

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY VA O'RTA MAXSUS
TA'LIM VAZIRLIGI**

NAMANGAN DAVLAT UNIVERSITETI

TABIIY FANLAR VA GEOGRAFIYA FAKULTETI

BIOLOGIYA KAFEDRASI

5420100-BIOLOGIYA YO'NALISHI 4-KURS TALABASI

ISLAMOVA RA'NO USMONJONOVNANING

**«Kislorod yetishmovchiligida jigar mitoxondriyalarida lipidlarning
perekisli oksidlanishi va fosfolipaza A₂ ning gidrolitik faolligini
o'zgarishi va uni ionol bilan o'zgartirish» mavzusidagi**

BITIRUV MALAKAVIY ISHI

Namangan – 2014

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY VA O'RTA MAXSUS TA'LIM
VAZIRLIGI**

NAMANGAN DAVLAT UNIVERSITETI

TABIIY FANLAR VA GEOGRAFIYA FAKULTETI

BIOLOGIYA KAFEDRASI

“DAK ga tavsiya etaman”

Tabiiy fanlar va geografiya fakulteti

dekani _____ dots.A.Nazarov

“ ____ ” _____ 2014 yil

“Kislorod yetishmovchiligida jigar mitoxondriyalarida lipidlarning perekisli oksidlanishi va fosfolipaza A₂ ning gidrolitik faolligini o'zgarishi va uni ionol bilan o'zgartirish” mavzusidagi

BITIRUV MALAKAVIY ISH

Bajardi: «Biologiya» ta'lim yo'nalishi
bitiruvchi 4-kurs talabasi Islamova R.

Rahbar: b.f.d.prof., K.Almatov

Bitiruv malakaviy ishi kafedradan dastlabki himoyadan o'tdi. Kafedraning__ sonli bayonnomasi. «____» _____2014 yil.

Namangan – 2014

Mundarija

Kirish.....	3
I. Adabiyotlar sharxi	
1.1.Kislorod yetishmasligini organizmdagi fiziologik-biokimyoviy jarayonlarga ta'siri.....	5
1.2.Gipoksiya sharoitida mitoxondriyalarning tuzilishi va funktsiyasidagi o'zgarishlar.....	10
1.3.Mitoxondriya membranalarining strukturasi va funktsiyasida lipidlarning roli.....	16
1.4.Mitoxondriya membranalarining fosfolipaza A ₂ enzimi.....	19
1.5.Lipidlarning peroksid oksidlanishi mahsulotlarini membranotrop ta'siri.....	21
1.6.Antioksidantlar va ularning organizmga ta'siri.....	23
II. Tadqiqot usullari va ashyolari	
2.1.Gipoksiya modelini yaratish, hayvonlarni saqlash va ionolni organizmga yuborish sharoitlari.....	28
2.2.Kalamushlarning jigardan mitoxondriyalarni ajratib olish.....	29
2.3.Mitoxondriya lipidlarini ekstraksiyalash.....	30
2.4.Mitoxondriya fosfolipidlarini identifikatsiyalash.....	31
2.5.Mitoxondriyada erkin yog' kislotalarining miqdorini aniqlash.....	32
2.6.Mitoxondriyalarda lipidlarning peroksid oksidlanishini aniqlash.....	32
2.7.Mitoxondriyalarning fosfolipaza A ₂ sini faolligini aniqlash.....	33
2.8.Mitoxondriyalardagi oqsil miqdorini aniqlash.....	34
III. Natijalar va ularning taxlili	
3.1.Gipoksiyada jigar mitoxondriyalarda lipidlarning peroksid oksidlanishidagi o'zgarishlar	36
3.2.Kislorod yetishmasligi sharoitida jigar mitoxondriyasidagi fosfolipaza A ₂ ning faolligidagi o'zgarishi	38
3.3.Ionolni kislorod yetishmasligi sharoitida saqlangan kalamushlarning jigari mitoxondriyalarida lipidlarning peroksid oksidlanishiga ta'siri.....	40
3.4.Ionolni kislorod yetishmasligi sharoitida saqlangan kalamushlarning jigari mitoxondriyalarida fosfolipaza A ₂ ning faolligiga ta'siri.....	41
Xulosa.....	43
Adabiyotlar ro'yxati.....	45
Ilova.....	49

KIRISH

Mavzuning dolzarbligi. Odatda kislorodning faol shakli normadagi metabolit hisoblanadi va hozirgi paytda ko'plab mualliflar uni molekula signali sifatida qarashadi [Bogoyevitch, Ng, Court et al., 2000; Zenkov, Lankin, Menshikova, 2001]. Ammo gipoksiya sharoitlarida kislorodning faol shaklini haddan tashqari ko'payib ketishi natijasida kislorodning faol shaklini hayot uchun juda muhim bo'lgan biopolimerlarni – oqsil va nuklein kislotalarni jarohatlashi katta xavf tug'diradi [Lankin, Tixaze, Belenkov, 2000; Lankin, 2003; Lakomkin, Konavalova, Kalenikova i dr., 2005]. Kislorodning faol shaklini keskin oshib ketish holatini, odatda oksidlanish stressi deb ataladi. Oksidlanish stressini rivojlanishi «prooksidant-antioksidantlar» tizimi balansini buzilishini ko'rsatadi va u 100 dan ortiq patologik holatlar va kasalliklarda kuzatiladi [Zenkov, Menshikova, Kandalintseva i dr., 2007]. Shu sababdan kislorod tanqisligi organizmda kechayotgan fiziologik va biokimyoviy mexanizmlarini o'rganish dolzarb muammolardan biri hisoblanadi.

Muammoning o'rganilganlik darajasi. Hujayra organellalari orasida mitoxondriya eng sezgiri hisoblanadi va uning holati va reaksiyasi hujayraning holatini belgilab beradi [Skulachev, 1996a,b; 1997a, b; Bodrova i dr., 2003; Deryabina i dr., 2004; Belosludtsev i dr., 2005]. Butun organizmda metabolik jarayonlarga gipoksiyani ta'siri to'g'risida bag'ishlangan ishlar juda ko'p va lekin, ular bir-biriga qarama-qarshi [Luk'yanova L.D., 1991]. Gipoksiya ta'sirida boshqa a'zo va tizimlar kabi jigar mitoxondriyalarining struktura va funksiyalarida bo'ladigan o'zgarishlarni aniqlash eng avvalo shu a'zo hujayralarda kuzatiladigan funksional o'zgarishlar mexanizmini yanada to'liqroq tushunishga imkoniyat yaratadi. Chunki, shu vaqtgacha gipoksiyani o'rganilib kelishiga qaramasdan mitoxondriyalarda lipidlarning peroksidli oksidlanishi va fosfolipazalarning faolliklariga ta'siri to'liq o'rganilmagan.

Dissertatsiya ishining ilmiy-tadqiqot ishlari rejalari bilan bog'liqligi. Bu ish Mirzo Ulug'bek nomidagi O'zbekiston Milliy universiteti, biologiya-

tuproqshunoslik fakulteti Odam va hayvonlar fiziologiyasi kafedrasining ilmiy tadqiqot ishlariga kiradi.

Ishning maqsad va vazifalari. Shu sababli men o'z oldimga gipoksiya sharoitida kalamushlarni jigar mitoxondriyalaridagi lipidlarning peroksidlanish jarayonlariga va fosfolipaza A₂ning gidrolitik faolligiga ionolni ta'sirini aniqlashni maqsad qilib qo'ydim.

Tadqiqot vazifalari:

1. Gipoksiyada jigar mitoxondriyalarida lipidlarning peroksidlanishi jarayonlarini qanday o'zgarishlarga uchrashini aniqlash;
2. Gipoksiyada jigar mitoxondriyalarida fosfolipaza A₂ning faolligi qanday o'zgarishlarga uchrashini aniqlash;
3. Ionolni gipoksiyada jigar mitoxondriyalarida lipidlarning peroksidlanishi jarayonlariga ta'sirini aniqlash;
4. Ionolni gipoksiyada jigar mitoxondriyalarida fosfolipaza A₂ning faolligiga ta'sirini aniqlash.

Tadqiqot ob'ekti va predmeti. Kalamush, jigar, mitoxondriya, ionol, lipidlarning peroksidlanishi va fosfolipaza A₂.

Tadqiqotning ilmiy yangiligi.

Gipoksiyada jigar mitoxondriyalaridagi turli o'zgarishlar har tomonlama o'rganilgan bo'lsada, lipidlarning peroksidlanishi jarayonlarini qanday o'zgarishlarga uchrashi shuningdek fosfolipaza A₂ ning faolligini aniqlash turli patologik xolatlarni oldini olishda katta ahamiyatga egadir. Yuqoridagi jarayonlarga ionolni ta'sirini o'rganish jigar mitoxondriyalaridagi metabolizmni izga solishdagi xulosalar mavzuni ilmiy yangiligini belgilovchi omil bo'lib xizmat qiladi.

Tadqiqotning ilmiy-amaliy ahamiyati.

Xozirgi vaqtgacha fiziologiya sohasida kislorod yetishmovchiligini organizmning funktsional xolatiga ta'siri har tomonlama o'rganilib kelingan bo'lsada mitoxondriyalarda lipidlarning peroksidlanishi va fosfolipazalarning faolliklariga ta'siri to'liq o'rganilmagan. Tadqiqot natijalari organizmdagi metabolik jarayonlarning asosiy a'zosi xisoblangan jigardagi patologik xolatlarni o'rganish va davolashda katta ilmiy-amaliy ahamiyatga ega.

I. ADABIYOTLAR SHARHI

1.1. Kislorod yetishmasligini organizmdagi fiziologik-biokimyoviy jarayonlarga ta'siri

Gipoksiya – tashqi va ichki sabablar tomonidan chaqirilgan kislorodni hujayralarida yetishmasligi odam va hayvonlarning organizmida ko'plab patologik jarayonlarni keltirib chiqaradi [Lukyanova L.D., 1991]. Gipoksiya odam va hayvonlarning organizmida xar xil negativ jarayonlar: kasalliklar, jarohat olish, tug'ma kasalliklar natijasida paydo bo'ladi. Bir necha turdagi gipoksiyalar bo'ladi:

1. Ekzogen (tashqi) gipoksiya – nafasga olingan havoda kislorodning partial bosimi pasayishi natijasida rivojlanadi. Bunday turdagi gipoksiya: dengiz sathidan yuqoriga ko'tarilganda kislorod yetishmasligi; havo kirmaydigan bo'shliqda kislorodning yetishmasligi va shu kabi xolatlarda.
2. Respirator (nafas) gipoksiya – odam va hayvonlarning o'pkasiga havoni kirishiga to'siq paydo bo'lishida kuzatiladi. Bunday turdagi gipoksiya quyidagi xolatlarda: begona moddalar yoki suyuqliklarni nafas yo'lini u yoki bu joylarida to'planib bekilib qo'yishi, masalan suvga cho'kib ketganda, qayt qilingandagi massalarni tiqilib qolishida, og'iz yoki burun teshiklari bekilib qolganida, masalan difteriyaga o'xshash kasalliklarda nafas yo'lini qisilishi yoki bekilib qolganda kuzatiladi.
3. Sirkulyator gipoksiya – qon tomirlarida qon xarakatining buzilishi sababli paydo bo'ladi. Bunday turdagi gipoksiyalar ayniqsa tananing ayrim qismlarida yoki a'zolarining turli soxalarida ko'proq kuzatiladi. Masalan, bo'yin tomirlarini qisilib qolishi natijasida bosh miyada kuzatiladigan gipoksiyada, ichki a'zolarining turli qismlaridagi (masalan: infarkt, insult va boshqalar) gipoksiya, Bularning orasida eng xavflisi o'limga sabab bo'ladigan yurak infarkti.
4. Gemik (qondagi) gipoksiya – qonda kislorod sig'imini kamayishi oqibatida kuzatiladi. Qonni kislorod tashish qobiliyati bir necha sabablarga ko'ra pasayadi. Eng ko'p uchraydigani odamning a'zo va to'qimalarini mexanik jarohatlanishi sababli ko'plab qon yo'qoti-lishida; organizmga ko'plab is gazini tushishi sababli karboksigemo-globinni xosil bo'lishida; ba'zibir kimyoviy

moddalarni (masalan nitrobirikmalar) gemoglobinni metgemoglobinnga aylantirib qondagi gemoglobinni blokada qilinishida kuzatiladi.

5. To'qima gipoksiyasi – odam va hayvonlar organizmi to'qima va hujayralarini kisloroddan foydalanish jarayonini buzilishi oqibatida kuzatiladi. Hujayralarda kislorodni yetishmasligi ko'pincha tsianid kabi zaxarlarni ta'sirida paydo bo'ladi.
6. Aralash gipoksiya – bir vaqtning o'zida bir necha turdagi gipoksiyani rivojlanishida kuzatiladigan kislorod shtishmasligi. Masalan, o't ketganda xonada havoda kislorod yetishmasligi (ekzogen) sababli tutunda dimiqib qolishi va qonda karboksigemoglobinni xosil bo'lishi (gemik) oqibatida kuzatiladi.

Gipoksiyani xosil bo'lishiga qarab 3 xilga bo'linadi: 1. Agar gipoksiya bir necha daqiqada paydo bo'lsa (masalan begona tanachalarni aspiratsiyasida), bunday gipoksiyani o'tkir (острый), ya'ni tez rivojlanadigan gipoksiya deb ataladi. 2. Agar gipoksiyani rivojlanishi bir necha soatga cho'zilsa (masalan, atrof-muhiti berk bo'lgan bo'shliqda odam va hayvonlarning turib qolishida), bunday gipoksiyani kechishi sekinroq rivojlanadigan gipoksiya deb ataladi. 3. Oylab va yillab uzoq vaqt rivojlanadigan (masalan, surunkali anemiya) gipoksiyani surunkali gipoksiya deb ataladi.

Gipoksiyani hujayradagi modda va energiya almashinuviga ta'sirini o'rganishda uslubiy tomondan jiddiy qiyinchiliklarga duch kelinadi. Miya, yurak, jigar, buyraklar va boshqa a'zolar bir xil klinik xolatlarda xar xil a'zo va to'qimalar kislorod bilan bir tekisda ta'minlanmaydi va kislorod yetishmasligi xar xil og'irlikda bo'ladi, shu sababli organizmni o'rtacha gipoksiyasi to'g'risida tushuniladi. Ma'lum bir a'zo va to'qimadagi metabolik xolatga baho berish uchun olingan biologik material: to'qimani optimal soxasi, xech bo'lmasa shu a'zoga kirib kelayotgan va chiqib ketayotgan qonli joylarini, ya'ni optimal soxalarini olish kerak bo'ladi. Mana shu sharoitlar ko'pincha klinikada kasallikni aniq belgilaydigan ob'ektiv ma'lumotni olish ko'pincha asosiy to'siq bo'ladi.

ATFni sintezi va resintezi uchun oqsil (aminokislota), fosfor va sut kislotasigacha parchalanadigan yoki kislorod bilan birikib suv va uglekislota xosil

qiladigan glyukoza energiyasi kerak bo'ladi. Uzoq vaqt va og'ir ishlarni bajarganda (uzoq masofaga yugurganda, baland toqqa ko'tarilganda va shu kabi jarayonlarda) eng birinchi kislorod yetishmasligi kuzatiladi. Gipoksiya nafasning tezlashishi bilan kompensatsiyalanadi. Keyinchalik bu xam yetarli bo'lmay qoladi va anaerob nafas boshlanadi. Glyukoza sut kislotagacha parchalanadi va energiya ajralib chiqadi, lekin kislorodda yonganiga nisbatan 18 marta kam energiya ajraladi. Oradan ko'p o'tmay gipoksiyaga, glikogenni zaxirasi chegaralanganligi sababli (400 gramm atrofida) glyukoza yetishmasligi – gipoglikemiya qo'shiladi. O'linga olib keladigan gipoglikemiyaning kompensatsiyalash uchun yog' zaxirasidan kislorod yordamga keladi. Kislorod sarfi ikki martaga oshadi, lekin shu paytda gipoksiya anaerob nafas bilan (energiyani anaerob reaksiya orqali ishlab topilishi) kompensatsiyalangan bo'ladi.

Gipoksiyani organizmdagi metabolik jarayonlarga ta'siri to'g'risida qilingan ilmiy tadqiqot ishlari juda xam ko'p, ammo bir-biriga qarama qarshi. Ana shuning uchun xam, gipoksiyani organizmdagi fiziologik-biokimyoviy jarayonlarga ta'siri to'g'risida shu kungacha xam ilmiy tadqiqot ishlari davom etmoqda. Gipoksiya sharoitida miya mitoxondriyasining oksidlanishli fosforlanish tizimidagi o'zgarishlar fazali bo'lishi aniqlangan: qisqa vaqtli kislorod yetishmasligiga (0,5 va 1 soat) oksidlanishli fosforlanishni kuchayishi kuzatilgan, oradan 4 soat o'tgandan keyin bu jarayon pasaygan, 8 soatdan keyin esa nazoratdagi ko'rsatgichga qaytganligi aniqlangan. Bu o'zgarishlar asosan glutamatni oksidlanishida kuzatilgan. Lekin Govorovning olgan natijalarida esa miya mitoxondriyalari va yadrolarida ATF azaning faolligini pasayishi ko'rsatilgan. Kalamush miyasi mitoxondriyalarida malat va sitratlarning oksidlanishi kislorod yetishmasligi sharoitida pasayishni boshqa mualliflar xam aniqlashgan.

Hayvonlarga gipoksik gipoksiya berilgandan keyin oradan 1 soat o'tgach miya mitoxondriyalarida NAD.H-degidrogenazalarning faolligi o'zgarmaydi, suksinatdegidrogenazaniki esa oshadi. Gipoksiya 4 soatga yetganda NAD.H-

degidrogenazaning faolligi pasaya boshlaydi, suksinatdegidrogenazaning faolligi esa nazoratdagi ko'rsatgichga tenglashadi.

Gipoksiyada miokard to'qimasida glyukoza va piruvat almashinuvi pasayadi, laktat vena qoniga ajralaboshlaydi, yurakda erkin yog' kislotalarining so'rilishi o'zgarmaydi. Gipoksik gipoksiyada yurakning mamillary mushagida suksinat, laktat va alaninlarning miqdorlari ko'payadi. Gemik gipoksiyada yurak mitoxondriyalarida laktat va piruvatni to'planishi, oksidlanishli fosforlanishni pasayishi kuzatilgan. Gipoksiya sharoitida (90 % li) yurak maksimal tezlikda uraboshlaganda miokard to'qimalarida ATF asosan yog' kislotalarining almashinuvi natijasida sintezlanishi aniqlangan.

Gipoksiyada (15 daqiqali) yurak hujayralarining ultrastrukturaviy tuzilishida buzilishlar asosan mitoxondriyalarning bo'rtib-shishishida va mitoxondriya membranalarida vokuola xosil bo'lishi bilan namoyon bo'ladi. Bunda mitoxondriyalarda ATF va kreatinfosfatning miqdorlari kamayadi.

Gipoksiyada yurak mitoxondriyalaridagi tsitoxromoksidaza, suksinatdegidrogenaza, malatdegidrogenaza, NAD.H-degidrogenaza va glutamatdegidrogenazalarning faolliklari o'zgarmaydi. Gipoksiyaga moslashish sharoitida esa, bu o'rganilgan enzimlardan faqatgina malatdegidrogenazaning faolligi oshadi. Shmelevaning ishida gipoksik gipoksiyada yurak mitoxondriyalarida laktatdegidrogenaza, malatdegidrogenaza, suksinat-sitoxrom s-oksireduktaza, NAD.H-tsitoxrom s-oksireduktaza va tsitoxrom s-oksidadzalarning faolliklarini oshishi ko'rsatilgan. Gemik gipoksiyada esa bu sanab o'tilgan enzimlarning ko'pchiligini faolliklarini oshishi aniqlangan. Gipoksiyada yurak mitoxondriyalarida H-ATF aza va natriy-kaliy rag'batlantiradigan ATF azalarning faolliklari pasayadi.

Braylovskaya va boshqalar gipoksiyada jigar mitoxondriyalarining fosforlanishli oksidlanishini, Chans bo'yicha nafas olish ko'rsatgichini va fosforlanish tezligini oshishi ko'rsatilgan. Boshqa mualliflar, 5 va 27 kunlik gipoksiyada jigar mitoxondriyalarining 3 va 4 metabolik xolatlarda oksidlanishini pasayishi, ammo Chans bo'yicha nafas olish ko'rsatgichi, ADF/O koeffitsienti va

oqsil sintezini o'zgarmaganligini aniqlashgan. Jigar mitoxondriyalaridagi malatdegidrogenaza, glutamatdegidrogenaza va ayniqsa suksinatdegidrogenazaning faolligi 5 va 14 kunlik gipoksiyada oshishi, 5 kunlik gipoksiyada tsitoxrom s-oksidaza faolligi oshadi, ammo 14 kunlik gipoksiyada tsitoxrom s-oksidaza faolligi va fosforlanishli oksidlanish samaradarligida xech fanday o'zgarish kuzatilmaganligi ko'rsatilgan.

Demak, gipoksiyani organizm to'qima va a'zolaridagi metabolizmga ta'siri to'g'risida olingan natijalardan xozircha aniq bir xulosaga kelish mumkin emas. Extimol, buning sababi, gipoksiyaning xillariga, og'irligiga va qancha vaqt davom etishiga bog'liqdir. Buni aniqlash uchun tadqiqot ishlarini yanada davom ettirish kerak.

Turli xil buzuvchi ta'sirlar natijasida, jumladan kislorod yetishmovchiligi sharoitida hujayrada yemirilish jarayonlarida doimiy ravishda mitoxondriya hajmining ortishi kuzatilib, bu hodisa mitoxondriyanig bo'kishi atamasi bilan ifodalanadi. Hozirgi vaqtda mitoxondriya membranasining fosfolipaza A_2 fermenti ta'sirida yemirilishidan keyin mitoxondriyaning bo'kishi mexanizmlari batafsil o'rganilgan. Fosfolipidlarning qisman parchalanishi natijasida mitoxondriya membranasida lipid qo'shqavatida shakllanuvchi holat turli jarajadagi defektlar yuzaga keladi (membranada uncha katta o'lchamda bo'lmagan poralar (tirqishlar) xosil bo'ladi), o'z navbatida bu poralar orqali mitoxondriya ichki qismiga atrof muhitdaga eritmadan turli xil kationlar kirishi jadallashadi.

Bunda dastlabki bosqichda fosfolipaza ta'sirida yuzaga kelgan poralardan faqat kationlar o'tishi mumkinligi kuzatilgan (birinchi o'rinda K^+ ionlari). Me'yoriy holatdagi (intakt, yoki zararlanmagan) mitoxondriyalarda kislorod va substratlar mavjud sharoitda energiyalashuv jarayoni amalga oshadi, ya'ni ichki membrana tomonlari o'rtasida elektr potentsiallar farqi va rN qiymati farqlanishlari yuzaga keladi. Bu holat bevosita mitoxondriya nafas zanjiri orqali elektronlar tashilishining mitoxondriya matriskidan tashqi tomonga tashilishi bilan birgalikda amalga oshadi.

Fosfolipaza A_2 fermenti ta'sirida yemirilgan mitoxondriyalarda ichki membrana kationlarga nisbatan o'tkazuvchan xususiyatga ega bo'ladi, bunda

matriskda harakatchan elektr maydon yig'ilishi davom etadi. Bir vatqning o'zida fosfat yig'ilishi jarayoni xam amalga oshadi (rN qiymati farqi asosida). Kationlar va fosfat yig'ilishi ta'sirida osmotik bosimning ortishi mitoxondriyaning ichki qismiga suv kirishi kuchayishi va uning bo'kishiga olib keladi. Bo'kish ta'sirida membrananing tashqi membranasini yemirilishi va natijada esa mitoxondriya ichki membrana qismlarining tashqi muhitga ochilib qolishi yuz berishi mumkin. Mitoxondriya ichki membranasini taranglashishi natijasida uning singdiruvchanlik qiymati ortishi va oqibatda mitoxondriyada ATF sintezlash xususiyatining yakuniy holatda izdan chiqishi, Ca^{2+} ionlarining yig'ilib qolishi kuzatiladi.

Ushbu ko'rinishda mitoxondriya membranasining osmotik taranglashishi organellaning bo'kishi bilan bog'liq bo'lib, bu holat mitoxondriya membranasini yemirilishi oqibatida yuzaga kelishi tahmin qilinadi.

1.2.Gipoksiya sharoitida mitoxondriyalarning tuzilishi va funksiyasidagi o'zgarishlar

Gipoksiyani organizmdagi metabolik jarayonlarga ta'siri to'g'risida qilingan ilmiy tadqiqot ishlari juda xam ko'p, ammo bir-biriga qarama qarshi [Romanova, Chernobaeva, 1990]. Ana shuning uchun xam, gipoksiyani organizmdagi fiziologik-biokimyoviy jarayonlarga ta'siri to'g'risida shu kungacha xam ilmiy tadqiqot ishlari davom etmoqda. Xvatova Ye.M. va b. [1972; 1979] gipoksiya sharoitida miya mitoxondriyasining oksidlanishli fosforlanish tizimidagi o'zgarishlar fazali bo'lishi aniqlangan: qisqa vaqtli kislorod yetishmasligiga (0,5 va 1 soat) oksidlanishli fosforlanishni kuchayishi kuzatilgan, oradan 4 soat o'tgandan keyin bu jarayon pasaygan, 8 soatdan keyin esa nazoratdagi ko'rsatgichga qaytganligi aniqlangan. Bu o'zgarishlar asosan glutamatni oksidlanishida kuzatilgan. Lekin Govorovning [1977] olgan natijalarida esa miya mitoxondriyalari va yadrolarida ATF azaning faolligini pasayishi ko'rsatilgan. Kalamush miyasi mitoxondriyalarida malat va tsitratlarning oksidlanishi kislorod yetishmasigi sharoitida pasayishni boshqa mualliflar xam aniqlashgan [Rafatowska, 1978; 1979].

Xayvonlarga gipoksik gipoksiya berilgandan keyin oradan 1 soat o'tgach miya mitoxondriyalarida NAD.N-degidrogenazalarning faolligi o'zgarmaydi, suksinatdegidrogenazaniki esa oshadi [Xvatova va b., 1972]. Gipoksiya 4 soatga yetganda NAD.N-degidrogenazaning faolligi pasayaboshlaydi, suksinat degidrogenazaning faolligi esa nazoratdagi ko'rsatgichga tenglashadi.

Gipoksiyada miokard to'qimasida glyukoza va piruvat almashinuvi pasayadi, laktat vena qoniga ajralaboshlaydi, yurakda erkin yog' kislotalarining so'rilishi o'zgarmaydi [Kedem J., Livinger I.M. et al., 1975]. Gipoksik gipoksiyada yurakning mamillary mushagida suksinat, laktat va alaninlarning miqdorlari ko'payadi [Taegtmeier, 1978]. Gemik gipoksiyada yurak mitoxondriyalarida laktat va piruvatni to'planishi, oksidlanishli fosforlanishni pasayishi kuzatilgan [Glotov, SHmeleva, 1976]. Gipoksiya sharoitida (90 % li) yurak maksimal tezlikda uraboshlaganda miokard to'qimalarida ATF asosan yog' kislotalarining almashinuvi natijasida sintezlanishi aniqlangan [Kedem J., Livinger I.M. et al., 1975].

Gipoksiyada (15 daqiqali) yurak hujayralarining ultrastrukturaviy tuzilishida buzilishlar asosan mitoxondriyalarning bo'rtib-shishishida va mitoxondriya membranalarida vokuola xosil bo'lishi bilan namoyon bo'ladi [Nishi K. et. al., 1981]. Bunda mitoxondriyalarda ATF va kreatinfosfatning miqdorlari kamayadi [Nishi K. yet al., 1981; Matthews R.M. yet. al., 1981; Vial S.et. ye1., 1987; Ryabov G.A., 1988].

Gipoksiyada yurak mitoxondriyalaridagi tsitoxromoksidaza, suksinat-degidrogenaza, malatdegidrogenaza, NAD.N-degidrogenaza va glutamatdegidrogenazalarning faolliklari o'zgarmaydi [Glotov, 1971]. Gipoksiyaga moslashish sharoitida esa, bu o'rganilgan enzimlardan faqatgina malatdegidrogenazaning faolligi oshadi. Shmelevaning ishida [1978] gipoksik gipoksiyada yurak mitoxondriyalarida laktatdegidrogenaza, malatdegidrogenaza, suksinat-tsitoxrom s-oksireduktaza, NAD.N-tsitoxrom s-oksireduktaza va tsitoxrom s-oksidadzalarning faolliklarini oshishi ko'rsatilgan. Gemik gipoksiyada esa bu sanab o'tilgan enzimlarning ko'pchiligini faolliklarini oshishi aniqlangan

[Glotov, SHmeleva, 1976; SHmeleva, 1978]. Gipoksiyada yurak mitoxondriyalarida N-ATF aza va natriy-kaliy rag'batlantiradigan ATF azalarning faolliklari pasayadi [Balasubrafman V., McNamara D.B. et al., 1973; Govorova, 1977].

Braylovskaya va boshqalar [1980] gipoksiyada jigar mitoxondriya-larining fosforlanishli oksidlanishini, Chans bo'yicha nafas olish ko'rsatgichini va fosforlanish tezligini oshishi ko'rsatilgan. Boshqa mualliflar [Pickett, Cascarano, 1979], 5 va 27 kunlik gipoksiyada jigar mitoxondriyalarining 3 va 4 metabolik xolatlarda oksidlanishini pasayishi, ammo Chans bo'yicha nafas olish ko'rsatgichi, ADF/O koefitsienti va oqsil sintezini o'zgarmaganligini aniqlashgan. Jigar mitoxondriyalaridagi malatdegidrogenaza, glutamatdegidrogenaza va ayniqsa suksinatdegidrogenazaning faolligi 5 va 14 kunlik gipoksiyada oshishi, 5 kunlik gipoksiyada sitoxrom s-oksidaza faolligi oshadi, ammo 14 kunlik gipoksiyada tsitoxrom s-oksidaza faolligi va fosforlanishli oksidlanish samaradarligida xech fanday o'zgarish kuzatilmaganligi ko'rsatilgan [Kinnula, 1975].

Laboratoriya sharoitida tajribalarda hayvonlarda kislorod yetishmovchiligi modelini organizmdagi qon oqimini to'sib qo'yish orqali (gipoksiya) amalga oshiriladi yoki alohida ajratib olingan organni azot yoki argon bilan to'ldirilgan maxsus nam kameraga joylashtirish orqali yuzaga keltirish mumkin. Keyin esa organdan turli xil hujayra komponentlari, masalan mitoxondriyalar yoki sitoplazmatik membrana ajratib olinib, hujayra ichki tizimlarining faolligi va fermentlar faolligi kabi ko'rsatkichlar o'rganiladi. Ilmiy tadqiqotlarda XX asrning 60-yillaridayoq ushbu ko'rinishdagi tajribalar asosida kislorod yetishmovchiligi sharoitida hujayrada birlamchi buzilishga uchrovchi organoid mitoxondriyalar ekanligi haqida to'xtamga kelingan. Bunda mitoxondriyada molekulyar kislorod talab qiluvchi oksidlanish jarayonlari susayishi kuzatiladi va shuningdek asosiy jarayon, ya'ni ATF sintezi izdan chiqadi. U yoki bu holatdagi o'zgarishlar kuzatilishi bevosita mitoxondriya membranasining turli xil ionlarga nisbatan singdiruvchanlik xususiyatining ortishi va ADF hamda ortofosfatdan ATF sintezlanishi jarayonida muhim o'rin tutuvchi – mebranada potentsiallar farqi o'zgarishi bilan bog'liq

hisoblanadi. Tadqiqotlarda mitoxondriyadagi sezilarli buzilishlar jigar hujayraarida gipoksiya yuzaga kelganda 30 minutdan keyin kuzatilishi va miya hujayralarida esa nisbatan tez ro'y berishi qayd qilingan. Gipoksiya yuzaga kelgandan keyin 1 soatdan keyin jigar hujayralarida ko'pgina mitoxondriyalar nobud bo'ladi, ularning faoliyatini qayta tiklash batamom mumkin bo'lmas darajaga keladi.

Kislorod yetishmovchiligi sharoitida mitoxondriyalar nafaqat tirik hujayralarda, balki alohida ajratib olingan holatda ham nobud bo'lishi aniqlangan. Agar kalamush jigari yoki buyragidan mitoxondriyalarni ajratib olib, kerakli muhit ta'minlanadigan fiziologik eritmaga joylashtirilsa, ularda «nafas olish» jarayoni kuzatiladi (kislorod iste'moli orqali substratlar oksidlanishi amalga oshadi) va ATF sintezi yuz beradi. Bundan tashqari mitoxondriyalar atrof eritma muhitidan Ca^{2+} va fosfat ionlarini bog'lab olishi va ularni ichki qismida yig'ish xususiyatini saqlab qoladi.

Agar mitoxondriyalar kislorod bo'lmagan muhitga joylashtirilsa, u holda bu hayotiy jarayonlar asta-sekin susayib boradi (biroq barchasi ham emas). Aftidan, mitoxondriyalar muhitda biroz miqdorda Ca^{2+} ionlari mavjud bo'lsagina gipoksiya ta'sirida buzilishga uchraydi. Muhitda kislorod bo'lgan holatda inkubatsiya muhitida biroz Ca^{2+} ionlari bo'lsa xam yoki bo'lmagan holatda xam unga bog'liq bo'lmagan tarzda buzilishga uchramaydi. Shuningdek aytib o'tish kerakki, muhitda Ca^{2+} ionlari mavjud bo'lmagan holatda kislorodsiz muhitda mitoxondriyalar buzilishga uchramaydi.

Ca^{2+} ionlari va kislorod mavjud bo'lmagan sharoitda mitoxondriyalarda birmuncha vaqt davomida yemirilish jarayoni kuzatilmaydi. Muhitga kislorod kiritilishi (oksidlanish substratlari mavjud holatda) energiyalanish yuz beradi, bunda asosiy holat ichki membranada potentsiallar farqining (membrana ichki qismida minus qiymat kuzatiladi) yuzaga kelishi bilan ifodalanadi.

Ca^{2+} ionlari mavjud sharoitda va muhitda kislorod mavjud bo'lmagan holatda mitoxondriyalar yemirilishga uchraydi. Biroq Ca^{2+} ionlari bilan birgalikda muhitda kislorod mavjud bo'lsa, Ca^{2+} ionlari mitoxondriyalar tomonidan

«yutiladi» va mitoxondriya ichki qismiga o'tadi, bu holatda yemirilish ko'rinishida ta'sir kuzatilmaydi.

Mitoxondriya membranasi ichki tomonida fosfolipaza A_2 fermenti mavjud bo'ladi, bu ferment membrana fosfolipidlarini parchalaydi va membrana ionlar uchun singdiruvchan bo'lib qoladi. Muhtaram o'quvchiga eslatib o'tamizki, fosfolipaza A_2 fermenti fosfolipid molekulasida murakkab efir bog'larini uzadi va bunda erkin yog' kislotalari (EYOK) va lizofosfolipid (LF) xosil bo'ladi, masalan fosfatidilxolin (letsitin) gidroliz natijasida lizofosfatidilxolin xosil bo'lishi bunga misol bo'la oladi:

Mitoxondriya membranasi ichki qismida joylashgan fosfolipaza A_2 ning o'ziga xos xususiyati shundaki, bu ferment mitoxondriya membranasi ichki tomonida emas, balki membrana tashqi tomonida Ca^{2+} ionlari mavjud sharoitdagina faollashadi. Fosfolipaza ta'sirida fosfolipidlarning gidrolizlanishi mitoxondriya membranasidagi yemirilish jarayonini boshlab beradi. Yemirilishga uchragan mitoxondriya kislorod iste'moli xususiyatini saqlab qolsada, membrana potentsialini barqaror holatda ushlab tura olish xususiyatini yo'qota boshlaydi va shu sababli membrana ichki tomonida Ca^{2+} ionlarini ushlab qola olmaydi, shuningdek ATF sintezi qobiliyatini yo'qotadi, bu ko'rinishdagi mitoxondriyalarni deyarli o'lgan deb qarash mumkin va bu darajada yemirilishga uchragan mitoxondriyalarga ega hujayralar ham endi o'linga mahkum hujayralar hisoblanadi.

Mitoxondriyalarning yemirilishi jarayonida fosfolipaza faollashuvi rolining yetakchi ahamiyat kasb etishining isboti sifati shuni ko'rsatib o'tish mumkinki, bunda anaerob sharoitda mitoxondriyalarning yemirilishi doimo bir vaqtning o'zida fosfolipaza ishtirokida fosfolipidlarning parchalanishi yuz beradi va bu holatda fosfolipaza ta'sirida fosfolipidlarning parchalanish darajasini ajraluvchi erkin yog' kislotalari miqdori orqali baholash imkoniyati tug'iladi. Jarayon davomida mis ionlari yoki novokain singari mahalliy anestetik moddalardan foydalanish orqali fosfolipaza faolligining susaytirilishi va shuningdek Ca^{2+} ionlarining ushbu ionni bog'lab oluvchi moddalarni qo'llash orqali yemirilish

jarayonini susaytirish mumkinligi qayd qilingan. Bu ko'rinishdagi barcha tadqiqotlarda fosfolipidlarning gidrolizdanish darajasi va mitoxondriya yemirilishi o'rtasida yaqqol ifodalanuvchi korrelyatsiya kuzatiladi.

Alohida ajratib olingan mitoxondriyalarda muhitga ATF qo'shish orqali yemirilgan membranalarni ma'lum darajada qayta tiklash imkoniyati mavjud. Bunda fosfolipidlarning qayta sintezlanish jarayoni amalga oshadi, ya'ni mitoxondriyaning yemirilgan membranalari tiklanishi amalga oshadi va membrana o'z funktsional faolligini qayta tiklashi kuzatiladi. Bu jarayonni quyidagi ko'rinishda sxematik tarzda ifodalash mumkin:

Mitoxondriyaning yemirilishi Ca^{2+} +fosfolipaza A_2 —► faol fosfolipaza;
Fosfolipid (+ fosfolipaza) —► lizofosfolipid + yog' kislota —► membrana yemirilishi.

Mitoxondriya funktsiyasining qayta tiklanishi Lizofosfolipid + yog' kislota + ATF —► fosfolipid + ADF + ortofosfat —► membraning to'siq sifatidagi funksiyasi va mitoxondriya funktsiyasining qayta tiklanishi.

Tirik hujayralarda xam ATF mavjud sharoitda mitoxondriya membranasi qayta tiklanishi amalga oshadimi? Bir qator ma'lumotlarda bu savolga ijobiy javob berilgan. Odatda alohida ajratib olingan organlarda ko'pincha quyidagi holat kuzatiladi: organning anaerob sharoitda 30 minut inkubatsiyasidan keyin ajratib olingan mitoxondriyalar ATF sintezi xususiyatini yo'qotadi va Ca^{2+} ionlari ularda yig'ilib qoladi, 60 minut o'tgandan keyin esa vaqtga bog'liq ravishda qayta tiklanadi. Bu ko'rinishdagi «o'z-o'zini qayta tiklash» jarayoni alohida ajratib olingan mitoxondriyalarda hech qachon kuzatilgan emas. Ehtimol butun to'qima hujayralarida yemirilgan mitoxondriyalar hali yemirilishga uchramagan qo'shni hujayralarda sintezlangan ATF hisobiga membrana qayta tiklanishi mumkinligi ta'kidlangan. Biroq bu holatning to'liq isbotlanishi kelgusida qo'shimcha tadqiqotlarni talab qiladi.

Demak, gipoksiyani organizm to'qima va a'zolaridagi metabolizmga ta'siri to'g'risida olingan natijalardan xozircha aniq bir xulosaga kelish mumkin emas. Ehtimol, buning sababi, gipoksiyaning xillariga, og'irligiga va fancha vaqt davom

etishiga bog'liqdir. Buni aniqlash uchun tadqiqot ishlarini yanada davom ettirish kerak.

1.3.Mitoxondriya membranalarining strukturasi va funksiyasida lipidlarning roli

Lipidlar, ayniqsa fosfolipidlar uyayra va organella membranalarining, shu jumladan mitoxondriya membranalarining tuzilishida va faoliyatida juda muxim rol o'ynashi adabiyotlardan bizga ma'lum [Raker, 1976; Almatov, 1990, 1993]. Mitoxondriya membranalaridagi fosfolipidlarning asosiy qismini fosfatidilxolin, fosfatidietanol-amin, kardiolipinlar tashkil qiladi. Qolgan qismini fosfatidilserin, fosfatidilinozit, lizofosfatidilxolin, lizofosfatidietanolamin, lizokardiolipin, fosfatid kislota, lizofosfatid kislota va sfingomielinlar tashkil qiladi. Fosfolipidlarning orasida minor fosfolipidlardan ayniqsa nordon fosfolipidlar (fosfatid kislota, fosfatidilserin va fosfatidilinozit) va lizoshaklli fosfolipidlar yuqori biologik faollikka ega. Bu minor fosfolipidlar yuqori qutblikni va tanlab bog'lab olish xususiyatini namoyon etib, turli xil ionlarni tashish qobiliyatiga ega ekanligi aniqlangan.

Membranaga bog'liq enzimlar va polienzimlarning ko'pchiligi membranadan fosfolipidlarni olib tashlanganda o'zlarining biologik faolliklarini namoyon etmaydilar. Fosfolipidsizlantirilgan membranalariga ekzogen fosfolipidlar qo'shilganda enzimlar o'zlarining katalitik faolliklarini qayta tiklaganlar. Bunda xamma fosfolipidlar xam enzimlar-ning faolliklarini bir xilda qayta tiklash qobiliyatiga ega emasligi aniqlangan. Masalan, oligomitsinga sezgir ATF-azaning maksimal faolligi qayta tiklanishi eng avvalo fosfatidilserin va fosfatidilinozitlarda, keyin kardiolipin, fosfatidilxolin va lizofosfatidilxolinlarda kuzatilgan [Reker, 1976; Swanljun et al., 1979].

Mitoxondriyada ATF azaning faolligi va ATF sintezida fosfatidilxolin va fosfatidietanolaminlarning roli nixoyatda kata ekanligini juda ko'plab mualliflar liposomalarda o'tkazilgan tajribalarda aniqlashgan [Racker, 1976]. Bu ikki fosfolipid-larning o'zaro optimal nisbati, lipidlarning tarkibiy o'zgarishlariga

bo'liq ravishda o'zgaradi. Reaksiyalarning eng maksimal tezligi fosfatidiletanolamin va fosfatidixolinlarning miqdorlari 3-4 marta ko'payganda aniqlangan. Molyar koefitsientning tengligi almashinuvning pasayishini, nordon fosfolipidlarning, ayniqsa kardiolipinning qo'shilishi bu jarayonning faolligini tezlashtirgan. Fosfolipid molekula-lari tarkibida to'yinmagan yog' kislotalarining bo'lishi enimli jarayonning faolligini oshirgan. Ammo to'yinmagan yog' kislotalarini saqlovchi sun'iy fosfoglitseridlar, deyarli bu enzimli jarayonning ingibitorlari hisoblanadi [Racker, 1976].

TSitoxrom $\underline{s}$ -oksidaza va β -oksibutiratdegidrogenaza faolliklari uchun fosfatidilxolinning bo'lishi zarur [Teissie, 1981]. Fosfolipidlar tsitoxrom s bilan tsitoxrom $\underline{s}$ -oksidaza va tsitoxrom $\underline{y}$ bilan suksinatdegidrogenazalar o'rtasidagi o'zoro munosabatlarning to'g'ri bo'lishini ta'minlash kerak deb taxmin qilishadi. TSitoxrom $\underline{s}$ bilan tsitoxrom $\underline{s}$ – oksidazalarning o'zoro munosabati elektrostatik munosabatga nisbatan ko'proq gidrofob ta'sirga bog'likligi aniqlangan. Mitoxondriya membranasida tsitoxrom $\underline{s}$ ni o'ziga boqlab oluvchi turli xil markazlar bor, ular o'ziga faqatgina tsitoxrom $\underline{s}$ – oksidazanigina emas, balki boshqa tsitoxromlarni va fosfolipidlarni o'ziga boqlab oladi [Teissie, 1981, Almatov, 1990]. TSitoxrom $\underline{s}$ – oksidazani fosfolipidlar bilan o'zoro munosabatini, yadroli magnitli rezonans usuli bilan tekshirilganda oqsil globulalarini o'rab turuvchi lipidlarning uglevodli zanjirlari, oqsildan uzoqda joylashgan lipidlarning zanjiriga nisbatan kam tartibli bo'ladi va ko'p xarakatlanish imkoniyatiga ega bo'lishi ma'lum bo'ldi, biroq, oqsil yaqinida joylashgan zanjirlar xarakati, lipidli faza soxalaridagiga nisbatan sekinroq borishi aniqlandi.

Mitoxondriya membranasidagi enzimlarning strukturasini saqlanishida kardiolipinning ahamiyati nixoyatda kata va ular oksidlanishli fosforlanish jarayonida xam muxim rol o'ynaydi [Almatov, 1990, 1993]. Suksinatdegidrogenaza, NAD.N-degidrogeneza, NAD.N-ubixinon-reduktaza, rotenonga sezgir NAD.N-tsitoxrom $\underline{s}$ –oksidaza, malatdegidrogenaza va glutamatdegidrogenaza soxalaridagi elektron tashilish tizimining faolliklari membranaga mustaxkam bog'langan kardiolipinga bog'liq. Bu kardiolipinni

enzimlarning katalitik faoliyatini amalga oshirishda va elektron tashilish jarayonlarida asosiy vazifani bajarishini bildiradi [Kagawa, Racker, 1971; Green, Ery, 1980]. Enzimning katalitik faolliklarini faol «impulsli» shaklini xosil bo'lishi, oqsilning butunlay qayta tiklanishi va funktsiyasi to'liq ishga tushgandan keyin, mitoxondriyada ionlarning tashilishida va enzimlarning faolliklarini bajarishda boshqaruvchilik vazifasini bajaradi [Antonini et al., 1977].

SHunday qilib, lipidsizlantirilgan mitoxondriya membranalaridagi enzimlarning yo'qotilgan faolliklari ekzogen fosfolipidlarni qo'shish bilan qayta tiklash mumkin degan xulosaga keliish mumkin. Mitoxondriya membranalarining strukturaviy butunligini tiklay olishi natijasida enzimlarning katalitik faolliklarini qayta tiklanishi, mitoxondriya fosfolipidlarining qayta atsillanishini samaradorligiga xam bog'liq. Mitoxondriya membranalarida joylashgan enzim va polienzim tizimlarning katalitik faolliklari faqat manfiy zaryadlangan fosfolipidlar yordamidagina to'liq qayta tiklanishi mumkin. Fosfolipidsizlantirilgan mitoxondriyalar, membranalar, nafas oluvchi komplekslardagi enzim va polienzim tizimlarning katalitik faolliklari fosfolipidlar bilan qayta tiklanganda ularning maxsusligi kamroq namoyon bo'ladi. Bunday xollarda manfiy zaryadlangan fosfolipidlarning ozgina miqdori, masalan kardiopilin bizning fikrimizcha fosfatidilxolin va fosfatidiletanolaminlarning o'zoro nisbatini oshiradi.

Nafas olish zanjirida joylashgan enzimlarning faolliklari xam tarkibida to'yinmagan yog' kislotalari bo'lgan fosfolipidlarning borligiga bog'liq.

Turli fosfolipidlar yordamida mitoxondriya funktsiyalarini qayta tiklash mumkinligi mitoxondriya membranalarida maxsus qismlar bo'lib, u yerdagi fosfolipidlar u yoki bu vazifalarni bajarishi shart ekanligini anglatadi. SHu bilan bir vaqtda fosfolipidlarning ko'pchiligi membranada oqsillar bilan birgalikda faqatgina strukturaviy vazifalarni bajaradi va xech qanday o'zgarishsiz u yerdagi fosfolipidlarni boshqa fosfolipidlarga almashtirish mumkin. SHuning uchun mitoxondriya membranalarida joylashgan enzim va polienzim tizimlarning xususiyati va bajaradigan vazifasini belgilovchi fosfolipidlarni joylashish soxalarini va turini aniqlash juda muhimdir.

1.4. Mitoxondriya membranalarining fosfolipaza A₂ enzimi

Fosfolipidlarga fosfolipaza A₁ va fosfolipaza A₂ lar ta'sir etganida lizofosfolipidlar va erkin yog' kislotalari xosil bo'ladi. Xosil bo'lgan lizofosfolipidlar lizofosfolipaza A ta'sirida gidrolizga uchraydi. Bunda xam erkin yog' kislotalari ajralib chiqadi.

Kalamushlarning jigari mitoxondriyalarida aniqlangan birinchi enzim fosfolipaza A₂ hisoblanadi [Lehninger, Remmert, 1959; Rossi et al., 1965; Scherphof, Van Deenen, 1965]. Fosfolipaza A₂ mitoxondriyaning tashqi va ichki membranalarida joylashgan [Te Xa Zen i dr., 1984]. Ular bir xil enzimmi yoki bir biridan farq qiladimi yoki yo'qmi, xaligacha aniqlangan emas.

Fosfolipaza A₂ gidrolitik faoliyatidan tashqarii transatsillash vazifasini bajarishi aniqlangan [Brumley, Van den Bosch, 1977; Kramer, Deykin, 1983; Raximov i dr., 1983].

Waite M., Sisson P. [1971] 160 marta tozalangan mitoxondriya fosfolipazasi fosfatidiletanolamin va boshqa ko'pgina fosfolipidlarni rN - 9,5 da, fosfatidilserinni esa rN - 7,4 maksimal gidrolizlashini aniqlashgan. Enzim bilan substrat orasidagi bog'lanish samaradorligi liposomalarning tashqi zaryadiga bog'liq. Eng yuqori samaradorlik liposomalarning tashqi qavati manfiy zaryadga ega bo'lganida erishilgan. Erkin yog' kislotalari qisman tozalangan enzim faolligiga ta'sir qilmaydi, ammo intakt mitoxondriyadagi enzimlarning faolligiga ta'sir ko'rsatadi.

Toza xolda olingan fosfolipaza A₂ (3357 marta tozalangan) Sa²⁺ ta'sirida faollashadi, EDTA va r-bromfenatsilbromid ta'sirida faolligi yo'qoladi [De Winter et al., 1989]. Toza xolda olingan bu enzim yuqori xaroratda o'zining faolligini yo'qotadi [Natori et al., 1983; De Winter et al., 1989]. Tozalangan fosfolipaza tarkibida lineolin kislota saqllovchi fosfatidiletanolaminni yaxshi gidrolizlaydi, fosfatidilxolin va fosfatidilnozitga nisbatan faolligi past [Natori et al., 1983].

Mitoxondriyadagi fosfolipaza A₂ gidrolitik faoliyatidan tashqarii transatsillash vazifasini bajarishi xam aniqlangan [Raximov i dr., 1983].

Transatsillash reaksiyasining maksimal faolligi Ca^{2+} bo'lganida kuzatiladi, ikki valentli kationlar bilan faollashadi.

Mitoxondrial fosfolipaza A_2 ning faollashtiruvchisi Ca^{2+} hisoblanadi [Waite, 1969; Waite, Sisson, 1971; Nachbaur et al., 1972]. Uning optimal konsentratsiyasi - 2 mM. Ca^{2+} bilan fosfolipaza A_2 ning faollashuvini turlicha tushuntiriladi: a) Ca^{2+} bevosita enzimga bog'lanib, uning tuzilishini o'zgartiradi va nafaol xolatdan faol xolatga o'tkazadi [Van den Bosch, 1980]; b) Ca^{2+} fosfolipazalarga substrat sifatida ishlatiladigan liposomalarning yuza soxasida optimal zaryadni yaratadi [Scherphof et al., 1966]; v) Ca^{2+} membrana oqsillari bilan bog'lanib, enzim - Ca^{2+} - substrat kompleksi yaratilishi uchun optimal sharoit yaratadi [Scherphof et al., 1972]. Xar qanday xolatda ham mitoxondriya fosfolipaza A_2 si Ca^{2+} ionlarini bog'lab oluvchi EDTA va EGTA bilan faolligini yo'qotadi. Mg^{2+} ham fosfolipaza A_2 ni birozgina ingibirlaydi.

Anestetiklardan nuperkain mitoxondriya fosfolipaza A_2 sini eng faol ingibitori hisoblanadi. Anestetiklarni ingibirlash xususiyati pasayishi quyidagicha kamayib boradi: nuperkain > butakain > lidokain > prokain. Ca^{2+} miqdorining oshib borishi nuperkainning ingibirlash xususiyatini pasaytirib yuboradi. Demak, anestetiklar membranalaridan Ca^{2+} ni siqibyu chiqarib faolligi Ca^{2+} ga qaram bo'lgan fosfolipazalarni ingibirlaydi. Extimol, musbat zaryadlangan anestetiklar enzim - Ca^{2+} - substrat kompleksini xosil bo'lishiga to'sqinlik qiladi.

Lizofosfatidiletanolamin endogen fosfatidiletanolaminni fosfolipaza A_2 tomonidan gidrolizini sekinlashtiradi, ammo ekzogen fosfatidiletanolaminni gidrolizini tezlashtiradi [Waite, 1969]. Erkin yog' kislotalari membranaga boqlangan fosfolipaza A_2 ni faollashtiradi, ammo tozalangan bu enzim faolligiga ta'sir qilmaydi.

ATF, ADF va tsAMF lar mitoxondriyadagi fosfolipaza A_2 ning ingibitori hisoblanadi [Nachbaur et al., 1972; Axmedjanov i dr., 1984].

Mitoxondriyadagi fosfolipaza A_2 ni vitamin E ingibirlasa, vitamin A faollashtiradi.

Hujayralarda fosfolipidlarning xosil bo'lishida atsil qoldig'ini tashilishi muhim rol o'ynaydi va bu jarayon lizofosfolipaza A tomonidan katalizlanadi.

Mitoxondriyada lizofosfolipaza A_1 borligini birinchi bo'lib Doiglas et al. [1979] lar taxmin qilishgan. Jigar mitoxondriyasida lizofosfolipaza A_1 ning borligini Almatov va b. [1983] birinchi bo'lib ko'rsatishgan. Uning maksimal faolligi $rN - 6,0$ namoyon bo'ladi [Gorbataya i dr., 1988; Gorbataya O.N., 1988].

Lizofosfolipaza A_1 mitoxondriyaning tashqi va ichki mem-branalarida joylashgan [Gorbataya 1988; Gorbataya i dr., 1988]. Bu enzim uchun eng yaxshi substrat fosfatidiletanolamin va kardiolipinlar hisoblanadi. Lizofosfolipaza A_1 fosfatidiletanolaminni fosfatidilxolonga nisbatan ikki marta tez girolizlaydi [Almatov, 1990; 1993]. Sa^{2+} va EDTA mitoxondriyadagi lizofosfolipaza A_1 ning katalitik faoligiga ta'sir qilmaydi.

1.5. Lipidlarning peroksidli oksidlanishi maxsulotlarini membranotrop ta'siri

Biologik membrana va ularning xususiyatlarini modifikatsiyalash jarayonlarida muhim rol o'ynaydigan keng spektrli oraliq va oxirgi maxsulotlarni xosil qilishga olib keluvchi lipidlarning peroksidli oksidlanishi serqirra zanjir reaksiyalari bizga ma'lum. Bular aldegidlar, ketonlar, alkanlar, tarmoqlangan zanjirli va tsiklik xalqa saqlovchi turli uzun zanjirli alkenlar, xamda oxirida polyar soxali bitta qisqa (odatda 1 chi xolatda) va bitta uzun zanjirli (odatda 2 chi xolatda) fosfolipidlardir [Vladimirov i dr., 1991; 1998; Gubskiy, Zadorina i dr., 1991; Gubskiy, Primak i dr., 1991; Porter et al., 1995].

Normal xolatda lipidlarning peroksidli oksidlanishi tizimida antioksidantlar muvozanatlashgan va qaytar aloqa printsipida ishlaydi. Antioksidantlarning faolliklarini kuchayishi erkin radikalli reaksiyalarni susayishiga olib keladi, bu esa o'z novbatida lipidlarning xususiyat-larini o'zgartiradi, ularda osonroq oksidlanadigan fraktsiyalar paydo bo'ladi, natijada lipidlarning peroksidli oksidlanishini tezlashtiradi. Bunda endogen antioksidantlarni sarflanishi tezlashadi, va avvalgi xolatga qaytadi. Tabiiy antioksidantlarning faolliklarini doimiy darajasi-gomeostazni asosiy ko'rsatgichlaridan biridir [Dolina i dr., 1987].

Enzimli antioksidant tizimi superoksiddismutaza, katalaza, peroksidazalardan tashkil topgan. Bu tizim NAD.N fondi manbaasi bo'lib xizmat qiladigan erkin radikal proton oqimlari tizimini "o'chiradi" [Johnson et al., 1980].

Hujayra ichidagi asosiy enzim ximoya omili superoksiddismutaza hisoblanadi, uning asosiy vazifasi superoksidanionni chiqarib tashlashdan iborat. Bu metalloprotein ikki asosiy variantda uchraydi: mitoxondriya matriksida joylashgan marganets saqlovchi enzim, va tsitoplazmadan joylashgan mis-rux-saqlovchi enzim [Johnson et al., 1980]. Mis-rux-saqlovchi superoksiddismutazaning miqdori marganets-saqlovchi superoksiddismutazaning miqdoridan ko'p. Buning asosiy sababi boshqa metallarga nisbatan Ca^{2+} kuchli tiklovchi bo'lganligi uchun xam mis-rux-saqlovchi superoksiddismutaza marganets-saqlovchi superoksiddismutaza-nikidan 1,5-2,0 marta faolroq [Bilenko, 1989].

Superoksiddismutazaning faolligini meyordagi ko'rsatgichga nisbatan 50 % ga yaqin pasayishi superoksid anionradikallarni miqdorini boshqarib bo'lmaydigan darajada sharoit yaratadi, bu esa hujayralarda qaytarib bo'l-maydigan o'zgarishlarga olib kelishi mumkin [Michelson, 1977; Shatalina i dr., 1989].

Undan tashqari lipidlarning perekisli oksidlanish jarayonining xaddan tashqari muhimligini shundan iboratki, u xam bo'lsa biomembra-nalardagi fosfolipidlarni "bisqatlam" tuzilishini fiziologik axamiyatga ega bo'lgan modifikatsiyalaridan birini tashkil qiladi, membrana strukturalarini bo'laklarga bo'lishda va fosfolipidlarini yangilanishida qatnashadi [Vladimirov i dr., 1991; Gatsura, Smirnov, 1992; Dix, Aikens, 1993].

Membranada lipidlarning perekisli oksidlanishi reaksiyasi xar xil birlamchi va ikkilamchi maxsulotlarni xosil bo'lishiga olib keladi. Natijada biomembrana strukturasida jiddiy o'zgarishlarga uchraydi. Qisqa atsil zanjirli fosfolipidlar xuddi lizofosfolipidlarga o'xshab biomembranani ichida mitsellalar xosil qiladi [Dan, 1998]. Lizofosfolipidlar qatori ularni tabiiy detergentlar deb atasa xam bo'ladi.

Lipidlarning perekisli oksidlanishi membranani polyarligini va lipid "biqatlam"ini yopishqoqligini ko'paytiradi [Vladimirov i dr., 1991].

Lipidlarni perekisli oksidlanishi natijasida membrana biqatlamini orasidagi birqatlam orasidagi flip-flop o'tish tezligi kuchayadi, xamda membrana oqsillarini lateral xarakatchanligi va aylanish tezligi pasayadi [Richter, 1988].

Lipidlarning perekisli oksidlanishini oxirgi reaksiya maxsuloti xisoblangan malon dialdegidini membrana assimetriyasiga ta'siri o'rganilgan [Jain, 1984]. Malon dialdegidi membrana biqatlamini ichki qatlamidan tashqi qatlamiga fosfatidiletanolamin va fosfatidilserin aminofosfolipidlarining ko'chib o'tkazishga olib kelishi ko'rsatilgan.

Shunday qilib, membranalarda kechayotgshan jarayonlarga lipidlarning perekisli oksidlanishi ta'siri membrana oqsillari va fosfolipidlariga to'g'ridan-to'g'ri destruktiv ta'siri bo'lishi, va ayni vaqtda membrana strukturasini o'zgartirish orqali bo'lishi xam mumkin.

1.6. Antioksidantlar va ularning organizmga ta'siri

Enzimli antioksidant tizimi superoksiddismutaza, katalaza, peroksidazalardan tashkil topgan. Bu tizim NAD.N fondi manbaasi bo'lib xizmat qiladigan erkin radikal proton oqimlari tizimini "o'chiradi" [Johnson et al., 1980].

Hujayra ichidagi asosiy enzim ximoya omili superoksiddismutaza hisoblanadi, uning asosiy vazifasi superoksidanionni chiqarib tashlash-dan iborat. Bu metalloprotein ikki asosiy variantda uchraydi: mitoxon-driya matriksida joylashgan marganets-saqlovchi enzim, va tsitoplazmadan joylash-gan mis-rux-saqlovchi enzim [Johnson et al., 1980]. Mis-rux-saqlovchi superoksiddismutazaning miqdori marganets-saqlovchi superoksiddismutazaning miqdoridan ko'p. Buning asosiy sababi boshqa metallarga nisbatan Ca^{2+} kuchli tiklovchi bo'lganligi uchun xam mis-rux-saqlovchi superoksiddismutaza marganets-saqlovchi superoksiddismutazanikidan 1,5-2,0 marta faolroq.

Superoksiddismutazaning faolligini meyordagi ko'rsatgichga nisbatan 50 % ga yaqin pasayishi superoksid anionradikallarni miqdorini boshqarib bo'lmaydigan darajada sharoit yaratadi, bu esa hujayralarda qaytarib bo'lmaydigan o'zgarishlarga olib kelishi mumkin [Michelson A.M., Pudet K. et al., 1977; Shatalina i dr., 1989].

Antioksidantlar organizmni erkin radikallardan va kislorodni faol shakllaridan ximoya qiladigan moddalardir. Erkin radikallar organik molekulalarni kislorod bilan chala oksidlanishida, ya'ni perekisli oksidlanishida xosil bo'ladi. Bizning hayotimiz kislorod iste'moli bilan va demak oksidlanish jarayoni bilan chambarchas bog'langan, shu sababdan organizmda erkin radikallarni xosil bo'lishidan saqlanish mumkin emas. Erkin radikallar va ularni xosil bo'lishi bilan bog'liq reaksiyalar ko'pchilik jiddiy kasalliklar va qarishni asosiy sababchisi hisoblanadi.

Antioksidantlar erkin radikalli oksidlanish reaksiyasiga to'sqinlik qiladi va buzilgan birikmalarni qayta tiklaydi. Antioksidantlar oksid-lovchiga o'zini elektronini beradi va uning buzuvchi ta'sirini to'xtatadi, va natijada o'zi oksidlanadi va nofaol xolatga o'tadi. Uni o'zini ishga yaraydigan xolatga o'tishi uchun, uni yana qayta tiklashi kerak bo'ladi. Shu sababdan antioksidantlar tezlik bilan ikki yoki gurux bo'lib ishlaydi, ya'ni oksidlangan shirigini ximoya qiladi va tezda uni qayta tiklaydi.

Ana shunday antioksidantlardan biri ionol (2,6-ditretbutil-4-metilfenol) hisoblanadi [Balashova T.S., Xitrov N.K., Gerasimov A.M., 1990; Meerson F.Z., Lapshin A.V., Manuxina Ye.B., 1991; Gubskiy Yu.I., Zadorina O.V., Federov A.N., Bogdanova L.A., 1991a; Gubskiy M.V. Primak R.G. i dr., 1991b; SHar'yg'in V.L., va b., 2005]. Ionolni gipoksiya sharoitida mitoxondriyalarning struktura va funktsiyalariga ta'siri kam o'rganilganligini xisobga olib men jigar mitoxondriyalarining nafas olishi va oksidlanishli fosforlaishiga ta'sirini o'rganishni maqsad qilib qo'yildi.

Antioksidantlarni organizmga ta'sirini ko'radigan bo'lsak ko'plab adabiyot ma'lumotlariga ko'ra flavanoid moddalar tabiiy antioksidantlar hisoblanadi. Antioksidantlar mitoxondriya membranasidagi lipidlarni periksli oksidlanishida ingibirlovchi ta'sir etishi va superoksiddismutaza, katalaza fermentlarining faolliklari bilan izohlanadi. Bunday bioflavanoidlarga rutin, pulikarin, kvvertsetin, tsenarazid, apigenin va shu kabi ko'plab moddalar tajribalarda antioksidant xossalarini namoyon qiladi. Antioksidantlar mitoxondriyalar disfunktsiyasida nafas

zanjirlarida erkin radikallarni xosil bo'lishini kamaytirish ya'ni antiradikal mexanizmi ishtirokida ta'sir etadi. Bundan tashqari proksidant moddalar xam bor bunday moddalar mitoxondriyalarda erkin radikallarni ortishiga olib keladi natijada membrana lipidlarida perikslis oksidlanish jarayoni boshlanib ketishiga sababchi bo'ladi.

Bizning organizmimiz uchun kislorod miqdorining me'yoriy darajadan ortib ketishi xam yaxshi oqibatlarga olib kelmaydi. Bu ko'rinishdagi holat yuz berganda erkin radikalarning xosil bo'lishi natijasida hujayra strukturalari yemirilishi amalga oshadi. Organizmda erkin radikallarning xosil bo'lishi va lipidlarning perokisli oksidlanish jarayoni kuchayishi (ba'zan bu jarayon oksidativ stress deb ataladi) nafaqat kislorod miqdori ortib ketgan holatlarda, balki bir qator boshqa sabablar asosida xam yuzaga kelishi mumkinligi ta'kidlangan. Shunday qilib oksidativ stress ta'sirida biologik membranalar xususiyatlari va hujayra funktsiyasida buzilishi yuz beradi. Lipidlarning perokisli oksidlanish nisbatan uchta bevosita ta'sir natijasida yuz berish holatlaridagi natijalari bo'yicha ko'proq o'rganilgan.

Birinchi holat – lipidlarning perokisli oksidlanishi membrana oqsillari tarkibida tiol (sulfigidril) guruhlarining oksidlanish tarzida amalga oshadi. Masalan, ko'z gavharida lipidlarning perokisli oksidlanishi, oqsil agregatlarining hosil bo'lishi ta'sirida ko'z gavharining xiralashishi yuz beradi. Bu jarayon natijasida odam organizmida katarakta kabi patologiyalar rivojlanishi yuz beradi. Tiol guruhlarining oksidlanishi mitoxondriya va hujayraning boshqa membrana qismlarida turli xil defektlar yuzaga kelishiga sabab bo'ladi. Membranada elektr potentsiallar farqlanishi asosida poralar orqali hujayraga Na^+ ionlari kirishi kuchayadi yoki mitoxondriya membranasi orqali K^+ ionlari kirishi faollashadi. Natijada esa hujayra ichki qismida va mitoxondriya ichki qismida osmotik bosim ortadi, mitoxondriya bo'kishi amalga oshadi. Bu jarayonlar ta'sirida esa membranada keyingi yemirilishlar yuz beradi. Hujayra patologiyasida faol markaz sohasida tiol guruhlari mavjud bo'lgan Ca^{2+} -ATFaza faoelligida yuzaga keluvchi o'zgarishlar sezilarli darajada ahamiyatga ega hisoblanadi. Ca^{2+} -ATFaza inaktivatsiyasi natijasida Ca^{2+} ionlarining hujayradan tashqi muhitga «chiqarib

tashlanishi» amalga oshadi va bir vaqtning o'zida hujayraga Ca^{2+} ionlarining kirish jarayoni xam kuchayadi. Bu jarayon hujayra ichki qismida Ca^{2+} ionlari kontsentratsiyasining ortib ketishi va hujayraning yemirilishi bilan davom etadi.

Ikkinchi holat – lipidlarning perekisli oksidlanishi natijasida xosil bo'luvchi moddalarning bevosita membrana lipid qo'sh qavatida ion singdiruvchanlik xususiyatining ortishiga sabab bo'lishi bilan bog'liq hisoblanadi. Ushbu ko'rinishda lipidlarning perekisli oksidlanish jarayoni maxsulotlari membrana lipid fazasini vodorod va kal'tsiy ionlari uchun o'tkazuvchanlik xususiyati ortishiga olib keladi. Bu jarayonlar natijasida ATF sintezi xususiyati yo'qoladi va hujayra energiya tanqisligi holatiga tushib qoladi. Bir vaqtning o'zida hujayra tsitoplazmada Ca^{2+} ionlari kontsentratsiyasi o'zgarishlari natijasida hujayra ichki strukturalarida jiddiy o'zgarishlar amalga oshadi.

Uchinchi holat – (balki bu eng muhimi hisoblanishi xam mumkin) lipidlarning perekisli oksidlanishida lipid qo'sh qavatining barqarorlik xususiyati susayishi hisoblanadi, bunda membranada hosil bo'luvchi elektr potentsiallar farqi ta'sirida membranada elektr o'zgarishlari yuz beradi.

Hozirgi kunda ko'pchilik antioksidantlar haqida gapiradigan bo'lib qolgan. Nega antioksidantlar shunchalik organizm uchun foydali ekan? Qanday qilib antioksidantlar saraton kasalligini oldini olishda stress bilan kurashishda yordam bera oladi?

Qadimdan tabiblarimiz meva va sabzavotlardan ko'proq iste'mol qilishni tavsiya etganlar. Aynan meva va sabzavotlar tarkibidagi antioksidantlar organizmda yig'ilib qolgan bo'sh radikallarni yig'ib chiqarib tashash qobiliyatiga ega ekan.

Bo'sh radikallar organizmni tez qaritadi, uning tizimlarini ish faoliyatiga salbiy ta'sir ko'rsatadi va eng asosiysi organizm immun tizimini buzadi. Undan tashqari bo'sh radikallar borgan sari ko'payib to'qima DNKsini buzib, saraton kasalligining ayrim turlari yuzaga kelish havfini yuzaga keltiradi.

Bo'sh radikallar surunkali stress natijasida va atrof-muhitdagi radioaktiv moddalarning organizmda yig'ilishi natijasida ham vujudga keladi. Shunday ekan organizmdagi ortiqcha bo'sh radikallarni yo'q qilish zarur.

Buning uchun antioksidantlar bizga yordam beradi.

Aslida barcha meva va sabzavotlar antioksidantlarga boy. Shuning uchun ularni muntazam ravishda xomligicha ist'emol qilish maqsadga muvofiq bo'ladi. Lekin antioksidantlar miqdori ko'proq quyidagi mahsulotlar tarkibida mavjud: - klyukva, chernika, qora olxo'ri, loviyaning barcha turlari, yong'oq, bodom, funduk danagi, o'rmon yong'oqi, xandon pista, kakao, sarimsoq piyozi, ko'k choy, gvozdika, koritsa, kurkuma va quritilgan petrushka o'tlari.

II. ASHYOLAR VA USLUBLAR

2.1. Gipoksiya modelini yaratish, hayvonlarni saqlash va ionolni organizmga yuborish sharoitlari

Gipoksiya modelini chaqirishni bir necha usullari mavjud masalan Almatov va Axmerov usularini (bankadan foydalangan xolatda) yozish kerakmi yoki Vladimirov adabiyotida ko'rsatilgan gazlar yordamidami, yoki gipobaricheskiy gipoksiyanimi (bunda 760 mm.sim.ust. atmosferani bosimini kamaytirish orqali erishish mumkin). Asosiy mexanizm to'qimalarda kislorod miqdorini kamaytirish va mana shu to'qima darajasidagi gipoksiyani mitoxondriyaga ta'sirini yoritish lozim. Dastlab gipoksiyani mitoxondriya nafas olishi va oksidlanishli fosforlanishga ta'sirini yozish kerak. 2 –dan esa ionolni gipoksiya xolatida mitoxondriya oksidlanishli fosforlanishga ta'sirini (in vitro sharoitida) o'rganish.

Tadqiqot o'tkazish uchun og'irligi 180-200 g.li oq laboratoriya kalamushlari olindi va vivariy sharoitida 20-25⁰S xaroratda standart qafaslarda saqlandi. Oziq-ovqat va suv keragicha berildi.

Tadqiqot o'tkazish uchun olingan hayvonlarni xar bir guruxda 6 tadan 2 ta guruxga bo'lib o'rganildi. Birinchi guruxdagi kalamushlar tanasiga fiziologik eritma teri ostiga yuborildi; ikkinchi guruxdagilarning tanasiga ionolni (2,6-ditretbutil-4-metilfenol) 50 mg/kg tana og'irligiga nisbatan 0,5 ml o'simlik yog'ida 5 kun davomida og'iz orqali har kuni bir martadan yuborildi [Balashova T.S., Xitrov N.K., Gerasimov A.M., 1990; Meerson F.Z., Lapshin A.V., Manuxina Ye.B., 1991; SHarʼygin V.L., va b., 2005].

Gipoksiya xajmi 1000 m³li germokamere sharoitida xosil qilindi, germokameraga 1 ta kalamush solindi [Almatov K.T. i dr., 1993 a]. Bunday kaerada 10 daqiqa davomida, ya'ni xar xil og'irlikdagi gipoksiya sharoitida hayvonlarning kislorod iste'moli aniqlandi. Agar germokamerada tadqiqotning boshlanishida kislorodning miqdori 18-20 % ni tashkil qilgan bo'lsa, tajirabaning o'rtalarida 8-10 % ni tashkil qildi. Keyin hayvonni kameradan olib jigaridan mitoxondriyalar ajratib olindi. Nazorat uchun olingan hayvonlar oddiy laboratoriya sharoitida saqlandi.

2.2. Jigar to'qimasidan mitoxondriya ajratib olish

Kalamushlar jigaridan mitoxondriyani differentsial sentrifuga (TSLR-1) [Hogeboom G.N., Scheider W.C., Pallade O.H., 1948] yordamida ayrim o'zgartirishlar [Almatov K.T. va b, 1993 a] yordamida ajratiladi.

Dekapitatsiya qilingan kalamushlarning jigari sovutilgan ajratish muhitiga – saxaroza 0,25 M; tris-Nsl – bufer 10 mM (rN 7,4) va 2mM etilendiamidtetraatsetatga (EDTA) solindi. Ajratish muhiti harorati 1-2⁰S atrofida bo'lishi kerak. Jigar o'tkir qaychi bilan bir necha bo'laklarga bo'linib, qondan tozalanadi va diametri 1mm li teshikchalari bo'lgan mikromaydalagichga solinib, maydalandi. Maydalangan jigarni molibden shishadan tayyorlangan gomogenizatorga solinib ustiga har 1 gr. to'qimaga 10 ml dan ajratish muhiti quyildi va 40-60 soniya davomida teflonli pestik bilan gomogenizatsiya qilindi. Gomogenat polietilenli probirkalariga quyildi va tarozida tortilib (qarama - qarshi tomonga qo'yilgan probirkalar bir hil og'irlikga keltirilishi shart) tsentrifuga rotoriga solindi va 10 daqiqa davomida (1700-1800 aylanish daqiqada 600g tezlikda) tsentrifuga qilindi. Gomogenizatsiya jarayonida parchalanishga ulgurmagan hujayralar va yadrolar cho'kmaga tushdi. Ustidagi suyuqligi (supernatantni) boshqa toza probirkaga quyiladi va yana torozida tortilib bir hil og'irlikka keltirilgandan keyin tsentrifuga rotoriga solinadi. 15-20 daqiqa (5500 – 6000 daqiqa aylanishi) davomida 6000g tezligida og'ir va o'ta og'irlikdagi mitoxondriyalar cho'ktirildi. Supernatant to'kib tashlanadi. Bunda yengil fraktsiyali mitoxondriyalar, mikrosomalalar va lizosomalalar bo'ladi. Probirka devorlarida yopishib qolgan yog'simon moddalarni fil'tr qog'oz bilan artib olindi. Cho'kmadagi mitoxondriyaga 2-3 ml tarkibida etilendiamintetraatsetati bo'lmagan ajratish muhiti solinib, sovutilgan shisha tayoqcha bilan yaxshilab aralashtiriladi. Ustiga 1:10 nisbatida (10 g jigarga 100 ml ajratish muhiti quyiladi) tarkibida etilendiamin-tetraatsetati bo'lmagan ajratish muhiti quyiladi va yana o'sha tezlikda tsentrifuga qilindi. Buni ikkinchi marotaba tsentrifuga qilinganda mitoxondriya bilan qo'shib tushgan lizosoma va mikrosomalardan tozalanadi va

etilendiamintetraatsetatdan foydalanishdan maqsad – intakt mitoxondriyalarni ajratib olish. Etilendiamintetraatsetat ikki valentli kationlarni, asosan kaltsiy kationini (fosfolipazalarning faollashtiruvchilarini) o'ziga biriktirib olishi natijasida fosfolipaza noaktiv holatga o'tadi. Lekin, ajratib olingan mitoxondriyalardan yuvib tashlash kerak. Shu sababli ham so'ngi tsentrifugalashda etilendiamintetraatsetatsiz ajratish muhitidan foydalanildi. Cho'kmaga tushgan mitoxondriyalar ustiga 2-3 ml ajratish muhiti solinib (etilendiamintetraatsetatsiz), shisha tayoqcha bilan yaxshilab aralashtiriladi. Mitoxondriya toki tugaguncha 1-2°S haroratdan oshmasligi kerak. Haroratning oshishi endogen fosfolipaza va proteazalarni faolligini tezlashishiga olib keladi. Mitoxondriya oqsilining miqdori Louri va b. [Lowry O.H. et al., 1951] usuli bilan aniqlandi.

2.3. Mitoxondriya lipidlarini ekstraktsiyalash

Lipidlar ekstraktsiyasi Blay va Dayer usuli [Bligh E.G., Dyer W.J., 1959] bilan ba'zi bir modifikatsiya orqali amalga oshiriladi [Voskovsky V.E. et al., 1975].

Mitoxondriyalarga 2 ml xloroform-metanol (xloroform: metanol: suvning nisbatlari 1:2:8,8) qo'shilib o'lchami 20 mlli jips ypilgan probirkaga fil'trlab olindi. Fil'trdagi cho'kma 3 marotaba qaynoq metanol bilan yuviladi. Qaynoq metanol bilan yuvish lizofosfolipidlarni va nordon fosfolipidlarni cho'kishini ta'minlaydi. Fil'tratga 0,2% li 2,8 ml kaltsiy xlorid xloroformli va suv-metanolli fazalar hosil bo'lguncha quyiladi. Yuqori faza aniq uchragach, uni so'rib olinadi. Yuqori fazada qolib ketgan fosfolipidlar 4ml xloroform bilan yekstraktsiya qilinib olinadi. Yig'ib olingan xloroformli ekstrat 3 marotaba 1ml dan xloroform-metanol-0,02 SaSL₂ (2:19:18) aralashmasi bilan yuvildi. Yuvilgandan so'ng umumiy xajmining 1/10 qismi olinib, undagi umumiy lipidlarni 1-10 mklli xloroform-metanol (2:1) aralashmasida yeritildi.

Ekstratdagi fosfolipidlarning umumiy miqdorini fosfor bo'yicha Vaskovski [Voskovsky V.E. et al., 1975] taklif etgan reaktivdan foydalanib xlor kislotasi bilan kuydirilib aniqlandi.

Mitoxondriyaning fosfolipid tarkibini ustiga KSK markali silikagel bilan qoplagan [Bergelson L.D. va b.,1981] razmeri 6x9 sm shisha plastinkada ikki o'lchamili mikroyupqa qatlamli xromatografiya usuli bilan aniqlandi. Plastinkani ishlatishdan oldin 100⁰S haroratda 20 daqiqa davomida aktivlashtirib olindi. Plastinkani ustiga xloroformli fosfolipid aralashmani shisha kapilyarda 10-15 mkl miqdorda tomdirildi va quyidagi tarkibli eritmada bo'lindi: 1chi yo'nalish-xloroform-metanol-28% ammiak (65:25:5) va 2chi yo'nalish-xloroform-atseton-metanol-sirka kislotasi-suv (6:8:2:1).

Maxsus aniqlagichlar yordamida fosfolipidlar identifikatsiya qilindi (Bergelson L. D va b., 1981): amin saqlovchi fosfolipidlarni ningidrinli reaktiv bilan, xolin saqlovchi fosfolipidlarni Dragenodorf reaktivi bilan, hamda guvohlar bilan aniqlandi. Buning uchun plastinkani yodli kameraga qo'yib fosfolipidli dog'larni aniqlab olish uchun ingichka nina bilan doira shaklida chizib olindi. Undan keyin yodni olib tashlash uchun plastinkani 110⁰Sda 15 daqiqa davomida qizdirildi. Tarkibida fosfolipid saqlovchi silikagelni ehtiyotkorlik bilan qirib olinib shisha probirkaga solindi (har bir dog'li silikagelni alohida-alohida probirkaga), ustiga 0,2 ml.dan xlor kislotasi (72%) quyildi va 20 daqiqa davomida 190-200⁰S xaroratda fosfolipidlar kuydirildi [Voskovsky V.E., 1975]. Probirkadagi aralashmani yaxshilab aralashtirildi va 15 daqiqa davomida qaynab turgan qizdirildi. Sovigandan keyin slikogeldan ajratib olish uchun tsentrifuga qilindi va 830 nm to'lqin uzunligida spektrofotometrda fosfolipidlarning miqdori aniqlandi. KN₂RO₄ li standart eritma bilan kalibr egri chizig'i tuzildi. Bu usulning sezgirligi dog'dagi fosforni 1-20 mkgyugacha aniqlaydi.

2.4. Mitoxondriya fosfolipidlarini identifikatsiyalash

Mitoxondriya fosfolipidlarini identifikatsiyalash uchun Vas'kovskiy tomonidan modifikatsiyalangan reagentdan foydalanildi [Voskovsky V.E. et all., 1975]. Tarkibida xolin saqlovchi fosfolipidlarni Dragendrov reaktivi yordamida aniqlandi. Aminoguruxi bo'lgan fosfolipidlar 100⁰S da 15 daqiqa qaynatilganda binafsha-qizil rangli dog' hosil qiladi. Glitserin va inozitni aniqlashda kumush

ammoniy nitrat foydalanildi. Plastinkaga purkalgandan so'ng, 110°S da jigarrang dog' xosil bo'lguncha qizdiriladi. SHuning uchun lizofosfatidilxolin, lizofosfatidiletanolaminlarni aniqlashda "guvox"lardan foydalandik.

2.5. Mitoxondriyada erkin yog' kislotalarining miqdorini aniqlash

Mitoxondriyalardagi erkin yog' kislotalarining miqdori spektrofotometrda 515 nm to'liq uzunligida rodamin 6j ishtrokida mualliflar taklif etgan usulda [Anderson M.M., McCarty R.E., 1972] aniqlandi. Buning uchun olingan to'qima gomogenatlarini erkin yog' kislotalarning miqdorining ekstinksiya koeffitsienti (E_{515}) rodamin 6j ni benzolli ekstrakti bo'yicha tayyorlandi. Palmitin kislota bo'yicha kolibirli egri chiziq 40°S haroratda tuzildi.

Suvda enzimli lipoliz tezligini aniqlashni spektrofotometr usuli ma'lum vaqt o'tganidan keyin reaksiyani to'xtashiga asoslangan. Undan keyin hosil bo'lgan maxsulot – erkin yog' kislotalari reaksiya muhitidan organik erituvchi fazaga o'tkazilib, u yerda ularning miqdori aniqlanadi. Lipid-larning enzimli gidrolizini o'lchash uchun foydalanilgan organik eritmalar ana shu muhitning o'zida erkin yog' kislotalarni xosil bo'lish tezligini aniqlash imkonini beradi. Benzolli eritmadagi lipidlardan 0,1ml olib, 2,7ml mitsellarli eritma saqlovchi spektrofotometr kyuvetasiga solinib reaksiya boshlanadi.

2.6. Mitoxondriyalarda lipidlarning perekisli oksidlanishini aniqlash

Mitoxondriyalarda kechayotgan lipidlarning perekisli oksidlanishini mualliflar [Vladimirov, Archakov, 1972] taklif etgan usul bilan aniqlandi. Bu usulning printsipi tarkibida 2-3 dien bog'ga ega bo'lgan to'yinmagan yog' kislotalarni pereoksidlanishi natijasida xosil bo'lgan malon kislota bilan tiobarbitur kislotasini xamkorlikda ta'siriga asoslangan.

O'lchash muhiti 1ml da: 0,2mM $\text{Na}_4\text{R}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{N}_2\text{O}$; 1mM NADFN (yoki 0,8mM askorbin kislota); 0,012mM Mora tuzi ($\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2 \cdot 6\text{N}_2\text{O}$); 50 mkl tekshirilayotgan mitoxondriya aralashmasi; 50mM tris NSI-bufer (rN 7,4) lardan

tashkil topdi. Nazorat uchun olinganida NADFN dan tashqari o'lchash muhitini xamma komponentlari solingan. Tekshirishga olingan sinamalar 37^{0S} haroratda 20 daqiqa davomida doimiy ravishda silkitilib aralashtirilib turildi. Keyin ularning ustiga 1ml 30% li uchxlor kislotasi solinib reaksiya to'xtatildi. So'ngra 10 daqiqa davomida 6000 aylanma/tezlikda tsentrifuga qilinib cho'kmani olib tashlandi. Undan keyin 1,5ml tsentrifugatga 0,3ml 0,6M va 1,2ml 0,12M li tiobarbutir kislotasi qo'shildi. Probirkada xosil bo'lgan rangni kuchaytirish uchun probirkalarni 100^{0S} xaroratli suv xammomida 10 daqiqa davomida inkubatsiya qilindi. Xosil bo'lgan rangni quyuqligini spektrofotmetrda 535 nm da o'lchandi. Xosil bo'lgan malon dialdegidining miqdorini 1,56/10 sm ga teng molyar ekstinktsiyaga teng koeffitsientdan foydalanib xisoblab topildi. Lipidlarning perekisli oksidlanish reatsiyasining tezligini nM malon dialdegidi/mg oqsil daqiqada belgilandi.

2.7.Mitoxondriyalarning fosfolipaza A_2 sini faolligini aniqlash

Mitoxondriya membranalarida joylashgan fosfolipaza A_2 ning faolligini aniqlash uchun kalamush jigaridan ajratib olingan mitoxondriyalarni uch guruxga bo'linib probirkalarga solindi. Probirkalarning barchasi 37^{0S} xaroratda 1 soat davomida saqlanib inkubatsiyadan avvalgi xolatiga nisbatan lipidlarni o'zgarishini bir-biriga solishtirish orqali fosfolipazaning faolligiri aniqlandi.

Fosfolipaza A_2 ni gidrolitik faolligini aniqlash uchun ajratib olingan mitoxondriyani 0,25 M saxaroza, 2 mM tris-NS1 buferli (rN 9,5) o'lchash muhitida 37^{0S} xaroratda 1 soat davomida [Waite, Sisson, 1971, Raximov va b. 1989a] erkin yog' kislotalari, lizofosfatidilxolin va lizofosfatidiletanolaminlarini miqdoriy o'zgarishlari bo'yicha aniqlandi. Olingan natijalarni inkubatsiyadan avvalgi ko'rsatgichlarga solishtirib fosfolipaza A_2 ning gidrolitik faolligi aniqlandi. Fosfolipaza A_2 ning gidrolitik faolligi 1 soat davomida gidrolizga uchragan mitoxondriya fosfolipidlar va xosil bo'lgan lizofosfolipidlarning iqdorlari mkg/mg oqsilda aniqlandi.

2.8. Mitoxondriyalarda oqsil miqdorini aniqlash

Mitoxondriyalardagi oqsil miqdorini aniqlash uchun quyidagi eritmalar tayyorlandi [Lowry et al., 1951].

1) Folin reaktivini tayyorlash uchun qayta muzlatgichi bylgan moslama tayyorlandi. Kolbacha 1l reaksiya o'tkazish uchun vol'framat natriy (100g), fosformolibden kislota (20g), 50ml 85%li fosfor kislota va 750ml dis-tillangan suv solinadi. Kolba qayta muzlagichli moslamaga o'rnatildi. Moslama suvga ulangan bo'ladi. Kolba ichidagi suyuqlik 10 soat davomida sovutildi. Undan keyin kolbadagi eritma ustiga distillangan suv quyib 1l ga yetkaziladi va xolodinikda saqlandi. Bu reaktivdan uzoq vaqt davomida foydalanish mumkin.

2) A reaktivni tayyorlash uchun 2%li Na_2SO_3 ni 0,1N NaON ga qo'shiladi. Bu reaktivni 25 kun davomida ishlatish mumkin.

3) B reaktiv, mis kuporosining ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) vino kislotali natriy ($\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$) bilan birgalikdagi suvli eritmasidan tashkil topgan. Bu reaktivni 3 oy davomida ishlatish mumkin.

Qon tomiri va trombositlardagi oqsil miqdori fotoelektrokolorimetрни qizil yorug'lik fil'trida tarkibida Qon tomiri va trombositlardan tashqari barcha qo'shimchalar bo'lgan eritmaga nisbatan aniqlandi.

Qon tomiri va trombositlardagi oqsil miqdorini aniqlash uchun, eng avval albuminli namuna bilan kolibirli egri chiziq tuzib olish kerak. Buning uchun 1 ml 0,1 N NaON eritmasida 10 mg albumin solib yaxshilab aralashtiriladi.

Xar bir guruxda 3 tadan 5 ta guruxdan iborat probirkalar tayyor-lanadi: 1 chi guruxdagilarga 0,4ml suv; 2chi guruxdagilarga 0,02ml albumin eritmasi (0,2mg) va 0,38ml suv; 3chi guruxdagilarga 0,05ml albumin (0,5mg) va 0,35 ml suv; 4chi guruxdagilarga 0,1ml albumin (1mg) va 0,3ml suv; 5chi guruxdagilarga 0,2ml albumin (2mg) va 0,2ml suv qo'yiladi. Xamma probirkalardagi eritmaning xajmi 0,4ml bo'lishi kerak.

So'ngra probirkalarga 2,5ml S reaktivi qo'shildi, oradan 10 daqiqa o'tgach 0,25ml Ye reaktivi qo'shildi va yaxshilab aralashtirildi. Probirkalar qorong'i joyda 30 daqiqa saqlangandan keyin fotoelektrokolorimetрda (qizil yorug'lik fil'trda) oqsil

miqdori o'lchandi. Xar bir probirkalardan (3ta probirkadagi) oqsil miqdorlari soni umumlashtirilib, o'rtacha miqdori topildi.

Ekstinksiyasi va ularga mos keladigan oqsil miqdorlarini bilgan xolda ekstropolyatsiya yo'li bilan, ya'ni abtsissa va ordinata o'qlaridagi kesishgan nuqtani topib, ushbu namunadagi oqsil miqdori topildi.

III. NATIJALAR VA ULARNING TAHLILI

3.1. Gipoksiyada jigar mitoxondriyalarda lipidlarning perekisli oksidlanishidagi o'zgarishlar

P.Mitchelning [Mitchel P., Moyle J., 1967] xemosmotik kontsepsiyasiga asosan, mitoxondriyaning ichki membranasida elektron va protonlarning vektor tashilishi natijasida ATF-sintaza [Voyer P.D., 1997] foydalanidigan vodorod ionining elektrokimyoviy potentsiallar farqi xosil bo'ladi, konformatsion o'zgarishlar natijasida ADF va noorganik fosfatdan ATF sintezlanadi [Mitchel P., Moyle J., 1967]. Mitoxondriyaning ichki membranasida to'plangan membrana potentsiali ($\Delta\psi$), vodorod ioni potentsialini transmembrana tarkibiy qismidagi farqlar ($\Delta\mu\text{N}^+$) va boshqa ($\Delta r\text{N}$) bilan xamkorlikda ATF sintezini ta'minlaydi. Membrana potentsialini qiymatini doimiy ravishda saqlanib turilishi hujayra va mitoxondriya faoliyatini norma darajada saqlanishiga imkon beradi. Hujayrani kislorod bilan ta'minlanishini pasayishi (gipoksiya) oqibatida, ya'ni ATFni aerob sinteziga imkoni yo'qligida, mitoxondriya generator emas, balki ATFni iste'molchisiga aylanadi, ya'ni mitoxondriyaning ATF azasi ta'sirida gidrolizlanadi, bunda mitoxondriyaning ichki membranasida membrana potentsiali ishlab chiqiladi [Di Lisa F., Blank P.S. et al., 1995; Neupert W., Herrmann J.M., 2007].

Hujayraning turli organellalarida joylashgan juda ko'plab enzimlar kislorodni vodorod peroksidiga tiklanishi katalizlaydi. Taxmin qilinishicha jigarda xosil bo'lgan vodorod peroksidini 30 % ga yaqini mitoxondriyalarda sodir bo'ladi. Intakt mitoxondriya xam bir necha vodorod peroksidi ishlab chiqaradigan faolligi to'qimalarga maxsus enzimlarni saqlaydi. Xar qanday to'qimaning mitoxondriyalari uchun umumiy va eng faol "enzimi" nafas olish zanjiri hisoblanadi. Intakt mitoxondriyalarda vodorod peroksidini xosil bo'lish tezligi uning funktsional xolatiga (3 xolat yoki 4 xolatdaligiga) va oksidlangan substratlarning (NAD^+ -ga bog'liq substratlar, suktsinat) tabiatiga bog'liq [Vladimirov, Grivennikova, 2005]. Submitoxondrial fragmentlar, masalan ichki membrana xam NADH yoki suktsinat ishtrokida vodorod peroksidi xosil qilish

qobiliyatiga ega. Nafas olish zanjiri tomonidan ishlab chiqilgan vodorod peroksidini o'tmishdoshi bo'lib spontan yoki superoksiddismutaza reaksiyasi natijasida vodorod peroksidi xosil qiladigan superoksidradikal (O_2^-) xizmat qiladi. Asosiy NAD.N-, suksinat- va boshqa substratoksidazli reaksiyalar mitoxondriyaning nafas olish zanjirida kislorodni suvgacha to'rt elektronli tiklashi bilan kechadigan reaksiyadan tashqari mitoxondriyaning nafas zanjiri kislorodni birelektronli tiklanishini superoksidradikalgacha (O_2^-) katalizlaydi va keyinchalik vodorod peroksidini xosil qiladi.

Yuqorida aytilganlarni nazarda tutib, biz gipoksiyada jigar mitoxondriyalarida lipidlarning perekisli oksidlanishi qanday o'zgarishlarga uchrashini aniqlashni maqsad qilib qo'ydik.

Gipoksiyada jigar mitoxondriyalarida lipidlarning perekisli oksidlanishida kuzatilgan o'zgarishlar to'g'risida olingan natijalar 1-jadvalda berilgan.

1-jadval

Gipoksiya sharoitida saqlangan kalamushlarning jigari mitoxondriyalarida lipidlarning perekisli oksidlanish jarayonini o'zgarishi ($M \pm m$; $n=8-10$)

Malon dialdegididining miqdori, nmol/mg oqsil		
Sog'lom hayvonlar	Gipoksiyaga uchratilgan hayvonlar	%
0,293 $\pm$ 0,015	0,583 $\pm$ 0,044****	198,9

Gipoksiyaga uchratilgan hayvonlarning jigari mitoxondriyalarida lipidlarning perekisli oksidlanishi nazoratdagi hayvonlarda olingan ko'rsatgichga qaraganda 1,6 martaga oshganligi aniqlandi. Demak, biz yaratgan gipoksiya modelida jigar mitoxondriyalarida lipidlarning perekisli oksidlanishi sezilarli darajada oshadi.

3.2. Kislorod yetishmasligi sharoitida jigar mitoxondriyalarida fosfolipaza A₂ ning faolligini o'zgarishi

Fosfolipidlarga fosfolipaza A₁ ta'sir etganida lizofosfolipid-lar va erkin yog' kislotalari xosil bo'ladi. Xosil bo'lgan lizofosfolipidlar lizofosfolipaza A ta'sirida gidrolizga uchraydi. Bunda xam erkin yog' kislotalari ajralib chiqadi.

Kalamushlarning jigari mitoxondriyalarida aniqlangan birinchi enzim fosfolipaza A₂ hisoblanadi [Lehninger, Remmert, 1959; Rossi et al., 1965, Scherphof, Van Deenen, 1965]. Fosfolipaza A₂ mitoxondriyaning tashqi va ichki membranalarida joylashgan [Te Xa Zen i dr., 1984]. Ular bir xil enzimmi yoki bir biridan farq qiladimi yoki yo'qmi, xaligacha aniqlangan emas.

Fosfolipaza A₂ gidrolitik faoliyatidan tashqarii transatsillash fazifasini bajarishi aniqlangan [Brumley, Van den Bosch, 1977; Kramer, Deykin, 1983; Raximov i dr., 1983].

Mitoxondriyadagi fosfolipaza A₂ gidrolitik faoliyatidan tashqarii transatsillash vazifasini bajarishi xam anilangan [Raximov i dr., 1983]. Transatsillash reaksiyasining maksimal faolligi rn 9-9,5 bo'lganida kuzatiladi, ikki valentli kationlar bilan faollashadi.

Mitoxondrial fosfolipaza A₂ning faollashtiruvchisi Sa²⁺ hisoblanadi [Waite, 1969; Waite, Sisson, 1971; Nachbaur et al., 1972]. Uning optimal kontsentratsiyasi - 2 mM. Sa²⁺ bilan fosfolipaza A₂ ning faollashiuvini turlichia tushuntiriladi: a) Sa²⁺ bevosita enzimga bog'lanib, uning tuzilishini o'zgartiradi va nofaol xolatdan faol xolatga o'tkazadi [Van den Bosch, 1980]; b) Sa²⁺ fosfolipazalarga substrat sifatida ishlatiladigan liposomalarning yuza soxasida optimal zaryadni yaratadi [Scherphof et al., 1966]; v) Sa²⁺ membrana oqsillari bilan bog'lanib, enzim - Sa²⁺ - substrat kompleksi yaratilishi uchun optimal sharoit yaratadi [Scherphof et al., 1972]. Xar qanday xolatda xam mitoxondriya fosfolipaza A₂si Sa²⁺ ionlarini bog'lab oluvchi EDTA va EGTA bilan faolligini yo'qotadi. Mg²⁺ xam fosfolipaza A₂ni birozgina ingibirlaydi.

Xozirgi paytda fosfolipazalarni o'rganishga bo'lgan qiziqish borgan sayin ortib bormoqda. Oxirgi yillarda hayvonlarning xar xil hujayra membranalar va

ularning organellalarida membranada joylashgan lipolitik enzimlar to'g'risida olib borilgan tadqiqotlar, bunday enzimlar, ayniqsa fosfolipaza A ning asosiy vazifasi fosfolipidlar tarkibini boshqarish, membrananing strukturasi va vazifasini bir butunligini nazorat qilish degan xulosaga kelindi [Almatov K.T., 1990, 1993]. Tashqi muhitning xar xil sharoitlarida hujayralardagi, shu jumladan mitoxondriyalardagi fosfolipaza A₂ ning faolligiga qanday ta'sir ko'rsatishini o'rganish fosfolipidlarning sifat va miqdoriy o'zgarishlari mexanizmini tushunishga yordam beradi.

Biz o'z oldimizga kislorod tanqisligi sharoitida mitoxondriyalardagi fosfolipaza A₂ ning gidrolitik faolligiga qanday o'zgarishlarga uchrashini aniqlashni maqsad qilib qo'ydik. Olingan natijalar 2 jadvalda keltirilgan.

Nazoratdagi kalamushlarning jigari mitoxondriyalardagi fosfolipaza A₂ning gidrolitik faolligi erkin yog' kislota, lizofosfatidilxolin va lizofosfatidiletanolaminlarining xosil bo'lishiga qarab $2,65 \pm 0,25$; $1,60 \pm 0,14$ va $5,95 \pm 0,63$ mkg/soat mg oqsilni tashkil qildi. Olingan natijadan fosfolipaza A₂ fosfatidilxolonga nisbatan fosfatidiletanolaminni 3,72 martaga ko'proq gidrolizlaydi va bu natija adabiyotlardagi ma'lumotlarga mos keladi [Almatov K.T., 1990, 1993].

2-jadval

Gipoksiya sharoitida saqlangan kalamushlarning jigari mitoxondriyalardagi fosfolipaza A₂ ning faolligini o'zgarishi

($M \pm m$; n = 5-6).

Variantlar	Fosfolipaza A ₂ ning faolligi, mkg/ soat mg oqsil			
	Gidroliz maxsulotlari			
	Erkin yog' kislotalari	Lizofosfatidilxolin	Lizofosfatidiletanolamin	%
Nazorat	$2,65 \pm 0,25$	$1,60 \pm 0,14$	$5,95 \pm 0,63$	371,9
Gipoksiya	$4,95 \pm 0,77^{****}$	$2,84 \pm 0,34^{****}$	$14,18 \pm 1,32^{****}$	499,3
%	186,8	177,7	238,4	

Kislorod yetishmasligi sharoitida jigar mitoxondriyalaridagi fosfolipaza A₂ning faolligini erkin yog' kislota, lizofosfatidilxolin va lizofosfatidiletanolaminlarining xosil bo'lishi bo'yicha 1,87; 1,78 va 2,38 martalarga oshishiga olib keldi. Bu sharoitda fosfolipaza A₂ning faolligini keskin oshib ketishiga sabab mitoxondriyalarda adeninnukleotidlarning, asosan ATF ning miqdorini kamayib ketishidan bo'lishi mumkin. ATF, ADF va tsAMF lar mitoxondriyadagi fosfolipaza A₂ ning ingibitori xisoblanishi avvaldan ma'lum [Nachbaur et al., 1972; Te Xa Zan, R. Axmedjanov, T. Косых, K.T.Almatov, M.M. Raximov, B.A. Tashmuxeamedov, 1984].

3.3.Ionolni kislorod yetishmasligi sharoitida saqlangan kalamushlarning jigari mitoxondriyalarida lipidlarning perekisli oksidlanishiga ta'siri

Erkin radikallar organik molekulalarni kislorod bilan chala oksidlanishida, ya'ni perekisli oksidlanishida xosil bo'ladi. Bizning hayotimiz kislorod iste'moli bilan va demak oksidlanish jarayoni bilan chambarchas bog'langan, shu sababdan organizmda erkin radikallarni xosil bo'lishidan saqlanish mumkin emas. Erkin radikallar va ularni xosil bo'lishi bilan bog'liq reaksiyalar ko'pchilik jiddiy kasalliklar va qarishni asosiy sababchisi hisoblanadi. Antioksidantlar organizmni erkin radikallardan va kislorodni faol shakllaridan ximoya qiladigan moddalardir.

Ana shunday antioksidantlardan biri ionol (2,6-ditretbutil-4-metilfenol) hisoblanadi [Balashova T.S., Xitrov N.K., Gerasimov A.M., 1990; Meerson F.Z., Lapshin A.V., Manuxina Ye.B., 1991; Gubskiy Yu.I., Zadorina O.V., Federov A.N., Bogdanova L.A., 1991a; Gubskiy M.V. Primak R.G. i dr., 1991b; SHarыgin V.L., va b., 2005]. Ionolni gipoksiya sharoitida yashashga majbur bo'lgan organizmlarning mitoxondriyalarining struktura va funktsiyalariga ta'siri kam o'rganilgan.

Shu sababli biz, novbatdagi tajribamizda gipoksiya sharoitida saqlangan kalamushlarning organizmiga ionol yuborib jigar mitoxondriyalarida lipidlarning

perekisli oksidlanishi qanday o'zgarishlarga uchrashini aniqlashni maqsad qilib qo'ydik. Olingan natijalar 3-jadvalda berilgan.

3-jadval

Gipoksiya sharoitida kalamush jigari mitoxondriyalarida lipidlarning perekisli oksidlanishi jarayoniga ionolni ta'siri ($M \pm m$; $n=8-10$)

Variantlar	Malon dialdegididining miqdori, nmol/mg oqsil	
Nazoratdagi hayvonlar	0,293 $\pm$ 0,015	100
Gipoksiya sharoitida saqlangan hayvonlar	0,583 $\pm$ 0,044 ^{****}	198,9
Tanasiga ionol yuborilib gipoksiya sharoitida saqlangan hayvonlar	0,362 $\pm$ 0,032 ^{**}	123,5

Gipoksiya sharoitida saqlangan kalamushlarning jigari mitoxondriyalarida lipidlarning perekisli oksidlanish jarayoni nazoratdagi kalamushlardagi ko'rsatgichga nisbatan 1,99 martga oshgan bo'lsa, tanasiga avval ionol yuborib keyin gipoksiya sharoitida saqlangan kalamushlarning jigari mitoxondriyalarida lipidlarning perekisli oksidlanishi jarayoni pasayib nazoratdagi ko'rsatgichga yaqinlashdi, ya'ni atigi 1,23 martga oshdi. Demak, gipoksiya sharoitida ionol kalamush a'zolarining to'qima va hujayralarida erkin radikallarning xosil bo'lishini pasaytiradi va membranalarning buzilishini oldini oladi.

3.4.Ionolni kislorod yetishmasligi sharoitida saqlangan kalamushlarning jigari mitoxondriyalarida fosfolipaza A₂ning faolligiga ta'siri

Organizmiga ionol yuborib gipoksiya sharoitida saqlangan kalamushlarning jigar mitoxondriyalaridagi fosfolipaza A₂ning gidrolitik faolligidagi o'zgarishlar to'g'risida olingan natijalar 4-jadvalda keltirilgan.

Gipoksiya sharoitida saqlangan kalamushlarning jigari mitoxondriyalaridagi fosfolipaza A₂ ning faolligini ionol ta'sirida o'zgarishi ($M \pm m$; $n = 5-6$).

Variantlar	Fosfolipaza A ₂ ning faolligi, mkg/ soat mg oqsil			
	Gidroliz maxsulotlari			
	Erkin yog' kislotalari	Lizofosfatidilxolin	Lizofosfatidiletanolamin	%
Nazorat	2,65±0,25	1,60±0,14	5,95±0,63	371,9
Gipoksiya	4,95±0,77****	2,84±0,34****	14,18±1,32****	499,3
%	186,8	177,7	238,4	
Gipoksiya+Ionol	3,22±0,36	2,04±0,22	7,85±0,75	384,8
%	121,5	127,6	131,9	

Gipoksiya sharoitida saqlangan kalamushlarning jigari mitoxondriya-larida fosfolipaza A₂ ning erkin yog' kislotalarni xosil qilish bo'yicha faolligi nazoratdagi ko'rsatgichga nisbatan 1,87 martaga oshgan bo'lsa, organizmiga ionol yuborib gipoksiya sharoitida saqlangan kalamushlarning mitoxondriyalarida 1,21 martaga oshdi. Demak, ionol gipoksiya sharoitida saqlangan kalamushlarning a'zo hujayralarining endogen fosfolipaza-larini gidrolitik faolligini pasaytiradi va natijada membrananing intaktligi, ya'ni bir butunligi saqlanadi. Hujayraning bir meerda ishlashiga yordam beradi.

Gipoksiya sharoitida saqlangan kalamushlarning jigari mitoxondriya-laridagi fosfolipaza A₂ning gidrolitik faolligi fosfatidilxolin va fosfatidiletanolaminlarning gidrolizi bo'yicha nazoratdagi ko'rsatgich-larga nisbatan 1,78 va 2,38 martalarga oshgan bo'lsa, gipoksiya sharoitida saqlashdan oldin organizmiga ionol yuborilgan kalamushlarda 1,28 va 1,32 martalarga oshdi. Demak, ionol gipoksiya sharoitida saqlangan hayvonlar-ning mitoxondriyalaridagi fosfolipaza A₂ ning fosfolipidlarga bo'lgan maxsusligi bo'yicha xam gidrolitik faolligini sezilarli darajada pasaytiradi.

XULOSA

Xulosa qilib aytganda biz bitiruv malakaviy ishini bajarish jarayonida quyidagilarni aniqladik:

1. Gipoksiya – tashqi va ichki sabablar tomonidan chaqirilgan kislorodni hujayralarida yetishmasligi odam va hayvonlarning organizmida ko'plab patologik jarayonlarni keltirib chiqaradi. Gipoksiya odam va hayvonlarning organizmida xar xil negativ jarayonlar: kasalliklar, jarohat olish, tug'ma kasalliklar natijasida paydo bo'ladi.
2. Membranalarda kechayotgshan jarayonlarga lipidlarning peroksidli oksidlanishi ta'siri membrana oqsillari va fosfolipidlariga to'ppadanto'g'ri destruktiv ta'siri bo'lishi, va ayni vaqtda membrana strukturasi o'zgartirish orqali bo'lishi xam mumkin.
3. Turli fosfolipidlar yordamida mitoxondriya funktsiyalarini qayta tiklash mumkinligi mitoxondriya membranalarida maxsus qismlar bo'lib, u yerdagi fosfolipidlar u yoki bu vazifalarni bajarishi shart ekanligini anglatadi. SHu bilan bir vaqtda fosfolipidlarning ko'pchiligi membranada oqsillar bilan birgalikda faqatgina strukturaviy vazifalarni bajaradi va xech qanday o'zgarishsiz u yerdagi fosfolipidlarni boshqa fosfolipidlarga almashtirish mumkin. Shuning uchun mitoxondriya membranalarida joylashgan enzim va polienzim tizimlarning xususiyati va bajaradigan vazifasini belgilovchi fosfolipidlarni joylashish soxalarini va turini aniqlash juda muximdir.
4. Gipoksiya sharoitida aqlangan kalamushlarning jigari mitoxondriya-larida fosfolipaza A₂ ning erkin yog' kislotalarni xosil qilish bo'yicha faolligi nazoratdagi ko'rsatgichga nisbatan 1,87 martaga oshgan bo'lsa, organizmiga ionol yuborib gipoksiya sharoitida saqlangan kalamushlarning mitoxondriyalarida 1,21 martaga oshdi. Demak, ionol gipoksiya sharoitida saqlangan kalamushlarning a'zo hujayralarining endogen fosfolipazalarini gidrolitik faolligini pasaytiradi va natijada

membrananing intaktligi, ya'ni bir butunligi saqlanadi. Hujayraning bir meyorda ishlashiga yordam beradi.

5. Gipoksiya sharoitida saqlangan kalamushlarning jigari mitoxondriyalaridagi fosfolipaza A_2 ning gidrolitik faolligi fosfatidilxolin va fosfatidiletanolaminlarning gidrolizi bo'yicha nazoratdagi ko'rsatgichlarga nisbatan 1,78 va 2,38 martalarga oshgan bo'lsa, gipoksiya sharoitida saqlashdan oldin organizmiga ionol yuborilgan kalamushlarda 1,28 va 1,32 martalarga oshdi. Demak, ionol gipoksiya sharoitida saqlangan hayvonlar-ning mitoxondriyalaridagi fosfolipaza A_2 ning fosfolipidlarga bo'lgan maxsusligi bo'yicha xam gidrolitik faolligini sezilarli darajada pasaytiradi.

Adabiyotlar ro'yxati

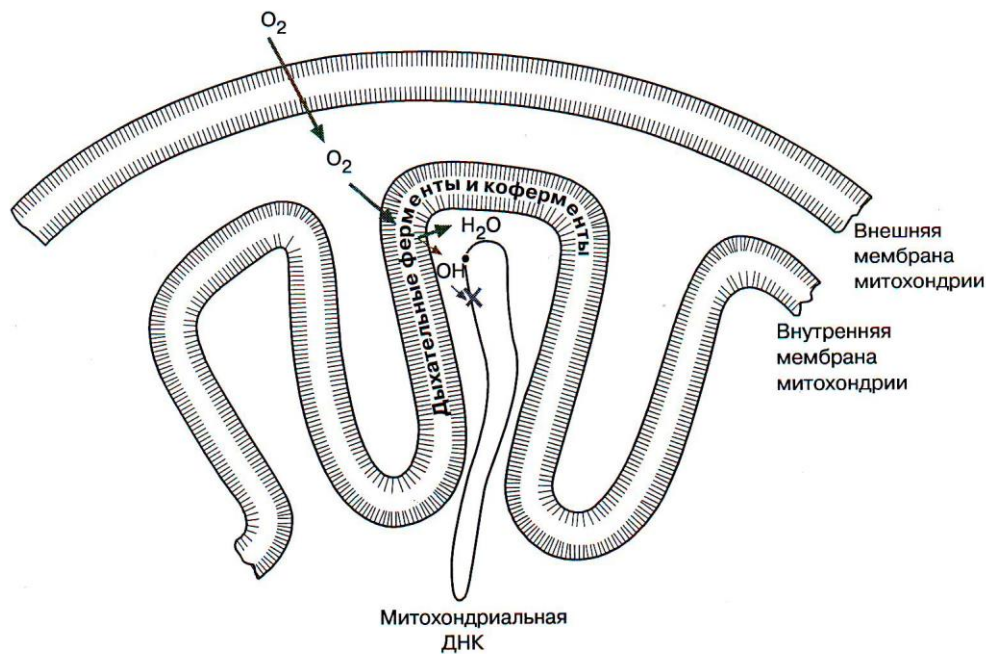
1. Almatov K.T. Mexanizmi razvitiya povrejdeniy membran mitoxondriy i rol lipoliticheskoy sistemi: Avtoref. dis. ... dokt. biol. nauk: Institut bioximiya ANRUz., 1990. - 32 s.
2. Almatov K.T. Fermentativnye prevrasheniya fosfolipidov membran mitoxondriy - Tashkent: Universitet, 1993. - 30 s.
3. Almatov K.T., Axmerov R.N., Irgashev M.S. i dr. Metodicheskie ukazaniya k laboratorim zanyatiyam po kursu «Fiziologik cheloveka i jivotnix. Tashkent: Universitet, chast 1, 1993a, 50 s.
4. Almatov K.T., Axmerov R.N., Zaripov B.Z., Irgashev M.S., Allamuratov Sh.I. Metodicheskie ukazaniya k laboratornim zanyatiyam po kursu «Fiziologiya cheloveka i jivotnix», ch. 2 // Tashkent: Universitet, 1993 b, S. 52.
5. Andreeva L.I., Kojemyakin L.D., Kushkin A.A. Modifikatsiya metoda opredeleniya perekisey lipidov v teste s tiobarbiturovoy kislotoy //. Laboratornoe delo. – Moskva, 1989. - №1. - S. 41-43.
6. Axmedjanov R., Te Xa Zan, Косых Т., Almatov K.T., Raximov M.M., Tashmuxeimedov B.A.. Vliyanie tsiklicheskogo AMF i ATF na endogenные fosfolipazi mitoxondriy / Uzbek. biol. jurnal, 1984, № 5, S.18-20.
7. Balashova T.S., Xitrov N.K., Gerasimov A.M. Rol antioksidantov na deystvii tiroksina na funktsionalnie svoystva miokarda u kris. Fiziologicheskij jurnal im. I.M.Sechenova. 1990. T.76. № 10, S. 1312-1316.
8. Belosledtsev K.N., Belosledtsev N.V., Mironova G.V. Vozmojnyy mexanizm obrazovaniya i regulyatsii pal'mitat-indutsirovannoy siklosporin A-chuvstvitelnoy mitoxondrialnoy pori // Bioximiya. – Moskva, 2005. - T.70. - vip.7. - S.987-994.
9. Bergelson L.D., Dyatlovitskaya E.V. i dr. Preparativnaya bioximiya lipidov. Moskva: Nauka. 1981. - 259 S.
10. Bilenko M.V. Ishemicheskie i reperfuzionnie povrejdeniya organov //Molekulyarnye mexanizmi, puti preduprejdeniya i lecheniya. M.: Meditsina. 1989. -368 s.

11. Bodrova B.E., Braylovskaya I.V. i dr. Siklosporin A-chuvstvitelnoe snijenie transmembrannoy raznosti elektricheskogo potentsiala na vnutrenney membrane mitoxondriy pecheni nizkimi kontsentratsiyami jirnix kislot i Ca^{2+} // Bioximiya. – Moskva, 2003. - T.68. - vo'p.4. - S. 484-493.
12. Braylovskaya I.V., Aleksandrova A.S., Slepneva L.V. Vliyanie ostroy gipoksicheskoy gipoksii na dixanie mitoxondriy pecheni kris // Voprosi med. ximi. 1980, T. 24, № 4, S. 435-438.
13. Vladimirov Yu.A., Archakov A.I. Perekisnoe okislenie lipidov v biologicheskix membranax. Moskva: Nauka, 1972, 252 s.
14. Vladimirov Yu.A., Azizova O.A. i dr. Свободные радикалы в живых системах // Итоги науки и техники. Серiya «biofizika». – Moskva, 1991. - T. 29. - S. 42-49.
15. Vladimirov Yu.A. Свободные радикалы и антиоксиданты // Vestnik Ross. AMN. Moskva, 1998. - № 7. - S. 43-51.
16. Vladimirov Yu.A., Grivennikova V.G. Generatsiya superoksidradikalami NADH: ubixinon oksidoreduktazoy mitoxondriy serdtsa // Bioximiya. Moskva, 2005. - T. 70. - vip. 2. - S. 150-159.
17. Gatsura V.V., Smirnov L.D. Kardioprotekturnye svoystva nekotorig sinteticheskix antioksidantov // Xim. farm. jurnal. – Moskva, 1992. - T.12. - S.10-15.
18. Glotov N.A. Vliyanie glutaminovoy kisloty na aktivnost okislitel'nykh fermentov v mitoxondriyax serdtsa pri gipoksii // Ukr. bioxim jurnal, 1971, T. 43, № 4, S. 540-543.
19. Glotov N.A., Shmeleva L.T. Okislitel'nyye protsessy v miokarde pri gipoksiyax raznogo geneza // Mexanizmy povrezhdeniya restentnosti, adaptatsii i kompensatsii: tez dokl. T. 11. Tashkent, 1976, S. 354.
20. Govorova L.V. Vliyanie eksperimentalnoy gipoksii na ATF-aznuyu aktivnost yader i mitoxondriy mozga, pecheni i serdtsa.// Voprosi med. ximi, 1977. T. 23, S. 302-308.

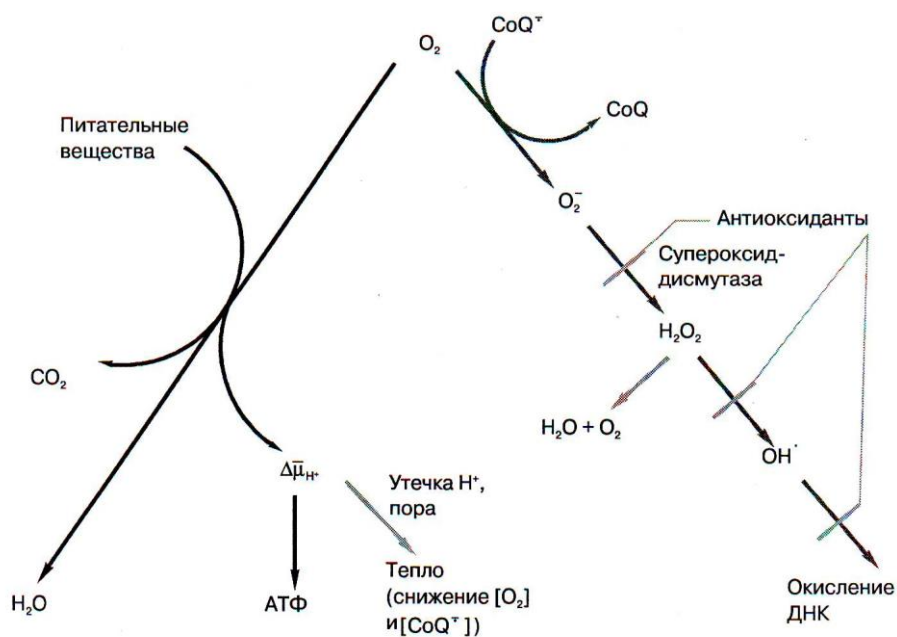
21. Gorbataya O.N., Mirtalipov D.T., Almatov K.T., Raximov M.M. Obnaruzhenie lizofosfalipazi v membranax mitoxondriy pecheni kris / Ukrain. bioxim. jurnal. – Kiev, 1988. - T.60. - № 6. - S.22-28.
22. Gorbataya O.N. Lipoliticheskaya sistema mitoxondriy i ye funktsionalnaya rol: Kand. diss... biol. nauk. Tashkent. 1988. - 203 s.
23. Gubskiy Yu.I., Zadorina O.V., Federov A.N., Bogdanova L.A. Perekisnaya modifikatsiya sarkoplazmaticheskogo retikuluma skletnix mishits pri antioksidantnoy nedostatochnosti i deystviya ionola. 1. Transport Sa^{2+} v membranax sarkoplazmaticheskogo retikuluma // Ukrain. bioxim. jurnal. – Kiev, 1991a. - T.63. - № 4. - S.81-87.
24. Gubskiy M.V. Primak R.G. i dr. Perekisnaya modifikatsiya sarkoplazmaticheskogo retikuluma skletnykh myshits pri antioksidantnoy nedostatochnosti i deystviya ionola. 2. Fiziko-ximicheskie xarakteristiki membran sarkoplazmaticheskogo retikuluma // / Ukrain. bioxim. jurnal. – Kiev, 1991b. - T.63. - № 4.- S.87-92.
25. Zenkov N.K., Lankin V.Z., Men'shikova Ye.B. Okislitel'nyy stress. Bioximicheskiy i patofiziologicheskie aspekt, MAIK «Nauka: Interperiodika», Moskva. 2001. S.343.
26. Zenkov N.K., Men'shikova Ye.B., Kandalintseva N.V. i dr. Antigipoksantnye i protivovospalitel'nyye svoystva novix vodorastvorimix serosoder-zhashix fenolnix soedineniy // Bioximiya. 2007. T.72. vyp. 6. S. 790-798.
27. Zorov D.B., Isaev N.K., Plotnikov Ye.Yu., Zorova L.D., Stelmashuk Ye.V., Vasileva A.K., Arxangelskaya A.A., Xryapenkova T.G. Mitoxondriya kak mnogolikiy Yanus. Obzor. // Bioximiya, - 2007, - tom.72, - vip.10, - s.1371-1384.
28. Deryabina Yu.I., Isakova Ye.P., Zvyagil'skaya R.A. Sa^{2+} -transportiruyushchie sistemi mitoxondriy: svoystva, regul'yatsiya, taksonomicheskie osobennosti // Bioximiya. – Moskva, 2004. - T.69. - vyp.1. - S.114-127.
29. Dolina O.A., Galleev F.S., Farxutdinov R.R. Vliyanie obshiy anestazii i yee komponentov na svobodnoradikalnie protsessi // Anestaziya i reanimatologiya. – Moskva, 1987. - №5. - S.71-75.

30. Lakomkin V.L., Konavalova G.G., Kalenikova Ye.I. i dr. Izmenenie antioksidantnogo statusa miokarda pod vliyaniem koenzima Q₁₀ pri okislitel'nom stresse // Bioximiya. 2005. T. 70. vip. 1. S. 97-104.
31. Lankin V.Z., Tixaze A.K., Belenkov Yu.I. Kardiologiya. 2000. T.44. S.72-81.
32. Lukyanova L.D. Osobennosti raboti dixatel'noy sepi v usloviyax kislorodnoy nedostatochnosti. // V kn.: Molekulyarnye mexanizmi i regulyatsiya energeticheskogo obmena (materiali Vsesoyuznogo simpoziuma). –Pushino. 1987. 153-160 s.
33. Meerson F.Z., Lapshin A.V., Manuxina Ye.B. Preduprezhdenie postinfarkt'nogo padeniya davleniya i giperaktivatsiya endoteliya aorti s pomosh'yu antioksidanta ionola.// Fiziologicheskij jurnal SSSR im. I.M. Sechenova. 1991. T. 77. № 7. S. 48 – 56.
34. Raximov M.M., Muratova U.Z., Mad'yarov SH.R. O transatsiliruyushey funktsii fosfolipazi A₂ mitoxondriy pecheni kris // Uzbek. biol. jurnal. 1983. № 1. S. 7-9.
35. Raximov M.M., Gorbataya O.N. i dr. Svoystva fosfolipazi A₂ narujnoy i vnutrenney membran mitoxondriy / Bioximiya. – Moskva, 1988. - T. 53. - Vip. 9. - S. 1486-1495.
36. [http:// ballov.ru](http://ballov.ru) – diplom, dissertatsiya, referat va kurs ishlarining namuna variantlarini o`zida qamrab olgan veb-sahifa.
37. [http:// bankreferatov. ru](http://bankreferatov.ru) - diplom, dissertatsiya, referat va kurs ishlarining namuna variantlarini o`zida qamrab olgan veb-sahifa
38. <http://www.c-x.com> – Land and Real Estate Appraising
[http://ecoinform. freenet.uz](http://ecoinform.freenet.uz)
38. <http://www.google.co.uz>
39. <http://www.yandex.ru>
40. <http://pedagog.uz>

Ilova



1 rasm. Mitoxondriyalarda erkin radikallar va vodorod peroksidini xosil bo'lishi va ichki membranada joylashgan mitoxondriyaning DNKsiga ta'siri



2 rasm. Mitoxondriyalarda erkin radikallarni va vodorod peroksidini xosil bo'lishi