

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ
ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ**

**МИРЗО УЛУҒБЕК НОМИДАГИ
ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ**

БИОЛОГИЯ-ТУПРОҚШУНОСЛИК ФАКУЛЬТЕТИ

Абдурахманова Наргиза Хикматиллаевна

**ЮРАК МИТОХОНДРИЯСИНИНГ НАФАС ОЛИШИ ВА
ОКСИДЛАНИШЛИ ФОСФОРЛАНИШИНИ ГИПОБАРИК
ГИПОКСИЯДА ЎЗГАРИШЛАРИ**

МАЛАКАВИЙ БИТИРУВ ИШИ

**Илмий раҳбар:
биология фанлари номзоди,
доцент Каримова Г.М.**

ТОШКЕНТ-2012

		МУНДАРИЖА	
		КИРИШ.....	3
БОБ	1	АДАБИЁТЛАР ШАРХИ.....	5
	1.1.	Гипоксияда кислород ташилишини патологик хусусиятлари.....	5
	1.2.	Кислород етишмаслиги натижасида организмдаги физиологик-биокимёвий жараёнларни ўзгариши.....	11
БОБ	2	АШЁЛАР ВА УСЛУБЛАР.....	16
	2.1.	Каламушларни сақлаш шароити, гипобарик гипоксия моделини яратиш.....	16
	2.2.	Каламушнинг юрак тўқималаридан митохондрияларни ажратиб олиш.....	17
	2.3.	Юрак итохондрияларининг нафас олиши ва оксидланишли фосфорланишини аниқлаш.....	18
	2.4.	Митохондриялардаги оксил миқдорини аниқлаш....	19
	2.5.	Олинган натижаларни статистик қайта ишлаш.....	19
БОБ	3	НАТИЖАЛАР ВА УЛАРНИНГ ТАҲЛИЛИ.....	20
	3.1.	Гипоксия шароитида юрак митохондрияларида глутаматни ҳар хил метаболик ҳолатларда оксидланиши ва оксидланишли фосфорланиши.....	20
	3.2.	Гипоксия шароитида юрак митохондрияларида сукцинатни ҳар хил метаболик ҳолатларда оксидланиши ва оксидланишли фосфорланиши.....	22
		ЯКУН.....	24
		ХУЛОСА.....	25
		АДАБИЁТЛАР.....	26

КИРИШ

Мавзунинг долзарблиги. Хужайра органеллалари орасида митохондрия энг сезгири хисобланади ва унинг ҳолати ва реакцияси хужайранинг ҳолатини белгилаб беради [Алматов, 1990; Скулачев, 1996 а,б, 1997а, б, 1998; Бодрова и др., 2003; Дерябина и др., 2004; Белослудцев и др., 2005; Зенков, Меньшикова, Кандалинцева и др., 2007]. Митохондрия супероксиданион, водород пероксиди, азот окиси, пероксинитрит ва шунга ўхшаш редокс-потенциални катта кудратга эга бўлган бошқарувчиларни ишлаб чиқаради, хужайранинг редокс-потенциалини бошқаришда фаол иштрок этади, ва ўз новбатида протолизни, транскрипцияни фаоллашувини, мДНК даги ўзгаришни, хужайрадаги алмашинуви ва хужайра дифференцировкасини назорат қилади [Дерябина и др., 2004; Белослудцев и др., 2005; Зоров Д.Б., Исаев Н.К. и др., 2007]. Шу сабабли гипоксия шароитида ҳар хил аъзо ва тўқималарнинг митохондрияларида энергия ҳосил бўлиши ва уни сарфланишини ҳар томонлама ўрганиш долзарб муаммолардан бири хисобланади.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Мухитда кислород етишмаслиги хужайраларни энергетик апарати ишдан чиқишига олиб келади. 15 дақиқалик гипоксия шаритида (кислороднинг парциал босими 10-15 мм) юрак митохондриялари кўпчиб-шишади ва ички мембраналарида вакуолалар ҳосил бўлади [Nishi K. et al., 1981]. Бу ҳолатда митохондрияларда АТФ ва креатинфосфатларнинг миқдори камаяди [Nishi K. et al., 1981; Matthews R.M. et al., 1981; Vial C. et al., 1987; Рябов Г.А., 1988]. Агар, биз кўп хужайрали эукариотларнинг хужайраларидаги 95% АТФ оксидланиш фосфорланиш тизимида синтезланишини ҳисобга олсак, бу нуклеотид миқдорининг кескин камайиши ёки йўқолиши фақат битта нарсани, оксидланишли фосфорланиш жараёнини ишдан чиқишини, яъни митохондриянинг АТФ синтезлаш фаолиятини йўқолишини билдиради. Шу вақтгача гипоксия шароитида хужайраларнинг структураси ва фаолиятини ўзгаришлари тўғрисида олинган натижаларни таҳлил қиладиган бўлсак энг камида иккита принципиал масала ҳал бўлмаганлигини гувоҳи бўламиз: 1) гипоксияда хужайра функциясидаги специфик бузилишларнинг шаклланишида энергия алмашинуви қадай рол ўйнайди ва 2) гипоксия шаритида энергия алмашинувини лимитлайдиган (чегаралайдиган) соҳа нималардан иборат.

Гипоксия таъсирида бошқа аъзо ва тизимлар каби юрак митохондрияларининг структура ва функцияларида бўладиган ўзгаришларни аниқлаш энг аввало шу аъзо хужайраларда кузатиладиган функционал ўзгаришлар механизмини янада тўлиқроқ тушунишга имконият яратади.

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. Шу сабабли мен ўз олдимга гипоксияни каламушларнинг юраги митохондрияларидаги нафас олиш ва оксидланишли фосфорланиш жараёнларига қандай кўрсатишини аниқлашни мақсад қилиб қўйдим.

Тадқиқот вазифалари: Гипоксияда юрак митохондрияларида сукцинатни ва глутаматни оксидланиши ва оксидланишли фосфорланиши қандай ўзгаришларга учрашини аниқлаш.

Тадқиқот объекти ва предмети. Каламуш, юрак, митохондрия, нафас олиш, оксидланишли фосфорланиш.

Тадқиқот методлари. Дифференциал центрифуга, полярография, спектрофотометрия, фотоэлектрокалориметрия, рН-метрия.

БОБ 1. АДАБИЁТЛАР ШАРҲИ

1.1. Гипоксияда кислород ташилишини патологик хусусиятлари

Барча тирик организмларнинг хужайралари озиқ моддаларнинг оксидланишли парчаланиши оқибатида энергия билан, асосан аденозинтрифосфат (АТФ) билан таъминланади. Ушбу энергия, субстратдан водородни тортиб олиш ва уни атомар кислород билан бирикиши ҳисобига ажаралади (нафас олиш занжири бўйлаб электронлар ва протонлар узатилиши содир бўлади). Бу жараён натижасида субстратдан (асосан углеводдан) карбонат ангидрид ва сув қолади. Хужайраларнинг нормал фаолияти учун метаболизмнинг охирги маҳсулотлари чиқариб ташланиши лозим. Бундай муҳим маҳсулот карбонат ангидрид ҳисобланади. Шундай қилиб, хужайралар ва атроф-муҳит ўртасидаги газлар алмашинуви, яъни кислороднинг ютилиши ва карбонат ангидриднинг чиқарилиши нафас олиш дейилади.

Ҳайвонларда газлар алмашинувининг муҳим механизми - диффузия ҳисобланади. Бунда газнинг молекулалари парциал босими юқори бўлган соҳадан парциал босими паст бўлган соҳага ўтади. Молекулаларнинг ўтиши бўйича бажариладиган ишга уларнинг шахсий кинетик энергияси сарфланади. Газларнинг диффузияли алмашинуви, яъни кислороднинг ташқаридан кириб келиши карбонат ангидриднинг ташқарига диффузия бўлиши - микроскопик организмларда биологик оксидланишни тўла ўтишини таъминлайди. Лекин, диффузия секин ўтадиган жараён, унда моддалар нисбатан кичик масофаларга ташилади (0,5 мм атрофида). Моддаларни узоқ масофаларга ташилиши учун, тез ўтадиган жараён (конвекция), яъни кислород ва карбонат ангидридни газли аралашма ва (ёки) суюқлик оқими билан ташиш фойдаланилади. Йирик организмларнинг нафас олишини фақат респиратор газларни конвектив ташиш таъминлайди [Алматов К.Т., Алламурастов Ш.И., 2004].

Ўпка ташқи муҳит билан қон ўртасида газ алмашинувини амалга ошириб кислород ва карбонат ангидридни ташилиш тизимини муҳим азоси ҳисобланади. Меердаги газ алмашинуви учта муҳим физиологик жараён билан таъминланади: 1) ўпкадаги газ алмашинуви, 2) газларнинг диффузияси ва 3) ўпкадаги қон оқими. Кислородни ўпкага ва ундан аъзо ва тўқималарга ташилишини, ёки карбонат ангидридни чиқариб ташланишини нормадан четга оғиши организмни кислород билан таъминланишини бузилишига олиб келади.

Ўпкага газларни диффузияси таъсир кўрсатадиган кўплаб омиллар бор, уларни икки гуруҳга бўлиш мумкин [Cotes, 1968; Рябов, 1988]: 1) физик омиллар ва 2) физиологик омиллар.

Физик омиллар ўз новбатида 4 та гуруҳга бўлинади: 1) газларнинг диффузияланиш хусусияти, 2) мембранани икки томонидаги газни парциал босимини фарқи: улар қанчалик кўп бўлса, диффузия тезлиги ўшанчалик юқори бўлади, 3) мембранани хусусияти: у қанчалик юпқа бўлса, диффузия тезлиги ўшанчалик тез бўлади, 4) диффузия вақти.

Физиологик омиллар 3 та гуруҳга бўлинади: ўпкада хаво алмашинуви ва алвеолаларда газларнинг аралашшини бир текислиги, 2) ўпка капиллярларидаги фон оқими ва бу газларни ўзига сўриб оладиган эритроцитларнинг умумий хажми, 3) перфузия/хаво алмашинув коэффициенти.

Алвеола-капилляр мембраналаридан газларни ташилишига таъсир қиладиган бошқа омилларнинг таъсири унчалик сезиларли эмас.

Ундан ташқари, газни қонга ўтишига тўсқинлик қилувчи яна битта омил бор, у ҳам бўлса эритроцит гемоглобини билан аниқ O_2 ёки CO ни реакция тезлиги. Бу масалани айтиш ўпка диффузиясини ўрганишда кўриб чиқиш қулай.

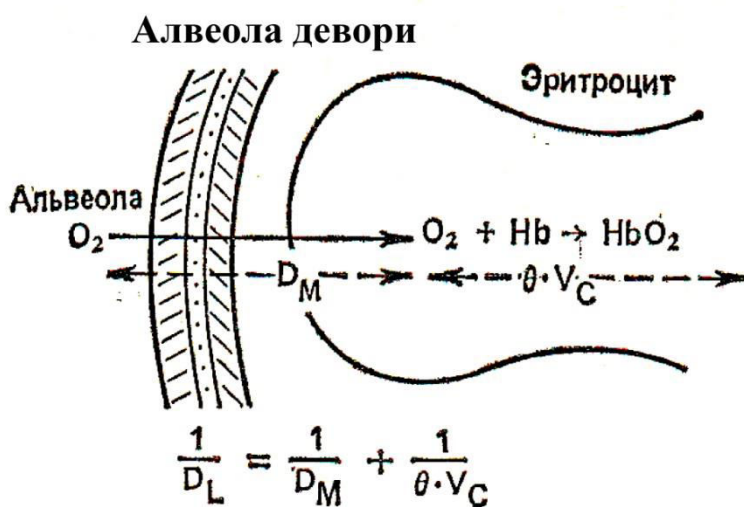
Қонга O_2 ёки CO тушган пайтида, улар жуда тез гемоглобин билан бирикишади (0,2 секунда бу жараён деярли тамом бўлади). Аммо ўпка капиллярларида қон оксигенацияси хаддан ташқари жадал суръатда кечади, ва лекин эритроцитни қонга тушган кислородни тўлиқ боғлаб олишга улгуриши учун бундай реакция тезлиги етарли бўлмайди. Шундай қилиб, қонни O_2 (ёки CO ни) эгаллаб олиши икки босқичда содир бўлади: 1) альвеоляр хаво билан қон ўртасидаги тўсиқдаги диффузияда, шу жумладан плазма ва эритроцит орқали ва 2) гемоглобин билан бўлган реакцияда (1-расм). Бу босқичларнинг ҳар бирида газларнинг ташилиши маълум бир тўсқинлика дуч келади; мос келувчи катталикларни қўшиб, қандайдир умумий “диффузион” қаршилиқни ҳисоблаб топиш мумкин бўлади.

Ўпкани диффузион қобиляти парциал босим бирлигига қарашли газни тўсиқдан ўтиб сарфланишига тенг ($D_L = V_{GAZ}/(P_1 - P_2)$). Тескари D_L катталиги, яъни газ сарфига бўлинган парциал босим фарқи, электр қаршилига ўхшаш бўлади. Расм 1 да альвеоляр хаво ва қон ўртасидаги тўсиқ қаршилиги $1/D_M$ га мос келади (M - “мембрана” ни билдиради). Гемоглобин билан O_2 (ёки CO) реакция тезлиги 1 мл қонни 1 дақиқада боғланишига мос келувчи газларнинг парциал босимига (1 мм с.у.) O_2 ёки CO (мл) хажмга тенг катталиги Θ билан берилиши мумкин.

Бундай кўрсаткич 1 мл қоннинг “диффузион қобилятга” ўхшаш. Агар уни капилляр қонни умумий хажмига (V_C) кўпайтирилса O_2 билан гемоглобинни эффектив “диффузион қобилятини” ҳисоблаб топиш мумкин. Тескари катталик - $1/(\Theta \cdot V_C)$ – ана шу реакция қаршилигига мос келади. Альвеоляр - капилляр мембрана ва қон қаршилигини бир - бирига қўшиб, умумий диффузион қаршилиқни олиш мумкин:

$$\frac{1}{D_L} = \frac{1}{D_M} + \frac{1}{\theta \cdot V_C}$$

Амалий жихатдан мембрана ва қоннинг диффузион қаршилиги тахминан бир хил, шунинг учун ўпка капиллярларида қон хажмининг камайиши (масалан, базибир касалликларда) ўпканинг диффузион қобилиятини пасайтириши мумкин.



Расм 1. Ўпкани диффузион қобилияти (D_L) катталиги икки йўналишда ўзоро боғланган.

Улардан биринчиси диффузия жараёнини акс эттирса, иккинчиси гемоглобинни O_2 (ёки CO билан) реакция вақтини акс эттиради [Дж. Уэст, 1988].

Қонда кислород икки: 1) плазмада эриган ва 2) гемоглобин билан боғланган ҳолатларда бўлади. Кислороднинг плазмада эрувчанлоиги унчалик юқори эмас, стандарт шароитда кислороднинг миқдорини ҳажм бўйича 0,3% нигина таъминлайди. Бу нормал атмосфера босимида плазмани ҳар бир литри 3 мл кислородни сақлашини билдиради. Бу организмни кислородга бўлган талабини қондира олмайди. Шу сабабли бу функцияни тўқималарга кўп миқдорда кислородни етказишни гемоглобин таъминлайди.

Альвеолар ҳавода P_{O_2} нинг пасайишида жуда қизиқ фаол реакция – гипоксик соҳадаги артерия деворларидаги силлиқ мушакларнинг қисқариши кузатилади. Бунинг аниқ механизми ҳозиргача номалум, аммо бу жараён ажратиб олинган ўпкада кечади, шундай экан, марказий асаб тизимига боғлиқ эмас. Ўпка артерияларининг айрим олинган сегментлари уларни ўраб турган муҳитда кислороднинг етишмаслигида қисқариши мумкин. Бундан, маҳаллий кислород етишмаслиги ўша ердаги артерияларга таъсир кўрсатади деган хулосага келиш мумкин. Тўқимани ён томирларидаги ҳужайраларда кислород етишмаслигига жавобан айрим олимлар томонидан қандайдир томирларни торайтирувчи моддалар ажралиб чиқади деган гипотеза ўртага ташланган эди, аммо бундай моддаларни топиш учун ўтказилган жуда

кўплаб илмий тадқиқотлар ҳеч қандай натижа бермади. Гипоксик вазоконструкция ўпка артериясидаги қонга эмас, кўпинча альвеоляр хаводаги P_{O_2} га боғлиқ. Ўпкадаги қонни юқори P_{O_2} билан перфузия қилинганида ва альвеоляр хавода P_{O_2} пасайганида реакция сақланади.

Эхтимол, томир деворларида гипоксия ундан альвеолаларга кислород диффузия бўлиши натижасида пайдо бўлар, юқорида айтлганидек, ўпканинг майда артериялари билан жуда яқиндан алоқада бўлади, яъни диффузион масофа бунда жуда ҳам кам. Гипоксик вазоконструкция учун рағбат – реакциянинг боғлиқлиги бир текисда бўлмайди. P_{O_2} нинг ўзгаришини 100мм с.у. соҳасидан ошиб кетишида томирларнинг қаршилиги жуда кам ўзгаради. Агар альвеолаларда P_{O_2} тахминан 70мм с.у.дан пастга тушиб кетса, томирларнинг тешигини торайиши жуда сезиларли бўлади, P_{O_2} хаддан ташқари пасайиб кетганида маҳаллий қон оқими деярли тўхтайд.

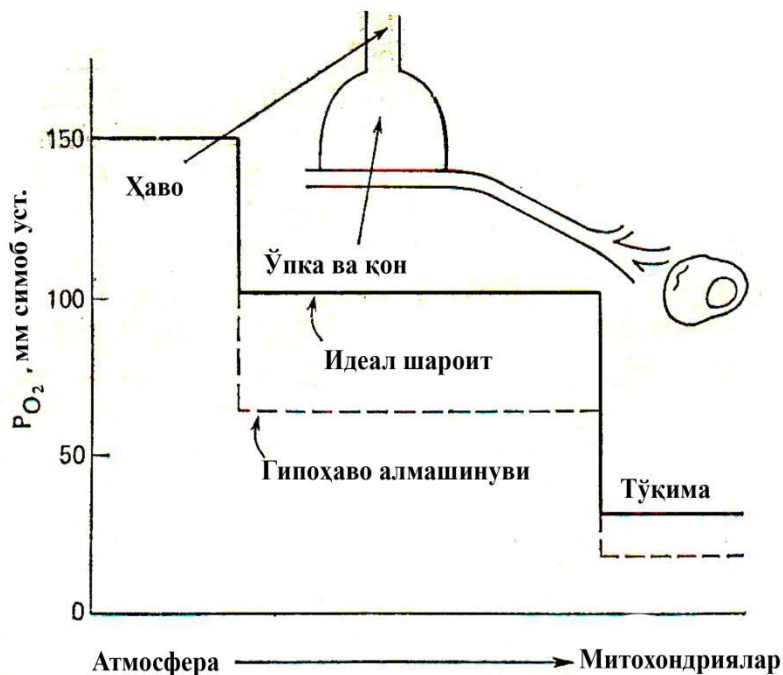
Гипоксик вазоконструкция сабабли ўпкани ёмон хаво алмашинадиган соҳасида қон билан таъминланиши камайд, масалан бронхиал обструкция (бузилиш) натижасида. Бунақанги камайиш умумий газ алмашинувини яхшилайд. Юқори баландликда ўпка артерияси босимини сезилари даражада ошишига олиб келадиган ва юракнинг ўнг томонини ишини кучайтирадиган ўпка томирларида торайиш кузатилади. Аммо айниқса, туғилишда гипоксик вазокон-струкция энг муҳим ҳисобланади. Хомиланинг она қорнида ривож-ланиши даврида ўпка томирларининг қаршилиги жуда юқори бўлади ва ўпка орқали юрак хайдаган қонни атиги 15%гина ўтади. Бу қисман айнан гипоксик вазоконструкция билан боғлиқ. Биринчи нафас олингандан кейин альвеолаларга кислород тушганида, ўпка томирларининг қаршилиги силлиқ мушакларнинг бўшашиши натижасида тез тушиб катади ва ўпкадаги қон оқими ўша лаҳзада ошиб кетади.

Ўпка томирларидаги бошқа фаол реакциялар ҳам аниқланган. қоннинг рН пасайганда улар тораяди, айниқса альвеоляр гипоксия шароитида бу ўзгариш сезиларли даражада бўлади. Вегетатив асаб тизимининг ҳам бу томирларга бирозгина таъсир кўрсатиши тўғрисида маълумотлар олинган. Симпатик асабни кўзғалиши ўпка девори артерияси тонусини ва вазоконструкцияни ошишига олиб келади.

Бизни ўраб турган атмосферадан митохондрияларга кислородни ташилишига ва у ерда фойдаланишига қараб P_{O_2} миқдори камайд. Атмосфера хавосидаги умумий босимнинг 20,93 % (сув парларини босимидан ташқари) P_{O_2} га тўғри келади. Денгиз сатҳига нисбатан олганда атмосфера босими 760 мм смоб устунини ташкил қилади, сув парини босими нафасга олинган нам хавода, 37С тана ҳароратида 47 мм смоб устунини ташкил қилади. Демак, P_{O_2} нафасга олинган хавода $(20,93/100 \times (760-47)) = 149$ мм смоб (тахминан 150 мм) устунига тенг бўлади.

2 расмдаги схема “идеаль” ўпкага мос келади. Ўпкага олинган хаво альвеолаларга етиб борганда, P_{O_2} тахминан 100 мм смоб устунигача, яъни учдан бирга пасаяди. Бу альвеоляр хаводаги P_{O_2} икки жараён орасидаги нисбатга: ўпка капиллярларидаги қонга кислородни тушишига ва уни доимий равишда альвеола вентилияцияси натижасида тўлдирилиб турилишига

(аслида, альвеолада доимий равишда вентилляция бўлмайди, даврий равишда бўлади, яъни нафас олишдан нафас олиш орасида бўлади; аммо P_{O_2} ни бундаги тебраниши альвеоляр газда 3 мм смоб устуни орасида бўлади, шу сабабли вентилляцияни доимий деб ҳисобласа бўлади) боғлиқ. Ўпкадан кислородни чиқиш тезлиги тўқималарни кислород истъмолига боғлиқ ва тинчлик шароитида вентилляция доимий деб ҳисоблаш керак. Шундай қилиб, альвеоладаги P_{O_2} асосан альвеола вентилляцияси билан



Расм 2. Атмосфера хавосидан тўқималарга кислород ташилиши жараёнида P_{O_2} ни ўзгариши.

Узлуксиз линия “идеаль”, пунктирлиси эса - гиповентилляция шароитга мос келади. Гиповентилляцияда альвеоляр хавода, демак, тўқималарда ҳам P_{O_2} ни камайиши кўриниб турипти [Дж. Уэст, 1988].

аниқланади. Бу, нормада тахминан 40 мм смоб устунига тенг бўлган альвеоладаги P_{CO_2} ни миқдorigа ҳам тегишли.

Тизим артерияси бўйлаб қон тўқима капиллярларига етиб бориши билан, P_{O_2} нинг миқдори кам бўлган митохондрияларга кислород диффузияланади. P_{O_2} нинг миқдори ҳар хил аъзоларда ҳар хил. Айрим хужайраларда унинг миқдори 1 мм смоб устунига тенг деб ҳисобланади. Аммо нима бўлганда ҳам кислород ташиш занжирини асосий соҳаси ўпка ҳисобланади. Шу сабабдан ҳар хил шароитларда артериал қонда P_{O_2} нинг миқдорини камайиши тўқималарда бу кўрсаткични камайишига олиб келади. Ана шу сабабга кўра газ алмашинувини бузилиши тўқималарда P_{CO_2} ни миқдорини ортишига олиб келади.

Альвеоладаги P_{O_2} қондаги кислородни ажратилиш тезлиги билан (ўз новабатида тўқималарни метаболик истемоли билан аниқланадиган) ва вентилляция йўли билан тўлдириладиган тезлиги нисбатига боғлиқ бўлади. Демак, альвеоляр вентилляция норма даражасидан паст бўлса альвеолаларда P_{O_2} камаяди, P_{CO_2} эса аксинча, кўпаяди. Бундай ҳолатни гиповентилляция деб аталади.

Нафас марказини фаолиятини пасайтирувчи морфий ёки барбитуратлар, кўкрак хужайрасини жарохатланиши, нафас мушакларининг

параличи ёки нафас олишга юқори қаршилиқ (масалан, ўта чуқурликда зич газ аралашмасидан фойдаланиш) гиповентиляцияга олиб келади. Гиповентиляция ҳар доим альвеоляр ҳавода P_{CO_2} ни миқдорини ошиши билан (демак артериал қонда ҳам) билан кузатилади. Альвеоляр вентиляция ва P_{CO_2} ни бир-бирига боғловчи тенгламада:

$$P_{CO_2} = \frac{V_{CO_2}}{V_A} \times K$$

Бу ерда, V_{CO_2} – CO_2 ни ҳосил бўлиш тезлиги, V_A – альвеоладаги вентиляция, K – константа. Шундай қилиб, агар альвеоладаги вентиляция икки мартага пасайса, P_{CO_2} стационар ҳолатига етгандан кейин икки мартага кўпаяди.

Альвеоляр газ тенгламасига асосланиб гиповентиляцияда P_{O_2} нинг пасайиши ва P_{CO_2} нинг ошиши ўртасидаги миқдорий боғлиқликни айтиб бериш мумкин. Бунинг учун нафасга олинган ҳаво таркибини ва ҳосил бўлган CO_2 ва ютилган O_2 ҳажм нисбатини, яъни нафас алмашинуви нисбатини – R (нафас коэффициентини) билиш керак. Коэффициент R стационар шароитда тўқималарда алмашинув жараёнларига боғлиқ бўлади. Альвеоляр газ тенгламаси оддийлаштирилган ҳолатда қуйидагича кўринишда бўлади:

$$P_{AO_2} = P_{IO_2} - \frac{P_{ACO_2}}{R} + F,$$

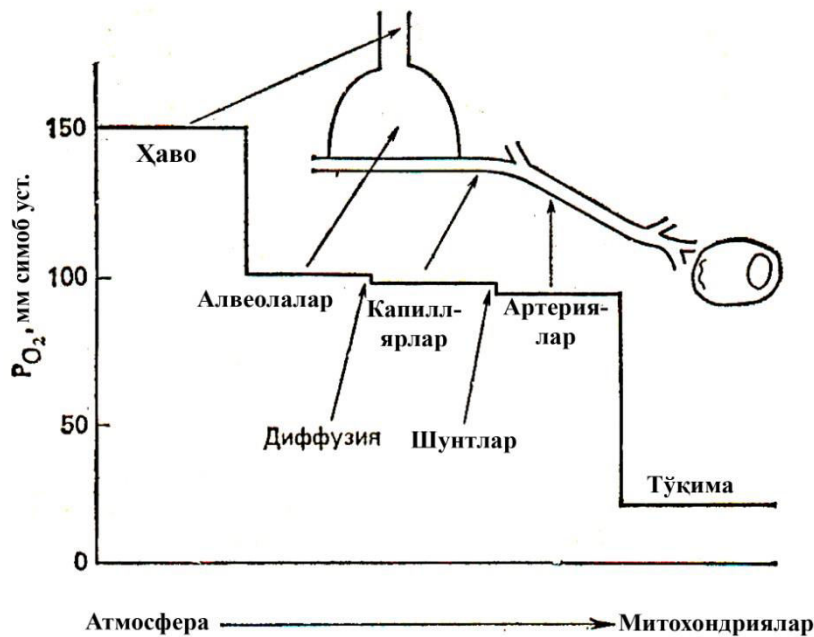
Бу ерда F – унча катта бўлмаган тузатиладиган математик пропорция ҳадлари. Бу тенгламадан, агар R 0,8 ни ташкил қилса (нормал шароитда), унда гиповентиляцияда P_{CO_2} ни кўпайишидан P_{O_2} ни камайиши кўпроқ бўлиши кераклиги кўриниб турипти. Бу тенламани тўлиғича иловада келтирилган.

Гиповентиляцияда альвеоляр ҳавода ва артериал қонда P_{O_2} доимо паст бўлади. Баъзибир ҳолатларда, масалан агар одам кислород билан тўйинган газ аралашмаси билан нафас олганда бундай ҳолат кузатилмаслиги мумкин. Бунда нафасга олиган ҳавода O_2 нинг миқдорини ошишини умумий вентиляция ҳажмини пасайиши билан осонгина компенсация қилиш мумкин.

Стационар ҳолатда альвеоляр вентиляцияни бирданига ошиши (масалан, ихтиёрий гипервентиляцияда), орадан бир неча дақиқа ўтгач альвеолаларда P_{O_2} ва P_{CO_2} ларда миқдорий ўзгаришлар кузатилади. Бу организмда нафас газларининг йиғилиши билан боғлиқ бўлади. Тўпланган CO_2 , кислородга нисбатан анчагина кўп, чунки карбонат ангидриднинг кўпчилиқ қисми қонда ва интерстициал суюқликда бикарбонатлар кўринишида захира ҳолатига ўтади (6 бобга қаранг). Натижада альвеоляр ҳавода P_{CO_2} стационар ҳолатига кейинчароқ етади, ва гипервентиляцияда ўтиш даври режимида нафас коэффициенти нафасдан чиқарилган ҳавода

етарли даражада юқори бўлиши мумкин (CO_2 захирадан “ювилади”). Гиповентиляцияда эса аксинча ҳолат кузатилади.

“Идеал” ўпканинг артериал қонида PO_2 нинг миқдори ҳудди альвеоляр ҳаводаги каби бўлади. Аммо, амалий жихатдан ундай бўлмайди. Бунинг сабабларидан бири шундан иборатки, у ҳам бўлса капиллярлардан қон ўтиши давомида PO_2 альвеоладаги PO_2 яқинлашиб қолади, бу катталиклар ҳеч қачон бир-бирига тенглашмайди. Нормал шароитда альвеоляр ҳаво билан кислородни тўлиқ диффузия бўлмаслиги билан боғлиқ бўлган ўпка капиллярларининг дистал охиридаги қон орасида фарқ жуда кам,



Расм 3. Атмосфера ҳавосидан тўқималарга кислородни ташилиш чизмаси. Диффузияни тўлиқ бўлмаслиги ва шунтни борлиги артериал қонда PO_2 ни камайишига олиб келиши кўриниб турипти [J.B.West, 1977].

аммо расм 3 да кўрсатилганидек. Паст миқдордаги кислородли газ аралашмасидан нафас олганда у кўпайиши мумкин.

1.2. Кислород етишмаслиги натижасида организмдаги физиологик-биокимёвий жараёнларни ўзгариши

Хар хил сабаблар билан кислородни ҳужайраларда етишмаслиги одам ва ҳайвонларнинг организмда кўплаб патологик жараёнларни келтириб чиқаради. Кислород етишмаслиги организмда хар хил негатив жараёнлар: касалликлар, жароҳат олиш, туғма касалликлар натижасида пайдо бўлади. Бир неча турдаги гипоксиялар бўлади [Лукьянова Л.Д., 1991]:

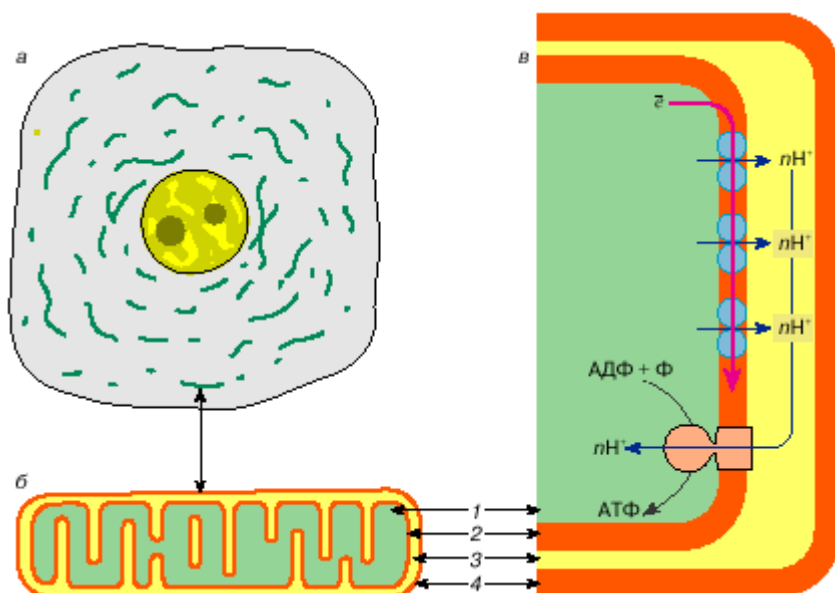
1. Экзоген (ташқи) гипоксия – нафасга олинган ҳавода кислороднинг парциал босими пасайиши натижасида ривожланади. Бундай турдаги гипоксия: денгиз сатҳидан юқорига кўтарилганда кислород етишмаслиги; ҳаво кирмайдиган бўшлиқда кислороднинг етишмаслиги ва шу каби ҳолатларда.

2. Респиратор (нафас) гипоксия – одам ва ҳайвонларнинг ўпкасига хавони киришига тўсиқ пайдо бўлишида кузатилади. Бундай турдаги гипоксия қуйидаги ҳолатларда: бегона моддалар ёки суюқликларни нафас йўлини у ёки бу жойларида тўпланиб бекитиб қўйиши, масалан сувга чўкиб кетганда, қайт қилингандаги массаларни тикилиб қолишида, оғиз ёки бурун тешиклари бекилиб қолганида, масалан дифтерияга ўхшаш касалликларда нафас йўлини қисилиши ёки бекилиб қолганда кузатилади.
3. Циркулятор гипоксия – қон томирларида қон ҳаракатининг бузилиши сабабли пайдо бўлади. Бундай турдаги гипоксиялар айниқса тананинг айрим қисмларида ёки аъзоларнинг турли соҳаларида кўпроқ кузатилади. Масалан, бўйин томирларини қисилиб қолиши натижасида бош миёда кузатиладиган гипоксияда, ички аъзоларнинг турли қисмларидаги (масалан: инфаркт, инсулт ва бошқалар) гипоксия, Буларнинг орасида энг хавфлиси ўлимга сабаб бўладиган юрак инфаркти.
4. Гемик (қондаги) гипоксия – қонда кислород сифимини камайиши оқибатида кузатилади. Қонни кислород ташиш қобилияти бир неча сабабларга кўра пасаяди. Энг кўп учрайдигани одамнинг аъзо ва тўқималарини механик жароҳатланиши сабабли кўплаб қон йўқотилишида; организмга кўплаб ис газини тушиши сабабли карбоксигемоглобинни ҳосил бўлишида; баъзибир кимёвий моддаларни (масалан нитробирикмалар) гемоглобинни метгемоглобинга айлантириб қондаги гемоглобинни блокада қилинишида кузатилади.
5. Тўқима гипоксияси – одам ва ҳайвонлар организми тўқима ва ҳужайраларини кислороддан фойдаланиш жараёнини бузилиши оқибатида кузатилади. Ҳужайраларда кислородни етишмаслиги кўпинча цианид каби захарларни таъсирида пайдо бўлади.
6. Аралаш гипоксия – бир вақтнинг ўзида бир неча турдаги гипоксияни ривожланишида кузатиладиган кислород етишмаслиги. Масалан, ўт кетганда хонада хавода кислород етишмаслиги (экзоген) сабабли тутунда димиқиб қолиши ва қонда карбоксигемоглобинни ҳосил бўлиши (гемик) оқибатида кузатилади.

Агар гипоксия тез, яъни бир неча дақиқада пайдо бўлса (масалан бегона таначаларни аспирациясида), бундай гипоксияни ўткир (острый), яъни тез ривожланадиган гипоксия деб аталади.

Агар гипоксияни ривожланиши бир неча соатга чўзилса (масалан, атроф-муҳити берк бўлган бўшлиқда одам ва ҳайвонларнинг туриб қолишида), бундай гипоксияни (подострый) кечиши секинроқ ривожланадиган гипоксия деб аталади.

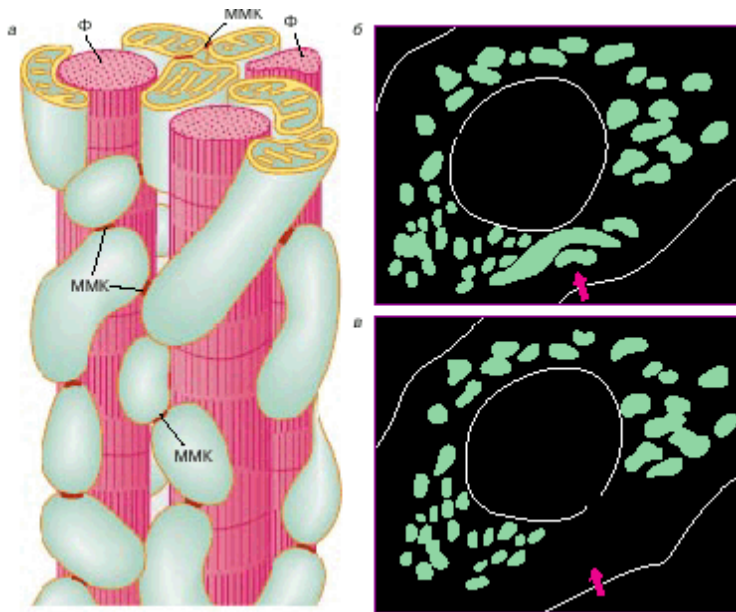
Ойлаб ва йиллаб узоқ вақт ривожланадиган (масалан, сурункали анемия) гипоксияни сурункали гипоксия деб аталади.



4-расм. Митохондриянинг тузилиши ва бажарадиган вазифаси [Ченцов Ю.С., 1997]: а - митохондрияларни (стрелка билан кўрсатилган) ёруғлик микроскопда кўриниши; б - митохондрияни ультраструктураси: 1 - митохондрия матрикси, 2 - митохондрияни ички мембранаси, 3 – мембраналар орасидаги бўшлиқ, 4 – митохондриянинг таўқи мембранаси; в – митохондрия фаолиятининг умумий схемаси: оксидланиш занжирида электронларни мембраналар оралиғига ташилишида протонлар тўпланади ва маълум потенциалга етгандан кейин матрикса қайтади; бу потенциалнинг энергияси АТФ синтезига сарфланади.

Гипоксияни хужайрадаги модда ва энергия алмашинувига таъсирини ўрганишда услубий томондан жиддий қийинчиликларга дуч келинади.

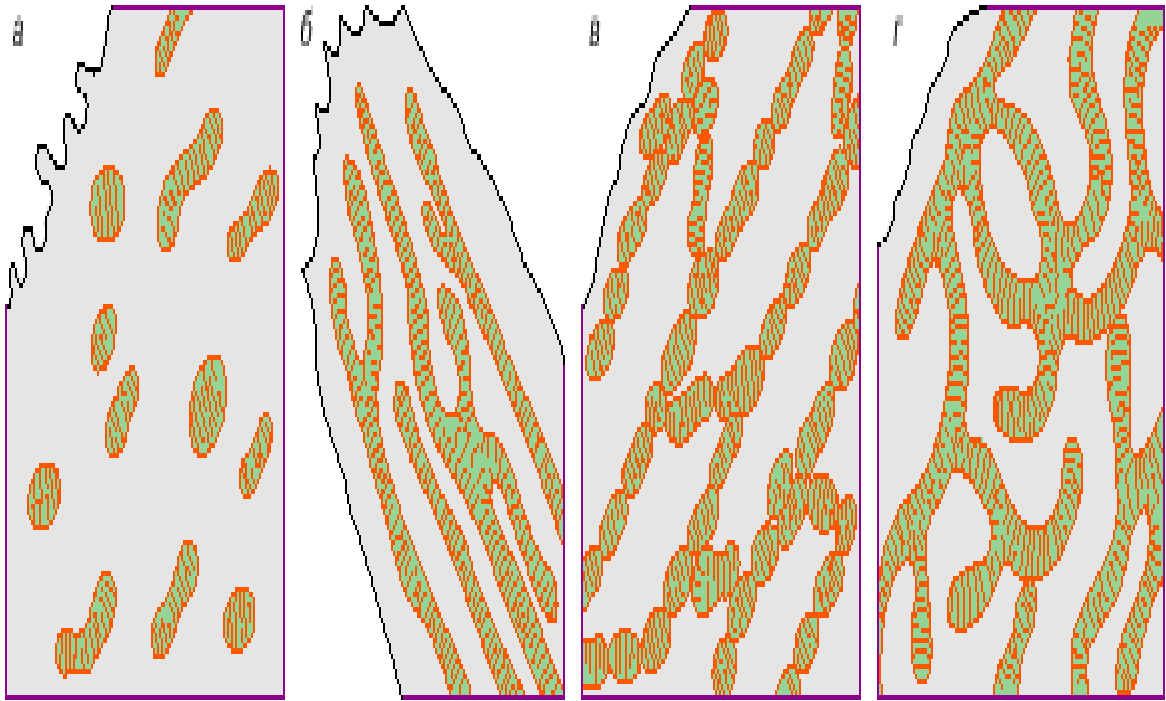
Биринчидан, мия, юрак, жигар, буйраклар ва бошқа аъзолар бир хил клиник ҳолатларда ҳар хил аъзо ва тўқималар кислород билан бир текисда таъминланмайди ва кислород етишмаслиги ҳар хил оғирликда бўлади, шу сабабли организмни ўртача гипоксияси тўғрисида тушунилади. Маълум бир аъзо ва тўқимадаги метаболик ҳолатга баҳо бериш учун олинган биологик материал: тўқимани оптимал соҳаси, ҳеч бўлмаса шу аъзога кириб келаётган ва чиқиб кетаётган қонли жойларини, яъни оптимал соҳаларини олиш керак бўлади. Мана шу шароитлар кўпинча клиникада касалликни аниқ белгилайдиган объектив маълумотни олиш кўпинча асосий тўсиқ бўлади.



5-расм. Кардиомиоцитларнинг митохондриал тизими [Ченцов Ю.С., 1997]: а - митохондрия ва миофибрилларнинг (Ф) жойлашиш схемаси; ММК – (межмитохондриальные контакты – митохондриялар орасидаги контактлар); б – Ажратиб олинган кардиомиоцитларда флуоресцирлан митохондриялар, нурланишдан олдин митохондрияларни биттаси стрелка билан кўрсатилган, в – ўша хужайра нурлангандан кейин: митохондриялар орасидаги контактлар ёрдамида бир бири боғланган митохондриялар курухи кўринмай қолган.

АТФни синтези ва ресинтези учун оксил (аминокислота), фосфор ва сут кислотасигача парчаланадиган ёки кислород билан бирикиб сув ва углекислота ҳосил қиладиган глюкоза энергияси керак бўлади. Узоқ вақт ва оғир ишларни бажарганда (узоқ масофага югурганда, баланд тоққа кўтарилганда ва шу каби жараёнларда) энг биринчи кислород етишмаслиги кузатилади. Гипоксия нафаснинг тезлашиши билан компенсацияланади. Кейинчалик бу ҳам етарли бўлмай қолади ва анаэроб нафас бошланади. Глюкоза сут кислотагача парчаланади ва энергия ажралиб чиқади, лекин кислородда ёнганига нисбатан 18 марта кам энергия ажралади. Орадан кўп ўтмай гипоксияга, гликогенни захираси чегараланганлиги сабабли (400 грамм атрофида) глюкоза етишмаслиги – гипогликемия кўшилади. Ўлимга олиб келадиган гипогликемияни компенсациялаш учун ёғ захирасидан кислород ёрдамга келади. Кислород сарфи икки мартага ошади, лекин шу пайтда гипоксия анаэроб нафас билан (энергияни анаэроб реакция орқали ишлаб топилиши) компенсацияланган бўлади.

Бутун организмда метаболик жараёнларга гипоксияни таъсири тўғрисида бағишланган ишлар жуда кўп ва лекин, улар бир-бирига қарама-қарши [Лукьянова Л.Д., 1991].



6-расм. Хондриомлар шакилланишини хар хил турлари [Ченцов Ю.С., 1997]:
 а – тарқоқ митохондриялар, б - ипсимон митохондриялар, в - кардиомиоцит митохондрияларини занжирсимон боғланишлари, г – скелет мушагининг митохондриял ретикулумлари.

Гипоксияда миокард хужайраларида глюкоза ва пируват алмашинуви секинлашди, лактат вена қонига ажралиб чиқди, юракда эркин ёғ кислоталарини сўрилиши унчалик ўзгармаган [Kedem J.et al., 1975]. Гипоксик гипоксияда юрак мушаги капиллярларида сукцинат, лактат ва аланиннимикдорлари кўпайган [Taegtmeyer H., 1978]. Гемик гипоксияда юрак митохондрияларида лактат ва пируватлар кўпайган [Глотов Н.А., Шмелова Л.Т., 1976]. Гипоксияда юрак митохондрияларида АТФ ишлаб чиқарилиши секинлашган, бунинг натижасида гликолиз кучаяди ва хужайрадан ташқаридаги бўшлиққа лактатни чиқариб ташлайди. Лактат АТФ ни хужайрадан чиқишини кучайтиради, хужайра пўстлоғи энзимлари ёрдамида томирларни кенгайтириш хусусиятига эга бўлган аденозингача парчалайди. Аъзодаги қон оқими тезлашади, кислородни етказилиши яхшиланади, лактат ювилади, натижада хужайранинг энергетик ҳолати нормаллашади.

Аденозин ўз вазифасини бажариб бўлгач, хужайра томонидан эгаллаб олинади ва у ерда пиридин нуклеотидларга қўшилади. Айрим муаллифларнинг [Kedem J.et al., 1975] олган натижаларига биноан гипоксия шароитида миокарда 90% АТФ ёғ кислоталар алмашинуви натижасида ҳосил бўлади.

Лукьянова Л.Д. ва бошқалар [1991] нормал шароитда оксидланишли фосфорланиш ҳам, гликолиз ҳам хужайра ва митохондрия мембраналарида

потенциалларни сақлашда иштрок қилади, аммо бу икки жараёни хамкорлигида оксидланишли фосфорланиш жараёни етакчи ролни ўйнайди ва маълум бир шароитларда бу фаоллик гликолизни пасайишини компенсация қилади. Гипоксияда оксидланишли фосфорланишни қисман пасайиши гликолиздан трансмембрана потенциалини боғлиқлиги кўпаяди.

Ўткир гипоксияда каламуш юраги митохондрияларида глутаматдегидрогеназа, малатдегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа, НАДН-дегидрогеназа ва цитохромоксидазаларнинг фаолликларида ўзгариш кузатилмади [Глотов, 1971]. Бошқа муаллифларнинг [Шмелев, 1978] аниқлашича гипоксик гипоксияда юрак миокардида лактатдегидрогеназа, малатдегидрогеназа, сукцинат-цитохром с- оксидоредуктаза, НАДН-цитохром с- оксидоредуктаза ва цитохром с-оксидазаларнинг ошади. Ўткир гемик гипоксияда бу санаб ўтилган энзимларнинг фаолликларини ошиши гипоксик гипоксиядагига қараганда анча сезиларли бўлди [Глотов, Шмелева, 1976; Шмелева, 1978].

Гипоксияда каламушларнинг юраги АТФ аза ва натрий-калий рағбатлатирган АТФ азаларнинг фаолликлари пасаяди [Balasubramanian et al., 1973; Говорова, 1977].

15 дақиқалик гипоксияда (кислороднинг парциал босими 10-15 мм) юрак хужайраларида митохондрияларнинг шишиб-кўпчиши кузатилади [Nishi et al., 1981]. 20 дақиқалик гипоксияда юрак миокардида АТФ ва краетинфосфатнинг миқдорлари камаяди, АДФ, АМФ ва фосфорларнинг миқдорлари ошади, хужайра ичидаги рН 6,25 гача пасаяди [Matthews et al., 1981]. Аноксияда юрак миокардида АТФ, кратинфосфат ва гликогенни миқдорлари камаяди [Schreiber et al., 1980].

Шу вақтгача олинган маълумотларни таҳлил қилиб бутун организм юрак тўқималари ва хужайраларида кечаётган энергия алмашинуви гипоксия натижасида ўзгаришлар бир-бирига қарама қарши. Шунинг учун биз ўз олдимизга ҳар хил оғирликдаги гипоксияда юрак митохондрияларининг нафас олиши ва оксидланишли фосфорланишини аниқлашни мақсад қилиб қўйдик.

2 - БОБ. АШЁЛАР ВА УСЛУБЛАР

2.1. Каламушларни сақлаш шароитли ва гипоксия моделини яратиш

Тадқиқот ўтказиш учун оғирлиги 180-200 г.ли оқ лаборатория каламушлари олинди ва виварий шароитида 20-25⁰С ҳароратда стандарт қафасларда сақланди. Озиқ-овқат ва сув керагича берилди.

Гипоксия хажми 1000 мл³ли гермокамере шароитида ҳосил қилинди, гермокамерага 1 та каламуш солинди [Алматов К.Т. и др., 1993 а]. Бундай каерада 10 дақиқа давомида, яъни ҳар хил оғирликдаги гипоксия шароитида ҳайвонларнинг кислород истеъмоли аниқланди. Агар гермокамерада тадқиқотнинг бошланишида кислороднинг миқдори 18-20 % ни ташкил қилган бўлса, тажирабанинг ўрталарида 8-10 % ни ташкил қилди.

Тадқиқотни гипоксияни икки хил шароитда: компенсирланадиган (хайвонни камерадан олиб нормал шароитда сақланса яшаб кетадиган) ва компенсирланмайдиган (хайвонни камерадан олиб нормал шароитда сақланса ҳалок бўладиган) босқичларида хайвонларнинг юрагидан митохондриялар ажратиб олинди.

2.2. Каламушларнинг юрак тўқималаридан митохондрия ажратиб олиш

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

Декапитация қилинган каламушларнинг юраги совутилган ажратиш муҳитига – сахароза 0,25 М; трис-Нсl – буфер 10 мМ (рН 7,4) ва 2мМ этилендиаминтетраацетатга (ЭДТА) солинди. Ажратиш муҳити ҳарорати 1-2⁰С атрофида бўлиши керак. Юрак ўткир қайчи билан бир неча бўлақларга 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 хил оғирликка келтирилиши шарт) центрифуга роторига солинди ва 10 дақиқа давомида (1900-2000 айланиш дақиқада 600g тезликда) центрифуга қилинди. Гомогенизация жараёнида парчаланишга улгурмаган хужайралар ва ядролар чўкмага тушди. Устидаги суюқлиги (супернатант) бошқа тоза пробиркага қуйилади ва яна тарозида тортилиб бир хил оғирликка келтирилгандан кейин центрифуга роторига солинади. 15-20 дақиқа (8000 – 9000 дақиқа айланиши) давомида 8000g 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, совитилган шиша таёкча 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. Буни 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 (фосфолипазларнинг 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 таёқча билан яхшилаб аралаштирилади. Митохондрия токи тугагунча 1-2°C ҳароратдан ошмаслиги керак. Ҳароратнинг ошиши эндоген фосфолипаза ва протеазаларни фаоллигини тезлашишига олиб келади. Митохондрия оксилининг миқдори Лоури ва бошқ. [Lowry O.H. et al., 1951] усули билан аниқланди.

2.3. Юрак митохондрияларнинг 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, КСІ 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 қилабашлайди, 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 F_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 ($\text{НОК}_ч$) аниқланди. (V_3/V_4) [Chance B, Williams G.R., 1956]. Ундан ташқари, митохондриянинг АТФни синтезлаш фаолиятини баҳолашда АДФ/О (Р/О) коэффиценти билан 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 оксилда ифодаланади.

2.4. Митохондрияларда оксил миқдорини аниқлаш

Митохондриялардаги оксил миқдорини аниқлаш учун қуйидаги эритмалар тайёрланди [Lowry et al., 1951].

1) Фолин реактивини тайёрлаш учун қайта музлатгичи бўлган мослама тайёрланди. Колбача 1л реакция ўтказиш учун вольфрамат натрий (100г), фосформолибден кислота (20г), 50мл 85% ли фосфор кислота ва 750мл дистилланган сув солинади. Колба қайта музлагичли мосламага ўрнатилди. Мослама сувга уланган бўлади. Колба ичидаги суюқлик 10 соат давомида совутилди. Ундан кейин колбадаги эритма устига дистилланган сув қуйиб 1л га етказилади ва холодиникда сақланди. Бу реактивдан узоқ вақт давомида фойдаланиш мумкин.

2) А реактивни тайёрлаш учун 2% ли Na_2CO_3 ни $0,1\text{Н}$ NaOH га қўшилади. Бу реактивни 25 кун давомида ишлатиш мумкин.

3) Б реактив, мис купоросининг ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) вино кислотали натрий ($\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$) билан биргаликдаги сувли эритмасидан ташкил топган. Бу реактивни 3 ой давомида ишлатиш мумкин.

Юрак митохондриялардаги оксил миқдори фотоэлектрокалориметрни қизил ёруғлик фильтрида таркибида митохондриялардан ташқари барча қўшимчалар бўлган эритмага нисбатан аниқланди.

Митохондриялардаги оксил миқдорини аниқлаш учун, энг аввал албуминли намуна билан колибирли эгри чизик тузиб олиш керак. Бунинг учун 1 мл $0,1\text{ Н}$ NaOH эритмасида 10 мг албумин солиб яхшилаб аралаштирилади.

Хар бир гуруҳда 3 тадан 5 та гуруҳдан иборат пробиркалар тайёрланади: 1 чи гуруҳдагиларга $0,4\text{мл}$ сув; 2 чи гуруҳдагиларга $0,02\text{мл}$ альбумин эритмаси ($0,2\text{мг}$) ва $0,38\text{мл}$ сув; 3 чи гуруҳдагиларга $0,05\text{мл}$ альбумин ($0,5\text{мг}$) ва $0,35\text{ мл}$ сув; 4 чи гуруҳдагиларга $0,1\text{мл}$ альбумин (1мг) ва $0,3\text{мл}$ сув; 5 чи гуруҳдагиларга $0,2\text{мл}$ альбумин (2мг) ва $0,2\text{мл}$ сув қўйилади. Хамма пробиркалардаги эритманинг хажми $0,4\text{мл}$ бўлиши керак.

Сўнгра пробиркаларга $2,5\text{мл}$ С реактиви қўшилди, орадан 10 дақиқа ўтгач $0,25\text{мл}$ Е реактиви қўшилди ва яхшилаб аралаштирилди. Пробиркалар қоронғи жойда 30 дақиқа сақлангандан кейин фотоэлектрокалориметрда (қизил ёруғлик филтрда) оксил миқдори ўлчанди. Хар бир пробиркалардан (3 та пробиркадаги) оксил миқдорлари сони умумлаштирилиб, ўртача миқдори топилди.

Экстинкцияси ва уларга мос келадиган оксил миқдорларини билган холда экстрополяция йўли билан, яъни абцисса ва ордината ўқларидаги кесишган нуқтани топиб, ушбу намунадаги оксил миқдори топилди.

2.5. Олинган натижаларни статистик қайта ишлаш

Олинган натижаларни Стъюдент-Фишер усули билан статистик қайта ишланди. Ўртача арифметик катталикини (M), ўртача хатоликини (m),

ишончлилиқ кўрсаткичли (t ва p) лар аниқланди. P катталиқ 0,05 дан кичик бўлганини ишончлилиқ кўрсаткич деб олинди [Алматов К.Т. ва бошқалар, 1993 б].

3 - БОБ. НАТИЖАЛАР ВА УЛАРНИНГ МУХОКАМАСИ

3.1. Гипоксия шароитида юрак митохондрияларида глутаматни хар хил метаболик ҳолатларда оксидланиши ва оксидланишли фосфорланиши

Коменсирланадиган ва коменсирланмайдиган гипоксияда юрак митохондрияларинида глутаматни турли метаболик ҳолатларда (V_2 , V_3 , V_4 ва $V_{\text{днф}}$) оксидланиши ва оксидланишли фосфорланиш самарадорлигини билдирувчи Чанс бўйича нафас кўрсаткичи ва АДФ/О коэффиценти тўғрисида олинган натижалар 1-жадвалда берилган.

1-жадвал

Гипоксияни каламуш юраги митохондрияларида глутаматни хар хил метаболик ҳолатларда оксидланишига ва оксидланишли фосфорланишига таъсири ($M \pm m$; $n=8-10$).

Кўрсаткичлар	Нафас тезлиги, нанограмм атом кислород/дақиқа мг оксил				
	Норма	Коменсирланадиган гипоксия	%	Коменсирланмайдиган гипоксия	%
V_2	$86,3 \pm 4,4$	$64,2 \pm 3,5^{***}$	74,4	$65,2 \pm 3,2^{***}$	75,6
V_3	$189,2 \pm 6,7$	$124,2 \pm 5,6^{****}$	65,6	$133,7 \pm 5,5^{****}$	70,6
V_4	$45,2 \pm 4,7$	$47,3 \pm 4,8$	104,6	$43,1 \pm 4,3$	95,3
НК _ч	$4,18 \pm 0,20$	$2,62 \pm 0,12^{***}$	62,7	$3,10 \pm 0,12^{**}$	74,2
АДФ/О	$2,90 \pm 0,14$	$2,12 \pm 0,14^{**}$	73,1	$2,15 \pm 0,16^*$	74,1
$V_{\text{днф}}$	$187,4 \pm 8,8$	$126,3 \pm 6,5^{***}$	67,4	$140,2 \pm 6,2^{***}$	74,8

Гипоксияга учратилмаган ҳайвонларнинг юрагидан ажратиб олинган митохондрияларда глутаматни турли метаболик ҳолатларда оксидланишини ва оксидланишли фосфорланиш самарадорлигини таҳлил қилдик. Митохондрияга глутаматни қўшгандан кейин митохондрия нафас олабошлайди (V_2 ҳолат), яъни митохондрия ўлчаш муҳитидаги кислородни истеъмол қилабошлайди ва у $86,3 \pm 4,4$ нанограмм атом O_2 /мин мг оксилни ташкил қилди), орадан 30-40 сония ўтгач ячеякага 200 мкМ АДФ солинди, бирданига митохондриянинг нафас олиши кескин тезлашди (V_3 ҳолат - $189,2 \pm 6,7$ нанограмм атом O_2 /мин мг оксилни ташкил қилди). Бу митохондрияга қўшилган АДФ ўлчаш муҳитидаги Φ_n билан қўшилиб АТФ

хосил бўлганлигини билдиради ва буни оксидланишли фосфорланишли ҳолат деб аталади. Қўшилган АДФ нинг ҳаммаси АТФ га айланиши билан нафас олиши кескин секинлашди, яъни тинчлик (V_4) ҳолатга ўтади ва у $45,2 \pm 4,7$ нанограмм атом O_2 /мин мг оксилни ташкил қилди. Бу ҳолатни митохондрия АТФ хосил қилиб бўлгандан кейинги дам олиш ҳолати деб аталади. Демак, митохондриянинг нафас олиши АДФ қўшилганда қанча юқори бўлса, ўшанча кўп АТФ синтезланади. Нафас коэффиценти ($HK_4 - V_3/V_4$) Чанс [Chance B, Williams G.R., 1956] услуби билан аниқланди ва у $4,18 \pm 0,20$ ташкил қилди. Ундан ташқари, митохондриянинг АТФни синтезлаш фаолиятини баҳолашда АДФ/О коэффицентида ҳам фойдаланилади. Бунда митохондрияга қўшилган АДФ нинг барчаси тўла АТФ синтезланган пайтида сарфланган кислороднинг миқдорига нисбатан ўлчанади. Бизда бу коэффицент $2,90 \pm 0,14$ молни ташкил қилди. Бу нисбат қанча катта бўлса митохондриянинг энергия ишлаб чиқариши ўшанчалик юқори бўлади. Назария бўйича митохондрияда глутаматни оксидланишда 3 моль АТФ хосил бўлади [Chance B, Williams G.R., 1956; Алматов К.Т., 1990]. Амалда, яхши ҳолатда ажратиб олинган митохондрияларда АДФ/О глутамат оксидланишида 3 мол га яқин АТФ хосил бўлади. Демак, юрак тўқимасидан биз ажратиб олган митохондрияларимизда глутаматни оксидланиши ва оксидланишли фосфорланиши адабиётлардаги маълумотларга тўғри келади [Алматов К.Т., 1990].

Ячейкага оксидланишни фосфорланишдан айирувчи 2,4-динитрофенол ($V_{днф}$) қўшилса митохондриянинг нафас олиши кескин тезлашиб кетади ва ячейкага қўшилган кислород тугагунча давом этади ва бизда бу кўрсаткич $187,4 \pm 8,8$ нанограмм атом O_2 /мин мг оксилни ташкил қилди. Динитрофенол таъсиридаги глутаматни оксидланиш тезлиги V_2 ва V_4 ҳолатдаги оксидланишдан қанча тез бўлса, демак, митохондриялар интакт ҳолатда ажратилганини, яъни АТФ синтези меъерда эканлигини билдиради.

Новбатдаги тажрибамизда компенсацияланадиган гипоксияда юрак митохондрияларининг нафас олиши ва оксидланишидаги ўзгаришларни глутаматни ҳар хил метаболик ҳолатларда оксидланишида текширдик. Олинган натижалардан митохондрияда глутаматни V_2 ҳолатдаги оксидланиши 25,6% га камайди, V_4 ҳолатдаги оксидланиши назоратдаги кўрсаткичларга нисбатан ҳеч қандай ўзгаришга учрамади. Аммо, оксидланишли фосфорланиши (V_3) 34,4% га мартага камайди. Бунинг натижасида фосфорланиш самарадорлигини белгиловчи кўрсаткичлардан Чанс бўйича нафас кўрсаткичи 1,37 мартага, АДФ/О коэффиценти – 1,27 мартага камайди. Демак, гипоксияда юрак митохондрияларида НАДга боғлиқ субстратларнинг оксидланишида АТФ синтези кескин пасайиб кетади. Агар хужайрани энергетик метаболизмини 80 % ни НАДга боғлиқ субстратларнинг оксидланишида хосил қилинишини [Корнеев, 1985; Лукьянова, 1987] ҳисобга олсак, биз хосил қилган гипоксияда юрак хужайраларида энергияни хосил бўлиши сезиларли даражада пасаяди.

Компенсацияланадиган гипоксияда юрак митохондрияларида глутаматни динитрофенол таъсиридаги оксидланиши назоратдаги кўрсаткичга нисбатан 1,33 мартага пасайди. Бу натижа, компенсацияланадиган гипоксияда НАДга боғлиқ субстратлардан электронларни нафас олиш занжири бўйлаб кислород молекуласига узатилиши кескин пасайиб кетганлигини билдиради.

Компенсацияланмайдиган гипоксияда юрак митохондрияларида глутаматни V_2 ҳолатдаги оксидланиши 24,4% га камайди, V_4 ҳолатдаги оксидланиши назоратдаги кўрсаткичларга нисбатан деярли жиддий ўзгаришга учрамади, яъни компенсацияланадиган гипоксияда олган натижага ўхшаш. Аммо, оксидланишли фосфорланиши (V_3) назоратдаги кўрсаткичга нисбатан 29,4% га мартага камайди, яъни компенсацияланадиган гипоксиядаги камайишдагига қараганда бирозгина камроқ камайган. Бунинг натижасида Чанс бўйича нафас кўрсаткичи 1,26 мартага, АДФ/О коэффиценти – 1,26 мартага камайди. Демак, компенсацияланмайдиган гипоксияда ҳам юрак митохондрияларида НАДга боғлиқ субстратларнинг оксидланишида АТФ синтези кескин пасайиб кетади.

Компенсацияланмайдиган гипоксияда ҳам юрак митохондрияларида глутаматни динитрофенол таъсиридаги оксидланиши назоратдаги кўрсаткичга нисбатан 1,25 мартага пасайди. Бу натижа, компенсацияланадиган гипоксияда НАДга боғлиқ субстратлардан электронларни нафас олиш занжири бўйлаб кислород молекуласига узатилиши кескин пасайиб кетганлигини билдиради.

Демак, гипоксияни қайси босқичлигидан қатъий назар, юрак митохондрияларида глутаматнинг оксидланиши ва оксидланишли фосфорланишида АТФ синтезини кескин пасайиб кетади. Бу пасайишнинг асосий сабаби НАДга боғлиқ субстратлардан электронларни нафа занжири бўйлаб кислород молекуласига узатилишини секинлашганлигидир.

3.2. Гипоксия шароитида юрак митохондрияларида сукцинатни ҳар хил метаболик ҳолатларда оксидланиши ва оксидланишли фосфорланиши

Гипоксияда юрак митохондрияларинида сукцинатни турли метаболик ҳолатларда (V_2 , V_3 , V_4 ва $V_{\text{ДНФ}}$) оксидланиши ва оксидланишли фосфорланиш самарадорлигини билдирувчи Чанс бўйича нафас кўрсаткичи ва АДФ/О коэффиценти тўғрисида олинган натижалар 2-жадвалда берилган.

Соғлом ҳайвонларнинг юрагидан ажратиб олинган митохондрияларга сукцинатни қўшгандан кейин митохондрия V_2 ҳолатдаги нафас олиши $125,2 \pm 12,5$; V_3 ҳолатдагиси - $265,8 \pm 18,8$; V_4 ҳолатдагиси $109,5 \pm 13,6$ нанограмм атом O_2 /мин мг оқсилни ташкил қилди. Нафас коэффиценти $2,43 \pm 0,14$ ни, АДФ/О коэффиценти - $1,78 \pm 0,10$ ни ташкил қилди.

Ячейкага оксидланишни фосфорланишдан айирувчи 2,4-динитрофенол (ДНФ) қўшилганда митохондриянинг нафас олиши $272,6 \pm 18,4$ нанограмм атом O_2 /мин мг оқсилга тенг бўлди.

Компенсацияланадиган гипоксияда юрак митохондрияларида сукцинатни V_2 , V_3 ва V_4 ларда оксидланиши назоратдаги кўрсаткичларга нисбатан бирозгина (10,1; 6,5 ва 14,4 % ларга) ошиши аниқланди. Натижада Чанс бўйича нафас кўрсаткичи атиги 7% га камайди, аммо АДФ/О коэффициенти 33,2 % га пасайди. Демак, компенсацияланадиган гипоксияда юрак митохондрияларида сукцинатни оксидланиши ва оксидланишли фосфорланиши бирозгина тезлашади ва НАД га боғлиқ субстратларнинг оксидланишини секинлашиши натижасида пасайган АТФ синтезини ўрнини тўлдиришга ҳаракат қилади. Аммо, бу компенсацияланадиган гипоксияда хужайраларни АТФга бўлган талабини тўлиқ қондира олмайди.

Компенсацияланадиган гипоксияда юрак митохондрияларида сукцинатни динитрофенол таъсиридаги оксидланиши назоратдаги кўрсаткичга нисбатан 13,7 % га кучайди. Бу натижа, гипоксияда сукцинатдан электронларни нафас олиш занжири бўйлаб кислород молекуласига узатилиши тезлашиб кетганлигини билдиради.

2-жадвал

Гипоксияни каламуш юраги митохондрияларида сукцинатни ҳар хил метаболит ҳолатларда оксидланишига ва оксидланишли фосфорланишига таъсири ($M \pm m$; $n=8-10$).

Кўрсаткичлар	Нафас тезлиги, нанограмм атом кислород/дақиқа мг оксил				
	Норма	Коменсир- ланадиган гипоксия	%	Коменсир- ланмайдиган гипоксия	%
V_2	125,2±12,5	137,9±10,4	110,1	69,5±8,6****	55,0
V_3	265,8±18,8	283,1±15,9	106,5	121,0±17,2****	45,5
V_4	109,5±13,6	125,2±13,5	114,4	57,9±9,5****	52,9
ДК _ч	2,43±0,14	2,26±0,13	93,0	2,09±0,08	86,0
АДФ/О	1,78±0,10	1,19±0,14	66,8	1,92±0,09	107,8
$V_{\text{ДНФ}}$	272,6±18,4	310,5±16,8	113,7	124,2±19,4****	45,3

Кислородни миқдорини камайиши кучайиб компенсацияланмайдиган гипоксия ҳолатига ўтганда юрак митохондрияларида сукцинатни V_2 , V_3 ва V_4 ларда оксидланиши назоратдаги кўрсаткичларга нисбатан кескин (45,0; 44,5 ва 47,1 % ларга) пасайиши аниқланди. Натижада Чанс бўйича нафас кўрсаткичи атиги 14% га камайган бўлса, АДФ/О коэффициенти эса, аксинча бирозгина (7,9 % га) кўпайди. Демак, компенсацияланмайдиган гипоксияда юрак митохондрияларида сукцинатни оксидланиши ва оксидланишли фосфорланиши сезиларли даражада секинлашади.

Компенсацияланмайдиган гипоксияда юрак митохондрияларида сукцинатни динитрофенол таъсиридаги оксидланиши назоратдаги кўрсаткичга

нисбатан 54,7 % га секинлашди. Бу натижа, гипоксияда сукцинатдан электронларни нафас олиш занжири бўйлаб кислород молекуласига узатилиши кескин пасайиб кетганлигини билдиради.

Компенсацияланадиган гипоксияда юрак митохондрияларида глутаматни оксидланишини пасайишини сукцинатни оксидланишини бирозгина ошиши билан юрак хужайраларини АТФ га бўлган талабини қоплаб тургани учун ҳайвонлар тирик қолади. Компенсацияланмайдиган гипоксияда эса юрак митохондрияларида НАДга боғлиқ субстратларнинг оксидланиши пасайишига сукцинатни оксидланиши пасайиши ҳам қўшилади, натижада хужайраларда АТФ синтези кески пасайиб кетади. Бу, организмни халокатга олиб келади.

П.Митчелнинг [Mitchel P., Moyle J., 1967] хемиосмотик концепциясига асосан, митохондриянинг ички мембранасида электрон ва протонларнинг вектор ташилиши натижасида АТФ-синтаза [Boyer P.D., 1997] фойдаланидиган водород ионининг электрокимёвий потенциаллар фарқи ҳосил бўлади, конформацион ўзгаришлар натижасида АДФ ва ноорганик фосфатдан АТФ синтезланади [Mitchel P., Moyle J., 1967]. Митохондриянинг ички мембранасида тўпланган мембрана потенциали ($\Delta\psi$), водород иони потенциалини трансмембрана таркибий қисмидаги фарқлар ($\Delta\mu\text{H}^+$) ва бошқа (ΔpH) билан ҳамкорликда АТФ синтезини таъминлайди. Мембрана потенциалини қийматини доимий равишда сақланиб турилиши хужайра ва митохондрия фаолиятини норма даражада сақланишига имкон беради. Хужайрани кислород билан таъминланишини пасайиши оқибатида, яъни АТФни аэроб синтезига имкони йўқлиги учун, митохондрия генератор эмас, балки АТФни истеъмолчисига айланади, яъни митохондриянинг АТФ азаси таъсирида гидролизланади [Di Lisa F., Blank P.S. et al., 1995; Neupert W., Herrmann J.M., 2007].

ЯКУН

Олинган натижаларни ҳар томонлама таҳлил қилиб қуйидаги хулосага келиш мумкин, у ҳам бўлса гипоксияни оғир ёки енгиллигидан қатъий назар юрак митохондрияларида глутаматни V_2 ҳолатдаги оксидланишни назоратдаги кўрсаткичларга нисбатан пасайиши, V_4 ҳолатдаги оксидланишни ўзгаришга учрамаслиги, оксидланишли фосфорланиши (V_3) эса сезиларли даражада пасайиши аниқланди. Бунинг натижасида фосфорланиш самарадорлигини белгиловчи Чанс бўйича нафас кўрсаткичи ва АДФ/О коэффициенти камайди.

Гипоксияда юрак митохондрияларида глутаматни динитрофенол таъсиридаги оксидланишини секинлаштириш НАДга боғлиқ субстратлардан электронларни нафас олиш занжири бўйлаб кислород молекуласига узатилиши кескин пасайиб кетганлигини билдиради.

Компенсацияланадиган гипоксияда юрак митохондрияларида сукцинатни ҳар хил метаболик ҳолатларда оксидланиши назоратдаги кўрсаткичларга нисбатан, Чанс бўйича нафас кўрсаткичи бирозгина ошиши,

АДФ/О коэффициентини сезиларли даражада пасайиши аниқланди. Кислородни миқдорини камайиши кучайиб компенсацияланмайдиган гипоксия ҳолатига ўтганда юрак митохондрияларида сукцинатни V_2 , V_3 ва V_4 ларда оксидланиши назоратдаги кўрсаткичларга нисбатан деярли икки мартага пасайиши аниқланди.

Компенсацияланадиган гипоксияда юрак митохондрияларида сукцинатни динитрофенол таъсиридаги оксидланишини талашиши, компенсацияланмайдиган гипоксияда эса, аксинча секинлаши аниқланди.

Демак, гипоксияда юрак митохондрияларида НАДга боғлиқ субстратларнинг оксидланишида АТФ синтези кескин пасайиб кетади. Компенсацияланадиган гипоксияда сукцинатни юрак митохондрияларида оксидланиши бирозгина тезлашади, компенсацияланмайдиган гипоксияда эса, аксинча кескин секинлашади.

Бизнинг фикримизча, компенсацияланадиган гипоксияда юрак митохондрияларида глутаматни оксидланишини пасайишини сукцинатни оксидланишини бирозгина ошиши билан юрак хужайраларини АТФ га бўлган талабини қоплаб тургани учун ҳайвонлар тирик қолади. Компенсацияланмайдиган гипоксияда эса юрак митохондрияларида НАДга боғлиқ субстратларнинг оксидланиши пасайишига сукцинатни оксидланиши пасайиши ҳам қўшилади, натижада хужайраларда АТФ синтези кески пасайиб кетади. Бу, организмни ҳалокатга олиб келади.

ХУЛОСА

1. Гипоксияни оғир ёки енгиллигидан қатъий назар юрак митохондрияларида глутаматни V_2 ҳолатдаги оксидланишни назоратдаги кўрсаткичларга нисбатан пасайиши, V_4 ҳолатдаги оксидланишни ўзгаришга учрамаслиги, оксидланишли фосфорланиши (V_3) эса сезиларли даражада пасайиши аниқланди. Бунинг натижасида фосфорланиш самарадорлигини белгиловчи Чанс бўйича нафас кўрсаткичи ва АДФ/О коэффициентини камайди.
2. Компенсацияланадиган гипоксияда юрак митохондрияларида сукцинатни назоратдаги кўрсаткичларга нисбатан ошиши, компенсацияланмайдиган гипоксияда, аксинча деярли икки мартага пасайиши аниқланди.
3. Компенсацияланадиган гипоксияда юрак митохондрияларида глутаматни назоратдаги кўрсаткичларга нисбатан кескин пасайишини, сукцинатни оксидланишли фосфорланишини ошиши хужайраларга керак бўлган АТФ миқдорини маълум даражада таъминлаб тургани учун ҳайвонлар тирик қолади, компенсацияланмайдиган гипоксияда эса НАДга боғлиқ субстратларни оксидланишли фосфорланишини пасайишига сукцинатни оксидланишли фосфорланишини деярли икки мартага

пасайиши кўшилганлиги сабабли, митохондрия хужайрага етарли микдорда АТФ синтез қилиб бераолмайди, натижада хужайра ва тўқималар, яъни организм халок бўлади.

АДАБИЁТЛАР

1. Алматов К.Т. 1990 Алматов К.Т. Механизмы развития повреждений мембран митохондрий и роль липолитической системы. Автореф. докт. дис. 1990. 32 с.
2. Алматов К.Т., Ахмеров Р.Н., Иргашев М.С. и др. Методические указания к лабораторным занятиям по курсу «Физиологик человека и животных. Ташкент: Университет, часть 1, 1993а, 50 с.
3. Алматов К.Т., Ахмеров Р.Н., Зарипов Б.З., Иргашев М.С., Алламуратов Ш.И. Методические указания к лабораторным занятиям по курсу «Физиология человека и животных», ч. 2 // Ташкент: Университет, 1993 б, С. 52.
4. Алматов К.Т., Алламуратов Ш.И. Одам ва ҳайвонлар физиологияси. Тошкент: Университет. 2004
5. Белоследцев К.Н., Белоследцев Н.В., Миронова Г.В. Возможный механизм образования и регуляции пальмитат-индуцированной циклоспорин А-чувствительной митохондриальной поры // Биохимия. – Москва, 2005. - Т.70. - вўп.7. - С.987-994.
6. Бодрова Б.Э., Брайловская И.В. и др. Циклоспорин А-чувствительное снижение трансмембранной разности электрического потенциала на внутренней мембране митохондрий печени низкими концентрациями жирных кислот и Ca^{2+} // Биохимия. – Москва, 2003. - Т.68. - вып.4. - С. 484-493.
7. Глотов Н.А., Шмелова Л.Т. Окислительные процессы в миокарде при гипоксиях разного генеза // Механизмы повреждения резистентности, адаптации и компенсации: тез. Докл., Т.11. Ташкент, 1976. С.354.
8. Глотов Н.А. Влияние гутиминовой кислоты на активность окислительных ферментов в митохондриях сердца при гипоксии // Украин. биохим. ж.1971. № 2. 540-543 с.
9. Говорова Л.В. Влияние экспериментальной гипоксии на АТФ-азную активность ядер и митохондрии мозга, печени и сердца // Вопр. мед. химии, 1977, Т.23, № 3. С.302-308.
10. Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б., Кандалинцева Н.В. и др. Антигипоксанта́ные и противовоспалительные свойства новых водорастворимых серосодержащих фенольных соединений // Биохимия. 2007. Т.72. вып. 6. С. 790-798.
11. 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.

12. Дерябина Ю.И., Исакова Е.П., Звягильская Р.А. Ca^{2+} -транспортирующие системы митохондрий: свойства, регуляция, таксономические особенности // Биохимия. – Москва, 2004. - Т.69. - вып.1. - С.114-127.
13. Корнеев А.А. Исследование некоторых энергозависимых процессов на изолированном сокращающемся сердце при гипоксии. Автореф. дисс.... на соиск. уч. степени канд. биол. наук. Москва, 1985. 21 с.
14. Лукьянова Л.Д. Особенности работы дыхательной цепи в условиях кислородной недостаточности. // В кн.: Молекулярные механизмы и регуляция энергетического обмена (материалы Всесоюзного симпозиума). – Пушино. 1987. 153-160 с.
15. Скулачев В.П. Кислород в живой клетке: добро и зло. // Соросовский образовательный журнал. М., 1996а, № 3, С.4-10.
16. Скулачев В.П. В своем межмембранном пространстве митохондрия таит “белок самоубийства”, который, выйдя в цитозоль, вызывает апоптоз. // Биохимия, 1996 б, Т. 61, вып.11, С. 2060 -2063.
17. Скулачев В.П. Законы биоэнергетики //Соросовский образовательный журнал. – Москва, 1997 а. - №1. - С.9-14.
18. Скулачев В.П. Эволюция биологических механизмов запасаения энергии // Соросовский образовательный журнал. – Москва, 1997 б. - №5. - С.11-19.
19. Скулачев В.П. Электродвигатель бактерий // Соросовский образовательный журнал. – Москва, 1998. - №9. - С.2-7.
20. Шмелев Л.Т. Изменение содержания субстратов и активности ферментов энергетического обмена в сердце под влиянием глутамата при гипоксии и отравленных животных нитритом натрия // Регуляция энергетического обмена и физиологическое состояние организма. Москва:Наука, 1978. С.215-217.
21. Уэст Дж. Физиология дыхания. Основы. Москва: Мир. 1988. 200 с.
22. Рябов Г.А. Гипоксия критических состояний. М.: Медицина. 1988. 288 с.
23. Ченцов Ю.С. Хондриом – совокупность митохондрий клетки // Соросовский образовательный журнал. – Москва, 1997, N° 12, С. 10–16.
24. Balasubramanian et al. V. Mc., Namara D.B. et al., Biochemical basis of heart function. X. Rediction in the Na-K-stimulated ATP-ase activity in jailing rat heart due to hypocia // Can. J. Phisiol. And Pharmacol., 1973. V.51. N7. PP. 504-510.
25. Boyer P.D. The ATP synthase – a splendid molecular machine // Ann. Rev. Biochem., 1997. - V.66. - P. 717-749.
26. Chance B., Williams G.R. The respiratory chain and oxidative phosphorylation // Adv.enzymol. – 1956. – V.17. – P. 65-134.
27. Di Lisa F., Blank P.S., Colonna R. et al. J. Physiol., 1995. V.486. P. 1-13.
28. Hageboom O.N., Scheider W.C., Pallade O.H. Isolation of mitochondria and submicroscopic particulate material. J. Biol. Chem., 1948, V. 172, №2, p.619-641.
29. Kedem J., Livinger I.M. et al. Heart rate and myocardial substrate preference during normal and hupoxic perfusion of the heart in vivo.// Arch. Int. physiol. et Biochem. 1975. V.83. N 1. PP. 53-62.
30. Lowry O.H., Rosebrough N.L., Randall R.I. et al. Protain measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 1951, V. 193, P.265-275.

31. Matthews P.M., Radda G.K., Taylor D.G.A. ^{31}P -n.m.r. study of metabolism in the hypoxic perfused rat heart. // Biochem. Soc. Trans. 1981. v.9. N3. p.236-237.
32. Mitchell P., Moyle J. Nature, 1967, V.5072. P. 137-139.
33. Nakazova T., Nunokawa T. Energy transduction and adenine nucleotides mitochondria from rat liver after hypoxic perfusion // J. Biochem. 1977. V.82. P.1575-1583.
34. Neupert W., Herrmann J.M. Annu. Rev. Biochem., 2007. V.76. P. 723-749.
35. Nishi K., Yoshikawa Y., Sugahara K. Responses of cells in the specific conduction system of the heart to hypoxia: morphological, electrophysiological and biochemical changes // J. Mol. and cell. Cardiol. 1981. V. 13. Suppl N 2. P. 36.
36. Taegtmeyer H. Metabolic responses to cardiac hypoxia increased production of succinate by papillary muscles. // Circulat. Res. 1978. v.43. №5. 808-815p.
37. Vial C., Owen P., Opie L.N., Rosol D. Significance of release of adenosine triphosphate and adenosine induced by hypoxia or adrenaline in perfused rat heart. // J.Mol. and cell. Cardiol. 1987. v.19. №2. 187-197p.
38. West J. B. Ventilation/Blood Flow and Gas Exchange, ed. 3, Oxford, Blackwell. , 1977.