

Ўзбекистон Республикаси олий ва ўрта махсус таълим вазирлиги

Мирзо Улуғбек номидаги Ўзбекистон Миллий университети

**қўлёзма ҳуқуқида
УДК : 616.4.612**

Мирагзамовна Камола Миршукуровна

**КАВЕРГАЛНИ КАЛАМУШ ЖИГАРИ
МИТОХОНДРИЯЛАРИДА ЛИПИД АЛМАШИНУВИГА ВА
ЛИПИДЛАРНИНГ ПЕРЕКИСЛИ ОКСИДЛАНИШИГА
ТАЪСИРИ**

Мутахассислик: 5А420105-Одам ва ҳайвонлар физиологияси

Диссертация

биология магистри академик даражасини олиш учун

**Илмий раҳбар:
биология фанлари доктори,
проф. Алматов К.Т.**

ТОШКЕНТ- 2011

МУНДАРИЖА

		КИРИШ.....	4
БОБ	1.	АДАБИЁТЛАР ШАРХИ.....	7
	1.1.	Митохондриянинг тузилиши ва бажарадиган вазифаси.....	7
	1.2.	Митохондрия хужайранинг редокс-холотини бошқарувчиси сифатида.....	14
	1.3.	Фосфолипидларнинг биологик мембраналарни структураси ва бажарадиган вазифасидаги роли.....	19
	1.4.	Митохондрияни хужайраларда перекис водород ҳосил бўлиш жараёнидаги иштроки	22
	1.5.	Кавергални организмдаги физиологик-биокимёвий кўрсаткичларга таъсири.....	25
БОБ	2.	АШЁЛАР ВА УСЛУБЛАР.....	26
	2.1.	Тадқиқот учун олинган ҳайвонлар ва тажрибанинг қўйилиши.....	26
	2.2.	Жигар тўқимасидан митохондрия ажратиб олиш.....	27
	2.3.	Митохондриянинг нафас олиши ва оксидланишли фосфорланишини аниқлаш.....	28
	2.4.	Митохондрия липидларини экстракция қилиш.....	29
	2.5.	Митохондрия фосфолипидларини идентификациялаш.....	31
	2.6.	Эркин ёғ кислоталарининг миқдорини аниқлаш.....	31
	2.7.	Митохондрияларнинг мембраналаридаги фосфолипаза А₂ нинг фаоллигини аниқлаш.....	32
	2.8.	Митохондрияда липидларнинг перекисли	33

		оксидланиш жараёнини аниқлаш.....	
	2.9.	Оқсилларнинг миқдорини аниқлаш.....	33
	2.10.	Олинган натижаларни статистик қайта ишлаш.....	34
БОБ	3.	НАТИЖАЛАР ВА УЛАРНИНГ ТАҲЛИЛИ.....	35
	3.1.	Кавергални жигар митохондрияларида фосфолипид алмашинувига таъсири.....	35
	3.2.	Кавергални митохондрияда фосфолипаз A₂ нинг гидролитик фаоллигига таъсири.....	39
	3.3.	Кавергални митохондрияда липидларнинг перекисли оксидланиши жараёнига таъсири.....	41
	3.4.	Кавергални митохондриянинг нафас олиш ва энергия хосил қилиш фаолиятларига таъсири.....	44
		ЯКУН.....	47
		ХУЛОСА.....	48
		АДАБИЁТЛАР.....	50

КИРИШ

Муаммонинг долзарблиги. Кейинги йилларда даволаш препаратлари умумий арсеналида ўсимликлардан олинган доривор препаратлар алохида ўринни эгаллайди. Чунки, кўпчилик синтетик доривор препаратлар сезиларли даражада ножўя таъсирга эгалиги, ўсимликлардан олинган доривор препаратлари эса кам токсикли, етарли даражада енгил таъсир этиш хусусиятига эга.

Ана шундай препаратлардан бири антигипоксанти – кавергалдир [Багдасарова Э.С., 1985; Назруллаев С.С., 1994; Юлдашев Н.М., Хакимов З.З., Зияева А.В., 1996; Сыров В.Н., Шахмурова Г.А., Хушбакова З.А., 2006]. Кавергални митохондриянинг структураси ва функциясига таъсирини ўрганиш фақатгина организм ҳаётчанлигини бошқаришни физиологик-биокимёвий механизми нуқтаи назаридангина эмас, балки ҳар хил стресс таъсиротлар ва касалликларни келиб чиқишини аниқлаш нуқтаи назардан ҳам қизиқиш уйғотади.

Шу вақтгача митохондрияга “хужайранинг энергия ишлаб берадиган машинаси” деб билишган. Аммо, бу машина қатор ноёб ажойиб функцияларни бажаради, улар фақат шу митохондрия орқали амалга ошади ва хужайранинг тақдирини аниқлаб беради [Зоров Д.Б., Исаев Н.К. и др., 2007]. Митохондрияда ажойиб жараёнлар кечади, натижада хужайра энергия тўплайди ва бу органеонид мустақил организмни барча асосий функциясини: қисқарувчанлик, ионлар ташилиши ва ирсиятни ўзида мужассам этган. Ундан ташқари, митохондрия апоптозда “калит” ролини ўйнайди. Бу айтилганларнинг барчаси, митохондрия тирик материянинг асосий хоссаларини ўзида сақлаган бир бутун элементи деб ҳисобласа бўлади. Демак, шундай экан кавергални соғлом организмга юбориб, турли аъзо ва тўқималар хужараларидаги митохондрияларнинг структураси ва бажарадиган вазифаларидаги ўзгаришларни аниқлаш, бу модданинг организмга таъсир механизми тўғрисида янада кўпроқ маълумотлар олишга имкон беради.

Тадқиқот мақсади кавергални ҳайвон организмига юбориб жигар митохондрияларида фосфолипид алмашинуви, нафас олиш ва оксидланишли фосфорланиш, ҳамда липидларнинг перекисли оксидланиш жараёнларида қандай ўзгаришлар бўлишини аниқлашдан иборат.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Шу вақтгача кавергални митохондрияда липид алмашинувига, липидларнинг перекисли оксидланишига ва оксидланишли фосфорланишига таъсири кам ўрганилган.

Диссертация ишининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Бу иш Мирзо Улуғбек номидаги Ўзбекистон Миллий университети, биология-тупроқшунослик факультети Одам ва ҳайвонлар физиологияси кафедрасинининг илмий тадқиқот ишларига киради.

Тадқиқот мақсади: кавергални каламуш организмига юбориб жигар митохондрияларида фосфолипид алмашинувига, липидларнинг перекисли оксидланиш жараёнига ва функциясига таъсирини ўрганиш.

Тадқиқотнинг вазифаси. Қўйилган мақсадга биноан қуйидаги вазифалар режалаштирилган:

- 1) кавергални жигар митохондрияларида фосфолипид алмашинувига таъсирини аниқлаш;
- 2) кавергални жигар митохондрияларида фосфолипаза A_2 нинг гидролитик фаоллигига таъсирини аниқлаш;
- 3) кавергални жигар митохондрияларида липидларнинг перекисли оксидланиш жараёнига таъсирини ўрганиш;
- 4) кавергални жигар митохондрияларида энергия ҳосил бўлиши жараёнига таъсирини аниқлаш;

Тадқиқот объекти ва предмети. Каламуш, жигар, митохондрия, липид ва фосфолипидлар.

Тадқиқот методлари. Полярография, спектрофотометрия, фотоэлектрoкалориметрия, юпқа қатламли хроматография, рН-метрия.

Ишнинг илмий янгилиги. Кавергални ҳайвон организмга киритилганда жигар митохондрияларида фосфатидилхолин ва фосфатидил-

инозитларнинг миқдорларини кўпайтириб, лизофосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, кардиолипин, фосфатидилсерин ва фосфатид кислоталарнинг миқдорларини камайитириши аниқланган.

Кавергал митохондрияларда фосфолипаза A_2 нинг гидролитик фаоллигини ва липидларнинг перекисли оксидланиш жараёнини пасайтириши кўрсатилган.

Кавергал жигар митохондрияларида глутаматни фосфорланишли оксидланишини кучайтириши, сукцинатни хар хил метаболик ҳолатларда оксидланишини эса, аксинча пасайтириши аниқланди. Аммо, оксидланишли фосфорланиш кўрсаткичлари - Чанс бўйича нафас олиш кўрсаткичи ва АДФ/О коэффицентини ошиши кузатилади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Кавергални хужайраларда эркин радикалларнинг миқдорини кўпайиши ва фосфолипаза A ларнинг гидролитик фаоллигини ошиши, липид алмашинуви ва энергия синтези бузилиши билан кечадиган турли хил касалликларни даволашда фойдаланиш мумкин.

Қўлланиш соҳаси. Тадқиқод натижалари тиббиёт, фармаколог, физиолог, биофизик ва биокимёгарлар каби мутахассисларни тайёрлаш жараёнларида, бакалавр ва магистирларни тайёрлашда, ҳамда мутахассисларни малакасини оширишда қўшимча материал сифатида фойдаланиш мумкин.

1 БОБ. АДАБИЁТЛАР ШАРХИ

1.1. Митохондриянинг тузилиши ва бажарадиган вазифаси

Митохондриянинг оддий микроскопда, ички тузилишини электрон микроскопда кўrsa бўлади. Митохондрия шарсимон, таёқчасимон ва ипсимон тузилишига эга. Унинг катталиги 0,2-5 мкм ни ташкил қилади. Битта ҳужайрадаги митохондрияларнинг сони бир неча донадан бир неча минггача бўлади [Скулачев В.П., 1989; Ленинджер А., 1985]. Митохондриялар ҳаракатланади, шаклини ўзгартиради, катта кичиклиги ҳам турлича бўлади. Улар бир-бири билан бирикиб узун тузилмалар ҳосил қилади. Митохондрияларнинг шакли ва катта-кичиклиги тўқима спецификаси боғлиқ бўлиб, ривожланиш жараёнида ўзгариб туради [Бакеева Л.Е. и др., 1986, Бакаева Л.Е., Ченцов Ю.С., 1989, Ченцов Ю.С., 1995, 1997]. Митохондриялар кўпинча ҳужайранинг моддалар алмашинуви кўпроқ бўлган қисмида тўпланади.

Митохондрия икки мембрана билан ўралган. Ташқи мембрана силлиқ юзини ташкил қилса, ички мембрана эса ичкарига параллел йўналган бурмача-жўякчалар ҳосил қилади. Уларни кристаллар деб аталади. Жўякча-кристалларда электронларни ташилишида иштирок этувчи нафас олиш ва оксидланишли фосфорланиш жараёнида асосий роль ўйнайдиган турли энзимлар ва элементлар жойлашган.

Бундан 2 миллиард йил аввал барча эукариотларнинг ҳужайралари замонавий пурпур бактерияни ўтмишдоши билан ҳамкорлик тузишган. Бу келишув иккисига ҳам жуда кўп қулайликлар олиб келди: кўпчилик жонзотларнинг ҳаёт шакллари учун хавфли бўлган атмосфера кислородини энергетик имкониятини биргаликда фойдаланиш учун йўл очилди. Натижада эндосимбиотик бактерия митохондрияга айланиб протоэукариот ҳужайра ҳосил бўлди [Ченцов Ю.С., 1997]. Аэроб дунёга янги симбиотик организмни

кириб келиши билан организм ҳаёти ва ўлимини протомитохондриялар бошқара бошлашди. Улар ҳаёт учун керакли бўлган антиоксидантларнигина эмас, балки оксидланишли фосфорланиш жараёнида реактив кислородни ишлаб чиқарувчи манбаи ҳам бўлди.

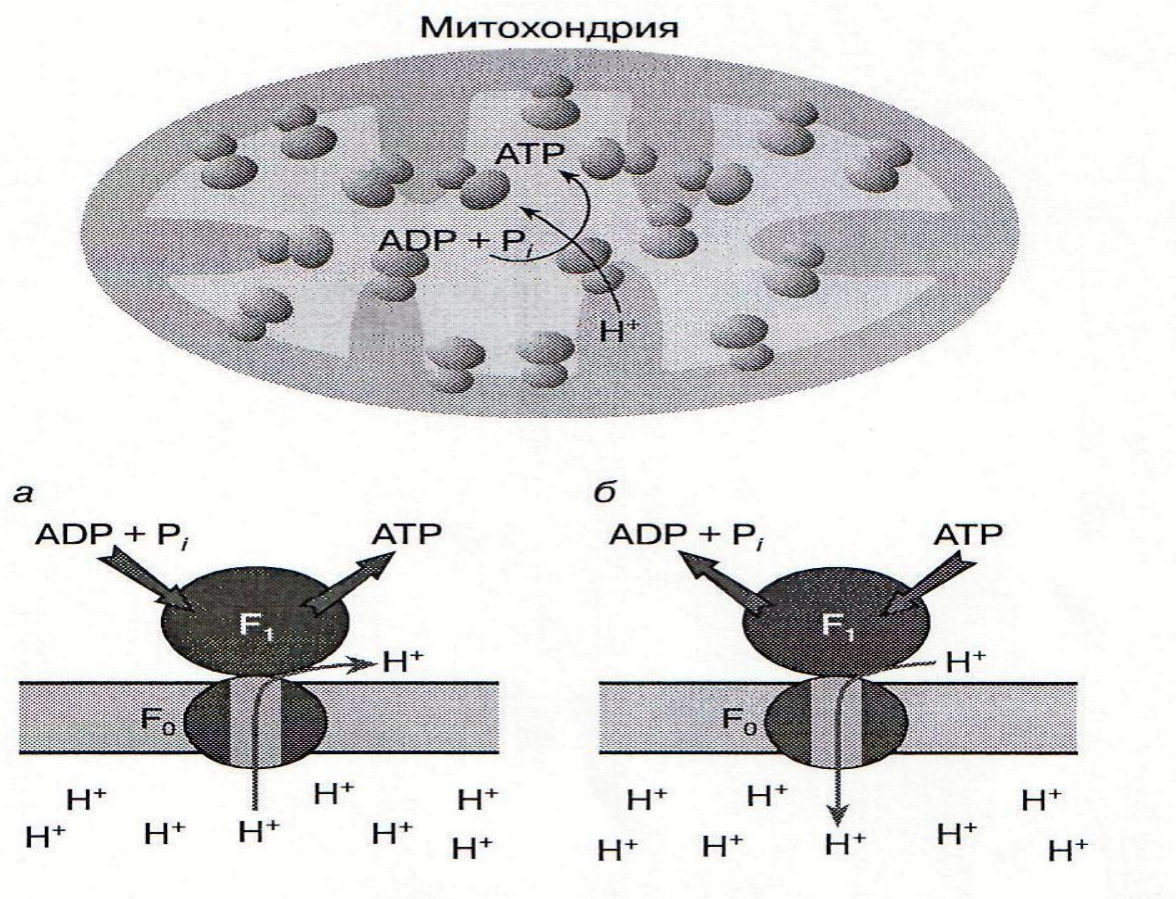
Асосий бажарадиган вазифаси ҳосил бўлган энергияни биологик фойдали шаклли энергияга айлантириш бўлган митохондрияларни хужайраларнинг «электрстанциялари» деб ҳам атайдилар. Матрикс таркибида Кребс (ёки уч карбон кислоталар) цикли энзимлари жойлашган бўлади. Электронларни ташилиш тизимини ҳосил қилувчи энзимлар ички мембрана билан боғланган. Электронларни ташувчи энзимларнинг ҳар бир гуруҳини нафас олиш ансамбли деб аталади ва субхужайравий даражада элементар функцианал бирликни ташкил қилади. Масалан, жигар хужайраси митохондрияси 1500 га яқин нафас олиш ансамблига эга. Улар тахминан ҳамма митохондриал мембраналарнинг чорак оғирлигини ташкил қилади.

Матрикс ўзида юзлаб ҳар хил энзимларни юқори концентрацияли аралашмаларини сақлайди. Шу жумладан пируват ва ёғ кислоталарини оксидланиши ва лимон кислотаси цикли учун керак бўлган энзимларни ўзида тутиб туради. Ундан ташқари, у ерда митохондрияни ДНК си, митохондрияси специфик рибосомалари, Т-РНК (ташувчи ДНК) ва митохондрия геноми экспрессиясида қатнашувчи ҳар хил энзимлар жойлашган [Яффе М., Шатц Г., 1987; Савина, 1992; Alam et al., 2003; Garrido et al., 2003; Куцый и др., 2005].

Кўплаб бурмачалар ҳосил қилиб ўзининг умумий юзасини кўпайтирган ички мембранада асосан 3 хил типдаги оқсиллар: 1) нафас олиш занжирида оксидланиш реакцияларини катализлайдиган оқсиллар, 2) матриксда АТФ ни синтезлайдиган АТФ-синтетаза энзим комплекси, 3) матриксга ва ундан метаболитларни ташилишини бошқарадиган махсус ташувчи оқсиллар сақланади

Ташқи мембрана ўзида массаси 10 000 дальтонгача бўлган ҳамма молекулаларни ўткази оладиган кенг канал ҳосил қиладиган оқсилларни

саклайди. Ундан ташқари, бу мембрананинг таркибига липидларни реакцияга киришига қобилияти бўлган интермедиатга айлантирадиган энзимлар



5 расм. Митохондрияда АТФсинтазанинг фаолияти ва АТФ синтези

киради, улар матрикзда кечадиган метаболик жараёнларда иштрок қилишади.

Мембриналараро бўшлиқда бир қанча энзимлар жойлашган бўлиб, улар матрикسدан чиқаётган АТФ ни ва бошқа нуклеотид-ларни фосфорилланиши учун фойдаланилади.

Жигар митохондриясидаги матрикзда умумий оксилларнинг 67%, ташқи мембранада 21%, ички мембранада 6%, мембраналараро бўшлиқда 6% жойлашган. Ана шу 4 та бўлақлар (компаратментлар) ўзининг бажарадиган фаолиятига мос келадиган маълум энзимлар гуруҳини саклайди.

Митохондияларнинг кристалари морфологияси ҳар хил хужайрадаги митохондрияларда турлича бўлади, аммо нима сабабдан турлича бўлиши халигача номалум. Ундан ташқари, митохондриянинг ўзида, у қайси хужайрада жойлашган бўлса, худди ўша хужайра учун керакли бўлган ва унга хизмат қиладиган махсус энзимларни сақлайди.

Ташқи мембранани ички мембранадан фарқларидан бири у жуда кўп миқдорда холестерол сақлайди, фосфолипидлардан фосфатидилэтаноламин, фосфатадилхолин ва фосфатидилинозитлар кўпроқ [Racker E.A., 1976; Алматов К.Т., 1990].

Ташқи мембрана ноорганик ионларни ва нисбатан йирик молекулаларни (молекула массаси 10 000 дан кам бўлмаган) моддаларни, шу жумладан аминокислоталарини, АТФ, сахароза, нафаснинг оралиқ маҳсулотларини ўтказаверади. Бундай юқори ўтказувчанликни асосий сабаби кенг “пора”ли туннели оқсилларнинг борлиги ҳисобланади.

Ташқи мембранада фосфолипид ва ёғ кислоталарини фаоллаштирадиган (ацил-КоА-синтетаза), ҳамда моноаминооксидаза энзимлари жойлашган.

Митохондрияни ички мембранаси АТФ синтезлайди. Унда нафас олиш занжири ва фосфорланиш энзимлари жойлашган.

Ички мембрана кристали билан оқсилларга жуда бой. Унда 25% липидлар, 75% оқсиллар жойлашган. Бу оқсилларнинг 1/3 периферик ва 2/3 интетрал оқсиллардан ташкил топган. Ички мембранада холестерол жуда кам бўлади. Фосфолипидлардан фосфатидилхолин ва кардиолипин кўп, фосфотидилэтаноламин ҳам кўпроқ, аммо фосфотидилинозит жуда кам.

Митохондриянинг ички мембранасининг ўтказувчанлаги жуда паст бу мембрана орқали фақат кичик молекулаларни моддаларгина (молекуляр массаси 100 дан кам) ўтиши мумкин.

Шу сабабдан ҳам бу мембранада нафасни оралиқ маҳсулотлари каби моддаларни (пируват, лимон кислота цикли метаболитлари), аминокис-

лоталарни, АТФ, АДФ, фосфат, Ca^{2+} ларни ўтказадиган ташувчи тизимлар жойлашган.

Ички мембранада электронларни (нафас олиш занжири) ташилишида катнашадиган энзим комплекслари интеграл оксил сифатида жойлашган. Периферик мембрана оксиллари турли дегидрогеназалар матриксда жойлашган нафас субатратларини оксидлайди ва улардан олинган водородни нафас олиш занжирига узатади.

Ички мембранани матрикс томонидан ва «креста»ларда электрон микроскоп ёрдамида тумалоқ бошчали диаметри 7-9 мм ли ва 4 мм узунликдаги оёқчали кўзикоринга ўхшаш мембрана АТФ – юзасини (элементар частицаларни) кўриш мумкин.

Улар АТФ ишлаб чиқарилиши учун хизмат қилишади ва энг камида 8 та полипептид занжирдан ташкил топган. Улардан 5 таси бошчани ташкил қилади, айнан анна шу гидрофил F_1 комплексни ташкил қилади, айнан ана шу комплекс АТФ ни ишлаб чиқаради. Бошқа занжирлар гидрофил ва енгил ажраладиган боғловчи омил (оёқчанинг бир қисми) ва мембранага тизилган гидрофил F_0 комплекси ташкил қилади. Охиргиси энергия қабул қиладиган F_1 комплекси билан электрон ташилишини ҳамкорликда ишланишини, яъни бу жараёнда энергия ажралиб чиқишини амалга оширади [Тихонов А.Н., 1999].

Митохондриянинг ташқи мембранаси ва матриксини ҳамма оксиллари, ҳамда ички мембранани катта қисми митохондриядан ташқарида синтезланади. Митохондрияда синтезланадиган полипептид занжирлар нисбатан гидрофоб ва мембранага маҳкам боғланган (структура оксиллари).

Митохондрия мембранаси тизими фақатгина митохондрия структурасининг асоси бўлибгина қолмасдан, у ўзида хужайра алмашинувини интеграллаштирадиган жуда кўплаб юқори ташкилланган энзим ансамблини сақлайди.

Кейинги йилларда апоптозда митохондрия асосий роль ўйнаши тўғрисида маълумотлар олинди [Скулачев В.П., 1996; Susin S.A.et al., 1998;

Green D.R., Reed J.C., 1998; Youle Y.T., 2000; Фильченков А.А., Абарменко И.В., 2001; Sculachev V.P., Bakeeva L.E. et al., 2004].

«Апоптоз» атамаси гречка apoptosis ўзбекчасига «барғни узилиб тушиши» деган маънони билдиради. Бу хужайрани программалаштирилган ўлими, яъни ўзини-ўзи ҳалок этиш деган маънони англатади.

Хужайра учун апоптоз - ҳамма ишни бажариб бўлгандан кейин назокат билан ҳаётдан кетиши. Бунда хужайра таркибини ташкил қилган молекулаларини аста секинлик билан босқичма-босқич бўлакларга бўлади ва ўша организмни бошқа хужайралари улардан фойдаланишига имкон беради. Апоптозни некроз билан умуман тенглаштириб бўлмайди. Некроз бу хужайрани аввалдан режалаштирилмаган ҳалокати бўлиб, бунинг натижасида на фақат хужайранинг ўзи, балки ёнида жойлашган бошқа хужайралар, демак ҳалок бўлади. Апоптозга қарама-қарши некроз хужайрани бошқарувчи тизими томонидан назорат қилинмайди, натижада хужайрадаги метаболик жараёнлар хаосга учрайди, липолитик ва протеолитик энзимларнинг гидролитик активликлари максимал даражада ишлайди.

Аммо апоптозни роли организмни индивидуал ривожлани-шини маълум бир босқичларида қатнашиши билангина чегараланиб қолмайди. Агар хужайрага вирус кириб қолса, ёки кислородни бир электронли тикланиши маҳсулоти бўлган захарли манбаа ўчоғига айланиб қолган хужайраларни апоптоз орқали йўқ қилинади. Натижада ёнида жойлашган соғлом хужайралар вируснинг ўтишидан ёки захарланишидан сақланиб қолади.

Митохондрия ички мембранасининг деполяризацияланиши апоптозни энг биринчи белгиларидан бири эканлиги кўрсатилган [Zamzani N. et al., 1996]. Деполяризацияланиш ҳам, апоптоз ҳам митохондриянинг ички мембранасида ҳосил бўладиган “пора” (туйнук)ларни бекитадиган ингибиторлар томонидан йўқотилади.

Юқорида айтилаган “пора” лар - митохондрияда жуда қизи-қиш уйғотадиган жумбоқ. Нима сабабдан митохондриянинг ички мембранаси

нормада водород, калий, натрий ва хлор ионларини ўтказмайди, аммо “пора” ҳосил бўлиши билан ундан кичик моле-кулали ионларни ва массаси 1,5 кДа дан паст бўлган ионлашмаган моддаларни ҳаммасини ўтказа бошлайди?

Порани ҳосил бўлишини циклофилин катализлайди, унинг ингибитори бўлиб циклоспорин А хизмат қилади [Zoratti M., Szabo I., 1995]. Пора очилаганда митохондрия хужайранинг «электростанци»дан, фойдали энергияни тўпламасдан озиқа моддаларни кислород билан ёндирадиган «ўтхона ўчоқ»га айланади.

Кремер ва унинг ходимлари [Zamzani M. et al., 1996; Marchett P. et al., 1996] ядро фракциясига митохондрия қўшилганда ядро структурасида апоптик ўзгаришлар чақириши аниқланди. Ана шундай ўзгаришлар митохондрияда “пора” лар пайдо қиладиган органик гидроперекис ёки хлор карбонилцианидфенилгидразин (ХКФ) қўшилганда кузатилади, “пора” ҳосил бўлишини ингибитори ҳисобланмиш циклоспорин А ва оқсил Bcl – 2 апоптик эффектини тўхтатади.

Митохондрияни гипотоник эритмада бўртириб-шиширганда ёки дигитонин детергент таъсири остида қолдрилганда “апоп» тик самара чақирилиши аниқланган. Бу иккала ҳолатда митохондриянинг ташқи мембранасида узилишлар кузатилади. Муаллифлар бу маълумотлар асосида митохондриянинг ташқи ва ички мембранаси орасида ядрога хужум қилиб “апоптоз” чақирадиган омил бўлса керак деган тахмин қилишди. Ташқи мембранани ёрилиши ўша омилни у ердан чиқиб ядрога бориши ва ядрони жароҳатлаб “апоптоз” чақиради деган фикрни аниқлаш учун тадқиқотлар ўтказишди. Митохондрия мембраналарини орасида жойлашган омилнинг молекула оғирлиги 50 кДа га тенг бўлган оқсил эканлигини аниқлашди. Бу оқсил тозаланиб ядрога қўшилганда хужайрада типик “апоп» тик эффект кузатилди.

Бир қанча тадқиқотчилар [Kumar S., Harvey N.L., 1995; Thornberry N.A., Molineaux S.M., 1995] “апоптоз” чақирувчи янги оқсилни махсус ингибиторини топиш шарафига муяссар бўлишди. У N-бензилоксикарбонил-

val-ala-aspartat-фторметкетон (Z-VAD*fmk) проинтерлейкин – 1 б ни интерлейкин – 1 б га айланттирувчи протеазани ингибиторларидан бори бўлиб чиқди. Кейинги тажрибаларида Z-VDD*fmk хужайрага қўшилганда “апоптоз” жараёнини тўхтатиши ва бу эффект фақатгина сут эмизувчи хайвон хужайраларигагина эмас, балки ҳашорат хужайраларига ҳам хос эканлиги аниқланди.

1.2. Митохондрия хужайранинг редокс-хोलатини бошқарувчиси сифатида

Хужайранинг нормал фаолият кўрсатиши учун энг муҳим шароитлардан бири редокс-холат гомеостази, яъни оксидланиш ва қайта тикланиш компонентларини мажмуаси (оксиллар, НАД/НАД.Н, флавинлар, коэнзим Q, тикланган ва оксидланган субстратлар ва шу кабилар - пастмалекулали редокс-компонентлар) хисобланади.

Митохондрия, супероксиданион, водород пероксиди, азот окиси, пероксинитрит ва шунга ўхшаш редокс-потенциални катта қудратга эга бўлган бошқарувчиларни ишлаб чиқаради, хужайранинг редокс-потенциалини бошқаришда фаол иштрок этади, ва ўз новбатида протолизни, транскрипцияни фаоллашувини, мДНК даги ўзгаришни, хужайрадаги алмашинувни ва хужайра дифференцировкасини назорат қилади [Зоров Д.Б., Исаев Н.К. и др., 2007].

Оксидланиш стресси хужайрани оксидланиш жарохатини пайдо қилади, кўпинча бу генетик материални модификацияга, яъни турланишга-ўзгача кўринишга олиб келади [Brandon M., Baldi P., Wallace D.C., 2006]. ДНКни оксидланиш модификацияси канцерогенезни, эхтимол ва қариликни бирламчи поғонаси хисобланади. Оксидланиш стресси натижасида редокс-холат мувозанатини бузилиши, айниқса саратон (рак) хужайраларига хос. Кўпчилик турдаги саратон хужайраларида оксидантлар томонидан

чақирилган ДНКни жарохат даражаси юқорилиги аниқланган, бу бунақанги жарохат билан саратон этиологияси орасида боғлиқлик эхтимолини кўрсатади [Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J., 2007].

Ҳалокатли хужайра ва митохондрия орасидаги муносабатни саратонни даволашни қуйидаги самарали даволаш стратегиясидан ҳам билиб олса бўлади. Кўпчилик ҳолатларда самарали антипролифератив агентлар, митохондрия билан специфик ҳамкорлик қиладиган моддалар ҳисобланади. Бу борада Лан Бо Чен лабораториясида олиб борилган тадқиқотлар жуда ҳам эътиборга лойиқ. Лан Бо Чен мембрана потенциалига митохондрия зонди ҳисобланган сингиб кетувчи катион родамин 123, ана шунга ўхшаш нормал хужайралар митохондрияларидан фарқ қилиб, фақат опухолли хужайра митохондрияларидагина тўпланади, у ерда сақланиб қолади [Summerhayes I.C., Lampidis T.J., Bernal S.D., Nadakavukaren J.J., Nadakavukaren J.J., K.K., Sherpherd E.L., Chen L.B., 1982]. Ундан кейин ана шу тадқиқотчилар томонидан, бу моддани ўсмага қарши самарали восита эканлиги кўрсатилган [Bernal S.D., Lampidis T.J., McIsaac R.M., Chen L.N., 1983; Bernal S.D., Lampidis T.J., Summerhayes I.C., Chen L.B., 1982].

Кейинчалик липофил катионларни: тиоприллий унуми, AA1, хлорид деквалин ва родоцианин оиласидан MKT-077 ларни ўсмага қарши таъсири аниқланган [Weiss M.J., Wong J.R., Ha C.S., Bleday R., Salem R.R., Etele G.D., Jr., Chen L.B., 1988; Sun X., Wong J.R., Song K., Hu J., Garlid K.D., Chen L.B., 1994; Koya K., Li Y., Wang H., Ukai T., Tatsuta N., Kawakami M., Shishido T., Chen L.B., 1996]. Саратон хужайраларни детекциялаш учун митохондрияда фаол тўпланадиган липофил катионлар ва ^{99m}Tc ҳосиласи кенг фойдаланилмоқда [Mansi L., Rambaldi P.F., Cuccurullo V., Pecori B., Quarantelli M., Fallanca F., Del Vecchio E., 1997].

Яқиндагина саратонга қарши ўсма хужайраси митохондрияларига яқинлиги бор бўлган ва «митокаинлар» деб ном олган янги гуруҳ препаратлар ишлаб чиқилди. Улар митохондрияни дестабиллайдиган ва

улардн проапоптик оксилларни (цитохром *c*, AIF, Smac/Diablo) ажралиб чиқишини тезлаштиради. Митокаинлар орасида саратон хужайрасини йўқотадиган ва соғлом хужайрага таъсир қилмайдиган витамин Е нинг ишланмаси, уларнинг орасидан энг яхшиларидан бири альфа-токоферолсукцинат ва редокснейтрал моддаларни кўрсатиш мумкин. Улар митохондриядаги комплекс II билан ҳамкорлик қилиб, кислородни фаол шакли генерациясини чакиради [Neuzil J., Wang X.F., Dong L.F., Low P., Ralph S.J., 2006], ҳамда худди BH3-миметик каби таъсир кўрсатади [Shiau C.W., Huang J.W., Wang D.S., Weng G.R., Yang C.C., Lin C.H., Li C., Chen C.S., 2006]. Шунн эслатиб қўйиш жойиз, у хам бўлса саратонни «митохондриял» назариясини биринчилардан бўлиб улуғ немис олими Нобел мукофотининг лауреати Отто Варбург таклиф этган. У саратон хужайрада хужаранинг умумий энергия билан таъминланишида гликолиз билан оксидланишли фосфорланишни улуши бир хил (нормал тўқимада эса оксидланишли фосфорланиш гликолиз устидан анчагина устун) эканлигига эътибор берган ва митохондрияда оксидланишли фосфорланишни бузилиши халокатли трансформацияни биринчи басқичи бўлиши мумкин деб таъкидлаган [Warburg O., 1956].

Митохондриянинг фаолияти билан пролифератив хусусият тизим ўртасида алоқа борлиги тўғрисида тахмин аввалдан бор эди, чунки митохондрия - кучли оксидантлар ва қайтарилган эквивалентларни продуценти. Қоидага биноан, халокатли трансформация хужайра пролиферациясини тезлашиши билан кечади, баъзибир ҳолатларда эса халокатли ўсмалар (кўпинча без тўқималарида, аммо барча тўқималарда хам кузатилган) митохондрияларида кучли пролиферация кузатилган. Бундай ходиса оксифиллии ёки онкотик трансформация деб аталади. Онкоцитоманда митохондрия цитоплазма ҳажмини 90%дан кўпини эгаллайди [Tallini G., 1998].

Айрим олимларнинг фикрича баъзибир ўсмалар митохондрияларидаги жуда хам сирли оксил периферик бензодиазепин рецепторни экспрессияси

жуда ҳам ошириб юборилган, чунки экспрессия даражаси метастазирланиш агрессивлик даражаси билан ўзaro боғлиқлиги бор [Li W., Hardwick M.J., Rosenthal D., Culty M., Papadopoulos V., 2007]. Бу оксил кислород сенсори вазифасини бажариши мумкин деган кўрсатмалар бор [Yeliseev A.A., Krueger K.E., Kaplan S., 1997]. Ўсма хужайрада митохондрияни бензодиазепин рецептори лигандини наномол миқдорда фойдаланилганда боғлаб олиниши билан, ва S-фазада бўлган хужайранинг хиссаси ўртасида мусбат боғлиқлик бор [Sanger N., Strohmeier R., Kaufmann M., Kuhl H., 2000] Ўша лиганд миллимоляр миқдорда G_0/G_1 фазада хужайра циклини тўхташига олиб келади [Carmel I., fares F.A., Leschiner S., Scherubl I.N., Weisinger G., Gavish M., 1999], бу рецептор билан хужайра пролиферациясини хужайра цикли орқали бошқариш мумкинлигидан далолат беради. Митохондрияда жойлашган прохибитинлар (1 ва 2) ларнинг бажарадиган кўпчилик функцияларидан бири пролиферацияни тормозлашдан иборатлиги аниқланган [Mishra S., Murphy L.C., Murphy L.J., 2006].

Хужайра дифференцировкасини бошқарилишида митохондриянинг иштрок этиш тарихи Смит ва хаммуалифлар [Smith J., Ladi E., Mayer-Proschel M., Noble M., 2000] ишларида бошланган, улар каламуш глиал олигодендроцитлари ўтмишдошларини дифференцировкасини хужайрани редокс-статусига боғлиқлигини кўрсатишган. Оксидланиш даражаси томонга силжиши редокс-тизимни бу хужайралардан олигодендроцитлар ёки астроцитларни ривожланишини кучайтириши, юқори даражада қайта тикланиши эса, аксинча хужайрани дифференциаланмаган ҳолатини сақлаши маълум бўлди.

Қалқонсимон без гормони, ўсиш омили, баъзибир кимёвий агентлар каби ҳар хил бошқарувчи моддалар хужайра дифференцировкасини йўналтириш билан бир вақтда хужайрани редокс-ҳолатини митохондрия ёрдамида ўзгартиради. Супероксид анион-радикал мезенхимал ствол хужайрани остеоген дифференцировкасини рағбатлантириши кўрсатилган [Wang F.S., Wang C.J., Chen Y.J., Chang P.R., Huang Y.T., Sun Y.C., Huang

H.C., Yang Y.J., Yang K.D., 2004; Wang F.S., Wang C.J., Sheen-Chen S.M., Kuo V.R., Chen R.F., Yang K.D., 2002]. Қон томирларни силлиқ мушакларида PDGF га пролифератив жавоби водород пероксид хосил бўлишига боғлиқ [Sundaresen M., Yu Z.X., Ferrans V.J., Irani K., Finkel T., 1995].

Митохондрияни фаолияти пролиферацияни ва фенотип ўзгаришини бошқариб бориб ядро генларини экспрессиясига таъсир кўрсатиши мумкинлиги миобластларда кўрсатилган [Duguez S., Sabido O., Freyssenet D., 2004]. Бунда митохондрия фаоллигини кучайиши ва уларнинг миқдорини кўпайиши, хужайра циклини тўхтаб қолишига ўзоро боғлиқ ҳолда кислородни фаол шаклини генерациясини ошишига, ва охир оқибатда, хужайрани гипертрофияга олиб келади. Хужайрани энергия билан таъминланишини ўзгаришига бунақанги механизм етарли даражада кенг тарқалганлиги маълум. Дрозифил тўқималарида цитохрооксидазани фаоллигини пасайиши натижасида АТФ миқдорини сезиларли даражада камайишини чақиради, бу хужайра циклини ва хужайра дифференцировкасини тўхташига олиб келади [Mandal S., Guptan P., Owusu-Ansah E., Banerjee U., 2005]. Муаллифлар, хужайрадаги мутация туфайли, АТФ миқдорининг сезиларли даражада пасайиши яшашига, ўсишига ва дифференцировкасига сезиларли таъсир кўрсатмасдан хужайра циклини хибсга олишини кўрсатишган. Бу энергетик сенсор, АМРКни АМФ даражасини кўпайиши хисобига энергетик сенсони фаоллашига олиб келади. АМРК эса ўз новбатида хужайра циклини калитли бошқарувчисини, p53 ни фаоллаштиради, ва хужайрада циклин Е ни миқдорини камайтирибхужайра циклини блокада қилишга олиб келади.

Организмни ривожланишини бошқарилида митохондрияни иштроки тухум хужайрасиданок бошланади, уруғланиш вақтиданок митохондрия кальций сигнални модуллаштиради [Dumollard R., Duchen M., Sardet C., 2006]. Сперматозоидни киритилишида чақирилган кальций токлари тухум хужайраси мембранасида митохондрияда кальций-сигнални трансформациялайди, уларнинг нафас олишини ва умумий метаболизмни

рағбатлантиради, бунда тухум хужайраси митохондриясининг “пул”и зигота хосил бўлиш жараёнига таъсир кўрсатиб Ca^{2+} -буфер ролини ўйнайди.

Организмнинг кейинги ривожланишида ҳам митохондрия муҳим рол ўйнайди. мДНКни транскрипция омилини экспрессияси кардиомицитларнинг дифференцировкасини қисман бўлсада таъминлаб, эмбрионал ствол хужайрани дифференцировкаси бошланишига имкон бериши кўрсатилган [St.John J.C., Ramalho-Santos J., Gray H.L., Petrosko P., Rawe V.Y., Navara C.S., Simerly C.R., Schatten G.P., 2005]. Прогенитор хужайра кардиомиоцит митохондрияларида йўналтирилган транспорт билан ва кардиомиоцитлардаги ана хужайраларни дифференцировкасини бошланиши орасида боғлиқлик борлигини кўрсатган [Koyanagi M., Brandes R.P., Haendeler J., Zeiher A.M., Dimmeler S., 2005].

Демак, митохондрия хужайранинг редокс-ҳолатини бошқаради, хужайранинг нормал ҳолатда фаолият кўрсатиши митохондрия мембранасининг структураси ва фаолиятига боғлиқ. Мембрананинг фаолияти у ерда жойлашган липидларга, оксилларга, гликопротеидларга, улар орасидаги нисбатга ва айниқса фосфолипидлар таркибига ва уларнинг бири-бирига бўлган нисбатларига боғлиқ.

1.3. Фосфолипидларнинг биологик мембраналарни структураси ва бажарадиган вазифасидаги роли

Биологик мембраналарнинг функционал ҳолати ва структуравий тузилишини белгилашда липидлар ва айниқса фосфолипидлар жуда ҳам муҳим роль ўйнайди. Фосфолипидларнинг бу хусусиятлари мембранада гидрофоб матрикс хосил қилиш, бу матрикс эса хужайрани ёки уларнинг органеларини функционал ҳолатида муҳим ўрин тутиши билан белгиланади [Болдерев А.А., 1990; Алматов К.Т., 1990].

Мембрананинг функционал ҳолатини тадқиқот қилиш натижасида фосфолипидлар жуда муҳим вазифани бажаришлари аниқланди.

Фосфалипидлар мембрана оксилларининг фаол конформациясида иштирок этиб, мембрананинг функционал ҳолатига боғлиқ бўлган энзимларни фаоллигини бошқариши мумкин, бунинг натижасида айрим кимёвий бирикмаларни сақловчи гидрофоб муҳит яратилади. Шулар билан бир каторда фосфолипидлар гормонлар, захарлар ва бошқа биологик фаол моддаларнинг таъсирига, ионлар ва субстратлар ташилишига ва энергия ҳосил қилиниши жараёнларига ҳам таъсир кўрсатади [Бурлакова Е.Б., 1977; Грибанов Д.А., 1979; Гулак П.В., 1981; Крепс Е.М., 1981].

Митохондрия мембраналаридаги липидларнинг 90 фоизидан кўпроғини фосфолипидлар, қолган 10 фоизга яқинини холестерин, моно-, ди- ва триглицеридлар, эркин ёғ кислоталари, холестерин эфирлари, ёғ кислоталарининг метил эфирлари ташкил қилади. Фосфолипидлар глицерофосфолипидларга (фосфатидилхолин, фосфатид кислота, ацетилфосфатидлар ёки плазмалогенлар, лизофосфолипидлар ва полиглицерофосфатидлар), сфингомиелинлар ва фосфатидилинозитларга бўлинади. Ҳамма табиий глицерофосфатидлар 1- α -глицерофосфор кислотасининг ҳосилалари ҳисобланади. Фосфолипидларнинг таркибида бўлиши шарт бўлган фосфор кислотасини қолдиғига асослар (холин, этаноламин, серин) боғланади. Глицериннинг α ва β ўрнидаги гидроксилга мураккаб эфир боғлари билан ёғ кислоталар боғланган. Ўзининг таркибидар бир молекула ёғ кислотасидан айрилган глицерофосфолипидлар лизофосфолипидлар дейилади. Сфингомиелин ўзининг таркибида тўйинмаган аминоспирт сфингозинни сақлайди. Фосфатидилинозит ўзини таркибида глицериндан ташқари 6 атомли циклик спирт-инозитни сақлайди. Фосфолипидлар фақатгина юқорида санаб ўтилгангина бир-бирларидан фарқланмасдан ёғ кислоталарини бир ҳиллиги билан ҳам ажралиб туради. Фосфоглицеридни синтезида фосфотид кислота асосий ўтмишдош ҳисобланади. Лизофосфолипидлар орасидан лизофосфатидилхолин энг кўп ўрганилган.

Турли биологик ва физиологик-биокимёвий жараёнларда муҳим ролни фосфолипидлар бажаришини кўплаб адабиётларда исбот қилинган. Энг муҳим вазифани айниқса нордон фосфолипидлар (фосфатидилсерин, фосфатидилинозит ва фосфатид кислота) ва лизофосфолипидлар бажаради, чунки улар юқори биологик фаолликка эгадирлар [Racker E, 1976]. Минор фосфолипидлар юқори поляриликка ва турли ионларни танлаб боғлаб олиш ва ўтказиш қобилиятлари борлиги билан тавсифланади. Уларнинг ана шу хусусиятлари биологик фаолликларни белгилайди [Дятловицкая А.В ва бош., 1979; Bidon E et al., 1980; Bruni A. Et al., 1980]. Кўпчилик мембранага боғланган энзимлар ёки полиэнзим тизимлар ўзларининг каталитик фаолликларини фосфолипидларсиз намоён қилиша олмайди. Липидсизлантирилиш натижасида, митохондрияларнинг липидга боғлиқ энзимларининг фаолликларини йўқолиши, ташқаридан киритилган (экзоген) фосфолипидлар ёрдамида уларнинг фаолиятини қайта тиклаш мумкин. Бунда ҳар ҳил фосфолипидларнинг эффе́ктивлиги бир ҳилда бўлмаслиги аниқланди. Ундан ташқари, биологик мембраналарнинг таркибига кирувчи ҳар бир фосфолипид ҳаёт учун муҳим бўлган маълум бир вазифани бажаради. Ундан ташқари, бир турга кирувчи, лекин ҳар ҳил манбаалардан олинган фосфолипидлар, липидсизлантирилган энзимлар тизимида ҳар ҳил фаолликларни намоён қилишлари аниқланган. Масалан, олигомицинга сезгир АТФ-синтазанинг максимал фаоллиги, митохондрия фосфолипидларидан фосфатидилсерин, кардиолипин, фосфатидилхолин ва фосфатидилэтанол-аминлар қўшилганда кузатилади Митохондрия мембранасининг пуфакчаларида жойлашган энзимларнинг фаолликларини юқори даражада бўлишини таъминлашда фосфатидилхолин ва фосфатидилэтанол-аминларнинг иштирок этишини аниқлашган. Бошқа фосфолипидлар билан бирга кардиолипиннинг қўшилиши энзимларнинг фаолликларини янада кучайтириб юборади. Аммо, таркибида тўйинган ёғ кислоталари тутган сунъий фосфоглицеридлар, энзимларнинг ингибитори ҳисобланади [Racker E., 1976]. Цитохромоксидаза ва β-оксибутиратдегидрогеназаларнинг фаол-

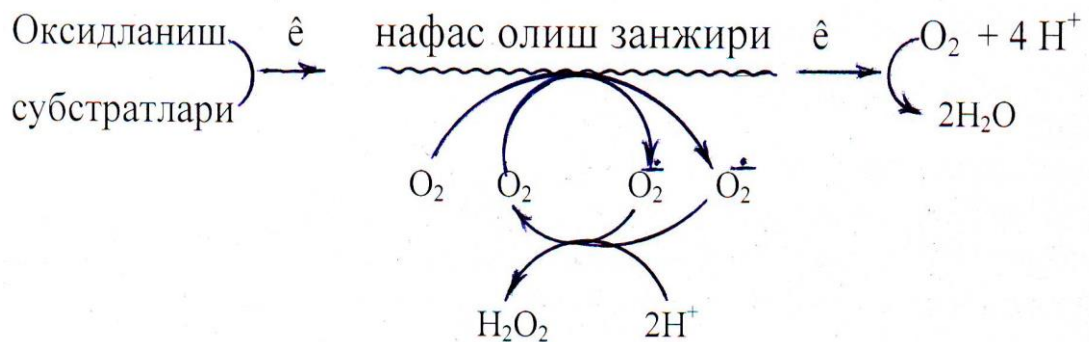
ликларини юқори бўлиши учун фосфатидилхолин керак. Цитохром С ни цитохромоксидаза билан, цитохром В ни сукцинатдегидрогиназа билан ўзаро таъсири фосфолипидлар ёрдамида бўлади деган тахминлар бор. Митохондрия мембранасида цитохром С ни боғлаб олувчи бир неча марказларнинг борлиги кўрсатилган. Улар фақатгина цитохром с ни ва бошқа цитохромларни, балки фосфолипидларни ҳам боғлайди. Фосфатидилэтаноламин ва фосфатидилсерин цитохромоксидазанинг энг асосий компонентлари ҳисобланади. Оксидланишли фосфорланиш жараёнида муҳим ролни бажарадиган кардиолипин митохондрия энзим тизимларининг структураларини бир меъёрга сақланиб туришида катта аҳамиятга эга. Митохондриялардаги нафас олиш занжирида электронларни ташилиш тизими фаолиятида сукцинатдегидрогеназа, НАД.Н – убихинон–редуктаза, ротенонга сезгир НАД.Н–цитохром с–редуктаза, убихинон–цитохром с–редуктаза, цитохром с–оксидаза, малатдегидрогеназа ва глутаматдегидрогеназа босқичларидаги жараёнларнинг бориши мембранага маҳкам боғланган кардиолипинга боғлиқлиги аниқланди [Алматов, 1990]. Бизнинг фикримизча энзимларнинг каталитик функцияларини амалга оширишда керакли бўлган кардиолипин электрон узатиш жараёнларини ҳамкорлигини амалга оширишда ҳал қилувчи вазифани бажарса керак. Демак, олинган натижаларни таҳлил қилиб шуни таъкидлаш лозим, митохондрия мембранасида жойлашган энзимлар ва полиэнзим тизимлар мембранани липидсизлантирилиши натижасида ўзларининг каталитик фаолликларини йўкотадилар, лекин уларнинг фаолликларини фосфолипидлар қўшиб қайтадан тиклаш мумкин.

1.4. Митохондрияни ҳужайраларда перекис водород ҳосил бўлишидаги иштроки

Кислороднинг фаол малекуласини токсик таъсири оксидланиш стресси ҳолатида намоён бўлади, бу тўқималарда эркинрадикалли жараёнларнинг кескин кучайиши билан кечади [Halliwell, 1985, 1992]. Радикалга боғлиқ

оксидланиш реакцияларнинг кўпчилик махсулотлари апоптозни рағбатлантиради [Buttke Sadstrom, 1994; Stoian et al., 1996].

Хар хил ҳужайра органеллаларида жойлашган, кислородни H_2O_2 гача тикланишини катализлайдиган кўпчилик энзимлар борлиги маълум. Жигар тўқимасида ҳосил бўлаётган водород пероксидни 30 % га яқини, митохондриянинг ҳисобига бўлишини ҳисоблаб чиқилган. Митохондрия ундан ташқари бир нечта H_2O_2 —ишлаб чиқарадиган энзимларни ўзида сақлайди, уларнинг борлиги ва фаоллиги тўқималарга боғлиқ. Интектмитохондрияларда H_2O_2 ҳосил бўлиш тезлиги уларнинг функционал ҳолатига (3- ёки 4 ҳолатларга) ва оксидланаётган субстратларнинг (НАД-га боғлиқ субстратлар, сукцинат) табиатига боғлиқ [Виноградов, Гривенникова, 2005]. Субмитохондриял фрагментлар (бўлакчалар) (митохондрия ички мембранасининг тўнтарилиб туташган ҳолати) НАДН ёки сукцинат иштрокида водород пероксиди ҳосил қилишга қодир. Нафас олиш занжирининг ишлаб чиқарган водород пероксиднинг ўтмишдоши бўлиб супероксид-радикал (O_2^-) хизмат қилади, у H_2O_2 спонтан ёки диспропорционирланиш реакциясини супероксиддисмутаза катализлаши натижасида ҳосил бўлади (1-расм):



1-расм. Митохондрия нафас олиш занжирида H_2O и H_2O_2 ҳосил бўлишини схематик тасвири.

Аэроб шароитида нафас олиш занжирининг ҳар қандай компоненти кислородни бирэлектронли тикланишини яширин донори бўлиши мумкин.

Стандарт ингибиторли таҳлилни кўрсатишича, O_2^- генерацияси I ва III комплексларида сезиларли даражада кечади, бунда охиргиси фақат электронларни табиий йўли Митчелни Q-цикли махсус ингибиторлар билан бўзилгандагина кузатилади. Шундай қилиб, нафас олиш занжирининг супероксид-ишлаб чиқарадиган асосий компоненти - НАДН: убихинон оксидоредуктаза (комплекс I), камида саккизта индивидуал редокс-компонентлардан (FMN, 5-6 железосерали кластерлар, маҳкам боғланган убихинон) иборат, 46 та хар хил полипептидлардан ташкил топган гигант хосиладир.

Асосий кислородни сувгача тўртэлектронли тикланиши билан кечадиган НАДН-, сукцинат- ва бошқа субстрат-оксидазали реакциялардан ташқари, митохондриянинг нафас олиш занжири кислородни супероксид-радикалга O_2^- бирэлектронли тикланишини катализлайди ва кейинчалик водород пероксиди хосил бўлади. Муаллифларнинг [Виноградов, Гривенникова, 2005] ишида юракнинг юқори даражада АТФ синтезлайдиган субмитохондрия частицасида комплекс I ни O_2^- хосил қилишини миқдорий тавсифи келтирилган. Сукцинатни оксидланишида супероксид-радикални хосил бўлиш тезлиги кислородни миқдorigа боғлиқлиги мос холда бўлади ва кислородни нормал парциал босимида оксидаза фаоллигини 9.4%ни ташкил қилади. Сукцинатни оксидланишида кислородни бир электронли тикланиши катта қисми (80%) O_2^- га боғлиқ тикланиши (тўйиниш миқдорида) I комплекс томонидан амалга оширилади. НАДН ни оксидланишида (тўйиниш миқдорида) O_2^- ни хосил бўлиш тезлиги сукцинатни оксидланиш тезлигидагига қараганда анчагина кам бўлади. НАДН нинг миқдорини ошиб бориши супероксид анионни генерация тезлигини пасайтиради. НАДН ва НАД O_2^- хосил бўлишини электронларни қайта ташилиш реакциясида пасайтиради. НАДН:убихинон редуктаза фаоллигини бутунлай йўқолиши билан кечадиган комплекс I нинг деактивланиши, O_2^- НАДНга боғлиқ генерациясини кучайтириб юборади.

1.5. Кавергални организмдаги физиологик-биокимёвий кўрсаткичларга таъсири

Замонавий физиология, фармакология ва тиббиётнинг асосий муаммоларидан бири ҳар хил салбий омилларга организмни ҳаётчанлигини оширадиган янги препаратларни излаб топишдан иборат. Анашундай таъсирга эга бўлган, ундан ташқари пролангирланган таъсир этиш хусусиятига эга бўлган препаратлар биологиянинг турли соҳаларидан ташқари чорвачиликда, ветеринарияда ва тиббиётда кенг қўлланилмоқда. Хозирги пайтда ҳам анашундай бизга маълум бўлган препаратлар билан бир қаторда самаралироқ таъсир этиш хусусиятига эга бўлган янги препаратларни излаб топиш устида ишлар олиб борилмоқда. Анашундай моддаларга хил хил типдаги гипометаболиклар: уйқуга кетувчи ҳайвонларнинг тўқималаридан аэратиб олинган уйқу триггерлари, ҳар хил фармакологик препаратлар (антигипоксантилар, анестетиклар, депрессантлар), метаболизмнинг махсус блокаторлари ва бошқа биологик фаол моддалар ҳам киради.

Кейинги пайтларда адабиётларда организмга ҳар томонлама ижобий таъсир қиладиган ҳар хил гуруҳдаги биологик фаол моддалар тўғрисида маълумотлар берилмоқда. Ҳар хил гуруҳлар орасидан модда алмашинувини пасайтирадиган ва гипоксияга қарши таъсир хусусиятига эга бўлган гипометаболиклар эътиборимизни ўзига тортди [Багдасарова Э.С., 1985; Назруллаев С.С., 1994; Юлдашев Н.М., Хакимов З.З., Зияева А.В., 1996; Сыров В.Н., Шахмурова Г.А., Хушбактова З.А., 2006].

Шоҳ артерияси 46,35 % га боғлаб қисиб қўйилган ҳайвонларга кавергал юборилгандан кейин некрозга учраган ўчоқларни камайиши, “ташвиш тортаётган” миоцитларни рибосома ва гликоген гранулаларини

миқдорларини кўпайтириб уларни сақланиши кузатилган [Абдуллаходжаева Д.Г., 1989; Айзиков М.И., 1993].

Никишин А.Г., Рахманов Т.Ш., Пирназаров М.М., Курбанов Р.Д. [2005] ларнинг олиб борган тадқиқотларида кавергални беморларга тромболизис олдида миокард инфарктини ўткир стадиясида қўлланилганда цитопротектор таъсир кўрсатиши ва аэроб гликолизни яхшиланиши кўрсатилган.

Кавергални соғлом организмга юбориб, турли аъзо ва тўқималар хужайраларидаги митохондрияларнинг структураси ва бажарадиган вазифаларидаги ўзгаришларни аниқлаш, бу модданинг организмга таъсир механизми тўғрисида янада кўпроқ маълумотлар олишга имкон беради.

Шу олинган натижалар митохондриянинг структура ва функциясига бўлган қизиқишни янада кучайтиради. Шу сабабли мен ўз олдимга кавергални организмдаги липид алмашинувига, липидларнинг перекисли оксидланиш жараёнига, фосфолипаза А₂нинг фаоллигига ва энергия ишлаб чиқариш фаолиятига таъсирини аниқлашни мақсад қилиб қўйдим.

2 БОБ. АШЁЛАР ВА УСЛУБЛАР

2.1. Тадқиқот учун олинган ҳайвонлар ва тажрибанинг қўйилиши

Тадқиқот учун оғирлиги 160-180 гр ли зотсиз оқ эркак каламушлар олинди. Ҳайвонлар 22-25 °С хароратли виварийда сақланди. Озиқ-овқат ва сув етарлича берилди.

Каламушларни 10 тадан 2 гуруҳга бўлинди. Биринчи гуруҳдаги ҳайвонлар назорат учун қолдирилди. Иккинчи гуруҳдаги ҳайвонларга кавергални қорин бўлиғига 30 мг/кг массасига нисбатан юборилди. Керакли миқдордаги кавергални ҳайвон танасига юборишдан олдин дистирланган сувда эритилди [Багдасарова Э.С., 1985; Назруллаев С.С., 1994]. Назоратдаги ҳайвонларга ўша миқдордаги дистирланган сув юборилди. Орадан 1 соат

ўтгандан кейин каламушларнинг бош танасидан жудо қилиниб жигаридан митохондрия ажратилди.

2.2. Жигар тўқимасидан митохондрия ажратиб олиш

Каламушлар жигаридан митохондрияни дифференциал центрифуга (ЦЛР-1) [Hogeboom G.N. et al, 1948] ёрдамида айрим ўзгартиришлар [Алматов К.Т. ва бошқ., 1993 а] ёрдамида ажратилади.

Декапитация қилинган каламушларнинг жигари совутилган ажратиш муҳитига – сахароза 0,25 М; трис-Hcl – буфер 10 мМ (рН 7,4) ва 2мМ этилендиамидтетраацетатга (ЭДТА) солинди. Ажратиш муҳити ҳарорати 1-2⁰С атрофида бўлиши керак. Жигар ўткир қайчи билан бир неча бўлакларга бўлиниб, қондан тозаланади ва диаметри 1мм ли тешикчалари бўлган микромайдалагичга солиниб, майдаланди. Майдаланган жигарни молибден шишадан тайёрланган гомогенизаторга солиниб устига ҳар 1 гр. тўқимага 10 мл дан ажратиш муҳити қуйилди ва 40-60 сония давомида тефлонли пестик билан гомогенизация қилинди. Гомогенат полиэтиленли пробиркаларига қуйилди ва тарозида тортилиб (қарама - қарши томонга қўйилган пробиркалар бир ҳил оғирликга келтирилиши шарт) центрифуга роторига солинди ва 10 дақиқа давомида (1700-1800 айланиш дақиқада 600g тезликда) центрифуга қилинди. Гомогенизация жараёнида парчаланишга улгурмаган хужайралар ва ядролар чўкмага тушди. Устидаги суюқлиги (супернатанти) бошқа тоза пробиркага қуйилади ва яна тарозида тортилиб бир ҳил оғирликка келтирилгандан кейин центрифуга роторига солинади. 15-20 дақиқа (5500 – 6000 дақиқа айланиши) давомида 6000g тезлигида оғир ва ўта оғирликдаги митохондриялар чўктирилди. Супернатант тўкиб ташланади. Бунда енгил фракцияли митохондриялар, микросомалар ва лизосомалар бўлади. Пробирка деворларида ёпишиб қолган ёғсимон моддаларни филтр қоғоз билан артиб олинди. Чўкмадаги митохондрияга 2-3 мл таркибида этилендиаминтетраацетати бўлмаган ажратиш муҳити солиниб, совутилган шиша таёқча билан яхшилаб аралаштирилади. Устига 1:10 нисбатида (10 г

жигарга 100 мл ажратиш муҳити қуйилади) таркибида этилендиаминтетраацетати бўлмаган ажратиш муҳити қуйилади ва яна ўша тезликда центрифуга қилинди. Бунинг иккинчи маротаба центрифуга қилинганда митохондрия билан қўшилиб тушган лизосома ва микросомалардан тозаланади ва этилендиаминтетраацетатдан фойдаланишдан мақсад – интакт митохондрияларни ажратиб олиш. Этилендиаминтетраацетат икки валентли катионларни, асосан кальций катионини (фосфолипазаларнинг активаторларини) ўзига бириктириб олиши натижасида фосфолипаза ноактив ҳолатга ўтади. Лекин, ажратиб олинган митохондриялардан ювиб ташлаш керак. Шу сабабли ҳам сўнги центрифугалашда этилендиаминтетраацетатсиз ажратиш муҳитидан фойдаланилди. Чўкмага тушган митохондриялар устига 2-3 мл ажратиш муҳити солиниб (этилендиаминтетраацетатсиз), шиша таёкча билан яхшилаб аралаштирилади. Митохондрия токи тугагунча 1-2°C ҳароратдан ошмаслиги керак. Ҳароратнинг ошиши эндоген фосфолипаза ва протеазаларни фаоллигини тезлашишига олиб келади. Митохондрия оксигенининг миқдори Лоури ва бошқ. [Lowry O.H. et al., 1951] усули билан аниқланди.

2.3. Митохондриянинг нафас олиши ва оксидланишли фосфорланишини аниқлаш

Митохондрияларнинг нафас олиши ва оксидланишли фосфорланиши полярография усули билан аниқланди [Алматов К.Т. ва бошқ., 1993 б]. Бунинг учун полярография идишчасига “ячейка” 1 мл ўлчаш муҳити (сахароза 250мМ, KCl 50мМ, KH_2PO_4 5мМ, рН 7,4) қуйилиб, устига оксидланиш субстратларидан бири (10мМ дан сукцинат, ёки глутамат) қўшилади. Полярограф ишга туширилади, полярограф пероси тўғри чизик бўйлаб ёза бошлайди. Ундан кейин полярография ячейкасига митохондрия (0,05-0,06мл; 3-4мг оксилли) қўшилади. Митохондрия нафас ола бошлайди (V_2 ҳолат), яъни митохондрия ўлчаш муҳитидаги кислородни истеъмол

килабашлайди, буни полярограф пероси ёза бошлайди, орадан 30-40 сония ўтиши билан полярография ячейкасига 150-200мкМ АДФ солинди, натижада бирданига митохондриянинг нафас олиши кескин тезлашиб кетди (V_3 ҳолат). Бу митохондрияга қўшилган АДФ ўлчаш муҳитидаги Φ_n билан қўшилиб АТФ ҳосил бўлиши бошланганлигини билдиради ва буни оксидланишли фосфорланишли ҳолат деб аталади. Қўшилган АДФ нинг ҳаммаси АТФ га айланиб бўлгандан кейин митохондриянинг начас олиши кескин секинлашди. Буни (V_4 ҳолат) тинчлик, яъни ишлаб бўлгандан кейинги дам олиш ҳолати деб аталади. Демак, митохондриянинг нафас олиши АДФ қўшилганда қанча тез бўлса, ўшанча кўп АТФ синтезланади, чунки нафас олиш коэффиценти V_3/V_4 га нисбати билан белгиланади. Митохондриянинг нафас олиш коэффиценти Чанс услуби билан ($НОК_ч$) аниқланди. (V_3/V_4) [Chance B, Williams G.R., 1956]. Ундан ташқари, митохондриянинг АТФни синтезлаш фаолиятини баҳолашда АДФ/О (Р/О) коэффицентида ҳам фойдаланилади. Бунда митохондрияга қўшилган АДФ нинг барчаси тўла АТФ синтезланган пайтида сарфланган кислороднинг миқдорига нисбати ўлчанади. Бу нисбат қанча катта бўлса митохондриянинг энергия ишлаб чиқариши ўшанчалик юқори бўлади. Назарий томондан митохондрияда сукцинатни оксидланишда 2 та, НАД га боғлиқ субстратларнинг оксидланишида 3 та молекула АТФ ҳосил бўлади. Амалда, яхши шароитда ажратиб олинган митохондрияларда АДФ/О сукцинат оксидланишида иккига, НАДга боғлиқ субстратларнинг оксидланишида учта мол АТФ ҳосил бўлади.

Митохондрияларнинг нафас олиш тезлиги, нанограмм атом кислород/дақиқа мг оқсилда ифодаланади.

2.4. Митохондрия липидларини экстракция қилиш

Липидлар экстракцияси Блай ва Дайер усули [Bligh E.G., Dyer W.J., 1959] билан баъзи бир модификация орқали амалга оширилади [Voskovsky V.E et al., 1975].

Митохондрияларга 2 мл хлороформ-метанол (хлороформ: метанол:сувнинг нисбатлари 1:2:8,8) қўшилиб ўлчами 20 мл ли жипс ёпилган пробиркага филтрлаб олинди. Филтрдаги чўкма 3 маротаба қайноқ метанол билан ювилади. Қайноқ метанол билан ювиш лизофосфолипидларни ва нордон фосфолипидларни чўкишини таъминлайди. Филтратга 0,2% ли 2,8 мл кальций хлорид хлороформли ва сувли-метанолли фазалар ҳосил бўлгунча қуйилади. Юқори фаза аниқ учрагач, уни сўриб олинади. Юқори фазада қолиб кетган фосфолипидлар 4мл хлороформ билан экстракция қилиниб олинади. Йиғиб олинган хлороформли екстрат 3маротаба 1мл дан хлороформ-метанол-0,02 CaCl_2 (2:19:18) аралашмаси билан ювилди. Ювилгандан сўнг умумий хажмининг 1/10 қисми олиниб, ундаги умумий липидларни 1-10 мклли хлороформ-метанол (2:1) аралашмасида еритилди.

Экстратдаги фосфолипидларнинг умумий миқдорини фосфор бўйича Васковский [Voskovsky V.E et all. 1975] таклиф этганреактивдан фойдаланиб хлор кислотаси билан куйдирилиб аниқланди.

Митохондриянинг фосфолипид таркибини устига КСК маркали силикагел билан қоплаган [Бергельсон Л.Д. ва бошқ.,1981] размери 6x9 см шиша пластинкада икки ўлчами микроюпқа қатламли хроматография усули билан аниқланди. Пластинкани ишлатишдан олдин 100°C ҳароратда 20 дақиқа давомида фаоллаштириб олинди. Пластинкани устига хлороформли фосфолипид аралашмани шиша капиллярда 10-15 мкл миқдорда томдирилди ва қуйидаги таркибли эритмада бўлинди: 1чи йўналиш-хлороформ-метанол-28% аммиак (65:25:5) ва 2чи йўналиш-хлороформ-ацетон-метанол-сирка кислотаси-сув(6:8:2:1).

Махсус аниқлагичлар ёрдамида фосфолипидлар идентификация қилинди [Бергельсон Л. Д ва бошқ.,1981]: аминсакловчи фосфолипидларни нингидринли реактив билан, холин сакловчи фосфолипидларни Драгенодорф реактиви билан, ҳамда гувоҳлар билан аниқланди. Бунинг учун пластинкани йодли камерага қўйиб фосфолипидли доғларни аниқлаш учун ингичка нина билан доира шаклида чизиб олинди. Ундан кейин йодни олиб ташлаш учун

пластинкани 110°Сда 15 дақиқа давомида қиздирилди. Таркибида фосфолипид сакловчи силикагелни эҳтиёткорлик билан қириб олиниб шиша пробиркага солинди (ҳар бир доғли силикагелни алоҳида-алоҳида пробиркага), устига 0,2 мл.дан хлор кислотаси (72%) қуйилди ва 20 дақиқа давомида 190-200°С ҳароратда фосфолипидлар қуйдирилди [Voskovsky V.E., 1975]. Пробиркадаги аралашмани яхшилаб аралаштирилди ва 15 дақиқа давомида қайнаб турган қиздирилди. Совигандан кейин сликогелдан ажратиб олиш учун центрифуга қилинди ва 830 нм тўлқин узунлигида спектрофотометрда фосфолипидларнинг миқдори аниқланди. KH_2PO_4 ли стандарт эритма билан калибр эгри чизиғи тузилди. Бу усулнинг сезгирлиги доғдаги фосфорни 1-20 мкгюгача аниқлайди.

2.5. Митохондрия фосфолипидларини идентификациялаш

Фосфолипидларни идентификациялаш учун Васьковский [Voskovsky V.E. et al., 1975] томонидан модификацияланган реагентдан фойдаланилди. Таркибида холин сакловчи фосфолипидларни Драгендров реактиви ёрдамида аниқланди. Аминогурухи бўлган фосфолипидлар 100°С да 15 дақиқа қайнатилганда бинафша-қизғиш рангли доғ ҳосил қилади. Глицерин ва инозитни аниқлашда кумуш аммоний нитрат фойдаланилди. Пластинкага пуркалгандан сўнг, 110°С да жигарранг доғ ҳосил бўлгунча қиздирилади. Сфинголипидлар иштироки гипохлоридли реактив ёрдамида бензидинли реактивни пуркаш йўли билан аниқланди. Сфингозин тутувчи липидлар кўк рангли доғ пайдо қилади. Фосфатид кислота ва лизофосфолипидларнинг миқдорлари камлиги туфайли уларнинг рангли “тест”лар билан аниқлаб бўлмайди. Шунинг учун лизофосфатидилхолин, лизофосфатидилэтанолламин, фосфатид кислота, лизофосфатид кислота, лизокардиолипинларни аниқлашда “гувоҳ”лардан фойдаландик.

2.6. Эркин ёғ кислоталарининг миқдорини аниқлаш

Митохондрияларда эркин ёғ кислоталарининг миқдори спектрофотометрда 515 нм тўлқин узунлигида родамин 6ж иштирокида муаллифлар таклиф этган усулда [Anderson M.M., McCarty R.E., 1972]

аниқланди. Бунинг учун олинган тўқима гомогенатларини эркин ёғ кислоталарнинг миқдорининг экстинкция коэффиценти (E_{515}) родамнн бж ни бензолли экстракти Anderson M.M., McCarty R.E., [1972] бўйича тайёрланди. Палмитин кислота бўйича колибирли эгри чизик 40°C ҳароратда тузилди.

Сувда энзимли липолиз тезлигини аниқлашни спектрофотометр усули маълум вақт ўтганидан кейин реакцияни тўхташига асосланган. Ундан кейин ҳосил бўлган маҳсулот – эркин ёғ кислоталари реакцион муҳитдан органик эритувчи фазага ўтказилиб, у ерда уларнинг миқдори аниқланади. Липидларнинг энзимли гидролизини ўлчаш учун фойдаланилган органик эритмалар ана шу муҳитнинг ўзида эркин ёғ кислоталарни ҳосил бўлиш тезлигини аниқлаш имконини беради. Бензолли эритмадаги липидлардан 0,1мл олиб, 2,7мл мицелларли эритма сақловчи спектрофотометр кюветасига солиниб реакция бошланади.

2.7. Митохондрияларнинг мембраналаридаги фосфолипаза A_2 нинг фаоллигини аниқлаш

Митохондриялардаги фосфолипаза A_2 нинг фаоллиги органеллаларни 37°C ҳароратда инкубация қилиб фосфолипидлар таркибидаги ўзгаришларга қараб аниқланди [Горбатая О.Н., 1988; Мирталипов Д.Т., 1990].

Бунинг учун холодилникда музлатилган 0,2 мл митохондрияларни олиб тезлик билан музидан туширилди ва устига 0,8 мл таркиби 0,25М сахароза, 10мМ трис-НСІ буферли, рН 9,5 ли инкубация мухитидан қуйилиб яхшилаб шиша таёқча билан аралаштирилди ва 1 соат давомида 37°C ҳароратда сақланди. Фосфолипаза A_2 нинг гидролитик фаоллиги умумий фосфолипид, фосфатидилхолин, фосфатидилэтанолламин, кардиолипин, фосфатидилсерин ва фосфатидилинозитларнинг гидролизланиш даражасига, эркин ёғ кислоталар ва лизофосфолипидларнинг ҳосил бўлиши тезлигига қараб аниқланди. Фосфолипид ва лизофосфолипидларнинг миқдорлари юқорида

баён этилган юпка қатламли хорматография усулида фосфор миқдорини аниқлаш йўли билан аниқланди [Горбатая О.Н., 1988; Мирталипов Д.Т., 1990]. Фосфолипаза A_2 нинг фаоллигини мкг/соат мг оксилда берилди.

2.8. Митохондрияда липидларнинг перекисли оксидланиш жараёнини аниқлаш

Кавергални митохондрияда кечаётган липидларнинг перекисли оксидланишига таъсирини муаллифлар [Владимиров, Арчаков, 1972; Андреева и др., 1989] таклиф этган усул билан аниқланди. Бу усулнинг принципи таркибида 2-3 диен боғга эга бўлган тўйинмаган ёғ кислоталарни перексидланиши натижасида ҳосил бўлган малон кислота билан тиобарбитур кислотасини ҳамкорликда таъсирига асосланган. Малон диальдегид миқдорини спектрофотометр СФ-16 да 535 нм тўлқин узунлигида назоратга нисбатан аниқланди. Ҳосил бўлган малон диальдегидининг миқдорини 1,56/10 см га тенг моляр экстинкцияга тенг коэффициентдан фойдаланиб ҳисоблаб топилди. Липидларнинг перекисли оксидланиш реакциясининг тезлигини наномоль малон диальдегиди/мг оксил дақиқада белгиланди.

2.9. Оксил миқдорини аниқлаш

Митохондрия оксилсини Лоури ва ҳаммуаллифлари услуби билан аниқланади [Lowry O.H. et al., 1951]. Бунинг учун пробиркага 0,05 мл митохондрия солиниб, унинг устига 2,5 мл реактив С солинади. Реактив С тажрибани бошланиши олдида реактив В ни реактив А (1:50) қўшиб тайёрланади. Орадан 10 дақиқа ўтгандан кейин 2,5 мл Фолин реактиви қўшилади. Сўнгра 25°C да 30 дақиқа давомида қоронғи жойда сақланади. Ундан кейин, фотоэлектроколориметр (ФЕК) ни 680 нм ли қизил рангли фильтрида митохондрияга қарама-қарши 0,05 мл дистирланган сувни назорат ўрнига қиёслаб ўлчанади.

2.10. Олинган натижаларни статистик қайта ишлаш

Олинган натижаларни Стъюдент-Фишер усули билан статистик қайта ишланди. Ўртача арифметик катталиқни (M), ўртача хатолиқни (m), ишончлилик кўрсаткичи (t ва p)лар аниқланди. P катталиқ 0,05 дан кичик бўлганини ишончлилик кўрсаткич деб олинди [Алматов К.Т. ва бошқ., 1993 б].

3 - БОБ. НАТИЖАЛАР ВА УЛАРНИНГ МУХОКАМАСИ

3.1. Кавергални жигар митохондрияларида фосфолипид алмашинувига таъсири

Жуда кўплаб тадқиқотлар биологик мембраналарнинг структуравий тузилиши ва бажарадиган вазифасини ўрганишга қаратилган. Бу тадқиқотларга асосланиб мембрана фақат ўтказувчанлик қобилиятига эга бўлибгина қолмай балки, унда кўплаб метаболик жараёнлар, хусусан биологик фаол моддаларнинг синтези, оксидланишли-фосфорланиш жараёнларнинг кечиши аниқланди. Шунингдек биологик мембрана билан рецепция жараёнлари, нерв импульсларини узатилиши, мушаклар қисқариши ва шу каби кўплаб жараёнларнинг бўлиши кузатилган. Патологик жараёнларнинг ҳосил бўлиши ва бу жараёнда пайдо бўлган турли ўзгаришлар биологик мембраналардаги структуравий ва функционал бузилишларга боғлиқ [Racker, 1976; Алматов, 1990].

Шунинг учун ҳам организмга ҳар хил антигипосантларни юбориб турли аъзоларнинг митохондрияларидаги фосфолипид алмашинувини ўрганиш жуда катта илмий қизиқиш уйғотади, чунки фосфолипид алмашинувидаги четга оғишлар митохондриядаги нафас олиш ва оксидланишли-фосфорланиш жараёнларидаги, ионлар алмашинувидаги ва мембранага боғлиқ энзимларнинг фаолликларидаги ва рецепторлар фаолиятидаги ўзгаришларнинг механизмларини аниқлашга ёрдам беради ва бу моддалар тўғрисида янада чуқурроқ тушунчаларга эга бўламиз.

Ҳайвонларнинг организмга кавергал юборилгандан кейин, жигар митохондрияларидаги фосфолипид алмашинувидаги ўзгаришлар тўғрисида олинган натижалар 3.1-жадвалда берилган.

Кавергал жигар митохондрияларида фосфатидилхолин ва фосфатидилинозитларнинг миқдорларини назоратдаги кўрсаткичларга нисбатан 1,20 ва 1,26 фоизларга кўпайтирди. Шунинг билан бирга Фосфатидилэтаноламин, кардиолипин, фосфатидилсерин, фосфатид кислота

Кавергални каламуш жигари митохондрияларида фосфолипид алмашинувига таъсири (умумий фосфолипидларга нисбатан фоизларда)

($M \pm m$; $n=6-8$).

Фосфолипидлар	Назоратдаги хайвонлар	Кавергал олган хайвонлар	%
Фосфатидилхолин	$30,33 \pm 1,68$	$34,73 \pm 2,12$	114,5
Лизоосфатидилхолин	$4,48 \pm 0,23$	$3,32 \pm 0,16^{***}$	74,2
Фосфатидилэтаноламин	$26,90 \pm 0,90$	$18,53 \pm 1,17^{****}$	68,9
Кардиолипид	$11,40 \pm 0,64$	$4,07 \pm 0,58^{****}$	35,7
Фосфатидилсерин	$4,89 \pm 0,38$	$2,07 \pm 0,44^{****}$	42,4
Фосфатидилинозит	$7,02 \pm 0,40$	$9,42 \pm 0,68^{***}$	134,2
Фосфатидная кислота	$2,40 \pm 0,13$	$1,92 \pm 0,19^{**}$	79,9
Идентификацияланмаган фосфолипидлар	$12,49 \pm 1,89$	$25,94 \pm 3,67^{****}$	207,7

ва лизоосфатидилхолинларнинг миқдорларини 1,31; 1,64, 1,58, 1,20 ва 1,26 мартага камайтирди. Бу олинган натижа кавергал таъсирида жигар тўқимасида синтез, метилланиш, деакарбоксилланиш ва фосфолипазларнинг гидролаза ва трансфераза фаолликларида жуда катта ўзгаришлар бўлганидан дарак беради. Фосфатидилхолиннинг миқдорини кўпайиши ва фосфатидилэтаноламин ҳамда фосфатидилсеринларнинг миқдорларини камайиши фосфатидилсеринларнинг синтезини секинлашганини ва фосфатидилэтаноламинни фосфатидилхолинга айланишини тезлашганидан (метилланиш реакцияси) [Bereziat G., 1980, Алматов К.Т., 1993], ёки митохондрияда трансацилланиш жараёни кечиши, яъни уларнинг ёғ кислота

колдиқлари билан алмашинуви натижасида фосфолипид икки йўл билан ҳосил бўлади, биринчиси эркин ёғ кислоталари билан КоА ацил-КоА-синтетаза энзими таъсирида АТФ иштрокида ацил-КоА ҳосил бўлиши (АДФ ажралиб чиқади) ва иккинчиси, кейинчалик лизофосфолипид ацил-КоА-фосфолипидтрансфераза энзими таъсирида ацил-КоА иштрокида фосфолипид ҳосил бўлишидан (КоА ажралиб чиқади) [Turkki P.P., Glenn J.G., 1968; Stoffel W., Schiefer H.G., 1968; Waite M., Sisson P., Blackswell E., 1970; Sarzala M.G., Van Golde L.M.G., De Kruyff B., Van Deenen L.L.M., 1970] дарак беради. Бу трансацилланиш учта энзим ёрдамида амалга ошади, бу жараёнларнинг барчаси митохондрия ичида жойлашгани исботланган [Stoffel W., Schiefer H.G., 1968; Waite M., Sisson P., Blackswell E., 1970; Sarzala M.G., Van Golde L.M.G., De Kruyff B., Van Deenen L.L.M., 1970].

Кавергал таъсирида жигар митохондрияларида фосфатидилинозитнинг миқдорини кўпайиши, бу фосфолипид синтезини кучайганини билдиради. Инозитфосфатлардан фосфогидролаза энзими таъсирида инозит ҳосил бўлади, кейин инозит АТФ иштрокида фосфолипидлар билан реакцияга киришиб фосфатидилинозит ҳосил бўлади (АДФ ажралиб чиқади). Ундан ташқари фосфатид кислота АТФ билан реакцияга киришиб аввалига ЦДР-диглицерид ҳосил бўлади, кейин ЦДР-диглицерид инозит билан қўшилиб фосфатидилинозит ҳосил бўлади. Бу жараён митохондрияларда бўлиши ҳам мумкин [Stoffel W., Schiefer H.G., 1968] деган тахминлар бор. Фосфатидилинозит митохондрияни АТФга боғлиқ қисқартириш қобилиятига эга [Vignais F.M., Vignais F.V., Leninger A.L., 1963; 1964; Ляхович В.В., 1973].

Митохондрияларда кардиолипин миқдорини кескин даражада камайиши бу фосфолипид синтезини пасайганини билдиради. Муаллифларнинг [Hostetler K.Y., Van den Bosch H., Van Deenen L.L.M., 1971; Hostetler K.Y., Van den Bosch H., 1972] кардиолипин синтези митохондрияларнинг ички мембранасида кечишини аниқланган. Митохондрияда кардиолипин синтези учун керакли барча энзимлар комплекси жойлашган. Аввал α -глицерофосфат-3-фосфат билан ЦДР-

диглицерид ЦДР-диглицеридглицеро-5п-фосфатидилтрансфераза энзими иштрокида фосфатидилглицерофосфат хосил бўлади. Фосфатидилглицерофосфат фосфатидилглицерофосфатаза энзими иштрокида фосфатидилглицеролга ва цитидинмонофосфатга ажралади. Ундан кейин фосфатидилглицерол билан ЦДР-диглицерид кардиолипсинсинтетаза энзими иштрокида реакцияга киришиб кардиолипин ва ЦМФ хосил бўлади. Бу реакциясни самарали бориши учун магний ёки марганец катионлари керак бўлади.

Кавергал таъсирида митохондрияда лизофосфатидилхолин миқдорини камайиши митохондрия мембранасида жойлашган фосфолипаза A_2 нинг гидролитик фаоллигини кескин пасайиб кетишидан бўлиши керак. Бу фосфолипаза митохондриянинг иккала мембранасида жойлашганлиги аввалдан маълум [Алматов К.Т., 1993]. Бизнинг фикримизча, кавергал мембранада биқатлам сохаларни кўпайтириб юборади. Фосфолипазалар биқатлам сохаларга деярли таъсир қилмайди. Уларнинг максимал даражада фаолият кўрсатиши учун мембранада моноқатлам сохалар керак [Брокерхоф Х., Дженсон Р., 1978]. Демак, кавергал митохондрия мембранасида биқатлам сохаларни кўпайтириб юборади.

Митохондриядаги фосфатид кислотанинг кавергал таъсирида камайиши митохондрия мембраналарида жойлашган фосфолипаза Д нинг гидролитик фаоллигини пасайишидан [Алматов К.Т., 1993], ёки жигар тўқимасида бу фосфолипиднинг синтезини пасайишидан [Shehord E.N., Hiibschner G., 1969; Zborowski I., Wojtezak L., 1969] бўлиши мумкин. Жигар тўқималарида фосфатид кислоталарнинг тахминан ярми митохондрияларнинг мембраналарида синтезланади. Синтез асосан сиртқи мембраналарда кетади. Синтез α -глицерофосфат эркин ёғ кислоталари билан ацилтрансфераза энзими иштрокида реакцияга киришиб аввалига фосфатид кислота хосил бўлади. Шу йўл билан α -глицерофосфат эркин ёғ кислоталарининг миқдорларини мембраналарда кўпайиб кетмаслигини назорат қилиб туради [Trug E., Tal E., Shapiri B., 1964]. Фосфатид

кислотанинг бундай йўл билан синтезланиши интакт митохондрияларида АТФ га боғлиқ қисқариш фазасида кетади.

Шундай қилиб, кавергални организмга киритилиши жигар митохондрияларида фосфатидилхолин ва фосфатидилинозитларнинг миқдорларини кўпайтириб, лизофосфатидилхолин ва бошқа фосфолипидларнинг миқдорларини камайтириб юборади.

3.2. Кавергални митохондрияда фосфолипаз A_2 нинг гидролитик фаоллигига таъсири

Хозирги пайтда турли хужайра ва органеллалар мембраналаридаги фосфолипазаларни ўрганиш сезиларли даражада кучайди. Олинган натижалар асосида бу энзимларнинг асосий бажарадиган вазифаси мембрана ва бутун органоидни жароҳатлашдангина иборат бўлмай, балки мембрана соҳадаларидаги фосфолипид таркибини, мембрана структурасини ва фаолиятини бошқаради деган муҳим хулосага келинди [Van Den Bosch, 1980; Алматов, 1993, Madesh, Balasubramanian, 1997, Liscovch et al., 2000, Ulbrich - Hofmann, 2000]. Липолитик энзимлар тизимининг фаолияти хужайра ва органеллалар мембраналаридаги фосфолипидларнинг кимёвий структурасида жуда улкан ўзгаришларга: ацил (фосфолипаза А) ва алкил (фосфолипаза Д) қолдиқларни ажратиш ва ҳар хил фосфолипидлар ўртасида бу қолдиқларни алмашинишга олиб келади [Алматов и др., 1987; Рахимов и др., 1989]. Бунинг натижасида хужайра ёки унинг органеллаларидаги фосфолипидлардан: лизофосфолипидлар, эркин ёғ кислоталари, эркин асослар, фосфатид кислота, лизофосфатид кислота, ҳамда ацил ва алкил қолдиқлари янгиланган фосфолипидлар ҳосил бўлади.

Аммо адабиётларда гипометаболиклар таъсирида ҳар хил фосфолипазаларнинг гидролитик ва трансферазалик фаолликлари қандай ўзгаришларга учрашлиги тўғрисида олинган натижалар етарли эмас. Шу жумладан жигар митохондрия мембраналаридаги фосфолипаза A_2 нинг

гидролитик фаоллиги кавергал таъсирида қандай ўзгаришларга учраши ўрганилмаган.

Ҳайвон организмига фосфолипаза A_2 ни ингибиторлари (хлорохин, хлорпромозин, бетаметазон), циклооксигеназлар (кетопруфен) ёки торомбоксансинтетазалар (ва медазол), ҳамда простациклин киритилганда гипоксия шароитида сичқонларнинг ҳаётчанлиги узайганлиги тўғрисида маълумотлар бор (Nikolov R., 1984).

Тажрибага олинган ҳайвонларнинг организмига кавергал юборилган кейин жигар митохондрияларидаги фосфолипаза A_2 нинг гидролитик фаоллигини ўзгариши тўғрисида олинган натижа 3.2-жадвалда берилган.

3.2-жадвал

Кавергални каламуш жигари митохондрияларида фосфолипазы A_2 нинг фаоллигига таъсири ($M \pm m$; $n = 8-12$).

Гидролиз маҳсулотлари	Фаоллиги, мкг/соат мг оқсилда		
	Назоратдаги ҳайвонлар	Кавергал олган ҳайвонлар	%
Умумий лизофосфолипид	$46,12 \pm 3,55$	$37,77 \pm 4,02^*$	75,4
Эркин ёғ кислоталари	$4,54 \pm 0,43$	$3,28 \pm 0,22^{***}$	72,2
Лизофосфатидилхолин	$11,97 \pm 1,86$	$9,21 \pm 0,65^{**}$	77,0
Лизофосфатидилэтаноламин	$19,56 \pm 1,28$	$12,79 \pm 0,87^{****}$	65,4
%	163,4	138,9	
Лизокардиолипин	$17,49 \pm 2,56$	$10,53 \pm 0,66^{****}$	60,2
%	146,1	114,3	

Олинган натижадан кавергал жигар митохондрияларидаги фосфолипаза A_2 нинг фаоллигини пасайтириши кўриниб турипти. Бунда лизофосфолипидларнинг умумий миқдори ва эркин ёғ кислоталарнинг миқдори кавергал таъсирида 1,25 ва 1,28 марталарга камайди. Демак.

кавергал митохондриялардаги фосфолипаза А₂нинг фаоллигини пасайтиради.

Назоратда жигар митохондриянинг фосфолипаза А₂ си фосфатидилхолинга нисбатан фосфатидилэтаноламин ва кардиолипинларни (1,63 ва 1,46 марталарга) яхшироқ гидролизлайди. Бу натижа бошқа муаллифлар олган натижага тўғри келади [Рахимов и др., 1988]. Кавергал таъсирида ҳам фосфолипаза А₂ нинг фаоллиги барча фосфолипидларга (фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин ва кардиолипинларларни атиги 1,23; 1,35 ва 1,40 марталаргагина гидролизлайди) пасаяди, аммо субстратларга бўлган спецификлиги сақланиб қолади. Фосфолипаза А₂ фосфатидилхолинга нисбатан фосфатидилэтаноламин ва кардиолипинларни 1,39 ва 1,14 марталарга тезроқ гидролизлайди. Бу олинган натижадан кавергални ҳайвон организмига юборилиши жигар митохондрияларида фосфолипаза А₂ нинг гидролитик фаоллигини пасайтиради деган хулосага келиш мумкин.

3.3. Кавергални митохондрияда липидларнинг перекисли оксидланишига таъсири

Биологик мембрана ва уларнинг хусусиятларини модификациялаш жараёнларида муҳим роль ўйнайдиган кенг спектрли оралик ва охириги махсулотларни ҳосил қилишга олиб келувчи липидларнинг перекисли оксидланиши серқирра занжир реакциялари бизга маълум. Булар алдегидлар, кетонлар, алканлар, тармоқланган занжирли ва циклик халқа сақловчи турли узун занжирли алкенлар, ҳамда охирида поляр соҳали битта қисқа (одатда 1 чи ҳолатда) ва битта узун занжирли (одатда 2 чи ҳолатда) фосфолипидлардир [Владимиров и др., 1991; 1998; Губский, Задорина и др., 1991; Губский, Примак и др., 1991; Porter et al., 1995].

Нормал ҳолатда липидларнинг перекисли оксидланиши тизимида антиоксидантлар мувозанатлашган ва қайтар алоқа принципида ишлайди.

Антиоксидантларнинг фаолликларини кучайиши эркин радикалли реакцияларни сусайишига олиб келади, бу эса ўз новбатида липидларнинг хусусиятларини ўзгартиради, уларда осонроқ оксидланадиган фракциялар пайдо бўлади, натижада липидларнинг перекисли оксидланишини тезлаштиради. Бунда эндоген антиоксидантларни сарфланиши тезлашади, ва аввалги ҳолатга қайтади. Табiiй антиоксидантларнинг фаолликларини доимий даражаси - гомеостазни асосий кўрсаткичларидан биридир [Долина и др., 1987].

Энзимли антиоксидант тизими супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидазалардан ташкил топган. Бу тизим НАД.Н фонди манбааси бўлиб хизмат қиладиган эркин радикал протон оқимлари тизимини “ўчиради” [Johnson et al., 1980; Верболович и др., 1988].

Хужайра ичидаги асосий энзим химоя омили супероксиддисмутаза ҳисобланади, унинг асосий вазифаси супероксиданионни чиқариб ташлашдан иборат. Бу металлопротеин икки асосий вариантда учрайди: митохондрия матриксида жойлашган марганец-сақловчи энзим, ва цитоплазмадан жойлашган мис-рух-сақловчи энзим [Johnson et al., 1980]. Мис-рух-сақловчи супероксиддисмутазанинг миқдори марганец-сақловчи супероксиддисмутазанинг миқдоридан кўп. Бунинг асосий сабаби бошқа металлларга нисбатан Ca^{2+} кучли тикловчи бўлганлиги учун ҳам мис-рух-сақловчи супероксиддисмутаза марганец-сақловчи супероксиддисмутазаникидан 1,5-2,0 марта фаолроқ [Биленко, 1989].

Супероксиддисмутазанинг фаоллигини меёрдаги кўрсаткичга нисбатан 50 % га яқин пасайиши супероксид анионрадикалларни миқдорини бошқариб бўлмайдиган даражада шароит яратади, бу эса хужайраларда қайтариб бўлмайдиган ўзгаришларга олиб келиши мумкин [Michelson, 1977; Шаталина и др., 1989].

Ундан ташқари липидларнинг перекисли оксидланиш жараёнининг хаддан ташқари муҳимлигини шундан иборатки, у ҳам бўлса биомембраналардаги фосфолипидларни “биқатлам” тузилишини физиологик аҳамиятга

эга бўлган модификацияларидан бирини ташкил қилади, мембрана структураларини бўлакларга бўлишда ва фосфолипидларини янгиланишида қатнашади [Владимиров и др., 1991; Гацура, Смирнов, 1992; Dix, Aikens, 1993].

Мембранада липидларнинг перекисли оксидланиши реакцияси хар хил бирламчи ва иккиламчи махсулотларни хосил бўлишига олиб келади. Натижада биомембрана структураси жиддий ўзгаришларга учрайди. Қисқа ацил занжирли фосфолипидлар худди лизофосфолипидларга ўхшаб биомембранани ичида мицеллалар хосил қилади [Dan, 1998]. Лизофосфолипидлар катори уларни табиий детергентлар деб атаса хам бўлади.

Липидларнинг перекисли оксидланиши мембранани полярлигини ва липид “биқатлам”ини ёпишқоқлигини кўпайтиради [Владимиров и др., 1991]. Липидларни перекисли оксидланиши натижасида мембрана биқатламини орасидаги бирқатлам орасидаги флип-флоп ўтиш тезлиги кучаяди, хамда мембрана оқсилларини латериал харакатчанлиги ва айланиш тезлиги пасаяди [Richter, 1988].

Липидларнинг перекисли оксидланишини охирги реакция махсулоти хисобланган малон диалдегидини мембрана ассиметриясига таъсири ўрганилган [Jain, 1984]. Малон диалдегиди мембрана биқатламини ички қатламидан ташқи қатламга фосфатидилэтаноламин ва фосфатидилсерин аминоксидларининг кўчиб ўтказишга олиб келиши кўрсатилган.

Липидларнинг перекисли оксидланишини фаоллашуви мембранани ўтказувчанлигини ошиши билан кечади [Губский, Задорина и др., 1991; Губский, Примак и др., 1991; Коган и др., 1996]. Бу ўзгаришлар биқатламни структуравий ҳолатини модификациялаш оқибатида хам, ёки липидларнинг оксидланиши махсулоти ташилишини кимёвий модификацияси натижасида хам бўлиши мумкин. Мембранани гидрофоб соҳасида липидларнинг перекисли оксидланишини махсулотини пайдо бўлиши сув пораларини хосил бўлишига олиб келади [Владимиров и др., 1991], биқатламни полярлиги бузилади. Липидларнинг перекисли оксидланишини кучайиши мембрана ўтказувчанлигини кўпайтириши липидларда “перекис кластер”ларини хосил

килади – фосфолипидларда НОО-гурухи бирлашади ва ионлар ўтиши учун каналлар ҳосил қилади [Коган и др., 1996].

Шундай қилиб, мембраналарда кечаётган жараёнларга липидларнинг перекисли оксидланиши таъсири мембрана оқсиллари ва фосфолипидларига тўппадан-тўғри деструктив таъсири қилиб мембрана структурасини ўзгартириш орқали бўлиши ҳам мумкин.

Кавергални каламуш жигари митохондрияларида малон диалдегидини ҳосил бўлишига таъсири тўғрисида олинган натижалар 3.3-жадвалда берилган.

3.3-жадвал

Кавергални каламуш жигари митохондрияларидаги липидларнинг перекисли оксидланишига таъсири ($M \pm m$; $n=8-10$)

Содержание малонового диальдегида, нмоль/мг белка			
Назоратдаги Ҳайвонлар	%	Кавергал олган ҳайвонлар	%
0,280±0,010	100	0,208±0,014****	74,3

Агар, назоратдаги ҳайвонларнинг жигари митохондрияларидаги малон диалдегидини миқдори $0,280 \pm 0,010$ нмоль/мг оқсилни ташкил қилса, кавергал олган ҳайвонларнинг жигари митохондрияларида - $0,208 \pm 0,014$ нмоль/мг оқсилни ташкил қилди, яъни липидларнинг перекисли оксидланишини назоратдаги кўрсаткичга нисбатан 1,28 мартага секинлаштирди.

Демак, кавергал антиоксидантлик хоссасига ҳам эга экан.

3.4. Кавергални митохондриянинг нафас олиш ва энергия ҳосил қилиш фаолиятларига таъсири

Кавергални жигар митохондрияларининг нафас олиши ва оксидланишли фосфорланишига таъсири 3.4 ва 3,5-жадвалларда берилган.

Кавергални каламуш организмга киритилиши жигар митохондрияларида глутаматни оксидланиш тезлигини фосфорланишли оксидланиш ҳолатида (V_3) назоратдаги кўрсаткичга нисбатан 29,3%га тезлашишига олиб келди (3.4-жадвал). Бунда Чанс бўйича нафас олиш кўрсаткичини ($\text{НОК} - (V_3/V_4)$) ва АДФ:О коэффициентини 29,5 ва 16,4 % ларга ошиши кузатилди. Глутаматни динитрофенол иштирокидаги оксидланиш ($V_{\text{ДНФ}}$) тезлиги назоратдаги кўрсаткичга нисбатан 23,7% га тезлашиши, НАДга боғлиқ субстратлардан нафас олиш занжири бўйлаб электронларни узатиш тезлигини кучайганидан дарак беради.

Гипометаболик препарати олган ҳайвонларнинг, жигари митохондрияларида фосфорланишли оксидланишни тезлашиши, митохондрия ичидаги адениннуклеотидларнинг алмашинув фондини ошганидан бўлиши мумкин. Чунки, уларнинг бирламчи бажарадиган вазифаси барча метаболик йўллари умумлаштиришдан иборат, шунинг учун ҳам адениннуклеотид тизимнинг ҳолати метаболик жараёнларни йўналишига ва тезлигига бошқарувчилик таъсир кўрсатади, ва ўз новбатида уларга ҳам боғлиқ [Atkinson D.E. 1977]. Митохондриялардаги оксидланишли фосфорланиш тизими хужайрада адениннуклеотидларни энергетик ҳолатини аниқлайдиган асосий омиллардан бири ҳисобланади [Klingenberg M., 1980; Erechinska M., Wilson D.F., 1982]. Klingenberg M.нинг [1980] фикрича махсус транслоказа-ташувчи тизим орқали амалга ошадиган митохондрия матрикси билан цитозол ўртасидаги аденин нуклеотидлар ($\text{АТФ}^4/\text{АДФ}^3$) алмашинуви нафас олишни ялпи тезлигини аниқлайди. Бу фаразни муаллифи транслоказа оксидланишли фосфорланиш тизим иши тартибини аниқлаб беради деб ҳисоблайди [Klingenberg M. et al., 1983; Muller M. et al. 1984]. Агар транслоказа фараз тарафдорларининг нуқтаи назари тарафини олсак, унда транслоказа фаоллигига таъсир кўрсатиб, шу йўл билан хужайра биоэнергетикасида физиологик бошқарувчилик вазифасини кавергал бажарга алоҳида қизиқиш уйғотади.

Каламуш жигари митохондрияларида глутаматни оксидланиши ва оксидланишли фосфорланишига кавергални таъсири ($M \pm m$; $n=8-10$).

Кўрсаткичлар	Нафас олиш тезлиги, нанограмм атом кислород / мин мг оқсилда		
	Назоратдаги хайвонлар	Кавергал олган хайвонлар	%
V_2 -ҳолат	$13,3 \pm 1,4$	$12,9 \pm 1,7$	97,0
V_3 -ҳолат	$34,8 \pm 2,7$	$45,0 \pm 2,5^{**}$	129,3
V_4 -ҳолат	$11,5 \pm 1,5$	$11,5 \pm 1,8$	100,0
$V_{\text{днф}}$ -ҳолат	$37,1 \pm 2,6$	$45,9 \pm 2,7^*$	123,7
$\text{НОК}_q(V_3/V_4)$	$3,02 \pm 0,12$	$3,91 \pm 0,10^{**}$	129,5
АДФ/О	$2,81 \pm 0,07$	$3,27 \pm 0,12^{**}$	116,4

Кавергал олган хайвонларнинг митохондрияларда сукцинатни оксидланишида бошқачароқ ҳолат кузатилди (3.5-жадвал).

Кавергал таъсирида жигар митохондрияларида сукцинатни ҳар хил метаболик ҳолатларда (V_2 , V_3 , V_4 и $V_{\text{днф}}$) оксидланиши назоратдаги хайвонларнинг митохондрияларида олган кўрсаткичларга нисбатан 25,2; 23,6; 35,3 ва 24,5% ларга пасайди. Аммо, оксидланиш фосфорланиш кўрсаткичларини самарадорлиги, яъни Чанс бўйича нафас олиш кўрсаткичи ва АДФ/О коэффиценти 35,5 ва 18,5% ларга кўпайди. Бу кавергални жигар митохондрияларининг нафас олиш занжирида сукцинатни оксидланишини секинлаштиради. Бизнинг фикримизча кавергал митохондрияда сукцинатни оксидланишида ҳосил бўладиган супероксид-анионни ($\bar{O}$) ҳосил бўлишини ҳам пасайтиради. Сукцинатни оксидланишида супероксид-радикални ҳосил бўлиш тезлиги кислородни миқдorigа боғлиқлиги мос ҳолда бўлади ва

кислородни нормал парциал босимида оксидаза фаоллигини 9.4%ни ташкил қилади. Сукцинатни оксидланишида кислородни бир электронли тикланиши

3.5-жадвал

Каламуш жигари митохондрияларида сукцинатни оксидланиши ва оксидланишли фосфорланишига кавергални таъсири ($M \pm m$; $n=8-10$).

Кўрсаткичлар	Нафас олиш тезлиги, нанограмм атом кислород / мин мг оқсилда		
	Назоратдаги хайвонлар	Кавергал олган хайвонлар	%
V_2 -ҳолат	$50,8 \pm 2,6$	$38,0 \pm 2,5^{**}$	74,8
V_3 -ҳолат	$133,4 \pm 4,4$	$102,2 \pm 3,2^{**}$	76,4
V_4 -ҳолат	$50,4 \pm 2,9$	$32,6 \pm 2,7^{***}$	64,7
$V_{\text{ДНФ}}$ -ҳолат	$129,6 \pm 6,5$	$97,9 \pm 5,4^{**}$	75,5
$\text{НОК}_ч$ (V_3/V_4)	$2,64 \pm 0,12$	$3,13 \pm 0,11^*$	118,5
АДФ/О	$1,80 \pm 0,09$	$2,44 \pm 0,08^{**}$	135,5

катта қисми (80%) O_2^- га боғлиқ тикланиши (тўйиниш миқдорида) I комплекс томонидан амалга оширилади. НАД.Н ни оксидланишида (тўйиниш миқдорида) O_2^- ни ҳосил бўлиш тезлиги сукцинатни оксидланиш тезлигидагига қараганда анчагина кам бўлади [Виноградов, Гривенникова, 2005]. Жигар хужайралари митохондрияларида НАДга боғлиқ субстратларнинг оксидланишини тезлашиши оксидланишли фосфорланиш самарадорлигини кучайишига олиб келади.

ЯКУН

Олинган натижаларни таҳлил қилиб шу айтиш мумкин, у ҳам бўлса, кавергални организмга киритилиши жигар митохондрияларида

фосфатидилхолин ва фосфатидилинозитларнинг миқдорларини кўпайтириб, лизофосфатидилхолин ва бошқа фосфолипидларнинг миқдорларини камайтириб юборади. Бу ўзгаришлар митохондрияларда фосфолипаза A_2 нинг гидролитик фаоллигини ва липидларнинг перекисли оксидланишини пасайтириши орқали бўлади.

Кавергал НАД га боғлиқ субстратлардан глутаматни оксидланишида фосфорланишли оксидланишни (V_2) ва динитрофенол таъсиридаги оксидланишни кучайтиради, сукцинатни оксидланишида эса, аксинча секинлаштиради. Бизнинг фикримизча, бу натижа митохондриянинг нафас олиш занжиридаги электронларни қайтар ташилиш феномени ($НАД^+$ ни тикланиши бўйича) билан боғлиқ [Chance B., Williams G.R., 1956].

Электронларни қайтар ташилиш феномени Mitchell ни хемиосмотик назарияси билан аниқ тушунча берилган [Mitchell P., 1961]. Нафас олиш занжирини протон насослари қайтарилиб ҳам ишлаши маълум [Wikstrom M., Krab K., 1980]. Организм шароитида сукцинатни оксидланишида нафас олиш занжирини бир протон насоси билан электронлар оқимини бир томонга йўналиши шароити яратилган бўлса, бу жараён бошқаси билан тугатилади. Электронларни қайтар ташилиши митохондрия мембранасидаги протонларни электрокимёвий градиенти энергияси хисобига нафас ташувчиларини оксидланиш – тикланиш потенциалининг изопотенциал гуруҳини градиентга қарши ҳаракати билан ўзоро боланган.

Шундай қилиб, бунда сукцинат нафас олиш занжирида қайтар оқимига электронларни донори бўлиб, яъни 3, 4 насос орыали протонни хайдайди ва 1 насос орқага қайтариб ишга туширади. Натижада $НАД^+$ қайта тикланади, буни оптик усул билан қайд қилинади.

ХУЛОСА

1. Кавергални организмга киритилиши жигар митохондрияларида мембрана стабиллигини оширадиган фосфатидилхолинни ва АТФ

синтезини яхшилайдиган фосфатидилинозитларнинг миқдорларини кўпайтириб, лизофосфатидилхолин, фосфатидилэтанолламин, кардиолипин, фосфатидилсерин ва фосфатид кислоталарнинг миқдорларини камайтиради.

2. Кавергал митохондрияларда фосфолипаза A_2 нинг гидролитик фаоллигини ва липидларнинг перекисли оксидланиш жараёнини пасайтиради.
3. Кавергал жигар митохондриясида глутаматни фосфорланишли оксидланишини, яъни АТФ синтезини кучайтиради. Натижада оксидланишли фосфорланиш кўрсаткичларини - Чанс бўйича нафас олиш кўрсаткичини ва АДФ/О коэффицентини ошиши кузатилади.
4. Кавергал жигар митохондриясида сукцинатни ҳар хил метаболик ҳолатларда оксидланишини пасайтиради, аммо Чанс бўйича нафас олиш кўрсаткичини ва АДФ/О коэффицентини оширади.
5. Кавергал митохондриянинг нафас олиш занжирида НАД га боғлиқ субстратларнинг нафас олишини фосфорланишли оксидланиш ҳолатда кучайтириб, сукцинатни оксидланишида секинлаштириши электронларни қайтар ташилиш феномени ($НАД^+$ тикланиши бўйича) билан боғлиқ.

АДАБИЁТЛАР

1. Абдуллаходжаева Д.Г. Влияние проантоцианидина кавергала на морфогенез экспериментального инфаркта миокарда // Медицинский журнал Узбекистана. - 1989, - № 5, - с. 77-80.
2. Айзиков М.И. Антиатеросклеротическая активность некоторых ротеноидов, терпеноидов и проантоуцианидинов из флоры Средней Азии: Автореф. дис...докт. мед. наук, Ташкент, - 1993, - 31 с.
3. Алматов К.Т., Горбатая О.Н. и др. Обнаружение фосфолипазы Д в митохондриях печени крыс // Украин. биохим. журнал. Киев. – 1987. Т. 59. - № 4. - С. 93-96.
4. Алматов К.Т. механизмы развития повреждений мембран митохондрий и роль липолитической системы. Доктор. Дисс., Ташкент, 1990. 410 с.
5. Алматов К.Т. Ферментативные превращения фосфолипидов мембран митохондрий. Т.: Университет. 1993.-30 с.
6. Алматов К.Т., Ахмеров Р.Н., Иргашев М.С. и др. Методические указания к лабораторным занятиям по курсу «Физиология человека и животных. Ташкент: Университет, часть 1, 1993а, 50 с.
7. Алматов К.Т., Ахмеров Р.Н., Иргашев М.С. и др. Методические указания к лабораторным занятиям по курсу «Физиология человека и животных. Ташкент: Университет, часть 2, 1993б, 55с.
8. Алламуратов Ш.И. Энергетический обмен тепло- и холоднокровных организмов при разных гипометаболических состояниях.: Автореф. дис... докт. биол. наук. – Ташкент, 1999.- 45 с.
9. Андреева Л.И., Кожемякин Л.Д., Кушкин А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой //. Лабораторное дело. – Москва, 1989. - №1. - С. 41-43.

- 10.Багдасарова Э.С. Изменение физиологических показателей метаболизма при гипоксии и коррекция их растительными антигипоксантами.: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Ташкент, 1985. - 21 с.
- 11.Бакаева Л.Е., Зоров Д.Б., Скулачев В.П., Ченцов Ю.С. Мембранный электрический кабель. 1. Нитчатые митохондрии фибробластов. Биол. мембраны, 1986, т-3., с. 1130-1136.
- 12.Бакеева Л.Е., Ченцов Ю.С. Митохондриальный ретикулум: Строение и некоторые функции. Итоги науки. Общие проблемы биологии. Москва: Изд-во МГУ, 1989.
- 13.Бергельсон Л.Д., Дятловицкая Э.В., Молотковский Ю.Г., Батраков С.Г., Барсуков Л.И., Проказова Н.В. Препаративная биохимия липидов. Москва: Наука, 1981, С. 259.
- 14.Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов //Молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения. М.: Медицина. 1989. -368 с.
- 15.Болдерев А.А. Введение в мембранологию. Москва: Изд. МГУ 1990, 280 с.
- 16.Бурлакова Е.Б. Влияние липидов мембран на ферментативную активность. Липиды. Структура, биосинтез, превращения и функция. Москва: Наука, 1977, С.17-27.
- 17.Брокерхоф Х., Дженсон Р. Липолитические ферменты. Москва: Мир, 1978. - 396 с.].
- 18.Долина О.А., Галлеев Ф.С., Фархутдинов Р.Р. Влияние общих анестезии и ее компонентов на свободнорадикальные процессы // Анестезия и реаниматология. – Москва, 1987. - №5. - С.71-75.
- 19.Виноградов А.Д. Преобразование энергии в митохондриях // Соросовский образовательный журнал. – Соросов, 1999. – № 9. – С.11-19.
- 20.Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисная окисление липидов в биологических мембранах, - Москва: Наука. 1972. - С. 214.

- 21.Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестник Росс. АМН . Москва, 1998. - № 7. - С. 43-51.
- 22.Владимиров Ю.А., Азизова О.А. и др. Свободные радикалы в живых системах // / Итоги науки и техники. Серия «биофизика». – Москва, 1991. - Т. 29. - С. 42-49.
- 23.Владимиров Ю.А., Гривенникова В.Г. Генерация супероксид-радикалами NADH: убихинон оксидоредуктазой митохондрий сердца // Биохимия. Москва, 2005. - Т. 70. - вып. 2. - С. 150-159.
- 24.Высоких М.Ю., Гончарова Н.Ю., Журавлева А.В., Зорова Л.Д., Кириченко В.В., Красников Б.Ф., Кузьминова А.Е., Меликов К.С., Мелик-Нубаров Н.С., Самсонов А.В., Белоусов В.В., Пришепова А.Е., зоров Д.Б. Биохимия. – 1999, - т.64, - с.390-398.
- 25.Гацура В.В., Смирнов Л.Д. Кардиопротекторные свойства некоторых синтетических антиоксидантов // Хим. фарм. журнал. – Москва, 1992. - Т.12. - С.10-15.
- 26.Грибанов Г.А. О метаболических взаимоотношениях липидов. Успехи совр. биологии. 1979, т.87. вып.1, С.16-31.
- 27.Гулак П.В. Физиологические аспекты метаболизма фосфоинозитов. Успехи совр. биологии. 1981, т.91, вып.2. С. 162-177.
- 28.Горбатая О.Н. Липолитическая система митохондрий и ее функциональная роль: Дис. ... канд. биол. наук. - Ташкент. Институт физиология и биофизика. 1988. - 203 с.
- 29.Губский Ю.И., Задорина О.В., Федеров А.Н., Богданова Л.А. Перекисная модификация саркоплазматического ретикулума скелетных мышц при антиоксидантной недостаточности и действия ионола. 1. Транспорт Ca^{2+} в мембранах саркоплазматического ретикулума // Украин. биохим. журнал. – Киев, 1991а. - Т.63. - № 4. - С.81-87.
- 30.Губский М.В. Примак Р.Г. и др. Перекисная модификация саркоплазматического ретикулума скелетных мышц при антиоксидантной недостаточности и действия ионола. 2. Физико-

- химические характеристики мембран саркоплазматического ретикулула // / Украин. биохим. журнал. – Киев, 1991б. - Т.63. - № 4.- С.87-92.
31. Долина О.А., Галлеев Ф.С., Фархутдинов Р.Р. Влияние общей анестезии и ее компонентов на свободнорадикальные процессы // Анестезия и реаниматология. – Москва, 1987. - №5. - С.71-75.
32. Дятловицкая А.В., Валднище А.Т., Бергельсон Л.Д. Использование липид переносящих белков для изучения мембраносвязанных ферментов. Свойства митохондриальной моноаминоксидазы активизированной фосфатидилхолином. Биохимия, 1979, т.44, вып. 10, С. 1826-1829.
33. Зоров Д.Б., Исаев Н.К., Плотников Е.Ю., Зорова Л.Д., Стельмашук Е.В., Васильева А.К., Архангельская А.А., Хряпенкова Т.Г. Митохондрия как многоликий Янус. Обзор. // Биохимия, - 2007, - том.72, - вып.10, - с.1371-1384.
34. Крепс Е.М. Липиды клеточных мембран. Ленинград: Наука, 1981, 339 с.
35. Коган В.Е., Орлов О.Н., Прилипко Л.Л. Проблемы анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов / Итоги науки и техники. Серия биофизика. - Москва: Наука. 1996. - Т. 18, - С. 15-34.
36. Куцый М.П., Гуляева Н.А., Кузнецова Е.А., Газиев А.И. Исследование ДНК-связывающих белков митохондрий печени крыс. Известия РАН. Серия биологическая. – Москва, 2005. - Т.5. - С.531-538.
37. Ляхович В.В. Проблемы синтеза фосфолипидов в митохондриях. Биологические науки – 1976, №2, С.36-45.
38. Мирталипов Д.Т. Фосфолипиды мембран митохондрий печени при аллоксановом диабете и роль эндогенных липолитических ферментов в их модификации: Дис.... канд.биол.наук. – Ташкент: институт биохимия. 1990. - 139 С.

39. Назруллаев С.С. Фармакологические исследования проантоцианидина катацина, выделенного из тарана дубильного: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Ташкент, 1994. – 20 с.
40. Никишин А.Г., Рахманов Т.Ш., Пирназаров М.М., Курбанов Р.Д. Эффекты антиоксиданта кавергала у больных инфарктом миокарда, получивших стрептокиназу. // Кардиология СНГ, - 2005, - № 3, - с. 121124.
41. Рахимов М.М., Горбатая О.Н. и др. Свойства фосфолипазы A_2 наружной и внутренней мембран митохондрий // Биохимия. – Москва, 1988. - Т. 53. - вып.9. - С. 1486-1495.
42. Рахимов М.М., Горбатая О.Н., Алматов К.Т. Свойства фосфолипид Д митохондрий печени крыс // Биохимия. – Москва. 1989. Т. 54. - вып.7. - С. 1066-1074.
43. Савина М.В. Механизмы адаптации тканевого дыхания в эволюции позвоночных. Санкт-Петербург: Наука. 1992. 200 с.
44. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран. – М.: Наука, 1980. – 564 с.
45. Скулачев В.П. Биоэнергетика. Мембранные преобразователи энергии. – М.: Высшая школа, 1989. – 271 с.
46. Скулачев В.П. В своем межмембранном пространстве митохондрия таит «белок самоубийства», который, выйдя в цитозоль, вызывает апоптез. Биохимия. 1996 б. Т.61. вып.11. С.2060-2063.
47. Сыров В.Н., Шахмурова Г.А., Хушбактова З.А. Сравнительная оценка влияния экдистена и кавергала на процесс адаптации к прерывистому действию высотной гипоксии. // Узбекский биологический журнал, - 2009, - № 3, - с. 11-14.
48. Тихонов А.Н. молекулярные моторы. Часть 1. Вращающиеся моторы живой клетки. Соросовский образовательный журнал. 1999, №6, с. 8-16.

- 49.Фильченков А.А., Абраменко И.В. Апоптоз в патогенезе заболеваний человека. – Киев: ДНА, 2000. 120с.
- 50.Ченцов Ю. С. Хондриом - совокупность митохондрий клетки. Соросовский образовательный журнал, 1997, №12 с. 10-16.
- 51.Ченцов Ю.С. Общая цитология, Москва: Изд-во МГУ, 1995.
- 52.Шаталина Л.В., Быкова Н.О. и др. Состояние мембран и особенности перекисного окисления липидов тромбоцитов и у больных с нестабильной стенокардией // / Кардиология. – Москва, 1989. - №2. - С.45-49.
- 53.Юлдашев Н.М., Хакимов З.З., Зияева А.В. Противогипоксическое действие индуктора монооксигеназной системы печени бензонала // Кимё ва фармация. – Тошкент, 1996. – №4. – С. 59-62.
- 54.Яффе М., Шатц Г. Будущее исследований митохондрий. Перспективы биохимических исследований. Москва: Мир, 1987, с. 137-143.
- 55.Alam T.I., Kanki T. et al. Human mitochondrial DNA is packaged with TFAM Nucleic Acids Res., 2003. - V.31. - P.1640-1645
- 56.Anderson M.M., McCarty R.E. Rapid sensitive assay for free fatty acids using Rhodamin 6G // Anal. Biochem., 1972, V. 45, № 1, P. 260-270.
- 57.Atkinson D.E. Cellular energy metabolism and its regulation // Acad. Press.- 1977. – №4. – P. 85 - 107.
- 58.Bereziat G. Renouvellement des acides gras des membranes cellulaires // Ann. Nutr. et alim. - 1980. - V. 34. - N-2. - P. 241-254.
- 59.Bernal S.D., Lampidis T.J., Summerhayes I.C., Chen L.B. Science, - 1982, - v.4577, - p.1117-1119.
- 60.Bernal S.D., Lampidis T.J., McIsaac R.M., Chen L.N. Science, - 1983, - v.4620, - p.169-172.
- 61.Brandon M., Baldi P., Wallace D.C. Oncogene, - 2006, - v.34, - p.4647-4662.

62. Bidon E., Brani A., Mietto Z., Toffano G. Lypophosphotidilserine – induced release of interacellular amines in nice. *Brit.J.Phram.*, 1980., V.69. P. 11 – 12.
63. Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. Biochem. And Physiol.*, 1959, V. 37, № 8, P. 911-917.
64. Brdiczka D. *Biochem. Biophys. Acta*, - 1994, - v.1187, - p.264-269.
65. Brdiczka D., Zorov D.B., Sheu S.S. *Biochem. Biophys. Acta*, - 2006, - v.1762, - p.148-161.
66. Buttke T.M. Sadstrom P.P. Oxidative - stress as a mediator of apop-tosis. // *Immunol. Today*, 1994, V. 15, P. 7-14.
67. Carmel I., fares F.A., Leschiner S., Scherubl I.N., Weisinger G., Gavish M. *Biochem. Pharmacol*, - 1999, - v.58, - p.273-278.
68. Chance B., Williams G.R. The respiratory chain and oxidative phosphorylation // *Adv.enzymol.* – 1956. – V.17. – P. 65-134.
69. Di Lisa F., Blank P.S., Colonna R., Gambassi G., Silverman H.S., Stern M.D., Hansford R.G. *J. Physiol.*, - 1995, - v.486, - p.1-13.
70. Dix T.A., Aikens J. Mechkanisms and biological relevance of lipid peroxidation initiation // *Chem. Res. Toxicob.*, 1993. - V. 6. - P. 2-18.
71. Duguez S., Sabido O., Freyssenet D. *Exp. Cell. Res.*, - 2004, - v.299, - p.27-35.
72. Dumollard R., Duchen M., Sardet C. *Semin. Cell. Dev. Biol.*, - 2006, - v.17, - p.314-323.
73. Erechinska M., Wilson D.F. Regulation of cellular energy metabolism // *J. Membrane Biol.* – 1982. – V.70. – P. 1-14.
74. Garrido N., Griparic L. et al. Composition and dynamics of human mitochondrial nucleotides. *Mol. Biol. Cell*. 2003. V.14. P.1583-1596.
75. Green D.R., Reed J.C. Mitochondria and apoptosis. *Science*, 1998, V.281, P. 1309-1312.
76. Halliwell B. Reactive oxygen species and the central nervous system. // *J. Neurochem.*, 1992, V. 59, P. 1609-1623.

77. Halliwell B., Gutteridge (Eds) *Free Radicals in Biology and Medicine*. Clarendon Press, Oxford (Uk), 1985, P. 167.
78. Hostetler K.Y., Van den Bosch H., Van Deenen L.L.M. Biosynthesis of cardiolipin in Liver mitochondria // *Biochem. Biophys. Acta*. 1971. - V. 239. - P. 113-116.
79. Hostetler K.Y., Van den Bosch H. Subcellular and submitochondrial localization of the biosynthesis of cardiolipid and related phospholipids in rat liver // *Biochem. Biophys. Acta*. 1972. - V. 260. - N-2. - P. 380-386.
80. Jain B. Effect of malone dialdehyde on cell membrane asymmetry // *J. Biol. Chem.*, 1984. - V. 259. - P. 3391-3403.
81. Johnson R.B., Rabts R.A., Sasada M. Biologikal and clinical aspects of superoxide and superoxide dismutase. - New York. 1980. - P. 211-221.
82. Klingenberg M. The ADP Translocation in mitochondria a membrane potential controlled transport // *Membrane Biol.* – 1980. – V. 56. – P. 97-105.
83. Klingenberg M. et al. The binding of bongkrekate to mitochondria // *Eur. J. Biochem.* – 1983. – V. 131. – P. 647-654.
84. Kumar S., Harvey N.I. *FEBS Lett.*, 1995, v. 375, p. 169-173.
85. Kottke M., Adam V., Riesinger I., Bremm G., Bosch W., Brdiczka D., Sandri G., Panfili E. *Biochem. Biophys. Acta*, - 1988, - v. 935, - p. 87-102.
86. Koyanagi M., Brandes R.P., Haendeler J., Zeiher A.M., Dimmeler S. *Circ. Res.*, - 2005, - v. 96, - p. 1039-1041.
87. Koya K., Li Y., Wang H., Ukai T., Tatsuta N., Kawakami M., Shishido T., Chen L.B. *Cancer Res.*, - 1996, 56, - p. 538-543.
88. Li W., Hardwick M.J., Rosenthal D., Culty M., Papadopoulos V. *Biochem. Pharmacol.*, - 2007, - v. 73, - p. 491-503.
89. Linden M., Gellerfors P., Nelson B.D. *FEBS Lett.*, - 1982, - v. 141, - p. 189-192.
90. Liscovich M., Czarny M., Flucci G., Tahg X. Phospholipase D: molecular and biology of a novel gene family // *Biochem. J.* - 2000. - V. 345. - P. 401-415.

91. Lowry O.H., Rosebrough N.L., Randall R.I. et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, V. 193, P.265-275.
92. Madesh M., Balasubramanian K.A. Activation of liver mitochondrial phospholipase A₂ by superoxide // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1997. – V. 346, - №2. –P. 187-192.
93. Marchett P., Susin S.A., Decandin D., Gamen S., Castedo M., Hirsch T., Zamzani N., Navai J., Senik A., Kroemer A., *Cancer Res.*, 1996, v. 56, p. 2033-2038.
94. Mandal S., Guptan P., Owusu-Ansah E., Banerjee U. *Dev. Cell*, - 2005, - v.9, - p.843-854.
95. Mansi L., Rambaldi P.F., Cuccurullo V., Pecori B., Quarantelli M., Fallanca F., Del Vecchio E. *Q. J. Nucl. Med.*, - 1997, - v.41, - p. 239-250.
96. Mitchel P., Motle J. *Nature*, - 1967, - v.5072, - p.137-139.
97. Michelson A.M., Pudet K. et al. *Biochemical and medical Aspects of active Oxygen*. Baltimore. 1977.
98. Mishra S., Murphy L.C., Murphy L.J. *J. Cell. Mol. Med.*, - 2006, - v.10, - p.353-363.
99. Muller M. et al. Rotational diffusion of the ADP/ATP translocation in the inner membrane of mitochondria and in proteoliposomes // *J.Biol. Chem.* – 1984. – V.259. – P. 3037-3043.
100. Neupert W., Herrmann J.M. *Annu. Rev. Biochem.*, - 2007, - v. 76, - p. 723-749.
101. Neuzil J., Wang X.F., Dong L.F., Low P., Ralph S.J. *FEBS Lett.*, - 2006, - v.580, - p.5125-5129.
102. Nikolov R. Aichidonic acid cascade and antihypoxic drugs // *Exp. And clin. Pharmacol.*, 1984. V. 6. N 5. P. 231-234.
103. Porter N.A., Sarah E., Karen A.M. Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids // *Lipids*, 1995. - V. 30. - N-4. - P. 227-290.
104. Racker E.A. A new look at mechanism in bioenergetics. Academic Press. New York-San Francisco, London, 1976.

105. Richter C. Reactive oxygen and DNA damage in mitochondria // *Mutat. Res.*, 1992. - V.275. - P.249-255.
106. Robe R.B., Hay N. *Oncogene*, - 2006, - v.34, - p.4683-4696.
107. Sanger N., Strohmeier R., Kaufmann M., Kuhl H. *Eur. J. Cancer*, - 2000, - v.36, - p.2157-2163.
108. Sarsala M.G., Van Golde L.M.G., De Kruijt B., Van Deenen L.L.M. The intramitochondrial distribution of some enzymes involved in the biosynthesis of rat liver phospholipids // *Biochem. Biophys. Acta*. - 1970. - V. 202. - N-1. - P. 106-119.
109. Shehard E.M., Hiibschner G. Phosphatide biosynthesis in mitochondrial subfractions of rat liver // *Biochem. J.* 1969. - V.113. - P.429-434.
110. Shiau C.W., Huang J.W., Wang D.S., Weng G.R., Yang C.C., Lin C.H., Li C., Chen C.S. *J. Biol. Chem.*, - 2006, - v.281, - p.11819-11825.
111. Skulachev V.P. *J. Bioenerg. Biomembr.*, - 1994, - v.26, - p.589-598.
112. Skulachev V.P. *FEBS Lett.*, - 1996, - v.397, - p.7-10.
113. Sculachev V.P., Bakeeva L.E. et al. Threadgrain transition of mitochondrial reticulum as a atep of mitiptosis and apoptosis. *Mol. Cell Biochem.* 2004. V.256-257. N1-2. P.341-358.
114. Smith J., Ladi E., Mayer-Proschel M., Noble M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, - 2000, - v.97, - p.10032-10037.
115. St.John J.C., Ramalho-Santos J., Gray H.L., Petrosko P., Rawe V.Y., Navara C.S., Simerly C.R., Schatten G.P. *Cloning. Stem. Cells*, -2005, - v.7, - p.141-153.
116. Stoffol W., Schiefer H.G. Biosynthesis and composition of phosphatides in outer and inner mitochondrial membranes // *Happe-Seyler's Zeitschrift jur physiologische chemie*. - 1968. - V. 349. - P. 1017.
117. Stoian J., Oros A., Moldovean E. Apoptosis and free radicals. // *Biochem. and Biol. Med.*, 1996, V. 59, P. 93-98.
118. Sundaresen M., Yu Z.X., Ferrans V.J., Irani K., Finkel T. *Science*, - 1995, - v.5234, - p.296-299.

119. Sun X., Wong J.R., Song K., Hu J., Garlid K.D., Chen L.B. *Cancer Res.*, - 1994, - v.54, - p.1465-1471.
120. Summerhayes I.C., Lampidis T.J., Bernal S.D., Nadakavukaren J.J., Nadakavukaren J.J., K.K., Sherpherd E.L., Chen L.B. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, - 1982, - v.79, - p.5292-5296.
121. Susin S.A., Zamzani V., Kroemer G. Mitochondria as regulator of apoptosis. Doubt no more. *Biophys. Acta*, 1998, V. 1966, P. 151-165.
122. Tallini G. *Virchows Arch.*, - 1998, - v.433, - p.5-12.
123. Thornberry N.A., Molincaux S.M. *Protein*, 1995, V. 4, p. 3-12.
124. Trur R., Shapiro B. Purification of phospholipase D from peanuts // *Biochim. Biophys. Acta.* - 1972. - V. 280. - P. 290-296.
125. Turkki P.R., Glenn J.G. Regulation of lysophosphatidylethanolamine by soluble enzymes released from mitochondria after isolation // *Biochim. Biophys. Acta.* - 1968. - V. 152. - P. 104-113.
126. Ulbrich-Hafmann R. Phospholipases used in lipid transformations // In: *Enzymes in lipid Modification* (Bornscheuer, U.T., ed), Wiley-VCH, Weinheim. - 2000. - P. 219-262.
127. Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, - 2007, - v.39, - p.44-84.
128. Van den Bosch H. Intracellular phospholipase A // *Biochim. Biophys. Acta.* -1980, - V.604, - N 2, - P. 191- 246.
129. Vaskovsky V.E., Kostetsky E.G., Vasendin I.M. An universal reagent for phospholipid analysis. *J. Chromatogr.*, 1975, V. 114, P. 129-141.
130. Vissokikh M.Y., Zorova L., Zorov D., Heimlich G., Jurgensmeier J.J., Brdiczka D. *Mol. Biol. Rep.*, - 2002, - v.29, - p.93-96.
131. Vyssokikh M.Y., Katz A., Rueck A., Wuensch C., Dorner A., Zorov D.B., Brdiczka D. *Biochem. J.*, - 2001, - v.358, - p.349-358.
132. Vyssokikh M.Y., Zorova L., Zorov D.B., Heimlich G., Jurgensmeier J., Schreiner D., Brdiczka D. *Biochem. Biophys. Acta*, - 2004, - v.1644, - p.27-36.

133. Waite M., Sisson P., Blackswell E. Comparison of mitochondrial with microsomal acylation of monoacyl phosphoglycerides // *Biochemistry*. - 1970. - V.9. - № 4. - P. 746-753.
134. Wang F.S., Wang C.J., Sheen-Chen S.M., Kuo V.R., Chen R.F., Yang K.D. *J. Biol. Chem.*, - 2002, - v.277, - p.10931-10937.
135. Wang F.S., Wang C.J., Chen Y.J., Chang P.R., Huang Y.T., Sun Y.C., Huang H.C., Yang Y.J., Yang K.D. *J. Biol. Chem.*, - 2004, - v.279, - p.10331-10337.
136. Warburg O. *Science*, - 1956, - v.3191, - p.309-314.
137. Weiss M.J., Wong J.R., Ha C.S., Bleday R., Salem R.R., Etele G.D., Jr., Chen L.B. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, - 1988, - v.84, - p.5444-5448.
138. Wikstrom M., Krab K. Respiration-Linked H^+ translocation in mitochondria: stoichiometry and mechanism // *Current topics in bioenergetics*. – 1980. – V.10. – P. 52-100.
139. Wilson J.E. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, - 1995, - v. 126, - p.165-198.
140. Wilson J.E. *J. Exp. Biol.*, - 2003, - v.206, - p.2049-2057.
141. Youle Y.T., Russell Smaili S.S., HSU J.H. Mitochondria in Ca^{2+} signaling and apoptosis. *J. Biomembr.*, 2000, V. 32, N, p. 35-46.
142. Zamzani N., Marchetti P., Castedo M., Hirsoh T., Susin S.A., Masse B., Kromer G. *FEBS Lett.*, 1996, V.384, P. 53-57.
143. Zoratti M., Szabo I. *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, V. 1241, P.139-176.
144. Zamzani N., Marchetti P., Castedo M., Hirsoh T., Susin S.A., Masse B., Kromer G. *FEBS Lett.*, 1996, V.384, P. 53-57.
145. Zborowski J., Woitezak L. Phospholipid synthesis in rat liver mitochondria // *Biochim. Biophys. Acta*. 1969. - V.187. N1. - P.73-84.