

ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ
ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ

МИРЗО УЛУҒБЕК НОМИДАГИ
ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ

БИОЛОГИЯ-ТУПРОҚШУНОСЛИК ФАКУЛЬТЕТИ

САГДУЛЛАЕВА ДИЛНОЗА

ЭМОЦИОНАЛ СТРЕССНИ МИЯ МИТОХОНДРИЯСИНИНГ
НАФАС ОЛИШИ ВА ОКСИДЛАНИШЛИ ФОСФОРЛАНИШИГА
ТАЪСИРИ

МАЛАКАВИЙ БИТИРУВ ИШИ

Мутахассислик: 5А420100-Биология

Илмий раҳбар:
биология фанлари доктори,
профессор К.Т.Алматов

ТОШКЕНТ-2011

		МУНДАРИЖА	
		КИРИШ.....	3
БОБ	1	АДАБИЁТЛАР ШАРХИ.....	7
	1.1.	Рухий зарба таъсирида организм аъзо ва тизимларида қандай физиологик-биокимёвий ўзгаришлар кузатилади	7
	1.2.	Митохондриянинг таркибий тузилиши ва бажарадиган вазифалари.....	13
БОБ	2	АШЁЛАР ВА УСЛУБЛАР.....	22
	2.1.	Қаламушларни сақлаш ва эиоционалли стресс моделини яратиш.....	22
	2.2.	Қаламушнинг бош миясидан митохондрияларни ажратиб олиш.....	24
	2.3.	Митохондриянинг нафас олиши ва оксидланишли фосфорланишини аниқлаш.....	26
	2.4.	Митохондриялардаги оқсил миқдорини аниқлаш.....	27
	2.5.	Олинган натижаларни статистик қайта ишлаш.....	27
БОБ	3	ОЛИНГАН НАТИЖАЛАР ВА УЛАРНИНГ ТАҲЛИЛИ...	28
	3.1.	Стрессда қаламуш бош мияси митохондрияларининг нафас олиши ва оксидланишли фосфорланишидаги ўзгаришлар.....	28
		ЯКУН.....	34
		ХУЛОСА.....	36
		АДАБИЁТЛАР.....	37

КИРИШ

Мавзунинг долзарблиги. Ҳозирги замонда яшаётган одамлар доимий асабий зўриқишни ўз бошидан кечиришмоқда, чунки улар социал, психологик ва физиологик руҳий зарба остида яшайдилар, бу эса ўз новбатида кўплаб касалликларни келиб чиқишини патогенетик асоси бўлиб хизмат қилади. Америка ишлаб чиқариш хавсизлиги ва соғлиқни сақлаш институти ходимларининг текширишларича руҳий стресс таъсирида азият чекаётган беморлар бошқа кўп учрайдиган ўнга яқин касалликлар орасида етакчи ўринлардан бирини эгаллайди [Тигранян Р.А., 1988]. Руҳий зарба остида ишга чиқаолмай қолиш ва касалликларни даволашга кетган харажат ҳар йили 150 млрд долларни ташкил қилар экан. Организмни ҳимоя қилишга сафарбар қилинган ҳужайраларни ишлаб чиқувчи ва организмга ташқаридан кирадиган зарарли антигенларга қарши курашиб, иимунитет ҳосил қиладиган барча аъзолар иммун тизимига алоқадор аъзолар қаторига киради. Марказий иммуногенез аъзоларига айрисимон без ва суяк кўмиги киради. Руҳий зарба энг аввало ана шу аъзоларни фаолиятига таъсир қилади. Ана шулар сабабли физиолог ва тиббиёт соҳаси олимлари руҳий зарба муаммосига қизиқишлари борган сайин кучайиб бормоқда. Чунки, бунинг пайдо бўлишини асосий сабабларидан бири руҳий зарбани ҳужайра, тўқима ва аъзоларда пайдо бўлиши ва организмни унга мослашуви иммуногенез аъзоларида мембрана, ҳужайра, аъзо ва тўқималарда кечаётган таркибий ва метаболик ўзгаришлар ҳақида маълумотлар етарли эмас [Тигранян Р.А., 1988; Хитров Н.К., 1991; Васильев В.Н., 1991; Федоров Б.М., 1991; Новиков В.С., 1996; Szabo A., Billett E., Turner J. Br., 2001; Borovsky B., Adham N. at all., 2001].

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. “Стресс” атамаси канадалик нейроэндокринолог Ганс Селье [1960, 1972] томонидан киритилган. Турли туман қайта такрорланувчи ёки ҳаддан ташқари кучли кўзғатувчилар

носпецифик стереотип жавобларни, яъни буйрак усти беги пўстлоғи фаоллигини кучайиши, тимусни атрофияси, ошқозон ичак трактида яраларнинг пайдо бўлиши ва шу кабиларни тезлаштиради. Организмда стресс - омиллар таъсирида кечадиган биокимёвий ўзгаришлар мажмуасини - стресс реакция чакирувчиларни Ганс Селье “мослашув синдроми” деб атаган [1979].

«Стресс»нинг ижобий томонлари бор, чунки улар организмнинг бор имкониятларини ишга туширади, ижобий таъсиротлар – эустресс чакиради, яъни организмнинг чидамлилигини оширади. “Стресс”нинг салбий томонлари ҳам бор, у ҳам бўлса организмни қаршилиқ кучини пасайтиради, касаллик пайдо қилиб унинг кечишини оғирлаштиради – дистресс чакиради. Ана шундай реакцияларни чакирувчи омилларни Ганс Селье [1979] стрессорлар деб ном берган. Хозирги пайтда, стресс организмда турли табиатга ва характерга эга бўлган фавқулотдаги кўзгатувчиларга организмнинг биокимёвий, физиологик, ҳулқ атвор ва рухий реакцияларининг умумий носпецифик мажмуаси деб қаралади [Меерсон Ф.З., 1981; 1984; Тигранян Р.А., 1988; Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г., 1989; Меерсон Ф.З., Кузнецов В.И., 1991].

Эмоция билан боғлиқ барча ходисалар бош миянинг маълум бир бўлимларининг фаолияти натижасидир [Szabo A., Billett E., Turner J. Br., 2001; Borovsky B., Adham N. at all., 2001]. Эмоциоген омилларнинг таъсири гормонал ва вегетатив асаб тизими гомеостазини ишдан чиқаради. Шунинг учун ҳам олимларнинг стрессга бўлган қизиқишлари доимий равишда кучайиб бориши табиий хол, чунки стрессни ривожланиш механизми ва унга мослашиши шу вақтгача тўлиқ ўрганилган эмас, стресс шароитида аъзо ва тўқималарда кечаётган метаболик ўзгаришлар тўғрисида маълумотлар етарли эмас. Замонавий физиология ва тиббиётнинг бош мақсади стресс шароитида одамзод ҳаётини, унинг ақлий ва жисмоний кучини максимал даражада сақлашдан иборат [Макара Г., 1985; Luft F.C., 1988; Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г., 1989; Хмельницкий О.К., Ступина А.С., 1989; Хитров Н.К., 1991; Васильев В.Н., 1991; Федоров Б.М., 1991; Новиков В.С., 1996].

Ана шуларни назарда тутиб, мен ўз олдимга сурункали стресс таъсирида бош мия митохондриясининг нафас олишини ва АТФ синтезини ўзгариш динамикасини аниқлашни мақсад қилиб қўйдим.

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. Ишнинг мақсади ҳайвонга руҳий зарба берилганда бош мия митохондриясининг нафас олиши ва оксидланишли фосфорланишинидаги ўзгаришларини ўрганишдан иборат.

Тадқиқот вазифалари: Сурункали руҳий зарба берилган каламушларнинг бош мияси митохондрияларининг нафас олиши ва оксидланишли фосфорланишини ўзгаришини аниқлаш;

Тадқиқот объекти ва предмети. Каламуш, бош мия, митохондрия, оксил.

Тадқиқот методлари. Дифференциал центрифуга, полярография, фотометрия, рН-метрия.

Илмий янгилиги. Организмга оғриқли руҳий зарба берилишини бошланишида, яъни Ганс Селье бўйича хавотирланиш стадиясида бош мия митохондрияларининг нафас олиши - кислород истеъмоли ва фосфорланишли оксидланиши, яъни АТФ синтези кучайиши аниқланди.

Стресс таъсирни давом этиш муддатини ошиши, яъни резистентлик стадиясида митохондрияларда нафас олиш ва фосфорланишни бир-биридан “енгилгина” ажрала бошлаши аниқланди.

Стресс таъсирни организмга таъсирини узоқ вақт давом этиши, яъни мадорсизланиш стадиясида бош мия митохондрияларида фосфорланишни оксидланишдан ажралиши – АТФ синтезини пасайиши сезиларли даражада кучая бошлайди.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Руҳий зарба таъсирида бош мия митохондрияларининг нафас олиши ва фосфорланишли

оксидланиши, яъни АТФ синтезидаги ўзгаришлар тўғрисида тўғрисида олинган натижаларни стресс таъсирида хасталикка учраган беморларнинг организмидаги физиологик-биокимёвий ўзгаришларни даволашда фойдаланиш мумкин.

Қўлланиш соҳаси. Тадқиқод натижалари мирзо Улуғбек номидаги Ўзбекистон Миллий университети, биология-тупроқшунослик факультети Одам ва ҳайвонлар физиологияси кафедрасида ўтилаётган умумий ва махсус курсларда, талабаларга ўқилинаётган маърузаларда қўшимча материал сифатида фойдаланиш мумкин.

1.1. АДАБИЁТЛАР ШАРХИ

1.1. Рухий зарба таъсирида организм аъзо ва тизимларида қандай физиологик-биокимёвий ўзгаришлар кузатилади

Хиссиёт ўзгаришларининг асосий сабаблари қуйидагилардан иборат, биринчидан илмий-техникани тез суръатлар билан ривожланиши, оилада, ишхоналарда ва кўча-кўйлардаги одамларнинг бир-бири билан муомиласида кузатиладиган диққатвозликлар ҳисобланса, иккинчидан экологиянинг бузилиши, яъни ташқи муҳитнинг ифлосланиши ва радиация даражасининг ошиши ҳисобланади. Ҳозирги кунда хиссиёт реакциялари руҳий фаолиятнинг энг сезгир компоненти эканлиги аниқланган бўлиб, бунда асаб тизими ва эндокрин тизимлари ишртोक этиши аниқланган.

Инглиз психологлариининг Лондондаги “Сэнди таймс” газетасида стрессга боғлиқ қизиқарли малумотлар чоп этилган. Хар хил соҳада меҳнат қилаётган мутахассисларда стресс ҳолатларини учраши бўйича 10 баллиқ тизим билан аниқланиб қуйидаги натижалар эълон қилинган: шахтер – 8,3; полициячи – 7,7; граждан авиацияси учувчиси, машина заводи ишчиси, журналист – 7,5; стоматолог, артист – 7,3; такси хайдовчиси – 6,8; акушер, кинорежиссер – 6,5; ўт ўчирувчи, музикачи – 6,3; ўқитувчи – 6,2; кадрлар бўлими хизматчиси – 6,0; сотувчи – 5,7; автобус хайдовчиси – 5,5; дехқон, дипломат – 4,8; харбий хизматчи – 4,7; муҳандис, адвокат, котиба, ҳисобчи, сартарош – 4,3; рассом, дизайнер 4,2; архитектор, почтачи – 4,0; банк ходими, программачи – 3,7; астраном – 3,4; музей хизматчиси – 2,8; кутубхоначи - 2,0 [Тигранян Р.А., 1988].

Бу маънода хиссиётни зўриқишида гипофиз-буйрак усти безлари тизими фаолиятидаги ўзгаришлар яхши ўрганилган. Жаррохлик операциясини кутаётган беморларда, харбий хизматдаги одамларда, космосга кўтарилган космонавтларда, синов пайтида талабаларда гипофиз-адренал тизимининг фаоллиги ошиб кетиши аниқланган.

Имтихон пайтида талабаларда хиссиёт зарбаси сабабли қонида катехоламинлар ва метаболик жараёнларнинг кўрсаткичлари кўпайиб кетиши аниқланган [Тигранян Р.А., 1988]. Катехоламинлар симпато-адренал тизимнинг гормонлари ва медиаторлари бўлиб, улар организмнинг мослашув реакцияларини медиаторлари ҳисобланади. Катехоламинлар организмни тинчлик ҳолатидан қўзғалиш ҳолатига тез ва адекват равишда ўтишини ва шу ҳолатда туришини таъминлаб беради. Биологик фаол катехоламинлар гуруҳига адреналин (буйрак усти безлари мағиз қаватида синтезланадиган энг асосий гормон), ноадреналинлар ва дофамин – марказий асаб тизимининг асосий медиатори организмни мослашув реакцияларини бошқарувчилари ҳисобланади. Катехоламинлар организмда моддалар ва энергия алмашинувини тезлаштиради. Улар турли хиссиёт реакцияларида гликоген ваа ёғларни парчаланишини кучайтиради, ёғ кислоталанин оксидланишини фаоллаштиради, кислородни тўқималар томонидан истеъмол қилинишини тезлаштиради, юрак ва скелет мушаклар фаолиятини оширади, марказий асаб тизимининг қўзғалишини таъминлайди.

Хозирги кунда хиссиётлар ва руҳий зарба таъсири устида кўплаб тажрибалар ўтказилиши натижасида қуйидаги омиллар аниқланган. Бош мия пўстлоғи томонидан ички аъзолар фаолиятига таъсири асосан ўзаро боғлиқ бўлган пўстлоқ ости тузилмалар, айнан гипоталамус ва ретикуляр формация орқали амалга ошади. Артериал гипертензияни ривожланишида генетик мойиллик гипофиз-буйрак усти безлари механизмларини бузилиши, ренин-ангиотензиналдестерон тизимининг фаолиятини бузилиши, қон томир деворларининг функционал хусусиятларини ўзгариши каби омилларни аҳамиятлари аниқланган. Лекин, кўпчилик ҳолатларда юқори санаб ўтилганлар иккиламчи реакциялар ҳисобланади, бирламчиси эса марказий асаб тизимида кузатилади ва ривожланади.

Олимларнинг олиб борган илмий изланишлари натижасига биноан стресс пайтида (хасталик, оғриқ, оғир ёки енгил даражадаги хиссий зарбалар)

мукаммал даражада фаолият кўрсатадиган ерв механизмлари ишга тушади. Таъсирот хақидаги маълумот бош мия пўстлоғига келиб тушади, у ердан гипоталамусга узатилади. Айнан шу ерда вегетатив ва эндокрин тизимларнинг марказлари жойлашган бўлиб, улар организмда пайдо бўлаётган кичик ўзгаришларни ҳам сезиб оладилар.

Организмнинг соғлиғига, тинчлик ҳолатига ва жисмоний барқарорлигига хавф солувчи турли омиллар, яъни руҳий зарба омиллари таъсирига қарши гипоталамус “курашга” чақиради ва унинг имкониятида бўлган барча химоя кучларини сафарбар қилади. Ана шундай химоя чораларидан энг асосийси ҳисобланган буйрак усти безларининг гормони адреналинни қонга ажратиб чиқаради.

Руҳий зарба таъсир этганда организмда махсус ҳолатлардан ташқари номахсус фазалар ҳам кузатилади, улар катехоламинлар алмашинуви ва симпато-адренал тизимининг ўзгаришларига боғлиқ бўлади.

Биринчи фаза – жадал фаоллашув фазаси ҳисобланади. У таъсирот пайдо бўлиши билан намоён бўлади ва гипоталамус ҳамда марказий асаб тизимининг бошқа қисмларида норадреналинни ишлаб чиқарилиши билан ифодаланади. Бу эса ўз новбатида бош миянинг адренергик тизимларини фаоллашувига ва гуморал-гормонал бошқарилув механизмларини рағбатланишига олиб келади. Бу фаза пайтида буйрак усти безларининг фаоллигини ошиши (адреналинни қонга чиқарилиши ва безнинг ўзида унинг миқдорини юқори даражада сақланиши) ва адреналинни кўплаб юракка келиши кузатилади.

Иккинчи фазада – узоқ вақт турғун фаоллашган фаза. Қонга адреналин ишлаб чиқарилишини кучайиши ва қонда унинг миқдорини кўпайиб кетиши ва айна пайтда буйрак усти безларида адреналин миқдорини камайиб бориши кузатилади. Юракнинг адренергик нерв учлари томонидан норадреналин ишлаб чиқарилиши ва унинг синтез тизимини фаоллашуви кузатилади. Жигарда адреналин миқдори кўпайиши кузатилади ва бу ўз новбатида гликогенни парчаланишига олиб келади, натижада аъзо ва тўқималарни глюкоза билан

таъминланишини кучайтириб юборади. Қонда адреналин миқдорини кўпайиб кетиши натижасида унинг кўпчилик қисми гипоталамик соҳага ва миёнинг бошқа қимларига гемато-энцефалик тўсиқ орқали ўтиб кетади.

Учинчи фаза – вазифаларни бажарилишини бузилиши. Симпато-адренал фаолиятни пасайиши (асосан гормон ва периферик қисмларда медиаторларни ишлаб чиқарилиши) билан ифодаланади. Буйрак усти безларида адреналинни миқдори кескин камайиб кетади, адреналинни қонга чиқарилиши камаяди, гипоталамусдан ташқари юракда ва бошқа барча тўқималарда норадреналин миқдори камаяди. Гипоталамусда норадреналин миқдори камаймайди ва адреналин учун гемато-энцефалик тўсиқни ўтказувчанлигини ошиб кетиши давом этаверади.

Г.Н. Кассил [1975] томонидан таклиф этилган назарияга асосан, қонда адреналин ва норадреналинни миқдорларини ошиб кетиши ривожланиб бораётган стресс реакцияларда бирламчи кимёвий звено ҳисобланади. Шу сабабдан бу гормонларни “авария” гормонлари деб аталади. Норадреналинни кўп миқдорда ишлаб чиқарилиши организмни турли зарарли омиллар таъсирига қаршилигини кучайтиради, ўзгариб бораётган ташқи муҳит шароитларига мослаштиради. Шунинг учун ҳам физиолог олимлар, агар қўзғатувчига инсон қонида норадреналин миқдори жадал суръатлар билан кўпайиб, кейин секин-аста камайса бундай одам организми хиссий зўриқишларни ва руҳий зарбаларни осонлик билан енгиб ўтади ва унга мослашади деб ҳисоблашади.

Адреналинни Г.Селье руҳий зарбани ривожланишида ягона воситачи деб ҳисоблаган [1960, 1972]. Гипоталамуснинг махсус ҳужайраларида мураккаб кимёвий бирикмалар – рилизинг омиллар ишлаб чиқарилади. Бу модда гипоталамусни гипофиз беши билан боғловчи нерв толаларига тушгандан кейин, гипофизда адренотропик гормонни синтезини рағбатлантиради. Бу эса ўз навбатида кортикостероидларни ҳосил бўлишига ва қонга кўплаб ажралишига олиб келади.

Қисман нерв, кўпроқ гипофиздан келаётган гуморал омиллар сигналлар ҳам қонга адренотроп гормонни ажралишини тезлаштиради, у эса буйрак усти бези тўқималаридаги энзимли жараёнларни ишга туширади ва кортикостероидларни ишлаб чиқарилиши ва қонга ажралишини тезлаштириб юборади.

Оғир рухий зарба шароитида, масалан чидаб бўлмайдиган оғрик, бош суяги травмаси (жарохати), организмни узок вақт совуқ қотиши ёки қизиби кетиши гематоэнцефалик тўсиқни ўтказувчанлигини ошириб, катехоламинларни миёга боришини кучайтишига олиб келади. Бунинг натижасида релизинг-омиллар ҳосил бўлишни кучайтиши оқибатида қонда кортикостероидларнинг миқдори кўпайиб кетади. Бу ҳолат стрессор таъсиротга қаршилиқ қилиш босқичи ҳисобланади.

Тирик мавжудот зарарли омилларга қарши доимий кураш олиб боради. Хатто энг кучли таъсиротлар жуда кичик ва қайтар силжишлар ҳосил қилади ва бундан сўнг нормал ҳолат шаклланади. Минглаб ўзоро келишган ва бир-бирига боғлиқ реакциялар организмнинг турғун ҳолатини таъминлайди ва уни жиддий шикастланишлардан сақлайди. Туғилишдан бошлаб инсонни ҳар бир қадамда сан-соноқсиз ҳиссий зарбалар пойлаб туради ва аксарият ҳолатларда улар организмни ҳалокатга олиб келмайди.

Бир ҳилдаги ўхшаш стресслар организмда катехоламинларни ҳосил бўлиш ва ажралиш даражаларини секинлаштириши адабиётлардан бизга маълум. Чунки улар ўша стресс таъсирига мослашиб қоладилар. Кортикостероидлар қонда тўпланиб қолиб организмни у ёки бу стресслар таъсирига мослашиларини таъминлаб бериши билан, қонда нормани юқори чегарасида тургани ҳақида гипоталамусга хабар беради ва унинг ҳужайраларига гематоэнцефалик тўсиққа кириши орқали адренотроп гормонни ҳосил бўлишини тўхтатадилар. Бу зў новбатида релизингларни ҳосил бўлишини пасайтишига, гипофизни фаоллигини пасайтишига, қонда кортикостероидларни миқдорини пасайтишига олиб келади. Шундай қилиб стрессор “ҳужуми”

тўхтатилади ва кимёвий ўзгаришлар секин аста пасая бошлайди. Шунинг эсдан чиқармаслик керакки, стресс организмни кўп занжирли реакцияси бўлиб, энг асосий рол эндокрин тизимга боғлиқ бўлиб, нафақат гипофизар-буйрак усти безлари комплексигагина эмас балки бошқа безларга ҳам боғлиқ [Меерсон Ф.Э., 1981].

Эмоционал стресслар экзоген (узоқ вақт давом этувчи кўркув ва очлик ҳолатлари, гипоксия, спирт истеъмол қилувчи одамлардаги абстенция ҳолати) ва эндоген (масалан, мианинг турли эмоцоген структураларини кўзгатилиши пайтида) бўлиши мумкин.

Артериал гипертензияни ривожланишида ички (гипоталамо-гипофизар алоқанинг ирсий бузилишлари, буйракларда фон айланишини ўзгариши ва бошқалар) ва ташқи (озикада холестерин, натрий ва бошқа моддаларни миқдорини ошиб кетиши, совуқ қотиш, ўта оғир жисмоний ишлар ёки аксинча имобилизация (ҳаракатсиланиш ҳолатлари) омилларнинг ўзоро боғлиқлиги сабаб бўлади. Бу омиллар ўз навбатида мажороли ҳолатларни келтириб чиқаради ва организмни ноқулай ҳолатга тушириб қўяди.

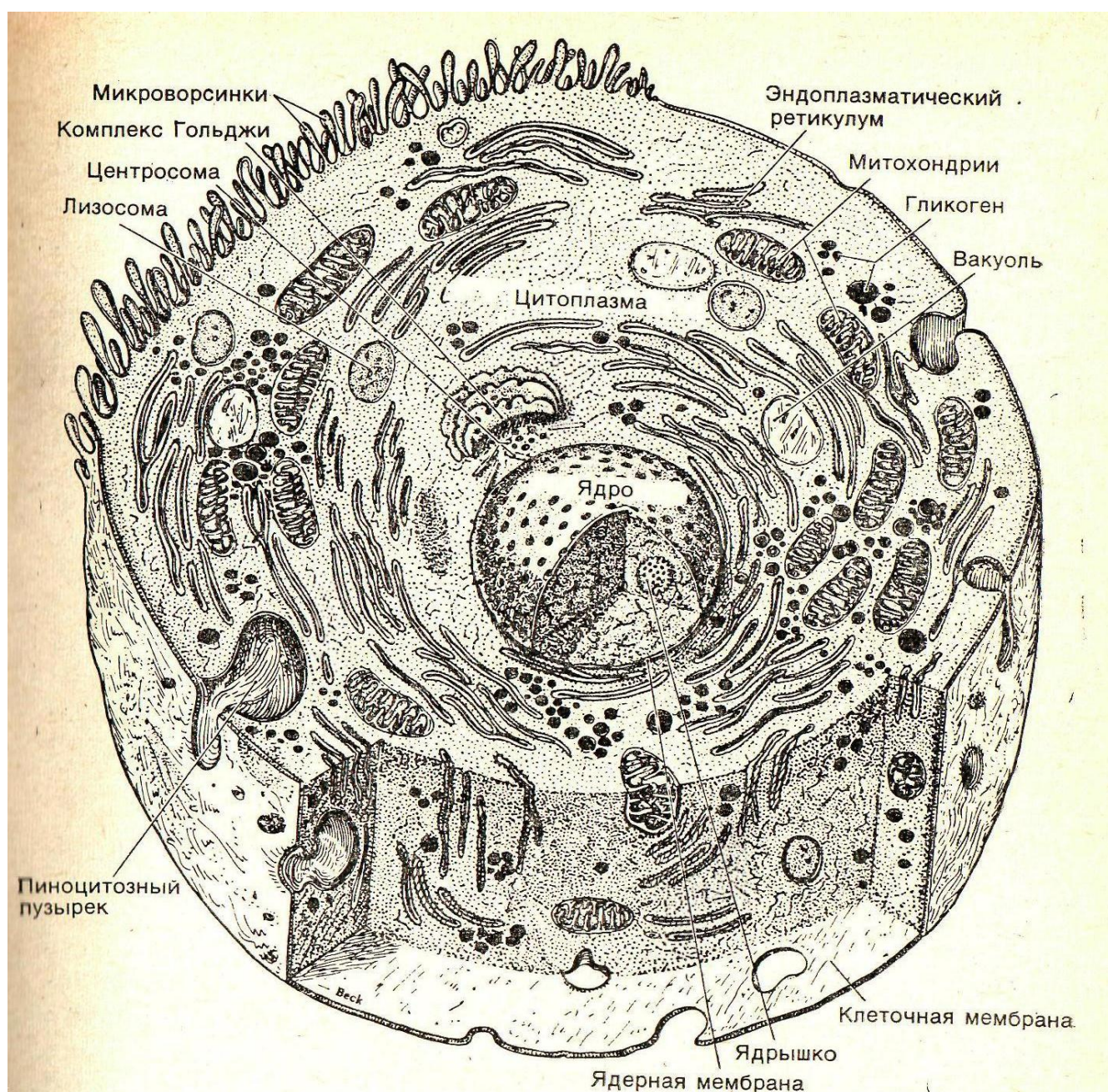
Инсонлардаги мажорали ҳолатлар ҳайвонлардаги ана шундай ҳолатлардан фарқ қилади. Ҳозирги вақтда турли оғирликдаги церебровисцерал бузилишлар, агар ҳайвонларда сунъий мажоро ҳолатига дучор қилинса уларда ҳам пайдо қилиш мумкинлиги аниқ тасдиқланган. Шундай қилиб фақат инсонларда кузатиладиган церебровисцерал бузилишлар ҳайвонларда ҳам тажриба ўтказиш орқали моделлаш имконияти яратилди.

1.2. Митохондриянинг таркибий тузилиши ва бажарадиган вазифалари

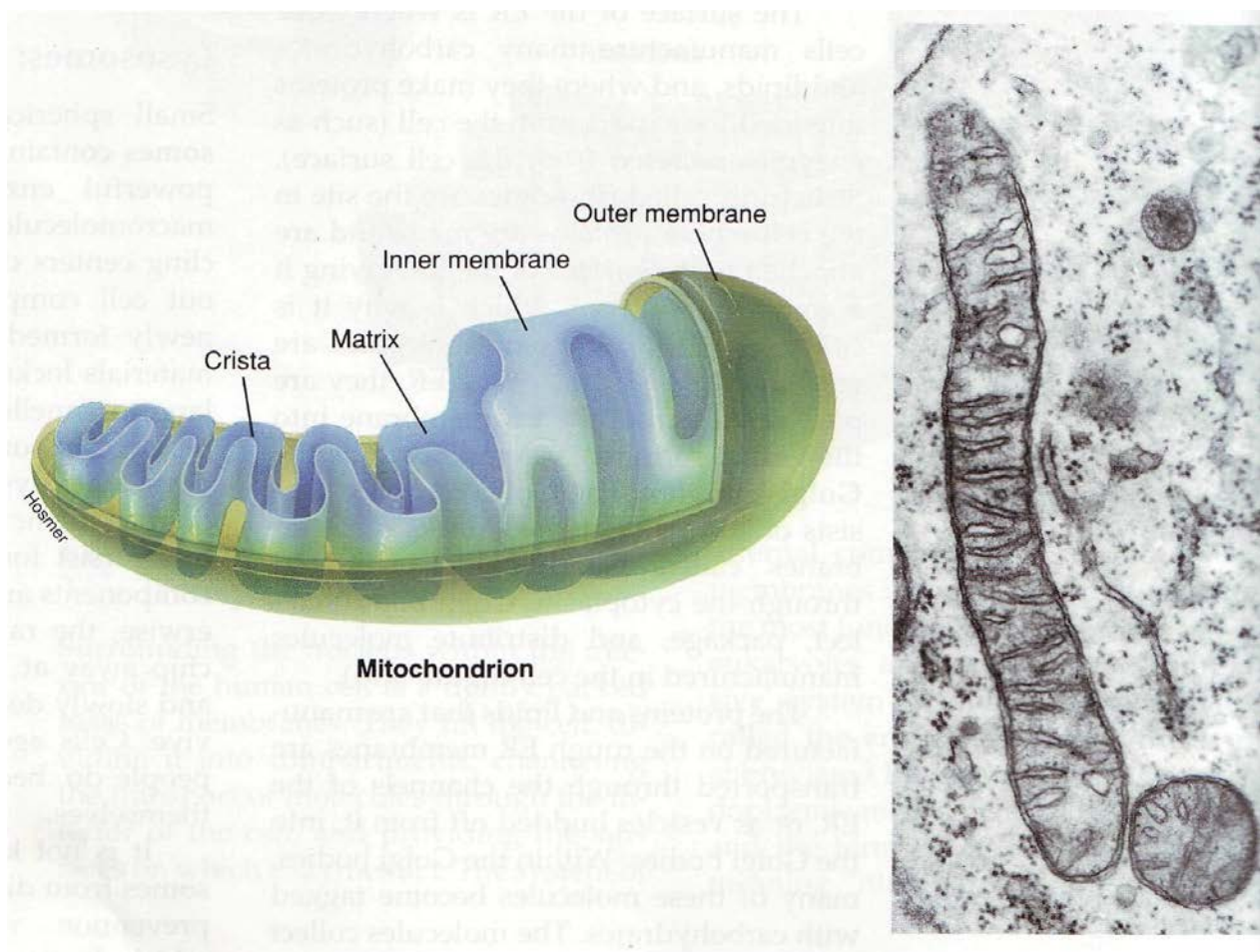
Митохондрия шарсимон, таёқчасимон ва ипсимон тузилишига эга. Унинг катталиги 0,2-5 мкм ни ташкил қилади. Битта ҳужайрадаги митохондрияларнинг сони бир неча донадан бир неча минггача бўлади [Скулачев В.П., 1969, 1989; Ленинджер А., 1966, 1985]. Митохондриялар ҳаракатланади, шаклини ўзгартиради, катта кичиклиги ҳам турлича бўлади. Улар бир-бири билан бирикиб узун тузилмалар ҳосил қилади. Митохондрияларнинг шакли ва катта-кичиклиги тўқима спецификасига 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.

Митохондриянинг оддий микроскопда кўриш мумкин, лекин уларнинг ички тузилишини электрон микроскопда кўринади. Митохондрия икки мембрана билан ўралган. Ташқи мембрана силлиқ юзини ташкил қилса, ички мембрана эса ичкарига параллел йўналган жўякчалар ҳосил қилади. Уларни “крита”лар деб аталади. Жўякчаларда электронларни ташилишида иштирок этувчи нафас олиш ва оксидланишли фосфорланиш жараёнида асосий роль ўйнайдиган турли энзимлар ва элементлар жойлашган.

Асосий бажарадиган вазифаси ҳосил бўлган энергияни биологик фойдали шакли энергияга айлантириш бўлган митохондрияларни ҳужайраларнинг «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 субҳужайравий даражада элементар функционал бирликни ташкил қилади. Масалан, жигар ҳужайраси митохондрияси 1500га яқин нафас



1 расм. Жигар хужайраларида митохондрияларнинг жойлашуви



2 расм. Жигар митохондриясининг тузилиши

олиш ансамблига эга. Улар тахминан ҳамма митохондриял мембрана-ларнинг чорак оғирлигини ташкил қилади.

Матрикс ўзида юзлаб энзимларни юқори концентрацияли аралашмаларини сақлайди. Шу жумладан пируват ва ёғ кислоталарини оксидланиши ва лимон кислотаси цикли учун керак бўлган энзимларни ҳам 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].

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 сақлайди. Ундан ташқари, бу мембрананинг таркибига липидларни реакцияга киришига қобилияти бўлган интермедиатга айлантирадиган энзимлар киради, улар матриксда кечадиган метаболик жараёнларда иштроқ қилишади.

Мембриналараро бўшлиқда бир қанча энзимлар жойлашган бўлиб, улар матриксдан чиқаётган АТФ ни ва бошқа нуклеотидларни фосфорилланиши учун фойдаланилади.

Митохондрия матриксда тахминан умумий оқсилларнинг 67 фоизи, ташқи мембранада 21 фоизи, ички мембранада 6 фоизи, мембриналараро бўшлиқда 6 фоизи жойлашган. Ана шу 4 та бўлаклар (компаратментлар) ўзининг бажарадиган фаолиятига мос келадиган маълум энзимлар гуруҳини сақлайди.

Митохондрияларнинг “крита”лари морфологияси ҳар хил ҳужайрадаги митохондрияларда турлича бўлади, аммо нима сабабдан турлича бўлиши халигача номалум. Ундан ташқари, митохондриянинг ўзида, у қайси ҳужайрада жойлашган бўлса, худди ўша ҳужайра учун керакли бўлган ва унга хизмат қиладиган махсус энзимларни сақлайди.

Ташқи мембранани ички мембранадан фарқларидан бири у жуда кўп миқдорда холестерол сақлайди, фосфолипидлардан фосфатидил-этанолламин, фосфатадилхолин ва фосфатидилинозитлар кўпроқ [Рекер Е.А. 1976; Алматов К.Т., 1990].

Ташқи мембрана ноорганик ионларни ва нисбатан йирик молекулали (молекула массаси 10 000 дан кам бўлмаган) модаларни, шу жумладан

аминокислоталарини, АТФ, сахароза, нафаснинг оралиқ махсулотларини ўтказаверади. Бундай юқори ўтказувчанликни асосий сабаби кенг “пора”ли (туйнук) оксилларнинг борлиги ҳисобланади.

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

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

Ички мембрана “крита” билан оксилларга жуда бой. Унда 25% липидлар, 75% оксиллар жойлашган. Бу оксилларнинг 1/3 периферик ва 2/3 интетрал оксиллардан ташкил топган. Ички мембранада холестерол жуда кам бўлади. Фосфолипидлардан фосфатидилхолин, кардиолипин ва фосфотидилэтаноламин, аммо фосфотидилинозит ва фосфатидилсерин жуда кам бўлади.

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

Шу сабабдан ҳам бу мембранада нафас олиш занжирини оралиқ махсулотлари каби моддаларни (пируват, лимон кислота цикли метаболитлари), аминокислоталарни, АТФ, АДФ, фосфат, Ca^{2+} ларни ўтказадиган ташувчи тизимлар жойлашган.

Ички мембранада электронларни (нафас олиш занжири) ташилишида қатнашадиган 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 кристалларда электрон микроскоп ёрдамида тумалоқ бошчали диаметри 7-9мм ли ва 4мм узун-ликдаги 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 анна 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 хамкорликда ишланишини, яъни бу жараёнда энергия ажралиб чиқишини амалга оширади [Тихонов А.Н., 1999].

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

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; Фильченков А.А., Абраменко И.В., 2001; Youle Y.T., 2000; Susin S.A. et al., 1998; Green D.R., Reed J.C., 1998; Залесский В.Н., Гавриленко Т.И., Фильченков А.А., 2002; Залесский В.Н., Великая Н.В., 2002 а, б; Залесский В.Н., Великая Н.В., 2003; Залесский В.Н., Фильченков А.А., 2003].

«Апоптоз» атамаси гречка «apoptosis» ўзбекчасига «баргни узилиб тушиши» деган маънони билдиради. Бу хужайрани программалаштирилган ўлими, яъни ўзини-ўзи халок қилиш деган маънони англатади.

Хужайра учун апоптоз - хамма ишни бажариб бўлгандан кейин халок бўлиши. 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 ҳужайрани аввалдан режалаштирилмаган ҳалокати бўлиб, бунинг натижасида на фақат ҳужайранинг ўзи, балки ёнида жойлашган бошқа ҳужайралар, демак ҳалок бўлади. Апоптозга қарама-қарши некроз ҳужайрани бошқарувчи тизими томонидан назорат қилинмайди, натижада ҳужайрадаги метаболик жараёнлар хаосга учрайди, липолитик ва протеолитик энзимларнинг гидролитик активликлари максимал даражада ишлайди.

Аммо апоптозни роли организмни индивидуал ривожланишини маълум бир босқичларида қатнашиши билангина чегараланиб қолмайди. Агар ҳужайрага вирус кириб қолса, ёки кислородни бир электронли тикланиши маҳсулоти бўлган захарли манбаа ўчоғига айланиб қолган ҳужайраларни апоптоз орқали йўқ қилинади. Натижада ёнида жойлашган соғлом ҳужайралар 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 ёпиб бекитадиган ингибиторлар томонидан йўқотилади.

Юқорида айтилаган “пора” лар - митохондрияда жуда қизиқиш уйғотадиган жумбоқ. Нима сабабдан митохондриянинг ички мембранаси нормада водород, калий, натрий ва хлор ионларини ўтказмайди, аммо “пора” ҳосил бўлиши билан ундан кичик молекулали ионларни ва массаси 1,5кДа дан паст бўлган ионлашмаган моддаларни ҳаммасини ўткази бошлайди?

“Пора”ни ҳосил бўлишини циклофилин катализлайди, унинг ингибитори бўлиб циклоспорин А хизмат қилади [Zoratti M., Szabo I., 1995]. Пора очилаганда митохондрия ҳужайранинг «электростанция» дан, фойдали энергияни тўпламасдан озиқа моддаларни кислород билан ёндирадиган ўчоққа айланади.

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

Митохондрияни гипотоник эритмада бўртириб-шиширганда ёки дигитонин детергенти таъсири остида қолдирилганда “апоп» тик эффеқт чақирилиши аниқланган. Бу иккала ҳолатда митохондриянинг ташқи мембранасида узилишлар кузатилади. Муаллифлар бу маълумотлар асосида митохондрикнинг 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. Уларнинг тахмини ажойиб равишда тасдиқланди. Митохондрия мембраналарини орасида жойлашган омилнинг молекула оғирлиги 50 кДа га тенг бўлган оқсил эканлиги маълум бўлди. Бу оқсил тозаланиб ядрога кўшилганда ҳужайрада типик “апоп” тик эффеқт кузатилди.

Бир қанча тадқиқотчилар [Kumar S., Harvey N.L., 1995; Thormberry N.A., Molineaux S.M., 1995] “апоптоз” чақирувчи янги оқсилни махсус ингибиторини топиш шарафига муяссар бўлишди. У N-бензилоксикарбонил-val-ala-asparto-метикетон (Z-VAD.fmk) проинтерлейкин – 1 b ни интерлейкин – 1 b га айлантирувчи протеазани ингибиторларидан бори бўлиб чиқди. Кейинги тажрибаларида Z-VDD.fmk ҳужайрага кўшилганда “апоптоз” ни тўхтатиши ва бу эффеқт фақатгина сут эмизувчи ҳайвон ҳужайраларигагина эмас, балки ҳашорат ҳужайраларига ҳам хос эканлиги аниқланди.

Кремернинг фикрича «апоптоз чақирувчи, яъни «ўзини-ўзи ҳалок қиладиган оқсил» митохондрияни ташқи ва ички мембраналарининг оралиғида

сақланади аммо ядрога кодланади. Муаллифлар тадқиқот ўтказишиб «ўзини-ўзи ҳалок қиладиган оксил» митохондрия ДНК сани сақламайдиган линия P^0 ҳужайрасининг митохондриясида топишди.

Шу олинган натижалар митохондриянинг структура ва функциясига бўлган қизиқишни янада кучайтиради. Аммо шу вақтгача эмоционал стресснинг ривожланиш динамикасида митохондрияларнинг нафас олиши ва оксидланишли фосфорланишига таъсири яхши ўрганилмаган. Хозирги пайтда митохондрия ҳужайрада кечаётган АТФ га боғлиқ турли физиологик биокимёвий жараёнларни нормал кечишини таъминлашдан ташқари жуда кўплаб бошқа реакцияларда иштрок этиши ва назорат қилиши аниқланган. Ана шу сабабли ҳам мен ўз олдимга эмоционал стрессда ҳужайранинг энергетик метаболизмидаги ўзгаришлари ўрганишни мақсад қилиб қўйдим.

2 БОБ. АШЁЛАР ВА УСЛУБЛАР

2.1. Каламушларда сурункали эмоционалли стресс моделини яратиш

Тажрибада стресс моделини яратиш учун каламушларни ҳар бир гуруҳда 6 – 8 тадан иборат бўлган 10 та гуруҳларга ажратилди. Тажриба ўтказиш учун олинган 1 ва 2 гуруҳдагилар 24 соат, 3 ва 4 гуруҳдагилар 1 ҳафта, 5 ва 6 гуруҳдагилар 2 ҳафта, 7 ва 8 гуруҳдагилар 3 ҳафта, 9 ва 10 гуруҳдагилар 1 ой давомида виварий шароитида сақланди. Стресс таъсирини аниқлаш учун тажрибага олинган каламушларни тор катакка қимирламайдиган қилиб жойлаштирилди ва панжа ва дум териларига ҳар куни 30 дақиқа давомида электр токи (токни частотаси 50 Гц, кучи 30 В, дақиқасига импульс частотаси 7 та, импульс орасидаги масофада 0,5 секунд) таъсир эттирилди. 1, 3, 5, 7 ва 9 чи гуруҳлардаги каламушларни назорат учун қолдирилди ва эркин ҳаракат қилишига шароит яратилди. 2 чи гуруҳдаги каламушларни 24 соат, 4 гуруҳдагиларни 1 ҳафта, 6 гуруҳдагиларни 2 ҳафта, 8 гуруҳдагиларни 3 ҳафта ва 10 гуруҳдагиларни 1 ой давомида электр токи билан руҳий зарба бериб турилди [Sudakov K.V., 1984; Абдуллаев Г., Иргашева Г.М., Клемешева Л.С., Алматов К.Т., 2007]. Охирги марта стресс берилгандан кейин тажрибадаги ва назоратдаги каламушларнинг бош мия қопқоғи тезлик билан очилиб мияси ажратиб олинди ва митохондриялари ажратиб олиниб нафас олиши ва АТФ синтезлаш хусусиятлари ўрганилди.

Тажрибага қўйилган кўпчилик ҳайвонларни қорин бўшлиғи очиб кўрилганда ошқозон шиллиқ қаватинида яралар ва улардан қон чиқиб туриши, буйрак усти безларини массасини кўпайиши, тўқиманинг кўриниши назоратдагидан бошқачароқ бўлиши аниқланди ва бу натижа бошқа муаллифларнинг олган натижаларига мос келди [Sudakov K.V., 1984].

2.2. Каламушларнинг бош миясидан митохондрияларни ажратиб олиш

Каламушларнинг бош миясидан митохондрияни дифференциал центрифуга ёрдамида ажратилади [Hogeboom G.N., Sochneider W.C., 1948; Алматов К.Т. ва бошқалар., 1993а]. Декапитация қилинган каламушларнинг бош мияси тезлик билан олиниб совутилган ажратиш муҳитига – сахароза 0,3 М; трис-НС1 – буфер 10мМ (рН 7,4) ва 10 мМ этилендиамидтетраацетатга (ЭДТА) солинди. Ажратиш муҳити ҳарорати 1-2⁰С атрофида бўлиши керак. Бош мия қайчи билан бир неча бўлақларга бўлиниб, қондан тозаланади ва диаметри 1мм ли тешикчалари бўлган микромайдалагичга солиниб, майдаланди. Майдаланга жигарни молибден шишадан тайёрланган гомогенизаторга солиниб. Устига ҳар 1г тўқимага 8-10мл дан ажратиш муҳити қуйилди ва 40-60 сония давомида тефлонли пестик билан гомогенизация қилинди. Гомогенат полиэтиленли центрифуга пробиркаларига қуйилди. Пробиркалар тарозида тортилиб (қарама - қарши томонга қўйилган пробиркалар бир хил оғирликка келтирилиши шарт) центрифуга роторига солинди ва 10 дақиқа давомида (1700-1800 айланиш дақиқада 600g тезликда) центрифуга қилинди. Чўкмага гомогенизация жараёнида парчаланишга улгурмаган хужайралар ва ядролар тушди. Устидаги суюқлиги (супернатант) бошқа тоза пробиркага қуйилди ва яна тарозида тортилиб бир хил оғирликка келтирилгандан кейин центрифуга роторига солинади. 20 дақиқа 6000g тезлигида оғир ва ўта оғирликдаги митохондриялар чўкмага тушди. Супернатант тўкиб ташланади. Бунда енгил фракцияли митохондриялар, микросомалар ва лизосомалар бўлади. Пробирка деворларида ёпишиб қолган ёғсимон моддаларни фильтр қоғоз билан тозалаб артиб олинди. Чўкмадаги митохондрияларга 2-3 мл таркибида этилендиаминтетраацетат (ЭДТА) бўлмаган ажратиш муҳити солиниб, совитилган шиша таёқча билан яхшилаб аралаштирилди. Устига 1:10 нисбатида (агар 10г бош мия бўлса 100 мл ажратиш муҳити қуйилади) таркибида ЭДТА си бўлмаган ажратиш муҳити

қуйилди ва яна ўша тезликда центрифуга қилинади. Бунда иккинчи маротаба центрифуга қилинганда митохондриялар билан қўшилиб тушган лизосома ва микросомалардан тозаланди ва ЭДТАдан фойдаланишдан мақсад – интакт, яъни АТФ синтезлаш хусусияти сақланган митохондрияларни ажратиб олиш. ЭДТА икки валентли катионларни, асосан кальций катионини (фосфолипазаларнинг активаторларини) ўзига бириктириб олиши натижасида фосфолипазалар фаолсиз ҳолатга ўтади. Лекин, ажратиб олинган митохондриялардан ЭДТА ни ювиб ташлаш керак. Шу сабабли ҳам сўнги центрифугалашда ЭДТАсиз ажратиш муҳитидан фойдаланилди. Ундан кейин, чўкмага тушган митохондрияларнинг устига 2-3мл ажратиш муҳити солиниб (ЭДТАсиз), шиша таёқча билан яхшилаб аралаштирилди. Митохондрияларни тажриба тугагунча 1-2°C ҳароратдан сақланиши керак. Ҳароратнинг ошиши эндоген фосфолипаза ва протеазаларни фаоллигини тезлашишига ва натижада митохондриянинг АТФ синтезлаш хусусиятини йўқолишига олиб келади.

2.3. Митохондрияларнинг нафас олиши ва оксидланишли фосфорланишини аниқлаш

Митохондрияларнинг нафас олиши ва оксидланишли фосфорланиши полярография усули билан аниқланди [Алматов К.Т. ва бошқ, 1993б]. Бунинг учун полярография идишчасига “ячейка” 1 мл ўлчаш муҳити (сахароза 250мМ, KCl 50мМ, KH_2PO_4 5мМ, pH 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 дан 3-4мг оқсил сақловчи) қўшилади. Митохондрия нафас олабошлайди (V_2 ҳолат), яъни митохондрия ўлчаш муҳитидаги кислородни истеъмол қилабашлайди, орадан 30-40 сония ўтиши билан ячейкага 200 мкМ АДФ солинди, бунда 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 ($НОК_ч$) аниқланади (V_3/V_4) [Chance B, Williams G.R 1955]. Ундан ташқари, митохондриянинг АТФни синтезлаш фаолиятини баҳолашда АДФ/О (Р/О) коэффицентида ҳам фойдаланилади. Бунда митохондрияга қўшилган АДФ нинг барчаси тўла АТФ синтезланиши пайтида сарфланган кислороднинг миқдorigа нисбати ўлчанади. Бу нисбат қанча катта бўлса митохондриянинг энергия ишлаб чиқариши ўшанчалик сезиларли бўлади. Назария бўйича митохондрияда сукцинатни оксидланишда 2 та, НАД га боғлиқ субстратларнинг оксидланишида 3 та молекула АТФ ҳосил бўлиши керак. Амалда, яхши ҳолатда ажратиб олинган митохондрияларда АДФ/О сукцинат оксидланишида 2 мол га яқин, НАД га боғлиқ субстратларнинг оксидланишида эса 3 мол га яқин АТФ ҳосил бўлади.

Ячейкага оксидланишни фосфорланишдан айирувчи 2,4-динитрофенол (ДНФ) қўшилса митохондриянинг нафас олиши кескин тезлашиб кетади. Қўшилган ДНФ тугагунча анна шу даражадаги нафас олиш тезлиги давом этади. Буни эркин оксидланиш деб аталади. Ячейкага қўшилган ДНФ миқдори $5 \cdot 10^{-5} M$ ни ташкил қилади. Ўлчаш муҳит ҳарорати $25^{\circ}C$ атрофида бўлиши керак. Митохондриялардаги оксил миқдори Лоури ва бошқалар (Lowry O.H. et al., 1951) усули билан аниқланди. Митохондрияларнинг нафас олиш тезлиги, нанограмм атом кислород/дақиқа мг оксилда ифодаланади.

2.4. Оқсил миқдорини аниқлаш

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

а) Фолин реактивини таёрлаш 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 холодильникда сақланди. Бу реактивдан узок вақт давомида фойдаланиш мумкин.

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

в) 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.

Митохондриялардаги оқсил миқдори фотоэлектрокалориметрни қизил ёруғлик фильтрида таркибида тўқимадан ташқари барча қўшимчалар бўлган эритмага нисбатан аниқланди.

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

Хар бир гуруҳда 3 тадан 5 та гуруҳдан иборат пробиркалар тайёр-ланади: 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

0,2мл альбумин (2мг) ва 0,2мл сув қуйилади. Хамма пробиркалардаги эритманинг хажми 0,4мл бўлиши керак.

Сўнгра пробиркаларга 2,5мл С реактиви қўшилди, орадан 10 дақиқа ўтгач 0,25мл Е реактиви қўшилди ва яхшилаб аралаштирилди. Пробиркалар қоронғи жойда 30 дақиқа сақлангандан кейин фотоэлектрокалориметрда (қизил ёруғлик филтёрда) оксил миқдори ўлчанди. Хар бир пробиркалардан (3та 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 катталики (M), ўртача хатолики (m), ишончилилик кўрсаткичи (t ва p)лар аниқланди. P катталик 0,05 дан кичик бўлганини ишончилилик кўрсаткич деб олинди [Алматов К.Т. ва б., 1993].

3 БОБ. ОЛИНГАН НАТИЖАЛАР ВА УЛАРНИНГ ТАҲЛИЛИ

3.1. Стрессда каламуш бош мияси митохондрияларининг нафас олиши ва оксидланишли фосфорланишидаги ўзгаришлар

Митохондрияларнинг нафас олиши ва оксидланишли фосфорланишини аниқлаш учун полярография идишчасига “ячейкасига” 1 мл ўлчаш мухити (сахароза 300мМ, KCl 50мМ, KH_2PO_4 5мМ, pH 7,4) қуйиб, устига оксидланиш субстратларидан 10мМ глутамат ва 0,06мл митохондрия қўшдим. 3.1 жадвалдан кўриниб турипти, митохондрия ўлчаш мухитидаги кислородни истеъмол қилабашлади (V_2 ҳолат) ва у барча муддатларда 12-13 нанограм атом кислород/дақиқа мг оксилни ташкил қилди. Бу натижани биз жадвалга киритмадик. Орадан 30-40 сония ўтиши билан ячейкага 200 мкМ АДФ солдим, бунда бирданига митохондриянинг нафас олиши кескин тезлашиб кетди, буни оксидланишли фосфорланишли ҳолат (V_3) деб аталади ва у 37,8-41,6 нанограм атом кислород/дақиқа мг оксилни ташкил қилди. Қўшилган АДФ нинг хаммаси АТФ га айланиб бўлгандан кейин митохондриянинг нафас олиши кескин секинлашди. Буни ишлаб бўлгандан кейинги дам олиш ҳолати (V_4 ҳолат) деб аталади ва у 12,0-12,7 нанограм атом кислород/дақиқа мг оксилни ташкил қилди. Митохондриянинг нафас олиш кўрсаткичи Чанс услуби билан (НОК_q) аниқладим (V_3/V_4) [Chance B, Williams G.R 1955]. Демак, митохондриянинг нафас олиши АДФ қўшилганда қанча тез бўлса, ўшанча кўп АТФ синтезланади. Ундан ташқари, митохондриянинг АТФни синтезлаш фаолиятини баҳолашда АДФ/О (Р/О) коэффициентидан ҳам фойдаланилади. Бунда митохондрияга қўшилган АДФ нинг барчаси тўла АТФ синтезланиши пайтида сарфланган кислороднинг миқдорига нисбати ўлчанади. Бу нисбат қанча катта бўлса митохондриянинг энергия ишлаб чиқариши ўшанчалик сезиларли бўлади. Чанс бўйича нафас олиш кўрсаткичи 3,15-3,37 ларга тенг бўлди. Назария бўйича митохондрияда глутаматниоксидланишда 3 молекула АТФ ҳосил бўлиши керак,

Жадвал 3.1

Стрессни ривожланиш динамикасида каламуш бош мияси митохондрияларида
глутаматни оксидланиши тезлигидаги ўзгаришлар

($M \pm m$; $n = 8 - 10$).

Тадқиқот ўтказиш муддати	Вариант	Нафас олиш тезлиги, нано-грамм атом кислород /дақиқа мг оқсил		ДК _ч	АДФ/О
		V ₃	V ₄		
1- чи хафта	Назорат	40,0±3,4	12,1±1,5	3,30±0,12	2,65±0,07
	Тажриба	45,5±4,2	13,0±1,7	3,50±0,10	2,78±0,08
	%	113,8	107,2	106,0	104,9
2 –чи хафта	Назорат	37,8±3,2	12,0±1,4	3,15±0,10	2,70±0,09
	Тажриба	49,9±4,6 ^{****}	15,1±1,8	3,30±0,11	2,81±0,08
	%	132,0	125,6	104,7	104,1
3 – чи хафта	Назорат	41,6±3,9	12,7±1,6	3,27±0,12	2,66±0,08
	Тажриба	45,2±4,1	15,2±1,7	2,97±0,10 [*]	2,58±0,07
	%	108,6	119,7	90,8	97,0
1 – чи ой	Назорат	40,0±2,8	12,2±1,3	3,28±0,13	2,74±0,07
	Тажриба	32,1±2,3 ^{**}	15,3±1,4 [*]	2,10±0,09 ^{****}	2,41±0,06 [*]
	%	80,2	125,4	64,0	87,9
2 – чи ой	Назорат	38,8±3,3	12,0±1,2	3,23±0,12	2,69±0,10
	Тажриба	26,5±2,1 ^{****}	15,6±1,5 ^{**}	1,70±0,08 ^{****}	2,05±0,08 ^{****}
	%	68,4	130,0	52,6	76,2
3 – чи ой	Назорат	40,8±2,2	12,1±1,2	3,37±0,13	2,72±0,08
	Тажриба	24,5±2,0 ^{****}	15,8±1,6 ^{**}	1,55±0,11 ^{****}	1,88±0,07 ^{****}
	%	60,2	130,6	46,0	69,1

аммо амалда 3 га яқин АТФ хосил бўлади. Мен ажратиб олган митохондриям сукцинатни оксидланишида 2,65 – 2,72 ммоль АТФ хосил бўлди. Демак, мен ажратиб олган митохондриямнинг глутамат билан оксидланиши ва оксидланишли фосфорланиши, Чанс бўйича нафас олиш кўрсаткичи ва АДФ/О коэффиценти адабиётлардаги маълумотларга тўғри келади [Chance B, Williams G.R 1955; Скулачев В.П., 1969; Алматов К.Т., 1990; Алматов К.Т. ва бошқалар, 1993б].

Новбатдаги тажрибамиз, эмоционал стрессда бош мия митохондрияларининг нафас олишида ва оксидланишли фосфорланишида қандай ўзгаришлар бўлишини аниқлашдан иборат бўлди.

Тажрибага олинган ҳайвонларга стресс таъсир этириш бошлангандан кейин орадан 1 ҳафта ўтгач глутаматни бош мия митохондриясининг 3 ва 4 метаболик ҳолатлардаги оксидланиши 13,8 ва 7,2 % ларга кўпайди, натижада Чанс бўйича нафас олиш кўрсаткичи 6,0 % га, АДФ/О коэффиценти эса 4,9 % га ошди. Демак, стресснинг бошланишида бош мия митохондрияларида нафас олиш ва АТФ синтезлаш тезлиги ошабошлайди.

Стресс берилиш муддати 2 ҳафтага етганда бош мия митохондрияларининг нафас олиш тезлиги 1 ҳафтадаги кўрсаткичларга нисбатан янада кучая бошлайди, аммо фосфорланишли оксидланиши (V_3) кўрсаткичларида сезиларли ўзгариш кузатилмайди. Бунда глутаматни 3 ва метаболик ҳолатлардаги оксидланиши назоратдаги кўрсаткичларга нисбатан 32,0 ва 25,6 % ларга тезлашди, Чанс бўйича нафас олиш кўрсаткичи ва АДФ/О коэффиценти, атиги 4,7 ва 4,1 % ларгагина ошди. Бу олинган натижа, стрессни бошланишида, яъни хавотирланиш босқичида, субстратлардан электронларни нафас олиш занжири бўйлаб молекуляр кислородга кучайиб, АТФ синтезланиш жараёни оша бошлайди.

Стресс таъсир этиш жараёни 3 ҳафтага етганда, яъни резистентлик босқичида глутаматни фосфорланишли оксидланишини ошиш тезлиги 2 ҳафтада

олинган кўрсаткичга нисбатан камая бошлади ва назоратдаги кўрсаткичга яқинлашди, бунда митохондриянинг 4 ҳолатдаги нафас олиш тезлиги юқориликча қолди (назоратдаги кўрсаткичга нисбатан 19,7 % га ошди). Фосфорланишли оксидланишни пасайиши натижасида Чанс бўйича нафас олиш кўрсаткичи 9,2 % га камайди, аммо АДФ/О коэффициенти эса ҳеч қандай ўзгаришга учрамади.

Стреес берилгандан кейин орадан 1 ой зтгач, яъни рестентлик босқичини охирларида бош мия митохондрияларида нафас олиш билан оксидланишли фосфорланишини бир-биридан ажралиши кузатила бошлади. Бунда глутаматни фосфорланишли оксидланиш тезлиги назоратдаги кўрсаткичга нисбатан 19,8 % га секинлашди, 4-чи ҳолатдаги оксидланиши (V_4) эса, аксинча 25,4 % га тезлашди. Бу ўзгаришлар натижасида Чанс бўйича нафас олиш кўрсаткичи 36,0 % га, АДФ/О коэффициенти эса 12,1 % ларга камайди. Демак, митохондрияларда АТФ синтези камая бошлади. Бизнинг назаримизда, хавотирланишни охири ва резистентликни бошланишида бош мия митохондрияларида цитозол билан митохондрия матриксларида махсус транспорт тизими – транслоказа томонидан амалга ошириладиган адениннуклеотидларнинг алмашинуви ($АТФ^4/АДФ^3$) бузила бошлайди. Klingenberg M., [1980] транслоказа – оксидланишли фосфорланиш тизимини энг тор жойи, ва бу тизимнинг ишлаш режими транслоказани фаоллигига боғлиқ деб ҳисоблайди. Юқори махсусликка эга бўлган ингибиторлардан бири атрактилат (ўсимликлардан олинган) ва бонгкрекат (бактериялардан олинган) лар билан ўтказилган тадқиқотлар ёрдамида транслоказани фаолиятини молекуляр механизми (дарвоза пора” принципида ишлаши аниқланди [Klingenberg M. et al., 1983]. Флуоресцентли зондлар ёрдамида мембранада ҳам немобил ташувчилар (махкамлаб ўраншаг дарвоза пораси), ҳам мембрана юзасида айланма ва латерал диффузияларни амалга оширувчи мобилли ташувчилар фаолият кўрсатишини кўрсатишган [Muller M., Krebs J.J.R., Cherry R.J., Kawato S., 1984]. Транслоказага хос бўлган хусусият – унинг электрогенлиги. Бу, энергиялашган

митохондрияларда нуклеотидларни ташилиши хар доим бир йўналишга: АДФ цитозолдан митохондрияга, АТФ – митохондриядан цитозолга йўналган бўлишини билдиради. Бунда K_m экзоген АДФ га нисбатан, экзоген АТФ учун 100 мартадан кўпроқ; АТФ/АДФ цитозол : АТФ/АДФ митохондрия нисбати мембрана потенциали размерига боғлиқлиги тўғри чизиқли бўлади [Klingenberg M., 1980]. Хозирги пайтда митохондрияни нафас олишини бошқарадиган, транслоказани фаоллигига таъсир кўрсатадиган физиологик метаболитлар ролини КоА- эфирлари ва узун занжирли ёғ кислотлари бажаришини аниқлашган. Булар транслоказага таъсир кўрсатадиган жуда хам кучли ингибитор эканлиги ўрганилган. Бу бирикмалар митохондрия мембранасини хар икки томонидан бир хилда кучли таъсир кўрсатади [Wojtczak L., 1976]. Стрессда, айниқса хавотирланиш фазасида ва резистентлик фазасини бошланишида бош мия тўқимасида эркин ёғ кислоталарининг миқдори кескин кўпайиши аниқланган [Абдуллаев Г.К., 2010]. Натижада АДФ ни цитозолдан митохондрияга ташилиши секинлашади. Адениннуклеотидларни транслоказани АТФ-синтаза ва оксидланиш энзимлари тизими билан синхрон ишлаши адениннуклеотидларни митохондрия ичидаги мажмуаси назорати остида бўлади ва ана шу мажмуани кўп-озлигига тўғри боғлиқли холатда бўлади [Klingenberg M., Heldt H.W., 1982].

Стресс таъсирни давом этиш муддатини янада ошиб бориши, яъни мадорсизланиш босқичида бош мия митохондриясининг нафас олиш тезлиги ва АТФ синтезлаш самарадорлиги пасайди ва бу жараён стрессни давом этишига мос холда кучайди. Агар, стресс таъсир берилгандан кейин 2 ой ўтгач митохондриянинг фосфорланишли оксидланиши назоратдаги кўрсаткичга нисбатан 31,6 % га пасайса, 3-чи ойда бу пасайиш 39,2 % ни ташкил қилди. Бунда митохондриянинг нафас олиш тезлиги 4 холатда 2-чи ойда назоратга нисбатан 30,0 % га ошса, 3-чи ойда хам ана шу кўрсаткич сақланиб қолди, яъни 30,6 % га ошди. Фосфорлоанишли оксидланишни пасайиши ва 4 холатдаги оксидланишни, яъни тинчлик холатдаги нафас олишни кучайиши Чанс бўйича

нафас олиш кўрсаткичи ва АДФ/О коэффицентини 2 – чи ойда 47,4 ва 23,8 % ларга, 3-чи ойда эса – 54,0 ва 30,9 % ларга камайишга олиб келди. Бу олинган натижа, стрессни мадорсизланиш босқичида бош мия митохондриясида нафас олиш билан фосфорланишли оксидланишни бир-биридан ажралиши натижасида АТФ синтезини камайишига олиб келишини билдиради. Митохондрия ичидаги адениннуклеотидларнинг, аникроғи АТФ нинг миқдори бошқарувчи бўлиб фаолият кўрсатади. Улар транслоказа ва АТФ-синтаза фаолликларини назорат қилиш билан бирга, айти пайтда нафас олиш ва АТФ генерацияси тезлигини аниқлайди.

Шундай қилиб, рухий оғриқли зарбани бошланишида – хавотирланиш стадиясида бош мия митохондрияларининг нафас олиши ва фосфорланишли оксидланиши, яъни АТФ синтези кучаяди. Стресс таъсирни давом этиш муддатини ошиши – резистентлик стадиясида митохондрияларда нафас олиш ва фосфорланишни бир-биридан “енгилгина” ажралиши митохондрия ички мембранасида протон ўтказувчанлигини ошиши йўли билан кузатилади. Мадорсизланиш стадиясида митохондрияда нафас олишни фосфорланишли оксидланишдан ажралиши сезиларли даражада кучая бошлайди. Натижада ҳужайраларда АТФ иштрокида бўладиган турли физиологик ва биокимёвий жараёнлар АТФ етишмаслигидан кескин пасаяди, айти пайтда митохондриянинг ўзидаги таркибий ўзгаришлар кучайиб бажарадиган вазифаларини удалай олмайди, ва оқибат натижада “апоптоз” жараёнлари бошланади. “Апаптоз” жараёнини бошқа ҳужайра тарқалишини кучайиши тўқима, аъзоларни ва оқибат натижада организмни халок бўлишига олиб келади.

ЯКУН

Олинган натижаларни хар томонлама тахлил қилиб шуни айтиш мумкин, организмга рухий оғриқли зарба берилишини бошланишида, яъни Ганс Селье бўйича хавотирланиш стадиясида бош мия митохондрияларининг нафас олиши - кислород истеъмоли ва фосфорланишли оксидланиши, яъни АТФ синтези кучаяди. Шу сабабдан хам биринчи фазани стресс жараёнларини ўрганаётган олимлар жадал фаоллашув фазаси хисоблашади. У таъсирот пайдо бўлиши билан намоён бўлади ва гипоталамус хамда марказий асаб тизимининг бошқа қисмларида норадреналинни ишлаб чиқарилиши билан ифодаланади. Бу эса ўз новбатида бош миянинг адренергик тизимларини фаоллашувига ва гуморал-гормонал бошқарилув механизмларини рағбатланишига олиб келади. Бу фаза пайтида буйрак усти безларининг фаоллигини ошиши (адреналинни қонга чиқарилиши ва безнинг ўзида унинг миқдорини юқори даражада сақланиши) ва адреналинни кўплаб юракка келиши кузатилади.

Стресс таъсирни давом этиш муддатини ошиши – резистентлик стадиясида митохондрияларда нафас олиш ва фосфорланишни бир-биридан “енгилгина” ажралиши бошланади, бу жараён митохондрия ички мембранасида протон ўтказувчанлигини ошиши йўли билан амалга ошади. Иккинчи фаза, мутахассис олимларнинг фикрича узоқ вақт турғун фаоллашган фаза хисобланади. Қонга адреналин ишлаб чиқарилишини кучайиши ва қонда унинг миқдорини кўпайиб кетиши ва айни пайтда буйрак усти безларида адреналин миқдорини камайиб бориши кузатилади. Юракнинг адренергик нерв учлари томонидан норадреналин ишлаб чиқарилиши ва унинг синтез тизимини фаоллашувини кузатилади. Жигарда адреналин миқдори кўпайиши кузатилади ва бу ўз новбатида гликогенни парчаланишига олиб келади, натижада аъзо ва тўқималарни глюкоза билан таъминланишини кучайтириб юборади. Қонда адреналин миқдорини кўпайиб кетиши натижасида унинг кўпчилик қисми

гипоталамик соҳага ва миянинг бошқа қимларига гемато-энцефалик тўсиқ орқали ўтиб кетади.

Мадорсизланиш стадиясида бош мия митохондрияларида нафас олиши ва фосфорланишли оксидланишдан ажралиши сезиларли даражада кучая бошлайди. Натижада ҳужайраларда АТФ иштрокида бўладиган турли физиологик ва биокимёвий жараёнлар АТФ етишмаслигидан кескин пасаяди, айти пайтда митохондриянинг ўзидаги таркибий ўзгаришлар кучайиб бажарадиган вазифаларини уддалай олмайди, ва оқибат натижада “апоптоз” жараёнлари бошланади. “Апаптоз” жараёнини бошқа ҳужайра тарқалишини кучайиши тўқима, аъзоларни ва оқибат натижада организмни халок бўлишига олиб келади. Учинчи фаза – мадорсизланиш фазасида организм тўқима ва аъзолари ўзларининг вазифаларини бажариши қийинлаша бошлайди. Симпато-адренал фаолиятни пасайиши (асосан гормон ва периферик қисмларда медиаторларни ишлаб чиқарилиши) билан ифодаланади. Буйрак усти безларида адреналинни миқдори кескин камайиб кетади, адреналаинни қонга чиқарилиши камаяди, гипоталамусдан ташқари юракда ва бошқа барча тўқималарда норадреналин миқдори камаяди. Гипоталамусда норадреналин миқдори камаймайди ва адреналин учун гемато-энцефалик тўсиқни ўтказувчанлигини ошиб кетиши давом этаверади.

ХУЛОСА

1. Организмга оғриқли рухий зарба берилишини бошланишида, яъни Ганс Селье бўйича хавотирланиш стадиясида бош мия митохондрияларининг нафас олиши - кислород истеъмоли ва фосфорланишли оксидланиши, яъни АТФ синтези кучайиши аниқланди.
2. Стресс таъсирни давом этиш муддатини ошиши, яъни резистентлик стадиясида митохондрияларда нафас олиш ва фосфорланишни бири-биридан “енгилгина” ажрала бошлаши аниқланди.
3. Стресс таъсирни организмга таъсирини узоқ вақт давом этиши, яъни мадорсизланиш стадиясида бош мия митохондрияларида фосфорланишни оксидланишдан ажралиши – АТФ синтезини пасайиши сезиларли даражада кучая бошлайди.

АДАБИЁТЛАР

1. Абдуллаев Г., Иргашева Г.М., Клемешева Л.С., Алматов К.Т. Изменение некоторых физиологических показателей организма в динамике хронического эмоционального стресса / Давлат ва жамоат арбоби академик Акмалжон Қосимовнинг 70 йиллигига бағишлаб ўтказилган «Физикавий-кимёвий биология ва биотехнологиянинг истиқболлари» мавзусидаги илмий-амалий анжуман материаллари. 2007 йил 15-16 июн. Андижон, 2007, б. 268-269.
2. Абдуллаев Г.Р. Влияние катацина и бензонала на обмен липидов головного мозга крыс в динамике развития хронического эмоционального стрессе. / Материалы XLVIII международной научной студенческой конференции «Студент и научно-технический прогресс». Биология. 10-14 апреля. Новосибирск, 2010, С.15.
3. Алматов К.Т. Механизмы развития повреждений мембран митохондрий и роль липолитической системы: Автореф. дис. ... докт. биол. наук: Институт биохимия АНРУз., 1990. - 32 с.
4. Алматов К.Т., Ахмеров Р.Н. и др. Методические указания к лабораторным занятиям по курсу «Физиологик человека и животных / Ташкент: Университет, часть 1, 1993 а. - 51с.
5. Алматов К.Т., Ахмеров Р.Н. и др. Методические указания к лабораторным занятиям по курсу «Физиологик человека и животных / Ташкент: Университет, часть 2, 1993 б. - 55с.
6. 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.
7. Бакеева Л.Е., Ченцов Ю.С. Митохондриальный ретикулум: Строение и некоторые функции. Итоги науки. Общие проблемы биологии. Москва: Изд-во МГУ, 1989.

8. Васильев В.Н. Здоровье и стресс. М., 1991.
9. Залесский В.Н., Гавриленко Т.И., Фильченков А.А. Апоптоз при ишемии и реперфузии миокарда. // Врач. дело, 2002, №1, С. 8-15.
10. Залесский В.Н., Великая Н.В. Механизмы апоптоза при заболеваниях печени. // Современной проблемы токсикологии, 2002 б, №4, С. 27-32.
11. Залесский В.Н., Великая Н.В. Механизмы цитотоксических эффектов активных молекул кислорода и развитие апоптоза. // Совр. проблемы токсикологии, 2002 а, №1, С. 11-17.
12. Залесский В.Н., Великая Н.В. Антиапоптотические, проапоптотические и антиоксидантные реакции молекул флавоноидов - растительных фенолов. // Проблемы харчування, 2003 а, №1, С. 38-43.
13. Залесский В.Н., Фильченков А.А. Перспективы патогенетически обоснованного применения модуляторов апоптоза в качестве нейро-, кардио-, гепато- и нефроцитопротекторов. // Совр. проблемы токсикологии, 2003, №4, С. 64-70.
14. Кассиль Г.Н. Наука о боли. Москва: Наука. 1975.
15. Ленинджер А. Митохондрия. Молекулярные основы структуры и функции. Москва: Мир, 1966. 316с.
16. Ленинджер А. Бионэнергетика и метаболизм. Основы биохимии. Москва: Наука, 1985. – Т.2. - С. 439-550.
17. Меерсон Ф.Э. Адаптация, стресс и профилактика. Москва: Наука, 1981. 278 С.
18. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных повреждений сердца. Москва: Медицина. – 1984. – с.269.
19. Меерсон Ф.З., Дмитриева А.Д., Заяц В.И., Манухинова Е.Б. Предупреждение нарушений функций сердца при экспериментальном инфаркте миокарда с помощью адаптации к стрессорным воздействиям и роль опиоидных пептидов в этом явлении. Метаболизм миокарда. Москва: Медицина. – 1988. 186-188.

20. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. Москва: Медицина. 1989. – 254 с.
21. Меерсон Ф.З., Кузнецов В.И. Формирование механической защиты к непрерывному стрессу. // Кардиология. – 1991, - №5, - с.89-91.
22. Новиков В.С. Программированная клеточная гибель. Санкт-Петербург, 1996.
23. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. Москва: Медицина. 1960. 254 С.
24. Селье Г. На уровне целого организма. Москва: Наука. 1972.
25. Селье Г. Стресс без стресса. Москва: Прогресс, 1979. 123 С.
26. Скулачев В.П. Аккумуляция энергии в клетке. Москва: Наука, 1969. - 493 с.
27. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран. Москва: Наука, 1989, 564 с.
28. Скулачев В.П. в своем межмембранном пространстве митохондрия таит «белок самоубийства», который, выйдя в цитозоль, вызывает апоптоз./ Биохимия, 1996, т.61, вып.11, с. 2060-2063.
29. Тигранян Р.А. Стресс и его значение для организма. Москва: Наука. 1988. 174 с.
30. Тихонов А.Н. молекулярные моторы. Часть 1. Вращающиеся моторы живой клетки./ Сорровский образовательный журнал, 1999, №6, с. 8-16.
31. Яффе М., Шатц Г. Будущее исследований митохондрий. Перспективы биохимических исследований. Москва : Мир, 1987, с. 137-143.
32. Ченцов Ю.С. Общая цитология, Москва: Изд-во МГУ, 1995.
33. Ченцов Ю. С. Хондриом - совокупность митохондрий клетки./ Соросовский образовательный журнал, 1997, №12 с. 10-16.
34. Хитров Н.К. Головные различия резервных возможностей гипоталамо-адренокортикальной системы у крыс. БЭБМ. – 1991, - №11, - с.348-350.

- 35.Хмельницкий О.К., Ступина А.С. Функциональная морфология эндокринной системы при атеросклерозе и старении. Ленинград. – 1989, - с.247.
- 36.Федоров Б.М. Стресс и система кровообращения. Москва: Медицина. 1991.
- 37.Фильченков А.А., Абраменко И.В. Апоптоз в патогенезе заболеваний человека. – Киев: ДНА, 2001. 120с.
- 38.Chance B., Williams G.R. Respiratory enzyme in oxidative phosphorylation. Iv. Respiratory chain. J. Biol. Chem., 1955, V.217, N 2,p.429-444.
- 39.Green D.R., Reed J.C. Mitochondria and apoptosis. / Science, 1998, V.281, P. 1309-1312.
- 40.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.
- 41.Klingenberg M. The ADP/ATP translocation in mitochondria, a membrane potential controlled transport // Membrane Biol. 1980, V. 56, P. 97-105.
- 42.Klinenberg M., Heldf H.W. The ADP/Atp translocation in mitochondria and its role in intracellular compartmentation. Metabolic Compartmentation (Ed.H.Sies. London ets.: Ac. Pr., - 1982, - p. 101-122.
- 43.Klinenberg M., Appel M., Babel W., Aquila H. The binding of bongkredate to mitochondria // Eur. J. Biochem. 1983, V. 131, P. 647-654.
- 44.Kumar S., Harvey N.I. FEBS Lett., 1995, v. 375, p. 169-173.
- 45.Luft F.C. Sterol effects on phospholipids biosynthesis in the yeast strain GL7. // Lipids. 1988. v.25. – p.581.
- 46.Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R. Protein measurement with the folin phenol reagent / J. Biol. Chem., 1951. - V. 193. - P. 265-275.
- 47.Makara G. Mechanisms by which stressful stimuli activate the pituitary-adrenal system.// Fed. Proc. - 1985. v. 44, N1. Part.2, - p. 149-153.

48. Marchetti 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.
49. Muller M., Krebs J.J.R., Cherry R.J., Kawato S. Rotational diffusion of the ADP/ATP translocator in the inner membrane of mitochondria and in proteoliposomes // *J. Biol. Chem.* 1984, V. 259, P. 3037-3043.
50. Racker E.A. A new look at mechanism in bioenergetics. Academic Press. New York-San Francisco, London, 1976.
51. Sudakov K.V. Specific mechanisms of emotional stress // *Stress: The role of catecholamines and other neurotransmitters*. N. Y.: Gordon and Breach Publishers, 1984. -V. – P.37 – 57.
52. Szabo A., Billett E., Turner J. *Br. J. Sports Med.* - 2001. - V. 35. - P. 342.
53. Thornberry N.A., Molincaux S.M. // *Protein*, 1995. V. 4, p. 3-12.
54. Susin S.A., Zamzani V., Kroemer G. Mitochondria as regulator of apoptosis. Doubt no more. *Biophys. Acta*, 1998, V. 1966, P. 151-165.
55. Wojtczak L. Effect of Long-chain fatty acids and acyl-CoA on mitochondrial permeability, transport and energy-coupling processes // *J. Bioenerg. Biomembr.* 1976, V. 8, P. 293-311.
56. 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.
57. Zamzani N., Marchetti P., Castedo M., Hirsch T., Susin S.A., Masse B., Kroemer G. // *FEBS Lett.*, 1996. V.384, P. 53-57.
58. Zoratti M., Szabo I. The mitochondrial permeability transition // *Biochem. Biophys. Acta*, 1995, V.1241, P.139-176.