

Xursandboyev Suxrobjon Anvar o'g'li

Samarqand davlat tibbiyot universiteti farmatsiya fakulteti talabasi

Ilmiy raxbar: Baykulov Azim Kenjayevich

Annotatsiya. *Matnda zamonaviy immunokimyoviy tahlillar, jumladan, radioimmunoassay, ferment immunoassay, polarizatsiya floresansi immunoassay, shuningdek, immunoxromatografik va immunofiltratsiya testlari muhokama qilinadi. Har bir usulning asosiy tamoyillari tavsiflanadi, ularni qo'llash misollari keltiriladi va immunokimyoviy tahlilning ijobiy va salbiy tomonlari va uning kelajakdagi istiqbollari muhokama qilinadi.*

Kalit so'zlar: *immunokimyoviy tahlil, eritmadagi mikrozarrahalarining kinetik o'zaro ta'siri, polarizatsiyali lyuminestsent immunotahlil, immunoxromatografik lenta testlari*

Dolzarblik. Immunokimyoviy tahlil usullari to'g'ridan-to'g'ri biologik suyuqliklarda immun reaksiya mahsulotlarini aniqlash imkonini beruvchi yuqori faol o'ziga xos teglar - markerlardan foydalanishga asoslangan. Ushbu usullar yuqori sezuvchanlik va o'ziga xoslik bilan ajralib turadi, namunani oldindan tayyorlamasdan, faqat oz miqdordagi biomaterialni talab qiladi, shuningdek, ob'ektiv miqdoriy natijalarni beradi. Reagentlardagi vizual o'zgarishlar (aglyutinatsiya, cho'kma, passiv agglyutinatsiya) yoki reaksiya aralashmasiga qo'shilgan biologik ob'yektlarning o'zgarishi (komplement fiksatsiyasi reaksiyasi) orqali immun reaksiyasi aniqlanadigan immunokimyoviy tahlilning klassik usullarida bir qator kamchiliklar mavjud. Antigen-antikor reaksiyasining (AG-AT) analitik signalini vizual ro'yxatga olish komponentlarning yuqori konsentratsiyasini va uzoq tahlil qilish vaqtini talab qiladi. Bundan tashqari, bunday tadqiqotlar natijalari har doim ham bir ma'noda talqin qilinishi mumkin emas.

Maqsad. Mazkur ishda zamonaviy immunokimyoviy tahlilning amalda mavjud usullarini adabiy sharxlash vazifasini quyganmiz.

Material va usullar. Zamonaviy immunokimyoviy tahlilning amalda mavjud usullarini adabiy sharxlash oxirgi yillarda chop etilgan ilmiy manbalar tahlili.

Nishonli reagentlar yordamida immunokimyoviy tahlilning zamonaviy usullari past molekulyar og'irlikdagi gormonlardan tortib yuqori molekulyar og'irlikdagi viruslar va butun hujayralargacha bo'lgan turli tuzilmalarning biologik faol birikmalarini miqdoriy aniqlash uchun keng qo'llaniladi.

Radioimmun tahlil usuli aniqlanishi kerak bo'lgan antigen va radio-nishon antigenning o'ziga xos antitanalar bilan raqobatbardosh bog'lanishiga asoslanadi. Belgilangan antigen-antitana (AG-AT) kompleksining konsentratsiyasi radioaktivlikni o'lchash yo'li bilan aniqlanadi. Buning uchun birinchi navbatda kompleksni reaksiyada ishtirok etmagan ortiqcha etiketli antigenidan ajratish kerak. Namunada aniqlangan antijenning konsentratsiyasi qanchalik past bo'lsa, etiketli AG-AT kompleksining konsentratsiyasi shunchalik yuqori bo'ladi.

Radioimmunotahlil (RIA) usulining asosiy afzalliklari orasida antigen konsentratsiyasini millilitrda bir necha pikogramgacha, yuqori o'ziga xoslik va tahlil qilish uchun zarur bo'lgan kichik namuna hajmini aniqlash imkonini beruvchi past aniqlash chegarasi mavjud. RIA qon va to'qimalarda antijenlarni aniqlashning boshqa usullaridan ustunlikka ega, chunki natijalar matritsa ta'siriga bog'liq emas. Biroq, bu usul ham o'zining kamchiliklariga ega. Radioaktiv tegning cheklangan xizmat muddati (masalan, ^{125}I izotopining yarim yemirilish davri 60 kun) reagentlarni muntazam ravishda almashtirishni talab qiladi. Bundan tashqari, ko'p sonli tahlillarni o'tkazishda atrof-muhitning radioaktiv ifloslanishi xavfi mavjud.

Radioimmunotahlil (RIA) usullaridan foydalanish bilan bog'liq muammolar tadqiqotchilarni tahlilning yuqori sezuvchanligi va o'ziga xosligini ta'minlaydigan muqobil yondashuvlarni izlashga majbur qiladi.

Geterogen ferment bilan bog'liq immunosorbent tahlili (ELISA) fermentlardan teg sifatida foydalanishga va tegishli ferment tizimlari yordamida

ularni aniqlash qobiliyatiga asoslangan usuldir. Bugungi kunga kelib, turli xil fermentlar bilan bog'langan immunosorbent tahlil texnologiyalari ishlab chiqilgan bo'lib, ularda antigen - ferment nishon bilan bog'langan va bog'lanmagan (ko'pincha peroksidaza) - mustahkam tayanchda immobilizatsiyalangan antitanalar bilan raqobatbardosh o'zaro ta'sirda ishtirok etadi. Inkubatsiyadan so'ng ortiqcha bog'lanmagan komponentlar tozalanadi va immun komplekslari bilan mustahkam tayanch ferment substratining (o-fenilendiamin) eritmasiga joylashtiriladi. Enzimatik reaksiya jarayonida oksidlanish mahsuloti o-fenilendiamin hosil bo'lib, eritma sariq rangga ega bo'ladi. Namunadagi antijen qanchalik aniq bo'lsa, antigen-ferment konjugati antikorlarga shunchalik kam bog'lanadi, bu fermentativ reaksiyaning kamroq mahsulotiga olib keladi. Shunday qilib, namunadagi antigen konsentratsiyasi absorbansga teskari proportsionaldir. Usul geterojen bo'lganligi sababli, ishlatilganda matritsa effektlari kamroq aniqlanadi.

Usulning kamchiliklari - geterojen tahlil uchun maxsus analizatorlardan foydalanish zarurati. Bundan tashqari, siydik namunalarini saqlab qolish uchun natriy azid yoki benzoat kabi konservantlardan foydalanish horseradish peroksidaza fermenti faolligini blokirovka qilishi mumkin, bu esa aniq sinov natijalarini olishni qiyinlashtiradi.

Enzim multiplied immunotestlar (EMIT– enzyme multiplied immunotests) glyukoza-6-fosfat dehidrogenaza fermentini antigenga biriktirilgan etiketli reagent sifatida ishlatadi. Bu ferment glyukoza-6-fosfat substratini 6-fosfoglyukonolaktongacha oksidlaydi va nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADP⁺) kofaktorini NADPH ga qaytaradi. Fermentning faolligi spektrofotometr yordamida NADPH ishlab chiqarishni o'lchash orqali qayd etiladi, maksimal yutilish $\lambda=340\text{nm}$ to'lqin uzunligida sodir bo'ladi. Optik zichlikni o'lchash biosubstratdagi antigen konsentratsiyasi bilan bog'liq.

Ushbu gomogen testning afzalliklari to'plamlarning uzoq davrli muddatligi (bir yildan ortiq) va erkin antigenni ajratishga hojat qoldirmasdan bog'langan antigen miqdorini o'lchash qobiliyatini o'z ichiga oladi. Biroq, tahlil natijalariga matritsa effektlari va o'zaro reaktivlik ta'sir qilishi mumkin. Masalan,

yuqori konsentratsiyalarda LSD ni aniqlash (mililitrda pikogramdan ortiq) yolg'on ijobiy natijaga olib kelishi mumkin va siydikda aspirin metaboliti - salitsil kislotasi mavjudligi yolg'on-manfiy natijaga olib kelishi mumkin.

Klonlangan ferment donor immunotahlil (CEDIA) odatda ferment nishon sifatida *E.coli* bakteriyasidan β -galaktosidazaning odatda ishlab chiqilgan bo'laklaridan foydalanadi. Ferment faolligi ikkita fragmentning o'zaro ta'sirida namoyon bo'ladi: ferment-donor (ED) va ferment-akseptor (EA). Enzimatik gidroliz jarayonida xlorofenol qizil- β -galaktozid xlorofenol qizil va galaktozaga bo'linadi, xlorofenol qizil uchun maksimal yutilish $\lambda=570\text{nm}$ to'lqin uzunligida kuzatiladi. Ferment-donor fragmenti antigen (AG) bilan bog'lanadi va agar u antitana (AT) bilan kompleksda bo'lsa, qayta bog'lanmaydi. Namunadagi aniqlangan AG yorliqli AGni AT dan siqib chiqaradi, bu esa fermentning donor va ferment-akseptor qismlarining qayta assotsiatsiyasiga olib keladi. Natijada fermentativ faollik kuchayadi va so'rilishning ortishi kuzatiladi. Biosuyuqlikdagi AG ning konsentratsiyasi so'rilishning o'zgarishiga to'g'ridan-to'g'ri proporsionaldir. CEDIA texnologiyasi nisbatan yangi va mavjud texnikalar hali yetarli emas. Siydikdagi aralashmalarning ta'siri va matritsa ta'siri bilan bog'liq bo'lgan yolg'on-ijobiy natijalarning yuqori darajasi ham e'tiborga loyiqdir.

Mikrozarracha fermenti immunotahlili texnologiyasida (KIMS – kinetic interaction of microparticles in solution) eritmadagi mikrozarrachalarning kinetik o'zaro ta'siri o'rganilayotgan ob'yektlarni o'lchash uchun o'lchami mikrondan kichik bo'lgan lateks zarrachalarining suspenziyalaridan foydalanadi. Bu zarralar analitga xos bo'lgan molekulalar bilan qoplangan. Mikrozarrachalar yuzasining faol zonasining kuchayishi jarayonning kinetikasini tezlashtiradi va inkubatsiya vaqtini qisqartiradi, bu esa boshqa immunologik usullarni qo'llashdan ko'ra tezroq tahlil qilish imkonini beradi.

Aniqlanishi mumkin bo'lgan antigen (AG) bo'lmasa, mikropartikullar va Ag molekulalarining konjugatlari bir nechta antikorlarni bog'lab, yo'nalishli yorug'likni tarqatadigan katta agregatlarni hosil qiladi. Agregatsiya reaksiyasi davom etar ekan, yutilish darajasi oshadi. Qo'shilgan AG mikrozarrachalar bilan bog'lanish uchun raqobatlashadi, bu agregatlarning shakllanishiga to'sqinlik qiladi

va shunga mos ravishda AG konsentratsiyasiga mutanosib ravishda so'rilishni kamaytiradi. Mikrozarrahalarining AG bilan konjugatlari AG bilan ferment konjugati bilan solishtirganda ko'proq barqarorlikni ko'rsatadi. Ushbu usulning kamchiliklaridan biri shundaki, KIMS sinovlarida qo'llaniladigan mikrozarrahalar qurilmaning elementlariga joylashishi mumkin, bu esa maxsus parvarishlashni talab qiladi.

Polyarizatsiya qiluvchi fluoressent immunotahlil (PFIA - polarization fluorescence immunoassay) tahlil qilingan antijen (AG) va lyuminescent nishon (tracer) bilan belgilangan antigenning o'ziga xos antitanalar (AB) bilan raqobatbardosh bog'lanishiga asoslangan. Fluoressent qutblanish darajasi turli omillarga bog'liq bo'lib, asosiylari zarrachaning o'lchami yoki massasi, eritmaning harorati va yopishqoqligi. Doimiy harorat va yopishqoqlikda fluoressent polarizatsiyasi faqat fluoressent molekulasining o'lchami bilan belgilanadi. Fluoressent yorlig'i bilan belgilangan AG (traser) chiziqli qutblangan yorug'lik bilan qo'zg'atilganda, depolarizatsiyalangan yorug'lik chiqaradi, chunki eritmadagi kuzatuvchi molekulalar tasodifiy yo'naltirilgan va yuqori aylanish tezligiga ega, buning natijasida fluoressent qutblanish sodir bo'ladi. bepul izlovchi past bo'ladi. Nishon AT bilan bog'langanda, immun kompleksning aylanishi sekinlashadi, bu esa fluoressent polarizatsiya darajasining oshishiga olib keladi.

Shunday qilib, reaksiya tizimining fluoressent polarizatsiyasining kattaligi kuzatuvchining bog'langan va erkin fraksiyalarining nisbatini aks ettiradi va tahlil qilingan AG konsentratsiyasiga teskari proportsionaldir. Fluoressent va uning hosilalari ko'pincha PFIA uchun ishlatiladi, chunki fluoressent bilan belgilangan antigen antigen-ferment konjugatiga qaraganda barqarorroqdir. Matritsa effekti to'g'ridan-to'g'ri yorug'lik intensivligiga qaraganda fluoressent polarizatsiyasiga kamroq ta'sir qiladi. Shuning uchun PFIA texnologiyalari bir necha kun davomida saqlanadigan qon yoki siydik namunalarida dori-darmonlarni aniqlash uchun ferment immunotahlil usullaridan ko'ra aniqroqdir. Biroq, yolg'on ijobiy natijalar o't tuzlarining fluoressentiyasi tufayli yuzaga kelishi mumkin.

immunotahlilning istiqbolli varianti bo'lib, sinov suyuqligi namunasi kapillyar kuchlar ta'sirida chiziq bo'ylab harakatlenganda yuzaga keladigan antigen-antitana immun reaksiyasiga (AG-AT) asoslanadi. Vizual aniqlash reagentlar birlashtirilgan chiziqning turli qismlarida rangli zonalar tufayli amalga oshiriladi. Ipnining yuqori qismidagi sinov zonasida tashuvchi oqsilga ega bo'lgan antigen konjugati immobilizatsiya qilinadi, nazorat zonasida esa turga qarshi antikorlar immobilizatsiya qilinadi. Noshon bilan aniqlanayotgan antigenga xos antikorlarning konjugati chiziqning pastki qismida so'riladi. Sinov chizig'i namunaga botirilganda, suyuqlik kapillyar kuchlar ta'sirida chiziq bo'ylab ko'tariladi. Sinov chizig'ida bitta rangli zonaning shakllanishi ijobiy test natijasini ko'rsatadi. Fermentlar yoki rangli nozik moddalar, masalan, kolloid oltin, immunokromatografik testlar uchun yorliq sifatida ishlatiladi. Enzim yorlig'ini aniqlash substrat eritmasini qo'shishni talab qiladi, holbuki kolloid oltin yorlig'i qo'shimcha ishlovsiz vizual tarzda aniqlanishi mumkin.

Immunofiltratsiya usullari (IFA – immunofiltration assay) an'anaviy ravishda o'ziga xos antitanalar bilan tikilgan polimer membranalaridan foydalanishga asoslangan. Membrana adsorbent qatlamida joylashgan bo'lib, u orqali o'tadigan suyuqlikni o'zlashtiradi. Tahlil qilingan eritma membranadan o'tkazilganda, unda mavjud bo'lgan antigen membrananing sinov zonasiga qo'llaniladigan antitanalar bilan immunokompleks hosil qiladi. Keyin antigen-ferment konjugati eritmasi qo'shiladi va fermentlar ishtirokida rang berishni keltirib chiqaradigan xromogen substrat kiritiladi. Membranalar bilan immunofiltratsiya testlari soddaligi va tezkor tahlil tezligi (5 dan 25 minutgacha) afzalliklariga ega, ammo har doim ham yetarli sezuvchanlikni ta'minlamaydi. Bundan tashqari, namuna matritsasi effektlari olingan natijalarga ta'sir qilishi mumkin.

Xulosa. Immunokimyoviy analitik usullar soddaligi, tezkorligi va nisbatan arzonligi tufayli tarkibida zaharli moddalar bo'lgan katta hajmdagi namunalarni birlamchi skrining qilishda qulay vositaga aylanib bormoqda. Hozirgi vaqtda immunotahlil usullarini takomillashtirishning asosiy yo'nalishlari

tahlil qilish vaqtini qisqartirish, laboratoriyadan tashqari testlarni o'tkazish imkoniyati, usullarning narxini pasaytirish, jarayonlarni ixchamralashtirish, aniqlashni avtomatlashtirish va bir vaqtning o'zida bir nechta tahlilchilar tomonidan tahlil qilish imkoniyatidir.

Foydalanilgan adabiyotlar.

1. Jeong S. et al. Current immunoassay methods and their applications to clinically used biomarkers of breast cancer //Clinical biochemistry. – 2020. – Т. 78. – С. 43-57.
2. Zhang H. et al. Immunoassay technology: Research progress in microcystin-LR detection in water samples //Journal of Hazardous Materials. – 2022. – Т. 424. – С. 127406.
3. Wauthier L., Plebani M., Favresse J. Interferences in immunoassays: review and practical algorithm //Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). – 2022. – Т. 60. – №. 6. – С. 808-820.
4. Савченко И. В. ОБЗОР ВРЕМЯ-РАЗРЕШЕННОГО ФЛУОРОИММУНОХИМИЧЕСКОГО МЕТОДА АНАЛИЗА TRFIA //Вестник науки. – 2023. – Т. 1. – №. 6 (63). – С. 1214-1239.
5. Байкулов А. К., Муртазаева Н. К., Тошбоев Ф. Н. ДИНАМИКА ВЛИЯНИЯ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА //World of Scientific news in Science. – 2024. – Т. 2. – №. 3. – С. 244-251.
6. Байкулов А. К., Убайдуллаева Г. Б., Эшбуриева Б. Р. Коррекция экспериментальной гиперлиппротеинемии с производными хитозана //World of Scientific news in Science. – 2024. – Т. 2. – №. 2. – С. 937-947.
7. Kenjayevich B. A. et al. EKSPERIMENTAL GIPERHOMOSISTEINEMIYANI OKSIDLOVCHI STRESS HOLATIDA KELTIRIB CHIQRARISH //TADQIQOTLAR. UZ. – 2024. – Т. 40. – №. 1. – С. 25-30.
8. Ermanov R. T., Qarshiev S. M., Baykulov A. K. CHANGES IN THE NITRERGIC SYSTEM DURING EXPERIMENTAL

9. Akhmadov J. Z., Akramov D. K., Baykulov A. K. Chemical composition of essential oil *lagochilus setulosus* //Modern Scientific Research International Scientific Journal. – 2024. – Т. 2. – №. 1. – С. 263-269.

10. Bayqulov A. K., Raxmonov F. K., Egamberdiyev K. E. Indicators of endogenous intoxication in the model of burn injury in correction with chitosan derivatives //Educational Research in Universal Sciences. – 2022. – Т. 1. – №. 2. – С. 56-63.

11. Baykulov A. K., Norberdiyev S. S. eksperimental giperxolesterolemiyada qondagi gomosistein miqdori bilan endoteliy disfunktsiyasi bog 'liligi //Educational Research in Universal Sciences. – 2023. – Т. 2. – №. 3 SPECIAL. – С. 396-402.

12. Советов К. Т., Байкулов А. К. Динамика ИБС с коррекцией ЛДГ //Modern Scientific Research International Scientific Journal. – 2023. – Т. 1. – №. 9. – С. 47-55.

13. Байкулов А. К., Юсуфов Р. Ф., Рузиев К. А. Зависимость дисфункции эндотелия с содержанием гомоцистеина в крови при экспериментальной гиперхолестеринемии //образование наука и инновационные идеи в мире. – 2023. – Т. 17. – №. 1. – С. 101-107.

14. Kenjayevich B. A. et al. Changes of basic intermediates in blood in myocardial infarction //Journal of Positive School Psychology. – 2022. – С. 1775-1781.

15. Байкулов А. К. и др. Показатели системы оксида азота при экспериментальной гиперхолестеринемии //International Scientific and Practical Conference World science. – ROST, 2017. – Т. 4. – №. 12. – С. 5-8.

16. Kenjayevich B. A. et al. TIOKSIKOLOGIK KIMYODA ATOM-ABSORBSION SPEKTROSKOPIYA USULLARI //Yangi O'zbekiston taraqqiyotida tadqiqotlarni o'rni va rivojlanish omillari. – 2024. – Т. 12. – №. 1. – С. 101-106.

17. Kenjayevich B. A. et al. VISMUT ELEMENTINING TOKSIKOLOGIK AHAMIYATI //Yangi O'zbekiston taraqqiyotida tadqiqotlarni o'rni va rivojlanish omillari. – 2024. – T. 12. – №. 1. – С. 82-86.
18. Kenjayevich B. A. et al. YALLIG'LANISHGA QARSHI NOSTEROID DORI VOSITALARI TOKSIKOLOGIK AHAMIYATI //Ta'limning zamonaviy transformatsiyasi. – 2024. – T. 12. – №. 2. – С. 38-43.
19. Anvar o'g'li O. A., Kenjayevich B. A. SUD KIMYOSI EKSPERTIZA LABAROTORIYALARDA QÒLLANILADIGAN DASTLABKI EKSPRESS TAXLIL USULLARI //Ta'limning zamonaviy transformatsiyasi. – 2024. – T. 12. – №. 2. – С. 44-48.
20. Muzaffar o'g'li A. M., Kenjayevich B. A. DORIVOR ÒSIMLIKLAR BILAN ZAHARLANISH HOLATLARI //Ta'limning zamonaviy transformatsiyasi. – 2024. – T. 12. – №. 2. – С. 58-61.
21. Kenjayevich B. A., Nematjon o'g'li T. D., Rashidovna E. B. SOURCES OF ALKALOIDS AND EFFECTS ON THE BODY //TADQIQOTLAR. UZ. – 2024. – T. 40. – №. 1. – С. 31-35.
22. Сафронова В. А. и др. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНОГО СОДЕРЖАНИЯ ПЛЕВРОМУТИЛИНОВ ИММУНОХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ АНАЛИЗА В ПРОДУКЦИИ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ //Редакционная коллегия. – 2023. – С. 156.
23. Дятлова А. П. ОСОБЕННОСТИ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ПРОВЕДЕНИЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА //МОЛОДЕЖНАЯ НАУКА: ИННОВАЦИИ И ТЕХНОЛОГИИ. – 2022. – С. 110-114.