор=ага =айтмас реакция былиб, ызининг унуми глюкоза -6-фосфат билан ингибирланади ва бу жараёнга аллостерик ингибирланиш деб аталади. Гексокиназа Д-глюкозадан былак бош=а гексозаларни , жумладан Д-фруктоза, Д-манноза ва бош=арини хам фосфорланишини катализлайди. Жигарда гексокиназадан таш=ари фа=тгина Д-глюкозани фосфорланишини катализлайдиган глюкокиназа ферменти хам бор, мушак ты=ималарида бу фермент учрамайди . Гексокиназа ферментини плазмадан таш=ари тв=ималарда , эритроцитларда, лейкоцитларда ани=ланган . Гексокиназа фаоллигини бир =атор патологик холатларда - айни=са ыпка касалликларида (нормада =он зардобида учрамайди), оч =олганда, тироксин таъсири ошганлигида, гипоксияда, С-авитоминозида, радиация ва адреналин таъсирида пасайганлиги маълум.

Услуб асосида =он зардобиди ва бош=а биологик сую=ликларда гексокиназа реакцияси туфайли глюкоза-6- фосфатни щосил былишида глюкозани сарфланиши ётади.

Глюкоза ми=дорини ани=лашда глюкозооксидаза услубидан фойдаланилади.

Реакция =уйдагича кечади.



Щосил былган водород пероксиди пероксидаза ферменти таъсирида парчаланади ва ажралиб чи==ан кислород реакцион аралашмага =ышилган о-

толуидинни оксидлайди. Пайдо былган быё= рангининг ты=лиги эритмадаги глюкоза ми=дорига ты\ри пропорционал.

Жихозлар. ФЭК, 0,1 , 1, 2, 5мл ли пипеткалар, 1см =алинликдаги кюветалар, сув хаммоми, центрифугали ва оддий пробиркалар, текширилувчи материал-янги олинган =он

Реактивлар

1. Натрий хлориднинг 0,9%ли эритмаси
2. Рух сульфатнинг 5%ли эритмаси
3. Натрий гидроксиднинг 0,3ммоль/л эритмаси
4. О-толуидиннинг 80⁰С да истилган 96%ли этил спиртида тайёрланган 1%ли эритмаси
5. рН-8 былган ацетат - сирка буфер эритмасининг 0,25 ммоль/л ми=дори
6. Глюкозани ани=лайдиган ишчи реактив : рН-4,8 былган 80мл 0,25н сирка буфер эритмасига 2мг глюкозооксидаза, 1мг =уру= пероксидаза солингач, 1мл абсолют этил спиртида эритилган 1%ли О-толуидин =уйилади ва унинг хажми сирка буфери билан 100мл га етказилади. Эритма =ора идишда музлатгичда са=ланади . Ферментлар иш бошлаганда =ышилади. Реактив хона щароратигача келтирилади.

Глюкозанинг 0,5 , 1,0 , 1,5г/л (50,100,150мг) ми=дорли стандарт эритмалари тыйинган бензой кислотада тайёрланади. (тыйинган бензой кислота-100мг бензой кислотани 100мл сувда эритиш билан тайёрланади)

Ишнинг бажарилиши

1. +он о=елини чыктириш учун иккита центрифуга пробиркасига 0,9%ли натрий хлорид эритмасидан 1,0мл, рух сульфатнинг 5% эритмасидан 1,0мл, натрий гидроксид эритмасидан 0,4мл солиб, аралаштирилади ва устига 0,1мл =он =уйилади. Эритмалар яхшилаб чай=атилиб, 10 минутдан сынг 3000 марта айланиш тезлигида 10минут давомида центрифугаланади.
2. Тоза ва =уру= пробирканинг биринчисига 1мл текширилаётган центрифугат иккинчисига 1,0мл дистилланган сув (контроль) солинади. Сынгра устига хона хароратидаги ишчи реактивдан 3,0 мл =уйилиб, 15 минут са=ланади . Бу ва=гда реакция натижасида эритмалар рангли тусга киради ва рангларнинг оптик зичлиги ФЭКда 670нм тыл=ин узунлигида назоратга нисбатан ылчанади. Глюкоза ми=дори олдиндан тайёрланган калибрловчи эгри чизи\и быйича ани=ланади.

Калибрловчи эгри чизи\ини тайёрлаш.

37⁰ да =уритилган, тыйинтирилган бензой кислотада 500мг глюкоза эритилади. 1мл стандарт эритма таркибида 5мг глюкоза былади. Турли ми=доридаги глюкоза эритмаларини тайёрлаш учун пробиркаларга 0,1 0,5 , 1,0 , 1,5мл асосий глюкоза эритмаси солинади. Уларнинг хажми дистилланган сув билан тенглаштирилади. Глюкоза ми=дорини ани=лаш ю=орида келтирилган иш тартиби асосида олиб борилади . Сынгра щар бир глюкоза эритмасига оптик зичлик ани=ланади . Оптик зичлик ординатага,

глюкозанинг миџори абсциссага ѳзилади , туташган нуџалардан чизи = ытказилади.

Келтирилган услуб =ондаги глюкоза миџорини

3,1-5,2ммоль/л (56-94мг), -он зардоби ва плазмасида

3,05-5,55ммоль/л (55-100мг), ор=а мия сую=лигида

2,77-3,88 ммоль/л (50-70 мг)гача ани=лашга имкон беради.

Хисоблаш Аввало 1мл =он зардобидаги глюкоза миџори формула быйича топилади.

$$X = \frac{1250 \cdot E_{\text{тажриба}}}{E_{\text{стандарт}}}$$

бунда X-глюкоза миџори мкг-да , E-тажриба ѳки назорат намуналарининг фотометрлашда олинган оптик зичлиги (экстинкцияси), E₁- стандарт оптик зичлиги

Гексокиназа фаоллигини хисоблаш учун назорат ва тажриба намуналаридаги глюкоза миџорининг фар=и ани=ланади ва шал=аро бирликда (МЕ) ѳзилади яъни гексокиназа фаоллиги

$$ME = \frac{(A-B) \cdot 1000}{20 \cdot 180}$$

бунда, A-глюкозанинг намунасидаги миџори (мкг) ѳки глюкозанинг 1мл =он зардобидаги бошлан\ич миџори ;

B- гексокиназа реакцияси тугагандан кейин =олган глюкозанинг тажриба намунасидаги миџори (мкг)

махраждаги раџмларда инкубация ваџи (20) глюкозанинг молекуляр о\ирлиги ифодаланган. 1000 га кыпайтириш олинган натижаларни 1л =он зардобига мослаш учун.

Хисоблаш учун мисол Айтайлик, фотометрлаш натижасида =уйдаги экстинкция ылчамлари олинган.

Тажриба намунаси -E₀ = 0,225

назорат намунаси E_к = 0,285

стандарт E_{ст} =0,320

Глюкозанинг 1мл =он зардобидаги бошлан\ич миџори (назорат намунаси) хисоблаб топилади.

$$\frac{1250 \cdot 0,285}{0,320} = 1113 \text{ мкг,}$$

гексокиназа реакцияси тугагандан сынг 1мл =он зардобидаги (тажриба намунаси) глюкоза миџори топилади.

$$\frac{1250 \cdot 0,225}{0,320} = 996 \text{ мкг,}$$

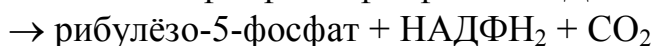
Гексокиназа фаоллиги (МЕда) ани=ланади

$$\frac{(1113-996) \cdot 1000}{20 \cdot 180} = 32,5 \text{ МЕ}$$

Агар фермент фаоллиги 5 МЕ ошса =он зардобиди ани=ланган гексокиназа фаоллиги натижаси ижобий саналади ва организмда патологик жараён борлигидан дарак беради.

Машғулот N27. Глюкоза-6-фосфат дегидрогеназа фаоллигини ани=лаш

Глюкоза-6-фосфатни пентозофосфат йыли билан оксидланишини катализловчи фермент глюкоза-6-фосфат дегидрогеназа былиб, реакция кечишини умумий кыриниши =уйдагича



Пентоза фосфат йылининг биологик ахамияти шундаки, у организмда НАДФ·Н₂ бирдан-бир манбаси хисобланади. НАДФ·Н₂ эса ё\ кислоталари, холестерин, стероид гормонлар, ыт кислоталари, витамин Д ва.б. синтезида иштрок этади. Эритроцитларда НАДФ·Н₂ молекуласи =айтарилган глутатион ми=дорини ю=ори даражада са=лаб, мембранаси таркибидаги тыйинмаган ё\ кислоталарини пероксидли оксидланишдан (ПОЛ) асрайди. Эритроцитларда глюкоза-6-фосфатни етишмаслиги НАДФ·Н₂ ни хосил былишини бузилишига, бу эса ыз навбатида эритроцитларни гемолизга учрашига сабаб былади. Кейинги ва=ларда фермент ми=дорининг етишмаслиги гепатит, инфаркт миокард, ысма касалликларида, сульфаниламид, малария (безгак) га =арши ва бош=а дори воситали таъсирида шам келиб чи=иши ани=ланган. +уйидаги келтирилган услуб быйича фермент фаоллигини ани=лашни =он зардобиди, эритроцитларда ва жигар ты=имасида =ыллаш мумкин.

Услуб асоси =айтарилган НАДФ шаклини (НАДФ·Н₂) ми=дорий ани=лашга асосланган.

Жихозлар ФЭК ёки СФ, термостат, центрифуга, аналитик ва торзион тарозлари, сув хаммоми, центрифугали пробиркалар, хар-хил хажмдаги пипеткалар, чинни ховонча дастаги билан

Реактивлар.

1. 0,1м трис-буфер, рН-7,6
2. 1м сульфат магний эритмаси
3. 1%- натрий гидрокарбонат (NaHCO₃), рН-7,0 эритмаси
4. 0,003м НАДФ нинг 1% натрий гидрокарбонатдаги эритмаси. 11,7мг НАДФ нинг 5мл дистилланган эритмасидан тайёрланади ва музлатгичда са=ланади.
5. 0,1н хлорид кислота эритмаси.
6. 0,1н натрий иш=ори эритмаси.
7. сульфат натрийнинг тыйинган эритмаси
8. глюкозо-6-фосфатнинг 0,04м натрийли тузи, рН-7,6
9. 1,2н натрий иш=ори эритмаси
10. 3,8% цитрат натрий эритмаси
11. 0,9% натрий хлор эритмаси
12. фосфатли буфер, рН-7,4

Ишнинг бажарилиши

Материал-=он зардобиди, жигар

Музли сувда совутилган центрифугали пробиркаларига кетма-кетлиги са=ланган шолда ва шар гал аралаштириб, солинади-2,5мл 0,1м трис-буфер (рН-7,6); 0,2мл 1м магний сульфат эритмаси; 0,1мл 0,003м НАДФнинг 1%ли натрий гидрокарбонатдаги эритмаси; 0,1мл 0,04м глюкозо-6-фосфатни натрийли туз эритмаси (рН-7,6); аралашма совутилганидан кейин 0,1мл зардоб ёки 0,1мл жигар центрифугати (1:20); агар фермент фаоллиги жигар ты=имасида ани=ланса . Назорат намунасининг таркиби 2,7мл 0,1м трис-буфер (рН-7,6), 0,2мл 1м магний сульфат эритмаси ва 0,1мл 0,04м глюкозо-6-фосфат эритмаси. Реакцион аралашманинг тажриба ва назорат намуналаридаги умумий хажми 3мл ты=ри келади.

Сынгра пробиркаларнинг таш=и деворлари =уритилиб, намуналар 15 минут 37^0 термостатга жойлаштирилади. Ва=т тугагач реакцияни тыхтатиш учун 1мл 1,2н натрий иш=ори =ышилади ва 10минут давомида 4000 айланиш тезлигида центрифугаланади, тини= центрифугат 340нм назоратга нисбатан фотометрланади.

Эритроцитларда ани=лаш.

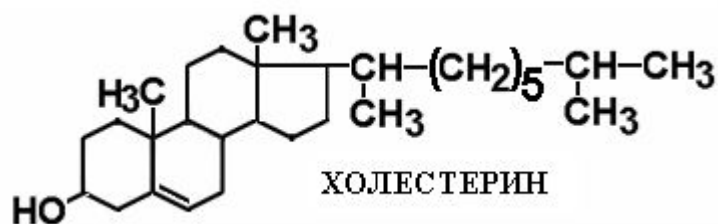
Совутилган центрифугали пробиркаларга кетма-кетлигини ~~слаб~~ , аралаштирилган шолда 2,5мл 0,1м трис-буфер (рН-7,6); 0,2мл 1м магний сульфат эритмаси; 0,1мл 1% натрий гидрокарбонат эритмасидаги 0,003м НАДФ эритмаси; 0,1мл 0,004м глюкозо-6-фосфатни натрийли тузи эритмаси ва совутилгандан кейин 0,05мл эритроцит гидролизати (1:10) =уйилади. Контроль намунани таркиби: 2,7мл 0,1м трис-буфер (рН-7,6); 0,2мл 1м магний сульфат эритмаси ва 0,1мл 0,04м глюкозо-6-фосфат эритмаси.

Пробиркалар девори артилиб, тезликда, 15 минутга 37^0 термостатга жойлаштирилади. Реакция 1мл 1,2н натрий иш=ори =ышиб тыхтатилгач, 10 минут 4000 айланиш тезлигида центрифугаланади ва олинган тини= центрифугатни 340нм да оптик зичлиги ылчанади.

Глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа фаоллиги нмоль НАДФН₂ /мин 1мг о=силга ёки 1л зардобга щисобланади. Текширилаётган материални хажмига ёки хужайра ми=дорига, ёки о=сил ми=дорига (масалан гемоглобинга) нисбатан аввалро= НАДФН₂ быйича калибрли график тузилади. НАДФН₂ былмаса (табий калибрлаш графиги шам былмайди) фермент фаоллигини шартли бирлик билан белгилаш мумкин (оптик зичлиги кырсапкичи x100) Анализ натижасига намуналарни инкубация муддати, температура даражаси, эритмаларнинг =ыйилиш кетма-кетлиги ва рН ызгаришлари таъсир =илиши мумкин.

Машғулот N 28. +он зардоб и ва ты=ималардаги холестерин ми=дорини ани=лаш.

Холестерин-юёри молекулалик , циклик тыйинмаган биратомли спирт. Буйрак усти беши, бош мия, нерв системаси, жигар ва =он мушакларда катта ми=дорда учрайди . Холестерининг биологик ахамияти шундаки, у аввало, хужайра мембранасини тузилишида =атнашади, витамин Д ва стероид гормонларнинг биосинтезида асосий манба щисобланади.



Соʻлом одам оғон зардобида холестериннинг умумий миқдори 150-250 мг/дл (3,0-6,2 ммоль/л) Холестериннинг ёл кислоталари билан шосил шилган унумлари унинг умумий миқдорини 60-70% ташкил этади, шолгани 30-40% эркин холестерин. оғон зардобида эркин холестериннинг эфирланган шисмига былган нисбат шиймати доимо бир хил. оғон плазмаси таркибида холестерин миқдорини ортиши (гиперхолестеринемия) микседема, менингит, диабет, атеросклероз ва жигарнинг айрим касалликларида учрайди; камайиши эса (гипохолестеринемия) сурункали юрак етишмовчилигида, ыткир юшумли касалликларда, полиартрид ва гипертиреозларда кузатилади.

Услубнинг асоси. Холестерин сирка ангидриди иштрокида сирка ва сульфат кислоталари аралашмалари билан рангли махсулот шосил шилади. Рангнинг интенсивлиги колориметрда анишланади.

Текшириш материали. оғон зардоби ва тышимаси

Жихозлар ФЭК, лаборатория центрифугаси, 25, 50мл-ли колбалар, пробиркалар, воронка, шар хил хажмдаги пипеткалар, сув шаммоми, термометр ва 0,5 см шалинликдаги кюветалар

Реактивлар Ишчи реактив-тажриба ытказилишидан олдин 1 шисм концентрланган сирка кислотаси 5 шисм сирка ангидриди аралаштирилиб, устига 1 шисм концентрланган сульфат кислотаси нищоят асталик билан, исишга йыл шыймай, арлаштириб турган шолда шышилади. Этил спирти, диэтил эфир, хлороформ, холестериннинг стандарт эритмаси 22-2мг/мл

1. **Холестерин миқдорини оғон зардобида анишлаш.**

оғоруш ва тоза пробиркага 2мл ишчи реактив (шиша цилиндрда ылчанади) ва 0,1мл гемолизланмаган зардоб солинади. оғон зардоби секинлик билан пробирка девори быйлаб томизилиши керак. Пробиркадаги суюшлик 10-12 марта яхшилаб чайшатилиб, 37⁰ термостатга 20 минутга ырнатилади. Назорат намунасига оғоруш пробиркага 2мл ишчи реактив олинади. Эритмаларнинг ранги ФЭК да шизил нур фильтрида назоратга нисбатан ылчанади. Холестериннинг намуналардаги миқдори калибрлаш эгри чизиши быйича анишланади.

2. **Холестерин миқдорини тышималар таркибида анишлаш.**

Холестерин асосан хужайра мембранаси таркибига кирганлиги туфайли, уни тышмалардан органик эритувчилар (масалан, хлороформ) ёрдамида экстракция шилиб олинади.

Ишнинг бажарилиши.

100мг майдаланган бош мия (ёки бош-а ты-има) 25мл ли ылчовли колбага солиниб, унга 15мл спирт-эфир (3:1) аралашмаси ышилади, яхшилаб аралаштиргач 50⁰С ли сув хаммомига ыйилади ва 30 секунд давомида охиста айнатилади (аралашма колбадан чиб кетмаслиги керак .) Аралашма совитилиб, умумий хажми 25мл га етгунча спирт-эфир аралашмаси (3:1) ышилади, колбадаги суюлик чай-атиблиб, филтрланади. Филтратдан 10мл олиб косачага ыйилади ва сув хаммомида уригунча ьдирилади (иш мырили шкафта олиб борилиши, барча алангалар ьчирилиши шарт). Рангли реакцияни шосил илиш учун шлифланган 10мл га ли пробиркага 5мл холестерининг хлороформли эритмасидан уйиб, унинг устига 1мл сирка ангидрид ва 4 томчи концентрланган сульфат кислота ьшилади . Пробиркадаги суюк аралаштирилиб , хажми 10мл га етказилади, чайтилиб аралаштирилгач , рангни тиниаштириш учун ёрон\и жойга 25 минут ыйилади. Хосил былган яшил рангнинг интенсивлиги ФЭК да 656нм да аниланади . Назорат сифатида ылчов пробиркасига 5мл хлороформ, 1мл сирка ангидриди, 4 томчи концентрланган сульфат кислота ва яна хлороформ ышиб, хажми 10мл га етказилган эритмадан фойдаланилади. Холестерин ми-дори калибрлаш эгри чизи\и ёрдамида аниланади . Калибрлаш эгри чизи\и жадвалда кырситилганидек таркибий исмлар ышилгач, 25 минутдан кейин ФЭК да колориметрланади. Стандарт эритмадаги рангнинг оптик зичлиги ординатага, холестерин ийматини абсцисса ыига ыйилиб, график чизилади.

Иш тартиби	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
холестерининг стандарт эритмаси, мл	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0
сирка ангидриди мл	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
сульфат кислота томчиларда	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
хлороформ	умумий хажми 100 мл былгунча ыйилади									-
холестерин ми-дори мг-да	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0

Машғулот N29. β ва пре-β- липопротеидларнинг он зардобиди

Бурштейн ва Самай быйича анилаш.

Липопротеидлар (ЛП)-липидлар ва бош-а гидрофоб бирикмаларнинг он таркибидаги транспорт шакли былиб, фосфолипидлар, холестерин ва триглицеридни ташувчи шарсимон зарачалардир. Липопротеидлар асосан плазмадаги альбуминлар билан бирикадилар ва ингичка ичакдан сырилган хиломикронлар хисобига мураккаб комплекс пре-β-липидларни (ёки жуда паст зичликдаги липопротеидлар), β-липидларни (паст

зичликдаги ЛП) ва α -липопротеидларни (юѐри зичликдаги ЛП) щосил =иладилар. Уччала классдаги ЛП-ни о=сил =исми (апопротеинлар) жигарда синтезланиши туфайли ЛП-лар миѐдорини =ондаги ызгариши фаѐатгина липидлар алмашинуви эмас, балки жигар функцияси ты\рисида фикр юритишга асос былади.

Услуб асоси. Гепарин =он зардобидаги β ва пре- β - липопротеидлари билан комплекс щосил =илиб, кальция хлорид таъсирида чыкмага тушишига асосланган. Эритманинг лойѐаланиш даражаси липопротеидларнинг =он зардобидаги миѐдорига ты\ри келади.

Реактивлар. кальций хлорид - 0,025м эритмаси, гепарин - 1мл 1000та бирлик (Еg)са=ловчи

Жихозлар. Микропипеткалар, ФЭК

Материал. =он зардоби.

Ишнинг бажарилиши +алинлиги 0,5см былган ФЭКнинг ынг ва чап кюветаларига 2мл дан кальция хлорид эритмаси =уйилади. Чап барабан шкаласини 720нм (=изил светофильтр) да ноль нуѐтасига =ыйилади. Ынг кюветага тоза микропипеткада 0,2мл зардоб солинади ва бир неча марта чайѐб , ювилади. Экстинкцияни (Е₁) бошлан\ич =ийматини аниѐагач , микропипетка билан 0,04мл гепарин =ышилади (пипетка бир неча маротаба кюветдаги суюѐик билан ювиб , =ышилади) ва кюветадаги аралашма аралаштирилади. Роса 4 минутдан сынг (секундомер асосида) яна экстинкция ылчанади (Е₂).

Хисоблаш

+он зардобидаги β ва пре- β - липопротеидлар миѐдори Х (г/л) формула быйича топилади.

$$X = (E_2 - E_1) \cdot 11,65, \text{ бунда}$$

11,65 β ва пре- β - липопротеидлар миѐдорини (г/л) га айлантйрилган эмпирик коэффиценти.

Ишнинг хужжатлаш.

Экстинкция кырдаткичлари быйича олинган натижага биноан =он зардобидаги липопротеидлар миѐдори хисобланади ва унинг ызгаришига =араб хулоса чи=арилади.

Ишнинг амалий мощияти.

Нормада =он зардобида липопротеидлар миѐдори 3,6-6,5(г/л) ни ташкил этади. Кыпчилик ваѐ β - липопротеидларни =он зардобида ошиши кузатилади. Липопротеидлар даражасини кытарилиши =он таркибида холестерин миѐорини кыпайиши билан узвий бо\ли =, чунки β - липопротеидлар унга жуда щам бой.

β ва пре- β - липопротеидларнинг ортиши липидлар алмашинувининг бузилиши билан бо\ли= былиб, атеросклероз, =анд диабети, гепатитлар ва семириш каби холатларда кузатилади.

Машѓулот N30.

**±он плазмасида липидлар гидропероксида ми±дорини
спектрофотометрик услубида ани±лаш.**

Хар хил кимёвий моддалар, дори препаратлари ва касалликлар о±ибатида кузатиладиган липидларнинг пероксидли оксидланишини фаолланиши баҳолашда ±он таркибидаги липидлар гидропероксида ми±дорини Ылчаш мушм диагностика ахамиятга эга.

Услуб асоси. Липидлар гидропероксидининг конъюгирлашган диенли структураларини 232-234нм да интенсив нур ютишига асосланган.

Жихозлар. Спектрофотометр, лаборатория силкитгичи, хар шил хажмдаги пипеткалар, пробиркалар

Реактивлар.

Этилендиаминтетраацетат (ЭДТА) эритмаси, 1мг/мл нисбатдаги, изопропил спирти, гептан, 0,1н хлорид кислотаси, рН-2,0

Материал.

±он плазмаси, унинг олишда стабилизатор сифатида эркин радикалли оксидланиш ингибитори Ылган 1мг/мл са±лаган ЭДТА-дан фойдаланилади.

Ишнинг бажарилиши.

0,2мл плазмага 4мл гептан-изопропил спирти ±ышилиб (1:1 нисбатда) , лаборатория силкиткичида 15 минут давомида чай±илади . Сынгра пробиркага 1мл хлорид кислотаси, рН -2,0 ва 2мл гептан ±ышилиб, яхшилаб чай±атиб аралаштирилади . 30 минутдан кейин аралашма тиниб, ±аватларга ажралгач гептанли ±авати эхтиётлик билан олинади ва 233нм фотометрланади. Назорат намунасига плазма Ырнига 2мл сув олиниб, ю±оридаги амалларнинг хаммаси ±айтарилади.

Хисоблаш. Липидлар гидропероксидининг 1мл плазмадаги ми±дори нисбий бирликда формула Ыйича ифодаланилади.

$$\frac{D_{233} \cdot V_э}{V_n} = D_{233} \cdot 20 \quad \text{1мл палзмага, бунда}$$

D233- Ылчанган оптик зичлик ±иймати, Vэ-4мл гептанли экстрактнинг охирги хажми, Vn-0,2мл ±он плазмасини олинган хажми ёки 1мг липидаги (D233 1мг липидга) нисбий бирликда. Айна шолда плазма таркибида липидлар ми±дорини параллель ани±аш керак Ылади . Каламуш ±они плазмасида липидлар ва липидлар ми±дори : умумий липидлар-1,64-2,8 г/л, липидлар гидроксиди 1мл плазмадаги нисбий бирлиги-1,34-2,37, 1мг липидларда-0,83-0,85 гептан ±аватини олишда охиригача олмаслик ма±ул , чунки озгина сув ±ышилса гептан ±авати хиралашиб, 233 ±иймати ошиб кетади.

Мащғулот N31. Малон диальдегиди ми±дорини ани±лаш.

Услуб асосида. малон диальдегидини (МДА) икки молекула тиобарбитулат кислотаси (ТБК) билан 100⁰ хароратда хосил ±илган рангли комплекси концентрациясини 532-535нм нур ютиши ётади.

Жихозлар. Спектрофотометр, сув хаммоми, центрифуга, кимёвий центрифугали пробиркалар, шар хил хажмдаги пипеткалар, чинни ховонча дастаги билан

Реактивлар. 1) 0,5% тиобарбитурат кислотали эритмаси. Буни тайёрлаш учун олдиндан 30мл сув солинган 100мл колбага 500мг ТБК солиниб, 90-100⁰ сув хаммомида, чайғиб турилган холда, батамом эригунча ушлаб турилади. Сынгра эритма хажмини сув билан 100мл гача етказилади.
2) 5% метафосфор кислотаси эритмаси-аввалдан филтрлаб тайёрланган 25% эритмасидан (музлатгичда саанади) тажриба ытказиладиган куни суюлтириб, тайёрланади.

Биологик материални тайёрлаш.

0,5г орган тығмаси (жигар, мия, мушак ва б) сую азотда музлатилиб, чинни ховончада майдаланилади, устига 4,5мл метафосфор кислотаси ёшилиб, аралаштирилгач, минутига 5000 айланиш тезлигида 10 минут давомида центрифугаланади. Чыкма устки исми яна филтрланиб, тажрибага 2мл олинади.

Ишнинг бажарилиши. Олинган 2мл филтратга (назоратга 2мл метафосфор кислотаси олинади) 1мл ТБК эритмаси ёшиб, аралаштирилади ва айнаб турган сув хаммомига 10 минутга ёйилади. Сынгра оғиб турган сувда совитилиб, центрифуга пробиркасига солинади ва 6000 айланиш тезлигида 10 минут центрифугаланади. Чыкма усти суюёлиги 532нм 1мм кюветада назоратга нисбатан фотометрланади.

Хисоблаш. МДА миёдори мкмолда тығима граммига нисбатан формулада аниланади.

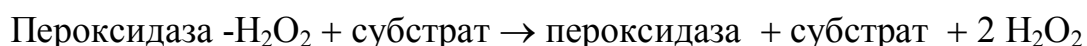
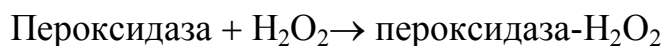
$$C = \frac{D \cdot 5 \cdot 3}{a} \quad \text{бунда}$$

Д-оптик зичлик, а-моляр экстинкция коэффиценти, $1,56 \cdot 10^5$ тенг, 5-суюлтириш даражаси, 3-текширилаётган намуна хажми

ТБК эритмасининг сағаниш муддати 2 хафтадан ошмаслиги керак. Эритмани таркибидаги ёуйадан ёутилиш учун фотометрлаш олдиан центрифугалаш зарур.

Машғулот N32. +оннинг пероксидаза фаоллигини анилаш.

пероксидаза (донор-водород пероксиди-оксидоредуктаза КФ 1·11·1·7) шар хил субстратларнинг оксидланишини водород пероксиди хисобига катализлайди. Бу реакциянинг биринчи этапида пероксидаза-водород пероксиди комплекси хосил былиб, сынгра субстрат оксидланади.



Организмда шар-хил бирикмалар-феноллар, ароматик аминлар, билирубин в.б. пероксидаза субстрати былишлари мумкин. Пероксидаза катализа сингари таркибида гем сазовчи ферментлар гурушига киради ва фаол марказида темир (Fe^{++}) атоми бор. Пероксидаза фаоллигини он таркибида анилаш оксидланиш жараёнларида, аниса металл билан комплекс шосил илувчи биологик моддаларнинг таъсирини ырганишда ахамиятга эга.

Услуб асоси. оннинг пероксидазали фаоллигини анилаш асосида пероксидаза иштирокида водород пероксиди билан оксидланувчи индигокармин концентрациясини камайиши былиб, унинг мидери фотометрлаш йили билан аниланади.

Жихозлар. Спектрофотометр ёки ФЭК, сув хаммоми, секундомер, пробиркалар, пипеткалар.

Реактивлар.

1. Ацетатли буфер, рН-4,9 , 0,2м сирка кислотаси эритмасини 0,2м сирка кислотасининг натрийли тузи билан 3,5:6,5 нисбатда аралаштириш йили билан олинади. 0,2м сирка кислотаси эритмасини тайёрлаш учун 11,2мл музли сирка кислотасини бир литрли колбага солиб, хажмини дистилланган сув билан бир литрга етказилади. 0,2м сира кислотаси натрийли тузи эритмасини тайёрлашда уни 16,4г дистилланган сувда 1л ылчовли колбада эритилади.

2. 0,0005м индигокармин эритмасини тайёрлашда уни 0,0233г 100мл колбада дистилланган сув билан эритилади.

3. 0,03м водород пероксиди эритмаси тайёрлашда уни 0,33мл эритмаси 100мл дистилланаган сувда тажриба ытказиладиган куни эритилиб, тайёрланади ва зичлаб беркитиладиган орамтир шиша идишларда сланади.

4. 20% сульфат кислотаси эритмаси-56,6мл концентранган сульфат кислотасини (солиштирма массаси - 1,84) эхтиётлик билан 400мл дистилланган сув устига уйилади, аралашгандан синг сув мидори 500мл етказилади.

Ишнинг бажарилиши. Пробиркага 1мл ацетат буфери, 1мл индигокармин эритмаси ва 0,5мл 1:1000 нисбатда суюлтирилган он эритмаси солинади. он эритмасини тайёрлаш учун 0,02мл онни Сали капиллярига олиб, 20мл-ли дистилланган сув устига пуфланади. Ушбу усул билан суюлтирилган оннинг пероксидаза фаоллиги боат давомида сланади . Сингра пробиркани 5минутга $30^{\circ}C$ ли сув хаммомига жойлаштирилиб, ва т ытгандан кейин устига 0,5мл 0,3м водород пероксид эритмаси ышилади ва бир ва тнинг ызида секундомер босилади . Роса 2 минутдан синг реакция 3мл 20% сульфат кислота эритмаси ышилиб, тыхтатади. Назорат намунасига водород пероксиди ырнига 0,5мл дистилланган сув ышилиб, юридаги жараён бир хилда айтарилади.

Тажриба ва назорат намуналари 1см кюветаларда 610нм (изил светофильтр) бир соатдан кечиктирмай, дистилланаган сувга нисбатан колориметрланади.

Хисоблаш. оннинг пероксидазали фаоллигини формула быйича топилади.

E-571,428 мкмол индигокармин мин. мл, бу ерда

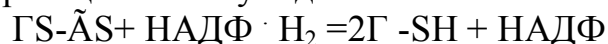
E-тажриба ва назорат оптик зичлиги орасидаги фарқи, 571,428-коэффициент. Услуб асосида аниқланган каламуш оқининг пероксидаза фаоллигини 156 ± 9 мкмоль/мин. мл га тўғри келади.

Машғулот N33.

Глутатионредуктаза фаоллигини аниқлаш.

Глутатионредуктаза (НАДФ · Н₂-глутатионоксидоредуктаза, КФ 1:6:4:2) айтарувчи эквивалент сифатида НАДФ · Н₂ ёрдамида оксидланган глутатионни айтарилиш реакциясини катализлайди. Глутатионредуктаза фаоллигини катта оқини хужайранинг суюқ фракциясига жойлашган.

Услуб асоси. Глутатионредуктаза оксидланган глутатионни айтарилиш реакциясини уйдаги схема бйича катализлайди.



Жихозлар. СФ, гомогенизатор, торзион ва аналитик тарозилари, секундомер, центрифуга, оддий ва центрифуга пробиркалари, хар-шил хажмдаги пипеткалар.

Рективлар.

1. 0,05 калий фосфат буфери, рН-7,4 Уни уйдагича тайёрланади: 6,8г калийдигидрофосфат (КН₂ РО₄) тузини 1л дистилланган сувда эритилади (эритма-1) ва 11,41г учмолекула сувли калийгидрофосфат (К₂НРО₄ · 3Н₂О) тузини ҳам 1л дистилланган сувда эритилади (эритма-2) Сынгра 205мл 1-эритмани 480мл 2-эритмага ошиб, аралаштирилади. Олинган аралашма эритмасини узоқ вақт сажаш учун унга 372мг хелатон ошиб музлатгичда саланади.
2. Калий фосфат буфериди, рН-7,4-оксидланган 1,08м глутатион эритмаси - бунда 1мл эритмада 10мг реактив тутди.
3. Калий фосфат буфериди, рН-7,4; НАДФ · Н₂ эритмаси; 2мг реактив 1мл да эритилади.

Ишнинг бажарилиши. Анализ оилиш олдида тайёрланган гомогенатлар яна фосфатли буферда (рН-7,4) 10марта суюлтиради.

N1 спектрофотометр кюветасига (назорат) 2,8мл калий фосфат буфери (рН-7,4), 0,1мл тўғима гомогенати ва 0,1мл НАДФН₂ эритмаси солиниб, шу захоти секундомер босилади, кювета ичидаги шиша таёча билан яхшилаб аралаштирилгач, оптик зичлиги 340нм ылчанади, ылчаш жараёни шар минутда 5минут давомида айтирилади.

N2 кюветага 2,6мл калий фосфат буфери, 0,1мл тўғима гомогенати, 0,1 НАДФН₂ эритмаси, 0,2мл оксидланган глутатион солиниб, шу захоти секундомер босилади, яхшилаб аралаштирилиб, оптик зичлиги юёрида назорат намуасида кырситилганидек ылчанади.

Хисоблаш. Глутатионредуктаза фаоллиги формула бйича (нмоль/ мин.мг) шисобланади.

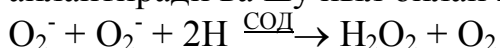
$$A = \frac{E_{\text{мин}} \cdot 1000}{2,07 \cdot C} \quad \text{бунда}$$

С-тажриба намунасидаги о=сил ми=дори мг-да , Емин - тажриба ва назорат намуналарининг оптик зичлиги ызгариш фар=и ; услуб оддий ва осонлик билан бажарилилади, аммо =ышилаётган реактивларни кетма-кетлиги ва ани= ва=т орали\ига эътибор бериш лозим.

Машғулот №34.

Супероксиддисмутаза (СОД) фаоллигини эритроцитларда ани=лаш.

Супероксиддисмутаза (супероксид-оксидоредуктаза КФ 1:15:1:1) супероксиданион-радикаллари (O_2^-) дисмутация реакциясини катализлаб, уларни зарарли хусусияти камро= быллаган молекуларга (H_2O_2 ва O_2) айлантиради ва шу йыл билан хужайра функциясини щимоя =илади.



Супероксид радикаллари дегидрогеназалар, аминоксидазалар, цитохромоксидаза ферментлари иштрокида щосил быладилар. Супероксид радикалларининг концентрациясини хужайрада ошиши мембрана липидларини перекисли оксидланишини стимуллайди, эритроцитларни шкастлайди ва ялли\ланиш жараёнларини келтириб чи=аради. Фермент фаол марказида =андай металл былишига (Cu, Zn, Fe) =араб, СОД ни уч хили ани=ланган . Эритроцитларда Cu га бо\ли= СОД бор. +уйида келтирилган услуб С. Чевари ва соавт (1985), Е.Б.Дубинина ва соавт (1983) ишларидан олинган.

Услуб асоси. Никотинамидаденин-динуклеотидни =айтарилган шакли (НАДФ · H_2) билан феназинметасульфатни ызаро аэроб реакцияси натижасида щосил былган супероксид анионларига СОД-ни тетразол нитро кыки билан конкуренциясига асосланган. Ушбу реакция о=ибатида тетразол нитро кыки =айтарилиб тетразолгидразинини щосил =илади. СОД иштрок этганида тетразол нитро кыкини =айтарилиш фойизи камаяди.

Жихозлар. СФ, центрифуга, секундомер, центрифугали пробиркалар, ылчов колбалари, щар-щил хажмдаги пипеткалар.

Реактивлар.

1. 0,15м фосфатли буфер, рН-7,8. Уни тайёрлаш учун 8,96г Na_2HPO_4 ва 0,5г KH_2PO_4 ларни 1л дистилланган сувда эритилади.
2. Трис-ЭДТА буфери, рН-8,0. 100мл бидистилланган сувда 37,2 ЭДТА ва 24,3 мг трис эритилади. РН и бир неча томчи HCl =ышилиб, ани=ланади.
3. 0,005 трис- HCl буфер, рН-7,4. 302,8мг трис 500мл бидистилланган сувда эрититлиб, рН-7,4 га етказиш учун 1н HCl эритмасидан =ышилади.
4. Реагент II 6,2мг ЭДТА, 50г тетразол нитро кыки, 9,2мг феназинметасульфатни 100мл фосфат буфериди (рН-7,8) эритилади.
5. Реагент II. 76,3мг НАД · Н 100мл фосфат буфериди (рН-8,0) эритилади. Иккала реагент (I à II) музлатгичда са=ланади.
6. 0,9% натрий хлор эритмаси.
7. 3,8% лимон кислотасининг натрийли тузи
8. хлороформ
9. этил спирти
10. ацетон

11. =уру= муз

Текшириш материали. 3,8% лимон кислотаси натрийли тузи эритмасида стабиллашган =он (1:10) ни 3000 айланиш тезлигида 15минут центрифугаланади. Плазмани лейкоцитли =атлами билан олиб ташлаб, эритроцитлар =атламга хажми икки баробар катта келадиган 0,9% натрий хлор эритмаси =ышилиб, яхшилаб аралаштирилади, щосил былган суспензияни ю=оридагидек центрифугаланади. Чыкма устки сую=лиги олиб ташланиб, ювилган эритроцитларда СОД ани=ланади . Бунинг учун 1мл эритроцитларга 9мл 5мМ трис-НСl буфери (рН-7,4) =ышиб, гемолизат тайёрланади ва гемоглобин чыктирилади, чунки гемоглобин СОДни ани=лашга халал беради. Сынгра 8мл эритроцитлар гемолизига этил спирти (2мл) ва хлороформ (1,2мл) аралашмасидан аралаштирилиб турилган щолда томчилаб =ышилади. Ушбу шароитда пробирка муз быллагы сажаган ацетонли хаммомда (-30⁰ С) турган былиши керак. Сынгра гемоглобин ва хлороформни ажратиш учун 15минут давомида 5000 тезликда центрифугаланади, олинган тини=, СОД сажаган супернатант анализ =илинади.

Ишнинг бажарилиши.

Ылчашда оптик узунлиги 1см СФ кюветасидан (25⁰С) фойдаланилади. Биринчи кюветача (ноль намуна) 1,9мл реагент Iдан 0,1мл бидистилланган сув ва 0,1мл реагент II солинади. Яхшилаб аралаштирилгач, секундомер босилади ва 540нм да бошлан\ич экстинкцияси ылчанади. 2 нчи кюветага (текшириляётган намуна) ю=оридагы компонентлар =ышилиб, сув ырнига 0,1мл супернатант солинади. Экстинкцияни ылчаш ишлари худди биринчи кювета сингари бажарилади.

Хисоблаш. СОД фаоллиги ты\рисида тетразол нитро кыкини =айтарилиш реакциясини ингибирланиш даражасига =араб хулоса =илинади.

$$\frac{E_0 - E_{пр}}{E_0} 100\% \quad \text{бу ерда}$$

E_0 ва $E_{пр}$ - нольдагы ва текшириляётган намунани эксинкцияси.

Машғулот N35. О=сил ми=дорини Лоури усули билан ани=лаш.

Услуб асоси. О=силни ми=дор жихатдан ани=лаш усуллари ичида кенг тар=алган ва ю=ори сезгирликка эга былгани Лоури усулидир . Бу услуб билан эритма таркибидагы 1мл да 10-20мкг о=сил ми=дорини ани=лаш мумкин. Лоури усули бир ва=тнинг ызида икки хил, яъни биурет реакцияси хамда тирозин ва цистеинларга щос Фолин реактиви билан берадиган рангли реакцияга асосланган. Фосфовольфрамат ва фосфомолибден кислоталари аралашмаси (Фолин реактиви) =айтарилганда орюдагы аминокислоталарнинг радикаллари билан бирикиб, кык рангли комплекс щосил =илади. Бу =айтарилиш реакциясида мис сульфатнинг иш=ордагы эритмаси о=сил билан щосил =илган мисли комплекси иштрок этади.

Жихозлар. ФЭК, центрифуга, тарозилар, чинни ховонча, 25,50,100 мл цилиндрлар, пробиркалар, пипеткалар

Реактивлар.

1. 0,1н натрий иш=ори эритмаси
2. 0,9% натрий хлор эритмаси.
3. сувсиз натрий карбонат ангидриди
4. натрий лимон кислотаси
5. мис сульфат
6. натрий вольфромат
7. натрий молибдат
8. 85% ли ортофосфат кислота эритмаси.
9. концентрланган хлорид кислотаси.
10. сульфат литий
11. бром суви, 2-3томчи бромни 20мл дистилланган сувга =ышилади.
12. 0,5%-фенолфталеин эритмаси
13. А эритма-20г натрий карбонат ангидридини 0,1н натрий иш=орини 1л - да эритилади.
14. Б эритма- 10г натрий лимон кислота тузини 300мл дистилланган сувдаги эритмасига 5г мис сульфат =ышилиб, эритма хажмини дистилланган сув билан 1л га етказилади.
15. Реактив С- ишлатилиш олдидан 50=исм реактив А ни бир =исм реактив Б билан аралаштирилгани
16. Фолин реактиви. Реактивни тайёрлаш учун 250мл ли юмало= тубли колбага 10г натрий вольфромат, 2,5г натрий молибдат солиб, устига 70мл дистилланган сув =ышиб, яхшилаб чай=атилади . Аралашма устига 5мл 85%ли фосфат кислота ва 10мл концентрланган хлорид кислота =ышиб, шлифли =айтар совутгич ырнатиб, 10 соат =айнатилади. Шундан сынг 15г литий сульфат, 5мл дистилланган сув ва 1 томчи бром =ышилади. Эритма совутилгач хажми 100мл га етказилади ва кислоталиги 1н етгунча суюлтирилади.

Ишнинг бажарилиши. Жигар гомогенатида.

Цилиндрга 0,5мл жигар гомогенати солиниб, хажми 0,9% натрий хлорид эритмаси билан 25мл етказилади. Яхшилаб аралаштирилгач, 1мл эритмадан тоза пробиркага олинади ва устига 1мл С реактивидан ва 10минут ытгач 0,5мл реактив Е солиниб, хона хароратида (18-20⁰С) 30минут (стабил ранг пайдо былгунча) ушланади. Реактив Е Фолин эритмасини сув билан суюлтириб, кислотали эритма тайёрланади.

+он зардобид. 0,1мл =он зардобид 50мл ли цилиндрга олиб, хажми 0,9% натрий хлор эритмаси билан белгисигача етказилади. Анализ давоми жигар гомогенати анализига ыхшаш. Сынгра 670нм (=изил светофильтра) назоратга нисбатан (текширилувчи намуна ырнига 1мл 0,9% натрий хлорид олинади) колориметрланади.

Калибрловчи график тузиш учун 25мг =ора мол альбумини 0,9% натрий хлорид эритмаси билан ылчов колбасида 100мл гача суюлтирилади. Сынгра графикда кырситилганидек бажарилади.

Эритилган =ора-мол альбумини мл	дистилланган н сув, мл	Реактив С мл	реактив Е мл	намунадаги о=сил, мкг
0,2	0,8	5	0,5	50
0,4	0,6	5	0,5	100
0,6	0,4	5	0,5	150
0,8	0,2	5	0,5	200
1,0	-	5	0,5	250

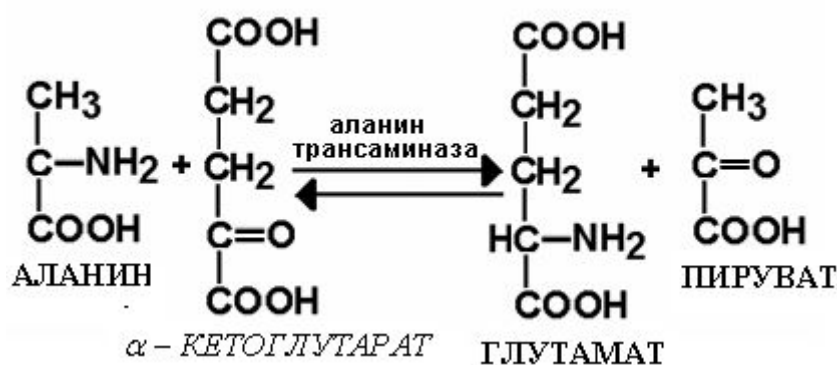
Шисоблаш. О=сил ми=дори мг да 1мл =он зардоби ёки 1г ты=мага нисбатан формулада шисобланади.

$$\frac{a \cdot x}{1000}, \text{ бунда } a - \text{ калибрлаш графиги быйича топилган о=сил}$$

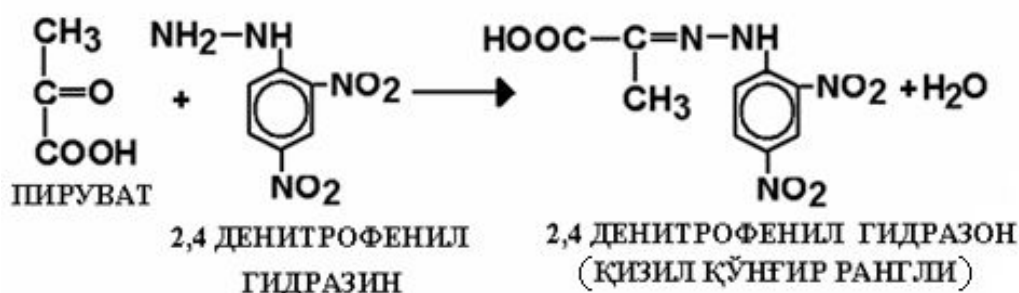
ми=дори, мкг-да, x- зардобни ёки гомогенатни суюлтириш даражаси.

Машғулот N36. Аланин ва аспарат аминотрансфераза фаоллигини жигарда ва =он зардобиди ани=лаш.

Аминотрасферазалар ёки трансаминазалар аминогрухларни аминокислоталардан кетокислоталарга ташилишидаги молекулалар аро реакцияларни катализлайди. Трансаминазалар коферменти сифатида витамин В₆ ни (пиридоксин) фаол шолати былган пиридоксал фосфат ва пиридоксамин фосфат =атнашади. Иккита фермент-аспартатаминотрансфераза (АсАТ) ва аланинаминотрансфераза (АлАТ) лар фаоллигини ылчаш мухим ахамиятига эга, чунки бу ферментлар турли аьзо ва ты=ималарда шар-шил фаоллиги билан фар=ланади . Масалан, жигардаги АлАТ фаоллиги юрак ты=ималарига нисбатан бирмунча орти=, АсАТ эса, аксинча, юрак мушакларида юври фаолликга эга . +он зардобиди аминотрансферазалар фаоллиги жуда шам паст даражада, жигар ёки юрак мембраналари шкастланиб, бутунлиги бузилганда улар ми=дори сезиларли даражада кыпаяди. Шу сабаб аминотрасферазалар ми=дорини =он зардоби таркибиди ани=лаш бир =атор о\ир касалликларда, жумладан миокард инфарктида, вирусли гепатитда, жигар циррозида мушим диагностик тест шисобланади. АлАТ ва АсАТлар =уйидаги реакцияни катализлайдилар.



Услубнинг асоси. Реакция натижасида шосил былган кетокислоталар-пируват ва оксалоацетат (оксалоацетат осонлик билан пируватга айланади) иш-эрий мухитда 2,4-фенилгидразин таъсирида пируватни =изил-ын\ир рангли 2,4-фенил гидрозонига айланади, рангнинг интенсивлиги пируват ми=дорига ты\ри пропорциональ.



АлАТ ва АсАТ фаоллиги юрак ва жигар ты\ямалари экстрактида =он зардобиди норма ва паталогияда текширилади.

Текшириш материали. Юрак ва жигар ты=ималари гомогенати, янги норма ва паталогиядаги =он зардобиди.

1. Ты\яма гомогенати . 5г юрак ёки жигар ты\ямасини (экспериментда каламуш, =уён органлари) кварц =уми билан чинни ховончада (ёки гомогенизатор ёрдамида) озро= физиологик эритмада майдаланилади. Сынгра гомогенат 200мл колбага солиниб, хажми физиологик эритма билан белгисигача етказилади. Олинган гомогенат бир сутка совутгичда са=лангандан сынгра марли ор=али филтрланади ва филтратдан фермент препарати сифатида фойдаланилади. Мазкур эритмани совутгичда бир неча кун са=лаш мумкин.
2. АсАТ фаоллигини ани=лаш учун субстратли эритма 29,2мг α -кетоглутарат кислотаси ва 2,66 г ДЛ-аспарагин кислоталарининг натрий гидроксиди 1моль/л эритмасида эритилади. Натрий гидроксиди асталик билан рН7,4 га етгунча =ышилади. Сынгра фосфатли буферда рН 7,4 олинган эритма хажми 100мл га етказилади.
3. АлАТ фаоллигини ани=лаш учун субстратли эритма 29,2мг α -кетоглутарат кислотаси ва 1,78г DL-аланин ю=орида ёзилганидек эритилади. Агарда иш жараёнида DL аспарат ва аланин ырнига уларнинг L-изомерларидан фойдаланиладиган былса, кислоталар ми=дори икки баробар кам олинади.

4. Бромтимол кыкининг 0,04% эритмасы. 100мг индикаторни ховончада 3,2мл 0,05моль/л натрий гидроксид эритмасы билан эритилади. Эригандан кейин, сув билан ювиб, 250мл хажмдаги колбага =уйилиб, хажми белгисигача сув билан тылдирилади.
5. 2,4-динитрофенилгидразин (2,4-ДНФ) эритмасы. 19,8мг 2,4-ДНФ ни озми=дордаги 1 моль/л хлорид кислота эритмасыда сув хаммомида истилган шолатида эритилади. Совутилиб, хлорид кислота хажмини 100мл га етказилади. Эритмани бир суткадан сынг фильтрлаб, совутгичда =орамтир идишда са=лаб, бир йилгача ишлатса былади.

Реактивлар.

1. фосфатли буфер, 0,1моль/л ни эритма (рН-7,4),
2. Бромтимол кыки, 0,04%-ли эритмасы,
3. АсАТ ни ани=лаш учун таркибида α -кетоглутарат ва аспарат тутган субстратли эритма
4. АлАТ ани=лаш учун таркибида аланин ва α -кетоглутар кислотаси са=лаган субстратли эритма
5. 2,4-динитрофенилгидразин (2,4-ДНФ) эритмасы,
6. натрий гидроксид (NaOH), 4 моль/л эритмасы
7. таркибида 1мл да/10мкг натрий пируват са=лаган стандарт эритма (бунинг 1мл 88мкг пируватга ты\ри келади)

Жихозлар. Пробиркалар, пипеткалар хажми 1мл гача, термостат, ФЭК, =алинлик =авати 1см былган кюветалар

Ишнинг бажарилиши.

АсАТ фаоллигини ани=лаш.

1. Фермент фаоллигини юрак, жигар ты=малари экстрактида ва зардоб таркибида ани=лаш учун (нормада ва патологияда) 4та пробирка олинади.

Намуна	субстрат эритмасы, мл	юрак ты=имасы экстракти, мл	жигар ты=имасы экстракти, мл	норма, мл	патология ,мл
1	0,5	0,2	-	-	-
2	0,5	-	0,2	-	-
3	0,5	-	-	0,1	-
4	0,5	-	-	-	0,1

Реакцияда кирувчи аралашмалар жадвалда кырситилганидек тайёрланади. Субстрат эритмасы олдиндан 5минут 37⁰ ли термостда са=ланади.

2. Щар-бир текширилувчи намунага бир ва=тнинг ызида назорат намунаси тайёрланади. Лекин назорат намунасига 2,4-динитрофенилгидразин инкубация =илинишидан олдин, яъни пробиркага субстрат эритмасы =ышилгунча, =ышилади.

3. текширилувчи ва назорат пробиркалари таркиби аралаштириб, термостатда 60 минут давомида 37⁰С да инкубирланади. Сынгра щар бир пробиркага 0,5мл дан 2,4-динитрофенилгидразин эритмаси =ышилиб, хона щароратида гидразин эритмаси =ышилиб, хона щароратида 20 минут са=ланади . Шундан кейин хамма пробиркаларга 5мл дан 0,4 моль/л-ли NaOH эритмаси =ышилади. Пробиркалар ичидаги яхшилаб аралаштирилиб, ранг щосил былиши учун 10 минут давомида хона щароратида ушланади.
4. Текширилувчи материални оптик зичлиги назоратга нисбатан 500-560нм тыл=ин узунлигида (кык светофильтр) ФЭК-да ылчанади.

АлАТ фаоллигини ани=лаш.

Анализни бажарилиш схемаси АсАТ ни ани=лашга ыхшаш былиб , фар=и бош=а субстратли эритмадан (АлАТ ани=лаш учун) фойдаланилади ва текширилувчи ты=ма =ышилганидан кейин 30 минут термостатда инкубирланади.

Ферментлар фаоллигини щисоблаш.

1. Зардоб учун щисоб. Калибрланган графикдан текширилувчи материални оптик зичлигига мос келадиган натрий пируватни ми=дори ани=ланади . Сынгра 1мл =он зардобини 37⁰С-да 1соат давомида инкубация =илиниши натижасида щосил былган пируватнинг мкмоль да ифодаланган фермент фаоллиги =уйидаги формула быйича хисобланади.

$$A_{cAT} = \frac{a \cdot 10}{88} \quad A_{AlAT} = \frac{a \cdot 2 \cdot 10}{88} \text{ -бунда}$$

10-бир мл =он зардобига ытказиш учун щисоблаш коэффиценти.

а- калибрлаш графиги быйича топилган пируватнинг =он зардобидаги ми=дори, мкг-да

88- 1мкмоль пируватнинг о\ирлиги, мкг-да

2- 1соат давомида инкубация =илинишидаги =айта саналган коэффиценти

Нормада одам =он зардобида фермент фаоллиги АсАТ учун 0,1-0,45 мкмоль, АлАТ учун 0,1-0,68 мкмоль пируватнинг 1соат давомида 37⁰С да 1мл сывороткасида щосил былган ми=дори.

2. Ты=малар учун хисоблаш . Фермент фаоллиги 1г ты=мани 1соат давомида 37⁰С да инкубация =илинишидан щосил былган 1мк моль пируват быйича щисобланади.

$$A_{cAT} = \frac{a \cdot \text{гомогенатни суюлтириш даражаси}}{88 \cdot \text{ты=има о\ирлиги, г}}$$

$$A_{AlAT} = \frac{2 \cdot a \cdot \text{гомогенатни суюлтириш даражаси}}{88 \cdot \text{ты=има о\ирлиги, г}}$$

(коэффицентлар маъноси ю=орида кырситилганидек)

Калибрлаш графигини тузиш. Келтирилган жадвалга биноан пробиркаларга натрий пируватнинг стандарт эритмаси солинади ва 0,5мл 2,4-динитрофенилгидразин =ышиб, аралаштирилади. 20 минутдан сынг 0,4н

натрий гидроксид эритмасидан 5,0мл =ышилади ва хона шароратида елдирилади . 10 минут ытгач пробиркалардаги эритмалар яшил нур фильтрида (530нм) 10мм =алинликдаги кюветаларда контрольга нисбатан (пируват ырнига сув =ыйилади) фотометрланади. Калибрлаш эгри чизи\ини чизишда ордината ы=ига топилган оптик зичликлар, абцисса ы=ига унга мос былган пируватни мкг ёки мкмольдаги ми=дори =ыйилади (бу холда олинган натижалар 10 га кыпайтирилади)

пируват стандарт эритма					1мл =он зардобини 1 соат 37 ⁰ С инкубация-сидаги пируват ми=дори	
		пируват	ми=дор и	дистилл анган сув	АсАТ	АлАТ
пробирка	мл	мкг	МК МОЛЬ	мл		
1	0,05	4,4	0,05	0,55	0,5	1,0
2	0,10	8,8	0,10	0,50	1,0	2,0
3	0,15	13,2	0,15	0,45	1,5	3,0
4	0,20	17,7	0,20	0,40	2,0	4,0
5	0,25	22,0	0,30	0,35	2,5	5,0
6	0,30	26,4	0,35	0,30	3,0	6,0

Машғулот N37. +он зардобида гистидаза фаоллигини Табор ва Мелер услубини В.А.Буробин модификациясида ани=лаш.

Гистидаза органоспецифик ферментлардан былиб, инсон жигари ва терисида ми=дори кыпро = учрайди ва жигар касаллигида =он таркибида ошиши кузатилади. Со\лом одам =он зардобида жуда оз ми=дорда былиб , асосан жигар хасталигида кыпайиб, касаллик даражасини белгилайди.

Услубнинг асосида гистидаза таъсирида гистидиннинг дезаминланишидан хосил былган уроканин кислотасини ми=дорини ылчаш былиб , унинг кислотали мухитдаги 264нм нур ютиш экстинкцияси фермент фаоллигини белгилайди.

Реактивлар.

1. L-гистидин моногидрохлорид, 0,2м эритма (418мг 100мл да), 1м ли натрий гидроксид билан рН-8,2 га етказилади.
2. пирофосфатли буфер, 0,1м эритма рН-8,2, 4,46г натрий пирофосфатни 200мл ли ылчамли колбада тахминан 100мл сувда эритилиб, 0,1м хлорид кислота эритмаси билан рН-8,2 етказилади ва белгигача дистилланган сув =уйилади
3. учхлорсирка кислотаси (УХСК) 20%ли эритма
4. таркибида глутатион ва альбумин са=лаган фаоллаштирувчи эритма хажми 100мл былган ылчов колбасига 155мг =айтарилган глутатион ва 400мг

кристалланган альбумин солиниб, уларни 50мл дистилланган сувда эритилади ва 1м натрий гидроксид ёрдамида рН-8,2 етказилади, сынгга белгисигача сув тылдирилади.

- 0,001м уроканин кислотаси эритмаси - калибрлаш графиги тузиш учун (8,7мг уроканин дигидрат кислотасини 50мл ли ылчов колбасида 0,001м натрий гидроксид эритмасида эритилади.)

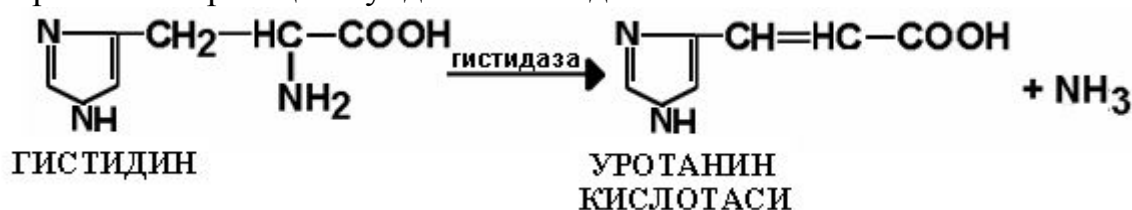
Жихозлар.

Пробиркали штатив, 1ва 5мл хажмдаги пипеткалар, лаборатория термометрли сув хаммоми, термостат 37⁰С ли, центрифуга тарозиси билан, СФ.

Материал. =он зардоби

Ишнинг бажарилиши.

Ферментатив реакция =уйдагича кечади.



Иккита пробирка олиниб (назорат ва тажриба намуналари) , шар бирига 0,3мл дан пирофосфат буфери, 0,5мл дан текширилувчи =он зардоби ва 1мл дан фаоллаштирувчи эритма =ышилади. Тажриба пробиркасига 1мл гистидин эритмасидан =уйиб, намуна хажмининг дистилланган сув билан 3мл га етказилади. Пробирка таркиби чай=атилиб, аралаштирилади. Иккала пробирка 2 соатга 37⁰ сув хаммомида ёки термостатда са=лангандан сынг , устига 1мл дан учхлорсирка кислотаси =уйилади. Шундан сынг назорат намунаси тутган пробиркага фаоллаштирувчи эритмадан 1мл =ышилиб, умумий хажми дистилланган сув билан 3мл етказилади ва чай=атилиб , аралаштирилади. Намуналар 5 минут 3000 айланиш тезлигида центрифугаланиб, чыкма усти суюжиги тоза пробиркаларга олинади . Текширилувчи намунани экстинкцияси назоратга нисбатан 264нм да спектрофотометрда =алинлик =авати 1см былган кюветада ылчанади.

Калибрловчи график тузиш учун еттита номерланган пробирка олиниб, уйдаги жадвалда кырлатилган миёрда компонентлар солинади . Ураканин кислоатсининг ишчи эритмасини тайёрлаш унинг бошлан\ия 0,001м эритмаси олиниб, дистилланган сув билан 10 мартаба суюлтирилади.

	Уроканин кислотасининг ишчи эритмаси, мл	пирофосфат буфери, мл	фаоллашти-рувчи эритма, мл	гистидин эритмаси, мл	уроканин кислотасининг намунадаги ми=дори, МКМОЛЬ
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

Щамма пробиркалардаги намуналар хажми дистилланган сув билан 3мл га етказилиб, устига 1мл дан учхлорсирка кислотаси =уйилади ва аралаштирилади. 3000 айланиш тезлигида 5 минут центрифугалаб, чыкма усти суюниги тоза пробиркаларга олинади ва экстинкцияси юѳрида кырситилгани каби ылчанади.

Щисоблаш формула быйича бажарилади.

$$X = \frac{E \cdot 200}{2}$$

бунда X=он зардобадаги гистидаза фаоллиги мкмоль/соат -л, E-калибрлаш графиги быйича топилган уроканин кислотасининг миѳдори , мкмоль, 200-1л =он зардобига хисобланган коѳфициент, 2- 1 соатга хисобланган коѳфициент

Машѓулот N38.

Жигар микросомаларида ксенобиотиклар биотрансформациясининг монооксигеназа системасини ырганиш.

Охирги йиллардаги токсикологик ва биокимѳвий ишларда ксенобиотикларнинг жигар микросомал системаси метаболизмига катта ахамият берилмоѳда . Бу система асосан икки =исмдан иборат. НАДФН га бо\ли= флавопротеид-цитохром-Р₄₅₀ редуктаза ва цитохром -Р₄₅₀ Орали= ташувчи сифатида цитохром В₅ щам =атнашиши мумкин. Лекин оксидланиш жараѳнида асосий рольни цитохром Р₄₅₀ уйнайди. Унинг фаоллигига липофил табиатли дориларни ва жигардаги экзоген ва эндоген моддаларини метаболизмига бо\ли=. Щозиргача цитохром Р₄₅₀ нинг бир неча изоферментлари маълум былиб, улар субстрат спецификлиги билан ызаро фар=ланади. Цитохром Р₄₅₀ осонлик билан фаол былмаган шакли- цитохром Р₄₂₀ айланади. НАДФН цитохром Р₄₅₀ редуктаза монооксигеназа системасида электронларни НАДФН дан цитохром Р₄₅₀ ташувчи функциясини бажаради. цитохром Р₄₅₀ функцияси ва субстратни гидроксиланишида иштрок этувчи кислородни фаолланиши электронларни занжирга ташилиши билан чегараланади.

Суб хужайра фракцияларини ажратиш.

Услуб асосида ты=има гомогенатидаги щар хил о\ирликдаги заррачаларни центрифугаланганда марказдан =очиш кучи хисобига кетма-кет чыкмага тушиши ѳтади.

Жихозлар. Ультратрифуга, фторпластли центрифуга пробиркалари, гомогенизатор, аналитик тарози.

Реактивлар.

- 1,15% калий хлор эритмаси
- 0,1м ли фосфат иш=орли буфер, рН-7,4

13,6г калий дигидрофосфатни 200мл ли дистилланган сувда эритилади, сынгга 1м ли NaOH эритмаси билан рН-7,4 гача етказилади ва эритма хажми дистилланаган сув билан 1л тылдирилади.

Ишнинг бажарилиши. Аввало экспериментга олинадиган хайвонларни 20 соат оч =олдирилади, о=батда жигарда гликоген ми=дорини камайиши щисобига микросомаларни центрифугалаганда 30-40% йы=елишини олди олинади. Зардобда эритроцитларнинг парчаланган былаклари былмаслиги учун жигар совутилган 1,15% калий хлор эритмаси билан дарвоза венаси (V. porte) ор=али перфузия =илиб, ювилади. Сынгга 2г жигардан олиниб =айчи билан майдаланилади ва 1,2 минут давомида 1,15% калий хлор эритмасининг бмл да гомогенизация =илинади. Ишнинг сову= хонада (-4⁰) совутилган эритмалар билан бажарилади. Центрифугалаш учун бош=а центрифугаларни ишлатиш мумкин. Биринчи навбатда гомогенатдан ядро фракциясини (10-15 минут 1000 g центрифугалаб) ажратиб олинади, сынгга чыкма устки сую=лигидан (15 минут 14000 g центрифугалаб) митохондрия ва бош=а фракциялар ажратилади. Шундан кейин чыкма усти сую=лиги яна центрифугаланиб (105000 g 60 минут), устки =авати асталик билан олинади. 0,1мл иш=орли фосфат буфериде 1:2,5 нисбатида суюлтирилади. Олинган микросомал суспензиясида о=сил ми=дорини ани=лаб (Лоури усули билан) бош=а ма=садли ишларда фойдаланилади.

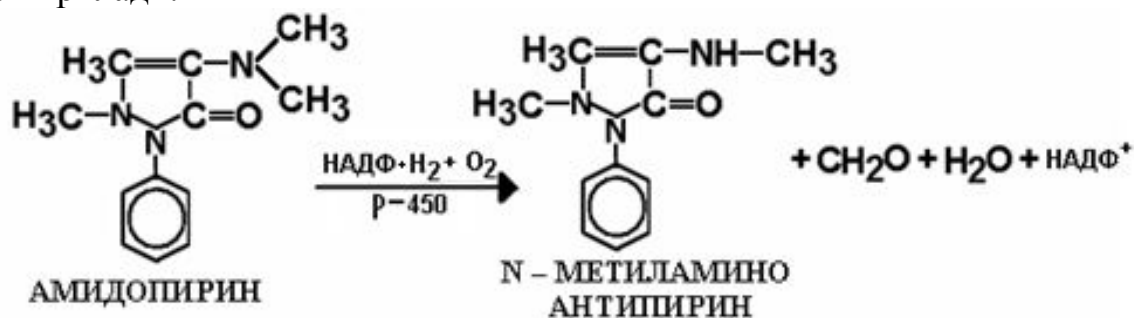
Машғулот №39 Микросома монооксигеназа системаси ферментлари фаоллигини ани=лаш

Ксенобиотиклар биотрансформациясининг монооксигеназ системаси щар щил реакцияларни катализлайди. Хусусиятига =араб, бу ферментатив реакция номлари адабиётда турли номлар билан аталади: диметиланилин N-деметилаза; нитрозо-диметиламин N-деметилаза; анилин Р-гидроксилаза в.б. Шундай деб аталса щам бу реакцияларни хар щил ферментлар катализламай, балки бир система томонидан амалга оширилади. Жигар микросомал гидроксилловчи системаси учта таркибий =исмдан иборат:

НАДФ,Н-цитохром Р-450-редуктаза (КФ 1.6.2.4.), цитохром р-450(КФ 1.14.14.1)ва фосфопротеидлардан. Бундан тартиб микросомал монооксигеназа комплекснинг функциясида цитохром В₅ ва НАД,Н-цитохром В₅-редуктазани (КФ 1.6.2.2.) катта ахамияти бор. Демак, аминопириннинг N-деметилазаси ёки анилиннинг Р-гидроксилазаси фаоллиги тырисида фикр юритилганда гап иккита фермент ща=ида эмас, балки битта фермент системаси фаоллигини иккита субстратга нисбатан эканлигида боради. +уида монооксигеназа системаси фаоллигини щар хил кимёвий структурадаги субстратлар билан ани=лаш услублари келтирилган.

Услуб асоси. Жигар микросомаси монооксигеназа системаси фаоллигини кырсагичи сифатида амидопиринни диметилланишини келтириш мумкин. (1-фенил-2,3-диметил-4-диметиламинопиразолон-5). Диметилланиш тезлиги щосил былган формальдегид ми=дори билан ани=ланади. Реакция НАДФ.Н

ва кислород иштирокида микросоманинг цитохром Р-450 ёрдамида амалга оширилади.



Жихозлар. Спектрофотометр, лаборатория центрифугаси, сув шаммоми, торзион тарози, пробиркалар, пипеткалар.

Реактивлар. 1. 0,4м трис-НСІ буфери, рН-7,6(12,1 г трис-оксиметил-аминометанни 100 мл дистилланган сувда эритилади ва концентрланган хлорид кислота билан рН-7,6 га етказилади, эритма шажми дистилланган сувда 250 мл гача тылдирилиб, филтрланади.)

2. 0,16 м магний хлор эритмаси
3. 0,03 м НАДФ.Н эритмаси
4. 0,08 м амидопирин эритмаси
5. 25% цинк сульфат эритмаси
6. Барий гидроксиди-тыйинган эритмаси.
7. Наш (Nash) реактиви (таркибида бир хил ми=дорда 2 м аммоний ацетат, 0,05м музлаган сирка кислотаси ва 0,02 м ацетилацетон эритмаси са=лаган)

Ишнинг бажарилиши.

1 мл хажмдаги инкубацион эритма таркибида: 1,5 мг микросомал фракция о=сили (микросома ажратиш ю=орида келтирилган), 0,1 мл трис-НСІ буфери (рН-7,6), 0,1мл 0,16 м магний хлор эритмаси, 0,1 мл 0,03 м НАДФ.Н эритмаси ва 0,1 мл 0,08 м амидопирин эритмаси. Текширилувчи ва назорат (таркибида НАДФ.Н тутмаган) намуналари 20 мин. давомида, муттасил аралаштирилиб турган шолда, 37⁰С инкубация =илинади. Реакция бир хил хажмда ъншилган 25% ZnSO₄ эритмаси ва тыйинган Ва(ОН)₂ эритмаси аралашмасидан 0,75мл =уйилиб, тыхтатилади. Намуналар таркибидаги о=силни чыктириш учун уларни 10 мин давомида 3500g центрифугаланади. Сынгра супернатантдаги формальдегид ми=дори Наш реакцияси быйича ани=ланади. Бунинг учун чыкма усти сую=лигидан 1мл олиниб, устига 4мл Наш реактиви =ышилади ва намуналар 45 минут давомида 37⁰С инкубация =илинади . Формальдегид ми=дори СФ да 412нм да ани=ланади . Хосил былган формальдегид ми=дорини ылчашда калибрланган эгри чизи\идан (формальдегидни стандарт эритмаси ёрдамида тузилган) ёки экстинкция коэффицентидан (8-10 оптик бирлик ое/моль. см) фойдаланилади. Каламуш жигари микросомаларида амидопириннинг N-деметилланиш реакция тезлиги 4-6нмол/мин/1мг о=силга тенг.

Шисоблаш. Амидопириннинг N-деметилланиш реакцияси тезлигини хисоблашда формальдегидни экстинкция коэффицентидан $E = 8 \cdot 10^3$ ое /моль. см. фойдаланилади.

1мг микросомал о=силни (нмоль) 1минутдаги реакция тезлиги А-

$$A = \frac{D}{E \cdot V \cdot t} \text{ бунда}$$

D-текширилувчи намуна оптик зичлиги

E-моляр экстинкция коэффициент

t-инкубация ва=ти

V-текширилувчи намунадаги о=сил ми=дори (мг)

Машғулот N40.

Анилиннинг оксидланиши Р-гидроксилланиш реакциясини ырганиш.

Услуг асоси. Анилиннинг гидроксилланиш реакцияси цитохром P₄₅₀ ни НАДФ · Н ва кислород иштирокида Р-аминофенол хосил булишига асосланган Р-аминол Na₂CO₃ ёрдамида фенол билан ызаро реакцияга киришиб кык рангли индефенол комплекси щосил =илади.



Жихозлар. Спектрофотометр, лаборатория центрифугаси, термометрли сув хаммоми, торзион тарозиси, пробиркалар, пипеткалар.

Реактивлар.

1. 0,4м трис-НСl буфери, рН-7,3
2. 0,16м магний хлор эритмаси.
3. 0,03м НАДФ · Н эритмаси
4. 0,03м анилин эритмаси
5. 15% учхлорсирка кислотаси эритмаси
6. натрий карбонатнинг тыйинган эритмаси
7. 2% фенолни 0,2м натрий гидроксидаги эритмаси. Бунинг учун 2г ыйувчи натрийни 250мл дистилланган сувда эритилади, сынгра 5г фенолни шу эритмани 245мл да эритилади.

Ишнинг бажарилиши. Инкубацион аралашма таркибида 2мг микросомал фракция о=сили, 0,1мл 0,4м трис-НСl буфери, рН-7,3, 0,1мл 0,16м магний хлор эритмаси, 0,1мл 0,03м НАДФ · Н эритмаси ва 0,1мл 0,03м анилин былган 1мл хажмда тайёрланади ва 37⁰С да 20минут, аралаштирилиб турган холда, инкубация =илинади. Реакцияни 0,5м учхлорсирка кислотаси =ышиб тыхтатилади ва 10 минут давомидида 3500 g центрифугаланиб, супернатантдан

1мл олинади ва устига 0,5мл натрий карбонатнинг тўйинган эритмаси, 1,5мл 0,2н NaOH даги фенолни 2% эритмасидан тайишлади. Шундан кейин ранг шосил былиши учун намунани 30 минутга 37⁰C сув хаммомига жойлаштирилади ва рангли комплекс миқдорини СФ да 630нм да ылчанади. Гидроксилланишдан шосил былган унум миқдорини калибрланган эгри чизиш (N-аминофенолни стандарт эритмаси асосида тузилган) ёки экстинкция моляр коэффициентни ($6,7 \cdot 10^3$ ое/моль.см) бййича анишланади. Анилиннинг каламуш жигари микросомасидаги Р-гидроксилланиш реакцияси тезлиги 0,6-0,8нмол/мин/мг ошилга тўри келади.

Шисоблаш. Анилиннинг Р-гидроксилланиш реакция тезлиги амидопиринни N-деметилланишида келтирилган формула бййича хисобланади. Хисоблашда N-аминофенолни моляр экстинкция коэффициентидан $E = 7 \cdot 10^3$ ое/моль.см (Строев Е.А. практикум по биохимии, 1986, 191 бет) фойдаланилади.

Машғулот N41.

Жигар оксигеназа системаси фаоллигини организмда анишлаш.

Амидопириннинг (АП) каламуш сийдиги билан ажраладиган бирдан-бир метаболити 4-аминоантипирин (4-ААП) эканлиги анишланган. Унинг миқдори формальдегидни жигар микросомаларидан ажралишига бошлиш. Шу сабаб 4-ААП-ни сийдикда анишлаш асосида монооксигеназа системасини бутун организмдаги холати шайида фикр юритиш мумкин.

Реактивлар.

1. 4-ААП-нинг стандарт эритмаси, 30мг моддани 100мл дистилланган сувда эритилади (калибрлаш эгри чизиши тузиладиган куни тайёрланади).
2. 0,02% фенол эритмаси
3. 1% лишизилон тузи $[K_3Fe(CN)_6]$ эритмаси.
4. Аммиакли буфер, рН-10,5, 20г аммоний хлоридни 100мл 25% ли аммиак эритмасида эритилади.
5. 12,5% учхлорсирка кислотаси эритмаси.
6. концентрланган хлорид кислотаси (солиштирма оирлиги 1,17-1,19)

Ишнинг бажарилиши.

Хайвон шорни ичига 20мг/кг шисобида амидопирин юборилади. Сынгра, сийдик миқдорини кыпайтириш маъадида, 100г тана оирлигига 2мл нисбатида оддий сувни ошозонга шуйилади ва хайвонни сийдик йиувчи шифасга жойлаштириб, 3,6, 24 соат давомида сийдиги ытказиб йишилади ва умумий хажми ылчанади. 4-ААП анишлаш учун 1,5мл сийдикга 0,3мл аммиакли буфер шйшилиб, 15 минутдан сынг филтрланади. 0,6мл тиниш филтратга 0,5мл 12,5% учхлорсирка кислотаси эритмаси, 2мл 0,02% фенол эритмаси, 0,1мл 1% калий феррицианид эритмаси шйшиб, аралаштирилади. 10 минутдан кейин 10мм кюветада 510нм назоратга нисбатан (фенол ырнига 2мл сув шуйилган ва намунани шолган шамма таркибий шисми саанган шолда) фотометрланади. Текширилувчи намунадаги 4-ААП миқдори (мкг) калибрлаш эгри чизиши оршли топилади.

Калибрлаш эгри чизишини тузиш

4-ААП нинг стандарт эритмаси мл	сийдик фильтрати мл	аммиакли буфер мл
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

Фотометрия кырдаткичлари асосида калибрлаш эгри чизи\и тузилиб, ю=орида ёзилгани быйича 4ААП ми=дори ани=ланади.

Шисоблаш. 4-ААП ми=дорини 1мл сийдикда ани=лаш учун калибрлаш эгри чизи\и быйича топилган мкг ни 2га кыпайтирилади. Агарда 4-ААП ми=дорини сийдикни умумий хажмида ани=лаш лозим былса , топилган мкг/мл ми=дорини сийдик хажмига (мл) кыпайтирилади.

Баъзи буфер ва реактивлар тайёрлаш.

- Биурет реактиви** (Бенедикт реактиви). 173 г натрий цитратни ва 100 г натрий карбонатни 300 мл дистилланган сувда сув ҳаммомида эритилади. Алохида 300 мл сувда 17,3 г мис сульфати эритилиб, иккала эритма кўшилиб, умумий хажми 1 л га етказилади.
- Дифениламин реактиви.** 1 г дифениламинни 100 мл музлаган сирка кислотасида эритилади ва эритмага 2,75 мл концентрланган сульфат кислотаси кўшилади.
- Кофеин реактиви.** 5 г тоза кофеин, 7,5 г натрий бензоат, 12,5 натрий ацетат 90 мл дистилланган сувда 50-60⁰С иссиқликда эритилади, аралаштириб, совутилади ва умумий хажмини сув билан 100 мл етказилади.
- Наша реактиви.** 100 мл хажмдаги калбада 15,4 аммоний ацетат; 0,3 музлаган сирка кислотаси ва 0,2 г ацетилацетон дистилтилланган сувда эритилади.
- Орцин реактиви.** 1 г орцинга 500 мл 30% ли хлорид кислотаси (зичлиги 1,15 г/см³) куйиб, аралаштирилади, эригандан кейин 4-5 мл 10 % ли темир хлорид (III) FeCl₃ кўшилади ва зичлаб беркитилган қорамтир шиша идишда сақланади.

6. **Фенол-сувга тўйинтирилган.** 100 г қайта хайдалган (тозаланган) фенолга 35 мл сув қўшиб, аралаштирилади фенолни эришини тезлаштириш учун бироз иситилади.
7. **Фолин реактиви.** 1 л хажмдаги колбада 1 г натрий вольфрамат ва 20 г фосфорномолибден килатаси 750 мл сувда эритилади. Колба пробка билан беркитилиб, сувли қайтар холодильникга ўтказилади ва 10 соат давомида қайнатилади, сўнгра совитилаб колбадаги реактив миқдори сув билан 1 л га етказилади.
8. **n – нитрозодиметиланилин эритмаси (НДМА).** Савдодаги НДМА препарати этил эфирида қайта кристалланади. Алкогольдегидрогеназани аниқлаш учун 1 мг НДМА 0,1 м ли пирофосфат буферининг 100 мл (рН8,5) эритилади. Олинган эритма қоғоз фильтр орқали филтрланиб, фильтр ўша буфер билан 2 мартаба суйилтирилади. 4°С да икки ой давомида сақланади.
9. **Асосий фосфатли буфер эритма ва унинг ишчи эритмалари N1-4.** 33,5 г NaOH 0,5 л ли колбада 400 мл сувда эритилиб, 226,8 KН₂PO₄ қўшилади, яхшилаб аралаштирилиб, совитилади ва хажми сув билан 500 мл га етказилади. Ишчи эритмаларни тайёрлаш учун асосий фосфатли буфердан кўрсатилган миқдорда (мл) олиниб: N1-92,51; N2-74,91; N3-59,18; N4-48,68 сув билан хар бирини умумий хажми 100 мл етказилади.
10. **Пирофосфатли буфер 0,1 м рН-8,5.** 100 мл ўлчовли колбада 4,46 г натрий пирофосфат 50 мл сувда эритилади, 0,1 м HCl ёрдамида рН-8,5 га етказилиб, колба белгисигача (100 мл) сув қуйилади.
11. **Фосфатли буфер, 0,17 м эритма рН-7,4**
Na₂HPO₄ 0,2 м 81 мл + NaH₂PO₄ 0,2 м 19 мл + сув 200 мл гача
12. **Ацетатли буфер (0,2м; рН -3,6-5,8).**

Натрийацетат мл	Сирка кислота мл	рН	Натрий ацетат 0,2м	Сирка кислота 0,2 м	рН
--------------------	---------------------	----	-----------------------	------------------------	----

	0,2 м		мл	мл	
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

13. Фосфатли буфер (0,1 м; рН 5,8-8,0).

Na ₂ HPO ₄ 0,2 м; мл	Na ₂ H ₂ PO ₄ 0,2 м; мл	Сув, мл	рН
8,0	92,0	200 гача	5,8
12,3	87,7	200 гача	6,0
18,5	81,5	200 гача	6,2
26,5	73,5	200 гача	6,4
37,5	62,5	200 гача	6,6
49,0	51,0	200 гача	6,8
61,0	39,0	200 гача	7,0
72,0	28,0	200 гача	7,2
81,0	19,0	200 гача	7,4
87,0	13,0	200 гача	7,6
91,5	8,5	200 гача	7,8
94,7	5,3	200 гача	8,0

14. Трис-буфер (0,1 м, рН 7,1-9,2)

24,2 г трис – (гидроксиметил) аминотетанни 1 л колбада 500 мл сувда эритилади. Таблицадаги рНни олиш учун қуйидаги кўрсатилган миқдорда 1 м HCl қўшилиб, эритма хажми сув билан 1000 мл етказилади.

рН	HCl, мл	рН	HCl, мл
----	---------	----	---------

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		

Фармакологик биокимёдан музокаралари савол ва жавоблар

Саволлар

- Фармакологик биокимёнинг илмий йўналиши ва тадқиқот мавзуси дорилар
 - тузилиши
 - технологияси
 - олиниши
 - таъсири
 - синтези
- Фармацевтик биокимё ўз вазифасини бажаришида яндинан шамкорлик қилади
 - фармацевтик кимё билан дорилар тузилиши ва синтези бўйича
 - технология билан-дори шаклини аниқлашда
 - токсикологик кимё билан-дорилар таркибий қисмини аниқлашда
 - фармакология билан-дорилар таъсир йўналишини билишда
 - хамма жавоблар тўғриси
- Дори бу-ўз таъсир оқибатида организмда ўзгариш келтириб чиқарувчи шартандай модда
 - биологик функцияда
 - морфологик функцияда
 - физиологик функцияда
 - иммунологик функцияда
 - метаболик функцияда
- Дори бу-организм билан ўзаро алоқаси натижасида биологик функциясида ўзгариш келтириб чиқарувчи шартандай модда
 - физикавий таъсир билан
 - техникавий таъсир билан
 - кимёвий таъсир билан
 - механик таъсир билан
 - бошқарувчи таъсир билан
- Дорилар бу фармакологик фаолликга эга бўлган моддалар, бўлиши мумкин.
 - организмда синтез қилинадиган
 - организмда ўхшаши йўқ
 - кимёвий захарлар
 - биологик токсинлар
 - хамма жавоблар тўғриси
- Дори моддалари қон таркибида биргаликда шарақатланади асосан
 - углеводлар билан
 - оқсиллар билан

- В. липидлар билан
- Г. нуклеин кислоталари билан
- Д. металллар билан

7. Дори моддаларининг транспорт о=силлари билан ызаро бо\ланиш табиати.

- А. водородли
- Б. вандер-вальсли
- В. гидрофобли
- Г. электростатик
- Д. хамма жаваоблар ты\ри

8. Дорилар таъсирида оеиллар ва нуклеин кислоталарнинг конформацион =айта =урилиши ызгариши мумкин, бунга сабаб

- А. шужайра геномида оперонлар репрессияси
- Б. репликация блокировкаси
- В. трансляция репрессияси
- Г. ферментлар ингибирланиши
- Д. хамма жавоблар ты\ри

9. Дориларнинг алошида олинган ты=има ва органларга танлаб таъсир =илиши бо\ли=

- А. юбориш йылига
- Б. препарат дозасига
- В. кимёвий тузилишига
- Г. ты=има таъсирчанлигига
- Д. физик хусусиятларига

10. Дори моддаларининг танлаб таъсир этишини олдиндан айтиш учун билиш керак былади.

- А. физик хусусиятларини
- Б. ты=има тыси=ларидан ытаолишини
- В. рецептор билан ызаро таъсирланишини
- Г. ты=има сезувчанлигини
- Д. организмга тушиш йылини

11. Дори моддаларининг организмда та=симланиш динамикаси бо\ли=

- А. организмга тушиш йылига
- Б. кимёвий тузилишига
- В. эрувчанлигига
- Г. транспорт о=силлари билан бо\ланишига
- Д. йы=отиш омилларига

12. Дори моддаларининг хужайра ички =исмида тыпланиши бо\ли=

- А. молекула =урилишига
- Б. органоидлар билан бо\ланишига
- В. плазматик мембрана ытказувчанлигига
- Г. субхужайра =урилмалар функциясига
- Д. дорининг организмга тушиш йылига

13. Хужайрага дорининг эффектив таъсирини билишда керак былади.

- А. ферментлар фаоллигини
- Б. биоэнергия билан таъминланганини
- В. субхужайра =урилмаларининг функциясини

Г. мембраналар ытказувчанлигини

Д. хамма жавоблар ты\ри

14. Дориларнинг ты\маларда та\имланиш динамикаси ва улар та\сирини келиб чи\арувчи омил

А. хужайра ичи рецепторлари

Б. дориларнинг метаболик трансформацияси

В. ким\вий тузилиши

Г. биологик хусусиятлари

Д. хамма жавоб ты\ри

15. Дори моддаларининг та\сирини давом этиш муддати ва захарлиги сабаб

А. ферментатив реакциялар

Б. организмда са\ланиш муддати

В. ты\ималарда ты\ланиши

Г. организмдан чи\иб кетиши

Д. мембраналарни ытказувчанлиги

16. «орган-нишон», «хужайра-нишон», «молекула-нишон» терминлари ёрдамида ани\ланади

А. дори щолатининг ызгариши

Б. модданинг тузилиши

В. ты\ималарнинг та\сирчанлиги

Г. фармакологик модданинг ми\дори

Д. органоидларнинг функцияси

17. Глюкокарτικοидларнинг «орган-нишони»

А. буйраклар

Б. =ортало=

В. жигар

Г. меъда

Д. ыпкалар

18. Кыпчилик антибиотикларни та\сир кырсатадиган =исми

А. транскрипция

Б. трансляция

В. репликация

Г. модификация

Д. конъюгация

19. Анальгетиклар та\сирида нафас олиш занжири функциясида кузатилади

А. кислород ютилишини кыпайиши

Б. АТФ синтезини кучайиши

В. оксидланишли фосфорланишни стимулланиши

Г, исси\лик щосил былишини кучайиши

Д. цитохром фаолланиши

20. НАДФН₂ биосинтези содир быладиган хужайра =исми

А. цитоплазма

Б. митохондрия

В, ядро

Г. рибосома

Д, лизосома

21. Дори моддалар организмда метаболит ызгаришларга учраши натижасида уларнинг биологик фаоллиги

А. пасаяди

Б, бутунлай йы=олади

В. ошади

Г. ызгармайди

Д. хамма жавоблар ты\ри

22. Дори моддаларининг метаболит ызгаришлари содир быладиган органлар

А. ичаклар

Б. меьда

В. ыпкалар

Г. жигар

Д, хамма жавоб ты\ри

23. Дори моддаларининг детоксикация жараёнида иштрок этувчи ферментлар манбаи

А. жигар

Б. тери

В. плацент

Г. ичаклар

Д. хамма жавоб ты\ри

24. Толуол организмга тушгандан сынг эндоплазматик ретикулум ферментлари иштрокида бензил спиртигача оксидланади.

А. жигарда

Б. ингичка ичакда

В. йы\он ичакда

Г. буйрақда

Д. ыпкада

25. Жигар эндоплазматик ретикулумида толуюл бензил кислотасигача оксидланиб, глицин билан бирикади ва сийдик ор=али ажратилади

А. сийдик кислотаси сифатида

Б. гиппур кислотаси сифатида

В. сирка кислотаси сифатида

Г. глюкурон кислотаси сифатида

Д. сут кислотаси сифатида

26. Толуюлни жигарда детоксикацияга учрашдан хосил былган гиппур кислотаси (бензоил глицин) гидрофиль модда былиб, организмдан

А. ыт билан чи=арилади

Б. сылак билан чи=арилади

В. сийдик билан чи=арилади

Г. ичак ор=али чи=арилади

Д. ыпкалар ор=али чи=арилади

27. Ксенобиотикларни метаболитизмга учраш йыллари ва метаболитик унумларини характерлаш ор=али ани=ланади уларни

А. биологик таьсир механизми

Б. ножыя эффектлари

- В. дорилар таъдири
 Г. таъсирининг ызига хослиги
 Д. ҳамма жавоб тўри
28. Дорилар биотрансформациясини ырганиш зарурияти асосида аниқланади.
 А. эрувчанлиги
 Б. рецепторлар билан ызаро муносабати
 В. ызгариш йыллари
 Г. терапевтик эффекти
 Д. ҳамма жавоб тўри
29. Дори ва унинг метаболитини специфик таъсирини аниқлаш учун зарур
 А. ножыя кыринишлари
 Б. ызгариш йыллари
 В. бирга юборилгандаги таъдири
 Г. чиқиб кетиш йыллари
 Д. терапевтик эффекти
30. Дори моддаларининг буйрак орқали экскрециясини ахамияти нимада?
 А. препаратни фармакологик фаоллигини аниқлаш
 Б. мухитни рН физикологик ролини билиш
 В. препаратни биологик таъсирини ырганиш
 Г. кимёвий хусусиятларини ырганиш.
 Д. препарат эрувчанлигини тадбиқ қилиш
31. Дори моддалари организмда маълум метаболик ызгаришларга берилиб
 А. физик-кимёвий хусусиятларини ызгартиради
 Б. биологик фаоллигини йиқитади
 В. ўзгариш ызгариши
 Г. фармакологик фаолликга эга бўлади
 Д. ҳамма жавоб тўри
32. Липофил ксенобиотикларни ўзгариш бирикмаларга айланиши (барбитуратлар мисолида) натижасида уларнинг
 А. биологик фаоллиги йиқилади
 Б. фармакологик эффекти кучаяди
 В. ярим чиқиб кетиш муддати ўзгариши
 Г. организмда бўлиш вақти камайди
 Д. ҳамма жавоб тўри
33. Тиопентал ва пентобарбитални организмдан ярим чиқиб кетиш вақти ошиши мумкин агарда
 А. ионизацияга берилса
 Б. сувда эрувчи моддаларга айланса
 В. ёлтириш имасида тыпланса
 Г. оқсиллар билан боғланса
 Д. конъюгацияга берилса
34. Дори моддаларининг асосий метаболик ызгариши кузатилади.
 А. сырилиш ва чиқариш орқали
 Б. таъсири тыхтагандан сынг
 В. индиферент (нейтрал) холатида
 Г. ёлтириш имасида тыпланганда
 Д. эрувчанлиги камайганда

35. Организмда ксенобиотикларнинг модификация бос=ичидаги холати

- А. анаболик
- Б. катаболик
- В. амфиболик
- Г. носинтетик
- Д. липолитик

36. Ксенобиотиклар модификация бос=ичида ферментатив реакциялар оябатида орттирган хусусияти

- А. фаоллик
- Б. токсиклик
- В. инактивация
- Г. гидрофиллик
- Д. гидрофоблик

37. Ксенобиотикларнинг бошлан\ич структура тузилишини ызгаришига сабаб

- А. иккиламчи бо\ларини узилиши
- Б. =ышимча гурухларни киритилиши
- В. эрувчанлигини ортиши
- Г. функционал гуруцларини ажралиб чи=иши
- Д. . хамма жавоб ты\ри

38. Ксенобиотиклар модификация бос=ичида кыпро =улубли метаболитга айланадилар, бу эса структурасидаги функционал радикалларга бо\ли=, улар

- А. гидроксил (ОН) гурухи
- Б. амин (NH₂) гурухи
- В. сульфгидрил (SH) гурухи
- Г. карбоксил (COOH) гурухи
- Д. хамма жавоб ты\ри

39. Ксенобиотикларнинг бошлан\ич молекуласида блокланган функционал гурухлари модификация бос=ичида бышатилади, бу йыл

- А. эфир бо\ларининг гидролизи
- Б. дисульфид бо\ларининг узилиши
- В. пептид бо\ларининг гидролизи
- Г. сульфгидрил бо\ларининг гидролизи
- Д. ковалент бо\ларининг узилиши

40. Ксенобиотиклар коньюгация бос=ичида организм биомолекулалари билан бо\ланадилар, унинг номи

- А. гидрофоб бо\и
- Б. электростатик бо\
- В. водород бо\
- Г. ковалент бо\
- Д. дисульфид бо\

41. Коньюгация бос=ичида ксенобиотиклар эндоген биомолекулалар билан =утбли синтетик коньюгат щосил =иладилар, улар

- А. клюкурон кислота
- Б. сульфат кислота
- В. сирка кислота

Г. аминокислоталар
Д. ҳамма жавоб тўри

42. Организмда ксенобиотиклар модификация босқичида бир фактор носинтетик ўзгаришларга учрайдилар, булар

А. изомеризацияланиш
Б. циклизацияланиш
В. децилизацияланиш
Г. гидролизланиш
Д. ҳамма жавоб тўри

43. Конъюгация жараёнида янги модда синтез қилинади, унинг бир қисми ксенобиотик бўлса, иккинчи қисми

А. рибосома
Б. микросома
В. лизосома
Г. биомолекула
Д. пероксосома

44. Организмда ксенобиотик билан биомолекула орасида ковалент боғ шосил бўлишида иштроқ этадиган фермент

А. оксидо-редуктаза
Б. изомеразалар
В. лиазалар
Г. гидролазалар
Д. ҳамма жавоб тўри

45. Ксенобиотиклар организмда типланадилар ёки ташқарига чиқариладилар

А. ўзгармаган шаклда
Б. метаболитлар сифатида
В. конъюгатлар шолатида
Г. биомолекулалар комплекси қиринишида
Д. ҳамма жавоб тўри

46. Организм тўқмаларда айрим биомолекулалар билан комплекс ҳосил этувчи ксенобиотиклар типланадилар.

А. оқсиллар билан
Б. нуклеин кислоталар билан
В. липидлар билан
Г. углеводлар билан
Д. ферментлар билан

47. Оқир металллар ва металлорганик бирикма препаратлари организмда комплекс шосил қиладилар

А. оқсиллар билан
Б. липидлар билан
В. нуклеин кислоталари билан
Г. углеводлар билан
Д. ферментлар билан

48. Дорилар биотрансформацияси ва улар метаболизми содир бўладиган асосий орган

А. меъда ичак тракти
Б. ыпкалар

- В. жигар
- Г. буйраклар
- Д. мия

49. Антибиотиклар интенсив метаболизмга учрайдиган асосий орган

- А. жигар
- Б. ичак тракти
- В. меъда
- Г. буйрак
- Д. ыпка

50. Щужайра ичи системасида щужайранинг динамик склети хизматини бажарадиган органоид

- А. митохондриялар
- Б. цитозол
- В. лизосомалар
- Г. эндоплазматик тыр
- Д. цитоплазма

51. Дорилар биотрансформациясида иштрок этувчи субщужайра ферментлари органоиди

- А. митохондриялар
- Б. рибосомалар
- В. лизосомалар
- Г. эндоплазматик ретикулум
- Д. цитоплазма

52. Дорилар, зацарли моддалар ва эндоген биоактив препаратлар метаболик ызгаришларида иштрок этувчи ферментлар жойлашган

- А. цитоплазмада
- Б. цитоплазматик мембранада
- В. эндоплазматик ретикулумда
- Г. эндоплазматик органелларда
- Д. гиалоплазмада

53. Дорилар метоболизмида =атнашувчи НАДФ, НАДФН₂, НАД, флавопротеид-1 (фп₁), цитохром Р₄₅₀ ларнинг ырнашган жойи

- А. гольджи аппарати
- Б. рибосомалар
- В. лизосомалар
- Г. микросомалар
- Д. полисомалар

54. Гидроксилланиш яъни фармакопрепарат структурасига гидроксил (ОН) гурухини киритиш натижасида дори

- А. фаоллиги ошади
- Б. организмдан чи=иши секинлашади
- В. буйрак ор=али чи=иши кучаяди
- Г. фаоллиги пасаяди
- Д. ты=ималарда тыпланеди.

55. Дорилар детоксикация жараёнида оксидланиш реакциялари улар хусусиятини ошишига ёрдам беради.

- А. гидрофильликлигига
- Б. гидрофобликлигига
- В. амфифильликлигига
- Г. липофильликлигига
- Д. термобильликлигига

56. Фармакопрепарат молекуласига гидроксил гурухуни киргизишида \Rightarrow ылланиладиган усул

- А. липолитик
- Б. гидролитик
- В. аминолитик
- Г. гликолитик
- Д. цитолитик

57. НАДФН бо\ли= былган микросомал гидроксилланиш занжирида электронларнинг орали= акцептори сифатида \Rightarrow атнашади.

- А. фосфопротеид
- Б. флавопротеид
- В. фосфатид кислотаси
- Г. фосфолипид
- Д. фосфоглицерат

58. Ксенобиотикларнинг микросомал оксидланишида \Rightarrow атнашади

- А. цитохром В
- Б. цитохром С
- В. цитохром А
- Г. цитохром P₄₅₀
- Д. цитохром P₄₂₀

59. Цитохром P₄₅₀ нинг микросомалли гидроксилланишида \Rightarrow айтарилиш реакциясини катализловчи флавопротеид-1 (фп-1) нима иштрокида таъсир \Rightarrow илади

- А. ФАД · Н₂
- Б. НАД · Н₂
- В. НАДФ · Н₂
- Г. НАДФ
- Д. НАД

60. Цитохром P₄₅₀ структураси быйича фосфолипид протеогемсульфид протеин комплекси былиб, \Rightarrow айтарилган шаклда я \Rightarrow ин турадиган бирикмаси

- А. CO₂
- Б. CO
- В. O₂
- Г. H₂CO₃
- Д. H₂O₂

61. Микросомалли цитохром P₄₅₀ \Rightarrow айтарилган шолатда CO билан мустахкам комплекс \Rightarrow илади ва нур ютиш максимуми тенг

- А. 650 нм
- Б. 550 нм
- В. 450 нм
- Г. 350 нм

Д. хамма жавоб ты`ри

62. Ксенобиотиклар ва токсик препаратларнинг эрувчанлиги ортиб, =утбли молекулаларга айланишида иштрок этадиган жигар ферментлари жойлашган

- А. цитоплазматик мембранада
- Б. митохондрия ички мембранасида
- В. эндоплазматик ретикулумда
- Г. лизосомаларда
- Д. гольджи аппаратида

63. Анальгетик фенацетин метоболизмга учраши жараёнида ялли`ланишига =арши таъсирга эга былган фаол орали= моддага айланади- унинг номи

- А. бензол
- Б. толуол
- В. парацетамол
- Г. гликокол
- Д. алькогол

64. Нормада анальгетик ва хароратни тушурувчи дори воситаларининг 95% глюкурон ва сульфат кислоталари билан зацарсизлантирилади, =олган 5% цитохром P₄₅₀ га тоби былган конъюгат иштрокида бажарилади, бу модда

- А. глицин
- Б. гистидин
- В. глицерин
- Г. глутатион
- Д. глутамин

65. Организмда парацетамолни (ацетаминофенол) конъюгацияси учун етарли даражада трипептид былганда унинг гепато токсик хусусияти намоён былмайди, трипептид таркиби

- А. глицин + глутамат + цистеин
- Б. глицин + аланин + серин
- В. глутамат + аспартат + аргинин
- Г. цистеин + треонин + метионин
- Д. глицин + серин + глутамин

66. Парацетамолни фаол метаболити былган N-ацетилбензоиламинохиннони кимёвий ва токсикологик тавсифларини ани`ланиши унга =арши эффектив антидот яратилишига имкон яратди-бу антидот

- А. цистеин
- Б. ацетилцистеин
- В. цистин
- Г. цистеамин
- Д. цитозин

67. Дори моддаларининг жигарда ызгаришини асосий реакцияси -С-гидроксилланишида ($R-CH_3 \rightarrow R-CH_2-OH$) =атнашувчи ферментлар жойлашган органоид

- А. цитозол
- Б. цитоплазма
- В. микросома
- Г. лизосома
- Д. рибосома

68. Барбитуратлар ва алифатик бирикмаларнинг ён радикаллари жигарда цитохром P₄₅₀ ва кислород иштирокида С-гидроксилладиладар, токи

- А. бирламчи спиртларгача
- Б. иккиламчи спиртларгача
- В. учламчи спиртларгача
- Г. тўртламчи спиртларгача
- Д. хамма жавоблар тўри

69. Жигарда салицил кислотасининг ароматик халқаси бензолни С-гидроксилланиши натижасида фенол типидagi бирикма шосил булади

- А. сирка кислотаси
- Б. диокси-бензой кислотаси
- В. бензой кислотаси
- Г. сийдик кислотаси
- Д. аминокислота

70. Организмда дори моддасининг алкиль группасини йықолишига дезалкилланиш деб аталади. Агарда бу шодиса кислород, азот, олтингугурт каби моддалар бирикмасида учраса уни кыриниши

- А. $\text{ROC}_2\text{H}_5 \rightarrow \text{ROH} + \text{CH}_3\text{CHO}$
- Б. $\text{RNHCH}_3 \rightarrow \text{RNH}_2 + \text{HCHO}$
- В. $\text{RSCH}_3 \rightarrow \text{RSH} + \text{HCHO}$
- Г. O,N,S - деалкилланиш
- Д. дезаминланиш

71. Кыпчилик дорилар ва зашарли моддалар O ва N деалкилланиши натижасида ыз фаоллигини йықтади, ёки аксинча, фаоллигига эга булади. Фенацетинни O-деалкилланишидан шосил былган N-ацетил пара аминокислони

- А. фаоллиги ортади
- Б. фаоллиги камаяди
- В. фаоллиги йықолади
- Г. фаоллиги ызгармайди
- Д. нейтрал шолатга ытади

72. Фенацетиннинг анальгетик, хароратни туширувчи, яллиланишга шарши хусусиятларининг сабаби уни

- А. O-деалкилланиши
- Б. дезаминланиши
- В. С-гидроксилланиши
- Г. декарбоксилланиши
- Д. дегидрирланиши

73. Фармакологик препаратларнинг молекуласидаги аминокислони дезаминланиши ошбатида

- А. фаоллиги ортади
- Б. фаоллиги йықолади
- В. токсиклиги кыпаяди
- Г. молекуласи парчаланади
- Д. зашарлиги камаяди

74. Фармакопрепаратларнинг микросомаль аминоксидаза билан дезаминланиши натижасида унинг биологик фаоллиги бутунлай йықолиши мумкин, агарда шужайра таркибида былса

- А. НАДФ·H₂

Б НАД · Н₂

В ФАД · Н₂

Г О₂

Д Н₂О₂

75. Жигар микросомаларида ксенобиотиклар метоболизмини кучайиши бирва=тни ызида биргаликда кечади

А ферментлар индукцияси билан

Б радикаллар =ышиб олиш билан

В ароматик аминлар щосил былиши билан

Г янги структураларни ресинтези билан

Д ферментларни ингибирланиши билан

76. Ксенобиотикларни биологик фаоллигини ызгариши бевосита бо\ли=

А структурасига

Б сырилишига

В та=симланишига

Г транспортига

Д модификациясига

77. Кичик молекулали бирикмаларни =оннинг транспорт тизими билан ызаро бо\ланиши асосида ётади, унинг

А фамокологик эффекти

Б органларда танлаб тыпланиши

В организмда тар=алиши

Г таъсир этувчи жойига етиб бориши

Д радикаллар билан =ышилиши

78. Дори моддаларининг =он о=силлари билан ызаро муносабати асосида ани=ланади

А реакцияни ор=ага =айтиши

Б организмда са=ланиш муддати

В таъсирининг давомийлиги

Г организмдан чи=иб кетиш ва=ти

Д шамма жавоблар ты\ри

79. Дори моддаларини =он о=силлари билан ызаро ало=асини ырганиш ёрдам беради

А дорини юбориш йылини ани=лашда

Б бошлан\ич дозасини белгилашда

В дори концентрациясини бир маромда са=лашда

Г курс дозасини билишда

Д шамма жавоблар ты\ри

80. Дориларнинг =ондаги циркуляцияси ва организмда былиш ва=тини узун -=ис=алиги кыпинча бо\ли=

А таъсир =илиш муддатига

Б чи=иб кетиш тезлигига

В препаратнинг фаоллигига

Г структурасидаги ызгаришларига

Д юбориш йылларига

81. Ксенобиотикларнинг транспорт о=силлари билан бо\ланиш о=ибатида уларнинг

А фаоллиги кучаяди

Б фаоллиги пасаяди

В фаоллиги нейтрал былади

Г фаоллиги камаяди

Д чи=иб кетиши тезлашади

82. Дори препаратларини =оннинг ташувчи о=силлари билан бо\ланиши натижасида дори

А эрувчанлиги ошади

Б инактивациядан щимояланади

- В янгиси синтезланади
 Г биологик таъсири кучаяди
 Д чи=иб кетиш тезлиги ошади
83. Ксенобиотикларнинг о=сил молекулалари билан бо\ланиш муддати ёрдам беради
 А бошлан\ич дозасини ани=лашда
 Б дозалар орали= ва=тини белгилашда
 В ёрдамчи дозасини билишда
 Г чи=иб кетиш муддатини олдиндан айтишда
 Д щамма жавоблар ты\ри
84. Лиганднинг транспорт о=сили билан комплекс щосил =илишида иштирок этади
 А водород бо\и
 Б пептид бо\и
 В гликозид бо\и
 Г дисульфид бо\и
 Д сульфгидрил бо\и
85. Организмнинг эволюция жараёнида =он таркибида махсус транспорт о=силлар тизими пайдо былган, булар
 А альбуминлар
 Б глобулинлар
 В фибриногенлар
 Г пенсиноген
 Д протромбин
86. Эволюция давомида щосил былган махсус транспорт о=силлар комплексига мисол
 А кальций бо\ловчи глобулин
 Б сульфамид бо\ловчи альбумин
 В гем бо\ловчи глобин
 Г пенициллин бо\ловчи альбумин
 Д тиамин бо\ловчи преальбумин
87. Биринчи синтез =илинган сульфаниламид препарат протозил-дори олди модда щисобланади, унинг ща=и=ий антибактериал фаоллигга эга былган унуми
 А сульфаниламид
 Б сульфадимезин
 В сульфодиметоксин
 Г стрептоцид
 Д стрептомицин
88. Эндоген стероид препаратлари ташувчи махсус =он о=сили
 А транскортин
 Б глобин
 В гем
 Г глобулин
 Д гемоглобин
89. +он таркибидаги махсус эндоген о=сил-транскортин билан бо\ланиб, комплекс хосил =иладиган гормон
 А прогестерон
 Б кортикостерон
 В тестостерон
 Г альдостерон
 Д преднизалон
90. Витаминлар А, Д, В₆, В₁₂ транспортида мухим биологик ахамиятга эга-быган о=сил
 А альбуминлар
 Б глобулинлар
 В фибриногенлар

Г глобинлар

Д протромбинлар

91. Анион типдаги дори моддаларини боʻловчи =оннинг носпецифик транспорт тизимининг асосий вакили

А глобулинлар

Б фибриногенлар

В альбуминлар

Г глобинлар

Д тромбинлар

92. Сульфаниламидлар ва анальгетикларнинг =он таркибидаги транспорт шаклида =атнашади

А альбуминлар

Б глобулинлар

В глобинлар

Г фибриноген

Д фибрин

93. Ацетилсалицил кислота антикоагулянт фенилидандионни транспорт комплексидан си=иб чи=ариб, ызи боʻланадиган о=сил

А фибриноген

Б фибрин

В глобулин

Г альбумин

Д гемоглобин

94. Организмда зардоб глобулини билан комплекс хосил =илган фармакопрепарат ыз ташувчи о=силдан си=иб чи=арилса унинг таъсир фаоллиги

А оргади

Б камаяди

В йы=олади

Г ызгармайди

Д нейтрал былади

95. Дори воситасининг альбумин билан боʻланиш фойизи камая бошлайди, агарда

А дори концентрацияси плазмада ошса

Б дорининг альбуминдаги боʻланиш ырни банд былса

В дорининг конкуренти боʻланса

Г альбумин синтези пасайса

Д щамма жавоблар тыʻри

96. Уремия шароитида глюкоза алмашинувини бузилиши инсулиннинг ыз ташувчи о=сили билан мустахкам комплекс щосил =илишига боʻли=-бу

А альбумин

Б глобулин

В глобин

Г фибриноген

Д фибрин

97. Айрим холатларда =он ва ты=ималар таркибидаги биомолекулалар билан дориларни боʻланиши ижобий бацоланади, =ачонки

А ю=ори дозаси лозим былса

Б организм сезувчанлиги камайса

В концентрациясини бир хил даражада са=лаш керак былса

Г ножья эффекти ани=ланса

Д щамма жавоблар тыʻри

98. Дори воситаларини биомолекулалар билан боʻланиши ва ты=ималарда тыплиниши салбий о=ибатларга сабаб былиши мумкин, =ачонки

А тыпланиш холати кузатилса

Б ножья таъсири сезилса

В ты=ималар сезувчанлиги пасайса

Г «йы=отиш» жойлари ортса

Д ю=ори дозаси керак былса

99. Бош=а сут эмизувчи щайвонларга нисбатан дорилар одам зардоб альбумини билан мустацкам бо\ланадилар натижада

А фармакопрепарат эффектлиги ошади

Б дори метаболизми интенсивлиги сусаяди

В микросомаль инактивация ингибирланади

Г цитохром P₄₅₀ тан=ислиги кузатилади

Д ты=има сезувчанлиги пасаяди

100. Дори воситаларининг зардоб о=сили билан бо\ланиши ортиши мумкин, агарда

А дори молекуласининг ароматлиги кыпайса

Б бензол хал=алари орасида ызаро Вандер-Ваальс кучлари зырайса

В дори моддаси билан альбумин молекуласидаги триптофан =олди\и бо\ хосил =илса

Г зардоб о=сили «дорини йы=отиш жойи» ырнига «дори депоси» вазифасини бажарса

Д щамма жавоблар ты\ри

101. +уйидаги келтирилган бирикмалардан зардоб альбумини билан бо\ланмайдигани.

А толбутамид

Б фурасемид

В индометацин

Г эфир

Д аспирин

102. Дори моддаларини альбумин билан бо\ланишини «модель» (андаза) сифатида =абул =илинса бу кырсааткич асослаши мумкин

А дорининг биологик фаоллигини

Б рецептор билан бо\ланиш даражасини

В таъсирининг эффективлигини

Г структурасини ызгаришини

Д ферментларни ингибирланишини

103. Дори моддаларининг транспорт о=силлари билан бо\ланишини ахамияти билинади дори

А экскрециясини тезланишида

Б метаболизмини секинлашишида

В организмда са=ланиш муддатини узайишида

Г таъсирининг инактивацияланишида

Д чи=иб кетиши жараёнини сусайишида

104. Агарда дори моддаси организмдан фа=атгина фильтрация йыли билан буйрак ор=али ажратилса, о=сил билан бо\ланиши о=ибатида унинг

А метаболизми кучаяди

Б организмда былиш муддати узаяди

В ферментлар таъсир ва=ти чызилади

Г чи=иб кетиш тезлиги ошади

Д инактивация ва=ти кыпаяди

105. Айрим шароитларда дориларни экскрецияси асосида маълум хулосага келиш мумкин

А дориларни организмдан чи=иб кетиш тезлиги ща=ида

Б транспорт о=силлари билан бо\ланиш даражаси ты\рисида

В «йы=отиш жойлари» быйича

Г организмда былиш ярим ва=ти ани=лашда

Д щамма жавоблар ты\ри

106. +он о=силлари билан мустахкам бо\ланган ксенобиотикларни организмдан чи=ариш йыли
- А буйрак ор=али
 Б жигар ор=али
 В ыпка ор=али
 Г ичак ор=али
 Д тери ор=али
107. Альбуминлар билан бо\ланган дори моддаларининг буйрак ор=али экскреция =илишини бо\ли=
- А комплексни диссоциация тезлигига
 Б о=силли бо\ининг мустахкамлигига
 В бо\ловчи о=силнинг массасига
 Г о=сил молекуласининг ылчамига
 Д щамма жавоблар ты\ри
108. Биологик фаол моддаларнинг альбумин билан паст даражада бо\ланиши сабабида
- А уларнинг таъсири пасаяди
 Б ножья эффектлари келиб чи=ади
 В токсин таъсири ошади
 Г эркин =исми кыпаяди
 Д хужайраларда тыпланеди
109. Гипоальбуминемия шароитида ксенобиотиклар таъсирида организмда кузатилади
- А хароратни кытарилиши
 Б метаболизмни сусайиши
 В дорининг эркин =исмини ошиши
 Г таъсирини камайиши
 Д детоксикацияни кучайиши
110. Гипоальбуминемия холатидаги пациентлар преднизалон, диазепам =абул =илганларида кыпро= кузатилади
- А. комплекс хосил былишини кучайиши
 Б. Дориларни ты=ималарда тыпланиши
 В. Дориларни парчаланишини ошиши
 Г. Ножья реакцияларини келиб чи=иши
 Д. ты=ималарда детоксикацияга учраши
111. Кимёвий структураси ыхшаш ксенобиотиклар бири иккинчисини таъсирини бы\иши мумкин.
- А. конкурент ингибирланиш механизми быйича
 Б. бо\ланувчи =исмланини ыхшашалиги щисобига
 В. рецептор учун конкуренция сабабли
 Г. ташувчи о=силга конкурент былганлиги туфайли
 Д. хамма жавоблар ты\ри
112. Агарда структураси ыхшаш фармакопрепаратлар ташувчи о=сил учун конкурент былиб, бири иккинчисини бо\ланишини камайтирса, у ва=тда дори
- А. эффекти пасаяди
 Б. эркин ми=дори кыпаяди
 В. чи=иб кетиши ортади
 Г. метаболизми камаяди
 Д. инактивацияси кучаяди
113. Альбумин билан бо\ланган бирорта препаратни бош=а препарат билан си=иб чи=арилса, у ва=тда кузатилади дорининг
- А. нома=бул таъсирини рый бериши
 Б. ножья реакцияларини келиб чи=иши
 В. бо\ланмаган =исмини ортиши.

- Г. таъсир =илувчи фракциясини кыпайиши
 Д. шамма жавоблар ты\ри.
114. +анд ми=дори даражасини пасайтирувчи сульфаниламид толбутамидни альбуминли комплексидан фенилбутазон, салицилин ва сульфанизин каби препаратлар си=б чи=арганида кузатиладиган холат
 А. гипергликемия
 Б. гипогликемия
 В. глюкозурия
 Г. гипотония
 Д. гиперволемия
115. Альбуминнинг дори воситасини бо\лай олиш имконияти ызгаради, =ачонки кузатилса
 А. гиперальбуминемия
 Б. гипоальбуминемия
 В. о=сил синтези кунайса
 Г. модда алмашинуви бузилса
 Д. шамма жавоблар ты\ри
116. Гормонлар =он таркибида физик-кимёвий комплекс щосил =илиб щаракатланадилар.
 А. плазманинг махсус о=силлари билан
 Б. плазманинг носпецифик о=силлари билан
 В. =оннинг шаклли элементлари билан
 Г. =оннинг транспорт о=силлари билан
 Д. шамма жавоблар ты\ри
117. Гормоннинг =он о=силлари билан комплекс хосил =илиши мазмунан
 А. ферментатив жараён
 Б. =айтмас жараён
 В. =айтар жараён
 Г. ковалентли жараён
 Д. дисульфидли жараён
118. Гормонларни транспорт о=силлари билан комплекс щосил =илиши =айтар жараён щисобланиб, унда гормоннинг бо\ланиш имконияти
 А. гормон концентрациясига бо\ли=
 Б. ты=ималарнинг ферментатив фаоллигига бо\ли=
 В. о=сил молекуласидаги бо\ловчи ыринлар концентрациясига бо\ли=
 Г. транспорт о=силлари ми=дорига бо\ли=
 Д. гормон структурасига бо\ли=
119. Плазма таркибидаги махсус транспорт о=силлари ыз гормонларни ю=ори даражада таниш хусусиятига эга. Масалан, транскортинга мос келувчи гормон
 А. прогестерон
 Б. кортикостерон
 В. тестостерон
 Г. эстрон
 Д. альдостерон
120. +уйдагилар орасида глюкоза алмашинувини бош=арувчи гормоннинг бо\ловчи транспорт о=силлини кенгайтирилган маъносини ани=лаб беринг .
 А. СБГ
 Б. Т₄БГ
 В. Т₄БА
 Г. ИНБГ
 Д. Т₄БПА
121. Простагландилар хосли былишида иштрок этувчи дастлабки асосий манбаа
 А. арахидон кислотаси
 Б. пальмитин кислотаси

- В. стеарин кислотаси
 Г. лаурин кислотаси
 Д. меристин кислотаси
122. Гормон боʻловчи о=силлар таркибий =исми быйича киради
 А. гликопротеидларга
 Б. мукопротеидларга
 В. липопротеидларга
 Г. хромопротеидларга
 Д. нуклеопротеидларга
123. Махсус (специфик) гормон боʻловчи о=силлар одатда комплекс шосил =иладилар фа=атгина
 А. табиий гормонлар билан
 Б. синтетик гормонлар билан
 В. гормон метаболитлари билан
 Г. гормон аналоглари билан
 Д. гормонидлар билан
124. Плазманинг гормон боʻловчи махсус транспорт о=силлари узо= яшовчи бирикмалар былиб, одатда синтезланадилар.
 А. жигарда
 Б. =ора тало=да
 В. буйракларда
 Г. ыпкада
 Д. ретикуло-эндотлиал системасида
125. Гормон боʻловчи носпецифик (махсус былмаган) о=силларнинг асосийси
 А. глобулинлар
 Б. фибриногенлар
 В. трансферинлар
 Г. альбуминлар
 Д. церулоплазминлар
126. Транспорт о=силлари билан комплекс шосил =илган гормонлар одатда
 А. физиологик фаолликга эга эмас
 Б. метаболизмга берилмайдалар
 В. биологик таъсири йы=
 Г. =он ферменти таъсирга берилмайдилар
 Д. индиферент шоссага эга
127. Транспорт о=силлари билан комплекс шосил =илган гормонларнинг биологик фаоллиги кыринади
 А. махсус о=силлар комплексида
 Б. ташувчи о=силлардан ажралган шолатда
 В. альбумин билан боʻланган шаклда
 Г. =он шакли элементлари билан боʻланганда
 Д. гистоглобулинлар билан бирикканда
128. Баъзи эндокрин касалликларининг бирламчи сабабчиси гормонни ыз махсус о=сили билан мустахам боʻланиши былиб, келтирилган мисолда бу
 А. транскортин
 Б. трансферрин
 В. церулоплазмин
 Г. гаптоглобин
 Д. гемоглобин
129. Организмда арахидон кислотасининг биосинтезида =атнашадиган дастлабки модданинг номий
 А. олеин кислотаси

- Б. линол кислотаси
- В. линолен кислотаси
- Г. пальмитин кислотаси
- Д. стеарин кислотаси

130. Миснинг =ондаги махсус ташувчиси

- А. гемоглобин
- Б. гаптоглобин
- В. транскортин
- Г. церулоплазмин
- Д. трансферрин

131. Простагландиндан шосил быладиган ва ю=ори даражада фаолликга эга былган модда

- А. пролин
- Б. протамин
- В. проламин
- Г. простациклин
- Д. прогестерон

132. Простагландинлардан тромбоцитларда ва семиз шужайраларда синтез быладиган бирикманинг номи

- А. протомбин
- Б. тромбоксан
- В. тиреоглобулин
- Г. треонин
- Д. тиреотропин

133. Ялли\ланишга =арши ишлатиладиган воситалар-ацетил-салицил кислота, индометацин, ибопруфен циклооксигеназани ингибирлаш билан бирга =атнашади.

- А. простагландинлар синтезида
- Б. простациклинлар синтезида
- В. тромбоксанлар синтезида
- Г. лейкотриенлар синтезида
- Д. фосфолипидлар синтезида

134. Простагландинлар фаоллигида шужайра ичи воситачилари былган ц АМФ, ц ГМФ ва Са⁺⁺ ми=дори ошиб, гормонлар шосил былишини стимуллайди

- А. буйрак усти безларида
- Б. =ал=онсимон безда
- В. ош=озон ости безида
- Г. гипофизда
- Д. шамма жавоблар ты\ри

135. Простагландинлар ц АМФ ми=дорини ошириш билан бир ва\тда гормонлар секрециясини кучайтиради

- А. стероид гормонларини
- Б. тиреоид гормонларини
- В. меъда ости беги гормонларини
- Г. гипофиз тропинларини
- Д. шамма жавоблар ты\ри

136. Ялли\ланиш белгилари- терининг =изариши, шиш, хароратини кытарилиши ва о\ри= былишига бо\ли=

- А. простагландинлар таъсирига
- Б. протеидлар таъсирига
- В. протаминлар таъсирига
- Г. проаминлар таъсирига
- Д. пролинлар таъсирига

137. Гистамини =ыз\атувчилик таъсирида нерв толалари охирининг сезувчанлигини ошиши.

- А. прогестеронга бо\ли=
- Б. проконвертинга бо\ли=
- В. пролактинга бо\ли=
- Г. протромбинга бо\ли=
- Д. простагландинга бо\ли=

138. Простагландинлар инсон организмнинг барча шужайра ва ты\ималарида щосил былади, бундан мустасно фа=ат

- А. эритроцитлар
- Б. лейкоцитлар
- В. лимфоцитлар
- Г. тромбоцитлар
- Д. моноцитлар

139. Простагландилар биосинтези простагландин синтетаза комплекси таркиби кирувчи фермент иштрокида арахидон кислотасидан бошланади, унинг номи

- А. монооксигеназа
- Б. моноамино оксидаза
- В. гуанилатциклаза
- Г. циклооксигеназа
- Д. фосфолипаза

140. Дори моддаларининг носпецифик транспортида =он о=силларидан =атнашади

- А. гистонлар
- Б. альбуминлар
- В. гемпротеидлар
- Г. гликопротеидлар
- Д. нуклеопротеидлар

141. Дори моддаларининг специфик транспортида =он о=силларидан иштрок этадилар.

- А. гемпротеидлар
- Б. гликопротеидлар
- В. гистонлар
- Г. глобулинлар
- Д. нуклеопротеидлар

142. Натрий, калий, кальций ва магний ионларини шужайра мембранасидан фаол транспортида иштрок этувчи мембрана таркибидаги махсус фермент

- А. аденилатциклаза
- Б. гуанилатциклаза
- В. аденозинтрифосфатаза
- Г. фосфодиэстераза
- Д. нуклеозидаза

143. Дори воситаси ало=а =иладиган меъда-ичак шароитидаги биологик муцитининг номланиши

- А. энтерал
- Б. гуморал
- В. шужайравий
- Г. парентерал
- Д. орал

144. Щамма дори воситалари одам организмга нисбатан табиий (аутобиоген) ва бегона (ксенобиотик) гурухларга та=симланадилар. =уйида келтирилганларидан табиийси

- А. аспирин
- Б. антипирин
- В. атропин

Г. адреналин

Д. акрихин

145. Ксенобиотиклар синтетик бирикма бўлиб, нормал шароитда одам организмида учрамайдилар, келтирилганлар ичида организм учун бегона

А. аскорутин

Б. аспарагин

В. аргинин

Г. аспирин

Д. адреналин

146. Организмда дори воситалари таъсирини ўзгаришига асосий сабаб уларни ферментатив жараёнларга учраши, бу метаболик реакция

А. трансформация

Б. транслокация

В. трансляция

Г. транспептидация

Д. транзиция

147. Ксенобиотикларнинг метаболик таъдири тўғрисида таркибидаги

А. фибриноген бўлиши

Б. фибринга бўлиши

В. фибриногенга бўлиши

Г. ферментга бўлиши

Д. фенилаланинга бўлиши

148. Агарда мазкур ксенобиотикни каталитик ўзгаришида иштрок этувчи фермент бўлмаса, унда ксенобиотик метаболик жиҳатдан

А. фаол щисобланади

Б. пасив щисобланади

В. нейтрал щисобланади

Г. инерт щисобланади

Д. индукцияланган щисобланади

149. Дори моддалари метаболизмини таъдирини тўғрисида улар мазкур ва метаболитлари аниқланади

А. биологик суяуликларда

Б. тўғрисида

В. экскретларда

Г. оғиринда

Д. шамма жавоблар тўғрисида

150. Буйрак усти беши стероид гормонлари ишланишини стимулловчи адренкортикотропин (АКТГ) синтезланади

А. гипоталамусда

Б. гипофиз олди қисмида

В. гипофиз ырта қисмида

Г. гипофиз орта қисмида

Д. эпифиз бешида

151. Гипофиз олди қисми тропинлари ичида организм буйиннинг ўсишини таминловчи гормон

А. тиреотропин

Б. кортикотропин

В. фоллитропин

Г. лютропин

Д. соматотропин

152. Қыпчилик биоген аминлар фармакологик фаолликга эга, паркинсон касаллигида етишмайдигани

- А. адреналин
- Б. норадреналин
- В. дофамин
- Г. серотонин
- Д. кобаламин

153. Буйрак усти беги маъиз =исмининг асосий гормони адреналиннинг хромофин шужайраларида норадреналиндан синтезланиш йили

- А. оксидланиш
- Б. =айтарилиш
- В. дезаминланиш
- Г. метилланиш
- Д. дегидрирланиш

154. +он шужайралари, капиллярлар ытказувчанлигини таминловчи шужайра таш=и бош=арувчисининг хосил былиш манъбаи шисобланади, бу модданинг номи

- А. глутамин
- Б. глутатион
- В. глутелин
- Г. гистамин
- Д. грамицидин

155. Орган ва тымалар биологик функциясининг махаллий бош=арувчиси , гормонидлар =аторига кирувчи модда

- А. спермидин
- Б. соматомедин
- В. соматостатин
- Г. серотонин
- Д. стеркобилин

156. Липидлар алмашинувини иштирокчиси ва =он ивиш жараёнининг бош=аришда =атнашувчи фаол биологик гетерополисахарид

- А. гепарин
- Б. гемоглобин
- В. гемоцианин
- Г. гистамин
- Д. глицин

157. Томирлар силли= мушакларини =ис=ариши ва аллергик реакцияларнинг келтириб чи=арувчи фаол биологик модда

- А. гистидин
- Б. гепарин
- В. гистамин
- Г. глицерин
- Д. глицин

158. Шосил былишида =он плазма о=иллари асосий манбаа былган биологик фаол пептидлар гурушининг вакили

- А. карнитин
- Б. каротинлар
- В. кининлар
- Г. катехоламинлар
- Д. карнозин

159. Протеолитик фермент-кининогеназалар таъсирида кининогенлардан шосил былладиган фаол пептидлар гурухи

- А. брадикинин
- Б. каллидин
- В. лизил брадикинин

Г. метионил-лизил брадикинин

Д. шамма жавоблар ты\ри

160. Фаолликга эга былмаган калликреиногенлардан фаол фермент- калликреинлар щосил былишида =атнашадиган ты=има иштрокчиси

А. катепсинлар

Б. катехинлар

В. кардиолипинлар

Г. кадаверинлар

Д. катехоламинлар

161. Кининларнинг организм функцияларни бош=аришдаги физиологик ащамияти

А. =он щаракатига таъсири

Б. =он босимига таъсири

В. капиллярлар ытказувчанлигига таъсири

Г. юрак мушакларининг =ис=аришига таъсири

Д. шамма жавоблар ты\ри

162. Кининларнинг кыплаб хосил былиши махаллий ялли\ланишни ривожлантириб айрим физиологик функцияларни бузилишига сабаб былади. масалан

А. =он айланишини

Б. бош мия суяги ички босимини ошишига

В. силли= мушакларни =ис=аришига

Г. ферментлар инактивациясига

Д. гормонлар биосинтезига

163. Гистаминни гистидиндан щосил былишини катализловчи фермент

А. дегидрогеназа

Б. декарбоксилаза

В. деацилаза

Г. дегидратаза

Д. дередуктаза

164. Гистаминни инактивациаланиш йыли унинг метил гистаминга айланиши былиб, реакцияни катализловчи ферменти

А. диаминооксидаза

Б. трансацелаза

В. трансацетилаза

Г. метилтрансфераза

Д. трансальдолаза

165. Буйракда ишланиб, =он томири тонуси ва босимини идора этишда иштрок этувчи =оннинг протеолитик ферменти

А. рутин

Б. ретинол

В. ренин

Г. ротенон

Д. родопсин

166. Ренин таъсирида ажралган =он таркибидаги полипептид ангиотензиногенни фаолланишида =атнашувчи активатор

А. карбоксикатепсин

Б. каротин

В. кальцитонин

Г. карнозин

Д. карнитин

167. Организмда ангиотензиноген ангиотензинга айланиб, брадикинин таъсирини бы\ади.

А. =он харакатини зырайтиради

Б. =он босимини оширади

- В. капиллярлар ытказувчанлигини кучайтиради
Г. калмодуллин синтезини кыпайтиради
Д. брадикинин ми=дорини орттиради
168. Каптоприл, берлиприл типигаги =он босимини туширувчи гипотензив препаратлар таъсирининг асоси
- А. трипсинни ингибирланиши
Б. ренинни ингибирланиши
В. пепсинни ингибирланиши
Г. тромбинни ингибирланиши
Д. карбоксикатепсинни ингибирланиши
169. Простагландинларни арахидон кислотасидан синтезланишида =атнашадиган фермент
- А. монооксигеназалар
Б. моно аминоксидазалар
В. циклооксигеназалар
Г. декарбоксилазалар
Д. дегидрогеназалар
170. +урилиши быйича простатландин А
- А. оксикетон
Б. тыйинмаган кетон
В. тыйинган кетон
Г. альдегид
Д. шамма жавоблар ты\ри
171. Структураси быйича простагаландин Е
- А. тыйинмаган кетон
Б. оксикетон
В. тыйинган кетон
Г. 1,3 диол
Д. альдегид
172. Структураси быйича простагландин /
- А. тыйинмаган кетон
Б. оксикетон
В. тыйинган кетон
Г. 1,3 диол
Д. альдегид
173. Ностероид дори воситалари-аспирин, индометацинни ялли\ланишига =арши таъсири асосида ферментни ингибирланиши былиб, бу
- А. монооксигеназа
Б. циклооксигеназа
В. протеинокиназа
Г. пероксидаза
Д. оксигеназа
174. Калликреинлар структураси быйича гликопротеид былиб, хусусияти жищатидан
- А. гормонларга ыхшаш
Б. нейромедиаторларга ыхшаш
В. ферментларга ыхшаш
Г. простагландинларга ыхшаш
Д. биологик бош=арувчиларга ыхшаш
175. Плазма ва ты=има калликреинлари ноактив калликреиногенлардан щосил былиб , протеолитик ферментлар гурухига киради, номланиши
- А. кининогенлар
Б. кининогеназалар

В. кининлар
Г. кининазалар

Д. кокарбоксилазалар

176. Брадикинин нонапептид щисобланиб, =он зардоби о=или фракциясидан щосил былган

А. α -глобулинлардан

Б. β -глобулинлардан

В. γ -глобулинлардан

Г. фибриногендан

Д. фибриндан

177. Брадикинин структураси быйича пептидлар гурухига киради ва беморларни даволашда амалий медицинада кенг =ылланилади

А. гипертензив восита сифатида

Б. гипотензив восита сифатида

В. гипертермик восита сифатида

Г. гипореактив восита сифатида

Д. гидролитик восита сифатида

178. Плазма калликреини =он таркибида прекалликреин сифатида харакатланиб, =айси органда калликреин шаклига ытади

А. ыпкада

Б. буйракда

В. жигарда

Г. =оратало=да

Д. мияда

179. Жигарда щосил быладиган прекалликреин дори олди модда щисобланиб, унинг калликреин ферменти сифатида фаолланиши

А. пепсин таъсирида

Б. трипсин таъсирида

В. эластаза таъсирида

Г. протеинокиназа таъсирида

Д. оксидаза таъсирида

180. Кининлар фаол модда щисобланиб, тери орасига юборилганда кузатиладиган холат

А. =ыз\алувчанлик

Б. тормозланиш

В. \амгинлик

Г. о\ри=

Д. хурсандлик

181. Гистамин зудлик билан пайдо былувчи аллергик реакциялар-ялли\ланиш, меьда шираси секрецияси чаърувчи медиатор былиб , аминокислотани декарбоксилланиш жараёнида щосил былади

А. глициндан

Б. гистидиндан

В. гастриндан

Г. глютаминдан

Д. гуаниндан

182. Гистамин щосил былгандан сынг тезликда ты=ималарда допонирланади , ёки эса имидазол N-метилтрансфераза ёрдамида инактивланади

А. метилмалонилга

Б. метилкобаламинга

В. метионинга

Г. метилгистаминга

Д. меланинга

183. Организмда α -он таркибидаги эркин гистаминни нейтраллаш чораларидан бири унинг α -он о=силлари билан бо\ланиши, аммо бронхиал астма беморлари бу имкониятга эга эмас, бунга сабаб уларни зардобиди

А. α -глобулинни етишмаслиги

Б. β -глобулинни етишмаслиги

В. γ -глобулинни етишмаслиги

Г. гемоглобинни етишмаслиги

Д. гаптоглобинни етишмаслиги

184. Клиникада бронхиал астмани даволашда α -ылланишга киритилган дори воситалари гистоглобулин индуктори ц АМФ ми=дорини ошириш учун уни парчаловчи фермент фаоллигини ингибирлайди, бу фермент

А. фосфолипаза

Б. фосфоорилаза

В. фосфодиэстераза

Г. фосфоглюкомутаза

Д. фосфатаза

185. Антигистамин препаратлари-димедрол, супрастин, дипразин, тавегиллар гистамин таъсирини бы\иш учун уни

А. синтезни ингибирлайди

Б. парчаланишини стимуллайди

В. таъсир кучини нейтраллайди

Г. секрециясини камайтиради

Д. рецептор билан бо\ланишини тысади

186. Гистаминнинг H_1 антагонистлари унинг айрим эффектларига таъсир этаолмайдилар

А. силли= мушаклар тонусини ошишига

Б. α -он томир деворининг ытказувчанлигини кучайишига

В. меъда шираси кислоталигини ортишига

Г. ичак функциясини бузилишига

Д. α -ичитмали дерматитларни кечишига

187. Гистаминнинг H_2 -рецептори антагонистлари былган циметидин, ранитидин, низатидин H_1 антагонистларидан фар=ли ыларо=

А. силли= мушаклар тонусини оширади

Б. α -он томир деворининг ытказувчанлигини кучайтиради

В. меъда ширасида хлорид кислота ва пепсин ми=дорини камайтиради

Г. ичак функциясини зырайтиради

Д. α -ичитмали дерматитларни даволашда ишлатилади

188. H_1 гистамин рецепторларини тысувчи (блокировка) дори воситалари тинчлантирувчи (седатив) таъсирга эга. Бундай хусусият сезилмайдиган препарат

А. димедрол

Б. диазолин

В. дипразин

Г. супрастин

Д. тавегил

189. Брадикинин ангиотензин I каби орган α -он томиридан ытаётганда деярли щаммаси гидролизга учрайди, бу орган

А. юрак

Б. жигар

В. буйрак

Г. ыпка

Д. α -оратало=

190. Кининлар миокард инфаркти ва сабаби турлича былган шок холатларида о\ри= пайдо былишида иштрок этади, бунин таъсирини тысишда фойдаланиладиган дорилар ичида
- А. аспирин
 - Б. аспарагин
 - В. аскорутин
 - Г. ацетилхолин
 - Д. адреналин
191. Ксенобиотиклар организмда биотрансформацияга учраб, метоболитлари шаклида чи=иб кетишида иштрок этувчи реакция
- А. энзиматик
 - Б. эндорганик
 - В. экзорганик
 - Г. эндоплазматик
 - Д. эндокринли
192. Биотрансформацияни биологик маъноси - кимёвий препаратни организмдан чи=иб кетишини тезлаштириш хисобига
- А. таъсир =илиш ва=тини =ис=артириш
 - Б. молекуласини парчалашини ошириш
 - В. эркин шакли ми=дорини камайтириш
 - Г. о=силлар билан бо\ланишини олдини олиш
 - Д. фаоллигини келиб чи=ишини йы=отиш
193. Оксидланиш-=айтарилиш реакциясининг биринчи бос\чида ксенобиотик молекуласини =утбланиши натижасида унинг эрувчанлик имконияти ошади
- А. этанолада
 - Б. ацетонда
 - В. сувда
 - Г. липидларда
 - Д. эфирда
194. Биотрансформациянинг иккинчи бос\чида ксенобиотикларни орали = унумлари синтетик конъюгантлар щосил =иладилар
- А. =он транспорт о=силлари билан
 - Б. эндоген молекулалар билан
 - В. бегона моддалар билан
 - Г. цитоплазма органоидлари билан
 - Д. эндоплазматик занжир билан
195. Биологик конъюгация давомида дори воситалари метоболизмининг орали= унумлари комплекс щосил =иладилар
- А. глутатион билан
 - Б. глюкурон кислотаси билан
 - В. сульфатлар билан
 - Г. сирка кислотаси билан
 - Д. щамма жавоблар ты\ри
196. Одам ва сутэмизувчи шайвонларда ю=ори фаолликга эга былган ферментлар тутган ва ксенобиотиклар метаболизми содир быладиган асосий орган
- А. буйрак
 - Б. ьпка
 - В. жигар
 - Г. юрак
 - Д. =оратало=
197. Ксенобиотиклар метоболизмида =атнашадиган ферментларнинг асосий жойлашган ьрни
- А. митохондрияларда

- Б. цитоплазмада
- В. эндоплазматик ретикулумда
- Г. рибосомаларда
- Д. лизосомаларда

198. Ультрацентрифугалаш услуби билан шужайрадан мембран структураси сифатида ажратилган эндоплазматик ретикулумни номи

- А. микросома
- Б. рибосома
- В. лизосома
- Г. нуклеосома
- Д. полисома

199. Ксенобиотиклар метоболизмида иштрок этувчи микросомал монооксигеназалар-цитохром P₄₅₀га бо̀ли= оксидаза ва флавин са̀жовчи монооксигеназалар (ФМО) кофактори

- А. НАД
- Б. НАДФ
- В. НАД · H₂
- Г. НАДФ · H₂
- Д. ФАД

200. Гемпротеидлар таркибига кирувчи ферментни цитохром P₄₅₀ деб номланишига сабаб унинг 450 нм тыл=ин узунлигида максимал нур ютувчи комплексига асосланган

- А. углерод монооксиди билан
- Б. углерод диоксиди билан
- В. углеводорд билан
- Г. углерод билан
- Д. кислород билан

201. Биологик мембрана фосфолипидларига жойлашган цитохром P₄₅₀ ва НАДФ-цитохром P₄₅₀ редуктаза биргаликда ташкил =илган микросомал ферментлар комплекси номи

- А. о=сил-о=сил былмаган комплекс
- Б. липид-о=силли комплекс
- В. монооксигеназали комплекс
- Г. α-кетоглутаратдегидрогеназали комплекс
- Д. пируват дегидрогеназали комплекс

202. Дориларнинг асосий метаболизмга учрайдиган орган жигар щисобланса щам инсулин, пенициллин каби дорилар интенсив метаболизланади.

- А. ичак трактида
- Б. меьдада
- В. буйракда
- Г. ыпкада
- Д. терида

203. Дори воситалари, канцерогенлар, защарли моддалар щамда эндоген гормонлар метаболик ызгаришлари субщужайра даражасидаги ферментлар системаси билан амалга оширилади

- А. цитозолда
- Б. лизосомада
- В. эндоплазматик ретикулумда
- Г. ядрода
- Д. плазматик мембранада

204. Барбитуратлар ён занжирини бирламчи, иккиламчи спиртларгача С-гидроксиланши цитохром P₄₅₀ ва кислород иштрокида кечади

- А. лизосомаларда
- Б. микросомаларда

- В. рибосомаларда
 Г. пероксисомаларда
 Д. нуклеосомалар
205. Организмда дори моддаларини алкил гурухини тушиб =олиши натижасида фаол бирикмалар хосил былиши мумкин. Фенацетиннинг О деалкилланишидан шосил былади
 А. проламин
 Б. пролактин
 В. пиримидин
 Г. пиродоксал
 Д. парацетамол
206. Алифатик фармакопрепаратлар молекуласидан амино гурущини ажралиб чи=ишидаги дезаминланишда =атнашадиган фермент
 А. монооксигеназа
 Б. моно амино оксидаза
 В. малатдегидрогеназа
 Г. мальтаза
 Д. метилтрансфераза
207. Дезаминланиш о=ибатида кыпчилик дорилар ыз биологик фаоллигини йы=этади Масалан, амфетамин → фенилацетон + NH₃. Жараёнида иштрок этадиган фермент
 А. амино оксидаза
 Б. моно оксигеназа
 В. моно амино оксидаза
 Г. алкогольдегидрогеназа
 Д. цитохромоксидаза
208. Кичик молекулали биологик фаол моддаларни организмда тар=алиши ва таъсир этадиган жойига етиб бориши =он транспорт о=иллари билан бо\ланган шолатда бажарилади. Булар
 А. альбуминлар
 Б. фибриногенлар
 В. протромбинлар
 Г. липопротеидлар
 Д. протеогликанлар
209. Дориларнинг =он о=сили билан ызаро бо\ланиш муддати дорининг таъсир =илиш ва=тига тенг, деб =аралади ва унинг ёрдамида ани=ланади.
 А. дорининг организмга юбориш йыли
 Б. бошлан\ич дозаси
 В. дозалар орали\идаги ва=т интервали
 Г. янги дорилар =идириш чораси
 Д. хамма жавоблар ты\ри
210. Бирорта кимёвий дорининг о=сил билан бо\ланган бирикмасидан бош=а дори си=иб чи=арса биринчисини таъсир кучи янада ортади, бу зардоб о=силини номи
 А. глобин
 Б. гемоглобин
 В. альбумин
 Г. фибриноген
 Д. липопротеид
211. Дори препаратлари шужайранинг специфик компоненти былган рецепторлар билан ызаро реакцияга киришиб, биокимёвий ызгаришларни келтириб чи=аришига сабабчи былса, о=ибатида дорининг
 А. эффеки кучаяди
 Б. эффеки пасаяди
 В. эффеки йы=олади

- Г. эффекти пайдо былади
 Д. ҳамма жавоблар ты\ри
212. Рецепторлар концентрациясининг мушунча амалий ахамияти шундаки, уларнинг дори таъсирида ызгариши асосида
 А. янги дорилар яратилади
 Б. амалиётга янги дори киритилади
 В. фармакологик эффекти оширилади
 Г. танлаб таъсир =илиши ани=ланади
 Д. ҳамма жавоблар ты\ри
213. Рецепторли механизм тыжмалар сезувчанлигини асосий кыриниши былиб , уларор=али дори таъсирини
 А. ызига хослиги ани=ланади
 Б. транспорт о=силлари билан бо\ланиши билинади
 В. дорининг эрувчанлиги кыринади
 Г. организмдан чи=иб кетиш ва=ти ылчанади
 Д. эффектида синергизм хусусияти сезилади
214. Шужайрада дори воситаси ми=дорини маълум даражада чегаралайдиган мембраналар =аторига киради
 А. ядро мембранаси
 Б. митохондрия мембрана
 В. цитоплазматик мембрана
 Г. эндоплазматик мембрана
 Д. лизосомал мембрана
215. Агарда фармакопрепарат рецептор сифатида фермент фаол маркази билан ызаро реакцияга киришса, у ва=гда
 А. фермент синтезланади
 Б. фермент ингибирланади
 В. фермент фаоллиги ызгаради
 Г. фермент фаоллиги пасаяди
 Д. фермент функцияси ызгармайди
216. Клиникада дорининг эффектив таъсирини аниғашда унинг рецепторлик механизмидан фойдаланилади-бу
 А. антагонизм
 Б. синергизм
 В. потенцирланиш
 Г. сигналли таъсири
 Д. анаболизм
217. Антагонист былган дорилар рецептор билан ызаро реакцияга киришиб дори эффектини пасайишига олиб келса, агонистлар иштрокида ызгариш йыналиши
 А. хартомонлама
 Б. биртомонлама
 В. =арама-=-арши томонлама
 Г. таъсирни бы\илиши
 Д. рецепторни ингибирланиши
218. Барбитуратлардан эксперимент шароитида жигар микросомаларида цитохром P₄₅₀ индуктори сифатида фойдаланилади. Буларнинг ичида кенг =ылланиладигани
 А. амобарбитал
 Б. мефобарбитал
 В. фенобарбитал
 Г. циклобарбитал
 Д. пентобарбитал

219. Алифатик дори моддаларини цитоплазмада биотрансформация жараёнига берилиши натижасида ацетальдегид щосил былишида аштрок этувчи фермент номи

- А. алифатик аминларни оксидловчи дезаминаза
- Б. алифатик спиртларни оксидловчи каталаза
- В. карбон кислота эфирларини парчаловчи гидроксилаза
- Г. алифатик спиртларни оксидловчи алкогольдегидрогеназа
- Д. алифатик бирикмаларни парчаловчи гидроксилаза

220. Кофеин фенобарбитал билан бирга =ышиб юборилган хайвонлар =онида ва пешобида урат кислотасининг мидри ошганлиги туфайли фенобарбиталдан дорилар интаксикацияда фойдаланилади, чунки у ксенобиотиклар биотрансформация ферментларини

- А. ингибитори
- Б. индуктори
- В. инактиватори
- Г. изоферменти
- Д. информофери

Фармакологик биокимёдан тест саволларига музокарали жавоблар

1. Фармакологик биокимёнинг илмий йнаилиши ва тадқиқот мавзуси организмда дори воситалари таъсирида келиб чиқувчи биокимёвий ызгаришларни ырганиш.
2. Фармакологик биокимё ыз вазифасини бажаришда -фармацевтик кимё билан-дорилар структураси ва синтези быйича, технология билан-дори шаклини аниқлашда , токсикологик кимё билан-дорилар таркибий =исми захарли хусусиятини аниқлашда , фармакология билан-дорилар таъсир йнаилишини билишда-яъндан шамкорлик =илади.
3. Дори-бу ыз таъсири оғбатыда организм физиологик функциясида биокимёвий ызгариш келтириб чиқарувчи харандай модда.
4. Дори-бу организм билан ызаро кимёвий таъсири натижасида биологик функцияни ызгаришга оладиган харандай модда.
5. Дорилар-организмда синтез =илинадиган фармакологик фаол моддалар ёки уларнинг синтетик аналоглари, организмда ыхшаши йык кимёвий синтетик бирикмалар ёки захарлар, биологик асосга эга былган токсинлар.
6. Дори моддалари =он таркибида =он плазмаси оғиллари билан бирикган шолатда харакатланадилар.
7. Дори моддаларининг =он транспорт оғиллари билан ызаро боғланиши табиатан быш боғланиб, водородли, вандер-ваальсли, гидрофобли ва электростатик боғлардан иборат.
8. Айрим вақтларда (хомиладорликда, ёш болаларда ва б.) дориларни токсик таъсири туфайли оғиллар ва нуклеин кислоталарининг конформацион =урилишида ызгаришлар кузатилади, бунга дори таъсири оғбатыда хужайра геномида оперонлар репрессияси, репликация блокировкаси, трансляция репрессияси, ферментлар ингибирланиши сабаб былиши мумкин.
9. Дориларнинг алошида олинган тығима ва органларга танлаб таъсир этиши уларни шу дори воситасига таъсирчанлигига боғлиқ.
10. Дори воситасининг танлаб таъсир этишини олдиндан айтиш учун тығимани шу дорига сезувчанлигини билиш керак былади.
11. Дори моддасининг организмда таъсимланиш динамикаси унинг организмга кириш йылига боғлиқ.
12. Дори моддасининг шужайра ички =исмида тыпланиш хусусияти унинг цитоплазматик мембранадан ыта олиш имкониятига боғлиқдир.

13. Дорининг эффектив таъсири асосида шужайра ферментларининг фаоллиги, биоэнергетик субстрат билан таъминлангани, субхужайра урилмаларининг функцияси, мембраналарнинг ытказувчанлиги ётади.
14. Дориларнинг тығималарда таъимланиш динамикаси ва эффектив таъсири асосида уларни шужайра рецепторлари билан бўланиш имконияти, метаболик трансформацияси, кимёвий тузилиши ва биологик хусусияти ётади.
15. Орган ва тығималарда ферментатив реакцияларини интенсивлиги дори воситаларининг таъсир этиш муддати ва захарлилик кучини белгилайди.
16. «Орган-нишон», «хужайра-нишон» ва «молекула-нишон» терминлари ёрдамида тығималарни шу дорига таъсирчанлиги аниқланади.
17. Буйрак усти беги глюкокортикоидлари ва уларнинг синтетик аналоглари таъсир этувчи «орган-нишон» жигар щисобланади.
18. Кыпчилик антибиотикларни молекуляр таъсир механизми трансляция репрессияси даражасида былиб, осил синтезини пасайтиришдан иборат.
19. Кыпчилик анальгетикларнинг щароратни туширувчи таъсир механизми асосида митохондрия нафас олиш занжири функциясида оксидланишли фосфорланишни ажралиши щисобига иссиқлик хосил былишини кучайиши ётади.
20. НАДФН₂ биосинтези содир быладиган шужайра исми цитоплазма щисобланиб, глюкозани пентозо-фосфат йыли билан оксидланиши жараёнида щосил былади.
21. Дори моддалари организмда метаболик ызгаришларга учраши натижасида уларнинг биологик фаоллиги ортиши, пасайиши, ызгармаслиги ёки бутунлай йыёлиши кузатилган.
22. Дори моддаларининг метаболик ызгаришларида организмнинг деярли барча органлари, шу жумладан ичак, меъда, ыпка, жигар кыпролатнашади.
23. Дори моддаларининг детоксикацияланиш жараёнида жигар, тери, плацента, ичак ферментлари нисбатан бошқа органларга араганда фаол иштрок этадилар.
24. Толуол органзмга тушгандан сынг жигарда эндоплазматик ретикулуми ферментлари иштрокида бензил спиртигача оксидланади.
25. Жигар эндоплазматик ретикулумида толуол бензил кислотасигача оксидланади ва глицин билан бирикиб щосил илган гиппур кислотаси сийдик ортали ажратилади.
26. Толуолни жигарда детоксикацияга учраши натижасида щосил былган гиппур кислотаси (бензоил-глицин) гидрофиль модда былиб, тезликда буйрак ортали чиқиб кетади.
27. Ксенобиотикларни метаболизмга учраш йыллари ва метаболитларини аниқлаш ортали уларни биологик таъдирига, ножыя эффектларига дори таъсирининг спецификлигига бацо берилади.
28. Дорилар биотрансформациясини ырганиш асосида уларни рецепторлар билан ызаро муносабатига, ызгариш йылларига, эрувчанлигига араб уларни терапевтик эффектини аниқлаш мумкин.
29. Дори моддаларини терапевтик эффектини бацолашда унинг метаболитларини специфик таъсирини аниқлаш зарур, шундагина унинг ножыя оибатларини олдини олиш мумкин.
30. Дори препаратларини буйрак ортали тыла элиминация былиш муддати уларнинг биологик таъсир этиш ваътининг тугаши билан баробар.
31. Дори моддаларини организмда маълум метаболик ызгаришларга учраши натижасида уларнинг фармакологик фаоллигида айрим физик-кимёвий хусусиятлари йыёлиши, баъзиларини эса пайдо былиши мумкин.
32. Липофил барбитуратларнинг, утблик бирикмаларга айланиши уларнинг фармакологик эффектини ызгаришига, организмда былиши муддатини исаришига олиб келади.
33. Тиопентал, пентобарбитал каби дори препаратларининг ё тығималарида тыпланиш хусусияти уларни организмдан «ярим чиқиб кетиш ваътини» чызилишига сабабдир.

34. Организмга тушган фармакологик препаратларнинг асосий метаболик ызгаришлари уларни сырилиш ва чи=арилиш ва=ти орали\ида содир былади.
35. Организмда ксенобиотикларнинг модификация бос=ичидаги метаболик ызгариши носинтетик жараёндыр.
36. Модификация бос=ичида ксенобиотик структурасидаги ферментатив ызгаришларнинг асосий омили унинг гидрофиллик хусусиятини ортишидыр.
37. Модификация бос=ичида ксенобиотиклар структурасидаги иккиламчи бо\ларни узилиши ёки щосил былиши, =ышимча функционал гурухларни киритилиши ёки ажралиб чи=иши уларнинг эрувчанлигини ортишига олиб келады.
38. Ксенобиотикларнинг модификация бос=ичида =утбли метаболитга айланиши улар структурасига -гидроксил (OH), амин (NH₂) сульфгидрил (SH), карбоксил (COOH) функционал гурухларини киритилишига бо\ли=.
39. Ксенобиотиклар молекуласидаги блокланган функционал гурушлар модификация бос=ичида эфир бо\ларини гидролизланиши йбыли билан бышатилады.
40. Ксенобиотиклар конъюгация бос=ичида организм биомолекулалари билан ковалент бо\ ор=али бо\ланадилар.
41. Конъюгация бос=ичида ксенобиотиклар организм эндоген биомолекулалари метаболити былган глюкурон, сульфат, сирка ва аминокислоталар билан синтетик конъюгат щосил =иладилар.
42. Организмда ксенобиотиклар модификация бос=ичида изомеризацияланиш , циклизацияланиш, дециклизацияланиш, гидролизланиш каби бир =атор носинтетик ызгаришларга учрайдилар.
43. Конъюгация жараёнида янги модда синтез =илинады, унинг бир =исми ксенобиотик былса, иккинчи =исми биомолекуладыр.
44. Организмда ксенобиотик билан биомолекула орасидаги ковалент бо\нинг щосил былиши ферментатив жараён былиб, бунда оксидо-редуктазалар, изомеразалар, лиазалар, гидразалар =атнашадылар.
45. Ксенобиотиклар маълум ва=га организмда тыпланиши ёки тезликда таш=арига чи=ариши мумкин . Бу вазиятда улар структураси ызгармаган шаклда, метаболитлар сифатида, конъюгатлар щолатида, биомолекулалар комплекси кыринишида учраши мумкин.
46. Организмда кыпинча айрым липид биомолекулалари билан ызаро таъсир ало=асига эга былган ксенобиотиклар тыпланадылар.
47. Организмда металлар ва метало органик препаратлари о=еиллар билан комплекс бирикма щосил =иладилар.
48. Жигар-дорилар биотрансформациясида асосий метаболик орган щисобланады.
49. Антибиотиклар интенсив метаболизмга учрайдиган органи ичак тракти.
50. Хужайра ичи органоидлари системасида эндоплазматик ретикулум (ЭПР) хужайранинг динамик скелети саналады.
51. Жигар эндоплазматик ретикулуми дорилар биотрансформациясида иштрок этувчи субхужайра ферментларининг асосий манбаи.
52. Дори воситалари, захарли моддалар ва эндоген биоактив препаратлар метаболик ызгаришларида иштрок этувчи ферментлар жойлашган асосий орган-эндоплазматик ретикулум.
53. Дорилар метоболизмида фаол =атнашувчи НАДФ, НАДФН₂, НАД, флавопротеид-1 (ФП₁), цитохром P₄₅₀ лар хужайрадаги ырнашган жойи-микросомалар
54. Дори воситасининг гидроксилланиш жараёнида фармакопрепарат структурасига гидроксил (OH) гурухини киритилиши дори эрувчанлигини орттириб, буйрак ор=али ажралишини тезлаштирады.
55. Дорилар детоксикацияси жараёнида оксидланиш реакциялари уларнинг гидрофильланиш хусусиятларини ошишига ёрдам берады.

56. фармакопрепарат молекуласига гидроксил гурухуни киргизишда гидролитик усули =ылланилади.
57. НАДФН га бо`ли= былган микросомал гидроксилланиш занжирида электронларнинг орали= акцептори сифатида флавопротеид (ФП₁) =атнашади.
58. Ксенобиотикларнинг микросомал оксидланишида цитохром Р 450 ферменти иштирок этади.
59. Цитохром Р 450 нинг микросомал гидроксилланишида =айтарилиш реакциясини катализловчи флавопротеид-1(фп₁) НАДФ·Н₂ иштирокида таъсир =илади.
60. Цитохром Р-450 структураси бййича фосфолипид-протеогемсульфидпротеин комплекси былиб, =айтарилган шаклда СО бирикмасига я=ин туради.
61. Микросомалли цитохром Р450 =айтарилган холатда СО билан мустахкам комплекс щосил =илади ва спектрофотометрда нур ютиш максимуми 450 нм тенг.
62. Ксенобиотиклар ва токсик препаратларни юёри даражада эрийдаган =утбли молекулаларга айланишида иштирок этадиган жигар ферментлари эндоплазматик ретикулумга жойлашган.
63. Анальгетик фенацетинни ялли\ланишга =арши таъсири унинг орали= метаболити былган парацетамолга бо`ли=.
64. Нормада анальгетик ва хароратни туширувчи дориларнинг 95% организмда глюкурон ва сульфат кислотаси билан щосил =илган конъюгацияси натижасида захарсизлантирилади, =олган 5% цитохром Р450 га бо`ли= былган глутатион иштирокида бажарилади.
65. Организмда парацетамол (ацетаминофенол) конъюгацияси учун трипептид глутатион(глицин + глутамат + цистеин) етарли былса парацетамолни гепатотоксик хусусияти намоён былмайди.
66. Парацетамолни фаол метаболити былган N-ацетил-бензоиламинохинонни захарли хусусиятини ани=ланиши уни антидоти былган цистеаминни яратилишига асос былди.
67. Фармакопрепаратларнинг жигарда ызгаришини асосий реакцияси былган С-гидроксилланишида (R-CH₃→R-CH₂-OH)=атнашувчи ферментлар микросомалар таркибига жойлашган.
68. Барбитуратлар ва алифатик бирикмаларнинг ён радикаллари жигар тыҗмасида цитохром Р450 ва кислород иштирокида иккиламчи спиртларгача с-гидроксилланадилар.
69. Салицил кислотасининг ароматик щалҗаси бензолни жигарда с-гидроксилланиши натижасида фенол типидаги бирикма-диоксибензой кислотаси щосил былади.
70. Организмда дори моддасининг алкиль радикалини йыёлиши дезалкилланиши жараёни былиб, кислород, азот, олтингугурт каби моддалардан ажралса O,N,S-дезалкилланиш деб аталади.
71. Кыпчилик дорилар ва защарли моддалар О ва N деалкилланиши натижасида ыз фаоллигини йы=отади, ёки аксинча, фаоллигга эга былади. Анальгетик фенацетинни О-дезалкилланишидан щосил былган N-ацетилпарааминофенол (парацетамол)ни эса о`риғни =олдирувчи, хароратни туширувчи ва ялли\ланишга =арши эффектлари ортади.
72. Фенацетиннинг анальгетик, хароратни туширувчи, ялли\ланишга =арши хусусиятларини асосида унинг О-деалкилланиши ётади.
73. Фармакологик препаратлар молекуласидаги амино-группани дезаминланиши о=ибатида уларнинг фаоллиги йы=олади.
74. Фармакопрепаратларни микросомал аминооксидаза иштирокида дезаминланиб, биологик фаоллигини бутунлай йы=отиши хужайра таркибидаги НАДФ· Н₂ бо`ли=.
75. Жигар микросомаларида ксенобиотиклар метаболизми тезлигини ошиши бир ва=тнинг ызиди микросомал ферментларини индукцияси билан бирга кузатилади.
76. Ксенобиотикларнинг биологик фаоллигини бевосита уларнинг структурасини ызгариши характерлайди.

77. Кичик молекулали бирикмаларни органларда танлаб тыпланишини (органотроплигини) уларнинг омон транспорт тизими омониллари билан бошлинишига ыхшашлиги асосида тушунтирилади.
78. Дори моддаларининг омониллари билан ыз-аро муносабати асосида уларни организмда саганиш муддати, таъсирининг давомийлиги ва организмдан чииб кетиш тезлигини билиш мумкин.
79. Дори моддаларининг омониллари билан ыз-аро муносабати табиатини ырганиш уларнинг организмга юбориш йылини танлашда бошланч ва курс дозаларини белгилашда ва дори концентрациясини бир хил маромда салашда ёрдам беради.
80. Дориларнинг ондаги циркуляцияси ва организмда саганиш ва ти дорининг таъсир илиш муддатини белгилайди.
81. омон транспорт омониллари билан бошланган ксенобиотиклар фаоллиги нейтрал холатда булади.
82. Дори препаратлари оннинг ташувчи омониллари билан бошланган шаклида он таркибидаги ферментлар таъсирига берилмайдлар, яни инактивациядан щамояланган кыринишидан буладилар.
83. Ксенобиотикларнинг омонил молекулалари билан бошланган холатдаги ва т узунлиги уларни бошланч дозасини анилашда , дозалар аро орали ва тини белгилашда , ышимча дозасини билишда ва дорини организмдан чииб кетиш муддатини олдиндан айтишда ёрдам беради.
84. Лигандларнинг омонил транспорт омонили билан комплекс хосил илишида быш бо водород бо и иштирок этади.
85. Организмнинг эволюцион тараиетида он таркибидаги биологик фаол моддаларни ташувчи махсус транспорт тизими-глобулинлар пайдо былган.
86. Гем боловчи он омонили глобин щам организм эволюцияси давомида щосил былган махсус транспорт омониллар комплексига тааллулидир.
87. Биринчи былиб синтез илинган сульфаниламид пронтозил-эффекти йи препарат, унинг организмдаги айтарилган унуми стрептоцид-хаиий антибактериал фаолликга эга
88. Буйрак усти беги пыстло= исмининг стероид унумлари глюкокортикоидлар махсус он омонили-транскортин ёрдамида ташилади.
89. омон таркибидаги махсус эндоген омонил-транскортин билан бошланб , транспорт комплекси хосил илиувчи гормон-кортикостерон.
90. Витаминлар-А, Д, В₆, В₁₂ ва бошларни он омонили альбуминлар билан бошганиши мухим биологик ахамиятга эга былиб, он таркибида парчаланишидан салайди.
91. Альбуминлар анион типидеги дори моддаларини боловчи оннинг носпецифик транспорт тизимининг асосий вакили.
92. Сульфаниламидлар ва аналгетикларнинг он таркибидаги танспорт шаклида альбуминлар атнашади.
93. Ацетилсалицил кислота антикоагулянт фенилидандионни альбумин билан щосил ялган комплексидан сииб чиариб , ырини ыз эгалласа, он кетиш хавфи кузатилиши мумкин.
94. Организмда зардоб глобулини билан комплекс хосил илган фармакопрепарат ыз ташувчи омонилидан боша препарат билан сииб чиарилса, таъсир фаоллиги ортади.
95. Дори воситасининг альбумин билан бошганиш фойизи камая бошлайди, агарда плазмада дори концентрацияси кыпайса; дорининг альбумин билан бошланувчи ырни банд былса, альбумин синтези камайса, ёки бошганишда боша дори билан конкуренция холати кузатилса.
96. Уремия шароитида онда глюкоза мидорини ошиши инсулиннинг глобулинлар билан ковалент комплекс щосил илишига бошли.
97. Айрим холатларда, масалан-дорига нисбатан организм сезувчанлиги камайганда, он таркибида дори концентрациясини бир щил даражада салаш керак былганда, дорини

- катта дозада юбориш талаб =инганда, ёки ножья эффекти ани=ланганда дориларни =он ва ты=има таркибидаги биомолекулалар билан комплекс хосил =илиши ижобий роль ыйнайди
98. Дори воситаларини =он таркиби ва ты=ималарда тыпланиш холати кузатилганда уларни биомолекулалар бо\ланиши салбий о=ибатларга сабаб былиши мумкин.
 99. Одам зардоб альбумини сут эмизувчи щайвонларга нисбатан дорилар билан мустахкамро= бо\ланиш хусусиятига эга, бунинг натижасида дори метаболизми интенсивлиги сусаяди.
 100. Дори молекуласини ароматланиши, бензол хал\лари орасида Вандер-Ваальс кучларини пайдо былиши дори билан альбумин молекуласидаги триптофан =олди\и ызаро бо\ хосил =илиши; зардоб о=ели »дорини йы=отиш жойи » ырнига »дори депоси» вазифасини бажариши дори билан комплексини ортишига олиб келади.
 101. Келтирилган бирикмалардан зардоб о=сили билан бо\ланмайдигани-эфир.
 102. Дори моддаларининг альбумин билан бо\ланишини шужайра рецептори билан бо\ланиш модели сифатида =абул =илса былади.
 103. Дори моддаларининг транспорт о=силлари билан бо\ланганлик холатидаги ва=тни давомийлиги уларнинг организмда са=ланиш муддати узунлиги билан баробар .
 104. Агарда дори моддаси организмдан фа=атгина буйрак ор=али фильтрация йбли билан ажратиладиган былса, о=сил билан бо\ланиши уни организмда са=ланиш муддатини узайтиради.
 105. Дориларни организмдан чи=иб кетиш тезлиги, транспорт о=силлари билан бо\ланиш даражаси, «йы=отиш » жойлари, «ярим» са=ланиш ва=ти айрим шароитларда дорилар экскрецияси быйича хулоса чи=аришга асос былади.
 106. +он о=иллари билан мустахкам бо\ланган ксенобиотиклар организмдан асосан жигар ор=али чи=ариладилар .
 107. Альбуминлар билан бо\ланган ва буйрак ор=али чи=ариладиган дори моддаларини экскреция =илиниши комплексни диссоциация тезлигига, оял бо\ининг мустахкамлигига, бо\ловчи о=силнинг массаси ва молекуласининг ылчамига бо\ли=.
 108. Биологик фаол моддаларнинг альбумин билан паст даражада бо\ланиши уларни эркин =исми ми=дорини нисбатан кыпро= былишига сабаб былади.
 109. Гипоальбуминемия шароитида организмда ксенобиотиклар эркин =исми ми=дорини ошиши кузатилади.
 110. Преднизалон, диазепам =абул =илаётган пациентларда гипоальбуминемия шароитида дориларни кыпро= ножья реакциялари кузатилади.
 111. Кимёвий структураси ыхшаша ксенобиотиклар конкурент ингибирланиш механизми, бо\ланувчи =исмларни ыхшашлиги, рецептор ва транспорт о=елига конкурент былганлиги хисобига бири иккинчисини таъсирини бы\иш мумкин.
 112. Агарда структураси ыхшаш фармакопрепаратлар ташувчи о=силга конкурент былиб, бири иккинчисини бо\линишини камайтирса, у ва=тда кам бо\ланган дорининг эркин ми=дори кыпро= былади.
 113. Альбумин билан бо\ланган бирорта препаратни бош\ препарат билан си\иб чи=арилса у ва=тда си\иб чи=арилган препаратни эркин фракциясининг ми=дори кыпайиши ва таъсирини ортиши хисобига нома=ул реакциялар рый бериши мумкин.
 114. Терапевтик дозадаги =анд ми=дори даражасини пасайтирадиган сульфаниламид препарат толбутамидни альбуминли комплексидан фенилбутазон, салицилин ва сульфаназин препаратлари таъсирида си\иб чи=арилганда гипогликемия холати кузатилади.
 115. Модда алмашинувининг бузилиши, о=сил синтезини ызгариши сабабли келиб чи=ган гиперальбуминемия, гипоальбуминемия шароитларида дори воситасининг альбумин билан бо\ланиш имконияти ызгаради.

116. Гормонлар омон таркибида плазманинг махсус биомолекулалари, омоннинг шакли элементлари, омон транспорт осиллари билан физик-кимёвий комплекс шосил илиб харакатланадилар.
117. Гормонларнинг омон осиллари ва биомолекулалар билан комплекс хосил жараёни мазмунан аайтар реакциядир.
118. Гормонларнинг транспорт осиллари билан комплексланиш даражаси миодор жихатидан осил молекуласидаги боловчи ёринлар концентрациясига боли.
119. Плазма таркибидаги махсус транспорт осиллари ёзи ташийдиган гормонларни юори даражада танлай олиш хусусиятига эгадирлар. Масалан транскортин фаатгина кортикостеронга мос келади.
120. Глюкоза алмашинувини бошарувчи гормон-инсулинни боловчи транспорт осили аббревиатурасининг кенгайтирилган маноси- (ИНБД) инсулин боловчи глобулин .
121. Простагландинлар хосил былишида дастлабки асосий манба архидон кислотасидир.
122. Гормон боловчи осил кимёвий таркиби быйича гликопротеидларга киради.
123. Махсус гормон боловчи осиллар одатда фаатгина табийий гормонлар билан комплекс хосил иладилар.
124. Плазманинг гормон боловчи транспорт осиллари узо яшовчи бирикмалар былиб жигарда синтезланади.
125. Гормон боловчи носпецифик осиллар асосан альбуминлардан ташкил топган.
126. Транспорт осиллари билан комплекс хосил илган гормонлар одатда физиологик фаолликга эга эмас, биологик таъсири йы, омон ферментлари таъсирига берилмайдилар, метаболит ызгаришга учрамайдилар.
127. Транспорт осиллари билан комплекс хосил илган гормонларнинг биологик фаоллиги ташувчи осилдан ажралган эркин шаклида кыринади.
128. Эндокрин касаллиги-транскортицизмни бирламчи сабабчиси кортикостероид гормонларини махсус ташувчи осили былган транскортин билан мустахам, ажратиб былмайдиган бо хосил илиши туфайли.
129. Организмда арахидон кислотасининг биосинтези тыйинмаган иккита ыш боли линол кислотасидан бошланади.
130. Миснинг ондаги махсус ташувчиси-церулоплазмин.
131. Простагландинлардан хосил былиб юери даражада физиологик фаолликга эга былган модда -простациклин
132. Тромбоксан простагландинлардан тромбоцитлар ва семиз шужайраларда синтезланадиган биологик фаол модда.
133. Яллиланиш ва орини пасайтирувчи , наркотик былмаган аналгетиклар-аспирин, индометацин, ибупрофен ва бошлар цикло оксигеназани ингибирлаш билан бирга лейкотриенларни синтезланишига ёрдам беради.
134. Простагландинлар хужайра ичи воситалари ц АМФ, Ц ГМФ ва Ca²⁺ индукциясига таъсир этиб, буйрак усти бези, алонсимон без, меъда ости бези, гипофизда гормонлар биосинтезини стимуллайди.
135. Простагландинлар ц АМФ мидорини ошириш билан бир вагда стероид , тиреоид, меъда ости безлари гормонлари ва гипофиз тропинлари секрециясини кучайтиради.
136. Яллиланиш белгиларидан- терини изариши, шис пайдо былиши, хароратни кытарилиши, ори сезилиши простагландинлар таъсирига боли.
137. Гистамин таъсирида нерв толалари охири сезувчанлигини ортиши простагландинлар туфайлидир.
138. Простагландинлар эритроцитлардан мустасно организмнинг барча хужайра ва тыималарида синтезланади.
139. Простагландинлар биосинтези простагландин синтетеза комплекс таркибига кировчи циклооксигеназа ферменти иштрокида арахидон кислотасидан бошланади.
140. Дори моддаларининг носпецифик транспортида омон осилларидан альбуминлар иштрок этади.

141. Дори воситаларининг специфик транспортида =он оёилларидан глобулинлар иштрок этади.
142. Хужайра мембранасидан натрий, калий, калций ва магний ионларини фаол транспорти мембрана таркибидаги махсус фермент-аденозинтрифосфатаза иштрокида бажарилади.
143. Дори воситасига меъда-ичак йилида таъсир =иладиган биологик шароитга энтерал мухит дейилади.
144. Щамма дори воситалари одам организмига нисбатан табиий (аутобиоген) ва бегона (ксенобиотик) гурухларга таъимланадилар . Адреналин табиий (биоген) дори щисобланади.
145. Аспирин-ксенобиотик, номал шароитда одам организмида учрамайди.
146. Дори воситаларининг организмда таъсир кучини ызгариши метаболик реакцияларга бо\ли= былиб, бу ферментатив жараёни дорилар трансформацияси, деб аталади.
147. Ксенобиотикларнинг метаболик таъдири тыъмалар таркибидаги ферментлар фаоллигига бо\ли=.
148. Агарда ксенобиотикни катализида =атнашувчи фермент ты=имада былмаса, у ва=гда мазкур ксенобиотик метаболик инерт щисобланади.
149. Дорилар метаболизмини тад=и = илишда улар ми=дори ва метаболитлари =онда, биологик сую=ликларда, ты=ималарда, экскретларда ани=ланади.
150. Буйрак усти безида стероид гормонларни ишланишини стимулловчи адренкортикотропин (АКТГ) гипофиз олди =исмида синтезланади.
151. Гипофиз олди =исми тропинлари ичида организм быйини ыстирувчи гормон- Соматотропин (СТГ)
152. Паракинсон касаллигида фармакологик фаолликга эга былган биоген аминлардан дофамин етишмайди.
153. Буйрак усти бези ма\из =исмининг асосий гормони адреналин хромофин хужайраларда норадреналиндан метилланиш йили билан синтезланади.
154. +он хужайралари ва капиллярлар ытказувчанлигини таминловчи таш= бош=арувчилар =аторидаги биоген амин-гистамин
155. Орган ва ты=ималарда биологик функцияларни мащаллий бош=арувчиси =аторига кирувчи гормоноид-серотонин.
156. Липидлар алмашинуви ва =он ивиш жараёнининг фаол иштирокчиси гепарин.
157. Томирлар силли= мушаклари =ис=ришини бышаштирувчи ва аллергик реакцияларнинг асосий сабабчиси гистамин.
158. +он плазма о=силлари асосий манба былган биологик фаол пептидлар-кининлар.
159. Брадикинин, каллидин(лизил брадикинин) метиониллизил брадикининлар протеолитик ферментлар-кининогеназалар таъсирида нофаол кининогенлардан щосил былдилар.
160. Нофаол калликреиногенлардан фаол ферментлар гурухи калликреинлар щосил былишида тыъма протеолитик ферментларидан былган катепсинлар иштирок этадилар.
161. Кининлар =он босими, капиллярлар ытказувчанлиги, =он юриши ва юрак мушаклари =ис=ариши каби физиологик функцияларни бош=аришда катта ахамиятга эга .
162. Кининлар синтезини кучайиши махаллий ялли\ланишни ривожлантириш билан бирга =он айланишининг айрим функцияларини бузилишига сабаб былади.
163. Гистаминни аминокислота гистидиндан щосил былишини катализловчи фермент-декарбоксилаза.
164. Гистамин метилтрансфераза ферменти иштирокида инактивацияланиб, фаол былмаган метилгистаминга айланади.
165. +он томири тонуси ва босимини идора этишда иштирок этувчи =оннинг протеолитик ферменти-ренин буйракда синтезланади.

166. Ренин таъсирида ажралган \Rightarrow он полипептиди-ангиотензиногенни фаолланишида \Rightarrow атнашувчи стимулятор-карбоксикатепсин.
167. Организмда ангиотензиноген ангиотензинга айланиб, брадикининнинг капиллярлар силли \Rightarrow мушагини бышаштирувчи таъсирини ингибирлайди ва шу сабаб \Rightarrow он босимини оширади.
168. Каптоприл, берлиприл типдаги \Rightarrow он босимини туширувчи гипотензив препаратлар таъсирининг асосида карбоксикатепсинни ингибирланиши ётади.
169. Простагландинлар организмда синтезланмайдиган тўйинмаган (полиен- C_{20}) арахидон ёл кислотасидан циклооксигеназалар ёрдамида шосил буладилар.
170. Структураси бўйича простагландин А-тўйинмаган кетон.
171. Структураси бўйича простагландин Е-оксикетон.
172. Структураси бўйича простагландин F-1,3 диол.
173. Ностероид дорилар- аспирин, индометацинни яллиланишига \Rightarrow арши таъсири асосида простагландинни синтезловчи циклооксигеназа ферментини ингибирланиши ётади.
174. Калликреинлар структураси бўйича гликопротеид бўлиб, хусусий сифатлари бўйича ферментларга ыхшаш.
175. Плазма ва тўйма калликреинлари фаол бўлмаган калликреиногенлардан шосил бўлиб, таъсири жихатидан протеолитик ферментлар гурухига киради ва кининогеназалар деб аталади.
176. Брадикинин нонапептид бўлиб, \Rightarrow он зардоби фракцияси- α -глобулинлардан ташкил топган.
177. Брадикинин биологик фаол пептид бўлиб, амалий медицинада гипотензив восита сифатида кенг \Rightarrow ылланилади.
178. Плазма калликреини \Rightarrow он таркибида прекаликреин сифатида харакатланиб, жигар тўймасида калликреин шаклига ытади.
179. Жигарда синтезланадиган прекаликреин трепсин иштирокида фаолланиб, калликреинга айланади.
180. Кининлар яллиланиш жараёни сабабчиси сифатида тери орасига юборилганда оурича \Rightarrow иради.
181. Гистамин зудлик билан аллергик реакциялар (яллиланиш, меъда шираси секрециясини ошиши в.б.) чаирувчи медиатор бўлиб, гистидинни декарбоксилланиш жараёнида хосил булади.
182. Гистамин синтезлангандан сынг тезликда тўймаларда тыпланеди, ёки имидазол N-метилтрансфераза ёрдамида метилгистаминга инактивланади.
183. Организмда нормада \Rightarrow он таркибидаги эркин гистаминни нейтраллаш чораларидан бири уни γ -глобулинлари билан боулиниши, аммо бронхиал астма беморлари \Rightarrow онда гистоглобулинлар етишмаслиги сабабли улар бу имкониятга эга эмаслар
184. Клиникада бронхиал астмани даволашда \Rightarrow ылланиладиган баъзи дори воситалари фосфодиэстераза фаоллигини пасайтириш шисобига ц АМФ ми=дорини оширадилар.
185. Кенг \Rightarrow ылланиладиган антигистамин препаратлари-димедрол, супрастин, дипразин, тавегиллар гистаминни ыз рецептори билан боулиниш имкониятини буйиш йыли билан уни таъсирини камайтирадилар.
186. Гистаминнинг H_1 рецептори антагонистлари уни меъда шираси кислотасини оширувчи эффектига таъсир этмайдилар.
187. Гистаминнинг H_2 рецептори антагонистлари бўлган циметидин, ранитидин, низатидин H_1 -антагонистларидан фарэи ыларо = меъда шираси таркибида хлорид кислота ва пепсин ми=дорини камайтирадилар.
188. Кыпчилик H_1 гистамин рецепторини буйувчи дори воситалари тинчлантирувчи (седатив) таъсирга эга. Лекин бу сифат диазолинда сезилмайди.
189. Брадикинин ангиотензин сингари ыпка \Rightarrow он томиридан ытаётганда деярли хаммаси гидролизга учрайди.

190. Кининлар миокард инфаркти ва келтириб чиқарувчи сабаби турлича бўлган шок ҳолатларида иштрок этадилар. Уларнинг таъсирини тысишда қилланиладиган дорилар қаторида аспирин шам бор.
191. Ксенобиотикларни организмда биотрансформацияга учраб, метаболитлар шаклида чиқиб кетиши сабабчиси- ферментатив реакциялар.
192. Биотрансформацияни биологик мазмуни кимёвий препаратни организмдан чиқиб кетишини тезлаштириш ва таъсир қилиш муддатини қисқартириш.
193. Оксидланиш-айтариллиш реакциясининг биринчи босқичида ксенобиотикнинг қутбланиши шисобига уларнинг сувда эрувчанлиги ошади.
194. Биотрансформациянинг иккинчи босқичида ксенобиотикларнинг орали унумлари эндоген молекулалар билан синтетик конъюгантлар шосил қилади.
195. Биологик конъюгация давомида дори воситалари метаболизмининг орали унумлари глутатион, глюкурон кислотаси, сульфат кислотаси ва сирка кислотаси билан комплекс шосил қиладилар.
196. Одам ва сут эмизувчи шайвонларда жигар юзори фаолликдаги ферментларга эга, ксенобиотикларни метаболизмга учратувчи асосий орган.
197. Шужайра эндоплазматик ретикулуми ксенобиотиклар метаболизмида қатнашадиган ферментларни тугган асосий органелла.
198. Микросома-ультрацентрифугалаш усули билан шужайрадан ажратилган эндоплазматик ретикулум мембрана структураси
199. НАДФ- ксенобиотиклар метаболизмида иштрок этувчи микросомал моно оксигеназалар кофактори.
200. Гемпротеидлар таркибига кирувчи ферментни цитохром P₄₅₀ деб номланишига сабаб, уни углерод монооксиди (Co) билан шосил қилган комплексини 450 нм тылқин узунлигида максимал нур ютишига асоланган.
201. Биологик мембрана фосфолипидлар қуримасидаги цитохром P₄₅₀ ва НАДФ цитохром P₄₅₀ редуктазадан ташкил топган микросомал системага монооксигеназа комплекси, деб аталади.
202. Дорилар метаболизмга учрайдиган асосий орган жигар шисобланса шам инсулин, пенициллин каби пептид табиатли дорилар меъдада интенсив метаболизланадилар.
203. Дори воситалари, канцерогенлар, зашарли моддалар шамда эндоген гормонлар метаболик ызгаришлари субшужайра даражасидаги эндоплазматик ретикулум ферментлари системаси билан амалга оширилади.
204. Барбитуратларнинг ён радикалларини бирламчи ва иккиламчи спиртларгача С-гидроксилланиши цитохром P₄₅₀ ва кислород иштрокида микросомаларда кечади.
205. Организмда дори моддаларининг алкил гурухи кыпчилик ва т кислород (O), азот (N) ва олтингургуртдан ажраладилар. Фенацетининг O деалкилланишидан парацетамол шосил былади.
206. Алифатик фармакопрепаратлар молекуласидан аминогурухини ажралиб чиқишидаги дезаминланиш жараёнида моноаминооксидаза ферменти қатнашади.
207. Дезаминланиш оқибатида кыпчилик дорилар ыз биологик фаоллигини бутунлай йықтади. Масалан, амфетамин → фенилацетон + NH₃ жараёнида монооксидаза иштрокида бажарилади.
208. Кичик молекулали биологик фаол моддаларнинг организмда тарқалиши ва таъсир этадиган жойига етиб бориши альбуминлар билан боланган шолда амалга ошади.
209. Хар қандай оқилини дори билан боқланиши қайтар реакция былиб, унинг ёрдамида дорининг организмга юбориш йыли, бошланғич дозаси, юборишдаги ва т оралиғи ва дорини мақсадли қидириш чоралари аниқланади.
210. Кимёвий препаратни боқланган оқилидан бошқа препарат билан сиқиб чиқарилса, уни таъсир кучи янада ортади.

211. Дори препарати махсус рецептор билан ызаро муносабатда былиб, хужайрада биокимёвий ызгаришлар ча=ирса, унинг натижасида дори эффекти ошиши, камайиши, йы=олиши ёки пайдо былиши мумкин.
212. Рецепторлар концентрацияси янги дори яратиш ва уни амалиётда =ыллаш, фармакологик эффекти ва танлаб таъсир =илишини ани=лашда мушм ахамиятга эга.
213. Рецепторли механизм дорига нисбатан ты=има сезувчанлигини асосий кыриниши былиб, улар ор=али дори таъсирини ызига хослиги ани=ланади.
214. Хужайрада дори воситасининг ми=дорий даражасини чегаралайдиган биологик =урилма-цитоплазматик мембрана щисобланади.
215. Агарда фермент фаол маркази дори рецептори вазифасини бажарса, у ва=тда фермент фаоллиги ызгаради.
216. Клиникада дори эффектив таъсирини билиш ма=садида унинг рецептор антагонизми сифатидаги хусусияти ани=ланади.
217. Рецептор билан былган муносабатда антагонист препаратлар дори эффектини пасайишига, агонистлари эса бир хил йыналишда таъсир этадилар.
218. Эксперимент шароитида жигар микросомалари цитохром P₄₅₀ индуктори сифатида барбитуратлар вакили фенобарбитал кенг =ылланилади.
219. Алифатик моддаларини жигар цитоплазматик трансформацияси жараёнида ацетальдегид щосил былишида спиртларни оксидловчи алкогольдегидрогеназа ферменти иштрок этади.
220. Фенобарбитал ксенобиотиклар метаболизмида иштрок этувчи монооксигеназа ферментлар тузилишининг индуктори былганлиги туфайли, ундан дорилар интоксикациясида фойдаланилади.

Адабиётлар:

1. Альберт А. Избирательная токсичность. М.1982, в 2-х томах, перевод с английского
2. Арчаков А.И. Микросомальное окисление. М. Наука. 1975
3. Асатиани В.С. Новые методы биохимической фотометрии М. Наука. 1965
4. Берёзов Т.Т. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. М.1990
5. Балуда В.П, Баркага З.С., Гольдберг Е.Д. Лабораторные методы исследования в системе гемостаза. Томск, 1980
6. Бертрам Г. Катсунг. Базисная и клиническая фармакология. В 2-х томах. М. С.Петербург 1998, перевод с английского.
7. Биологические мембраны. Методы. Под ред. Дж. Финдлея, У.Эванза, М.Мир 1990
8. Биохимическая фармакология. Под ред. П.В. Сергеева, М. Высшая школа, 1982
9. Ж.Крю Биохимия: медицинские и биологические аспекты (пер. с французского) М. 1979
10. Лакин К.М. Крылов Ю.Ф. Биотрансформация лекарственных веществ. М. Медицина, 1981.
11. Строев Е.А. Биологическая химия. М. Высшая школа, 1986.
12. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник. Под ред. проф. Меншикова В.В. М. 1987.
13. Парк Д. Биохимия чужеродных соединений. М. 1973.

14. Шведова В.Н. Фирсова В.И. Методические рекомендации к лабораторным занятиям по биологической химии. Ленинград. 1986.
15. Уильяме Б, Уилсон К. Методы практической биохимии. Пер с англ. М. 1978.
16. Ткачук В.А. Методы биохимических исследований М. Универс. издат. 1992.
17. Методы токсикологической химии. Томск, 2002.
18. Мосс Д.У., Баттерворт П.Дж. Энзимология и медицина. М. 1978.