

**АФФИН ХРОМАТОГРАФИЯ УСУЛИ ЁРДАМИДА АВ0 ТИЗИМИ
АНТИГЕНЛАРИНИ ИНСОН СОЧЛАРИДА АНИҚЛАШ**

Хасанова Мухаррама Алмаредановна,

Нуров Ақобир Ризоқулович

Тошкент давлат тиббиёт университети, Ўзбекистон, Тошкент

e-mail m.xasanova71@gmail.com

Мавзунинг долзарблиги. Сочларда АВ0 тизими агглютиногенларини аниқлаш учун, одатда, агглютининларнинг абсорбцияси миқдорий модификация усули қўлланилади. Бироқ ушбу методика учун кўп миқдордаги сочлар (10 мг дан 50 мг гача) талаб қилинади ва қанча кўп соч намуна олинса, тадқиқот натижалари шунча яхши бўлади. Бунда сочлар олдиндан майдаланади, толаларга ажратилади. Агглютининларни абсорбция қилиш реакцияси учун сочларга дастлабки ишлов беришда юзага келадиган техник қийинчиликлар ҳамда суд-тиббий лабораторияларга ашёвий далил сифатида яқка сочлар келиб тушиши мумкинлиги сабабли, абсорбция–элюция усулидан фойдаланилади. Сўнгги вақтларда антитела ва антигенларни аниқлашда аффин хроматография усулидан фойдаланиш масаласига алоҳида эътибор қаратилмоқда. Биоспецифик адсорбцион хроматография ўзининг специфик хусусиятлари ва бошқа сорбцион ҳамда суюқлик хроматографияси турларига нисбатан қатор афзалликларини намоён этди, чунки у биологик жараёнларнинг молекуляр даражадаги ўзига хослигини очиқ беради. Агар аффин хроматография усули ёрдамида қон доғларида антигенларни аниқлаш

мумкинлиги, ушбу усулни юлиб олинган инсон сочларидаги антигенларни аниқлашда ҳам қўллаш мумкинлиги истисно этилмайди.

Ишнинг мақсади: Юлиб олинган соч пиёзчаларида А ва В агглютиногенларини биоспецифик адсорбцион (аффин) хроматография усули ёрдамида аниқлаш имкониятини ўрганишдан иборат.

Текширув материаллари ва усуллари. Тадқиқотга 18 ёшдан 48 ёшгача бўлган эркек ва аёлларга тегишли 42 та соч намунаси жалб этилди. Сочлар бош соҳасидан юлиб олинган. Сочларнинг юлиб олинган вақтдан то текшириш бошлангунига қадар сақланиш муддати бир неча соатдан бир ҳафтагача бўлган. Юлиб олинган сочларнинг илдизи қобикларида антигенларни аниқлаш уларга дастлабки ишлов бермасдан амалга оширилди. Бунинг учун ҳар бир шахсдан алоҳида икки дона соч пиёзчасигина эмас, балки узунлиги 5 мм бўлган икки дона дока толаси кесмаси ҳам олиниб, хроматографик қоғоз варақларида чизилган йўлаклардаги тешикчаларга жойлаштирилди. Биополимер сифатида титри 1:128 бўлган анти-А ва анти-В изогемагглютинацияловчи зардоблари (ишчи эритмада 1:64) қўлланилди. Хроматография хона ҳароратида 16-18 соат давом эттирилди, сўнгра хроматограммалар камерадан олиниб қурилди. Ҳар бир объект ва назорат толалари алоҳида тешикчалардан чиқарилиб, қоғоз йўлаклардаги рақамларга мос ёзувлари бўлган кичик агглютинацион пробиркаларга жойлаштирилди. Сўнгра улардан олдин абсорбция қилинган анти-А ва анти-В зардоблари +56°C ҳароратда 20 дақиқа давомида элюция қилинди. Элюатга тегишли А ва В эритроцитлари қўшилиб, центрифугаланди ва микроскоп остида текширилди. Гуруҳ мансублигига кўра, 20 та соч намунаси иккинчи $A_{\beta}(II)$, 22 таси эса учинчи $B_{\alpha}(III)$ қон гуруҳига мансуб шахсларга

тегишлидир. Бунда А ва В антигенларини аниқлаш имкониятини ўрганишда ҳар бир шахсдан доимо иккитадан юлиб олинган соч олинган. Демак, 42 та тажриба учун амалда 84 та юлиб олинган сочни ташкил этган, улардан 76 тасида соч илдизлари деформацияланган пиёзча ва тўлиқ ёки қисман сақланган қобиқлари билан кузатилган, қолган 8 ҳолатда эса хужайра элементлари ва пигмент сақлаган колбасимон ҳаётга қобилиятсиз пиёзчалар аниқланган. Иккинчи ва учинчи қон гуруҳига мансуб сочлар билан бир қаторда, назорат сифатида биринчи қон гуруҳи $O_{\alpha\beta}(I)$ бўлган инсондан юлиб олинган 8 та соч пиёзчаси ҳам текширилди. Бунинг учун ҳар бир тадқиқотда иккинчи ва учинчи қон гуруҳига мансуб 8 та соч намунаси билан бирга, назорат сифатида, хроматографик қоғоз йўлакчасининг бошланғич чизиғидаги кесикларга биринчи қон гуруҳига мансуб инсон сочининг битта пиёзчаси маҳкамланди. Шу тариқа, бир хил шароитда, бир вақтнинг ўзида, соч антигенларини тозалаш ва фиксация қилиш хусусиятига эга бўлган бир хил эритроцитлар ҳамда анти-А ва анти-В антителаларини сақловчи биополимерлар ёрдамида тадқиқот ва назорат объектлари бир вақтда хроматография қилинди.

Текширув натижалари. иккинчи қон гуруҳига мансуб 20 та соч намунасининг иккитасида хроматография қилинган пиёзчаларни қобиқларидан олинган элюатларда реакциянинг энг юқори интенсивлиги (+++) кузатилди. Бу микроскоп остида кўп сонли йирик эритроцитар агглютинатларнинг пайдо бўлиши билан тавсифланди. 20 объектнинг 9 тасида эркин ётган эритроцитлар фонида 5-7 та эритроцитдан иборат ўртача агглютинатлар кузатилиб, улар (++) билан белгиланди. 7 ҳолатда эса кўриш майдонида кўп сонли эркин эритроцитлар фонида 3-4 та эритроцитдан иборат кичик агглютинатлар (+) қайд этилди. Қолган 2

ҳолатда эса кўриш майдонида эркин эритроцитлар фонида 2–3 та эритроцитдан иборат якка майда агглютинациялар кузатилиб, улар шубҳали ҳолат сифатида ($\pm$) билан белгиланди ва мусбат натижа деб баҳоланмади. Шунинг таъкидлаш лозимки, ушбу 20 объектнинг барчасида В гуруҳи эритроцитлари билан агглютинация кузатилмади, яъни антиген - антителанинг носпецифик боғланиши содир бўлмади. В_α(III) қон гуруҳига мансуб инсонларнинг 22 та юлиб олинган сочида ўтказилган экспериментал тадқиқотлар 21 ҳолатда аниқ мусбат натижа берди (улардан 3 тасида “+++”, 9 тасида “++” ва 9 тасида “+” қайд этилди), битта ҳолатда эса шубҳали натижа олинди, у манфий (-) деб баҳоланди. Барча ҳолатларда носпецифик боғланиш кузатилмади, яъни ушбу 22 та соч элюатида А гуруҳи эритроцитлари билан агглютинация содир бўлмади. Худди шундай, биринчи қон гуруҳига мансуб 10та соч элюатида ҳам А ва В эритроцитлари билан агглютинация кузатилмади. Шундай қилиб, 42 та соч толасининг 39 тасида юлиб олинган сочларни пиёзчаси қобиқларида ушбу шахслар қонидаги агглютиногенларга мос келувчи А ва В агглютиногенлари аниқланди. 3 та ҳолатда манфий натижа олинди.

Хулоса демак, қоғоздаги аффин (биоспецифик адсорбцион) хроматография методикаси юлиб олинган соч пиёзчаларида А ва В антигенларини аниқлаш учун қўлланилиши мумкин. Бунда хроматография антигенларни олдиндан ишлов бермасдан аниқлаш имконини беради. Бизнинг фикримизча, антигенлар соч пиёзчалари қобиқлари яхши сақланганда, қисман сақланган пиёзчаларга нисбатан яхшироқ аниқланади.

АДАБИЁТЛАР

1. Абдулина Е.В., Мальцев А.е. Исследование повреждений волос в зависимости от свойств ударной поверхности тупого твердого предмета и условий удара. // Судебная медицинская экспертиза. –М.,2007., - №2., С.9-11.
2. Аbruкова А.В. наследственные болезни кожи и волос.// Медицинская сестра. – М.,2016., №8.,-С.9-12.
3. Леонова Е.Н., Нагорнов М.Н., Прохоренко А.С. Особенности отпечатков прямых и волнистых волос головы, испачканных кровью – научное издание // Судебно-медицинская экспертиза экспертиза.- М.,2018. –Т1.-№1. -С.39-41.
4. Барсегянц . Л.О., Батруddинова В.М., Герасимова О.П., Круподерова О.Г., Крупник И.Ю. Одномоментное определение антигенов А и В в волосах реакциями абсорбции-элюции и смешанной агглютинации // Судебно-медицинская экспертиза экспертиза.- М.,2009. - №424-25.
5. Ильина Е.А. Выявление антигенов А и В системы АВ0 в стержне единичного волоса // судебно- медицинская экспертиза. – М., 2004., №4.С.41-42.
6. Стефаненко Е.В., Мяделец О.Д., Кухновец О.А., Мяделец. //Клетки Ларгенганса межфолликулярного эпидермиса и эпителия наружного влагалища волосяных фолликулов кожи человека в норме и при холодовой смерти.//Морфология.- СПб., 2019.-т.135.,-№3.-С. 67-71.
7. Леонова Е.Н., Нагорнов М.Н., Дорофеева Е.Е. некоторые особенности отпечатков волос головы, пропитанных кровью.// Судебно-медицинская экспертиза - М.,2024. –Т57.-№4. -С.31-33.

8. Прохоров Л.Ю., Гудошников В.И. Поседение волос при старении локальные механизмы. // Клиническая геронтология. - М., 2016., Т22., №9., - С.63-64.
9. Слустовская Ю.В., Крыско М.В., Стрелова О.Ю. Разработка методики ферментативного гидролиза для изолирования токсичных веществ из образцов волос // Судебно-медицинская экспертиза - М., 2017.,- Т60., №2.,- С.36-40.
10. Трунова Г.В., Ноздрин В.И. Морфологические проявления коротких стадий цикла смены волос у человека.// Морфология. – СПб.,2015.,-Т147., №3..-С. 83-84.
11. Трунова Г.В., Ноздрин В.И. Способы морфологической идентификации стадий цикла смены волос у человека.// Морфология. – СПб.,2016.,-Т149., №2.. - С. 77-84.
12. Лапенков М.И., Александрова В.Ю. и др. Определение групповой принадлежности микрофрагментов волос с помощью реакции абсорбции-элюции с использованием моноклональных антител. 2012. №2.. - С. 77-84.