



AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASININ PREZİDENTİ YANINDA
ELMİN İNKİŞAFI FONDU

MÜQAVİLƏYƏ ƏLAVƏ

**Azərbaycan Respublikasının Prezidenti yanında
Elmin İnkişafı Fondunun 2014-cü ilin əsas qrant müsabiqəsi
çərçivəsində təqdim olunmuş kompleks elmi-tədqiqat
proqramlarının (EIF-2014-9(24)-KETPL) qalibi olmuş
layihənin yerinə yetirilməsi üzrə**

YEKUN ELMİ-TEXNİKİ HESABATA ƏLAVƏ

Layihənin adı: **İnsanın sağlam və xəstəlik hallarında zülalların struktur-funksiya xassələrinin multidissiplinar tədqiqi**

Layihə rəhbərinin soyadı, adı və atasının adı: **Qasimov Oktay Kazım oğlu**

Qrantın məbləği: **500 000 manat**

Layihənin nömrəsi: **EIF-2014-9(24)-KETPL-14/01/1-M-11**

Müqavilənin imzalanma tarixi: **28 iyul 2015-ci il**

Qrant layihəsinin yerinə yetirilmə müddəti: **24 ay**

Layihənin icra müddəti (başlama və bitmə tarixi): **01 avqust 2015-ci il – 01 avqust 2017-ci il**

Layihənin yekun hesabatında görülən işlər və alınan nəticələr kifayət qədər geniş işıqlandırılmışdır. Lakin bunalar iki il ərzində görülən işlərin tam həcmi əks etdirmir. Ona görə də yaradılmış metodiki işlər və alınan nəticələrin toplusu tam şəkildə əlavə olunur. Məqsəd külli miqdarda alınan müxtəlif spektrlər (səth gücləndirilmiş Raman və Furey Çevirici İnfraqırmızı spektrlər) analizinə və statistik hesablamalarına kifayət qədər vaxt tələb olmasını göstərməkdir.

Metodiki işlər

1. Xəmilüminessensiya üsulu ilə sərbəst radikalların durumunun qiymətləndirilməsi Orqanizmdə (toxuma, hüceyrə) patoloji proseslərin inkişafının əsasında sərbəst radikal oksidləşmə (SRO) proseslərinin stasionar gedişinin pozulması durur. SRO proseslərinin inkişafının öyrənilməsinin informativ metodlarından biri də xəmilüminessensiyadır (XL).

Hazırkı işdə XL reaksiyanın inisiatoru olaraq götürülmüş hidrogen peroksidin (H_2O_2) normal və Q-6-FDH çatışmayan eritrositlərlə qarşılıqlı təsirinə baxılıb və aşağıda təsvir olunan optimal formada aparılıb.

Kontrol ($n=18$) və irsi Q-6-FDH çatışmayan ($n=22$) qan nümunələri "acqarına" dirsək venasından götürülüb, antikoagulyant (K_3EDTA) əlavə edilmiş qablara yerləşdirilib. Sentrifuqada (400g, 5dəq) çökdürülərək plazma eritrositlərdən ayrılıb. Eritrosit çöküntüsü fizioloji məhlulda (145 mol/l NaCl) hairlanmış 0,1M natrium-fosfat buferi ($pH=7,4$) ilə 3 dəfə təkrarlanmaqla sentrifuqada (400g, 10 dəq) yuyulub çökdürülüb. Çöküntü 1:9 nisbətində soyuq bidistillə suyu ilə lizisə uğradılıb, lizat nümunəsi (10000g, 15 dəq) sentrifuqada fırladılmaqla, çöküntüdən ayrılıb və təmiz lizat nümunəsi (200 mkl) istifadə olunub. İnisiator olaraq, hidrogen peroksidin (H_2O_2) 0,01% məhlulundan (200 mkl) istifadə olunub.

2. Model sistemində aparılan işin metodu.

Hesabat dövründə həmçinin model sistem olan ağ siçovullarda (çəki 150-200gr) *in vivo* halında ($NaNO_2$) natrium nitritin orta dozalarında (30mg / kg) onun qırmızı qan hüceyrələrinə oksidləşdirici təsiri zamanı selenin (Na_2SeO_3 natrium selenit) tənzimləyici rolu öyrənilmişdir. Oksidləşdirici proseslərinin aşağıdakı parametrlərinə baxılmışdır. Bunlar met-hemoglobin toplanması (MetHb), lipid peroksid oksidləşməsi komponentləri yığılması (LPO) və antiperoxid fermentlərinin (GP və katalaza) aktivliyidir. Tədqiqat zamanı siçovullar Na_2SeO_3 (0,5 mq / kq) və $NaNO_2$ (30 mg / kg) həm birdəfəlik, həm də birgə birgə təsirinə məruz qalmışlar. Bunun üçün maddələr siçovulların qarın nahiyəsinə müxtəlif zaman müddətində iynə vasitəsi ilə yeridilmişdir. MetHb molekullarının natrium nitritin vasitəsi ilə vadar edilmiş toplanma kinetikasını geniş zaman intervalında tətbiq edilən zamandan 48 saat müddətinə qədər tətbiq edilmişdir. Təyin edilmişdir ki, ilk 10-15 dəqiqədə MetHb-nin miqdarı artmağa başlayır və bir saat müddətində maksimum səviyyəsini çatır. Bundan sonra göstəriciləri yavaş-yavaş aşağı düşür və ikinci saatin axırında maksimum qiymətin 80% -ə çatır. 8-ci saatda MetHb-nin qiyməti 20%, 48 saatdan sonra isə ilkin qiymətə çatır.

3. Ag nano-zərrəciklərinin şüşə üzərinə hopdurulması

Əvvəlcə şüşə slaydları xrom turşusu məhlulunda ən azı 1 saat saxlayırıq. Sonra onları distillə suyu ilə yuyuruq. 0.22g $AgNO_3$ – ü 26 ml distillə suyunda həll edirik. Bunun üçün onu otaq temperaturunda, maqnit qarışdırıcı ilə birgə həll olmağa qoyuruq. Daha sonra həmin məhlula **5% - li NaOH** məhlulundan **8 damcı** əlavə edirik. Bu zaman tünd qəhvəyi rəngli çöküntülər yaranır. Bundan sonra isə oraya **1 ml – dən az (~ 0.9 ml) NH_4OH** – i damcı – damcı əlavə edirik. Bu vaxt ammonium hidroksid çöküntüləri həll edir. Alınmış şəffaf məhlulu buzun içinə qoyuruq və məhlulda temperatur **5 °S** olanda qurudulmuş şüşə slaydları oraya daxil edirik. Həmin məhlula **0.35 g D – qlükozanın 4ml sudakı** məhlulunu əlavə edirik. **5 °S** – də **2 dəqiqə** qaldıqdan sonra məhlul olan qabı buzdan çıxarıyıq və yenidən maqnit qarışdırıcı ilə birgə **30 °S** – yə qızmağa qoyuruq. Məhlulun rəngi bu zaman **sarı yaşıldan sarımtıl qəhvəyi** rəngə çevrilir, slaydların rəngi isə **yaşımtıl** rəng olur. Daha sonra slaydlar məhluldan çıxarılır. Su ilə yuyulur

və otaq temperaturunda **1 dəqiqə ultrasəsle** işlənir. Bundan sonra slaydlar yenidən su ilə yaxalanır və eksperiment üçün suyun içində saxlanılır. Aşağıdakı şəkildə şüşənin üzərinə çökdürülmüş Ag nano-zərrəcikləridir.



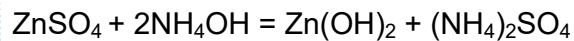
Ag kolloidin hazırlanması

Əvvəlcə 90mg AgNO₃ – ün 500ml distillə olunmuş sudakı məhlulunu hazırlayırıq və onu sürətli qarışdırıcı ilə 1saat qaynamağa qoyuruq (190 °S – də). Həmin məhlula 10ml 1% - li sodium sitrat məhlulu əlavə edirik və yenidən 1 saat qaynadırıq. Bundan sonra alınmış məhlulu ümumi həcm 420ml olana qədər distillə suyu əlavə edərək durulaşdırırıq. Bu yolla alınan məhlul yaşımtil – sarı rəngdə olur və onu otaq temperaturunda qaranlıq yerdə 1 – 2 ay saxlamaq olar.

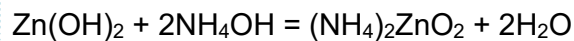
ZnO təbqələrinin alınması.

Şüşə slaydlar xromik turşu, sonra isə su və aseton vasitəsi ilə təmizlənir.

İlk növbədə ZnSO₄ məhlulundan (NH₄)₂ZnO₂ alınır. Bunun üçün NH₄OH (25% -li) məhlulu 0.5 M ZnSO₄ (100ml) məhluluna əlavə edilir və ağ rəngli Zn(OH)₂ çöküntüsü alınır.

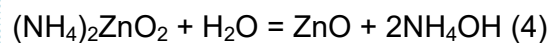


NH₄OH məhlulunun sonrakı daxil edilməsi bu çöküntüləri aşağıdakı reaksiya vasitəsi ilə həll edir



Bundan sonra məhlul 500 ml-ə qədər durulaşdırılaraq 0.1 M konsentrasiyalı məhlul alınır.

Süşə slaydları bu məhlula və isti su (95-100 °S) məhlullarına dəfələrlə salmaqla ZnO təbəqəsi alınır. Bu proses aşağıdakı reaksiya vasitəsi ilə alınır.



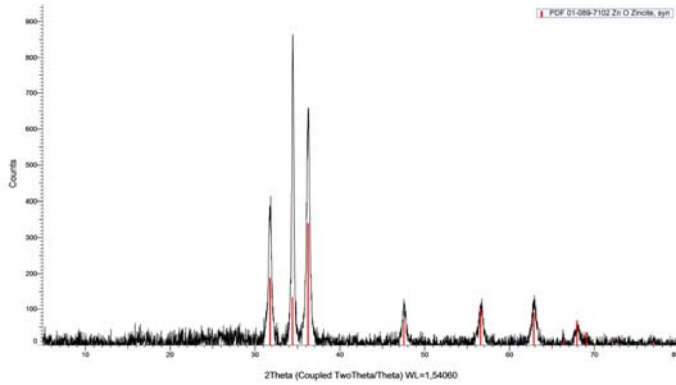


ZnO, 30 dəfə

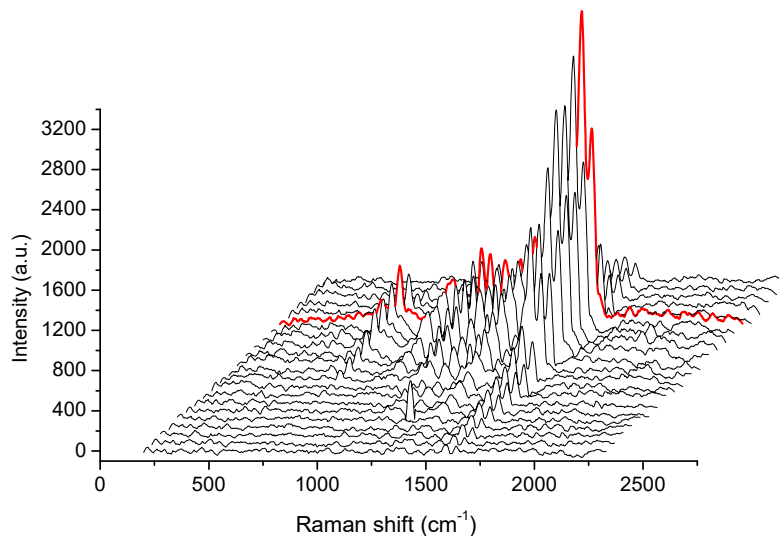
ZnO, 10 dəfə

Şüşə üzərində alınan ZnO təbəqələri 150°C –də saxlanmaqla möhkəmləndirilir.

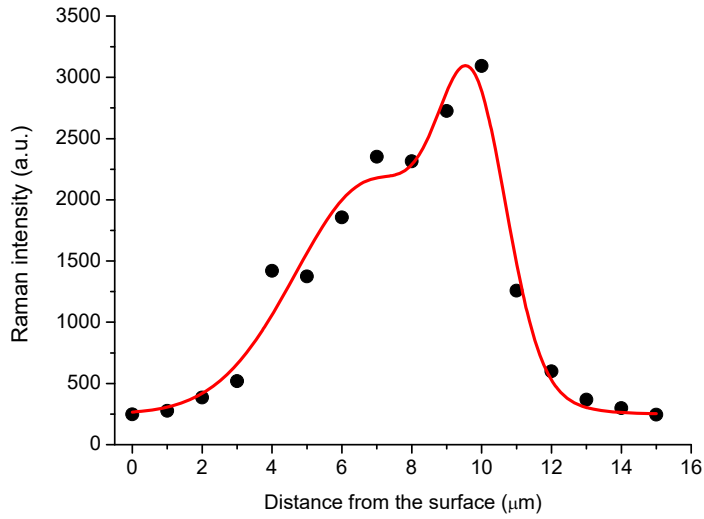
Rentgen difraksiya analizi göstərmişdir ki, həqiqətəndə şüşənin üzərində olan təbəqə ZnO-dur və nano-zərrəciklərin ölçüləri təqribən 30 nm tərtibindədir.



Aşağıdakı şəkildə ZnO təbəqəsinin üzərinə çəkilmiş qanın səthdən olan məsafədən asılı Raman spektrləri göstərilmişdir. Göründüyü kimi spektrin intensivliyi səthdən olan məsafədən asılıdır.



Aşağıdakı şəkildən göründüyü kimi səthdən təqribən 9 mikron yuxarıda intensivlik maksimum olur.

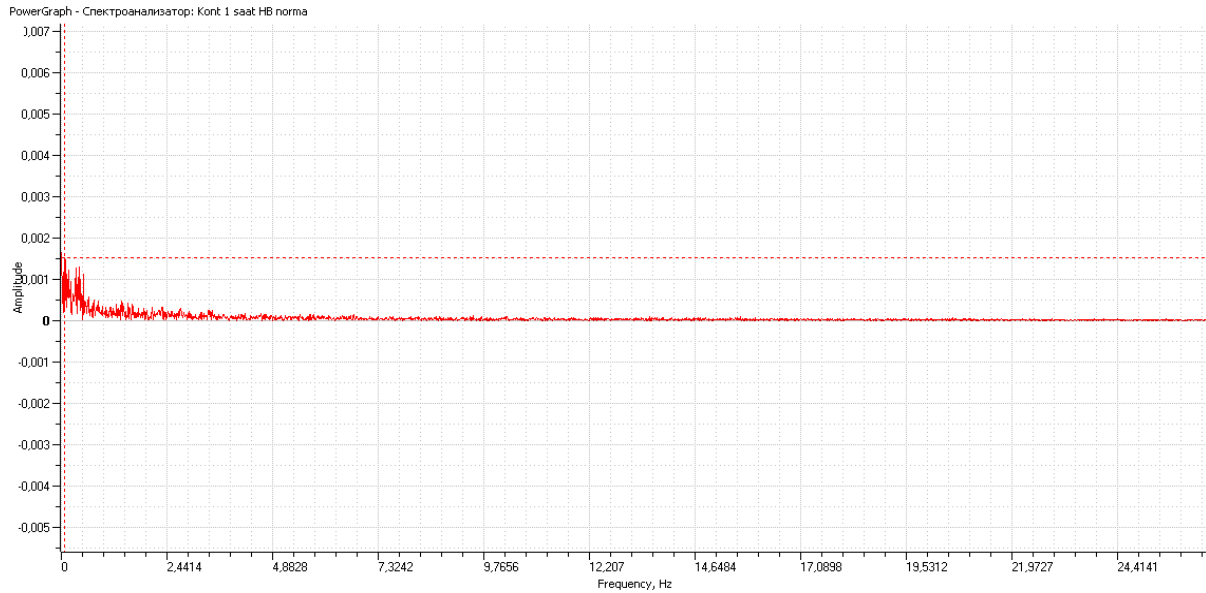


Xemilüminessensiya üsulu alınan nəticələrin cədvəl və qrafiklərlə təsviri

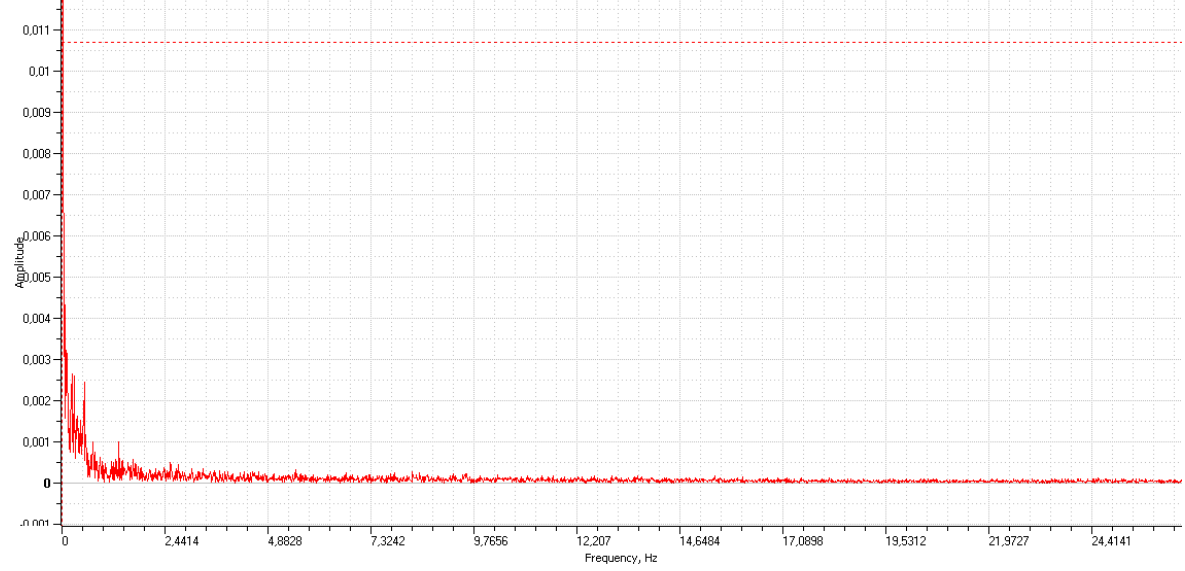
Nümunələr		20 ⁰ C, 1 saatlıq ekspozisiya XL intensivliyi, mV	20 ⁰ C, 2 saatlıq ekspozisiya XL intensivliyi, mV
Normal	kontrol	1,5 ± 0,2	2,0 ± 0,3
	+ H ₂ O ₂	58 ± 6,1	76,3 ± 6,8
Q-6-FDH çatışmayan	kontrol	1,7 ± 0,3	4,2 ± 0,5
	+ H ₂ O ₂	36,9 ± 5,2	20,1 ± 3,5

Ölçmələr otaq temperaturunda (20⁰ C) aparılıb

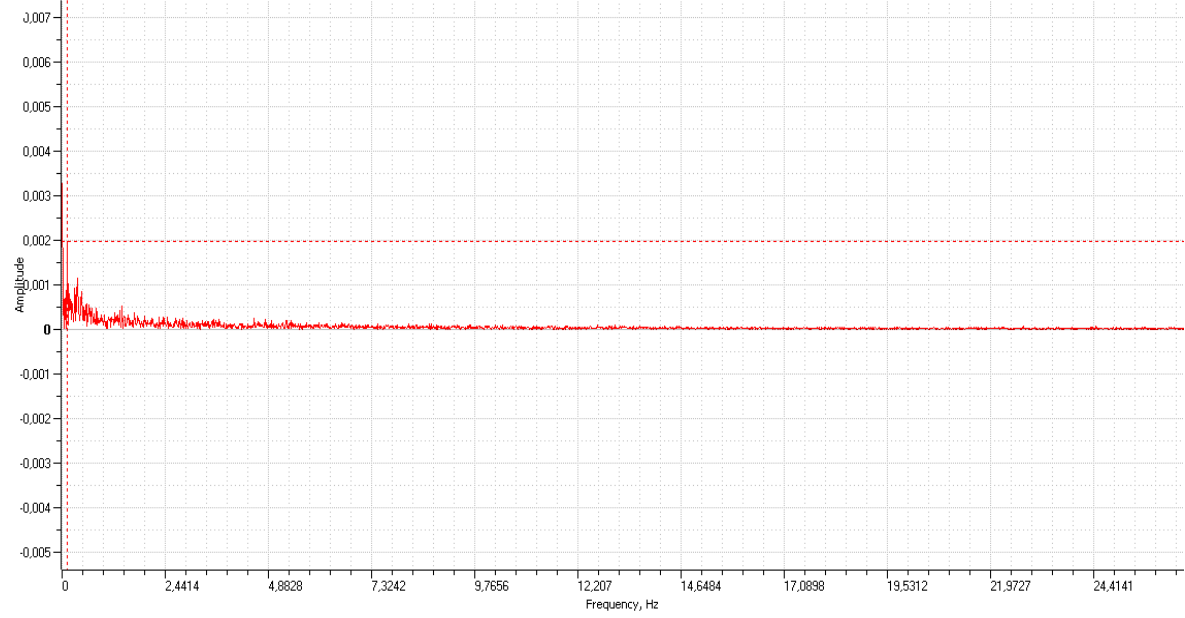
Spektronalizatorda alınmış şəkillər əlavə olunub.



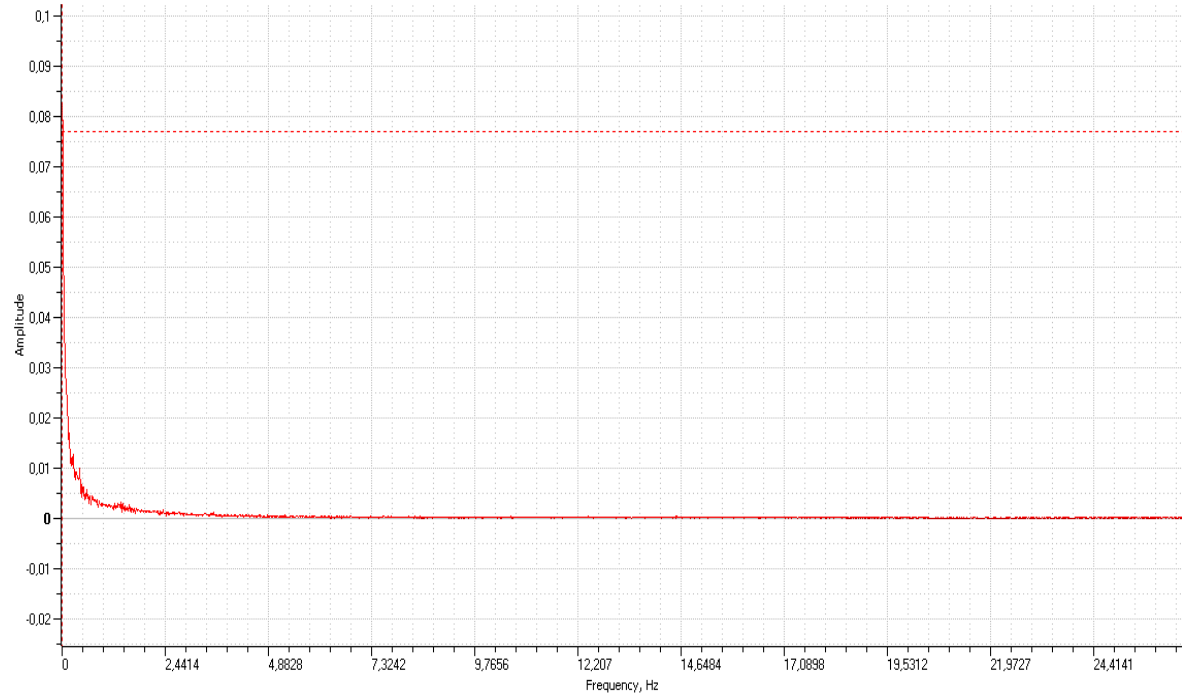
PowerGraph - Спектроанализатор: Kont ++1 Hb + H2O2



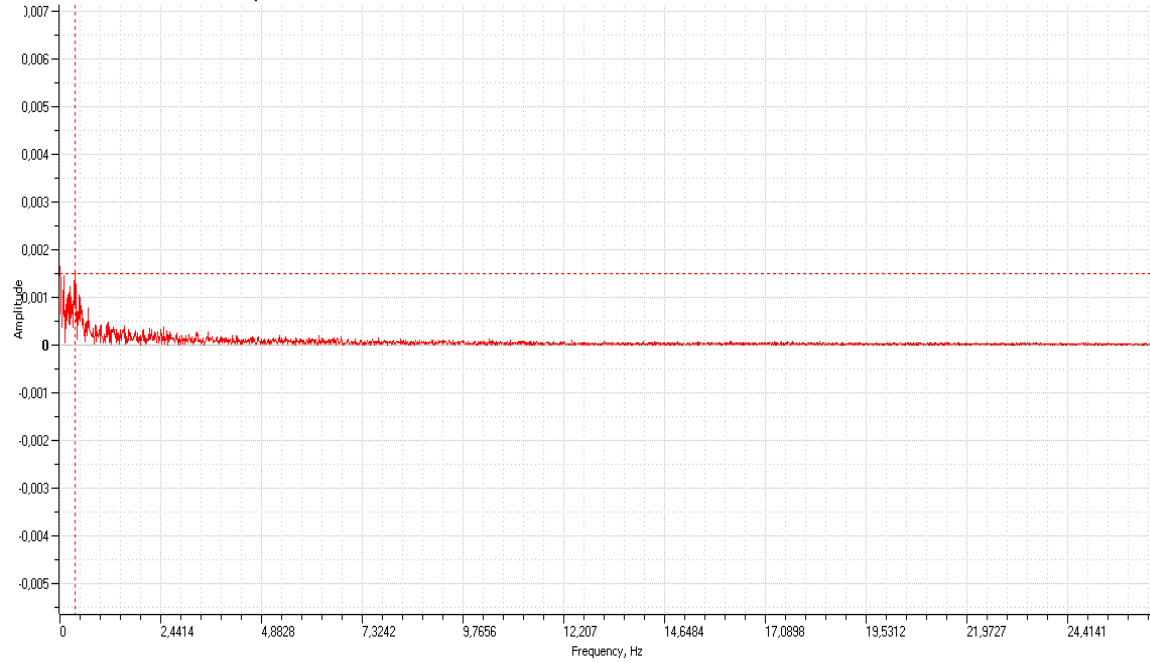
PowerGraph - Спектроанализатор: 2 saat kont Norma

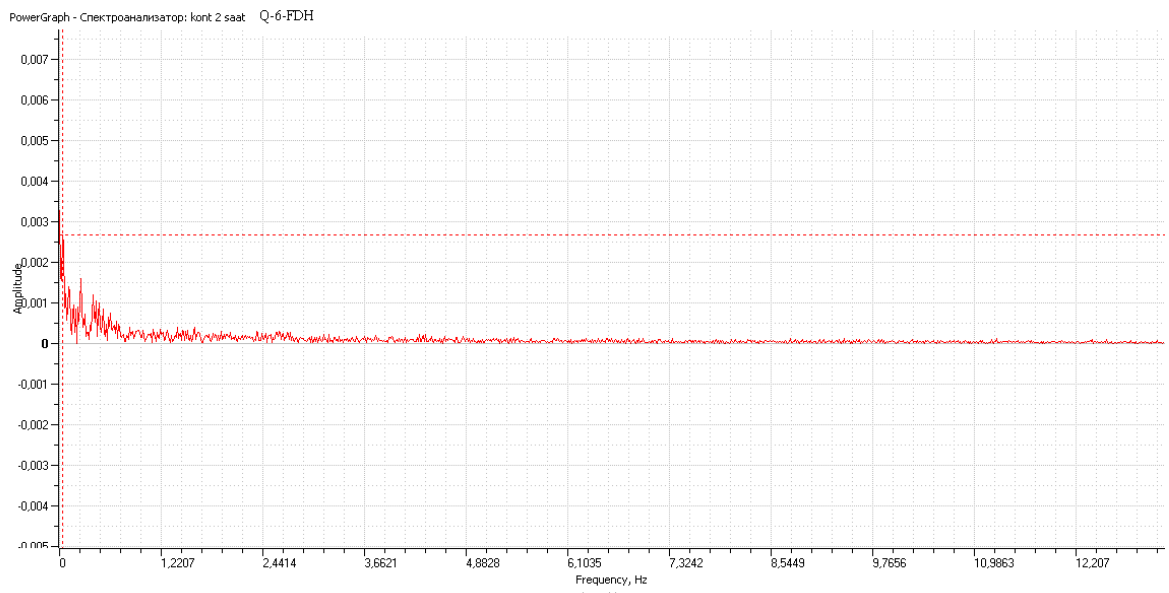
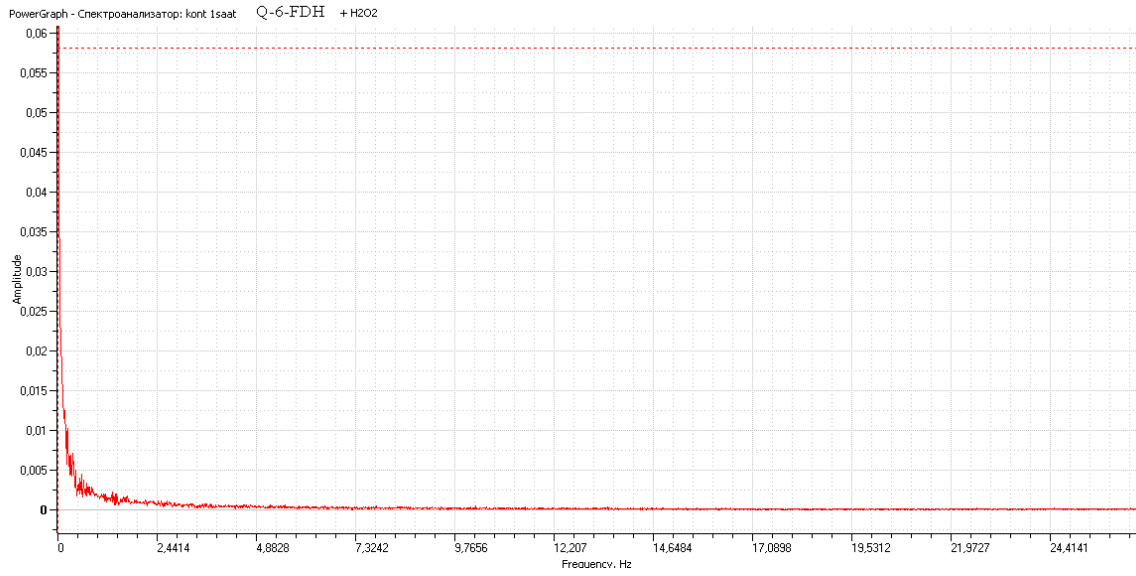


PowerGraph - Спектроанализатор: 2 saat kont Norma + H2O2

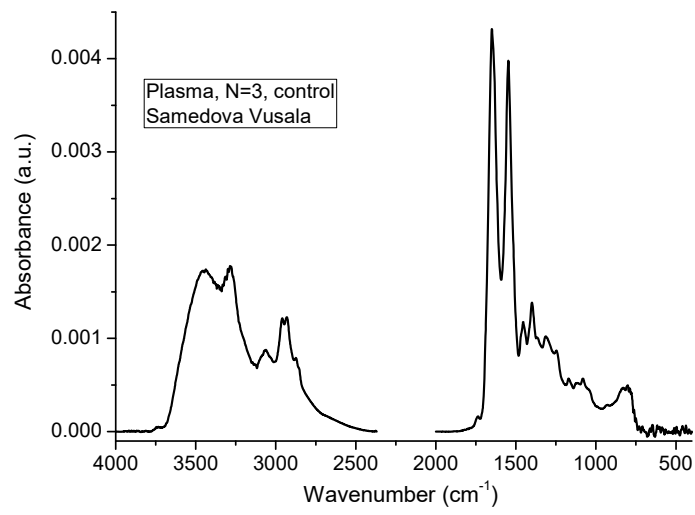
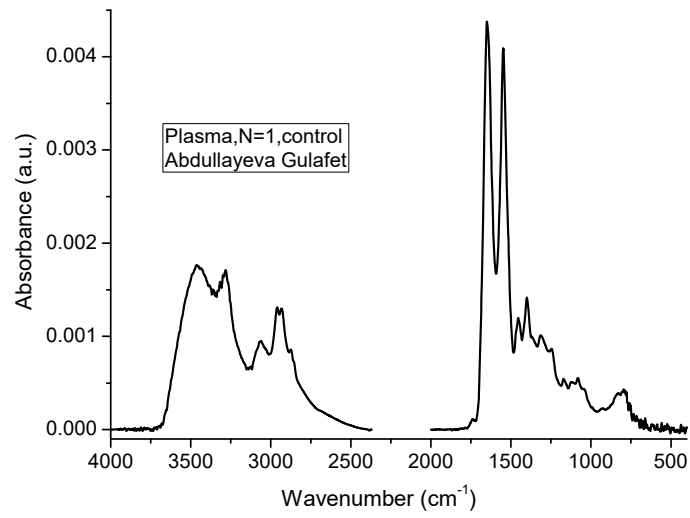


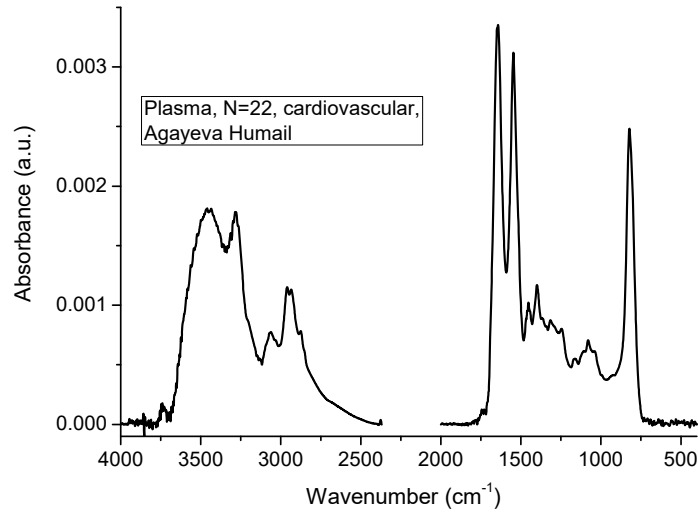
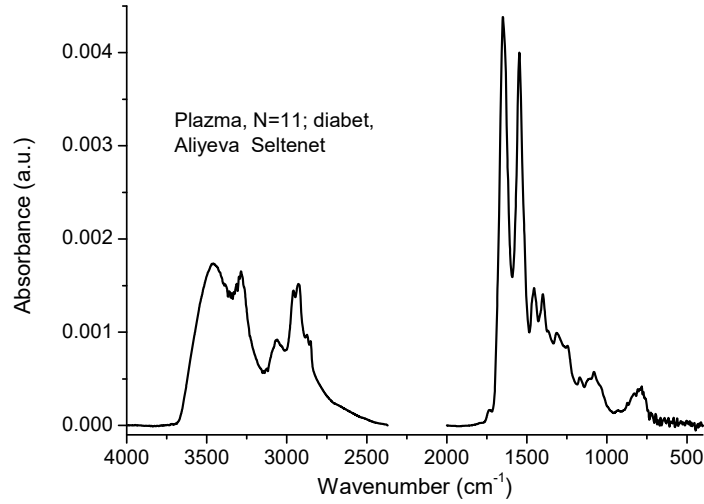
PowerGraph - Спектроанализатор: kont 1 saat Q-6-FDH



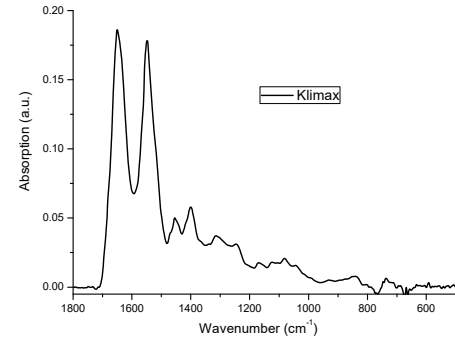
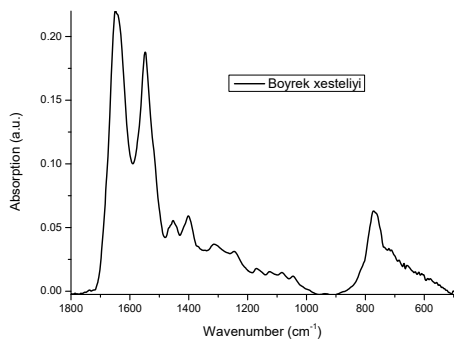
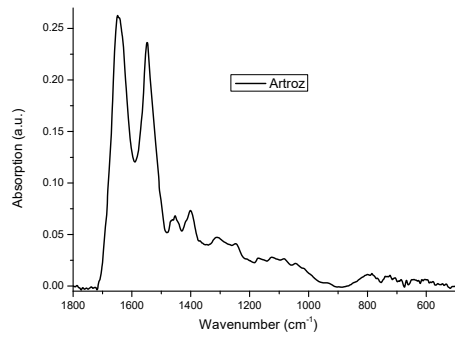
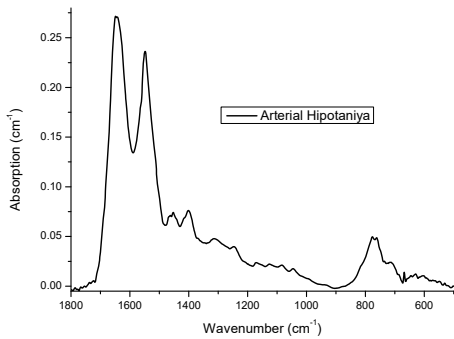
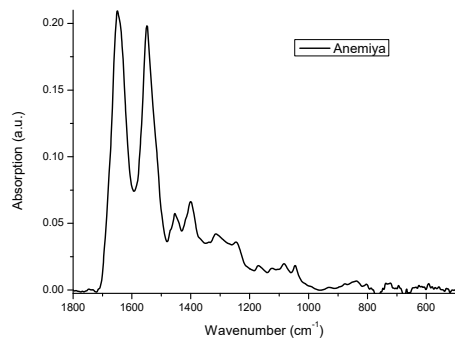
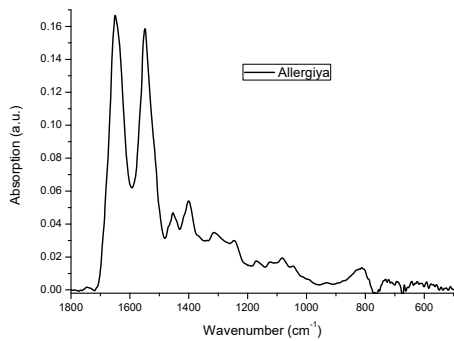


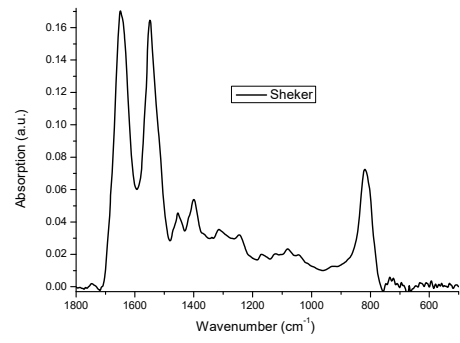
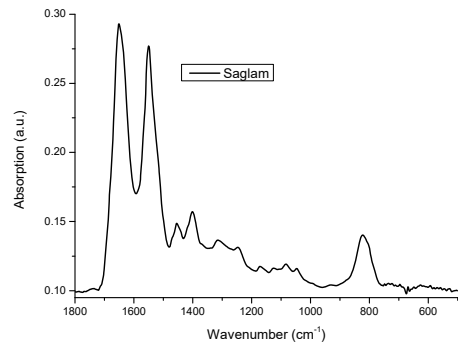
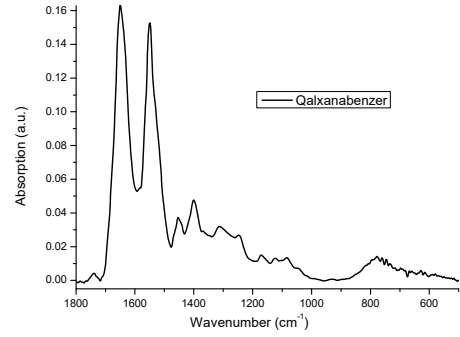
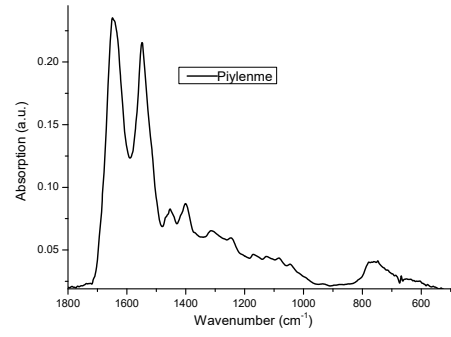
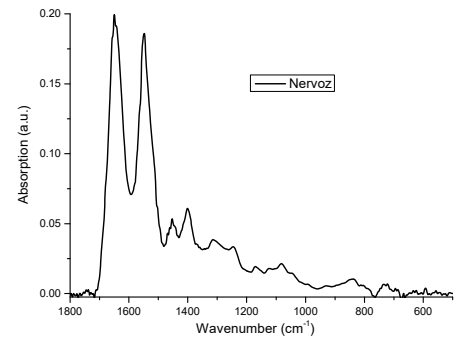
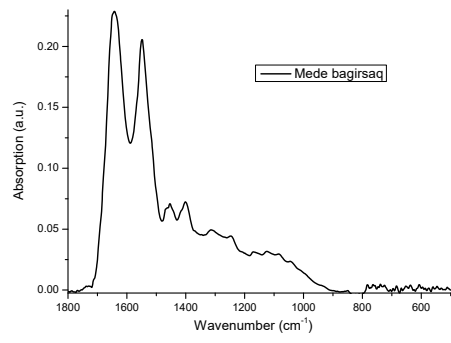
Furye Çevirici İnfra kırmızı Spektroskopiya ilə alınan nəticələr

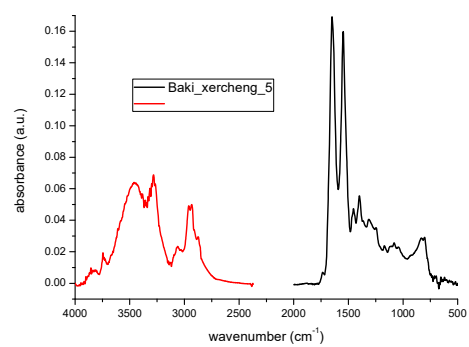
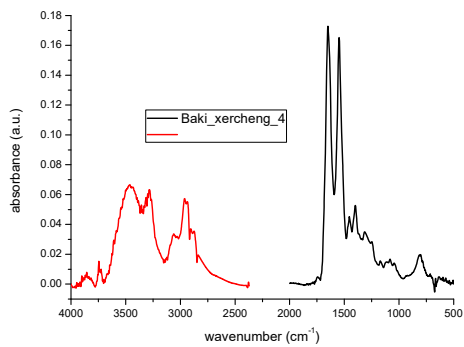
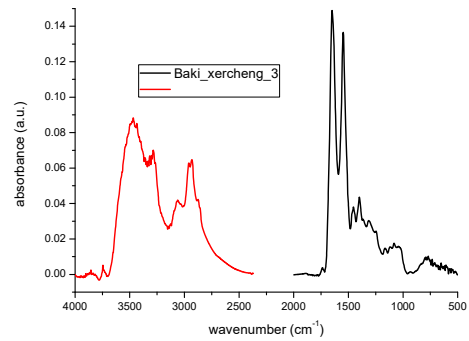
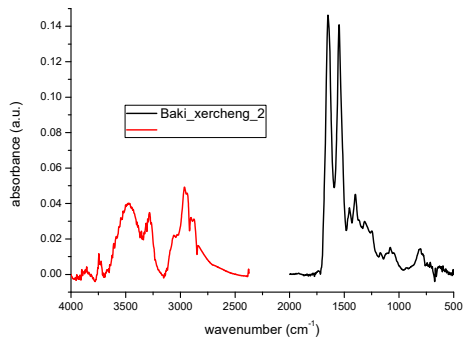
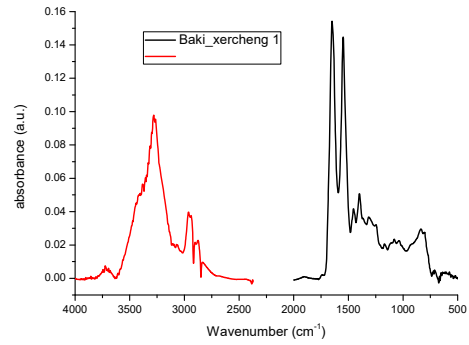
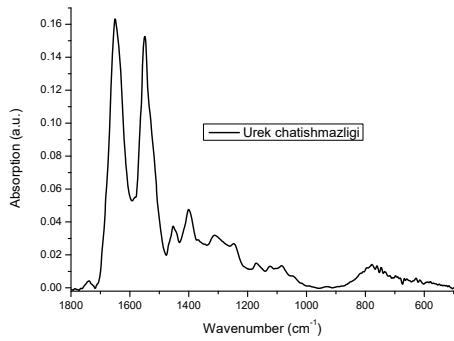
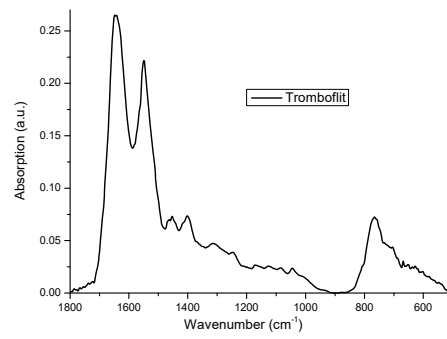
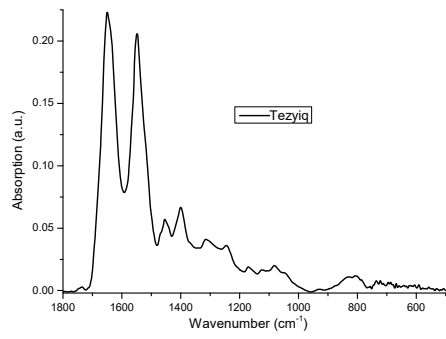




Yuxarıda göstərilən şəkillərdən aydındır ki, xəstəlik halında spektrdə müəyyən dəyişikliklər baş verir. Yürək-damar xəstəliyi zamanı bəzi xəstələrdə 820cm^{-1} ətrafında çox intensiv yeni zolaq yaranır (N=22). Şəkər xəstələrində isə $1450/1400$ zolaqlarının amplitudlarının nisbəti artır. Hər iki dəyişikliklərin molekulyar təbiətini təyin etmək üçün iş aparılır. Bundan başqa qan nümunələrinin biokimyəvi və ümumi qan analizləri ilə olan dəyişikliklərlə spektral parametrlər arasında uyğunluğun olması tədqiq edilir. Yuxarıda göstərilən spektrlər təcrübə nəticələrinin bir hissəsidir. Bütün spektral nəticələr işə əlavə olunur.

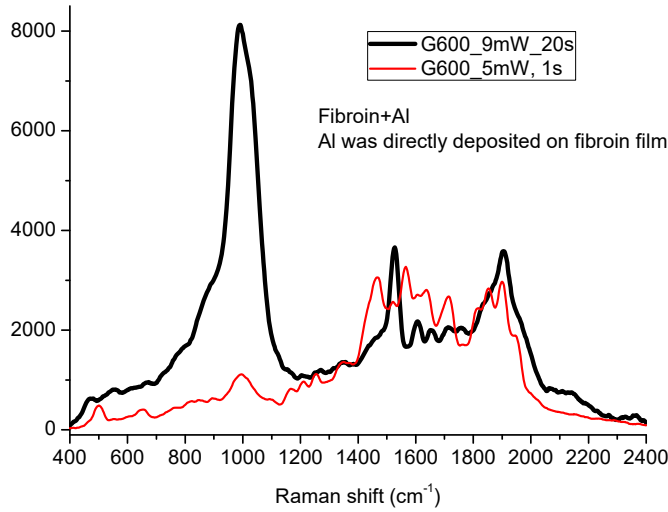




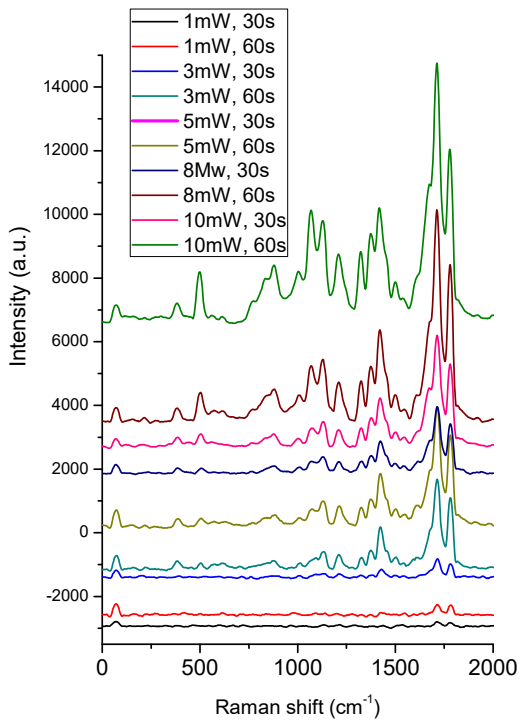


Konfocal Raman Spektroskopiyası üzrə alınan nəticələr

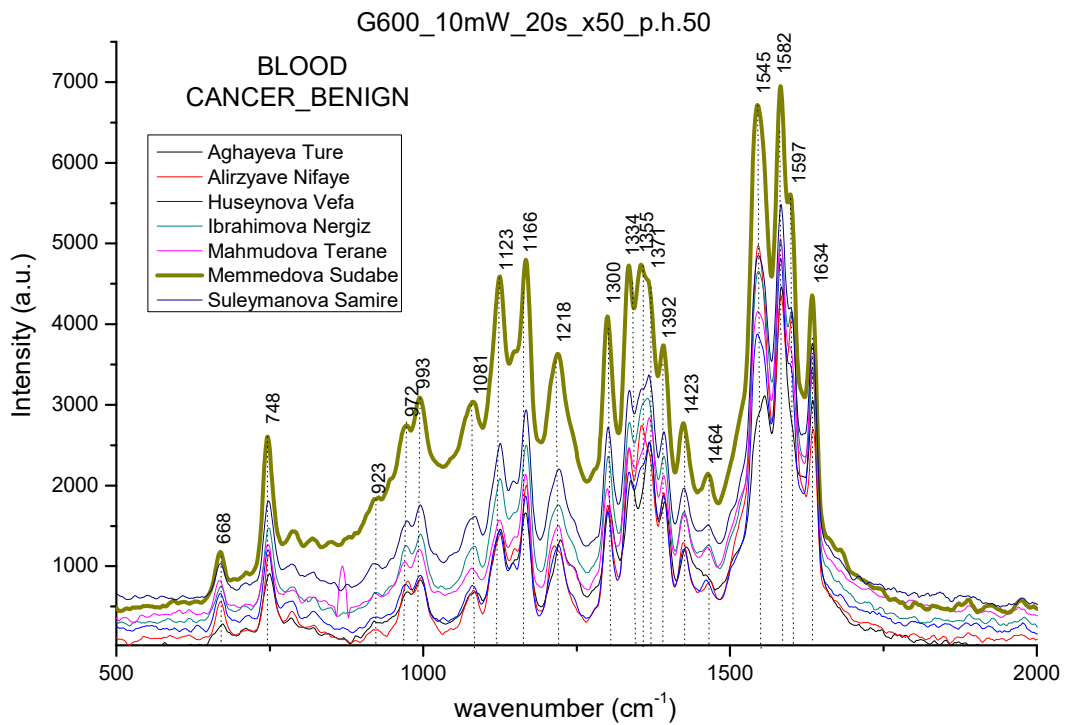
Aşağıdakı qrafikdən görüldüyü kimi nanozərrəciklərin (Al) birbaşa zülal təbəqələrinin üzərinə hopdurulması Raman səpilməsində plazmon güclənmə hadisəsini daha da effektiv edib. Xüsusi qeyd etmək lazımdır ki, güclənmə bərabər paylanmayıb və ən effektiv güclənmə 1000 cm^{-1} zolağında müşahidə olunur. Bu selektiv güclənmənin mexanizmi sonrakı tədqiqatlarımızda müəyyən ediləcəkdir. Bu zaman əsas hadisə kimyavi güclənmə hesabına gözlənilir.

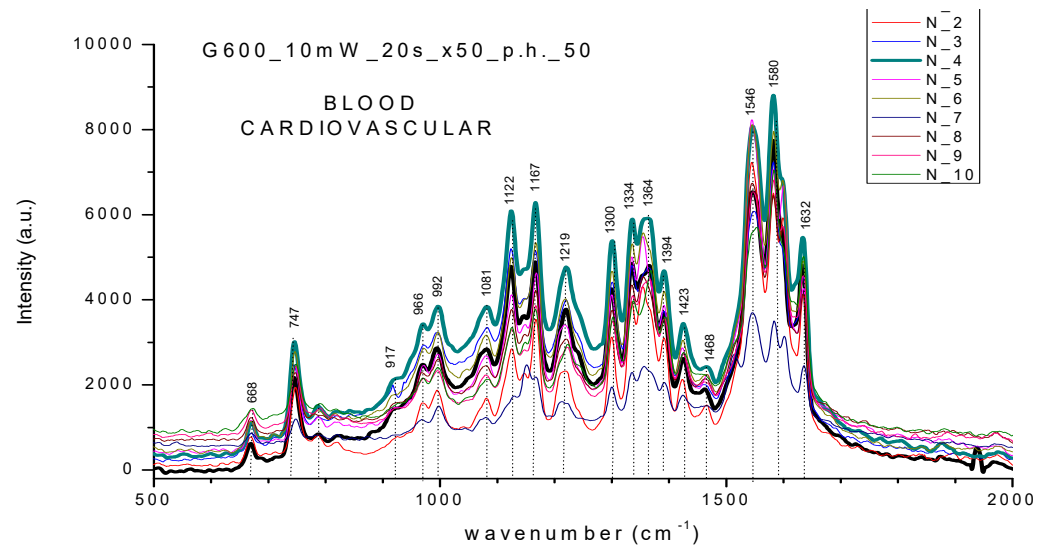
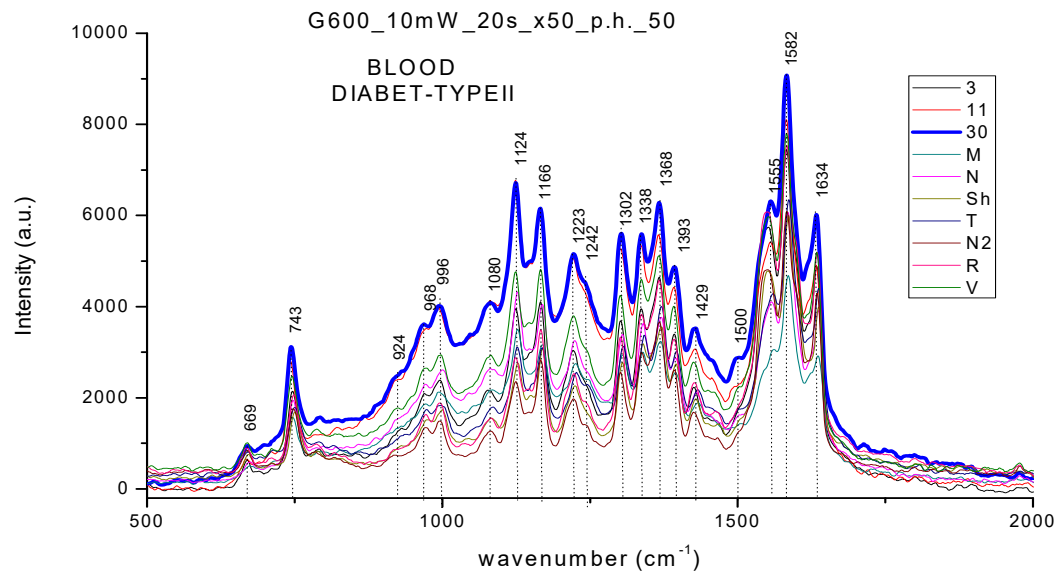


Bundan əlavə bütöv qan nümunələrində daha Raman səpilməsində daha effektiv plazma güclənmə hadisəsini almaq üçün müxtəlif üsullara baxılmışdır və aşağıda göstərilən parametrlərdə intensiv və yaxşı ayırd edilmiş spektrlər alınmışdır.



Digər səth gücləndirilmiş Raman Spektrləri





SİFARİŞÇİ:

Elmin İnkişafı Fondu

Baş məsləhətçi

Daşdəmirova Xanım Faiq qızı

(imza)

“ ” _____ 201_-ci il

İCRAÇI:

Layihə rəhbəri

Qasımov Oktay Kazım oğlu

(imza)

“_10_” avgust 2017_-ci il