

**SHAROF RASHIDOV NOMIDAGI SAMARQAND DAVLAT
UNIVERSITETI HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
PhD.03/30.12.2019.K.02.05 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

**SHAROF RASHIDOV NOMIDAGI SAMARQAND DAVLAT
UNIVERSITETI**

RAYIMQULOVA CHAROS AXMATOVNA

**BA'ZI KLINIK AHAMIYATGA EGA BIOMARKERLARNI
NOINVAZIV NAZORAT USULLARI VA QURILMALARINI
ISHLAB CHIQISH**

02.00.02 – Analitik kimyo

**KIMYO FANLARI BO'YICHA FALSAFA DOKTORI (PhD) DISSERTATSIYASI
AVTOREFERATI**

Samarqand – 2023

**Kimyo fanlari bo‘yicha falsafa doktori (PhD)
dissertatsiyasi avtoreferati mundarijasi**

**Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)
по химическим наукам**

**Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)
on chemical sciences**

Rayimqulova Charos Axmatovna

Ba’zi klinik ahamiyatga ega biomarkerlarni noinvaziv nazorat usullari va qurilmalarini ishlab chiqish 3

Раимкулова Чарос Ахматовна

Разработка методов и устройств для неинвазивного контроля некоторых клинически значимых биомаркеров 21

Rayimkulova Charos Akhmatovna

Development of methods and devices for noninvasive control of some clinically significant biomarkers 39

E’lon qilingan ishlar ro‘yxati

Список опубликованных работ

List of published works 42

**SHAROF RASHIDOV NOMIDAGI SAMARQAND DAVLAT
UNIVERSITETI HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
PhD.03/30.12.2019.K.02.05 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

**SHAROF RASHIDOV NOMIDAGI SAMARQAND DAVLAT
UNIVERSITETI**

RAYIMQULOVA CHAROS AXMATOVNA

**BA'ZI KLINIK AHAMIYATGA EGA BIOMARKERLARNI
NOINVAZIV NAZORAT USULLARI VA QURILMALARINI
ISHLAB CHIQISH**

02.00.02 – Analitik kimyo

**KIMYO FANLARI BO'YICHA FALSAFA DOKTORI (PhD) DISSERTATSIYASI
AVTOREFERATI**

Samarqand – 2023

Falsafa doktori (PhD) dissertatsiya mavzusi O'zbekiston Respublikasi Vazirlar Mahkamasi huzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasida B2021.4.PhD/K432 raqami bilan ro'yxatga olingan.

Dissertatsiya Sharof Rashidov nomidagi Samarqand davlat universitetida bajarilgan.
Dissertatsiya avtoreferati uch tilda (o'zbek, rus va ingliz (rezyume)) Ilmiy kengash veb-sahifasida (www.samdu.uz) va "ZiyoNET" axborot-ta'lim portalida (www.ziynet.uz) joylashtirilgan.

Ilmiy rahbar: Aronbayev Sergey Dmitriyevich
kimyo fanlari doktori, professor

Rasmiy opponentlar: Abduraxmonov Ilxom Ergashboyevich
kimyo fanlari doktori, dotsent

Sultonov Marat Mirzayevich
kimyo fanlari doktori, professor

Yetakchi tashkilot: O'zbekiston milliy universiteti

Dissertatsiya himoyasi Sharof Rashidov nomidagi Samarqand davlat universiteti huzuridagi ilmiy darajalar beruvchi PhD.03/30.12.2019.K.02.05 ilmiy kengashning 2023-yil "23" "11" soat "10⁰⁰" dagi majlisida bo'lib o'tadi. (Manzil: 140104, Samarqand shahri, Universitet xiyoboni, 15-uy. Sharof Rashidov nomidagi Samarqand davlat universiteti, Biokimyo instituti, Kimyo binosi 220-xona. Tel.: (+99866)239-11-40, faks: (+99866)239-11-51, e-mail: devonxona@samdu.uz).

Dissertatsiya bilan Sharof Rashidov nomidagi Samarqand davlat universitetining Axborot-resurs markazida tanishish mumkin (118 raqami bilan ro'yxatga olingan). (Manzil: 140104, Samarqand shahri, Universitet xiyoboni 15-uy. Tel.: (+99866) 239-11-51).

Dissertatsiya avtoreferati 2023-yil « 2 » 11 kuni tarqatildi.
(2023-yil « 1.11 » dagi № 1 raqamli reyestr bayonnomasi.)



A.M. Nasimov
Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash raisi
texnika fanlari doktori, professor

J.R. Uzokov
Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash kotibi
kimyo fanlari bo'yicha falsafa doktori (PhD)

E.A. Abduraxmonov
Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash
qoshidagi ilmiy seminar raisi k.f.d, professor

KIRISH (falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi annotatsiyasi)

Tadqiqot mavzusining dolzarbligi va zarurati. Dunyoda zamonaviy analitik kimyo yutuqlaridan foydalangan holda klinik ahamiyatga ega bo'lgan biomarkerlarni noinvaziv usullarda aniqlash bo'yicha ilmiy natijalarga erishilgan. Jumladan to'qimalar va hujayralardan biomarkerlarni aniqlash bo'yicha immunofloressensiya mikroskopiyasi usulida DNK ni aniqlashda polimeraza zanjir reaksiyasidan, siydik, qon va boshqa biologik namunalardan ma'lum biomarkerlarni aniqlashning immunokimyoviy usullari ishlab chiqilgan va ular turli kasalliklar diagnostikasi va davolashni nazorat qilishda muhim ilmiy ahamiyat kasb etadi.

Jahonda turli kasalliklarni noinvaziv tashxislash va davolashni nazorat qilishga imkon beradigan biomarkerlarni aniqlashning analitik usullarini ishlab chiqish bo'yicha ilmiy izlanishlar olib borilmoqda. Bu borada, biomarkerlar tahlilini ishlab chiqish va ularni tekshirish, matritsani tanlashdan tortib, namunaning yaxlitligini saqlashgacha bo'lgan jarayonlarni standartlash va aniqlash, siydik, qon va biologik suyuqliklardan zamonaviy analitik kimyo usullarini qo'llab, biomarkerlarni aniqlashning sezgir, selektiv, tezkor, natijalarning takrorlanuvchanligini ta'minlaydigan, ekologik xavsiz, tannarxi arzon, qurilmalarining soddaligi hamda avtomatlashtirishga moyil bo'lgan usullarni ishlab chiqarilishiga, shuningdek, bu usullarni nazariy asoslarini yaratish va amaliyotga joriy qilishga alohida e'tibor berilmoqda.

Respublikamizda diagnostika va terapiya samaradorligini baholash uchun eng optimal biomarkerlarni aniqlash, ularni qo'llashning samarali yo'llarini izlab topish, ularning eng tezkor, operativ, avtomatlashtirilgan o'ziga xos tahlil usullaridan foydalanish, biologik ob'ektlardan namuna olishda kam shikast yetkazuvchi va noinvaziv usullarini ishlab chiqish bo'yicha muayyan natijalarga erishilmoqda. O'zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo'yicha Harakatlar strategiyasida "atrof-muhit, aholi salomatligi va genofondiga ziyon yetkazadigan ekologik muammolarni oldini olish" bo'yicha muhim vazifalar belgilab berilgan. Ushbu vazifalardan kelib chiqqan holda, turli kasalliklarni tashxislash va davolash ishlarini nazorat qilish uchun noinvaziv usullarda biomarkerlarni aniqlash usullarini ishlab chiqish muhim ahamiyat kasb etadi.

O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017-yil 7-fevraldagi PF-4947-son "2017-2021 yillarda O'zbekiston Respublikasini rivojlantirishning beshta ustuvor yo'nalishi bo'yicha "Harakatlar strategiyasi" to'g'risidagi Farmoni¹, 2017-yil 23-avgustdagi PQ-3236-son "2017-2021-yillarda kimyo sanoatini rivojlantirish dasturi to'g'risida" gi qarori², 2018-yil 17-yanvardagi PQ-3479-son "Mamlakat iqtisodiyoti tarmoqlarining talab yuqori bo'lgan mahsulot va xom-ashyo turlari bilan barqaror ta'minlash chora-tadbirlari to'g'risida"gi qarori hamda mazkur faoliyatga tegishli boshqa me'yoriy-huquqiy hujjatlarda belgilangan vazifalarni amalga oshirishga ushbu dissertatsiya tadqiqoti muayyan darajada xizmat qiladi.

¹O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017-yil 7-fevraldagi PF-4947-son "2017-2021-yillarda O'zbekiston Respublikasini rivojlantirishning beshta ustuvor yo'nalishi bo'yicha "Harakatlar strategiyasi" to'g'risidagi Farmoni

²2017-yil 23-avgustdagi PQ-3236-son "2017-2021-yillarda kimyo sanoatini rivojlantirish dasturi to'g'risida"gi qarori

Tadqiqotning Respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining ustuvor yo‘nalishlariga mosligi. Mazkur tadqiqot Respublika fan va texnologiyalar rivojlanishining VII “Kimyo, kimyoviy texnologiyalar va nanotexnologiyalar” hamda IX “Tibbiyot va farmakologiya” ustuvor yo‘nalishlariga muvofiq bajarilgan.

Muammoning o‘rganilganlik darajasi. Hozirgi vaqtda dunyoning ko‘plab universitetlari va klinikalarida turli kasalliklarda - nafas chiqarilgan havo va boshqa inson sekretsiyasidagi o‘ziga xos biomarkerlarni aniqlashga qaratilgan tizimli tadqiqotlar olib borilmoqda. Bunday tadqiqotlarni olib borgan olimlarning nomlari jahon ilmiy jamoatchiligiga yaxshi ma‘lum, jumladan: Kataoka X., Saito K. (Yaponiya), Vang C, Sahay P. (AQSh), spaněl P, Smit D. (Chexiya), Das S., Palz M. (Hindiston), Van Berkel J.J., Dallinga J.V., Möller G.M. (Yevropa Ittifoqi), shuningdek, rus olimlar-Stepanov E.V., Vaks V.L., Budnikov G.K., Brainina X.Z., Korotkova E.I. va boshqa bir qator olmlarni sanab o‘tish mumkin. Ushbu tadqiqotlar natijasida ayrim biomarkerlarni aniqlashning keng ko‘lamli analitik usullari va vositalari ishlab chiqildi hamda biomarkerlar bazasi kengaytirildi. Ular yordamida esa bir qator kasalliklarning noinvaziv diagnostikasini amalga oshirish mumkin bo‘ldi.

Bularning barchasi bilan birga shuni ta’kidlash kerakki, biomarkerlar va undan ham ko‘proq noinvaziv usulda olingan namunalarni tahlil qilishda, analitik usullar va asboblardan foydalanishda bu olimlar quvonarli natijalarga erishgan bo‘lsalar ham, O‘zbekistonlik olimlarning tadqiqotlarida bu yo‘nalish yetarlicha aks ettirilmagan. Bularga T.M. Xamroqulov, A.M. Gevorgyanlar rahbarligida bajarilgan gazsimon va suyuq muhitdagi ekotoksikantlarni aniqlash mavzusida, shuningdek hozirda faoliyat yuritayotgan: kolorimetriya asosida test tizimlarini ishlab chiqish – Smanova Z.A.; gazga sezgir datchiklarni yaratish - Abdurahmonov E.A.; Aronbayev S.D. ning biologik ob‘ektlardagi metabolitlarni va ularning antioksidant faolligini voltamperometrik aniqlash usullari ishlari bo‘yicha bajargan ilmiy ishlarini aytish mumkin.

Yuqorida aytilganlarning barchasi bir qator kasalliklarni skrining qilish, diagnostikasi va monitoringida foydalanish imkonini beruvchi biomarkerlarni noinvaziv aniqlash va nazorat qilishning yangi usullarini ishlab chiqish zarurligini yana bir bor ishonchli isbotlaydi.

Dissertatsiya tadqiqotining dissertatsiya bajarilgan oliy ta’lim muassasasining ilmiy-tadqiqot ishlari rejalari bilan bog‘liqligi. Dissertatsiya tadqiqoti Samarqand davlat universitetining ilmiy-tadqiqotlari rejasining “Muhandislik-ekologik va tibbiy-biologik maqsadlarda kimyo va biosensornlarni yaratish” mavzusi doirasida bajarilgan.

Tadqiqotning maqsadi: bir qator kasalliklarga tashxis qo‘yish va inson tanasining funksional holatini baholash uchun klinik ahamiyatga ega biomarkerlarni noinvaziv monitoring qilish uchun yangi tahlil usullari va qurilmalarini ishlab chiqishdan iborat.

Tadqiqotning vazifalari:

suyuq va gazli muhitda ammiak va ammoniy ionlarini aniqlash usuli hamda elektrokimyoviy sensorni ishlab chiqish;

so‘lakning pH muhitini o‘lchash usuli va oqimli-in’jeksion elektrokimyoviy datchik ishlab chiqish;

sog‘lom va buyrak yetishmovchiligi tashxisi qo‘yilgan bemorlarning qon zardobi va siydigining antioksidant faolligini voltamperometrik aniqlash usulini ishlab chiqish;

tahlil natijalarini qayd etishning yangi usullaridan foydalangan holda inson xorionik gonadotropinini tahlil qilish uchun noinvaziv usulini ishlab chiqish.

Tadqiqotning ob’yekti : insonning nafas chiqargan havosi, so‘lak, siydik va qon.

Tadqiqotning predmetini *Helicobacter pylori* bakteriyasini tashhislash uchun nafas chiqargandagi havo va boshqa ajratmalardan ammiak va ammoniy ionlarini, paradontoz va kariyesga moyillikni baholashda so‘lakdagi kislota-ishqor muvozanatini, antioksidant aktivligi yordamida oksidlanish stressini aniqlash, homiladorlik garmoni – inson xorionik gonadotropinini (IXG) immunoferment tahlil usuliga ko‘ra siydikda aniqlash tashkil etadi.

Tadqiqotning usullari: dissertatsiya ishini bajarishda yuqori sezgirlik va natijalarni takroran aniqlashga imkon beradigan zamonaviy fizik-kimyoviy, (UV-Vis va FTIR-spektroskopiya), elektrokimyoviy (potensiometriya, tsiklik voltamperometriya), immunoferment tahlil va statistik usullardan foydalanilgan.

Tadqiqotning ilmiy yangiligi quyidagilardan iborat:

ammoniy ionlari va ammiakni tezkor spektrofotometrik usulda aniqlash metodikasi ishlab chiqilgan;

konsentratsiyasi 0,1-100 ppm oralig‘ida bo‘lgan ammiakning miqdorini suvli muhitda va inson nafas chiqargandagi havo tarkibidan potensiomertik aniqlash uchun yuqori sezgirlikka ega bo‘lgan sensor ishlab chiqarilgan;

xingidronli elektrod asosida ishlaydigan datchik ishlab chiqilgan va uning yordami bilan so‘lakning pH qiymati hamda IQ-Furye spektri aniqlangan;

sog‘lom va surunkali buyrak kasalligiga chalingan bemorlarda voltamperometrik usulda qon zardobi va siydikning antioksidant faolligi aniqlangan.

Tadqiqotning amaliy natijalari quyidagilardan iborat:

tahlil qilish uchun ishlab chiqilgan sensor inson nafasi orqali chiqargan havosi tarkibidagi ammiak va tabiiy suvlardagi NH_4^+ ionlari konsentratsiyasini aniqlashdagi imkoniyatlari ochib berilgan;

turli ob’yektlarda ammiak va ammoniy ionlarini tezkor aniqlash uchun vizual kolorimetrik usul taklif qilindi;

biologik ob’yektlarning antioksidant faolligi elektrokimyoviy datchiklar yordamida baholangan.

Tadqiqot natijalarining ishonchliligi. Olingan natijalar, ularning dalillari va keyingi xulosalar nazariy hisob-kitoblar bilan asoslandi hamda kimyoviy, fizik-kimyoviy (optik spektroskopiya, potensiomertriya, siklik va impulsli-differensial voltamperometriya) usullari bilan eksperimental ravishda tasdiqlandi. Olingan natijalarning ishonchliligi, statistik dasturlardan foydalangan holda mos keladigan

matematik modellar va tahlilning regression tenglamalari bilan isbot qilinib, tahlil natijalari va kimyoviy tajribalarni baholash umumiy qabul qilingan: “Qo‘shish usuli”, “kiritildi-topildi”, t-Styudent va F-Fisher mezonlari modellarda hamda etalon namunalarda ishlab chiqildi va tasdiqlandi.

Tadqiqot natijalarining ilmiy va amaliy ahamiyati.

Tadqiqot natijalarining ilmiy ahamiyati turli biologik ob’yektlardan biomarkerlarni aniqlashning fotometriya, potensimetriya va voltamperometriyaga asoslangan usullarini ishlab chiqilganligi, analitik kimyo usullarining qo‘llanilish chegarasining oshganligi hamda turli kasalliklarni noinvaziv tashxislah usullarini ishlab chiqilganligi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining amaliy ahamiyati shundaki, *Helicobacter pylori* infeksiyasini tashxislash uchun nafas chiqarilgan havo tarkibidagi biomarkerlar aniqlandi; inson so‘lagidagi kislota-ishqor muvozanatining o‘zgarishi bilan tishlarning paradontoz va kariyesga moyilligi baholandi; antioksidant miqdoridan foydalangan holda oksidlovchi stressi aniqlandi. Kasalliklarni tashxislash uchun ishlatiladigan ishlab chiqilgan asboblarni analitik kimyo va atrof-muhit monitoringida keng qo‘llanilishi mumkin.

Tadqiqot natijalarining joriy qilinishi. Ba’zi klinik ahamiyatga ega biomarkerlarni noinvaziv nazorat usullari va qurilmalarini ishlab chiqish bo‘yicha olingan ilmiy natijalar asosida:

ammiak/ammoniy ionlarini mikrokonstratsiyasini aniqlashning takomillashtirilgan spektrofotometrik usuli “Muborak gazni qayta ishlash zavodi” AJ Atrof-muhitni muhofaza qilish va tabiiy resurslardan oqilona foydalanish boshqarmasi laboratoriyasi amaliyotiga joriy etilgan (“Muborak gazni qayta ishlash zavodi” AJ ning 2022-yil 27-oktyabrdagi 860/GK-10-son ma’lumotnomasi). Natijada, suv va havo tarkibidan ammiak/ammoniy ionlarini tezkor aniqlash imkoniyati yaratilgan;

oqim-in’jektsiyali pH-metrik datchik yordamida so‘lakdan namuna olish va tahlil qilish usullari “Direct Kvant Technology” klinik diagnostik laboratoriyasi amaliyotiga joriy etilgan (“Direct Kvant Technology” MChJning 2022-yil 2-avgustdagi ma’lumotnomasi). Natijada, kariyes, paradontoz va boshqa stomatologik kasalliklarning diagnostikasini amalga oshirish imkonini bergan.

Tadqiqot natijalarining aprobotsiyasi. Mazkur tadqiqot natijalari 9 ta, jumladan 7 ta xalqoro va 2 ta respublika ilmiy-amaliy anjumanlarda ma’ruza qilingan va muhokamadan o‘tkazilgan.

Tadqiqot natijalarining e’lon qilinganligi. Dissertatsiya mavzusi bo‘yicha jami 24 ta ilmiy ish chop etilgan, shulardan, O‘zbekiston Respublikasi Oliy attestatsiya komissiyasining dissertatsiyalar asosiy ilmiy natijalarini chop etish tavsiya etilgan ilmiy nashrlarda 14 ta xorijiy jurnallarda nashr etilgan.

Dissertatsiyaning tuzilishi va hajmi. Dissertatsiya ishi kirish, 5 ta bob, xulosa, foydalanilgan adabiyotlar ro‘yxati va ilovalardan iborat. Dissertatsiyaning hajmi 111 betni tashkil etadi.

DISSERTATSIYANING ASOSIY MAZMUNI

Dissertatsiyaning **kirish qismida**, tadqiqotning muhimligi, dolzarbligi, maqsadi va vazifalarini asoslash; tadqiqot ob'ekti, predmeti va usullarini aniqlashtirish; dissertatsiya mavzusining O'zbekiston Respublikasi fan va texnologiyalar rivojining ustuvor yo'nalishlariga muvofiqligi ko'rsatilib o'tilgan; olingan natijalarning ilmiy va amaliy yangiligi, ularning ishonchliligi, shuningdek amaliyotga joriy etilishi, chop etilgan ishlar va dissertatsiya tuzilmasi to'g'risidagi ma'lumotlar ochib berildi.

Dissertatsiyaning **birinchi** bobi "Klinik ahamiyatga ega bo'lgan biomarkerlarni noinvaziv nazorat qilishning hozirgi holati va tendentsiyalari" qismida insonning ajratmalarida (emaniatsiyasida) biomarkerlarni aniqlash usullari sohasidagi jahon tadqiqotchi olimlarining ilmiy izlanishlari va ilmiy adabiyotlari analitik tahlil qilinadi. Xulosa qismida esa, tahliliy hal qilinishi kerak bo'lgan vazifalar aniqlashtirilgan, o'rganish ob'ektlari va mavzusi ko'rsatilgan.

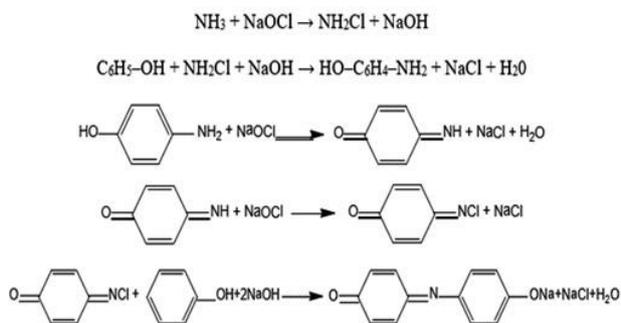
Ikkinchi "Xom ashyo, uskunalar va tadqiqot usullari" bobida foydalanilgan xom ashyo, reaktivlar, uskunalar, tadqiqot usullari tavsiflangan. Ishda UV-Vis va FTIR spektroskopiyasi, potensiometriya, tsiklik voltamperometriya, ferment bilan bog'liq immunosorbent tahlili va statistik tahlil usullari qo'llanildi. Ilmiy ish davomida FTIR spektrometr IRAffinity-1S, UV-Vis spektrometr, modernizatsiya qilingan universal dasturiy ta'minot PU-1, potensiostat-galvanostat R-40X kabi uskunalar ishlatildi. Tajribalar davomida umumiy laboratoriya uskunalaridan ham foydalanilgan.

Uchinchi bob: "Nafas chiqarilgandagi havo tarkibidagi biomarker *Helicobacter pylori* bakteriyasi"ni noinvaziv usulda aniqlash uchun atrof-muhit ob'ektlarida hamda nafas chiqarilgandagi havo tarkibidagi, shu bilan birga mochevinaning fermentativ gidrolizining mahsuloti sifatida ajralib chiqadigan ammiak/ammoniy ionlarini aniqlashning spektrofotometrik va potensiometrik tahlil usullariga bag'ishlangan. Shu maqsadda ammiak/ammoniy ionlarini Bertlo usuli bo'yicha spektrofotometrik aniqlash shartlari o'rganildi va optimallashtirildi. Bu usul ammoniy ionlarini aniqlashning eng sezgir usuli bo'lib qolmoqda hamda fenol (yoki uning hosilalari) natriy gipoxlorit va ammiak ishtirokida indofenol kompleksini hosil qilishi o'rganilgan ($L_{\max} = 660 \text{ nm}$, $\epsilon = 10^4 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{sm}^{-1}$). Reaksiya natriy nitroprussid $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$ yordamida katalizlanib, jarayonning sxemasi 1-rasm va indofenol kompleksining hosil bo'lish spektri 2-rasmlarda keltirilgan.

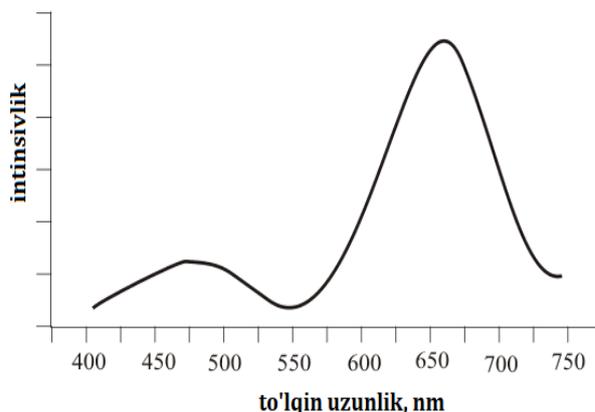
Adabiyotdan olinadigan kompleksni shakllantirish shartlari to'g'risidagi ma'lumotlar juda ziddiyatli bo'lib qolmoqda. Biroq, barcha manbalarda tarkibiy qismlarning konsentratsiyasi, pH muhiti, harorat, rang hosil qilish vaqti hal qiluvchi omillar hisoblanadi. Shuning uchun ham indofenol kompleksini shakllantirish jarayonini aniqlovchi faktorlarni hisobga olgan holda optimallashtirish bo'yicha tajribalar o'tkazildi. Shu bilan birga, natriy salitsilat fenolga nisbatan ancha kam toksiklikka ega bo'lgan tarkibiy qism ekanligi inobatga olindi.

Optik zichlikning tarkibiy qismlarning konsentratsiyasiga bog'liqligi 3-rasmda va reaksiya sharoitiga bog'liqligi 4-rasmda ko'rsatib o'tilgan.

Natriy gipoxloritning konsentratsiyasi 0,05 M dan oshishi bilan indofenol kompleksining buzilishi kuzatiladi. Indofenol kompleksining samarali shakllanishi pH>11 dan yuqori bo'lganida sodir bo'ladi hamda harorat 40°C ga yetganidan boshlab, optik zichlikning maksimal qiymati deyarli o'zgarmasligi aniqlandi.

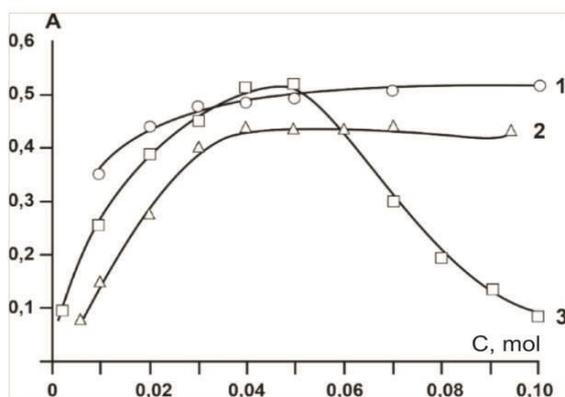


1-rasm. Indofenol kompleksining hosil bo'lish sxemasi

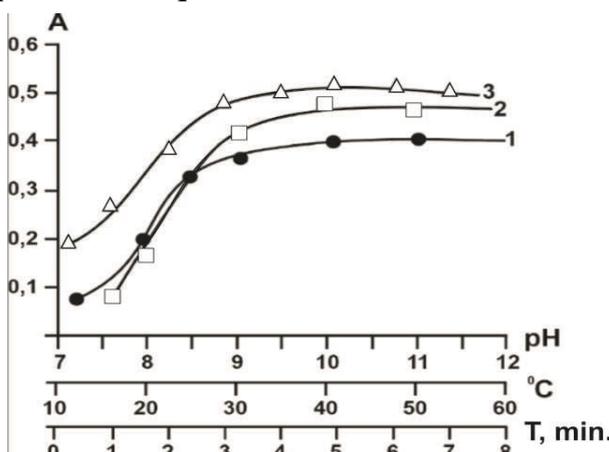


2-rasm. Indofenol kompleksining spektri

Shunday qilib, o'zgartirilgan Bertlo usuli yordamida ammoniy ionlarini spektrofotometrik aniqlash uchun optimal sharoitlar quyidagicha ekanligi aniqlandi: natriy salitsilat - 0,05 M; natriy nitroprussid - 0,04 M; natriy gipoxlorit - 0,05 M; pH>11; harorat - 0°C~ 40°C; vaqt - 5 daqiqani tashkil qildi.



3-rasm. Optik zichlikning tarkibiy qismlar konsentratsiyasiga bog'liqligi: 1-natriy salitsilat 2-natriy nitroprussid; 3-natriy gipoxlorit



4-rasm. Optik zichlikning reaksiya o'tkazish sharoitlariga bog'liqligi: 1-pH, 2-harorat, 3-vaqt

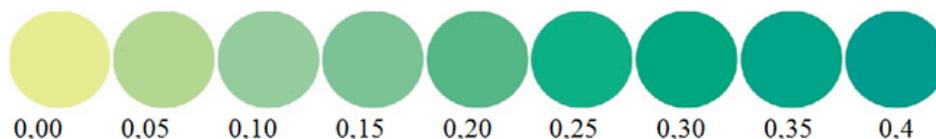
Ishlab chiqilgan usul modellarda va real holatda sinovdan o'tkazilib, ammiak /ammoniy ionlarini o'z ichiga olgan ob'ektlarda sinab ko'rildi. 1-jadvalda optik zichlikning NH₄⁺ ionlarining konsentratsiyasiga gradiatsiyalanish bog'liqligi va ularning namunaviy eritmalaridagi natijalari "kiritildi-topildi" usuli bilan aniqlanib keltirilgan.

Berilgan ma'lumotlardan kelib chiqadiki, ishlab chiqilgan usulda NH₄⁺ ionlarining aniqlangan konsentratsiyalari 0,05 dan 0,10 mg/l gacha bo'lgan oraliqni tashkil etadi. Aniqlanish chegarasi 0,1 mg/l (3s) ni, tahlil vaqti esa - 10 daqiqani tashkil qildi.

Suvli eritmalarda ammoniy ionlarini aniqlash natijalari (n = 3, P = 0,95)

Namuna	Kiritildi NH ₄ ⁺ ,mg/l	Topildi NH ₄ ⁺ ,mg/l	s	S _r , %
№1	0	<ΠO	-	-
	0,50	0,50 ± 0,04	0,03	6,4
	1,50	1,51 ± 0,03	0,03	1,8
№2	0	0,23 ± 0,03	0,02	11,1
	0,50	0,70 ± 0,05	0,04	5,70
	1,50	1,65 ± 0,06	0,05	3,0
№3	0	0,16 ± 0,02	0,02	10,8
	0,50	0,65 ± 0,04	0,03	4,6
	1,50	1,61 ± 0,04	0,03	1,9
№4	0	<ΠO	-	-
	0,50	0,51 ± 0,04	0,03	2,0
	1,50	1,50 ± 0,02	0,01	6,0
№5	0	<ΠO	-	-
	0,50	0,51 ± 0,04	0,03	6,0
	1,50	1,49 ± 0,04	0,03	2,0

Olingan natijalar ammoniy ionlarini aniqlashda sinov usuli uchun rangli shkalani ishlab chiqishga imkon berdi (5-rasm).



5-rasm. Suvli muhitda ammoniy ionlarini aniqlash uchun rangli shkala(mg/l)

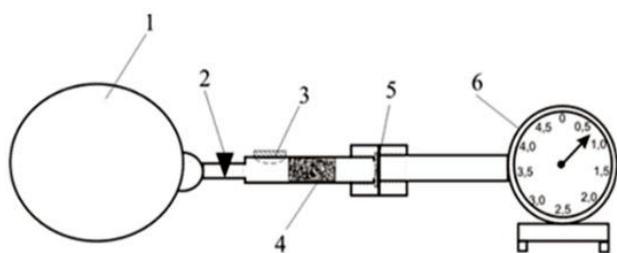
Olingan natijalar, ya'ni ammoniy ionlarini 0,05-0,10 mg/l darajadagi miqdorini ko'rsatish imkoniyati sezuvchanlik nuqtai nazaridan juda katta. Ishlab chiqilgan spektrofotometrik va sinov usullari nafas chiqarilgan havodagi ammiakning mikrokonsentratsiyasini aniqlashda hamda oshqozon-ichak traktining og'ir kasalliklarini keltirib chiqaruvchi *Helicobacter pylori* bakterial infeksiyasining noinvaziv diagnostikasida foydalanish imkonini berdi.

Bakterial infeksiyani aniqlash usuli *Helicobacter pylori* bakteriyasi tomonidan ishlab chiqarilgan ureaza gidrolitik sinfiga tegishli fermentning o'ziga xos ta'siri tufayli aniqlanadigan "ureaza testi"ga asoslanadi.



Nafas chiqarilgandagi havoda ammiak va karbonat anhidrid gazining konsentratsiyasi doimo o'zgarib turadi. Bizning usulimizda nafas chiqarilgandagi havoni tahlil qilish ikki marta: avval och qoringa va keyingisi bemor karbamidning maxsus eritmasini ichgandan keyin amalga oshirildi.

Shunday qilib, *Helicobacter pylori* bakteriyasining ureaza faolligi baholandi va bu bakteriyaning mavjudligi aniqlandi. Shu bilan birga, ishlab chiqilgan moslama yordamida ammiakni nafas chiqarilgandagi havodagi miqdorini ko'rsatish uchun sinov usuli qo'llanildi, uning sxemasi esa 6-rasmda keltirilgan.



6-rasm. Tahlil uchun yaratilgan qurilmaning diagrammasi

1-nafas chiqarilgandagi havo solingan elastik idish; 2-nafas chiqarilgandagi havoni yetkazib berish tezligini boshqaruvchi kran; 3-ammoniyli eritmani uzatib turuvchi klapan; 4-KOH li patron; 5-0,01 N li H₂SO₄ bilan namlangan membranali filtri; 6-GSB-400 tipidagi barabanli gaz hisoblagich.

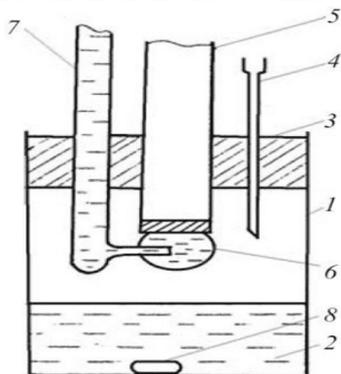
Moslamaning ishlash jarayoni quyidagicha: diametri 25 mm boʻlgan va 0,01 N li H₂SO₄ eritmasi bilan namlangan zich filtr qogʻozdan yasalgan membrana (5) ikkita naycha orasiga mahkamlangan. Ulardan birinchisi kirish naychasi-kristallsimon KOH patronini (4) va ~2,5-3,0 litr hajmli nafas chiqarilgandagi havo namunasi bilan toʻldirilgan elastik sigʻimli idishga (1) ulangan. Ikkinchi naychaning uchi esa - chiqish-gazini hisoblagichi GSB-400 asbobiga ulangan(6).

Ammiak va ammoniy ionlarini potensiometrlik aniqlash usullari. Buning uchun ammiak/ammoniy ionlarini aniqlashning elektrokimyoviy usullaridan - ionometrik usulidan foydalanildi, hamda NH₄⁺ ionlariga sezgir boʻlgan ionselektiv elektrodlardan foydalanildi. Bunday usullarning asosiy kamchiligi elektrodning kam sezgirligi va ularning past selektivligi boʻlib, ayniqsa bu jarayon H⁺, Na⁺, K⁺ kationlari mavjud boʻlganda kuchli namoyon boʻladi. Selektivlik va sezgirlik muammosini “gaz-boʻshliqli elektrod” qonuni asosida ishlaydigan elektrokimyoviy sensor hal qilishi mumkin. Uning sxematik diagrammasi esa 7-rasmda keltirilgan.

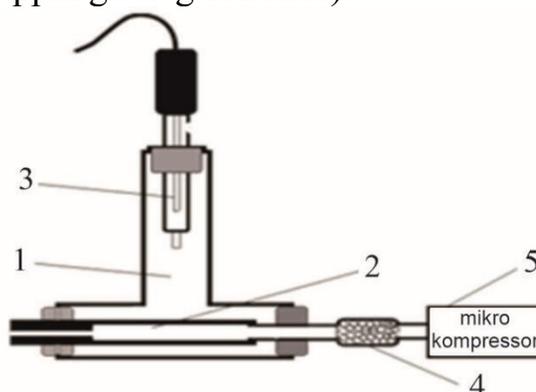
Shu bilan birga, ionometrik usulning quyidagi kamchiliklari: konstruksiyaning murakkabligi, analitik signalning yetarli darajada sezilmasligi, indikator elektrodiga yaqin elektrolitning bir tomchisini tomizilishini takrorlanishining qiyinligi, gazsimon ammiakning massa almashinuvi bilan bogʻliq inersiyasi kabilar uchuvchi organik moddalar mavjudligida koʻproq kuzatiladi.

Suv va havo muhitida ammiakni potensiometrlik aniqlash uchun elektrokimyoviy yacheykaning tubdan yangi konstruksiyasi taklif etildi (8-rasm). Konstruksiyaning oʻziga xos xususiyati shundaki pH-sezgir element sifatida – toʻyingan xingidron eritmasi bilan singdirilgan yupqa devorli quvurli grafit elektrodidan foydalanishdir. Shu bilan birga, elektrodning goʻvaklarida joylashgan xingidronning oʻzi elektrod elektroliti vazifasini bajaradi. Uning hajmi esa maʼlum sensorlarda tasvirlanganidek, shisha-gaz gʻovakli pH elektrod yuzasida oʻlchanadigan tomchi bilan solishtirganda juda kichikdir. Natijada tizimning sezgirligi va ishlab chiqaruvchanligi oshadi, uning passivligi esa kamayadi. Ammoniy ionlarining eritmadan ammiak gaziga aylanishi kristallsimon NaOH yoki kalsiy oksidi bilan toʻldirilgan idishda sodir boʻladi. Tahlil qilinayotgan namuna mikrokompressor tomonidan yaratilgan havo oqimi bilan kiritilib turiladi. Bu esa sensorning tuzilishini soddalashtiradi, tahlil qilinayotgan eritmani aralashtirish kerak emasligi, hamda indikator elektrodiga elektrolit eritmasining bir tomchisini oʻlchanishi kerakligi kabi muammolarni hal qildi. Analitik signal diagrammasi esa registrda qayd etib boriladi.

Sensor oldindan ammoniy xloridning 10^{-6} - 10^{-2} M li diapazondagi standart eritmaları bilan kalibrlab olinadi (0,01 -170 ppm ga to‘g‘ri keladi).



7-rasm. Gazni sezuvchi pH elektrodli yacheykaning tuzilishi (1– shisha idish; 2-tahlil qilinadigan eritma; 3-rezinali tiqin; 4-tibbiyot ignasi; 5-pH - sezgir elektrod; 6-elektrolit tomchisi; 7-taqqoslash elektrodi ko‘prigi; 8-magnitli aralashtirgich)



8-rasm. Ammiakni (ammoniy ionlarini) aniqlovchi sensor sxemasi (1-xingidronli eritma bilan to‘ldirilgan idishli-korpus; 2-g‘ovak grafitli materialdan yasalgan yupqa devorli indikatorli elektrod; 3-taqqoslash Ag/AgCl elektrodi; 4-gazni o‘zgartirgich; 5- mikrokompressor)

Eritmada NH_4^+ ionlarining miqdori 0,017 dan 170 mg/l gacha bo‘lgan oraliqda bo‘lib, (10^{-6} - 10^{-2} M ga to‘g‘ri keladi) bunda nisbiy standart pasayishi 0,122 dan oshmasligi (12,2%) ko‘rinadi (2-jadval). Aniqlashning to‘g‘riligini Student mezoni bo‘yicha baholash, tizimli xatoning ahamiyatsiz ekanligini ko‘rsatdi. Shu bilan birga, 0,17–17 mg/l dagi miqdoriy oraliq (10^{-5} - 10^{-3} M) 0,17–17 ppm ga to‘g‘ri keladi va bundan nisbiy standartning og‘ishi eng kichik va 8% dan oshmaydi degan xulosa kelindi.

2-jadval

Suvdagi NH_4^+ ionlarini aniqlashning takrorlanuvchanligini baholash

Tarkib oralig‘i, mg/l (NH_3 da hisoblanganda)	Qo‘shimchaning miqdori		O‘lchovlar soni, n	S_r
	kiritildi	topildi		
0,017 – 0,17	0,034	0,030	8	0,122
0,17 – 1,70	0,85	0,90	10	0,078
1,7 – 17	4,25	4,20	10	0,055
17 - 170	42,5	39,8	8	0,082

Sensorning yuqori sezuvchanligi va ammiakni o‘lchashning aniqligi, ureaza testi yordamida bajarildi. *Helicobacter pilory* bakteriyasini noinvaziv diagnostika qilish uchun esa nafas chiqarilgan havodagi ammiakni aniqlashda ushbu sensordan foydalanishga imkoniyat yaratdi.

Buning uchun 15 kishidan iborat bemorlarda ureaza testi o‘tkazildi. O‘lchovlar ikki marta: 100 ml 1% li karbamid eritmasini ichishdan oldin va keyin tekshirilib borildi. Nafas chiqarilgan havo ikki litrgacha bo‘lgan elastik idishlarga yig‘ilib, bemor karbamid eritmasini ichganidan keyin takroriy o‘lchash jarayoni

20 daqiqadan so'ng amalga oshirildi. Natijada esa *Helicobacter pylori* mavjudligini sifatli baholash imkoniyati yaratildi.

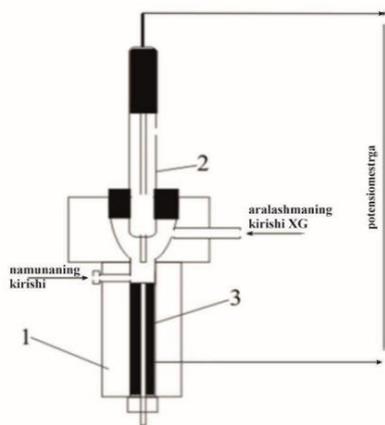
Sog'lom odamlar uchun olingan natijalarni hisobga olgan holda (mos referens zonasi) *Helicobacter pylori* mavjudligi avvalgi natijalar bilan taqqoslaganda, dastlabki olingan qiymatlardan oshib ketdi.

Ko'pchilik tekshiriluvchilarda nafas chiqarilgandagi havo tarkibida ammiakning dastlabki miqdori 0,2-1,2 ppm oralig'ida edi. Ureaza testidan so'ng ammiakning miqdori 1,7-2,0 ppm gacha ko'tarildi va faqat ikki holatda bu ko'rsatkich 10-14 ppm ni tashkil etdi, bu esa bakteriyaning mavjudligini aniq ko'rsatdi. Shunday qilib, tavsiya etilgan sensordan tibbiy biologik tadqiqotlarda *Helicobacter pylori* bakteriyasini noinvaziv skrining qilish maqsadida foydalanish mumkinligini ko'rsatdi.

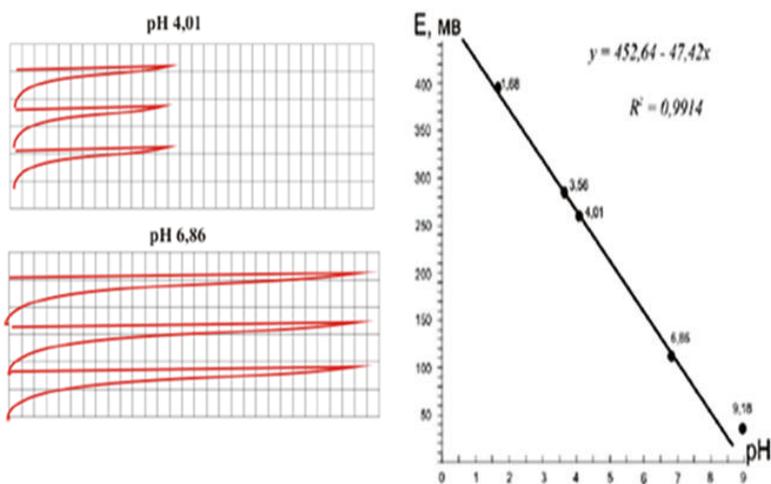
To'rtinchi bobda tishlarning kariyesga moyilligini aniqlash uchun so'lak (salivodiagnostika) bo'yicha tadqiqot natijalari keltirilgan. Bunday holda, so'lakning pH qiymatining o'zgarishi nafaqat og'iz bo'shlig'ining sog'lig'ini korsatadi, balki butun tana tizimini aks ettiruvchi biomarker sifatida xizmat qiladi. So'lakning pH qiymatini o'lchash uchun quvurli uglerod elektrodli oqim-in'jeksiya tipidagi potensiometrlik datchik ishlab chiqilgan (9-rasm).

pH-metrlilik datchik organik shisha tarkibli korpusdan iborat bo'lib, diametri 1 mm va uzunligi 30 mm bo'lgan kapillyar kanalli naychali o'lchash elektrodini o'z ichiga oladi. Taqqoslash Ag/AgCl li elektrod xingidron bilan to'yintirilgan 0,1 M li KCl elektrolitning pH muhitini o'lchash uchun kerak bo'ladi. Qurilmada o'lchash moslamasi bilan birlashtirilgan mikrokamera bo'lib, pH muhiti aniqlanishi kerak bo'ladigan eritma kirish kanali orqali peristaltik nasos bilan uzatilib turiladi va bu eritma kirish klapani bilan boshqariladi. Datchik standart bufer eritmalar bilan oldindan kalibrlab olingan (10-rasm).

Bu jarayonda 30 nafar ko'ngillilar so'lagining pH muhiti aniqlandi. Tahlil qilish uchun to'plangan so'lakni sentrifugalashdan keyin olingan shaffof suyuqligidan foydalanildi. Tajriba natijalari 3-jadvalda keltirilgan.



9-rasm. pH ni o'lchash uchun oqim-in'jeksiyalik datchik qurilmasining sxemasi



10-rasm. Analitik signalni yozib olish va oqim-in'jeksion xingidronlik elektrodning kalibrlash grafigi

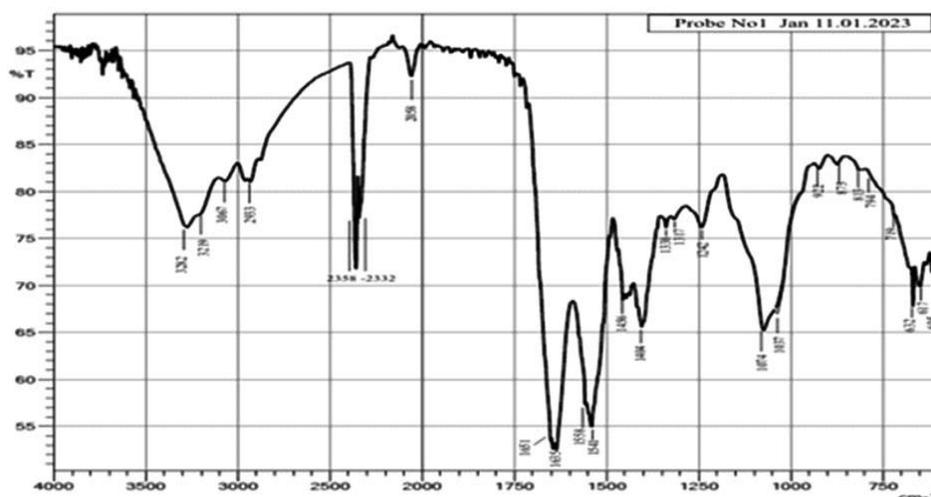
XG elektrodli oqim-in'jeksiyalı datchik yordamida sog'lom odamlar so'lagining pH qiymatini aniqlash natijalari

№	pH	№	pH	№	pH
1.	6,82	11.	6,24	21.	7,00
2.	7,21	12.	7,14	22.	6,86
3.	6,68	13.	7,11	23.	7,62
4.	7,05	14.	6,86	24.	7,32
5.	6,15	15.	7,48	25.	5,92
6.	6,96	16.	6,92	26.	7,16
7.	7,18	17.	6,32	27.	7,20
8.	7,17	18.	7,28	28.	7,22
9.	6,87	19.	6,54	29.	7,04
10.	7,02	20.	7,18	30.	6,98
pH_{o'rtacha}=6,95; pH_{median.}=7,03					

Olingan natijalarni tahlil qilish quyidagi xulosalarga olib keladi: tekshirilgan 17 nafar ko'ngillida, ya'ni ~ 57% da pH>7 ga teng, bu odatda stomatologiyada qabul qilingan me'yorga mos keladi; 9 kishida so'lak pH<7 ga teng, lekin bu kritik qiymatga yetib bormaydi, bu esa tekshirilganlarning 30% ni tashkil qiladi; 4 nafar ko'ngilli uchun (13%) so'lakning pH muhiti "kritik" zonada, ya'ni pH<6,3-6,2 dan kichik. Bir nafar 20 yoshli briket taqqan qiz uchun so'lakning pH qiymati 5,92 ni tashkil etdi, bu vaziyat esa: briketlar va ularning tarkibi og'izda sodir bo'ladigan kislotali-ishqoriy jarayonlarga qanchalik ta'sir qilishi mumkinligini o'ylashga majbur qiladi.

Ushbu tadqiqotlarda bir qator kasalliklarni, shu jumladan kariyesni kuzatishga imkon beradigan muhim funksional guruhlarni aniqlash uchun FTIR spektroskopiyasidan foydalangan holda so'lakning tarkibini aniqlashga qiziqish uyg'otdi.

11-rasmda so'lakning IQ spektri va 4-jadvalda ushbu spektrni tekshirish natijalari ko'rsatilgan.



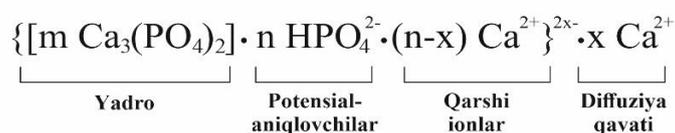
11-rasm. Sog'lom odam so'lagining IQ-Furye spektri

4-jadval

So‘lakning IQ spektrlari yutilishining asosiy tarkibiy ko‘rsatkichlari (sm⁻¹)

Ushbu izlanishda	Tebranish turi	Interpretatsiya	Adabiyotlar ma'lumotlari
3282	νNH	amid A	3270-3285
3067	R-NH_2 ($\nu_{\text{as}}\text{NH}$, $\nu_{\text{s}}\text{NH}$) R-NH (νNH)	birlamchi va ikkilamchi aminlar	3067
2933	νCH_2 , νCH_3	og‘iz shilliq qavati lipidlarining metilen guruhlari	2933, 2875
2358-2332	$\nu_{\text{as}} \text{O}=\text{C}=\text{O}$	atmosferadagi karbonat angidrid	2349
2058	νSCN^-	tiotsianatlar	2058
1651	νCO	amid I	1645
1541	δNH , νCN	amid II	1544-1548
1456-1404	δCH_2 , δCH_3	aminokislota, lipid va oqsillarning metilen guruhlari	1450, 1395-1410
1338-1317	δNH , νCN	amid III	1330—1300
1242	$\nu_{\text{as}}\text{PO}$	fosfolipidlar	1244
1074	νCN , $\nu_{\text{s}}\text{PO}_2^-$	DNK, RNK	1078
1037	νCC , νCO , $\nu\text{CH}_2\text{OH}$	shakar, glikolizidli oqsillar	950—1080
922 - 794	$\nu -\text{C}-\text{O}-\text{C}-$	glikozlangan oqsillarning alifatik birikmalari	920-800
794-719	$\nu\text{PO}(\text{P}_2\text{O}_7)$	oligo va polisaxaridlar, fosfatazalar, fosfolipidlar	735—775
632-617	δOCN	amid IV	625—765
632-813	δNH	amid V	640—800
605	δCO	amid VI	535—605

So‘lakning muhim funksiyalaridan biri bu Ca^{+2} kationlari va HPO_4^{-4} anionlarining tish to‘qimalariga minerallashtiruvchi ta’siri hisoblanib, bunga sabab qilib so‘lakning ionlar bilan to‘yinganligini ko‘rsatish mumkin. Yadroning mitsellasi $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ni diffuzion qavatni tashkil etuvchi: potensialni ta’minlovchi ionlar HPO_4^{2-} va qarama qarshi zaryadli ionlar Ca^{2+} ionlaridan iborat.

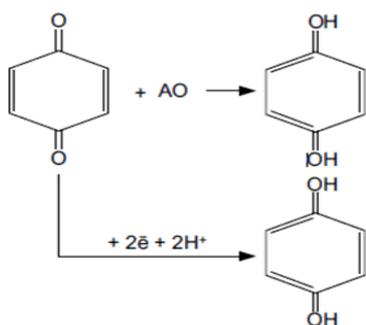


So‘lakdagi kalsiy fosfatning mitsellyar tuzilishi haqidagi g‘oyalar og‘iz gomeostazini saqlab turuvchi mexanizmini taklif qiladi. Mexanizm quyidagicha: tish emali – so‘lak – kariyesning paydo bo‘lishi – tish toshining cho‘kishi bo‘lib, bu zanjir so‘lak funksiyasini va og‘iz bo‘shlig‘ini sog‘lom saqlashga qaratilgan profilaktika choralarini amalga oshirish imkoniyatini beradi.

Dissertatsiyaning **beshinchi** bobida siydik — tananing fiziologik holatini noinvaziv diagnostika qilish ob’yekti sifatida o‘rganildi. Shu bilan birga buyrak

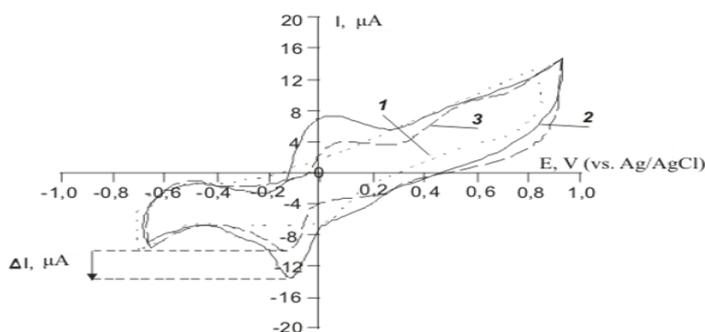
kasalligi bilan ogʻrigan bemorlarning siydigining antioksidant faolligining mos referens zonasi nazorat terapiyasi sifatida aniqlanib, davolanish jarayonini kuzatish sifatida koʻrib chiqildi.

Bu yerda elektrokimyoviy qaytariladigan xinon-gidroxinon juftligining mediatoridan foydalangan holda biologik muhitning antioksidant faoligi (AOF) darajasini aniqlashning elektrokimyoviy usuli taklif etildi. Usulning mohiyati shundaki p-benzoxinon oksidlovchisining biologik muhit bilan oʻzaro taʼsiridan soʻng uning qoldiq konsentratsiyasi voltamperometrik usulda aniqlandi (12 va 13-rasmlar).



12-rasm.

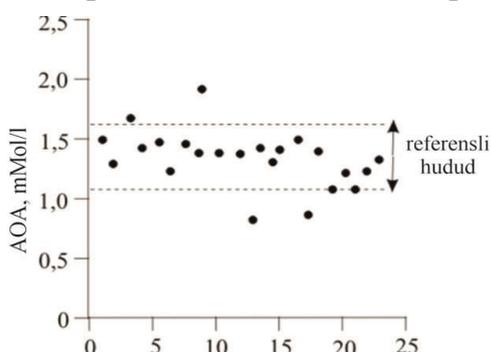
p-benzoxinonning biologik muhit bilan oʻzaro taʼsiri sxemasi va p-benzoxinonning qoldiq konsentratsiyasini aniqlash



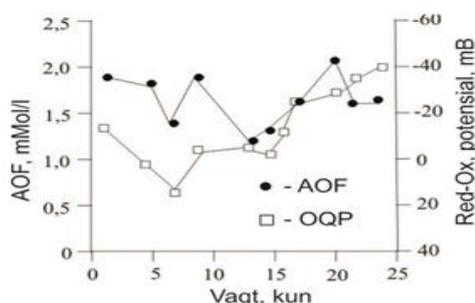
13-rasm. p-benzoxinon/gidroxinon aralashmalari SVA si:

1: fon eritma (fosfatli bufer pH=7,4 +0,15 M li NaCl); 2: 0,01 M li p-benzoxinon+ fon eritma; 3: sogʻlom donordan olingan qon zardobi bilan 0,01 M li p-benzoxinon+1 ml li fon eritma

Antioksidantning faollik referens zonasini aniqlash uchun 23 nafar sogʻlom donorlarning qon zardobi va siydik namunalari oʻrganildi. AOF darajasi standart eritma sifatida ishlatiladigan digidrokversetinga nisbatan $0,82 \div 1,88$ mmol/l oraligʻida ekanligi aniqlandi (14-rasm), hamda terapiyaning samaradorligini aniqlash uchun, qon zardobining oʻzi va siydik namunalarning oksidlanish qaytarilish potensialini oʻlchash orqali kuzatish mumkinligi koʻrsatildi (15-rasm).



14-rasm. 23 nafar sogʻlom donorlarning qon zardobidagi antioksidant faoligi

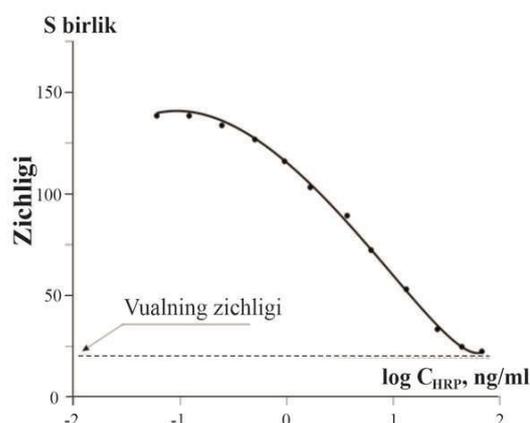


15-rasm. Buyrak kasalligi boʻlgan bemorlarning siydik namunalarda antioksidant faoligi va oksidlanish-qaytarilish potensialining oʻzgarish dinamikasi

Xuddi shu bobda tahlil natijalarini fotografik ro'yxatdan o'tkazish yordamida homiladorlikda inson xorionik gonadotropiniga (IXG) xos markerini aniqlashning immunofermentli tahlil usuli natijalari tasvirlangan. Bunda ELISA usuli uchun "Vektor" va "Dia-Plus" ishlab chiqaruvchi kompaniyalarning diagnostika to'plamlari ishlatildi. IFT usulida β - xorionik gonadotropinini aniqlash "sendvich" tamoyiliga asoslanadi. Buning uchun β - IXG antitelolari bilan qoplangan immunosorbent granulari, tahlil qilinadigan namuna, peroksidaza konyugati va β - IXG antitelo eritmasi bilan birga inkubatsiya qilinadi. Peroksidazaning qoldiq faolligi fotografik material yordamida "quruq" reaktiv sifatida ishlatilib tasvirga olindi. Substrat aralashmasida fenidon-gidroxinon ishlab chiqaruvchisining standart eritmasi, hamda 0,01 M li vodorod peroksid eritmasi mavjud bo'lib, peroksidazaning qoldiq faolligiga teskari bo'lgan fotomaterialdagi dog'larning qorayish intensivligi MF-2 mikrofotometri yordamida aniqlandi.

16-rasmda intensivlikning peroksidaza konsentratsiyasi o'zgarishiga bog'liqlik fotogrammasi berilgan va unga asosan kalibrlash grafigi tuzilgan.

Peroksidazaning konsentratsiyasi	Fotogramma	Qorayish intensivligi, S
280.0		36±4
140.0		55±3
70.0		71±2
35.0		93±3
17.5		103±4
9.0		118±6
4.5		128±6
2.2		131±6
1.1		134±8
0.6		138±8
Fon		141±8
Zichlik		23±3



16-rasm. Peroksidazani aniqlash uchun kalibrlash grafigi

Peroksidazaning konsentratsiyasi o'zgarishi bilan fotomaterialning qorayish intensivligi

Sog'lom homilador ayollardagi qon zardobida β -xorionik gonadotropinini aniqlash natijalari 5-jadvalda ko'rsatilgan.

5-jadval

Sog'lom homilador ayollar qon zardobida β – IXG ni aniqlash natijalari

№	Yoshi	Trimestr	Homiladorlik, hafta	IXG darajasi mME/ml	
				Tetrametilbenzidin bilan spektrofotometrik ro'yxatga olish	Fotografik qayd qilish
1.	22	I trimestr 36,3±3,6 s _r = 0.113	7 - 8	18,5	20,0
2.	25		8 - 9	20	25,0
3.	24		9 - 10	24,5	26,0
4.	21		9 - 10	22,5	32,0

		davomi			
5.	19	10 - 11	42,5	58,0	
6.	19	12 - 13	21,5	30,0	
7.	26	12 -13	32,5	35,0	
8.	27	12 -13	34,6	46,0	
9.	20	13 – 14	34,0	50,0	
10.	26	13 – 14	30,5	40,0	
11.	18	13 - 14	32,5	37,0	
12.	18	II trimestr 27,6±4,5 s _r =0.119	17 -18	25,0	30,0
13.	24		17 -18	29,0	30,0
14.	38		17 -18	28,5	38,0
15.	34		18 - 19	33,4	45,0
16.	26		19 - 20	10,0	10,0
17.	26		23 -24	13,5	20,0
18.	21	23 -24	12,5	20,0	
19.	36	III trimestr 12,2±3,6 s _r = 0.081	32	3,0	5,0
20.	20		33 -34	3,8	6,0
21.	23		35 – 36	18,5	22,0
22.	29		35 -36	16,8	20,
23.	28		36	6,0	8,0

17-rasmda homilador va homilador bo‘lmagan ayollar siydigining fotogrammalari keltirilgan.



17-rasm. Homilador (1) va homilador bo‘lmagan (2) ayolning siydigidagi β - IXG ni sifatli ekspress aniqlash fotogrammalari

Xorionik gonadotropinni o‘z ichiga olmaydigan siydik namunalaridan farqli o‘laroq, homilador ayollarning siydigini tahlil qilishda fotogrammalar qorayish intensivligi sezilarli darajada kamayadi, bu esa homiladorlikni ishonchli va rasmiy hujjat asosida tekshirishga imkon berdi.

Shunday qilib, immuno fermentli tahlil natijalarini ro‘yxatga olish usuli homilador ayollar siydigida β - xorionik gonadotropinini yuqori sifatli ekspress-aniqlashni o‘tkazishga, hamda homiladorlikning erta bosqichida noinvaziv diagnostika qilish imkonini berdi.

XULOSALAR

1. Ammoniy ionlarini spektrofotometrik usulda aniqlash shartlari optimallashtirildi va natriy salitsilat, natriy gipoxlorit, natriy nitroprussidning optimal konsentratsiyasi mos ravishda 0,05; 0,05 va 0,04 mM ekanligi aniqlandi; fotometrik reaksiyaning to‘liq davom etishi uchun zarur bo‘lgan vaqt ~40 °C haroratda 5 daqiqani tashkil qildi, bunda ammoniy ionlarining aniqlanadigan

konsentratsiyasi 0,5 dan 10 mg/l oraliqqacha bo‘lib, aniqlanish chegarasi 0,1 mg/l (3σ) va tahlil vaqti – 10 daqiqani tashkil etdi. Bu shartlar asosida NH_4^+ ionlari va ammiakni 0,05 -1,0 mg/l miqdor oralig‘ida tabiiy va texnogen ob‘yektlarda tezkor aniqlash uchun sinov usuli va qurilmasi ishlab chiqildi.

2. Suyuq va gazli muhitda ammiakni aniqlash uchun gaz-tirqishli elektrod qonuni asosida ishlaydigan sensorning tubdan yangi konstruksiyasi taklif etilib, uning ishlashini tekshirish uchun tabiiy ob‘yektlarda (yomg‘ir suvi) va nafas chiqargandagi havo tarkibida test sinovlari o‘tkazildi. Bu usul esa bakterial infeksiya — *Helicobacter pylorini* aniqlash uchun kerak bo‘ladi.

3. Uglerodli elektrodning pH funktsiyasining sub-Nernst bog‘liqligi - $53,2 \pm 1,1$ mv/pH ga teng bo‘lgan 1-7,5 mv/pH diapazonda ishlaydigan xingidron bilan to‘yintirilgan, quvurli pH-metrik datchik ishlab chiqildi va taklif qilindi. Datchik yordamida 30 nafar ko‘ngillilar so‘lagining pH muhiti aniqlandi va yetarli natijalarga erishildi, bu esa uning kislota-ishqor muvozanatini noinvaziv usulda aniqlashda qo‘llanilishini tasdiqlaydi. Sog‘lom odam so‘lagining IQ-Furye spektri o‘rganilib, kariyesga moyillikni baholash uchun IQ spektrining eng muhim joylari aniqlandi hamda kalsiy fosfatning mitselliyanish qobiliyatiga asoslanib, tish to‘qimasini demineralizatsiya qilish mexanizmi taklif etildi.

4. Siydik noinvaziv diagnostika ob‘yekti sifatida o‘rganilib, u organizmning funktsional holatini aks ettirishga qodir ekanligi aniqlandi. Sog‘lom donorlarning qon zardobi hamda siydigi tasviri bo‘yicha tajriba davomida tsiklik voltamperometriya va xinon-gidroxinon mediator tizimiga ($1,378 \pm 0,214$ mmol/l) mos keladigan antioksidant faolligining aniqlanish chegarasi topildi. Bu esa kasallikni noinvaziv tashxislash imkoniyatini berdi. Davolash paytida antioksidant faolligining mos yozuvlar chegarasi bir haftadan uch haftagacha bo‘lgan davr ekanligi ko‘rsatildi. Tavsiya etilgan usul buyrak kasalligi bo‘lgan bemorlarning sog‘lig‘ini oldindan baholash uchun qo‘shimcha mezon bo‘lib xizmat qiladi.

5. O‘lchov natijalarini fotografik ro‘yxatga olish usuliga ko‘ra, homiladorlikning biomarkeri bo‘lgan inson xorionik gonadotropinini aniqlash uchun immunoperoksida tahlilida ishlatiladigan 0,6 ng/ml ferment yorliqli peroksida zani aniqlash imkonini beradigan immuniferment tahlil analizi o‘tkazildi.

β -xorionik gonadotropinini qon zardobida spektrofotometrik va fotografik ro‘yxatga olish usullari bog‘liqligi $R^2=0,9363$ ga teng ekanligi aniqlandi. Ushbu usul homilador ayollarning siydigida ham β -xorionik gonadotropinini sifatli aniqlash uchun taklif qilindi.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ PhD.03/30.12.2019.К.02.05 ПО ПРИСВОЕНИЮ
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ПРИ САМАРКАНДСКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ
УНИВЕРСИТЕТЕ ИМЕНИ ШАРОФА РАШИДОВА**

**САМАРКАНДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ ШАРОФА РАШИДОВА**

РАИМКУЛОВА ЧАРОС АХМАТОВНА

**РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ И УСТРОЙСТВ ДЛЯ НЕИНВАЗИВНОГО
КОНТРОЛЯ НЕКОТОРЫХ КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ
БИОМАРКЕРОВ**

02.00.02 – Аналитическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ
ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PhD) ПО ХИМИЧЕСКИМ НАУКАМ**

Самарканд – 2023

Тема диссертации на соискание ученой степени доктора философии (PhD) по химическим наукам зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2021.4.PhD/K432.

Диссертация выполнена в Самаркандском государственном университете имени Шарофа Рашидова.

Автореферат диссертации на узбекском, русском и английском (резюме) языках размещен на веб-странице по адресу (www.samdu.uz) и информационно-образовательном портале «Ziynet» (www.samdu.uz).

Научный руководитель:

Аронбаев Сергей Дмитриевич
доктор химических наук, профессор

Официальные оппоненты:

Абдурахмонов Илхом Эргашбоевич
доктор химических наук, доцент

Султонов Марат Мирзаевич
доктор химических наук, профессор

Ведущая организация:

Национальный университет Узбекистана

Защита диссертации состоится «23» 11 2023 г., в 10⁰⁰ часов на заседании Научного совета PhD.03/30.12.2019.K.02.05 при Самаркандском государственном университете имени Шарофа Рашидова по адресу: 140104, Самарканд, Университетский бульвар, 15, Институт Биохимии, Химический корпус, 220 кабинет. Тел.: (+99866)239-11-40, (факс: (+99866) 239-11-51; E-mail: devonxona@samdu.uz).

Диссертация зарегистрирована в Информационно-ресурсном центре Самаркандского государственного университета имени Шарофа Рашидова за № 118, с которой можно ознакомиться в ИРЦ. (Фундаментальная библиотека СамГУ). Тел.: (+99866) 239-11-51.

Автореферат диссертации разослан «2» 11 2023 г.
(реестр протокола рассылки № 1 от «1» 11 2023 г.)



А.М. Насимов

Председатель научного совета по присуждению
учёной степени, проф.д. т. н.

Ж.Р. Узоков

Учёный секретарь научного совета по
присуждению учёной степени, (PhD).

Э.А. Абдурахманов

Председатель научного семинара при
научном совете по присуждению учёной
степени, проф. д. х. н.

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность тематики исследования. В мире с использованием достижений современной аналитической химии достигнуты большие успехи в неинвазивном определении клинически значимых биомаркеров. Разработаны современные инструментальные методы обнаружения биомаркеров в биоптатах, такие как иммунофлуоресцентная микроскопия, полимеразная цепная реакция для выявления ДНК, разнообразные иммунохимические методы индикации ряда биомаркеров в моче, крови и других биологических образцах и имеющих большое значение в ранней диагностике заболеваний и продвижению науки в целом.

В мире проводятся исследования по разработке аналитических методов выявления биомаркеров, позволяющих осуществить неинвазивную диагностику заболеваний и мониторинг за ходом лечения. В связи с этим разработка и валидация методов биомаркеров, стандартизация и идентификация процессов от отбора матрицы до поддержания целостности проб, чувствительное, селективное, быстрое обнаружение биомаркеров из мочи, крови и биологических жидкостей с использованием современных методов аналитической химии. Особое внимание уделяется разработке методов, обеспечивающих воспроизводимость результатов, экологически безопасных, малозатратных, простых по конструкции и поддающихся автоматизации, а также созданию теоретических основ этих методов и внедрению их на практике.

В нашей Республике проводятся научно-исследовательские работы по выявлению наиболее оптимальных биомаркеров для оценки эффективности диагностики и терапии, поиску эффективных способов их использования, разработке наиболее быстрых, оперативных, автоматизированных специфических методов анализа, использованию менее повреждающих и неинвазивных методов отбора проб биологических объектов для достижения определенных результатов. В Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан определены важные задачи по “предотвращению экологических проблем, наносящих вред окружающей среде, здоровью населения и генофонду”. Исходя из этих задач, важна разработка методов идентификации биомаркеров неинвазивными способами для диагностики и лечения различных заболеваний.

Это подтверждается Указами Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года № ПФ-4947 “О стратегии действий по пяти приоритетным направлениям развития Республики Узбекистан на 2017-2021 годы”¹, постановлением Правительства Республики Узбекистан от 23 августа 2017 года № ПФ-3236 “О программе развития химической промышленности на 2017-2021 годы”². Данное диссертационное исследование в определенной степени служит реализации задач, определенных постановлением от 17 января

¹Указа Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года № ПФ-4947 “О стратегии действий по пяти приоритетным направлениям развития Республики Узбекистан на 2017-2021 годы”

²Постановление Правительства Республики Узбекистан от 23 августа 2017 года № ПФ-3236 “О программе развития химической промышленности на 2017-2021 годы”

2018 года № ПП-3479 “О мерах по устойчивому обеспечению отраслей экономики страны наиболее востребованными видами продукции и сырья” и другими нормативными правовыми актами, касающимися данной деятельности.

Связь исследования с приоритетными направлениями развития науки и технологий Республики Узбекистан. Программа диссертационной работы основана на приоритетах, отраженных в разделе VII “Химия, химическая технология и нанотехнологии” и разделе IX “Медицина и фармакология”.

Степень изученности проблемы. В настоящее время во многих университетах и клиниках мира проводятся систематические исследования, направленные на выявление специфических биомаркеров в выдыхаемом воздухе и других выделениях (эманациях) человека при различных заболеваниях. Имена ученых, проводивших подобные исследования, хорошо известны мировому научному сообществу: Катаока Х., Сайто К. (Япония), Ван С., Сахай П. (США), Спанель П., Смит Д. (Чехия), Дас С., Палц М. (Индия), Ван Беркел Дж.Дж., Даллинга Дж.В., Мёллер Г.М. (Европейский Союз), а также российские ученые - Степанов Е.В., Вакс В.Л., Будников Г.К., Брайнина Х.З., Короткова Е.И. и др. В результате этих исследований были разработаны новые аналитические методы и средства для неинвазивной идентификации различных биомаркеров и пополнена их справочно-информационная база.

Наряду со всем этим следует отметить, что несмотря на полученные достижения в области неинвазивного определения клинически значимых биомаркеров, это направление аналитической химии в исследованиях узбекских ученых отражено недостаточно. Подобные исследования по определению экотоксикантов в газообразных и жидких средах в свое время проводились под руководством Т.К. Хамракулова, А.М. Геворгяна, а в настоящее время научной группой З.А. Смановой осуществляется разработка тест-систем на основе колориметрии; Э.А. Абдурахманова – по созданию газочувствительных сенсоров; С.Д. Аронбаева – по вольтамперометрическим методам определения метаболитов в биологических объектах и их антиоксидантной активности.

Все вышеизложенное еще раз убедительно доказывает необходимость разработки новых методов неинвазивного обнаружения и контроля биомаркеров, позволяющих использовать их в скрининге, диагностике и мониторинге ряда заболеваний.

Связь исследования с планами научно-исследовательских работ высшего учебного заведения. Диссертационное исследование выполнено в рамках научно-исследовательского плана Самаркандского государственного университета “Создание хемо- и биосенсоров инженерно-экологического и медико-биологического назначения”.

Цель исследования заключается в разработке новых методов анализа и устройств неинвазивного мониторинга клинически значимых биомаркеров для диагностики ряда заболеваний и оценки функционального состояния организма человека.

Задачи исследования:

разработка метода обнаружения аммиака и ионов аммония в жидких и газообразных средах, а также электрохимического датчика;

разработка метода измерения рН среды слюны и электрохимического проточно-инжекционного датчика;

разработка метода вольтамперометрического определения антиоксидантной активности сыворотки крови и мочи здоровых пациентов и с диагнозом почечная недостаточность;

разработка неинвазивного иммуноферментного метода анализа хоригонадотропина человека с применением новых способов регистрации результатов анализа.

Объектами исследования являются выдыхаемый воздух, слюна, моча и кровь.

Предметом исследования является определение аммиака и ионов аммония в выдыхаемом воздухе для диагностики заражения *Helicobacter pylori*; кислотно-щелочного баланса в слюне для оценки предрасположенности к пародонтозу и кариесу; определение окислительного стресса по антиоксидантной активности; определение гормона беременности - хоригонадотропина (ХГЧ) в моче иммуноферментным методом.

Методы исследования. В диссертационной работе использованы современные физико-химические (UV-Vis и FTIR-спектроскопия), электрохимические (потенциометрия, циклическая вольтамперометрия), иммуноферментные и статистические методы, обеспечивающие высокую чувствительность и воспроизводимость результатов.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

разработан метод экспресс-спектрофотометрического определения ионов аммония и аммиака;

изготовлен высокочувствительный датчик для потенциометрического определения количества аммиака в водной среде и в выдыхаемом воздухе человека в диапазоне концентраций 0,1-100 ppm;

разработан датчик, работающий на основе хингидронного электрода, и с его помощью определены значение рН слюны; изучен ИК-Фурье-спектр слюны в норме;

антиоксидантную активность сыворотки крови и мочи определяли вольтамперометрическим методом у здоровых и больных хронической болезнью почек.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

разработаны методы анализа и конструкции датчиков и устройств для индикации аммиака в выдыхаемом воздухе;

предложен визуально-колориметрический метод для экспрессного определения аммиака и ионов аммония;

предложены методы измерения АОА биологических объектов с применением вольтамперометрических и потенциометрических датчиков.

Достоверность результатов исследования. Полученные результаты, их обоснование и выводы, основываются на теоретических аргументациях и

подтверждаются экспериментальными данными, включая химические и физико-химические (оптическая спектроскопия, потенциометрия, циклическая и импульсно-дифференциальная вольтамперометрия) методы анализа. Подтверждение достоверности результатов эксперимента также достигается составлением математических моделей и соответствующих им уравнений регрессии. При этом используются программы статистической обработки результатов анализа и принятые в практике аналитической химии методы оценки точности и правильности химического эксперимента: “метод введено-найдено”, “метод добавок”, с применением критериев F-Фишера и t-Стьюдента на модельных, эталонных и реальных образцах.

Научная и практическая значимость результатов исследования заключается в разработке методов обнаружения биомаркеров в различных биологических объектах на основе фотометрии, потенциометрии и вольтамперометрии, расширением применения методов аналитической химии, а также разработкой методов неинвазивной диагностики различных заболеваний.

Практическая значимость результатов исследования состоит в том, что для диагностики заражения *Helicobacter pylori* были определены биомаркеры в выдыхаемом воздухе; оценена предрасположенность зубов к парадонтозу и кариесу с изменениями кислотно-щелочного баланса в слюне человека; определен окислительный стресс с использованием величин антиоксидантов. Разработанные приборы, используемые для диагностики заболеваний, могут найти широкое применение в аналитической химии и мониторинге окружающей среды.

Внедрение результатов исследования. На основе полученных научных результатов по разработке методов и устройств неинвазивного контроля некоторых клинически значимых биомаркеров:

усовершенствованный спектрофотометрический метод определения микроконцентрации аммиака/ионов аммония внедрен в практику лаборатории отдела охраны окружающей среды и рационального использования природных ресурсов АО “Мубаракский ГПЗ” (справка № 860/ GK-10 от 27.10.2022 года АО “Мубаракский ГПЗ”). В результате можно быстро определять аммиак/ионы аммония в воде и воздухе;

методы забора и анализа слюны с использованием проточно-инъекционного рН-метрического сенсора внедрены в практику клинко-диагностической лаборатории “Директ Квант Технолоджи” (справка ООО “Директ Квант Технолоджи” от 2 августа 2022 г.). В результате это позволило диагностировать кариес, пародонтоз и другие стоматологические заболевания.

Апробация результатов исследования. Результаты исследований были представлены и обсуждены на 9, в том числе 7 международных и 2 Республиканской научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. Всего по теме диссертации опубликовано 24 научных работ, из них 14 опубликовано в зарубежных журналах в научных изданиях, рекомендованных к публикации основных научных результатов диссертаций ВАК Республики Узбекистан.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 5 глав, заключения, списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 111 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во **введении** обосновывается актуальность, востребованность, цель и задачи исследования, конкретизируются объект, предмет и методы исследования; показано соответствие темы диссертации приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики Узбекистан; раскрываются научная и практическая новизна полученных результатов, их достоверность, а также внедрение в практику, сведения о публикациях и структуре диссертации.

В **первой** главе диссертации «**Современное состояние и тенденции развития неинвазивного контроля клинически значимых биомаркеров**» представлен аналитический обзор научной литературы мировых исследований в области определения биомаркеров в выделениях (эманациях) человека. В заключении - конкретизируются предстоящие задачи, объекты и предмет исследования.

Во **второй** главе «**Материалы, оборудование и методы исследования**» описаны материалы, реагенты, оборудование, методы проведения исследования. В работе применены UV-Vis и FTIR-спектроскопии, потенциометрия, циклическая вольтамперометрия, иммуноферментный анализ, статистические методы. Используется следующее оборудование: FTIR spectrometer IRAffinity-1S, UV-Vis spectrometer, модернизированный универсальный полярограф ПУ-1, потенциостат-гальваностат Р-40Х. В эксперименте также использовалось оборудование общелабораторного назначения.

Третья глава: «**Биомаркеры выдыхаемого воздуха**» посвящена спектрофотометрическому и потенциометрическому методам определения $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ в объектах окружающей среды и в выдыхаемом воздухе как продукта ферментативного гидролиза мочевины с целью неинвазивной диагностики инфицирования *Helicobacter pylori*. Для этого были изучены и оптимизированы условия спектрофотометрического определения $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ по методу Бергло, который на сегодняшний день остается наиболее чувствительным методом определения ионов аммония и основан на том, что фенол (и его производные) в присутствии гипохлорита и аммиака образует индофенольный комплекс ($\lambda_{\text{max}} = 660 \text{ нм}$, $\varepsilon = 10^4 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$). Реакция катализируется нитропруссидом натрия $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$. Схема протекания реакции и спектр индофенольного комплекса представлены на рис.1 и 2.

Сведения об условиях образования комплекса, почерпнутые из литературы, весьма противоречивы. Однако во всех источниках определяющими факторами являлись концентрация ингредиентов, рН, температура, время развития окраски. Поэтому был проведен эксперимент по оптимизации процесса образования индофенольного комплекса с учетом

определяющих факторов. Использован салицилат натрия, как ингредиент, обладающий значительно меньшей токсичностью, по сравнению с фенолом

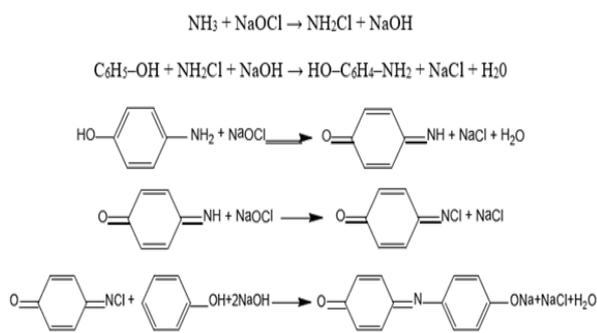


Рис. 1. Схема образования индофенольного комплекса

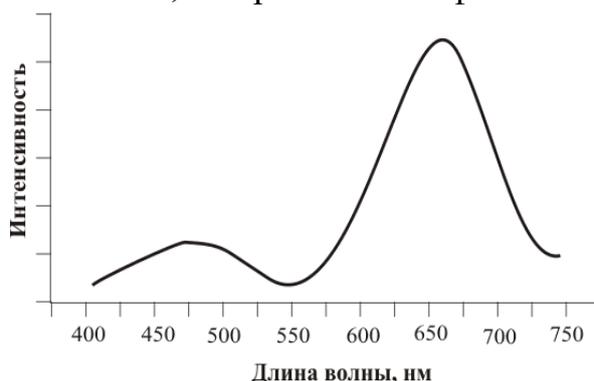


Рис. 2. Спектр индофенольного комплекса

На рис. 3 показаны зависимости оптической плотности от концентрации ингредиентов, а на рис. 4 - от условий протекания реакции. При увеличении концентрации гипохлорита натрия больше 0,05 М наблюдается разрушение индофенольного комплекса. Эффективное образование индофенольного комплекса протекает при $\text{pH} > 11$. Таким образом, оптимальными условиями для СФ определения $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ по модифицированному методу Бергло являются следующие: салицилат натрия - 0,05 М; нитропруссид натрия - 0,04 М; гипохлорит натрия - 0,05 М; $\text{pH} > 11$; температура, $^{\circ}\text{C} \sim 40^{\circ}\text{C}$; время - 5 мин.

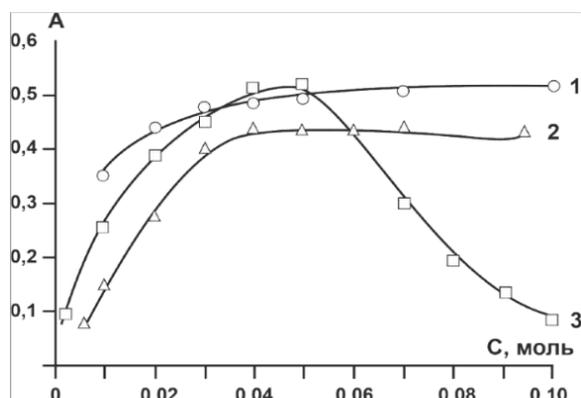


Рис. 3. Зависимость оптической плотности от концентрации ингредиентов: 1- салицилат натрия; 2- нитропруссид натрия, 3- гипохлорит натрия

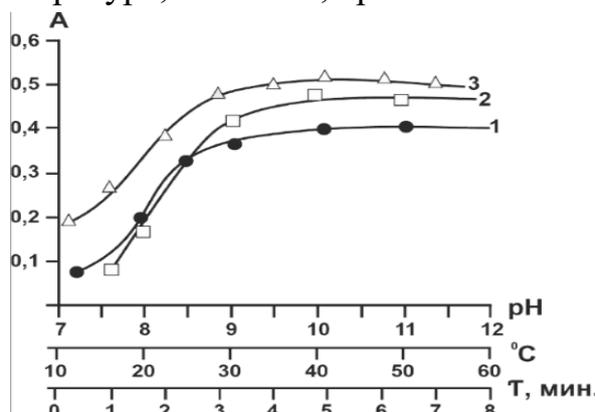


Рис. 4. Зависимость оптической плотности от условий проведения реакции: 1- pH; 2- температуры, 3- времени

Разработанный метод был апробирован на модельных и реальных аммоний содержащих растворах. Градуировочная зависимость оптической плотности от концентрации NH_4^+ -ионов описывается линейным уравнением: $y = 0,0514 + 0,1345x$ с коэффициентом корреляции $R^2 = 0,9960$. В таблице 1 приведены результаты определения NH_4^+ методом «введено-найдено» в растворах.

Из приведенных данных следует, что, разработанная методика обеспечивает диапазон определяемых концентраций ионов NH_4^+ от 0,5 до 10 мг/л. Предел обнаружения составляет 0,1 мг/л (3σ). Время анализа – 10 мин.

Таблица 1.

**Результаты определения ионов аммония в водных растворах
(n = 3, P = 0,95)**

Образец	Введено NH ₄ ⁺ , мг/л	Найдено NH ₄ ⁺ , мг/л	s	St, %
№1	0	<ПО	-	-
	0,50	0,50 ± 0,04	0,03	6,4
	1,50	1,51 ± 0,03	0,03	1,8
№2	0	0,23 ± 0,03	0,02	11,1
	0,50	0,70 ± 0,05	0,04	5,70
	1,50	1,65 ± 0,06	0,05	3,0
№3	0	0,16 ± 0,02	0,02	10,8
	0,50	0,65 ± 0,04	0,03	4,6
	1,50	1,61 ± 0,04	0,03	1,9
№4	0	<ПО	-	-
	0,50	0,51 ± 0,04	0,03	2,0
	1,50	1,50 ± 0,02	0,01	6,0
№5	0	<ПО	-	-
	0,50	0,51 ± 0,04	0,03	6,0
	1,50	1,49 ± 0,04	0,03	2,0

Полученные результаты позволили разработать цветовую шкалу для тест-метода определения ионов аммония (Рис.5).

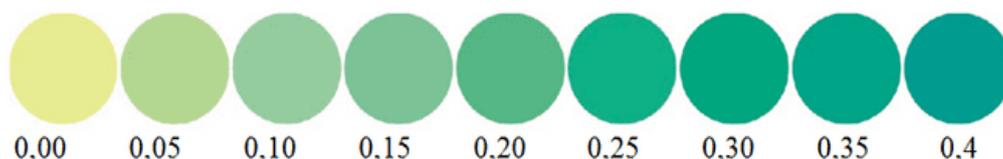


Рис. 5. Цветовая шкала для определения ионов аммония в водных средах (мг/л)

Полученные результаты, а именно возможность индикации ионов аммония на уровне 0,05-0,10 мг/л, весьма обнадеживающие по чувствительности, и позволяют использовать разработанный СФ и тест-методы в определении микроконцентраций NH₃ в выдыхаемом воздухе для неинвазивной диагностики бактериального заражения *H. pylori*, вызывающей тяжелые заболевания ЖКТ.

Метод идентификации бактериального инфицирования основан на «уреазном тесте», обусловленного специфическим действием фермента гидролитического класса уреазы, продуцируемой бактерией *Helicobacter pylori*

$$\text{CO}(\text{NH}_2)_2 + \text{H}_2\text{O} = 2\text{NH}_3 + \text{CO}_2$$

В выдыхаемом воздухе изменяется концентрация аммиака и диоксида углерода. Анализ выдыхаемого воздуха проводится два раза: натощак и после того, как пациент выпьет 1% раствор карбамида. Таким образом оценивается уреазная активность бактерии *Helicobacter pylori*, свидетельствующая о ее присутствии.

В работе также был применен тест-метод индикации аммиака в выдыхаемом воздухе с использованием разработанной установки, принципиальная схема которой представлена на рис.6.

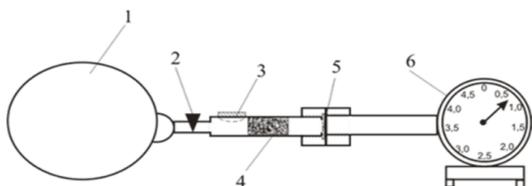


Рис. 6. Схема устройства для выполнения анализа

1-эластичная емкость с выдыхаемым воздухом; 2- кран регулировки скорости подачи выдыхаемого воздуха; 3- клапан ввода калибровочного аммоний содержащего раствора; 4 - патрон с КОН; 5- мембрана -фильтр, смоченный 0.01 н. H_2SO_4 ; 6 - газовый счетчик барабанного типа ГСБ-400.

Принцип действия заключается в следующем: мембрана (5) диаметром 25 мм из плотной фильтровальной бумаги, смоченной 0,01 н. H_2SO_4 , плотно зажимается между двумя трубками, первая из которых – входная, содержит патрон (4) с кристаллическим КОН и соединена с эластичной емкостью (1), объемом ~2,5-3,0 л с образцом выдыхаемого воздуха, а вторая - выходная – с газовым счетчиком (6) ГСБ-400.

Потенциометрические методы определения аммиака и ионов аммония. Из электрохимических методов определения аммиака/ионов аммония используется ионометрический метод с применением ионселективных электродов, чувствительных ионам NH_4^+ . Главным недостатком таких методов является недостаточная чувствительность электродов и их низкая селективность, особенно в присутствии катионов: H^+ , Na^+ , K^+ . Частично проблему селективности и чувствительности может решить электрохимический сенсор, функционирующий на принципе «электрода с газовым зазором», принципиальная схема которого представлена на рис.7.

Однако и ему присущи недостатки: сложность конструкции; недостаточная воспроизводимость аналитического сигнала, трудность воспроизведения навешивания на индикаторный электрод капли приэлектродного электролита; инерционность, связанная с массопереносом газообразного аммиака, неселективность в присутствии легколетучих органических веществ. Газопреобразование ионов аммония из раствора в аммиак происходит в емкости, заполненной кристаллическим NaOH или оксидом кальция, в которую поступает анализируемая проба, увлекаемая струей воздуха, создаваемого микрокомпрессором.

При этом упрощается конструкция сенсора, исключается перемешивание анализируемого раствора, решена проблема навешивания капли электролита на индикаторный электрод. Аналитический сигнал записывается на диаграммной ленте самописца. Сенсор калибруют по стандартным растворам хлорида аммония в диапазоне 10^{-6} – 10^{-2} М (соответствует 0,01 –170 ppm).

Нами предлагается принципиально новая конструкция электрохимической ячейки для потенциометрического определения аммиака в водной и воздушной средах. Особенность конструкции заключается в применении в качестве рН-чувствительного элемента – тонкостенного трубчатого графитового электрода, импрегнированного насыщенным раствором хингидрона (рис.8).

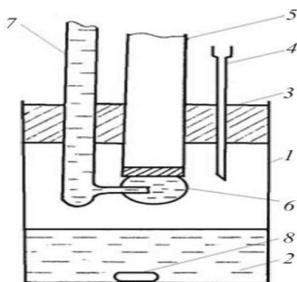


Рис. 7. Схема азочувствительной ячейки с рН электродом

(1- стеклянный сосуд; 2-анализируемый раствор; 3-резиновая пробка; 4-медицинская игла; 5-рН-чувствительный электрод, 6-капля электролита; 7-электролитический мостик электрода сравнения; 8. магнитная мешалка)

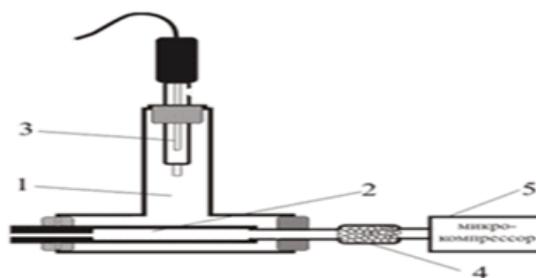


Рис. 8. Схема датчика для определения аммиака (ионов аммония)

(1- сосуд-корпус, заполненный насыщенным раствором хингидрона; 2-индикаторный электрод в виде тонкостенной трубки из пористого графитового материала; 3- Ag/AgCl электрод сравнения; 4-газообразователь; 5-микрокомпрессор)

При этом сам хингидрон, находящийся в порах электрода выполняет функцию приэлектродного электролита и его объем несравнимо мал, по отношению к капле, навешиваемой на поверхность стеклянного рН-электрода, как описывается в известных датчиках с электродом с газовым зазором. В результате, увеличивается чувствительность и воспроизводимость системы, снижается ее инерционность. В табл. 2 приводится оценка воспроизводимости определения ионов аммония в водах, из которой следует, что в интервале содержаний NH_4^+ -ионов от 0,017 до 170 мг/л, что соответствует $10^{-6} - 10^{-2}$ М, относительное стандартное отклонение не превышает 0,122 (12,2%). Оценка правильности определения по критерию Стьюдента показала, что систематическая погрешность незначима. При этом в интервале 0,17 – 17 мг/л ($10^{-5} - 10^{-3}$ М), что соответствует 0,17 – 17 ppm – относительное стандартное отклонение наименьшее, и не превышает 8%.

Таблица 2.

Оценка воспроизводимости определения ионов аммония в воде

Диапазон содержаний, мг/л (в пересчете на NH_3)	Величина добавки		Количество измерений, n	S_r
	введено	найдено		
0,017 – 0,17	0,034	0,030	8	0,122
0,17 – 1,70	0,85	0,90	10	0,078
1,7 – 17	4,25	4,20	10	0,055
17 - 170	42,5	39,8	8	0,082

Высокая чувствительность датчика и точность измерения аммиака позволяет применить датчик для определения аммиака в выдыхаемом человеком воздухе с целью неинвазивной диагностики бактериального инфицирования *Helicobacter pylori* с использованием уреазного теста.

Для этого у группы пациентов из 15 человек был проведен уреазный тест. Измерения проводили дважды: до и после приема обследуемыми 100 мл 1% раствора мочевины. Выдыхаемый воздух отбирали в эластичные емкости объемом до двух литров. Повторное измерение осуществляли спустя 20 минут. Проводили качественную оценку наличия *Helicobacter pylori*. Учитывая большой разброс полученных результатов для здоровых лиц (референсная зона) за достоверное определение наличия *Helicobacter pylori* принимали явное превышение полученных значений по сравнению с исходными. У большинства обследуемых начальное содержание аммиака в выдыхаемом воздухе находилось в диапазоне 0,2 -1,2 ppm. После “уреазного” теста наблюдалось повышение содержания аммиака до 1,7-2,0 ppm, и только в двух случаях этот показатель составил 10-14 ppm, что явно указывало на инфицирование. Таким образом, предлагаемый датчик может быть использован для проведения медико-биологических исследований, с целью неинвазивного скрининга инфицирования бактерией *Helicobacter pylori*.

В четвертой главе приводятся результаты исследования по слюне (саливодиagnostика) с целью определения предрасположенности к кариесу. В данном случае рН слюны служит биомаркером, отражающим не только здоровье полости рта, но и всей системы организма. Для измерения рН смешанной слюны разработан потенциометрический датчик проточно-инжекционного типа с трубчатым угольным электродом (рис.9). рН-метрический датчик состоит из корпуса, выполненного из оргстекла, содержит измерительный трубчатый электрод с капиллярным каналом диаметром 1 мм и длиной 30 мм; сравнительный Ag/AgCl электрод, расположенный в микрокамере, контактирующей с измерительным посредством раствора электролита 0,1 М KCl, насыщенного хингидроном; имеет штуцер для подачи в измерительный объем раствора электролита, подаваемого перистальтическим насосом, и клапан ввода анализируемой жидкости, рН которой требуется измерить. Датчик калибруют по стандартным буферным растворам (рис.10)

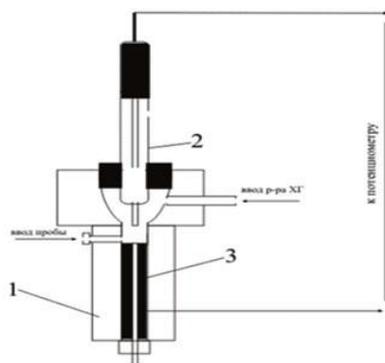


Рис. 9.
Принципиальная
схема проточно-
инжекционного
датчика для
измерения рН

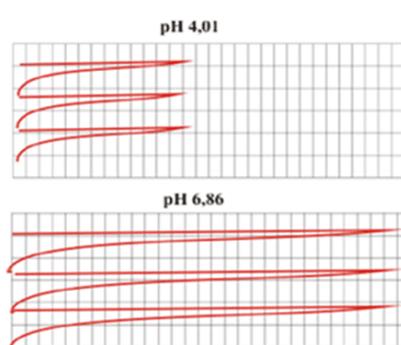
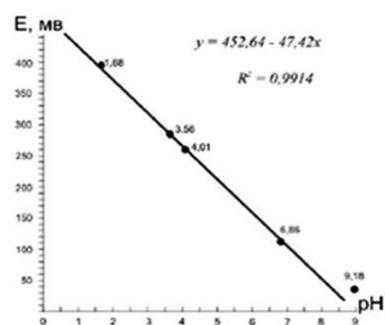


Рис. 10. Запись аналитического сигнала и
градуировочная зависимость проточно-
инжекционного хингидронного электрода



Были произведены измерения pH слюны 30 волонтеров. Для анализа использовали прозрачную надосадочную жидкость, полученную после центрифугирования собранной смешанной слюны. Результаты эксперимента представлены в таблице 3.

Таблица 3.

Результаты определения pH слюне здоровых испытуемых с применением проточно-инжекционного датчика с ХГ-электродом

№	pH	№	pH	№	pH
1.	6,82	11.	6,24	21.	7,00
2.	7,21	12.	7,14	22.	6,86
3.	6,68	13.	7,11	23.	7,62
4.	7,05	14.	6,86	24.	7,32
5.	6,15	15.	7,48	25.	5,92
6.	6,96	16.	6,92	26.	7,16
7.	7,18	17.	6,32	27.	7,20
8.	7,17	18.	7,28	28.	7,22
9.	6,87	19.	6,54	29.	7,04
10.	7,02	20.	7,18	30.	6,98
		pH_{средн.} = 6,95 ; pH_{медиан.} = 7,03			

Анализ полученных результатов приводит к следующим констатациям: у 17 человек обследуемых, т.е. ~ 57% pH > 7, что соответствует обычно принятой в стоматологии норме; у 9 человек pH слюны < 7, но не достигает критического значения 6,5, что составляет 30% обследуемых; для 4 человек (13%) значение pH слюны находится в «критической» зоне, т.е. < 6,3-6,2. Для одного обследуемого, девушки 20 лет, носящей брекет, pH слюны составил 5,92, что заставляет задуматься над вопросом: насколько брекеты и их состав могут влиять на кислотно-щелочные процессы, происходящие в ротовой полости? В контексте с этими исследованиями представляет интерес определения состава смешанной слюны в норме с применением FTIR-спектроскопии для установления значимых функциональных групп, позволяющих осуществлять мониторинг ряда заболеваний, включая кариес.

На рис.11 показан ИК-спектр слюны, а в таблице 4 представлены результаты расшифровки этого спектра.

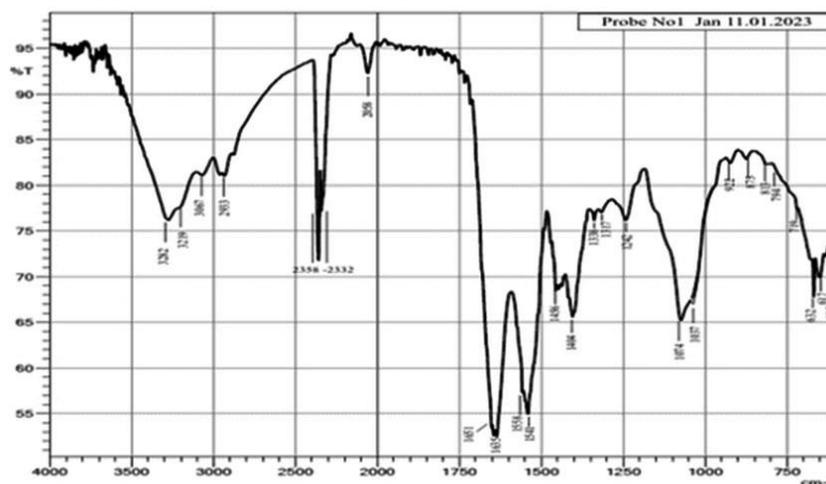


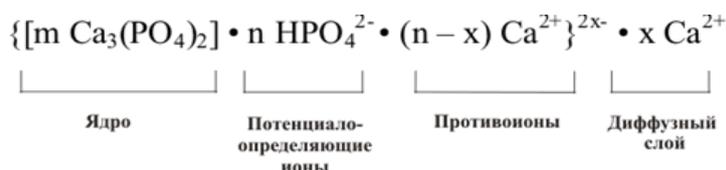
Рис. 11. ИК-Фурье спектр слюны в норме

Таблица 4.

Основные полосы поглощения (см⁻¹) в ИК- спектрах слюны

Настоящая работа	Тип колебаний	Интерпретация	Литературные данные
3282	νNH	амид А	3270-3285
3067	R-NH_2 ($\nu_{\text{as}}\text{NH}$, $\nu_{\text{s}}\text{NH}$) R-NH (νNH)	первичные и вторичные амины	3067
2933	νCH_2 , νCH_3	метиленовых групп липидов слизистой оболочки полости рта	2933, 2875
2358-2332	$\nu_{\text{as}} \text{O}=\text{C}=\text{O}$	атмосферный углекислый газ	2349
2058	νSCN^-	тиоцианаты	2058
1651	νCO	амид I	1645
1541	δNH , νCN	амид II	1544-1548
1456-1404	δCH_2 , δCH_3	метиленовые группы боковых цепей аминокислот, липидов и белков	1450, 1395-1410
1338-1317	δNH , νCN	амид III	1330—1300
1242	$\nu_{\text{as}}\text{PO}$	фосфолипиды	1244
1074	νCN , $\nu_{\text{s}}\text{PO}_2^-$	ДНК, РНК	1078
1037	νCC , νCO , $\nu\text{CH}_2\text{OH}$	сахара, гликолизированные белки	950—1080
922 - 794	$\nu -\text{C}-\text{O}-\text{C}-$	алифатические соединения гликозилированных белков	920-800
794-719	$\nu\text{PO}(\text{P}_2\text{O}_7)$	Олиго- и полисахариды, фосфатазы, фосфолипиды	735—775
632-617	δOCN	амид IV	625—765
632-813	δNH	амид V	640—800
605	δCO	амид VI	535—605

Одной из важных функций слюны - ее минерализующее действие на зубную ткань с участием катионов Ca^{2+} и гидрофосфат-аннонов HPO_4^{2-} . Основной механизм поддержания насыщенности слюны этими ионами — их мицеллярное состояние. Ядро мицеллы состоит из $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, потенциалоопределяющие ионы — HPO_4^{2-} , противоионы — Ca^{2+} , они же входят в состав диффузного слоя.



Представления о мицеллярном строении фосфата кальция в слюне позволяют предложить механизм поддержания гомеостаза ротовой полости в цепочке: эмаль зубов – слюна – возникновение кариеса – отложение зубного камня, что предоставляет возможность осуществления профилактических мер, направленных на поддержание и сохранение функций слюны и здоровья полости рта в целом.

Пятая глава диссертации рассматривает мочу как объект для неинвазивной диагностики физиологического состояния организма, в частности определение референсной зоны антиоксидантной активности как метод контроля терапии и наблюдением за ходом лечения пациентов с заболеванием почек.

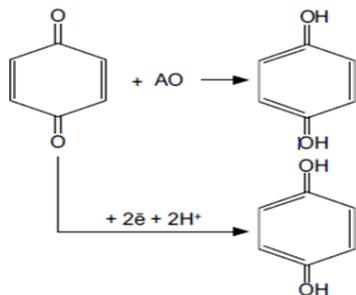


Рис. 12. Схема взаимодействия п-бензохинона с биологической средой и ВА-определение остаточной концентрации п-бензохинона

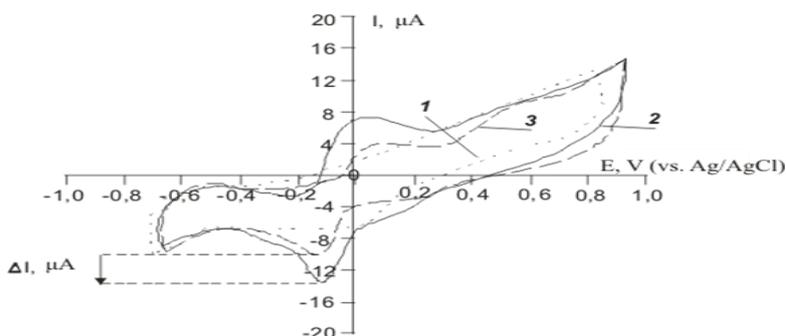


Рис. 13. СВА смеси п-бензохинон/гидрохинон: 1 - фоновый раствор (фосфатный буфер pH 7,4 0,15 M NaCl); 2 - фоновый раствор + 0,01 M п-бензохинона; 3 - фоновый раствор + 0,01 M п-бензохинона с добавлением 1 мл сыворотки крови от здорового донора

Ввыше предлагается электрохимический метод определения уровня антиоксидантной активности (АОА) биологических сред с использованием медиатора электрохимически обратимой пары хинон-гидрохинон. Сущность способа заключается во взаимодействии окислителя п-бензохинона с биологической средой, после чего определяют вольтамперметрически остаточную концентрацию п-бензохинона (см. рис.12 и 13).

Для определения зоны референсных значений уровня АОА проведено исследование сыворотки крови и образцов мочи 23 практически здоровых доноров. Установлено, что уровень АОА лежит в диапазоне $0,82 \div 1,88$ ммоль/л в пересчете на дигидрохверцетин, применяемого как стандарт АОА (рис.14). При этом было показано, что за эффективностью терапии можно наблюдать измеряя ОВП образцов как самой сыворотки крови, так и мочи (рис.15).

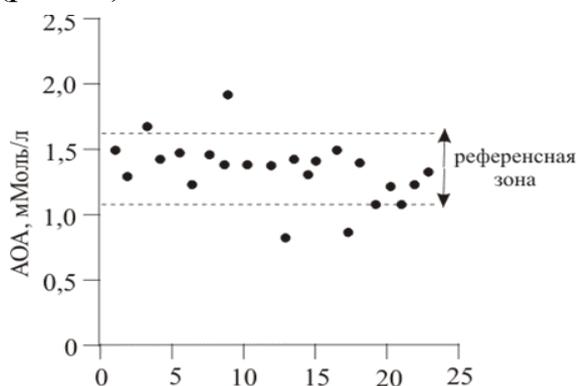


Рис. 14. Антиоксидантная активность сыворотки крови 23 здоровых доноров

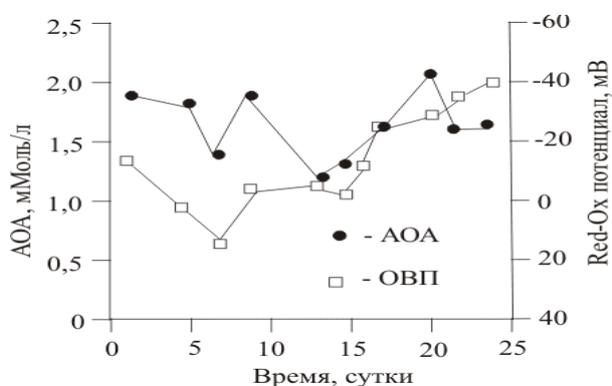


Рис. 15. Динамика изменений АОА и ОВП в образцах мочи пациентов с заболеваниями почек

В этой же главе описаны результаты апробации ИФА метода определения ХГЧ – специфичного маркера беременности, с применением фотографической регистрации результатов анализа. Были использованы диагностические наборы для ELISA метода фирм-производителей «Вектор» и «Диа-Плюс» ИФА для определения β -ХГЧ основан на принципе “сэндвича”. Для этого гранулы иммуносорбента, покрытые антителами к β -ХГЧ, инкубировали вместе с анализируемым образцом и раствором конъюгата пероксидазы и антител к β -ХГЧ. Остаточную активность пероксидазы определяли фотографически с использованием фотоматериала в качестве «сухого» реагента. Смесь субстрата содержала стандартный раствор фенидон - гидрохинонового проявителя и 0,01 М раствора перекиси водорода. Интенсивность почернения пятен на фотоматериале, находящихся в обратной зависимости от остаточной активности пероксидазы определяли с помощью микрофотометра MF-2.

На рис.16 приводится фотограмма зависимости интенсивности почернений от концентрации пероксидазы на основании которой построен калибровочный график на пероксидазу.

Результаты измерения интенсивности почернений фотоматериала в зависимости от концентрации пероксидазы ((HRP))

Концентрация пероксидазы (HRP), нг/мл	Фотограмма	Интенсивность почернения, S ед.
280.0		36 ± 4
140.0		55 ± 3
70.0		71 ± 2
35.0		93 ± 3
17.5		103 ± 4
9.0		118 ± 6
4.5		128 ± 6
2.2		131 ± 6
1.1		134 ± 8
0.6		138 ± 8
Фон		141 ± 8
Плотность вуали		23 ± 3

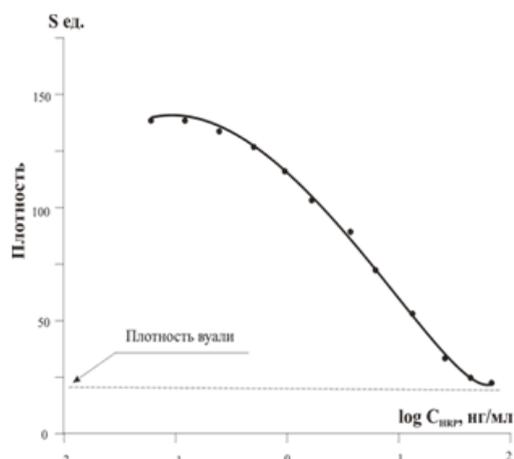


Рис. 16. Калибровочный график для определения пероксидазы

Результаты определения хореогонадотропина в сыворотке крови представлены в таблице 5.

Таблица 5.

Результаты определения β -ХГЧ в сыворотке крови здоровых женщин

№	Возраст	Триместр	Срок беременности, недель	Уровень ХГЧ, мМЕ/мл	
				Спектрофотометрическая регистрация с тетраметилбензидином	Фотографическая регистрация
1.	22	I триместр $36,3 \pm 3,6$ $s_r = 0.113$	7 - 8	18,5	20,0
2.	25		8 - 9	20	25,0
3.	24		9 - 10	24,5	26,0
4.	21		9 - 10	22,5	32,0
5.	19		10 - 11	42,5	58,0

		продолжение				
6.	19		12 - 13	21,5	30,0	
7.	26		12 -13	32,5	35,0	
8.	27		12 -13	34,6	46,0	
9.	20		13 – 14	34,0	50,0	
10.	26		13 – 14	30,5	40,0	
11.	18		13 - 14	32,5	37,0	
12.	18	II триместр	17 -18	25,0	30,0	
13.	24		17 -18	29,0	30,0	
14.	38		17 -18	28,5	38,0	
15.	34		18 - 19	33,4	45,0	
16.	26		27,6±4,5 s _r =0.119	19 - 20	10,0	10,0
17.	26		23 -24	13,5	20,0	
18.	21		23 -24	12,5	20,0	
19.	36	III триместр	32	3,0	5,0	
20.	20		33 -34	3,8	6,0	
21.	23		35 – 36	18,5	22,0	
22.	29		12,2±3,6 s _r = 0.081	35 -36	16,8	20,
23.	28		36	6,0	8,0	

На рис.17 приведены фотограммы мочи беременной женщины и небеременной женщин.



Рис. 17. Фотограммы качественного экспресс-определения β -ХГЧ в моче беременной (1) и небеременной (2) женщины

В отличие от образцов мочи, которые не содержат хоригонадотропина, при анализе мочи беременных женщин фотограммы имеют значительно меньшую интенсивность почернения, что позволяет надежно и с документальной точностью тестировать беременность.

Таким образом, разработанный метод регистрации результатов ИФА позволяет проводить качественное экспресс-определение β -ХГЧ в моче беременных женщин и отнести его к неинвазивным методам диагностики беременности на ранних сроках.

ВЫВОДЫ

1. Оптимизированы условия определения ионов аммония спектрофотометрическим методом по способу Бергло и установлено, что оптимальными концентрациями салицилата, гипохлорита, нитропрусида натрия являются 0,05; 0,05 и 0,04 М, соответственно. Время, необходимое для полного протекания фотометрической реакции, составляет 5 минут при температуре $\sim 40^{\circ}\text{C}$. При этом диапазон определяемых концентраций ионов аммония составляет от 0,5 до 10 мг/л. Предел обнаружения - 0,1 мг/л (3σ). Время анализа – 10 мин. На основании этих условий были разработаны

методика и устройство для быстрого определения ионов NH_4^+ и аммиака в диапазоне 0,05-1,0 мг/л в природных и техногенных объектах.

2. Для определения аммиака в жидкой и газообразной среде была предложена совершенно новая конструкция датчика, работающего на основе закона газового зазора электрода, и для проверки его работоспособности были проведены испытания на природных объектах (дождевая вода) и выдыхаемом воздухе. Этот метод необходим для выявления бактериальной инфекции— *Helicobacter pylori*.

3. Предложен метод и изготовлен рН-метрический датчик хингидронного типа с рабочим трубчатый угольным электродом, с субнернстовской зависимостью рН-функции равной - $53,2 \pm 1,1$ мВ/рН в диапазоне рН 1-7,5 мВ/рН. С помощью датчика была определена рН среды слюны 30 добровольцев и получены достаточные результаты, что подтверждает его использование при определении кислотно-щелочного баланса неинвазивным способом. Изучен ИК-Фурье-спектр слюны здорового человека, определены наиболее важные области ИК-спектра для оценки предрасположенности к кариесу и предложен механизм деминерализации тканей зуба, основанный на способности фосфата кальция к мицеллированию.

4. Моча была изучена как неинвазивный диагностический объект и установлено, что она способна отражать функциональное состояние организма. В ходе эксперимента по визуализации сыворотки крови и мочи здоровых доноров установлен предел обнаружения антиоксидантной активности, соответствующий данным циклической вольтамперометрии и хинон-гидрохиноновой медиаторной системы ($1,378 \pm 0,214$ ммоль/л). Это позволило диагностировать заболевание неинвазивно. Было показано, что в течение периода от одной до трех недель достигается контрольный предел антиоксидантной активности во время лечения. Рекомендуемый метод служит дополнительным критерием предварительной оценки состояния здоровья больных с заболеванием почек.

5. По методу фоторегистрации результатов измерений проведен иммуноферментный анализ, позволяющий обнаружить 0,6 нг/мл меченой ферментом пероксидазы, которая используется в иммунопероксидажном анализе для определения хорионического гонадотропина человека, биомаркер беременности. Установлено, что корреляция между спектрофотометрическим и фотографическим методами хориогонадотропина человека в сыворотке крови равна $R^2=0,9363$. Этот метод был предложен также для качественного определения хориогонадотропина человека в моче беременных женщин.

**SCIENTIFIC COUNCIL PhD.03 / 30.12.2019.K.02.05 ON
ACADEMICATION OF THE ACADEMIC DEGREE OF THE DOCTOR
OF PHILOSOPHY AT SAMARKAND STATE UNIVERSITY
NAMED AFTER SHAROF RASHIDOV**

**SAMARKAND STATE UNIVERSITY
NAMED AFTER SHAROF RASHIDOV**

RAYIMKULOVA CHAROS AKHMATOVNA

**DEVELOPMENT OF METHODS AND DEVICES FOR NONINVASIVE
CONTROL OF SOME CLINICALLY SIGNIFICANT BIOMARKERS**

02.00.02 - Analytical chemistry

**ABSTRACT OF THE DISSERTATION
OF DOCTOR OF PHILOSOPHY (PhD) ON CHEMICAL SCIENCES**

The theme of the dissertation for Doctor of Philosophy in Chemical Sciences is registered at the Higher Attestation Commission under the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan under the number B2021.4.PhD/K432.

The dissertation was performed at Samarkand State University named after Sharof Rashidov.

An abstract of the dissertation in Uzbek, Russian and English (abstract) languages is available on the web page at samdu.uz and the Ziyonet information and educational portal at www.ziyonet.uz.

Scientific supervisor: Aronbayev Sergey Dmitrievich
doctor of chemical sciences, professor

Official opponents: Abdurakhmanov Ilkhom Ergashboyevich
doctor of chemical sciences, associate professor

Sultanov Marat Mirzayevich
doctor of chemical sciences, professor

Leading organization: National university of Uzbekistan

The defense of the dissertation will take place "23" 11 2023, at 10⁰⁰ o'clock at a meeting of the Academic Council PhD.03/30.12.2019.K.02.05 at Samarkand State University named after Sharof Rashidov at the address: 140104, Samarkand, University Boulevard, 15, Institute of Biochemistry, Chemical building, room. 220. Phone: (+99866)239-11-40, fax: (+99866) 239-11-51; E-mail: devonxona@samdu.uz).

The dissertation has been registered at the Information Resource Center of Samarkand State University named after Sh. Rashidov under No. 118, (Address, 140104, Samarkand State University Blvd., 15, IRC). Phone: (+99866) 239-11-51.

The abstract of the dissertation has been distributed on "2" 11 2023 y.
(Mailing Protocol No. 1 dated "1" 11 2023 y.)



[Signature]
A.M. Nasimov
Chairman of the Scientific Council for awarding
of the scientific degree, professor of technical sciences

[Signature]
J.R. Uzokov
Scientific Secretary of the Scientific Council
for awarding of the scientific degree, (PhD)

[Signature]
E.A. Abdurakhmanov
Chairman of the Scientific seminar under Scientific
Council for the awarding the scientific degrees,
Doctor of Chemical Sciences, Professor

INTRODUCTION (abstract of the PhD thesis)

The **aim** of the research is to develop new analytical methods and devices for non-invasive control of clinically significant biomarkers for the diagnosis of a number of diseases and assessment of the functional state of the human body.

The object of research: human exhaled air, saliva, urine, blood.

Subject of research: ammonia in human exhaled air, as a biomarker of infection with *Helicobacter pylori*, causing severe gastrointestinal diseases; hydrogen index (pH) of saliva, as a biomarker of acid-base balance in oral fluids, to assess predisposition to caries and periodontal diseases; antioxidant activity of biological fluids to assess the functional state of the body; hormone choriogonadotropin, as a biomarker of pregnancy and its monitoring by the enzyme immunoassay with photographic registration of the analysis results.

The scientific novelty:

a method for express spectrophotometric determination of ammonium and ammonia ions has been developed;

a highly sensitive sensor was manufactured for potentiometric determination of the amount of ammonia in the aquatic environment and in human exhaled air in the concentration range of 0.1-100 ppm;

a sensor operating on the basis of a quinhydrone electrode was developed, and with its help the pH value of saliva was determined; the Fourier transform infrared spectrum of normal saliva was studied;

the antioxidant activity of blood serum and urine was determined by the voltammetric method in healthy people and patients with chronic kidney disease.

Implementation of the research results. Based on the scientific results obtained on the development of methods and devices for non-invasive monitoring of some clinically significant biomarkers:

an improved indophenol method for determining microconcentrations of ammonia/ammonium ions in the working area has been introduced into the practice of the laboratory of the Department of Environmental Protection and Rational Use of Natural Resources JSC “Mubarek Gas Processing Plant” (Certificate of implementation 860/GK-10 of 10/27/2022).

the developed flow-injection pH-metric sensor and the method of selection and analysis of mixed saliva have been introduced into the practice of the clinical diagnostic laboratory in order to diagnose predisposition to caries, periodontitis and other dental diseases, which significantly expands the possibilities of non-invasive diagnostics (Act and Certificate of Implementation of “Direct Quantum LLC Technologies” from August 2, 2022, Penza, Russia).

Approbation of research results: the results of the study have been tested at 7 international and 2 Republican conferences. Publication of the results of the study. The dissertation materials have been published in 24 scientific papers, 14 of which are in international journals from the list of the Higher Attestation Commission of the Republic of Uzbekistan recommended for publication of the main scientific results of the study, including one article from the Scopus citation database.

The structure and scope of the dissertation. The dissertation, the main text of which is presented on 111 pages.

E'LON QILINGAN ISHLAR RO'YXATI
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I bo'lim (I часть; part I)

1. Aronbaev D., Aronbaev S., Raimkulova Ch., Shertaeva A. Determination of antioxidant activity of blood serum in health and disease by voltametric method // International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology (IJIRSET)-2020 Volume 9, Iss.11, November 2020. - P.10324-10328 (IF 8,118).

2. Raimkulova Ch.A., Aronbaev S.D., Vasina S.M., Aronbaev D.M. Exhaled air as an object of studying the functional state of the organism //The Austrian Journal of Technical and Natural Sciences, 2020- №1-2- P.47-51. (02.00.00, №2).

3. Раимкулова Ч.А., Аронбаев С.Д., Аронбаев Д.М. Визуально-колористический метод индикации аммиака в выдыхаемом воздухе // Universum: Химия и биология: электрон. научн. журн. 2020. № 7(73). URL: <http://7universum.com/ru/nature archive/item/9278> . (02.00.00, №2).

4. Raimkulova Ch.A, Aronbaev S.D., Aronbaev D.M. Solid phase immuno enzyme method for determination of human choriogonadotropin with photographic registration of analysis results «Austrian Journal of Technical and Natural Sciences» # 9-10 2021 /<https://doi.org/10.29013/AJT-21-9.10-40-46>- P.40-46. (02.00.00, №2).

5. Раимкулова Ч.А., Аронбаев С. Д., Аронбаев Д.М. К проблеме определения аммиака в выдыхаемом воздухе // Universum: химия и биология: электрон. научн. журн. 2021. 1(79). –С 26-35. (02.00.00, №2).

6. Раимкулова Ч.А., Аронбаев С.Д., Аронбаев Д.М. Оценка запахов как метод неинвазивной диагностики физиологического состояния человека / Assessment of odors as a method of noninvasive diagnosis of the physiological state of a person //Sciences of Europe (Чехия)-2021. -№84. – С.12-15 / doi: 10.24412/3162-2364-2021-84-1-16-18. (SJIF I. F. - 5.157).

7. Raimkulova Ch., Aronbaev D., Aronbaev S. Comparative characteristics of methods of noninvasive diagnosis of Helicobacter Pylori //Polish journal of science № 48, -vol.1 -2022. -P.26-30. (SJIF I. F.– 3.779).

8. Raimkulova Ch. A., Narbaev K. M., Aronbaev D. M., Aronbaev S. D. Optimization of indophenol complex formation conditions for spectrophotometric determination of ammonium ions // Norwegian Journal of development of the International Science – 2022.-№77.– P.3-9./ doi:10.24412/3453-9875-2021-77-1-3-9 (SJIF I.F. 5.02.)

9. Aronbaev S.D., Raimkulova Ch.A., Aronbaev D.M., Narbaev K.M. Potentiometric sensor for measuring ammonia and ammonium ions in liquid and gaseous media //International Journal of Research in Management & Social Science Volume 10, Issue 2: April - June 2022. –P.121-126 (GIF 6,44).

10. Раимкулова Ч.А., Аронбаев С.Д., Аронбаев Д.М. Биомаркеры и оценка рисков // Universum: химия и биология. - 2022, №1(91). –С.77-83./ doi - 0.32743/UniChem.2022.91.1.12774. (02.00.00, №2).

11. Раимкулова Ч.А., Аронбаев С.Д., Аронбаев Д.М. Измерение pH смешанной слюны с использованием потенциометрического проточно-инжекционного датчика // *Universum: химия и биология : электрон. научн. журн.* 2022. 6(96). URL:<https://7universum.com/ru/nature/archive/item/13801> doi 10.32743/UniChem. 2022.96.6.13801. (02.00.00, №2).

12. Aronbaev S., Raimkulova Ch., Isakova D., Berdymuradova F., Aronbaev D. pH Measurement of Mixed Saliva using a Flow-injection Sensor with a Tubular Carbon Electrode // *Asian Journal of Chemistry.* -2022.-Vol.34, #8.–P.2081-2085. (Scopus,IF 0.6).

13. Aronbaev S. D., Raimkulova Ch. A., Aronbaev D.M. Study of the FTIR spectrum of whole saliva at normal // *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci.*2023.- Vol 12 (8) July. – P.18-23 (WoS).

14. Раимкулова Ч.А., Аронбаев С.Д., Аронбаев Д.М. Саливодиagnostика: прошлое, настоящее, будущее // *Universum: химия и биология: электрон. научн. журн.* 2023. 3(103). (02.00.00, №2).

II bo‘lim (II часть; part II)

15. Раимкулова Ч. А., Аронбаев С. Д., Аронбаев Д. М. Анализ выдыхаемого воздуха как метод неинвазивной диагностики // *International scientific journal «Global science and innovations 2020: Central Asia» Nur-Sultan, Kazakhstan, Feb-March 2020.* – С. 56-58.

16. Раимкулова Ч.А., Норбоев К.М., Аронбаев С.Д. Совершенствование методов неинвазивной диагностики заболеваний по выдыхаемому воздуху // *Журнал гепато-гастроэнтерологических исследований ежеквартальный научно-практич. журнал № 2(1), 18 мая 2021 Специальный выпуск. 75-я Международная научно-практическая конференция студентов медицинских вузов и молодых учёных* – С. 1162.

17. Раимкулова Ч.А., Аронбаев С.Д., Аронбаев Д.М. Визуально-колористический метод индикации аммиака в выдыхаемом воздухе // *Сб. тез.3-я Всероссийская конференция «методы исследования состава и структуры функциональных материалов» МИССФМ-2020 1-4 сентября 2020, Новосибирск.* С.419-420.

18. Аронбаев Д.М., Раимкулова Ч.А., Аронбаев С.Д. Неинвазивная диагностика беременности иммуноферментным методом с фотографической регистрацией // *Сборник работ химиков-аналитиков, посвящённый 100-летнему юбилею со дня рождения И.Г. Юделевича / Новосибирск: ИНХ СО РАН, 2020,* -С.21-23.

19. Раимкулова Ч.А., Нарбаев К. М., Аронбаев С. Д., Аронбаев Д.М. Потенциометрический датчик для измерения аммиака и ионов аммония в жидких и газообразных средах // *Сборник научных статей по итогам работы Международного научного форума «Наука и инновации: Современные концепции».* - М.:2021.– С.127-133.

20. Aronbaev S.D., Raimkulova Ch.A., Aronbaev D. M., Narbaev K. M. Potentiometric sensor for measuring ammonia and ammonium ions in liquid and

gaseous media //2nd International Conference on Modern Research in Agriculture, Biological, Medical and Environmental Sciences Organized By Indian Academicians And Researchers Association In Association With Université Ibn Zohr, Morocco And Center Ibn Zohr of Development and Research, Morocco On 10th May 2022. – P.16.

21. Нарбаев К., Раимкулова Ч.А., Аронбаев С.Д., Аронбаев Д. Выбор условий спектрофотометрического определения ионов аммония индофенольным методом // 7th International scientific and practical conference “Science, innovations and education: problems and prospects” (February 9-11, 2022) CPN Publishing Group, Tokyo, Japan. 2022. - С.161-170.

22. Раимкулова Ч.А., Аронбаев С.Д., Аронбаев Д.М. Устройство для визуально-колористического обнаружения аммиака в выдыхаемом воздухе // Сб. материалов VI Республ.конф. посвящ. 90-летию акад.А.Г.Ганиева “Аналитик кимё фанининг долзарб муаммолари”- Термез: ТермГУ, 2020.- С 315-316.

23. Нажмиддинов Х. Б., Дилмуродов Ш. Н., Раимкулова Ч. А. Определение аммиака неинвазивным методом в выдыхаемом воздухе человека // Analytical journal of education and development. -2021.- Vol. 01. - Issue: 05. - С.50-54.

24. Раимкулова Ч.А., Аронбаев С.Д., Аронбаев Д.М. Роль ИК-спектроскопии в сливодиагностике // Сборник научных статей по итогам работы Международного научного форума «Наука и инновации –современные концепции». –М.:Инфинити.–2023.–С.89-96.DOI 10.34660/INF.2023.71.10.118.

Avtoreferat Sharof Rashidov nomidagi Samarqand davlat universiteti
“Ilmiy axborotnoma” jurnali tahririyatida tahrirdan o‘tkazildi (26.10.2023).

Bosmaxona litsenziyasi:



4268

2023 yil 27-oktabrda bosishga ruxsat etildi:
Ofset bosma qog‘ozi. Qog‘oz bichimi 60x84_{1/16}.
“Times” garniturasini. Ofset bosma usuli.
Hisob-nashriyot t.: 2,9. Shartli b.t. 2,2.
Adadi 100 nusxa. Buyurtma №26/10.

SamDChTI nashr-matbaa markazida chop etildi.
Manzil: Samarqand sh., Bo‘stonsaroy ko‘chasi, 93-uy.