

GISTOLOGIK PREPARATLAR TAYYORLASH TEXNIKASINI O'RGANISH.

N.A. Ismoilova

Choriyeva Soxiba Asqar qizi

(davolash ishi yo'nalishi talabasi)

ZARMED UNIVERSITETI,

SAMARQAND KAMPUSI

Mavzuning dolzarbligi. Bugungi kunda tibbiyot va biologiya sohasida aniq va ishonchli tashxis qo'yish, kasalliklarning kelib chiqish sabablarini o'rganish hamda ularning rivojlanish mexanizmlarini tahlil qilishda gistologik tadqiqot usullari muhim ahamiyat kasb etmoqda. Gistologik preparatlarni sifatli tayyorlash to'qima va hujayralarning morfologik tuzilishini aniq ko'rish, patologik o'zgarishlarni baholash hamda to'g'ri xulosa chiqarish imkonini beradi. Ayniqsa, zamonaviy diagnostikada onkologik, yallig'lanish va degenerativ kasalliklarni aniqlashda gistologik tahlil asosiy usullardan biri hisoblanadi. Shu sababli gistologik preparatlarni tayyorlash texnikasini chuqur o'rganish, har bir bosqichni ilmiy asosda o'zlashtirish va amaliyotda to'g'ri qo'llash bugungi kunda dolzarb vazifalardan biri sanaladi.

Kalit so'zlar: gistologiya, gistologik preparat, to'qima, hujayra, fiksatsiya, suvsizlantirish, parafinlash, mikrotom, kesma tayyorlash, bo'yash usullari, mikroskopiya, morfologik tahlil, laboratoriya texnikasi, diagnostika.

Tadqiqotning maqsadi: gistologik preparatlar tayyorlash texnikasini o'rganish.

Tadqiqot uchun materiallar. Gistologiyada o'rganiladigan eng muhim obyekt gistologik preparat, ya'ni hayvon yoki o'simlik organizmining maxsus ishlangan va buyum oynasi bilan qoplag'ich oyna orasiga qo'yilgan, eng kichik bo'lagi yupqa kesmadir. Gistologik preparatlar asosan tirik yoki o'lik fiksasiyalangan to'qimalardan tayyorlanadi. Preparat tayyorlash usullari bir necha bosqichdan iborat:

materialni olish, fiksasiya qilish, yuvish, suvsizlantirish, zichlashtirish, quyish, kesmalar tayyorlash, bo'yash, kesmalarni suvsizlantirish, yoritish, yakunlash.

1. Materialni olish. Gistologik preparat tayyorlashda bu usul asosiy bosqichlardan biri hisoblanadi. Material olishning bir nechta usuli mavjud. A. Eksperimental hayvonlar (it, mushuk, kalamush, quyon, sichqon) o'ldirib yoki operatsiya qilib olish. B. O'ldirilgan hayvondan olish. Ekperimental usulda olingan to'qimada deyarli o'zgarishlar bo'lmaydi. Preparatda to'qimaning normal holatdagi mikroskopik tuzilishini ko'zimiz bilan ko'rishimiz mumkin. O'ldirilgan hayvondan olingan usulda to'qimalarning o'zgarishi hayvon o'lgandan so'ng qancha vaqt o'tganligiga bog'liq. Vaqt qancha ko'p o'tsa to'qimalarning tarkibi shunchalik ko'p mikroskopik o'zgarishlarga uchraydi. Shuning uchun ekspeditsiya vaqtlarida hamma vaqt fiksator eritmalarini olib yurish va uchragan hayvonlardan olingan materiallarni darhol fiksatorga solib qo'yish lozim.

2. Fiksasiya qilish. O'rganish uchun olingan materialni darhol fiksasiya qilish zarur. Fiksasiya qilishdan asosiy maqsad to'qimalarni hayotiy strukturasi saqlab qolishdir. Biz bunda quyidagilarga e'tibor berishimiz mumkin. 1. Fiksatorli eritma to'qima oralig'iga tez kiradigan bo'lishi zarur. 2. To'qima o'zining tabiiy hayotiy tuzilishini o'zgartirmasin. Organizmdagi organ va to'qimalarning zichligi har xil bo'lganligi tufayli fiksatorlar ham har xil qilib olingan. To'qimalarda fiksasiya jarayoni yaxshi ketishi uchun quyidagilarga e'tibor berish zarur. Bo'lakchalarning kattaligi 1-2 kub.sm.dan ortmasligi (bo'lakcha qanchalik kichik bo'lsa, fiksasiya shunchalik sifatli bo'ladi) kerak. Fiksator miqdori yetarli bo'lishi (har bir bo'lakcha uchun uning hajmi 20 marta ko'proq fiksator bo'lishi lozim). Bo'lakchalar fiksatorida erkin holda joylashishi kerak. Bo'lakchalar soni ko'p bo'lsa, shunga muvofiq ravishda fiksator miqdori ham ko'p bo'ladi. Fiksasiya qilish muddati kamayib yoki oshib ketmasligi lozim. Agar fiksasiya qilish muddati kamayib ketsa, u holda to'qima yaxshi qotmasligi yoki uzoq muddat turib qolsa, haddan tashqari qotib, mikroskopik tuzilishini o'zgartirishi mumkin. Ayrim fiksatorlar deyarli barcha laboratoriyalarda qo'llaniladi. Bularga quyidagilar kiradi. 1. Formalin – ancha keng qo'llaniladigan fiksator bo'lib,

uning ko'proq 10-12 %li eritmasi ishlatiladi. Agar 10 % li formalin eritmasini tayyorlamoqchi bo'lsak, 100 % li formalindan 10 ml.olib 90 ml.suvga solib aralashtiriladi. Formalin uchun eng qulay fiksasiya muddati odatda xona haroratida 24-48 soatdir. 2. Etil spirti Fiksator sifatida 70 yoki 96 % li spirt ishlatiladi. Bajariladigan ishning maqsadga qarab spirt konsentrasiyani o'zgartirilishi mumkin.

3. Buen suyuqligi. Buen suyuqligi laboratoriya sharoitida yaxshi fiksator hisoblanadi. Buen suyuqligini quyidagi eritmalardan tayyorlanadi. Pikrin kislotasining to'yingan eritmasi – 75 ml Formalin - 25 ml Muz sirka kislotasi 5 ml Fiksator odatda ish boshlashdan oldin tayyorlanadi. Pikrin kislota suvda tez erimaydi. Shuning uchun u oldindan tayyorlangan bo'lishi kerak. Buning uchun idishga 25-30 gramm kristall holdagi pikrin kislota solinib, ustiga 1 litr qaynoq distillangan suv qo'yiladi. Tayyor bo'lgan fiksatorda olingan materiallarni 24 soat va undan ham uzoqroq vaqt ushlab turish mumkin. So'ng 2-3 marta 70-800 li spirtga solib tarkibidagi pikrin kislota yuviladi va suvsizlantiriladi, so'ng formalinda qotiriladi. 3. Yuvish. Materialni fiksasiya qilib bo'lgandan so'ng fiksator to'kib tashlanadi, bo'lakchalar esa suvda yuviladi. Bo'lakchalarni yuvishdan asosiy maqsad, to'qimani fiksator qoldiqlari va boshqa moddalardan tozalashdir. Ba'zi fiksatorlar ham borki, ulardan so'ng to'qima yuvilmasdan keyingi bosqichga o'tiladi.

4. Suvsizlantirish – zichlashtirish. Yuvilgan to'qima bo'lakchasini suvsizlantirish lozim. Buning uchun ushbu bosqich muhim ahamiyatga ega. Bu esa keyingi bosqich tayyorlanadigan preparat uchun muhim hisoblanadi. Bo'lakchalarni suvsizlantirish uchun gradusi oshib boradigan spirtlarda o'tkaziladi. YA'ni to'qima 500 dan boshlab 60, 70, 80,90,96% va nihoyatda 100 gradusli spirtlarda suvsizlantiriladi.

5. Quyish. To'qimalardan tayyorlangan bo'lakchalar spirtde suvsizlantirilib, zichlanganiga qaramay yupqaroq kesma olish uchun yetarli darajada qattiq bo'lmaydi. Buning uchun esa maxsus moddalar bilan singdiriladi. Shundan keyin bo'lakchalar bir xil zichlikka ega bo'ladi. Quyish materiali sifatida parafin, selloidin va boshqalardan foydalanish mumkin. Bu to'qimalarga yaxshi singib 1-2 kunda preparat tayyorlash mumkin. Sitologiya, gistologiya, embriologiyada bu jarayon bilan preparat tayyorlash

yaxshi natija beradi. To‘qimalardan chiqazib yuborilgan suvning o‘rniga 560 haroratda suyuq holdagi parafin kiradi va sovutilgandan so‘ng yetarli darajada qotadi.

6. Kesmalar tayyorlash. To‘qimalar parafinda yetarli darajada qotirilgandan so‘ng, bo‘lakchalar atrofi parafin bilan o‘ralgan holda kesib olinadi va kichik yog‘ochdan yasalgan kubchalarga o‘rnatiladi. Keyin esa parafin bilan qotiriladi. Tayyorlangan kesish uchun to‘qima yopishtirilgan kubik mikrotomni blok tutgichga o‘rnatib mahkam siqiladi. Biz uchun kerakli qalinlikdagi mikrotom pichog‘i o‘rnatiladi va kesa boshlanadi. Agar parafin yumshoq bo‘lsa, tayyorlangan kesmalar burishib qolishi mumkin. U holda to‘qima o‘rnatilgan blokdagi parafinni biroz sovitish kerak. Agar parafin yumshoq bo‘lsa, tayyorlangan kesmalar burishib qolishi mumkin. U holda to‘qima o‘rnatilgan blokdagi parafinni biroz sovitish kerak. Agar parafin haddan tashqari qattiq bo‘lsa, kesmalar maydalanib ketadi yoki buralib chiqadi. Bunday bo‘lmasligi uchun kesmalarni birmuncha yupqaroq qilib olish va blok yoniga lampani yoqib qo‘yish kerak. Ayrim holatlarda kesmalar mikroton pichog‘iga yopishib qoladi. Buning uchun kesmaga bir yoki ikki tomchi suv tomizilib nina bilan asta-sekin so‘rib olinadi. Tayyorlangan yoki tajriba uchun yaxshi chiqqan kesmalarni preparovka nina bilan mikroton pichog‘idan olinadi va asta 400 atrofida ilitilgan suvga solinsa kesmalar darhol to‘g‘rilanadi. To‘qimadan kerakli miqdordagi kesmalar olingandan so‘ng preparat tayyorlanishning navbatdagi bosqichiga o‘tiladi.

7. Bo‘yash. To‘qimaning tarkibiy qismlari turli kimyoviy xususiyatga ega bo‘lganligi sababli, ularni ko‘rish uchun turli xil buyoqlar bilan bo‘yash lozim. Gistologiyada ishlatiladigan buyoqlar asosan uch guruhga bo‘linadi: asosli, kislotali va neytral buyoqlar. Asosli buyoqlar hujayra asosini tashkil etuvchi qismlarini ya‘ni yadroni uning xromatin moddasini yaxshi bo‘yaydi. Shuning uchun bu buyoqlar bazofil (asosni yaxshi bo‘yovchi) buyoqlar deyiladi. Masalan, germotoksilin, hujayra yadrosini binafsha ranga bo‘yab beradi. Shuning uchun yadroni bazofil strukturalar ham deyiladi. Kislotali bo‘yoqlar kislota yoki kislota tuzlaridan tashkil topgan. Eng ko‘p qo‘llanuvchi bunday buyoqlardan boshqa xujayra sitoplazmasini va hujayralar aro moddani pushti rangga bo‘yaydi. Neytral buyoqlar suvda eritilgan kislotali va asosli

buyoqlar aralashmasidan hosil bo‘ladi. Bunga misol qilib amalda keng qo‘llanuvchi sudan SH buyog‘ini ko‘rsatish mumkin. Bo‘yash uchun bita buyoq ishlatish oddiy, ikkita va undan ortiq buyoqlar, masalan, nordon va kislotali buyoqlar bir vaqtning o‘zida qo‘llanilsa, murakkab bo‘yash deyiladi. Bu usulda ko‘proq gemotoksilineozin qo‘llaniladi. Bo‘yash tartibi: kesmalar suvda chayib, 2-3 minut eozinga solinadi, qayta suvda chayib, keyin suvsizlantiriladi va yakunlashga o‘tiladi. Preparatda yadro binafsha rangga sitoplazma va hujayralararo modda pushti rangga sitoplazma va xujayralararo modda pushti rangga bo‘yaladi.

8. Kesmalarni suvsizlantirish. Tekshirish uchun olingan kesmalar yaxshilab bo‘yalgandan so‘ng distirlangan suvda bir necha bor yuviladi. Keyin esa ularni suvsizlantirish kerak. Kesmalarni yaxshilab yuvish uchun gradusi oshib boruvchi 60,80,96 va 1000 li spirtlardan o‘tkaziladi. Har biri spirtida 2-3 minut ushlab turiladi.

9. Yoritish. Olingan preparatni yaxshilab yoritish uchun har xil suyuqliklardan foydalaniladi. Buning uchun karbol-ksilol, karbol-toluol yoki karbol skipidar eritmalari qo‘llaniladi. Eritmada kesmalar 0,5-1 minut ushlanadi. Keyin toza ksilolga solib 1-2 minut ushlanadi.

10. Yakunlash. Ishni yakunlash uchun preparat ksiloldan olib havoda ko‘p ushlamasdan ksilol yuqini filtr qog‘ozga shimdirib olinib, ustiga bir tomchi balzam tomiziladi, keyin esa yopqich oyna bilan asta yopiladi.

Natijalar: Tadqiqot jarayonida gistologik preparatlarni tayyorlashning asosiy bosqichlari amalda bajarildi va har bir jarayonning ahamiyati aniqlandi. Fiksatsiya bosqichida biologik material tuzilishi saqlab qolinishi ta‘minlandi. Suvsizlantirish va parafinlash jarayonlari to‘qimaning mustahkamlanishiga xizmat qildi. Mikrotom yordamida olingan yupqa kesmalar sifatli tayyorlandi va bo‘yash usullari qo‘llanilgandan so‘ng mikroskop ostida to‘qima hamda hujayra tuzilishi aniq ko‘rindi.

Tayyorlangan preparatlar morfologik tahlil uchun yaroqli holatga keltirildi. Olingan natijalar gistologik preparatlarni tayyorlashda har bir bosqichga to‘g‘ri rioya qilish sifatli va ishonchli mikroskopik tahlil uchun asos bo‘lishini ko‘rsatdi.

Xulosa: Gistologik preparatlarni tayyorlash texnologiyasini o'rganish jarayonida ushbu sohada har bir bosqichning o'ziga xos ahamiyati borligi aniqlandi. Biologik materialni to'g'ri fiksatsiya qilish, bosqichma-bosqich suvsizlantirish, parafinlash, sifatli kesma tayyorlash va maqsadga muvofiq bo'yash usullarini qo'llash natijaning ishonchli bo'lishini ta'minlaydi. Tadqiqot shuni ko'rsatdiki, texnologik talablarga qat'iy rioya qilish gistologik tahlil sifatini oshiradi va morfologik tuzilishni aniq baholash imkonini beradi. Mazkur ish gistologiya fanini chuqur o'zlashtirish, amaliy ko'nikmalarni shakllantirish hamda kelgusida tibbiyot va biologiya sohasida malakali mutaxassis bo'lib yetishish uchun muhim nazariy va amaliy asos bo'lib xizmat qiladi.

Foydalanilgan adabiyotlar:

1. Junqueira L. C., Carneiro J. *Basic Histology: Text and Atlas*. — 15th ed. — New York: McGraw-Hill Education, 2018. — 480 p.
2. Ross M. H., Pawlina W. *Histology: A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology*. — 8th ed. — Philadelphia: Wolters Kluwer, 2020. — 984 p.
3. Gartner L. P., Hiatt J. L. *Color Atlas and Text of Histology*. — 7th ed. — Philadelphia: Wolters Kluwer, 2017. — 608 p.
4. Bancroft J. D., Gamble M. *Theory and Practice of Histological Techniques*. — 8th ed. — Elsevier, 2019. — 638 p.
5. Kuznetsov S. L., Mushkambarov N. N. Gistologiya, sitologiya i embriologiya. — M.: GEOTAR-Media, 2016. — 640 s.
6. Atabayev Sh. A. Gistologiya: o'quv qo'llanma. — Toshkent, 2020. — 256 b.