

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ ВА МИКРОБИОЛОГИЯ  
ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ФАН ДОКТОРИ ИЛМИЙ  
ДАРАЖАСИНИ БЕРУВЧИ 14.07.2016.В.01.03 РАҚАМЛИ  
ИЛМИЙ КЕНГАШ**

---

**НАМАНГАН ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ**

**АБДУЛЛАЕВ ГАФФУРЖОН РАХИМЖОНОВИЧ**

**СТРЕССНИНГ РИВОЖЛАНИШИДА МИТОХОНДРИЯЛАР  
ФУНКЦИЯСИНИНГ БУЗИЛИШИ ВА УНИ АНТИГИПОКСАНТЛАР  
БИЛАН КОРРЕКЦИЯЛАШ**

03.00.08 – Одам ва ҳайвонлар физиологияси  
(биология фанлари)

**ДОКТОРЛИК ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

**ТОШКЕНТ– 2016**

**Докторлик диссертацияси автореферати мундарижаси**  
**Оглавление автореферата докторской диссертации**  
**Content of the abstract of doctoral dissertation**

**Абдуллаев Гаффуржон Рахимжонович**

Стресснинг ривожланишида митохондриялар функциясининг бузилиши  
ва уни антигипоксантлар билан коррекциялаш ..... 3

**Абдуллаев Гаффуржон Рахимжонович**

Нарушение функций митохондрий в развитии стресса и его коррекция  
антигипоксантами..... 29

**Abdullaev Gaffurjan Rakhimjonovich**

Mitochondrial functions disorder in the mechanism of stress development  
and its correction by antihypoxants ..... 53

**Эълон қилинган ишлар рўйхати**

Список опубликованных работ  
List of published works..... 75

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ ВА МИКРОБИОЛОГИЯ  
ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ФАН ДОКТОРИ ИЛМИЙ  
ДАРАЖАСИНИ БЕРУВЧИ 14.07.2016.В.01.03 РАҚАМЛИ  
ИЛМИЙ КЕНГАШ**

---

**НАМАНГАН ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ**

**АБДУЛЛАЕВ ГАФФУРЖОН РАХИМЖОНОВИЧ**

**СТРЕССНИНГ РИВОЖЛАНИШИДА МИТОХОНДРИЯЛАР  
ФУНКЦИЯСИНИНГ БУЗИЛИШИ ВА УНИ АНТИГИПОКСАНТЛАР  
БИЛАН КОРРЕКЦИЯЛАШ**

03.00.08 – Одам ва ҳайвонлар физиологияси  
(биология фанлари)

**ДОКТОРЛИК ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

**ТОШКЕНТ– 2016**



## КИРИШ (докторлик диссертацияси аннотацияси)

**Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати.** Бугунги кунда организмдаги физиологик-биокимёвий жараёнларга сурункали эмоционал стресснинг хужайра, мембрана ва молекула даражадаги таъсир механизмларини аниқлаш ва стресснинг олдини олиш дунё олимларининг олдида ўз ечимини кутиб турган долзарб масалалардан бири ҳисобланади. Бутун жаҳон соғлиқни сақлаш ташкилотининг маълумотларига кўра ер шари аҳолисининг 80 % стресс таъсирида сурункали чарчаш синдроми касаллигига дучор бўлмоқда. Европа иттифоқига аъзо давлатларнинг 147 млн. ишчилар сонидан 40 млн.ни стрессдан азият чекишмоқда ва бу жамиятга 19 млрд.доллар зарар келтирмоқда<sup>1</sup>.

Мустақиллик йилларида халқимизнинг турмуш даражасини янада юксалтириш борасида соғлиқни сақлаш тизимини тубдан ислоҳ қилиш ҳамда соғлом турмуш тарзини шакллантиришга алоҳида эътибор қаратиб келинмоқда. Мазкур йўналишда амалга оширилаётган дастурий чора тадбирлар баркамол авлодни тарбиялашда, аҳолини саломатлигини янада тиклашда ўз самарасини бермоқда.

Бугунги кунда жаҳонда турли табиатга эга бўлган стрессларнинг организм аъзо ва тўқималарига таъсир механизмини «in vitro» ва «in vivo» шароитида физиологик, биохимик, биофизик, мембрана ва молекула даражаларида аниқлаш ҳамда турли биологик фаол моддаларни ва дори воситаларини организмга таъсир механизмини аниқлаш долзарб вазифалардан ҳисобланади. Стресснинг организмга салбий таъсирларини коррекциялаш бўйича тадқиқотларни амалга оширишда эмоционал стрессларда организм аъзо ва тўқималарининг хужайра, органелла ва мембраналарида пайдо бўлган ўзгаришларни бир-биридан фарқлаш; ўткир ва сурункали стресс таъсирини ўхшашлиги, ёки бир-биридан фарқини кўрсатиш; антигипоксанти ва антиоксидантлик хусусиятига эга бўлган моддаларнинг таъсирини аниқлаш; стрессни даволашда фойдаланаётган дори воситаларини организмга ижобий таъсири билан бирга салбий таъсир механизмларини исботлаш кабилар долзарб масалалардан ҳисобланади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2011 йил 28 ноябрдаги ПҚ-1652-сон «Соғлиқни сақлаш тизимини ислоҳ қилишни янада чуқурлаштириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги ва 2014 йил 1 августдаги ПҚ-2221-сон «2014-2018 йилларда Ўзбекистонда аҳолининг репродуктив саломатлигини янада мустаҳкамлаш, оналар, болалар ва ўсмирлар соғлиғини муҳофаза қилиш борасидаги давлат Дастури тўғрисида»ги қарорлари, Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамасининг 2006 йил 14 июлдаги 416-сон «Маҳаллий дори-дармон ва тиббиёт буюмлари ишлаб чиқарувчиларни қўллаб-қувватлаш чора тадбирлари тўғрисида»ги қарорларида ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган

<sup>1</sup> Social Stress Clinic; www.infoecology.ru

вазифаларни амалга оширишда ушбу диссертация тадқиқотида олинган илмий натижалар муайян даражада хизмат қилади.

**Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг асосий устувор йўналишларига боғлиқлиги.** Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялари ривожланишининг VI. «Тиббиёт ва фармакология»; V. «Қишлоқ хўжалиги, биотехнология, экология ва атроф-муҳит муҳофазаси» устувор йўналишларига мувофиқ бажарилган.

**Диссертация мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи.**

Эмоционал стресс механизмларини тадқиқ этиш ва унинг шикастловчи таъсирига организмнинг физиологик чидамлилигини оширишга йўналтирилган илмий изланишлар жаҳоннинг етакчи илмий марказлари ва олий таълим муассасалари, жумладан, Department of Preventive Medicine (АҚШ), American National Health Institute (АҚШ), University of Lisbon (Португалия), Aristotle University of Thessaloniki (Греция), American Institute of Stress (АҚШ), Berlin Institute of Stress (Германия), Stress Institute in Paris (Франция), Energy Metabolism Disorders and Therapies, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (Мадрид, Испания), Erasmus University Medical Center (Роттердам, Голландия), Kafedra Biofizyki Srodowska, Uniwersytet Lodzki (Польша), Medical University of Graz (Грац, Австрия), Warsaw University of Life Sciences (Варшава, Польша), Institute of Psychologic Stress Study (Хайфа, Исроил), Харьков тиббиёт университети (Украина), Волгоград илмий маркази (Россия), Тбилиси давлат университети (Грузия), Ўзбекистон Миллий университети, Биоорганик кимё институтида (Ўзбекистон) олиб борилмоқда.

Стресснинг организмдаги нормал физиологик жараёнларни издан чиқаришига оид жаҳонда олиб борилган тадқиқотлар натижасида қатор, жумладан, қуйидаги илмий натижалар олинган: стресс таъсирида митохондриал мембраналаридаги патологик ўзгаришлар аниқланган (Department of Preventive Medicine, New York, United States of America); митохондриал фосфолипидларининг биокимёси ва патофизиологияси тадқиқ қилинган (University of Lisbon, Portugal); стрессда митохондриал патогенез ва дисфункция ҳолатлари кўрсатилган (Aristotle University of Thessaloniki, Greece); каламушлардаги эмоционал стрессда ЛПО нинг тўқима спецификлиги ҳақидаги маълумотлар тизимлаштирилган (Тбилиси давлат университети., Грузия), антигипоксантилар ҳақидаги маълумотлар, стрессда ҳужайра ва митохондриаларнинг жароҳатланиши, гипоксия жараёнлари, захар ва токсинларнинг оксидловчи стрессга таъсири исботланган Kangwon National University (Жанубий Корея), Ti Yu Chang Road, Hangzhou (Хитой), Mumbai University (Ҳиндистон), ҳужайра ва митохондриалардаги ЛПО ва газ-кислород алмашинуви, оксидланувчи фосфорланиш жараёнлари, турли патологик ҳолатларда митохондриалар структураси ва функцияларининг бузилиши аниқланган (Ўзбекистон миллий университети, Биоорганик кимё институти ва Тошкент Давлат тиббиёт академияси, Ўзбекистон).

Дунёда стресснинг организмнинг турли аъзо ва тўқималарига таъсирини тадқиқ этиш бўйича бир қатор, жумладан, қуйидаги устувор йўналишларда илмий тадқиқот ишлари олиб борилмоқда: стрессоген омилларнинг турларини ва уларни организмга молекуляр-физиологик таъсир механизмини исботлаш; стрессни турли босқичларида тўқима ва ҳужайралардаги ўзгаришларни аниқлаш; стресснинг организм турли ёш даврларидаги таъсир механизмларини исботлаш; стресснинг турли босқичларида организмдаги гуморал бошқарув ва вегетатив нерв системасидаги ўзгаришларни асослаш; стрессга организмнинг индивидуал чидамлилигини оширадиган самарали антигипоксанти ва антиоксидант хусусиятларига эга бўлган доривор моддаларни яратиш.

**Муаммонинг ўрганилганлик даражаси.** Эмоционал (хис-туйғуга оид) стресс механизмлари ва уларни митохондрияларнинг патологиясидаги роли (Ressler et al., 2016; Lambertini et al., 2015; Morava et al., 2013) ва унинг шикастловчи таъсирга физиологик функциялар индивидуал чидамлилигини оширишнинг йўллари (Mc Ewen et al., 2015; Morena et al., 2015; Warren et al., 2013) излаб топилган. Эмоциялар билан боғлиқ барча ҳодисалар бош мия муайян бўлимларининг фаоллиги (Szabo, Billett, Turner, 2001; Borovsky, Adham et al., 2001) натижаси эканлиги, митохондриялар турли хил патологик таъсирларнинг бирламчи нишонлари эканлигини кўрсатувчи кўплаб экспериментал маълумотлар (Di, Canton et al., 2007; Szeto, 2008; Huttemann et al., 2008; Wallace, Fan, Procaccio, 2010) аниқланган. Қаламушлар бош миясидаги митохондрияларнинг нафас олиш занжиридаги стресс оқибатида келиб чиқадиган бузилишларни антиоксидант ва антигипоксантилар ёрдамида даволаш (Aboul-Fotouh, 2013); нейродегенератив касалликлар патогенезида эмоционал стресс ривожланишининг механизмлари (Васенина и др., 2013); стресс касалликларнинг ривожланишига олиб келувчи, орган ва тизимларга жароҳатловчи таъсир кўрсатувчи омил бўлиши ҳам мумкинлиги (Судаков, 1995; Теплый, 2008) исботланган.

Юқорида келтирилган илмий тадқиқот ишларида сурункали стресснинг организмдаги физиологик тизимлар барқарорлигига молекуляр даражадаги таъсири ва бунинг оқибатида иммун тизимидаги умумий регуляциянинг ҳужайравий ва гуморал бузилиши ҳамда бошқа патологик жараёнлар ҳар томонлама тадқиқ қилинган. Шунингдек, турли физиологик ва патологик ҳолатларда айрим антигипоксантиларнинг таъсир механизмлари кўрсатиб берилган. Жумладан, бензонал ва катацин организмда кислород истеъмолини (Алламуратов Ш.И., 1999; Асанова К.А., 2002) ва митохондрияларнинг нафас олиш функциясини (Курмуков А.Г., Назруллаев А., Ахмеров Р.Н., 1990; Назруллаев С.С., 1994; Асанова К.А., Нурдинов Ш.Ш., 2002; Асанова К.А., 2002; Кулмаматова И.Э., Ширинова.А. ва бошқ., 2002), ҳужайрада аденин нуклеотидларининг ҳосил бўлиши ва ишлатилиши жараёнларини синхрон равишда ўзгартиради, яъни тўқималарда кислород ва субстратлар сарфланишини тежамкор режимга ўтказди (Алматов К.Т., Ширинова И.А. ва бошқ., 2000; Ширинова И.А., 2005).

Адабиётларда сурункали эмоционал-оғриқли стресс ривожланишининг турли босқичларида (хавотирланиш, резистентлик ва ҳолсизланиш) каламушларнинг бош мия, тимус, буйрак усти безлари ва жигарда энергия ва липид алмашинувидаги бузилишлар, ЛПО ва фосфолипазаларнинг фаолликларидаги ўзгаришларни хужайра, мембрана ва молекула даражаларида ҳамда антигипоксантилар – катацин ва бензоналнинг стрессга таъсири ҳақидаги маълумотлар мавжуд эмас. Катацин ва бензонални эмоционал-оғриқ стрессининг барча босқичларида одам ва ҳайвонларнинг турли аъзо ва, тўқималаридаги ўзгаришларга таъсири ҳақида олинган маълумотлар хужайра ва айниқса, митохондрияларда структуравий ва функционал бузилиш механизмларини янада чуқурак ўрганишга ва уларни коррекция қилишнинг янги истиқболли йўналишларини очиб беришга, натижада беморларга аниқ ташхис қўйишга ва уларни самарали даволашга имконият яратган бўлур эди.

**Диссертация мавзусининг диссертация бажарилаётган олий таълим муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари билан боғлиқлиги.** Диссертация тадқиқоти Наманган Давлат университети илмий-техник кенгашининг 2013 йил 10 январдаги №1-сонли қарори билан тасдиқланган «Турли биологик фаол моддалар ва флаваноидларнинг организмдаги модда ва энергия алмашинувида таъсир механизмини ўрганиш» мавзусидаги фундаментал илмий дастури асосида бажарилди.

**Тадқиқотнинг мақсади** сурункали эмоционал-оғриқ стресси ривожланиш динамикасида оқ каламушлар организмдаги газ-кислород алмашинуви, бош мия, буйрак усти безлари ва тимусдаги айрим физиологик кўрсаткичларининг ўзгариши, энергетик ва липид алмашинуви, липолитик ферментлар фаоллигининг ва ЛПО жараёнларининг ўзгаришини, уларнинг танасига катацин ва бензонал киритилганда қандай ўзгаришларга учрашини аниқлашдан иборат.

**Тадқиқотнинг вазифалари:**

каламушларда газ-кислород алмашинуви; тимуси ва буйрак усти безлари массасидаги ўзгаришларни ҳамда мия ва буйрак усти безларидаги катехоламинлар миқдорини аниқлаш;

мия, буйрак усти безлари, тимуси ва жигари тўқималаридаги аденинли нуклеотидларнинг миқдорини аниқлаш;

мия ва жигар митохондрияларининг нафас олиши ва оксидланувчи фосфорланишини, ротенонга сезгир ва ротенонни сезмайдиган НАД.Н оксидазаларнинг фаолликларидаги ўзгаришларни тадқиқ қилиш;

мия, буйрак усти безлари, тимус ва жигарда липид ва фосфолипидлар алмашинувини аниқлаш;

бош мия, жигар, буйрак усти безлари ва тимус тўқималарида ва бош мия, жигар митохондрияларида липидлар ва фосфолипидлар алмашинувини ҳамда фосфолипазалар фаоллигини аниқлаш;

бош мия ва жигар митохондрияларида фосфолипаза  $A_2$ , лизофосфолипаза  $A_1$  ва фосфолипаза Д ларнинг фаоллигини аниқлаш;

каламушларнинг бош мияси, буйрак усти безлари, тимус ва жигар тўқималарида, мия ва жигар митохондрияларида ЛПО жараёнларини аниқлаш.

**Тадқиқотнинг объекти** сифатида лаборатория оқ каламушлари, ундан ажратиб олинган бош мия, тимус, буйрак усти безлари, жигар тўқималари, катехоламинлар, аденили нуклеотидлар, митохондриялар, липидлар, фосфолипидлар, липолитик ферментлар ва ЛПО ҳамда антигипоксантилар-катацин ва бензонал олинди.

**Тадқиқотнинг предмети** – стресс шароитида катацин ва бензоналдан фойдаланишнинг мақсадга мувофиқлигини баҳолаш учун ишлатилган физиологик ва биохимиявий кўрсаткичлар.

**Тадқиқотнинг усуллари.** Тажрибаларни ўтказишда физиологик, биохимик, биофизик ва молекуляр биологик усуллардан (дифференциал центрифуга, полярография, юпка қатламли хроматография, спектрофотометрия, фотокалориметрия) фойдаланилди.

**Тадқиқотнинг илмий янгилиги** қуйидагилардан иборат:

сурункали эмоционал-оғриқли стресс таъсирида турли аъзолардаги хужайра ва митохондрия мембраналарининг структура ва функцияларининг бузилишлари хавотирланиш, резистентлик ва ҳолсизланиш босқичларида бир-биридан фарқланишининг молекуляр механизмлари аниқланган;

стресснинг хавотирланиш босқичида фосфолипазаларнинг гидролитик фаолликларига нисбатан трансфераза фаолликларини кучайиши липид ва фосфолипидларнинг миқдорини, “ионоқатлам”ларни мембранада кўпайишига ва хужайрадаги метаболизм кучайишига олиб келиши исботланган;

стресснинг хавотирланиш босқичида хужайрада катехоламин ва адениннуклеотид (АД) ларнинг синтезининг кучайиши митохондрияларда нафас олиш ва оксидланишли фосфорланиш ҳамда организмда газ-кислород алмашинувининг ошишига боғлиқлиги аниқланган;

фосфолипазаларнинг трансфераза фаолликларини ошиши хужайранинг структура ҳамда функцияси, митохондрияда АТФ синтези, организмда газ-кислород алмашинувининг соғлом ҳайвонлардаги кўрсаткичларга яқинлашишига олиб келиши резистентлик босқичида содир бўлиши исботланган;

стресснинг ҳолсизланиш босқичида фосфолипазаларнинг гидролитик фаолликларини ошиши хужайраларда фосфолипидлар синтезини секинлаштириши натижасида мембраналарда “моноқатлам”ларни ҳосил бўлишини, митохондриянинг ички мембранасидан цитохром  $c$  нинг чиқишининг кучайиши аниқланган;

катацин ва бензонал ҳайвонлар организмга киритилганда, сурункали эмоционал-оғриқли стресс таъсирида хужайра ва митохондриялардаги энергия ва липид алмашинувидаги ўзгаришларни меъёрга яқинлашиши ёки тенглашиши исбот қилинган.

**Тадқиқотнинг амалий натижалари** қуйидагилардан иборат:

Сурункали эмоционал оғриқли стресснинг хавотирланиш, резистентлик ва ҳолдан тойиш босқичида бош мия, тимус, буйрақусти безлари ва жигарда кузатилган ўзгаришларни аниқлаш натижасида олинган натижалар, илмий тадқиқот ишларида, Ўзбекистон Миллий университети ва Наманган Давлат университетиде талабаларга одам ва ҳайвонлар физиологияси, марказий асаб тизими ва олий асаб тизими физиологиялари, эндокринология фанларини ўқитишда қўшимча материал сифатида фойдаланилмоқда;

Диссертацияда олинган илмий натижалар тиббиёт клиникасида сурункали эмоционал оғриқли стрессга учраган беморлардаги патологик ўзгаришларни оғир ёки енгиллигини аниқлаш учун таъхис қўйишда ҳамда даволашда фойдаланса ҳам бўлади.

**Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги.** Ҳар бир тадқиқот таърибалари энг камида 5-10 марта ўтказилган. Бу эса энг ишончли ва барқарор натижаларнинг ўртача қийматини ҳисоблаб чиқиш имконини бергани билан асосланган. Экспериментал маълумотларга статистик ишлов бериш, хатоликлар, ўртача, ишончлилик интерваллар, стандарт оғишларни ҳисоблаш STATISTICA 6.0 компьютер дастури ва стандарт методлар ёрдамида олиб борилган. Натижаларнинг статистик аҳамиятини аниқлаш учун, Стъудентни Т-критерийсини ҳисоблаб чиқилган.

**Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.** Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти сурункали эмоционал-оғриқ стресснинг ривожланиши динамикасида газ-кислород, энергетик ва липидлар алмашинувининг ҳолатини, аденин нуклеотидлари ва катехоламинлар миқдори, ЛПО жараёнлари ва липолитик ферментлар фаоллигини комплекс равишда баҳолашнинг янгича ёндашуви таклиф қилинди ва ушбу ҳолат стресс жараёнининг молекуляр жиҳатларини аниқлашга ёрдам бериши билан белгиланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти олинган фундаментал натижалар сурункали эмоционал-оғриқ стрессини коррекциялаш учун катацин ва бензонални ишлатиш имкониятлари ва мақсадга мувофиқлиги таърибалар орқали асосланиб, исботлаб берилгани ва олинган натижалар стресс муаммосини молекуляр механизмларини ечишга имкон беришидадир. Ишда олинган натижалар физиология, биохимия, биофизика бўйича қўлланмалар ва ўқув адабиётларига киритиш учун тавсия қилиниши, шунингдек айтиб ўтилган фанлар бўйича талабалар учун маъруза матнларига қўшилиши мумкин.

**Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши.** Стресснинг ривожланишида митохондриялар функциясининг бузилиши ва уни антигипоксантилар билан коррекциялаш бўйича олинган илмий натижалар асосида:

стресс даврида тўқима ва митохондриялардаги липидлар, фосфолипидлар миқдорининг, ЛПО жараёни ва фосфолипазалар фаолликлари ўзгаришлари аниқланган бўлиб, бу илмий натижалардан Amity

university (Ҳиндистон) тадқиқотчи олимлари ўзларининг илмий ишларида фойдаланишмоқда (Amity university (Ҳиндистон) нинг 2016 йил 30 сентябрдаги маълумотномаси). Маълумотлар тўқималардаги липид, холестерин, фосфолипид ва лизофосфолипидларнинг миқдорининг ўзгариши, липолитик энзимларнинг фаолликларини кучайиши ва ЛПО жараёнининг фаоллашуви стресснинг патологик таъсир механизмини белгилашда асосий омиллардан бири эканлигини кўрсатди;

стресснинг ривожланишида организм тўқима ва митохондрияларида липидлар алмашинувининг, ЛПО жараёнларининг ва митохондрияларда фосфолипазаларнинг фаолликларининг ўзгаришлари бўйича олинган натижалар ОТ-ФЗ-109 «Атеросклероз муаммоси этиопатогенезининг янги томонларини илмий асослаш, уни босқичма-босқич реабилитацияси дастурини ва олдини олиш, даволаш услубларини иммунокорректорлар, табиий ва сунъий физик омиллардан фойдаланган ҳолда ишлаб чиқиш» илмий лойиҳасида (НамДУ, 2007-2011 йй) эмоционал стресс таъсирида юзага келадиган атеросклерознинг турли босқичларида липидлар алмашинувини ва липолитик энзимларнинг ўзгаришларини аниқлашда фойдаланилган (Фан ва технологияларни ривожлантиришни мувофиқлаштириш қўмитасининг 2016 йил 9-ноябрдаги ФТК-03-13/780-сон маълумотномаси). Илмий натижаларнинг қўлланилиши атеросклерознинг турли босқичларида липид ва фосфолипидларни алмашинувининг издан чиқишини иммунокорректорлар билан даволашга хизмат қилган.

**Тадқиқот натижаларининг апробацияси.** Тадқиқот натижалари «Биологик, экологик ва агротупроқшунослик таълимининг муаммолари ва истиқболлари» (Тошкент, 2006, 2008); Академик А. Қосимовнинг 70 йиллик таваллудига бағишланган «Физик-кимёвий биология ва биотехнологиянинг истиқболлари» (Андижон, 2007) илмий-амалий конференцияларида; «Талаба ва илмий-техникавий тараққиёт» (Новосибирск, 2010); «Биология – XX асрнинг фани» (Пушино, 2010) халқаро илмий-амалий конференцияларида; академик Б. О.Тошмухамедовнинг 75-йиллик таваллудига бағишланган «Физиология ва биофизиканинг замонавий муаммолари» (Тошкент, 2010); «Биокимё ва бионанотехнологиянинг долзарб муаммолари» (Казан, 2012, 2013) мавзусидаги халқаро илмий-амалий конференцияларда; академик Б. О.Ташмухамедовнинг 80 йиллик таваллудига бағишланган «Физик-кимёвий биологиянинг долзарб муаммолари» (Тошкент, 2015); профессор К. Т.Алматовнинг 70 йиллик таваллудига бағишланган «Биология ва экологиянинг долзарб муаммолари» (Тошкент, 2015), профессор У. З. Мирходжаевнинг 70 йиллик таваллудига бағишланган «Физик-кимёвий биология ва экотоксикологиянинг замонавий аспектлари» (Тошкент, 2016), «Замонавий фан ва таълимнинг назарий ва амалий муаммолари» (Курск, 2016) мавзусидаги халқаро илмий-амалий конференцияда, «Фан ва таълим» (Мюнхен, 2016) мавзусидаги халқаро илмий-амалий конференцияда, Республика илмий-амалий конференцияларида; Наманган давлат

университети Ҳаёт фаолияти хавфсизлиги кафедрасининг семинарларида (2006-2016) маъруза қилинган ва муҳокамадан ўтган.

**Тадқиқот натижаларини эълон қилиниши.** Диссертация мавзуси бўйича жами 24 та илмий ишлар чоп этилган, жумладан, Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг докторлик диссертациялари асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 12 та мақола, жумладан, 9 таси республика ва 3 таси хорижий илмий журналларда нашр этилган.

**Диссертациянинг ҳажми ва тузилиши.** Диссертация таркиби кириш, 7та боб, 9та хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг ҳажми 194 бетни ташкил этган.

## ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

**Кириш қисмида** мавзунинг долзарблиги ҳамда зарурияти асосланган, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари, объект ва предметлари тавсифланган, республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий ахамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиниши, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг **«Стресснинг ривожланиш ва таъсир механизмлари, митохондриялардаги ўзгаришларни антигипоксантилар билан коррекциялаш ҳақида адабиёт маълумотлар шарҳи»** деб номланган биринчи бобида стрессда организмнинг физиологик-биокимёвий функцияларининг ўзгариши, липид алмашинувини, липидларнинг перекисли оксидланишининг ўзгариши, хужайранинг структураси ва функциясида фосфолипидларнинг роли ва уларни коррекциялаш, хужайранинг структураси ва функциясида митохондрияларнинг иштироки, фосфолипидларнинг гидролизи ва синтезида митохондрия фосфолипидларининг иштироки, хужайраларнинг физиологик биокимёвий кўрсаткичларига катацин ва бензоналнинг таъсири тўғрисидаги маълумотлар берилган.

Диссертациянинг **«Ҳайвонларда сурункали эмоционал-оғриқли стресси моделини яратиш, турли органлардан митохондрияларни ажратиб олиш ва улардаги ўзгариш даражаларини аниқлаш методлари»** деб номланган иккинчи бобида тадқиқот материаллари ва методлари келтирилган.

Ҳайвонларда сурункали эмоционал-оғриқли стресси моделини яратиш тана оғирлиги 180-200 г бўлган зотсиз оқ эркак каламушларда ўтказилди. Тажриба бошланишидан тахминан 2 ҳафта олдин каламушларда “очик майдон” тести бўйича эмоционаллиги аниқланди. Бунинг учун ҳайвонлар қоронғу қутидан бирдан диаметри 1,5 м бўлган, томонлари 20 см лик квадратларга бўлинган, полдан 60 см юқорида марказда баландликка осилган

қуввати 500 вт бўлган кўзгули қиздириш лампаси бўлган очик майдонга жойлаштирилди (“очик майдон”нинг марказида 1000 люксга тенг бўлган ёруғлик ҳосил қилинади) (Иванова, Скоцеляс и др., 1979; Судаков, 1981; Sudakov, 1984). Беш кун давомида ҳар 2 дақиқада ҳайвонларнинг ҳаракат фаоллиги метрларда баҳоланди (0,3 коэффицентга кўпайтирилган, кесишган квадратлар сонига қараб); шунингдек, фекалий шарикчалар, уринация, “очик майдон” марказига чиқиш, ювиниш ва орқа панжаларида туриш каби ҳолатлар ҳам ҳисобга олинди. Бу каби кўрсаткичларнинг барчаси каламушларнинг эмоционаллик мезони бўлиб хизмат қилди. Каламушлар иммобилланиб, тор қафасчаларга жойлаштирилгандан кейин уларнинг панжалари ва думига ҳар куни 30 дақиқадан электр таъсироти берилди (ток частотаси – 50 Гц, кучи – 30В, импульслар частотаси - дақиқасига 7 марта, импульслар узунлиги 0,5 сек). Ҳайвонларнинг гуруҳига қараб электр таъсироти 1-2 ва 3 ҳафта, шунингдек, 1-2 ва 3 ой давомида олиб борилди (Судаков, 1981; Sudakov, 1984; Садыкова, 1995).

Ҳайвонларда газ-кислород алмашинувини баҳолаш полярографик метод ёрдамида амалга оширилди (Алматов, Ахмеров и др., 1993). Бунинг учун ҳайвонни ҳаво муҳитида  $O_2$  миқдорига сезгир бўлган Кларк электроди киритилган герметик идишга жойлаштирилади. Бу идиш микронасос билан бириккан бўлиб, умуман олганда ташқи муҳитдан ажралиб туради. Микронасос ҳаво муҳитининг циркуляциясига замин яратиб, ёпиқ муҳит ичида  $O_2$  концентрациясини бир текис тарқалиши ва ушлаб турилишига ёрдам беради. Ускуна махсус ячейка билан бириккан бўлиб, унга Кларкнинг ёпиқ электроди ўрнатилади. Ускунадаги барча бирикмалар полиэтилен найчалардан ясалади. Ҳажми 500-1000 мл герметик қопқоқли шиша идишга тажриба ҳайвони жойлаштирилади. Идиш ичидаги ҳайвоннинг нафас олиши натижасида газли муҳитда  $O_2$  нинг камайиши рўй беради. Бу ҳолат полярографик усули билан кислородга сезгир Кларк электрод ёрдамида қайд этилди.

Буйрак усти безлари ва бош мия тўқимасида катехоламинлар миқдорини аниқлаш учун ўрганилаётган орган ажратиб олинади, ўлчанади ва керакли миқдордаги тўқима (3-5 г) қайчи билан майдаланади ва озгина миқдордаги сув (5-10 мл), учхлорсирка кислота ва шиша кукун солинган ҳавончада яхшилаб эзилади (Асатиани, 1965). Аралашмани учхлорсирка кислота ёрдамида муайян даражагача аралаштирилади (бош мия учун 1:5, буйрак усти безлари учун – 1:20). Намуналар 30 дақиқа давомида аралаштирилади, кейин бурмали фильтр ёрдамида филтрланади. Буйрак усти безларининг экстракти яна сув билан 1:1000 нисбатда аралаштирилади (нордонлаштириш учун).

АНларининг миқдорини аниқлаш учун барча препаратив амалиётлар 2-4<sup>0</sup>С ҳароратда ўтказилади. Экстракция олдиндан махсус совуткичда керакли ҳароратгача совутилган 8%-ли хлорид кислота ва 40%-ли этил спирти аралашмаси билан ўтказилади. Қўшиладиган спирт паст ҳароратда тўқима экстрактлари музлаб қолишининг олдини олади ва бу кўпгина биологик

намуналарда метаболитларни тўлиқ аниқлашда қулай бўлиб, ҳар битта экстарктни эритишни талаб қилмайди (Farell, Olson, 1973; Косенко, 1981).

Ҳайвонларнинг бош мияси ва жигари тўқимасидан митохондриялар умум-қабул қилинган дифференциал центрифугалаш методи (Hogeboom, Schneider, Pallade, 1948) бўйича баъзи бир модификациялари билан (Алматов и др., 1993) ажратилди.

Турли хил метаболик ҳолатларда ( $V_2$  – оксидланиш субстратлари иштирокида,  $V_3$  – АДФ иштирокида,  $V_4$  – АДФ тугашидан кейин,  $V_{\text{ДНФ}}$  - 2,4 – динитрофенол билан ажралган оксидланиш) митохондрияларнинг нафас олиш тезлиги полярографик метод билан, айланувчи платинали электрод ёрдамида, 1 мл ҳажмдаги полярограф ячейкасининг стандарт шароитларида 25°C ҳароратда қуйидаги таркибли муҳитда қайд қилинди: сахароза - 250мМ, КСl - 12мМ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 5мМ, трис-НСl-буфер - 5мМ, рН 7,4. Оксидланиш субстратлари: сукцинат ва глутамат 10мМ. Реакция полярограф ячейкасига 3-4 мг митохондрия суспензиясининг оксилани қўшиш билан бошланди. АДФ миқдори 200мкМ, ДНФ- $5 \cdot 10^{-5}$ М бўлган (Алматов К.Т., Ахмеров Р.Н. и др., 1993б). АДФ/О коэффициенти ва Чанс бўйича нафас олиш назорати катталиги Chanse В., Williams G.R. методлари бўйича аниқланди (1956). Митохондрияларни бир марта музлатиб, эритилгандан кейин НАД.Нни ташқи ва ички йўлларида оксидланиши полярографик методи билан аниқланди. НАД.Н нинг оксидланиши ячейкага 1 мл 3 мкмоль НАД.Н қўшиш билан баҳоланди. НАДН нинг оксидланиши ташқи йўли 2 мкг ротенон иштирокида аниқланди. Инкубация муҳити: 0,30М сахароза, 10 мМ трис-НСl, рН – 7,4 (Рахимов, Алматов, 1977). Турли хил метаболик ҳолатларда глутамат, сукцинат ва НАД.Н нинг оксидланишни ташқи ва ички йўли бўйича оксидланиш тезлиги нанограмм атом кислород, дак/мг митохондрия оксилани кўринишида ифодаланди.

ЛПО жараёнларининг тезлиги Ю.А. Владимиров ва А.И. Арчаковнинг микрометоди – тиобарбитурат кислотаси билан аниқланди (1972). 1 мл ҳажмли инкубацион муҳитнинг таркиби: 0,2 мМ  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_{10} + 10\text{H}_2\text{O}$ ; 1 мМ НАДФН; 0,012 мМ Мор тузи ( $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ); 50 мкл бош мия, тимус, буйрак усти безлари ва жигар тўқималарининг суспензиялари; 50 мМ трис НСl-буфер, рН- 7,4.

Умумий липидлар тўқимадан хлороформ ва метанол аралашмаси билан экстракцияланади ва экстракт липид бўлмаган қўшимчалардан сув ёки кучсиз тузли эритма билан ювиб ташлангандан сўнг қуритилиб, липидларнинг чўкмаси аналитик тарозида ўлчаниб, миқдори аниқланади (Прохорова, 1982).

Фосфолипидлар гидролизининг сувда эрувчи маҳсулотларини ажратиш учун оқар горизонтал хроматография методидан фойдаланилди (Каргаполов, 1981).

Митохондриял фосфолипазаларининг фаоллиги 37°C да органеллаларни инкубация қилиш пайтида фосфолипидлар таркибининг ўзгаришига қараб

баҳоланди (Горбатая, Мирталипов, Алматов, Рахимов, 1988; Мирталипов, 1990).

**«Сурункали эмоционал-оғриқли стресснинг ривожланиш динамикасида каламушларнинг газ-кислород алмашинуви ҳамда айрим физиологик кўрсаткичларининг бузилиши ва уларни антигипоксантилар билан коррекциялаш»** деб номланган учинчи бобида сурункали эмоционал-оғриқли стресс таъсирида каламушларнинг газ-кислород ва баъзи физиологик кўрсаткичларининг бузилиши механизмларини аниқлаш ва уларни антигипоксантилар билан коррекция қилиш масалаларига бағишланган.

#### *Газ-кислород алмашинуви.*

Сурункали эмоционал-оғриқ стресси динамикасида ҳайвонларда газ-кислород алмашинуви тажрибанинг давомийлигига қараб ўзгаради. Стресснинг хавотирланиш босқичида тажриба ҳайвонлари организми томонидан кислород истеъмолнинг ошишига олиб келади. Бунда кислороднинг максимал истеъмол қилиниш даражаси тажрибанинг 2-ҳафтасида кузатилади. Бундай юқори даражадаги метаболизмни таъминлаш учун катта миқдордаги кислород талаб қилинади. Тажрибанинг 1 ойидан кейин газ-кислород алмашинуви деярли меъёрлашади. Г.Сельенинг фикрича, организм резистентлик босқичига ўтади. Бизнинг фикримизча, тажрибанинг бу муддатларида ҳолдан тойиш босқичи бошланади. Тажрибанинг 2 ойидан кейин газ-кислород алмашинуви назоратга нисбатан 29,2% га пасайса, 3 ойидан кейин 37,5% га камаяди. Газ-кислород алмашинуви 50% га етганда ҳужайра гомеостази бутунлай бузилиб, организм нобуд бўлади.

Сурункали эмоционал-оғриқли стрессда ҳайвонларда газ-кислород алмашинувида катацин ва бензоналнинг таъсирини ўрганиш мазкур препаратлар стресснинг организмга салбий таъсирини қисман чеклаб қўйишини кўрсатди. Стресс бошлангандан 1-2 ва 3 ҳафтада, яъни хавотирланиш босқичида катацин иштирокида газ-кислород алмашинуви соғлом ҳайвонларга нисбатан атиги 12,6; 20,4 ва 8,0% ларга, бензонал иштирокида эса – 10,9; 18,7 ва 10,6% ларга ошди. Ҳолдан тойиш шароитларида, яъни стресснинг 2 ва 3 ойларида катацин иштирокида газ-кислород алмашинуви атиги 4,5 ва 6,2% га, бензонал иштирокида эса 2,8 ва 5,1% ларга пасайди.

Шундай қилиб, хавотирланиш босқичида сурункали эмоционал-оғриқ стресси ҳайвон организмида газ-кислород алмашинувини пасайтирса, резистентлик босқичига ўтиш билан тажриба ҳайвонларида кислородни истеъмол қилиш аста-секинлик билан меъёрлашади ва ҳолдан тойиш босқичида бироз пасаяди. Катацин ва бензонал ҳайвон организмида газ-кислород алмашинувида стресснинг салбий таъсирини пасайтиради.

#### *Тимус ва буйрак усти безлари.*

Бизнинг кузатишлар хавотирланиш босқичида (стрессдан 1 ва 2 ҳафта ўтиб) тимуснинг оғирлиги 30,7 ва 33,8% га ошишини кўрсатди. Уч ҳафталик стрессдан кейин – резистентлик босқичида тимуснинг оғирлиги деярли

меъёрга қайтди. Стресс таъсирининг 1 ойида тимуснинг оғирлиги атиги 12,5% га камайди. Ҳолдан тойиш босқичида (2 ва 3 ойдан кейин) тимуснинг оғирлиги соғлом ҳайвонларникига нисбатан 36,3% га камайди. Стресс ҳолатининг бошида (2 ҳафта) тимуснинг оғирлиги 33,8% га, катацин иштирокида эса 8,0% га, бензонал билан эса 7,7% га ошган. Тажрибанинг нисбатан узоқроқ муддатида (2 ойда) гипометаболиклар иштирокисиз тимуснинг оғирлиги 36,3% га, катацин иштирокида 5,3% га, бензонал иштирокида эса 6,0% га камайди.

Буйрак усти безларининг массасини ўлчаш бир ҳафталик тажрибадан кейин буйрак усти безлари 12,0% га ошса, 2 ва 3 ҳафталарда мос равишда 20,5% ва 28,8% га ошишини кўрсатди. Резистентлик босқичида (стрессдан 1 ой ўтиб) юқорида кўрсатиб ўтилганидек, буйрак усти безларининг оғирлиги пасайиб, меъёрдаги кўрсаткичларга яқинлашди. Ҳолдан тойиш босқичида (стрессдан 2 ва 3 ой ўтиб) буйрак усти безлари оғирлигининг пасайиши сезиларли даражада тезлашди (15,4% ва 21,4% га).

Стресснинг бошланғич босқичида катацин ва бензоналсиз буйрак усти безларининг оғирлиги ошса, стресс таъсирининг давомийлиги узайтирилганда эса, аксинча, пасаяди. Тажриба ҳайвонлари организмига катацин ёки бензонал киритилганда юқоридаги ўзгаришлар секинлашди. Агар стресснинг бошида (2 ҳафтасида) буйрак усти безларининг оғирлиги 20,5% га ошса, катацин иштирокида – 7,3% га, бензонал иштирокида эса 8,8% га ошди. Тажрибанинг узоқ давомийлигида (2 ой) назоратдаги каламушлар буйрак усти безларининг оғирлиги 15,4% га, катацин иштирокида 4,3% ва бензонал билан 3,4% га камайди.

*Бош мия ва буйрак усти безлари катехоламинлари.*

Стресс ҳолатининг 1, 2 ва 3 ҳафталарида буйрак усти безларида адреналиннинг миқдори меъёр даражасидан мутаносиб равишда 40,4; 44,5; ва 40,8% ларга, норадреналиннинг миқдори эса атиги 8,9; 14,0 ва 12,9 % ларга ошади.

Резистентлик босқичида (стресс бошланганидан бир ой ўтиб) юқорида кўрсатиб ўтганимиздек, буйрак усти безларида адреналин миқдори меъёр даражасидан 32,3% га, норадреналин миқдори эса 11,9% га ошиб кетди. Ҳолдан тойиш босқичида (2 ва 3 ойдаги стресс) адреналин миқдори 12,3 ва 17,8% га, норадреналин миқдори эса 15,8 ва 21,6% ларга камайди. Икки ҳафталик стрессдан кейин адреналин миқдори 44,4% га ошса, бензонал ва катацин киритилганда атиги 11,4 ва 14,0% ларга ошди. Агар тажрибанинг бу муддатларида норадреналин миқдори 14,0% га ошган бўлса, бензонал ва катацин иштирокида унинг миқдори деярли меъёр даражасига етди.

Стресснинг 2 ойида буйрак усти безларининг тўқимасида адреналин миқдори гипометаболикларсиз бирозгина камайса, бензонал ва катацин билан деярли меъёр кўрсаткичларига тенглашди.

Бор ҳафталик стрессда бош мияда адреналин ва норадреналин миқдорлари бир меъёрда ошади (меъёр даражасидан мос равишда 13,3 ва 13,5% га). Икки ҳафталик стрессда адреналин синтезининг меъёрга нисбатан ошишига (16,6%) ва, аксинча, норадреналин синтезининг

пасайишига (15,1%) олиб келади. Стрессни учинчи хафтасида адреналин миқдори камаяди (7,4% га), бир ойдан кейин эса бу гормоннинг миқдорининг пасайиши сезиларли даражада ошади (19,0% га). Уч ҳафталик ва бир ойлик стрессдан кейин мияда норадреналин миқдорининг пасайиши тезлашади (мос равишда 22,8 ва 31,2% га). Холдан тойиш босқичида (2 ва 3 ойдан кейин) мия тўқимасида катехоламинлар миқдори яна ошади. Бунда адреналин миқдори меъёрга нисбатан 10,6 ва 18,3% га, норадреналин эса 23,3 ва 28,6% ларга пасаяди.

Стресснинг 2 ҳафтасида адреналин миқдори 16,6% га ошган бўлса, бензонал ва катацин иштирокида эса атиги 6,2 ва 3,4% ларга ошди, норадреналин миқдори 15,1% га камайган бўлса, бензонал ёки катацин иштирокида деярли меъёр кўрсаткичларига яқинлашади. Стресснинг 2 ойида адреналин миқдори 10,6% га ошса, бензонал ёки катацин иштирокида меъёрдаги кўрсаткичга тенглашди. Бу меъёрда норадреналин миқдори назоратдаги хайвонларда 23,3% га ошса, гипометаболиклар иштирокида меъёр кўрсаткичларига яқинлашади.

**«Стресснинг ривожланиш динамикасида каламушнинг баъзи органларида нафас олиш ва энергия алмашинуви бузилишлари ва уларни антигипоксантилар билан коррекциялаш»** деб номланган тўртинчи бобда стресснинг турли босқичларида каламушнинг баъзи органларидаги нафас олиш ва энергия алмашинуви жараёнларининг бузилишлар сабабларини аниқлаш ва уларни антигипоксантилар билан коррекциялаш натижалари келтирилган.

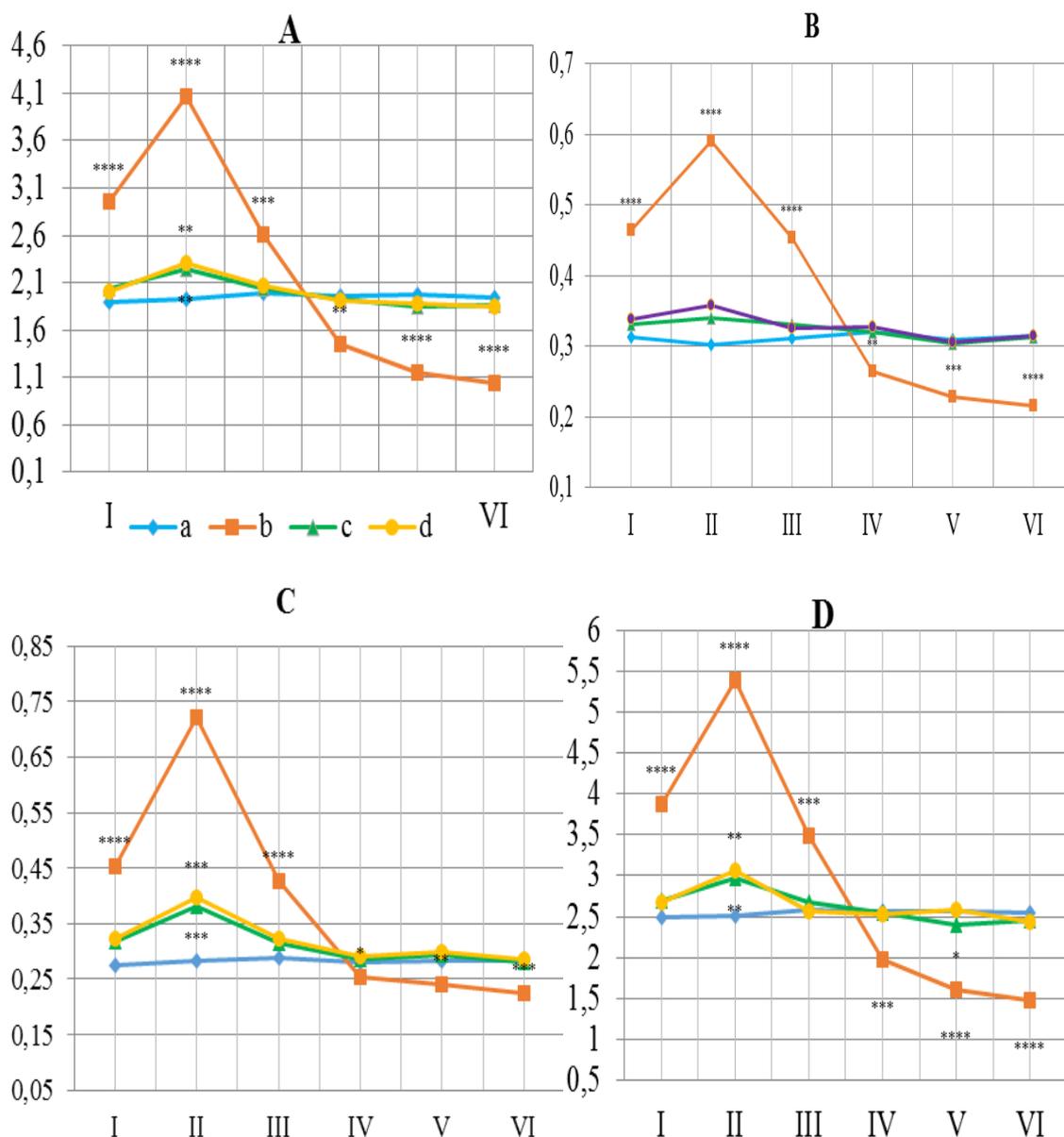
*Аденин нуклеотидлар (АН).*

Стрессор таъсирнинг 1 ҳафтасидан сал ўтиб, мия тўқимасида АТФ, АДФ ва АМФ миқдорлари мутаносиб равишда 56,0, 48,1 ва 65,1% га ошган бўлса АН йиғиндиси 56,4% га ошди (1- расм).

Таҷрибанинг 2-ҳафтасида мия тўқимасида АНнинг миқдорини ошиши тезлашади. Бунда АТФ, АДФ ва АМФ миқдорлари меъёрга нисбатан 111,0; 95,0 ва 153,9% га ошган бўлса, АНнинг йиғиндиси 119,9% га ошади. Стресснинг 3 ҳафтасида АТФ, АДФ ва АМФ миқдори меъёрга нисбатан 30,9; 46,0 ва 47,9% ларга ошган бўлса, АНнинг миқдори 41,6% га ошди. Бир ойлик стрессдан кейин мия тўқимасида АНнинг миқдори пасайиб кетади. АТФ миқдори 26,0% га камайса, АДФ ва АМФ миқдорлари меъёрга нисбатан 17,2 ва 10,0% га камаяди. Стресснинг холдан тойиш босқичида АНнинг миқдори камайиши сезиларли даражада кучаяди. Агар АТФ миқдори таҷрибанинг 2 ва 3 ойларида меъёр кўрсаткичга нисбатан 42,0 ва 46,4% га камайган бўлса, АДФ миқдори 26,2 ва 31,4% га, АМФ эса 14,9 ва 21,1% га камади. Стрессда жигар, тимус ва буйрак усти безлари тўқимасида худди шунга ўхшаш ўзгаришлар кузатилади.

Хавотирланиш босқичида катацин ёки бензонал олган таҷриба хайвонларининг мия тўқимасида АТФ, АДФ ва АМФ миқдорининг ошишини пасайтириб, меъёрдаги курсаткичларга яқинлаштириб кўйди. Ҳолдан тойиш

босқичида бош мияда АНнинг миқдори камайди, гипометаболиклар эса АН миқдорининг камайишини секинлаштиради.



1-расм. Стресснинг ривожланиш динамикасида каламушларнинг бош миясидаги АНлар миқдорига антигипоксантиларнинг таъсири. ( $M \pm m$ ;  $n = 8 - 10$ ).

А – АТФ, В – АДФ, С – АМФ, D – АНлар йиғиндиси. а - меʼёр, b - назорат, c - катацин, d - бензонал. Ордината ўқида – АНлар миқдори, мкмоль/г хом массага. Абсисса ўқида –эксперимент муддати: I – 1 ҳафта, II – 2 ҳафта, III – 3 - ҳафта, IV – 1 ой, V – 2 ой, VI - 3 ой. Бу ерда, 2 расм ва 1 жадвалда ишонччилик (P) фарқи юлдузчалар билан кўрсатилган: \*P <0,05; \*\* P <0,02; \*\*\* P <0,01; \*\*\*\* P <0,001.

Шундай қилиб, сурункали эмоционал-оғриқ стрессининг 1, 2 ва 3 ҳафталарида назоратдаги хайвонларда бош мия тўқималаридаги АНнинг миқдори ошса, резистентлик босқичининг бошланғич даврида бирозгина камайди, ҳолсизланишда эса кескин камайди. Антигипоксантилар таъсирида эса юқоридаги кўрсаткичлар стресснинг барча босқичларида соғлом хайвонларникидан сезиларли фарқ қилмайди.

Сурункали эмоционал-оғрикли стрессда бош мия тўқималаридаги АН миқдорида кузатилган ўзгаришлар жигар, буйрак усти безлари ва тимусда ҳам аниқланган.

*Митохондрияларнинг нафас олиши ва оксидланиши фосфорланиши.*

Бош мия митохондрияларида сурункали эмоционал-оғрикли стресснинг 1-ҳафтасида глутаматнинг 3 ва 4 ҳолатларида митохондрияларнинг нафас олиш тезлиги тегишли равишда 13,7 ва 7,4% га ошади (1-жадвал).

### 1-жадвал

#### Стресснинг ривожланиш динамикасида каламушларнинг бош мияси митохондрияларидаги глутаматнинг оксидланиш тезлигига антигипоксантиларнинг таъсири ( $M \pm m$ ; $n = 8 - 10$ ).

Эксперимент муддати	Вариант	Нафас тезлиги, нано-грамм кислород атоми /мин мг оксил			
		V <sub>3</sub>	V <sub>4</sub>	НК <sub>ч</sub>	АДФ/О
1 ҳафта	Назорат	40,0±3,4	12,1±1,5	3,33±0,12	2,65±0,07
	Тажриба	45,5±4,2	13,0±1,7	3,50±0,10	2,78±0,08
	Катацин	42,5±3,3	12,1±1,3	3,51±0,10	2,83±0,05
	Бензонал	41,9±4,0	12,0±1,2	3,49±0,10	2,88±0,06
2 ҳафта	Назорат	37,8±3,2	12,0±1,4	3,15±0,10	2,70±0,09
	Тажриба	49,9±4,6 <sup>****</sup>	15,1±1,8	3,30±0,11	2,81±0,08
	Катацин	40,4±2,6	12,0±1,7	3,36±0,10	2,84±0,09
	Бензонал	39,1±3,0	12,0±1,6	3,26±0,12	2,86±0,06
3 ҳафта	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 <sup>*</sup>	2,58±0,07
	Катацин	41,7±3,6	13,1±1,5	3,18±0,13	2,65±0,06
	Бензонал	41,1±3,2	12,6±1,4	3,26±0,10	2,64±0,08
1 ой	Назорат	40,0±2,8	12,2±1,3	3,28±0,13	2,74±0,07
	Тажриба	32,1±2,3 <sup>**</sup>	15,3±1,4 <sup>*</sup>	2,10±0,09 <sup>****</sup>	2,41±0,06 <sup>*</sup>
	Катацин	37,9±2,5	12,4±1,2	3,05±0,08	2,71±0,07
	Бензонал	39,0±2,4	12,3±1,2	3,17±0,08	2,72±0,05
2 ой	Назорат	38,8±3,3	12,0±1,2	3,23±0,12	2,69±0,10
	Тажриба	26,5±2,1 <sup>****</sup>	15,6±1,5 <sup>**</sup>	1,70±0,08 <sup>****</sup>	2,05±0,08 <sup>****</sup>
	Катацин	35,8±3,1	10,9±1,9	3,28±0,10	2,78±0,07
	Бензонал	37,1±3,0	10,9±2,0	3,40±0,09	2,85±0,06
3 ой	Назорат	40,8±2,2	12,1±1,2	3,37±0,13	2,72±0,08
	Тажриба	24,5±2,0 <sup>****</sup>	15,8±1,6 <sup>**</sup>	1,55±0,11 <sup>****</sup>	1,88±0,07 <sup>****</sup>
	Катацин	39,0±2,1	10,2±1,0	3,82±0,12	2,99±0,08
	Бензонал	39,6±2,3	10,1±1,0	3,92±0,12	2,95±0,06

Бу ўзгаришлар Чанс бўйича нафас назорати (НК<sub>ч</sub>) кўрсаткичини бироз оширади (6,0%). Тажрибанинг бундай шароитларида митохондрияларнинг

нафас олиши сукцинат билан сезиларли даражада ошиб кетади (3 ва 4 ҳолатларда назорат даражасига нисбатан 58,0 ва 27,4% ларга). Бунда НК<sub>ч</sub> 23,6% га ошади, бироқ АДФ/О коэффиенти деярли ўзгармайди. 2 ҳафталик стрессдан сўнг бош мия митохондрияларида оксидловчи фосфорланиш параметрлари ўзгармаган ҳолда нафас функцияси янада кучайиб кетади. Бунда 3 ва 4 ҳолатларда глутаматнинг оксидланиш тезлиги меъёр даражасига нисбатан 32,0 ва 25,6 % ларга, сукцинат билан эса 101,9 ва 117,8% га ошади. Бу хавотирланиш босқичида бош мия митохондрияларининг нафас олиш тезлиги, айниқса сукцинат йўли бўйлаб ошиб кетишини англатади.

Шундай қилиб, хавотирланиш босқичида митохондриялар одатдаги метаболизмдан юқори даражадаги метаболизмга ўтади. Стресснинг 3 ҳафтасида – резистентлик босқичида 2 ҳафталик стрессга нисбатан глутаматнинг оксидланувчи фосфорланишининг кўтарилиши пасайиб, меъёр кўрсаткичларга яқинлашиб қолади, 4 ҳолатдаги нафас олиш тезлиги эса юқориликча қолади (19,7%). Мазкур ўзгаришлар НК<sub>ч</sub> кўрсаткичини 9,2% га,

АДФ/О коэффиентини 3,0% га пасайишига олиб келади. Бунда митохондрияларни сукцинат билан нафас олиши 2 ҳафталик стрессга нисбатан камаяди, бироқ меъёрга нисбатан ошади (3 ҳолатда – 45,8%, 4 ҳолатда – 83,6% га). Бу ўзгаришлар НК<sub>ч</sub> кўрсаткичи 20,7% га, АДФ/О катталигини эса 6,8% га пасайишига олиб келади. Резистентлик босқичининг охирларида (1 ойдан кейин) мия митохондрияларида нафас олиш ва оксидланувчи фосфорланишнинг бир-биридан ажралиши рўй беради. Шу сабабли глутаматнинг фосфорланувчи оксидланиш тезлиги меъёрга нисбатан 19,8% га камайса, 4 ҳолатдаги нафас олиш тезлиги эса деярли меъёрга тенглашади. Бунинг натижасида НК<sub>ч</sub> кўрсаткичи 36,0% га, АДФ/О коэффиенти 12,1% га камаяди.

Стресснинг 1-ойдан кейин 3 ҳолатдаги сукцинатнинг оксидланиш тезлиги меъёр кўрсаткичига яқинлашса, 4 ҳолатдаги нафас тезлиги эса 45,5% га ошади. Шунингдек НК<sub>ч</sub> кўрсаткичи ва АДФ/О коэффиенти мос равишда 31,2 ва 10,1% га камаяди. Бу эса резистентлик босқичида бош мия митохондрияларида транслоказа фаоллигининг тезлашишини кўрсатади. Ҳолдан тойиш босқичида фосфорланиш-оксидланиш тезлиги ва АТФ синтези самарадорлиги сезиларли даражада камаяди ҳамда бу ўзгаришлар узоқ муддатли стрессникига ўхшаш бўлади. Масалан 2 ойдан кейин митохондрияларни глутамат билан 3 ҳолатда нафас олиш тезлиги меъёрга нисбатан 31,7% га камайса, 3 ойдан кейин 40,0% га камайиб кетади. Бунда 4 ҳолатда митохондрияларнинг нафас олиш тезлиги тажрибанинг 2 ва 3 ойларида меъёр даражасидан 30,0 ва 30,6% га ошади.

Бунинг натижасида НК<sub>ч</sub> кўрсаткичи меъёрга нисбатан 47,4 ва 54,0% га, АДФ/О коэффиенти эса 23,8 ва 30,9% га камаяди. Икки ойлик стрессдан кейин сукцинатнинг фосфорланувчи оксидланиши меъёр даражасига нисбатан 28,2% га камайса, 4 ҳолатдаги нафас тезлиги, аксинча, 26,0% га ошади, НК<sub>ч</sub> кўрсаткичи ва АДФ/О коэффиенти эса 42,8 ва 14,5% га камаяди. Стресснинг 3 ойдан кейин нафас олиш тезлиги 3 ҳолатда 36,9%

камайса, 4 ҳолатдаги нафас олиш деярли меъёрга тенглашади. НК<sub>ч</sub> кўрсаткичи ва АДФ/О коэффициенти тегишли равишда 40,9 ва 20,5% камаяди. Бу ҳолдан тойиш босқичида бош мия митохондрияларида нафас олиш ва оксидловчи фосфорланишнинг бир биридан ажаралиб қолиши АТФ синтезининг пасайишига олиб келади.

Катацин ва бензонал сурункали эмоционал - оғриқли стрессда юқорида баён этилган ўзгаришларни сезиларли даражада камайтирди.

Демак, сурункали эмоционал-оғриқ стресснинг хавотирланиш босқичида бош мия митохондрияларининг нафас олиши кучайиб кетади. Бу айниқса сукцинатнинг оксидланишида яққол намоён бўлади. Резистентлик даврининг бошланғич босқичида митохондрияларнинг нафас олиши меъёр кўрсаткичларига яқинлашади, бу ҳолат глутаматнинг оксидланишида яққол намоён бўлади, бироқ 4 ҳолатдаги оксидланиш кўрсаткичи юқорилигича қолади. Бунда НК<sub>ч</sub> кўрсаткичи глутамат билан бироз пасаяди, аммо сукцинат билан бироз ошади. Тажрибанинг бундай шароитларида глутамат билан АДФ/О коэффициенти тўлиқ меъёрлашади, сукцинат билан эса бироз камаяди.

Сурункали эмоционал-оғриқли стрессда бош мия митохондрияларида кузатилган ўзгаришлар жигар митохондрияларида ҳам кузатилди.

*Жигар митохондрияларининг ротенонга сезгир ва сезмайдиган НАД.Н оксидазалари.*

Стресснинг ривожланиш динамикасида жигар митохондрияларидаги НАД.Н ички ва ташқи оксидланиш йўлларида антигипоксантиларни таъсири ўрганилганда 1 ва 2 ҳафтада, НАД.Н ички оксидланиш йўли меъёр даражасига нисбатан 16,7 ва 33,2% га ортади. Катацин ва бензонал иштирокида эса НАД.Н нинг ички йўл бўйлаб оксидланиши меъёрдан фарқ қилмайди.

Тажрибанинг бундай шароитларида антигипоксантиларнинг бор-йўқлигидан қатъй назар НАД.Н оксидланишининг ташқи йўли ўзгармайди. Бироқ, хавотирланиш босқичининг охирида (стресснинг 3 ҳафтаси) НАД.Н оксидланишининг ички йўли 2 ҳафтадагига нисбатан 18,5%, ташқи йўли эса 7,8% га ошади. Антигипоксантилар иштирокида НАД.Н оксидланишининг ички ва ташқи йўллари ўзгармайди. Шундай қилиб, хавотирланиш босқичининг охирида митохондриянинг нафас олиши ички мембранада пасаяди, ташқи мембранасида кучаяди. Бу маълумотлар сурункали оғриқли стрессда митохондрияларда функционал ўзгаришларнинг бузилишидан дарак беради. Резистентлик босқичида НАД.Н ички оксидланиш йўлининг пасайиши ва НАД.Н ташқи оксидланиш йўлининг кучайиши муайян даражада тезлашади. Антигипоксантилар таъсирида НАД.Н оксидланишининг иккала йўли ҳам ўзгармайди. Ҳолдан тойиш босқичида – 2 ойдан кейин НАД.Н оксидланишининг ички йўли 11,4% га камайса, ташқи оксидланиш йўли сезиларли ортади (25,7%). Тажрибанинг 3 ойида НАД.Н оксидланишининг меъёрдан четга оғиши сезилари даражада тезлашади

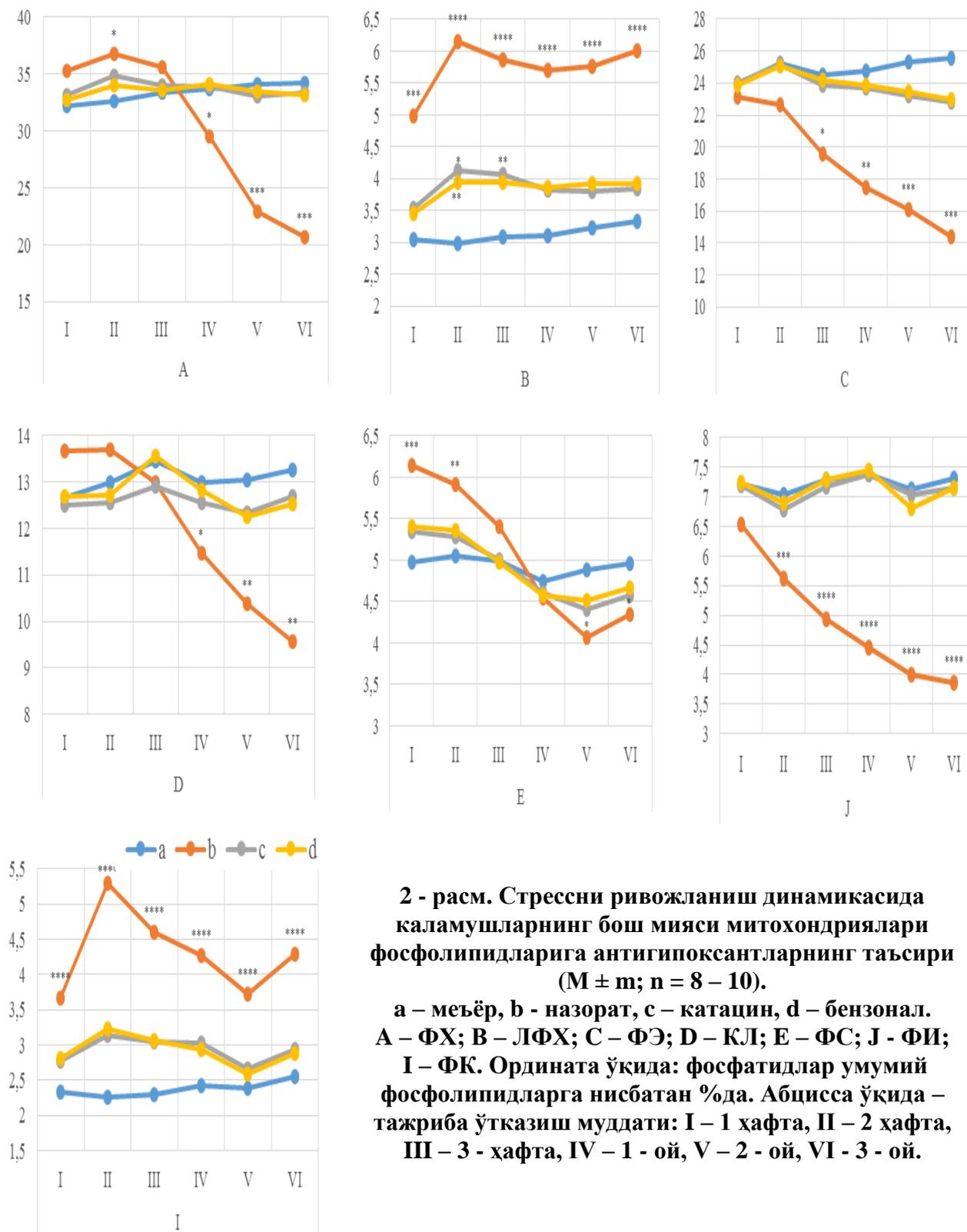
(НАД.Н оксидланишининг ички йўли 29,8% га камайиб, ташқи йўли эса 48,7% га ортади).

Антигипоксантилар иштирокида НАД.Н нинг иккала йўл билан оксидланиши меъёрдан фарқ қилмайди. Демак, хавотирланишнинг охири босқичида цитохром  $c$  нинг ички мембранадан чиқиши бошланиб, резистентлик босқичида бу жараёнлар тезлашади ва ҳолдан тойиш босқичида ўз максимумига етади. Бу натижалар митохондриялар шишган пайтда унинг ички мембранасини фосфолипид-фосфолипид ва оксил-фосфолипид алоқаларининг бузилишидан дарак беради. Митохондрияларнинг ички мембранасидан сизиб чиқаётган цитохром  $c$  хужайрани ҳалокатга олиб келади (Греен, Реед, 1998).

Диссертациянинг «**Стресс ривожланиш динамикасида каламушларнинг баъзи-бир органлари ва митохондрияларидаги липидлар ва фосфолипидлар алмашинувининг бузилишлари ва уларни антигипоксантилар билан коррекция**» деб номланган бешинчи бобида каламушлар баъзи бир органлари ва митохондрияларидаги липидлар ва фосфолипидлар алмашинуви стресснинг ривожланиш динамикасида бузилишлари ва уларни антигипоксантилар билан коррекция қилиш натижалари келтирилган. Стрессни ривожланишида бош мия, жигар, тимус ва буйрак усти безларида қуйидаги ўзгаришлар аниқланди. Стресснинг қайси босқичлигидан қатъи назар холестерин ва эркин ёғ кислоталари (ЭЁК)нинг миқдорлари ошди, фосфатидилинозит (ФИ)нинг миқдори камайди. Айни пайтда, умумий липидлар ва фосфолипидларни ўзгаришида учта фазани: хавотирланишда - кўпайишини, резистентликда – меъёрга яқинлашишини, ҳолдан тойишда – сезиларли камайишини кузатиш мумкин. Антигипоксантилар иштирокида холестерин ва ЭЁКнинг миқдорлари меъёрдаги кўрсаткичларга яқинлашади, бошқа липид ва фосфолипидлар миқдорлари ҳам деярли тўлиқ меъёрлашди.

Бош мия митохондрияларида стресс муддатидан қатъи назар лизофосфатидилхолин (ЛФХ) ва фосфатид кислота (ФК)ларнинг миқдорлари кўпайди. Бош мия митохондрияларида 1-ҳафталик стрессдан сўнг, назоратдаги хайвонларнинг ЛФХ миқдори сезиларли ошса, фосфатидилхолин (ФХ) ва кардиолипин (КЛ)ларнинг миқдорлари бирозгина ошди, фосфатидилэтанолламин (ФЭ) миқдори бироз, ФИ миқдори эса сезиларли пасайди. Стресснинг 2-ҳафтасида фосфатидилсерин (ФС) нинг миқдори меъёр кўрсаткичларига тенглашди, ФХ нинг ошиши ва ФИ нинг камайиши эса бироз тезлашди, шу билан бирга КЛнинг кўпайиши давом этади. Стресснинг 3-ҳафтасида ФХ ва ФС ларнинг миқдори меъёрга яқинлашди, ФЭ ва ФИларнинг камайиши эса тезлашди. Стресснинг 1-ойида ФХ ва КЛ ларнинг миқдори камайишда давом этса, ФС, ФЭ ва ФИ ларнинг миқдорларининг камайиши тезлашди. Стресснинг 2-ойида асосан ФИ, ФХ ва ФЭларнинг миқдорлари пасайиб кетди. Ҳолдан тойиш босқичининг якунида, яъни стресснинг 3-ойида бош мия митохондрияларида ЛФХ миқдори 72,9%

га ошса, ФХ, ФЭ, ФС, ФИ, СМ, ва КЛ ларнинг миқдорлари меъёрга нисбатан 28,2; 26,9; 23,3; 48,6; 9,3 ва 23,8% ларга камайиб кетди (2-расм).



Тадқиқотларимиз натижалари кўрсатишича, стресснинг хавотирланиш босқичининг 1-ҳафтаси якунида антигипоксантилар иштирокида ФЭ, ФС, ФИ,

СМ, КЛ ларнинг миқдорлари меъёр кўрсаткичларига тенглашса, ФХ, ЛФХ миқдорлари меъёр кўрсаткичларига деярли яқинлашди. Ҳолдан тойиш босқичида антигипоксантилар иштирокида ФЭ, ФС, ФИ, СМ, КЛ ФХ ва ЛФХ ларнинг миқдорлари деярли меъёр кўрсаткичларига тенглашди.

Сурункали эмоционал-оғриқли стрессда бош мия митохондриялардаги фосфолипидлар таркибидаги ўзгаришлар жигар митохондрияларида ҳам кузатилди.

Диссертациянинг «**Стресснинг ривожланиш динамикасида каламушлар бош мияси ва жигари митохондрияларининг фосфолипаза фаоллигининг ўзгариши ҳамда уни антигипоксантилар билан коррекция қилиш**» деб номланган олтинчи бобида сурункали эмоционал-оғриқ стрессининг ривожланиш динамикасида каламушлар бош мияси ва жигаридан ажратиб олинган митохондрияларининг фосфолипаза фаоллигининг ўзгариши ўрганилиб, уларни антигипоксантилар билан коррекция қилиш натижалари келтирилган.

*Бош мия митохондриялари.*

Стресснинг хавотирланиш (2 ҳафтаси) босқичида препаратлар иштирокисиз бош мия митохондрияларида фосфолипаза А<sub>2</sub> нинг умумий фосфолипидлар гидролизига нисбатан фаоллиги 144,4% га, ошган бўлса, катацин иштирокида атиги 29,8% га, бензонал иштирокида эса 32,5% га ошган. Агар стрессда ЭЁКнинг ҳосил бўлиши бўйича ферментнинг фаоллиги 116,0% га ошган бўлса, катацин ва бензонал иштирокида 25,7 ва 22,0% ларга ошган. Индивидуал фосфолипидларнинг гидролизи бўйича қуйидаги фарқлар аниқланди. Масалан, препаратлар иштирокисиз ферментлар фаоллиги назорат даражасидан 120,5 ва 154,3% га ошса, катацин иштирокида 28,0 ва 25,9% га, бензонал иштирокида эса 31,8 ва 36,7% ларга ошган.

Ҳолдан тойиш босқичида катацин ва бензонал каламушларнинг бош мия митохондрияларида фосфолипаза А<sub>2</sub> гидролитик фаоллигини деярли меъёр даражасига етказди. Масалан, препаратлар иштирокисиз ферментнинг умумий фосфолипидлар, ФХ ва ФЭ гидролизи ва эркин ёғ кислоталарининг ҳосил бўлиши бўйича гидролитик фаоллиги меъёрга нисбатан 57,6; 55,4; 43,8 ва 68,7 % га ошган бўлса, катацин билан атиги 9,8; 10,5; 6,0 ва 11,2 % га, бензонал билан эса атиги 6,9; 9,7; 7,4 ва 13,5 % ларга ошган.

Стресснинг 1-ҳафтасида бош мия митохондрияларида фосфолипаза А<sub>1</sub> нинг эркин ёғ кислоталари бўйича гидролитик фаоллиги 1,35 мартага ошса, 2 ва 3 ҳафталарида 1,84 ва 1,78 мартага ортади. 3 ҳафталик стрессга нисбатан 1 ойлик стрессда ферментнинг фаоллиги муайян даражада пасайди. Тажрибанинг 1, 2 ва 3-ойларида бош мия митохондрияларида фосфолипаза А<sub>1</sub> гидролитик фаоллиги меъёрга нисбатан 1,69; 1,60 ва 1,55 мартага ошади. Бош мия митохондриялари фосфолипаза А<sub>1</sub> гидролитик фаоллиги меъёрда ЛФХдан кўра лизофосфатидилэтанолламинга (ЛФЭ) нисбатан кучлироқдир.

Стрессда бош мия митохондрияларида лизофосфолипаза А<sub>1</sub> нинг субстрат спецификлиги сақланиб қолади. Стрессдан 1, 2 ва 3 ҳафталаридан сўнг ферментнинг глицерофосфохолин ҳосил бўлишига нисбатан фаоллиги 1,26;

1,81 ва 1,56 га ошадиган бўлса, глицерофосфоэтанолламин ҳосил бўлиши бўйича 1,58; 2,13 ва 2,18 га ошади. Бу ҳолат стрессда бош мия митохондрияларида лизофосфолипаза А<sub>1</sub> ЛФХ дан кўра, ЛФЭ ни тезроқ гидролизлайди. Стресснинг 1, 2 ва 3 ойдан кейин ҳам юқоридаги ўзгаришлар кузатилади, аммо 2, 3 ҳафталарга нисбатан ферментнинг фаоллиги бировгина пасаяди (глицерофосфохолин ҳосил бўлиши бўйича тегишли равишда 1,56; 1,47 ва 1,40 мартага, глицерофосфоэтанолламин ҳосил бўлиши бўйича эса 1,93; 1,82 ва 1,80 мартага ошди).

Бир ҳафталик стрессдан кейин бош мия митохондрияларида фосфолипаза Д нинг фаоллиги ФК ҳосил бўлиш бўйича 1,45 мартага кўпайди. Стресснинг 2 ва 3 ҳафтасида фермент фаоллигининг ошиши сезилари даражада кучайиб кетди (меъёрдан нисбатан 1,82 ва 1,79 мартага ошади), 1, 2 ва 3 ойларида эса ферментнинг фаоллиги юқориликча қолди, аммо 2 ва 3 ҳафталик тажрибага нисбатан биров камади.

Демак, хавотирланишда катацин ва бензонал каламушларнинг бош мия митохондрияларида фосфолипазаларнинг гидролитик фаолликларини деярли ўзгаритирмайди, резистентликда – меъёр даражасида қолади, ҳолдан тойиш босқичида меъёр даражасига етказди.

#### *Жигар митохондриялари.*

Хавотирланиш босқичида (стрессдан 2 ҳафта ўтиб) жигар митохондрияларининг фосфолипаза А<sub>2</sub> фаоллиги ФХ ва ФЭ ларга нисбатан деярли бир хилда ингибирлайди. Масалан антигипоксантилар иштирокисиз ферментнинг фаоллиги ФХ ва ФЭ бўйича меъёрга нисбатан 1,80 ва 2,31 марталарга ошса, катацин иштирокида 1,17 ва 1,24; бензонал билан эса атиги 1,10 ва 1,21 марталарга ошди.

Агар тажрибанинг 2 ҳафтасида ЭЁК ҳосил бўлиши ва ЛФХ билан ЛФЭ нинг гидролизи бўйича ферментнинг фаоллиги назоратда 1,84; 1,81 ва 2,12 мартага ошса, катацин иштирокида 1,20; 1,22 ва 1,30 марта, бензонал билан эса 1,23; 1,21 ва 1,32 мартага ошди. Тахминан худди шунга ўхшаш ўзгариш стресснинг 2 ойида ҳам кузатилади. Масалан, препаратлар иштирокисиз ЭЁК ҳосил бўлиши ва ЛФХ билан ЛФЭ нинг гидролизи бўйича ферментнинг фаоллиги назоратда 1,40; 1,37 ва 1,42 марта ошса, катацин иштирокида 1,15; 1,12 ва 1,17 марта, бензонал билан эса 1,15; 1,11 ва 1,19 мартага ошган. Стресснинг 1, 2 ва 3 ҳафталарида ферментнинг глицерофосфохолин ҳосил бўлиши бўйича фаоллиги 1,31; 1,62 ва 1,52 марталарга ошган бўлса, глицерофосфоэтанолламин ҳосил бўлиши бўйича эса 1,48; 1,90 ва 1,94 марталарга кучайди. Ана шундай ўзгаришлар 1, 2 ва 3 ойлardan кейин ҳам кузатилди.

Стрессни хавотирланиш босқичида катацин ва бензонал жигар митохондрияларида фосфолипаза Д гидролитик фаоллигини сезиларли даражада меъёрлаштирди. Агар, 2 ҳафталик стрессдан кейин фосфолипаза Д нинг ФК нинг ҳосил бўлиши бўйича фаоллиги меъёрга нисбатан 1,82 мартага ошган бўлса, катацин ва бензонал иштирокида атиги 1,24 ва 1,20 мартага ошди. Бунда фосфолипаза Д нинг ФХ ва ФЭлар гидролизига нисбатан

фаоллиги меъёрга нисбатан 2,22 ва 1,89 мартага ошган бўлса, катацин киритилгандан кейин 1,30 ва 1,25 марта, бензонал киритилгандан кейин эса 1,31 ва 1,26 мартага ошган.

Ҳолдан тойиш босқичида фосфолипаза Д фаоллиги ФК ҳосил бўлиши бўйича 1,69 мартага ошди, катацин ва бензонал иштирокида эса тегишли равишда 1,16 ва 1,12 мартага тезлашди. Митохондрияларда фосфолипаза Д фаоллиги ФХ ва ФЭларга нисбатан ҳам ошди. Агар препаратлар иштирокисиз ферментнинг фаоллиги холин ва этаноламин ҳосил бўлиши бўйича 1,98 ва 1,75 мартага ошган бўлса, катацин иштирокида атиги 1,18 ва 1,17 мартага, бензонал иштирокида эса атиги 1,21 ва 1,15 мартага ошди. 1, 2 ва 3 ҳафталик стрессдан кейин холин ҳосил бўлиши бўйича фосфолипаза Д нинг фаоллиги тегишли равишда 1,62; 2,09 ва 2,15 мартага ошди ва бу ҳолат тажрибанинг 1, 2 ва 3 ойида ҳам сақланиб қолди. Демак, стрессли ҳайвон организмига катацин ва бензоналларнинг киритилиш митохондрияларининг мембраналарида липолитик энзимларнинг гидролитик фаоллигини деярли тўлиқ меъёрлаштиради.

Диссертациянинг **«Стресснинг ривожланиш динамикасида каламушларнинг баъзи органлари ва митохондрияларида ЛПО бузилишлари ва уларни антигипоксантилар билан коррекциялаш»** деб номланган еттинчи боб сурункали эмоционал-оғриқ стрессининг ривожланиш динамикасида каламушларнинг баъзи органлари ва митохондрияларида ЛПО бузилишларини тадқиқ қилишга ва уларни антигипоксантилар билан коррекциялашга қаратилган.

Стресснинг 1 ҳафтасида бош мия ва жигар тўқималарида ЛПО жараёнлари меъёр кўрсаткичларидан тегишли равишда 65,0 ва 40,3% га ортган бўлса, 2 ҳафтасида 102,2 ва 84,3% ларга ортади. Бироқ стресс таъсирининг кейинчалик давом эттирилиши натижасида ЛПО жараёнлари 2 ҳафталик тажрибага нисбатан бироз секинлашади, аммо меъёрга нисбатан юқориликча қолади. Масалан, стресснинг 3 ҳафтасида бош мия ва жигар тўқимасида ЛПО жараёнлари назоратга нисбатан 88,1 ва 76,0% ларга ортади. Тажрибанинг 1, 2 ва 3 ҳафталарида мия тўқимасида ЛПО жараёнлари меъёрга нисбатан тегишли равишда 65,0; 102,2 ва 88,1 % ларга, жигар тўқимасида эса 40,3; 84,3 ва 76,0% ларга ортади.

Юқорида баён этилган ўзгаришлар буйрак усти безлари ва тимусда, бош мия ва жигар митохондрияларида ҳам кузатилди. Бензонал ва катацин ЛПО жараёнларини сезиларли даражада пасайтиради.

Олинган маълумотларнинг таҳлили хужайра ва митохондрияларнинг липолитик тизими компонентлари ва ЛПО жараёнлари бир-бири билан чамбарчас боғлиқ бўлиб, улар мембрананинг структуравий ва функционал ўзгаришларига олиб келувчи мембранадаги “биқатлам” ва “нобиқатлам” соҳаларнинг нисбати, ундаги маҳаллий зарядлар, турли ионлар учун ўтказувчанлиги, цитохром c нинг ички мембранадан чиқариб юборилиши ва оксидланишли фосфорланишни бузилиши фосфолипидларнинг ферментатив ўзгаришларига боғлиқлигини кўрсатди. Бошқа томондан

фосфолипазларнинг гидролиз, трансацилланиш, трансалкилланиш фаолликлари ва ЛПО жараёнлари муайян даражада мембрананинг структуравий ҳолати билан белгиланади. Демак, фосфолипазлар ва ЛПО эндоген бошқарувчилар бўлиб, улар хужайра гомеостазини сақлайди, ўзгарувчан физиологик ва патологик шароитларга мослашишини таъминлайди.

Катацин ва бензонал хужайра ва митохондрияда стресс таъсирида бузилган структуравий ўзгаришларни, яъни липолитик энзимларнинг фаолликлари ва ЛПО жараёнларининг пасайиши натижасида мембраналарда липид ва фосфолипидларнинг миқдори ва нисбатлари меъёрга кўрсаткичларга яқинлашади, “биқатлам” сохалар кўпаяди. Бу ўзгаришлар митохондрияларнинг ички мембранасидан цитохром *c* ни чиқиши кескин камайиши хисобига хужайра ядросининг жароҳатланишини камайтиришга, митохондрияларнинг нафас олиш ва АТФ синтезини қайта тиклананишига олиб келади. Шу сабабли катацин ва бензонални организмга стресс таъсирини камайтирувчи дори воситаси сифатида фойдаланиш мумкин деган хулосага келиш мумкин.

## ХУЛОСА

1. Сурункали эмоционал-оғриқ стрессда хавотирланиш босқичида каламушларнинг газ-кислород алмашинуви, тимус ва буйрак усти безлари массаси ошиб кетади. Резистентлик босқичида аста-секинлик билан бошланғич даражага қайтса, ҳолдан тойиш босқичида сезиларли даражада пасайиб кетади.
2. а) Хавотирланиш босқичида бош мия тўқимасида адреналин миқдори ортиб кетади. Хавотирланишнинг илк босқичида норадреналин миқдори ошиб, унинг охирига борганда пасайиб кетади. Резистентлик босқичида катехоламинлар миқдори камайиб, ҳолдан тойиш босқичида яна ошиб кетади; б) хавотирланиш босқичида буйрак усти безларида катехоламинлар миқдори, асосан адреналин миқдори ошса, резистентлик босқичида меъёр кўрсаткичга яқинлашади, ҳолдан тойиш босқичида эса камайиб кетади.
3. Хавотирланиш босқичида АТФ миқдори ва бош мия, тимус, буйрак усти безларида ва жигарда аденин нуклеотидларининг умумий миқдори ортса, резистентлик босқичида аста-секинлик билан меъёр кўрсаткичларга яқинлашади. Ҳолдан тойиш босқичида эса камайиб кетади. Бу ҳолат АТФнинг ички митохондриял миқдори регулятор эканлигини ва у транслоказа билан  $H^+$  - АТФ-синтаза фаоллигини назорат қилишини англатади.
4. Хавотирланиш босқичида бош мия ва жигар тўқималарида митохондрияларнинг нафас олиш ва оксидловчи фосфорланиш функцияси ортади. Резистентлик босқичида оксидловчи фосфорланишнинг «енгил» узилиб қолиши кузатилса, ҳолдан тойиш босқичида нафас олиш ва АТФ синтези пасайиб кетади.
5. Хавотирланишнинг бошланишида митохондриянинг ички йўлида НАДН

оксидланиши тезлашади, кейинчалик, бирозгина секинлашади, резистентликда секинлаши тезлаша бошлайди, холсизланишда сезиларли даражада секинлашади; ташқи йўлдаги оксидланиш хавотирланишда ўзгармайди, резистентликда тезлаша бошлайди, холсизланишда тезлашиш сезиларли кучаяди. Бу эса цитохром  $c$  ни ички мембранадан чиқиши бошланишини, холсизланишда эса тезлашишини кўрсатади.

6. Стресснинг босқичларидан қатъи назар турли органларнинг тўқималарида холестерин, ЭЁК ва ЛФХ миқдорлари ортади, ФИ эса камаяди; фосфолипидларнинг бошқа фракциялари хавотирланиш босқичида ортади ёки ўзгармасдан қолади, резистентлик босқичида эса камаяди.

7. Стресснинг босқичларидан қатъи назар, бош мия ва жигар митохондрияларида фосфолипаза  $A_2$ , лизофосфолипаза  $A_1$  ва фосфолипаза Д гидролитик фаолликлари ортади.

8. Стресснинг босқичларидан қатъи назар турли органларнинг тўқималарида ва митохондрияларида ЛПО ошади.

9. Катацин ва бензонални ҳайвонлар организмига киритилиб уларга стресс берилганда юқорида санаб ўтилган кўрсаткичларни четга оғиши сезиларли даражада секинлашиб соғлом ҳайвонлардаги кўрсаткичларга яқинлашади.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ 14.07.2016.В.01.03 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНОЙ  
СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК ПРИ НАЦИОНАЛЬНОМ УНИВЕРСИТЕТЕ  
УЗБЕКИСТАНА И ИНСТИТУТЕ МИКРОБИОЛОГИИ**

---

**НАМАНГАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**АБДУЛЛАЕВ ГАФФУРЖАН РАХИМЖОНОВИЧ**

**НАРУШЕНИЕ ФУНКЦИЙ МИТОХОНДРИЙ В РАЗВИТИИ СТРЕССА  
И ЕГО КОРРЕКЦИЯ АНТИГИПОКСАНТАМИ**

**03.00.08 – Физиология человека и животных  
(биологические науки)**

**АВТОРЕФЕРАТ ДОКТОРСКОЙ ДИССЕРТАЦИИ**

**Ташкент – 2016**

Тема докторской диссертации зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за №№ 30.09.2014/B2014.5.B101.

Докторская диссертация выполнена в Наманганском государственном университете

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский) размещён на веб-странице Научного совета ([www.nuu.uz](http://www.nuu.uz)) и Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» ([www.ziynet.uz](http://www.ziynet.uz)).

**Научный консультант:** Алматов Карим Тажибаевич  
доктор биологических наук, профессор

**Официальные оппоненты:** Матчанов Азат Таубалдиевич  
доктор биологических наук, профессор  
Рахамурадов Зайнитдин Туропович  
доктор биологических наук, профессор  
Туляганов Рустам Турсунович  
доктор биологических наук

**Ведущая организация:** Андижанский государственный университет

Защита диссертации состоится 30 ноября 2016 г в 10<sup>00</sup> часов на заседании Научного Совета 14.07.2016. В.01.03 при Национальном университете Узбекистана и Институте Микробиологии (адрес: 100174, г.Ташкент, Алмазарский район, ул. Университетская 4, конференц-зал Биологического факультета. Тел.: (+99871) 227-12-24, факс: (+99871) 246-53-21, 246-02-24, e-mail: nauka@nuu.uz).

С докторской диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Национального университета Узбекистана (зарегистрирована под № 25). Адрес: 100174, г. Ташкент, Алмазарский район, улица Университетская 4, Административное здание НУУз, 2-й этаж, 4-й каб. Тел.: (+998 71) 236-46-55; факс: (+99871) 246-02-24.

Автореферат диссертации разослан 16 мая 2016 г.

(протокол рассылки № 17 от 12 мая 2016 г.)



**Г.И. Джуманиязова**  
и.о. председателя Научного совета по присуждению учёной степени доктора наук, д.б.н. проф.

**З.А. Маматова**  
учёный секретарь Научного совета по присуждению учёной степени доктора наук, к.б.н., старший научный сотрудник

**Т.У. Рахимова**  
зам.председателя научного семинара при Научном совете по присуждению учёной степени доктора наук, д.б.н., проф.

## Введение (аннотация докторской диссертации)

**Актуальность и востребованность темы диссертации.** В настоящее время выявление механизмов влияния хронического эмоционального стресса на физиолого-биохимические процессы в организме на клеточном, мембранном и молекулярном уровнях и предотвращение стресса является одной из актуальных проблем, ожидающей своего решения перед учёными мира. По данным ВОЗ 80% населения земного шара под влиянием стресса подвергается заболеванию синдрома хронической усталости. В государствах Евросоюза 40 млн. из 147 млн. рабочих страдают, стрессом и это приносит, ущерб обществу в размере 19 млрд. долларов<sup>1</sup>.

В годы независимости в области дальнейшего повышения уровня жизни нашего народа уделяется особое внимание коренному реформированию системы здравоохранения и формированию здорового образа жизни. Программные мероприятия, осуществляемые, в данном направлении дают, свои результаты в воспитании гармонично развитого поколения и дальнейшего повышения здоровья населения.

Сегодня по всему миру выявление механизма влияния стрессов различной природы на органы и ткани в условиях «in vitro» и «in vivo» на физиологическом, биофизическом, мембранном и молекулярном уровнях, а также различных биологических веществ и лекарственных средств является одной из актуальных проблем. Отличить друг от друга изменения, возникающие в клетках, органеллах и мембранах органов и тканей организма при проведении исследований по коррекции отрицательного влияния стресса на организм; показать сходство или различие влияния острого и хронического стресса; выявить влияния веществ, обладающих антигипоксантами и антиоксидантными свойствами; доказать механизм отрицательного влияния лекарственных средств, используемых в лечении стресса на организм вместе с положительным влиянием.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных Указом Президента Республики Узбекистан № 1652 «О мерах по дальнейшему углублению реформирования системы здравоохранения» от 28 ноября 2011 года, и № 2221 «О государственной программе по дальнейшему укреплению репродуктивного здоровья населения, охране здоровья матерей, детей и подростков в Узбекистане на период 2014 — 2018 годы» от 1 августа 2014 года, Постановлением Кабинета Министров Республики Узбекистан № 416 «О мерах по поддержке отечественных производителей лекарственных средств и изделий медицинского назначения» от 14 июля 2006 года, а также других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

**Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики.** Данное исследование выполнено в

---

<sup>1</sup>Social Stress Clinic; [www.infoecology.ru](http://www.infoecology.ru)

соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологии республики – VI. «Медицина и фармакология»; V. «Сельское хозяйство, биотехнология, экология и охрана окружающей среды».

### **Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации.**

Научные изыскания, направленные на исследования механизмов эмоционального стресса и повышения физиологической выносливости организма на его повреждающее влияние ведутся в ведущих научных центрах и высших образовательных учреждениях мира, в том числе в Department of Preventive Medicine (США), American National Health Institute (США), University of Lisbon (Португалия), Aristotle University of Thessaloniki (Греция), American Institute of Stress (США), Berlin Institute of Stress (Германия), Stress Institute in Paris (Франция), Energy Metabolism Disorders and Therapies, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (Мадрид, Испания), Erasmus University Medical Center (Роттердам, Нидерланды), Kafedra Biofizyki Srodowska, Uniwersytet Lodzki (Польша), Medical University of Graz (Грац, Австрия), Warsaw University of Life Sciences (Варшава, Польша), Institute of Psychologic Stress Study (Хайфа, Израиль), Харьковском медицинском университете (Украина), Волгоградском научном центре (Россия), Тбилисском государственном университете (Грузия), Национальном университете Узбекистана и институте биоорганической химии (Узбекистан).

В результате исследований, проведенных в мире по нарушению нормальных физиологических процессов организма стрессом, получены ряд научных результатов, в том числе: выявлены патологические изменения в мембранах митохондрий под влиянием стресса (Department of Preventive Medicine, New York, United States of America); исследованы биохимия и патофизиология митохондриальных фосфолипидов (University of Lisbon, Portugal); показаны состояния митохондриального патогенеза и дисфункции при стрессе (Aristotle University of Thessaloniki, Greece); систематизированы данные о тканевой специфичности ПОЛ при эмоциональном стрессе у крыс (Тбилисский государственный университет, Грузия); доказаны данные об антигипоксантах, повреждении клеток и митохондрий при стрессе, процессы гипоксии, влияние ядов и токсинов на окислительный стресс (Kangwon National University (Южная Корея), Ti Yu Chang Road, Hangzhou (Китай), Mumbai University (Индия); выявлены ПОЛ и газоокислородный обмен в клетках и митохондриях, процессы окислительного фосфорилирования, нарушение структуры и функции митохондрий в различных патологических состояниях (Национальный университет Узбекистана, институт биоорганической химии и Ташкентская государственная медицинская академия, Узбекистан).

В мире по исследованию влияния стресса на органы и ткани организма по ряду приоритетных направлений проводятся исследования, в том числе: подтверждение видов стрессогенных факторов и механизма их молекулярно-физиологического влияния на организм; исследование тканевых и клеточных

изменений в различных этапах стресса; выявление механизмов влияния стресса в различных возрастных периодах организма; определение изменений в гуморальной регуляции и вегетативной нервной системе в различных стадиях стресса; создание лекарственных средств, обладающих антигипоксантичным и антиоксидантным свойствами, повышающих индивидуальную выносливость организма к стрессу.

**Степень изученности проблемы.** Найлены механизмы эмоционального стресса и их роль в митохондриальной патологии (Ressler et al., 2016; Lambertini et al., 2015; Morava et al., 2013) и пути повышения индивидуальной выносливости физиологических функций его нарушающему влиянию (Mc Ewen et al., 2015; Morena et al., 2015; Warren et al., 2013). Получены множественные экспериментальные данные, указывающие на то, что все явления, связанные с эмоциями являются результатом активности определённых отделов головного мозга (Szabo, Billett, Turner, 2001; Borovsky, Adham et al., 2001) и что митохондрии являются первичными мишенями различных патологических влияний (Di, Canton et al., 2007; Szeto, 2008; Huttemann et al., 2008; Wallace, Fan, Procaccio, 2010). Доказано лечение нарушений, возникающие впоследствии стресса в дыхательной цепи митохондрий головного мозга крыс (Aboul-Fotouh, 2013); механизмы развития эмоционального стресса в патогенезе нейродегенеративных заболеваний (Васенина и др., 2013); возможность, что стресс может стать фактором, оказывающий повреждающее влияние на органы и системы, приводящие к развитию стрессовых заболеваний (Судаков, 1995; Теплый, 2008).

В вышеприведённых научных исследованиях всесторонне изучены влияние хронического стресса на устойчивость физиологических систем на молекулярном уровне, клеточное и гуморальное нарушение общей регуляции в иммунной системе и другие патологические процессы. Также, показаны механизмы влияния некоторых антигипоксантиков в различных физиологических и патологических состояниях. В том числе, бензонал и катацин синхронно изменяют потребление кислорода в организме (Алламуратов Ш.И., 1999; Асанова К.А., 2002) дыхательную функцию митохондрий (Курмуков А.Г., Назруллаев А., Ахмеров Р.Н., 1990; Назруллаев С.С., 1994; Асанова К.А., Нурдинов Ш.Ш., 2002; Асанова К.А., 2002; Кулмаматова И.Э., Ширинова.А. ва бошқ., 2002), процессы образования и использования адениновых нуклеотидов в клетке, т.е. переводят на экономный режим израсходования кислорода и субстратов в тканях (Алматов К.Т., Ширинова И.А. ва бошқ., 2000; Ширинова И.А., 2005 ).

В литературах не существуют данных о нарушениях энергетического и липидного обмена в головном мозге, тимусе, надпочечниках и печени крыс в различных стадиях (тревога, сопротивление и истощение) эмоционально болевого стресса, изменениях активности ПОЛ и фосфолипаз на клеточном, мембранном и молекулярном уровнях, а также влиянии антигипоксантиков – катацина и бензонала на стресс. Данные, полученные, о влиянии катацина и

бензонала во всех стадиях эмоционально-болевого стресса на изменения в различных органах и тканях человека и животных могли бы создать возможность более глубокого изучения механизмов структурного и функционального нарушения в клетке, и в особенности митохондрий, открытия новых перспективных направлений их коррекции, точного диагноза больным и их эффективного лечения.

**Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами высшего образовательного учреждения, где выполнена диссертация.** Диссертационное исследование выполнено на основе фундаментальной научной программы «Исследование механизма влияния различных биологически активных веществ и флавоноидов на обмен веществ и энергии в организме», утверждённой постановлением №1 от 10 января 2013 года научно-технического совета Наманганского государственного университета.

**Цель исследования.** Целью данной работы являлась изучение изменений газоокислородного обмена организма, некоторых физиологических показателей, энергетического и липидного обмена, процессов ПОЛ и активности липолитических ферментов органов крыс в динамике развития хронического эмоционально-болевого стресса, а также возможности коррекции этих изменений при введении катамина и бензонала в их организм.

**Задачи исследования.**

изучение газоокислородного обмена крыс; определение изменения массы тимуса и надпочечников, а также содержания катехоламинов головного мозга и надпочечников;

определение содержания адениновых нуклеотидов в тканях мозга, надпочечников, тимуса и печени;

исследование дыхания и окислительного фосфорилирования митохондрий мозга и печени, изменений в активности ротенон – чувствительных и ротенон-нечувствительных НАД.Н оксидаз;

определение обмена липидов и фосфолипидов в мозге, надпочечниках, тимусе и печени;

определение обмена липидов и фосфолипидов в митохондриях головного мозга, печени, надпочечников и тимуса, а также активности фосфолипаз;

определение активности фосфолипазы  $A_2$ , лизофосфолипазы  $A_1$  и фосфолипазы Д в митохондриях головного мозга и печени;

определение процессов ПОЛ в тканях головного мозга, надпочечников, тимуса, митохондриях мозга и печени.

**Объектом исследования** являются белые лабораторные крысы, выделенные из них ткани головного мозга, тимуса, надпочечников, печени, катехоламины, адениновые нуклеотиды, митохондрии, липиды, фосфолипиды, липолитические ферменты и ПОЛ, а также антигипоксанты – катамин и бензонал.

**Предметом исследования** – физиологические и биохимические показатели, использованные для оценки целесообразности применения катацина и бензонала в стрессовых условиях.

**Методы исследования.** В проведении экспериментов были использованы физиологические, биофизические и молекулярно-биологические методы (дифференциальная центрифуга, полярография, тонкослойная хроматография, спектрофотометрия, фотокалориметрия).

**Научная новизна исследования** заключается в следующем:

выявлены молекулярные механизмы различия друг от друга структурных и функциональных нарушений клеточных и митохондриальных мембран различных органов под влиянием хронического эмоционально-болевого стресса в стадиях тревоги, резистентности и истощения;

доказано, что усиление трансферазной активности по сравнению с гидролитической активностью фосфолипаз приводит к увеличению содержания липидов и фосфолипидов, «ионных слоев» мембраны и усилению метаболизма в клетке;

выявлено зависимость усиления синтеза катехоламинов и адениннуклеотидов (АД) в клетке в стадии тревоги стресса от повышения дыхания и окислительного фосфорилирования, а также газоокислородного обмена;

доказано, что повышение трансферазной активности фосфолипаз приводит к приближению структуры и функции клетки, синтеза АТФ в митохондриях, газоокислородного обмена в организме к показателям здоровых животных в стадии резистентности;

выявлено усиление формирования «монослоёв» в мембране, выхода цитохрома *c* из внутренней мембраны митохондрий в результате повышения гидролитической активности фосфолипаз, замедления синтеза фосфолипидов в клетках в стадии истощения стресса;

доказано приближение к норме или уравнение изменений энергетического и липидного обмена в клетках и митохондриях под влиянием хронического эмоционально-болевого стресса при введении катацина и бензонала в организм животных.

**Практические результаты исследования** заключаются в следующем:

Результаты, полученные в результате выявления изменений, прослеженные в головном мозгу, тимусе, надпочечниках и печени в стадиях тревоги, резистентности и истощения хронического эмоционально-болевого стресса используются в качестве дополнительного материала в научно-исследовательских работах и преподавании студентам предмета физиологии;

Результаты, полученные, о влиянии катацина и бензонала в хроническом эмоционально-болевым стрессе создали возможность диагностирования для определения степени тяжести патологических изменений у больных в медицинских клиниках, а также их использования при эффективном лечении.

**Достоверность результатов исследования.** Каждый опыт был проведен, по меньшей мере, 5-10 раз. Это обосновывается возможностью

вычисления среднего значения самого достоверного и устойчивого результата. Статистическая обработка данных, вычисление погрешностей, среднего значения, интервалов достоверностей, стандартных отклонений были проведены с помощью компьютерной программы STATISTICA 6.0 и стандартных методов. Для определения статистического значения результатов был вычислен T-критерий Стьюдента.

**Научная и практическая значимость результатов исследования.** Научная значимость результатов исследования определяется предложением нового подхода к комплексной оценке состояния газокислородного, энергетического и липидного обмена, содержания адениновых нуклеотидов и катехоламинов, процессов ПОЛ и активности липолитических ферментов в динамике развития хронического эмоционально-болевого стресса и способствованием определения молекулярных сторон стрессового процесса этого состояния.

Практическое значение результатов исследования заключается в экспериментальном обосновании и подтверждении возможности использования и целесообразности катацина и бензонала для коррекции хронического эмоционально-болевого стресса и возможности решения молекулярных механизмов проблемы стресса. Результаты, полученные, в работе могут, быть рекомендованы для включения в пособия и учебные литературы по физиологии, биохимии, биофизики, а также могут быть добавлены к текстам лекций для студентов по вышесказанным предметам.

**Внедрение результатов исследования.** На основе полученных научных результатов по нарушению функции митохондрий в развитии стресса и его коррекции антигипоксантами:

изменения активностей содержания липидов, фосфолипидов в тканях и митохондриях, процесса ПОЛ и фосфолипаз выявлены, ученые исследователи Amity university (Индия) используют эти научные результаты в своих научных работах (Amity university (Индия) справка от 30 сентября 2016 года). Данные показали, что изменение содержание липидов, холестерина, фосфолипидов и лизофосфолипидов, усиление активности липолитических энзимов и активация процесса ПОЛ являются одним из факторов, определяющий механизм патологического влияния стресса;

результаты, полученные по изменению обмена липидов тканей и митохондрий организма, активностей фосфолипаз процессов ПОЛ и фосфолипаз митохондрий в научном проекте ОТ-ФЗ-109 «Научное обоснование новых сторон этиопатогенеза проблемы атеросклероза, программа его поэтапной реабилитации, разработка методов лечения с помощью иммунокорректоров, естественных и искусственных физических факторов» (НамГУ, 2007-2011) использованы при выявлении изменений обмена липидов и липолитических энзимов в различных этапах атеросклероза, возникающие под влиянием эмоционального стресса (справка комитета по координации развития науки и технологии ФТК-03-13/780 от 9 ноября 2016 года). Использование научных результатов послужило лечению

нарушений обмена липидов и фосфолипидов в различных этапах атеросклероза иммунокорректорами.

**Апробация результатов исследования.** Результаты исследования изложены в виде лекции и прошли апробацию «Биологик, экологик ва агротупроқшунослик таълимининг муаммолари ва истикболлари» (Тошкент, 2006, 2008); научно-практической конференции «Физик-кимёвий биология ва биотехнологиянинг истикболлари» (Андижан, 2007), посвящённой 70-летию академика А. Касимова; в международных научно-практических конференциях «Студент и научно-технический прогресс» (Новосибирск, 2010) и «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2010); в международных научно-практических конференциях, республиканских научно-практических конференциях «Физиология ва биофизиканинг замонавий муаммолари» (Ташкент, 2010), посвящённой 75-летию академика Б.О. Тошмухамедова; в международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биохимии и бионанотехнологии» (Казань, 2012, 2013); «Физик-кимёвий биологиянинг долзарб муаммолари» (Ташкент, 2015) посвящённой 80-летию академика Б.О. Тошмухамедова; «Биология ва экологиянинг долзарб муаммолари» (Тошкент, 2015) посвящённой 70-летию профессора К.Т. Алматова, «Физик-кимёвий биология ва экотоксикологиянинг замонавий аспектлари» (Ташкент, 2016) посвящённой 70-летию профессора У.З. Мирходжаева, «Теоретические и практические проблемы современной науки и образования» (Курск, 2016) и «Science and Education» (Munich, 2016); на семинарах кафедры Безопасности жизнедеятельности Наманганского государственного университета (2006-2016).

**Опубликованность результатов исследования.** По теме диссертации опубликовано всего 24 научных работ, из них 12 научных статей, в том числе 9 в республиканских и 3 в зарубежных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций.

**Структура и объем диссертации.** Структура диссертации состоит из введения, 7 глав, 9 заключений, списка использованной литературы. Объем диссертации составляет 194 страниц.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ**

**Во введении** обосновываются актуальность и востребованность проведенного исследования, цель и задачи исследования, характеризуются объект и предмет, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, излагаются научная новизна и практические результаты исследования, раскрываются научная и практическая значимость полученных результатов, внедрение в практику результатов исследования, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации «**Развитие стресса и механизмы действия, обзор литературных данных о коррекции митохондриальных изменений**

**антигипоксантами»** даются данные об изменениях физико-биологических функций организма, обмена липидов, перекисного окисления липидов, роли фосфолипаз в структуре и функции клетки и их коррекции, участии митохондрий в структуре и функции клетки, участии фосфолипаз митохондрий в гидролизе и синтезе фосфолипидов, влиянии катапина и бензонала на физиологические и биохимические показатели клетки.

Во второй главе диссертации **«Создание модели хронического эмоционально-болевого стресса у животных, выделение митохондрий из различных органов и методы определения уровня их изменений»** приводятся материалы и методы исследования.

Создание модели хронического эмоционально-болевого стресса у животных проведено на беспородных белых крысах самцах массой тела 180-200 гр. Приблизительно за две недели до начала эксперимента у крыс определяли эмоциональность по тесту «открытого поля». Для этого животных внезапно помещали из темной коробки в центр поля, представляющего собой арену диаметром 1,5 м, разделенную на квадраты со сторонами по 20 см, освещенную зеркальной лампой накаливания мощностью 500 Вт, подвешенной в центральной части на высоте 60 см от пола (в центре «открытого поля» создается освещенность 1000 люкс) (Иванова, Скоцеляс и др., 1979; Судаков, 1981; Sudakov, 1984). На протяжении 5 дней в течение 2 мин оценивали двигательную активность животных в метрах (по числу пересеченных квадратов, умноженных на коэффициент 0,3), а также подсчитывали количество фекальных шариков, уринаций, выходов в центр «открытого поля», умываний и вставаний на задние лапки. Все эти показатели служили критерием эмоциональности крыс. Крыс иммобилизовали, помещали в тесные клетки и проводили электрокожное раздражение лап и хвоста (частота тока - 50 Гц, сила - 30В, частота импульсов - 7 в минуту, длина импульса - 0,5 сек) в течение 30 мин ежедневно. В зависимости от группы животных подвергали электрокожному раздражению в течение 1,2 и 3 недели, 1, 2 и 3 месяцев (Судаков, 1981; Sudakov, 1984; Садыкова, 1995).

Оценку газоислородного обмена животных производили с помощью полярографического метода (Алматов, Ахмеров и др., 1993). Для этого животное помещали в герметическую камеру (емкость) с вмонтированным электродом Кларка, чувствительным к содержанию  $O_2$  в воздушной среде. Эта емкость соединена с микронасосом и в целом изолирована от внешней среды. Микронасос способствует циркуляции воздушной среды, что обеспечивает постоянное перемешивание и поддержание равномерной концентрации  $O_2$  внутри замкнутой среды. Установка соединена со специальной ячейкой, в которую установлен закрытый электрод Кларка. Все соединения в установке выполнены из полиэтиленовых трубок. В емкость (стеклянные банки с герметичными крышками или бутылки емкостью 500-1000 мл с завинчивающимися крышками) помещали подопытное животное. В результате его дыхания происходило уменьшение  $O_2$  в газовой среде, что

регистрировали с помощью полярографической установки, соединенной с кислородчувствительным электродом Кларка.

Для определения содержания катехоламинов в ткани надпочечников и головного мозга исследуемый орган извлекают, взвешивают и необходимое количество ткани (3 – 5 г) быстро измельчают ножницами и тщательно растирают в ступке с небольшим количеством (5 – 10 мл) трихлоруксусной кислоты и стеклянным порошком (Асатиани, 1965). Смесь доводят трихлоруксусной кислотой до соответствующего разведения (для головного мозга – 1 : 5, для надпочечников – 1 : 20). Пробы помешивают в течение 30 мин., затем фильтруют через складчатый фильтр. Экстракты надпочечников еще разводят водой до окончательного разведения 1 : 1000 (при подкислении).

Для определения содержания АН все препаративные процедуры выполняются при температуре 2-4<sup>0</sup> С. Экстракция проводится в смеси 8%-ной хлорной кислоты с 40%-ным этиловым спиртом, предварительно охлажденной до нужной температуры в специальном холодильнике. Добавляемый спирт препятствует замерзанию тканевых экстрактов при низких температурах, что представляется весьма удобным для массовых определений метаболитов во многих биологических образцах, так как не требует размораживания каждого экстракта (Farell, Olson, 1973; Косенко, 1981).

Митохондрии выделяли из ткани головного мозга и печени животных по общепринятому методу дифференциального центрифугирования (Hogeboom, Schneider, Pallade, 1948) с некоторыми модификациями (Алматов и др., 1993 а).

Скорость дыхания митохондрий в различных метаболических состояниях ( $V_2$ -в присутствии субстратов окисления,  $V_3$  - в присутствии АДФ,  $V_4$  - после исчерпания АДФ,  $V_{днф}$ - разобщенного окисления с 2,4 – динитрофенолом) регистрировали полярографическим методом с помощью вращающегося платинового электрода в стандартных условиях в ячейки полярографа объемом 1 мл при 25<sup>0</sup>С в среде следующего состава: сахароза - 250мМ, КСl - 12мМ,  $KH_2PO_4$  - 5мМ, трис-НСl-буфер - 5мМ, рН 7,4. Субстраты окисления: сукцинат и глутамат по 10мМ. Реакцию начинали добавлением в ячейку полярографа 3-4 мг по белку суспензии митохондрии. Количество АДФ составляло 200 мкМ, ДНФ- $5 \cdot 10^{-5}$  М (Алматов, Ахмеров и др., 1993б). Коэффициент АДФ/0 и величина дыхательного контроля по Чансу определяли по методу Chance B., Williams G.R. (1956). Внутренний и внешний пути окисления НАД.Н митохондрий определяли после замораживания и оттаивания митохондрии. Окисление НАД.Н оценивали, добавляя в ячейку объемом 1мл 3 мкмоль НАД.Н<sub>2</sub>. Окисление НАД.Н определяли также в присутствии 2 мкг ротенона. Среда инкубация: 0,30М сахароза, содержащая 10 мМ трис-НСl, рН- 7,4 (Рахимов, Алматов, 1977).

Скорость окисления глутамата, сукцината и НАД.Н по внутреннему и внешнему пути в различных метаболических состояниях выражали в нанogramм атом кислорода/мин мг белка.

Скорость процесса ПОЛ определяли тиобарбитуровой кислотой -

микрометодом, разработанным Ю.А. Владимировым и А.И.Арчаковым (1972). Инкубационная смесь объемом 1 мл содержала: 0,2 мМ  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ; 1 мМ НАДФН; 0,012 мМ соли Мора ( $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ); 50 мкл суспензии ткани головного мозга, тимуса, надпочечников и печени; 50 мМ трис  $\text{HCl}$ -буфер, pH- 7,4.

Общие липиды экстрагируют из ткани смесью хлороформа и метанола, экстракт отмывают от нелипидных примесей водой или слабыми солевыми растворами, высушивают, и осадок липидов взвешивают на аналитических весах (Прохорова, 1982).

Для разделения водорастворимых продуктов гидролиза фосфолипидов использовали метод проточной горизонтальной хроматографии (Каргаполов, 1981).

Активность митохондриальных фосфолипаз оценивали по изменению фосфолипидного состава в ходе инкубации органелл при  $37^{\circ}\text{C}$  (Горбатая, Мирталипов, Алматов, Рахимов, 1988; Мирталипов, 1990).

В третьей главе диссертации **«Нарушение газокислородного обмена и некоторых показателей крыс в динамике развития хронического эмоционально-болевого стресса и их коррекция антигипоксантами»** рассматриваются вопросы выяснения нарушения газокислородного обмена и некоторых физиологических показателей под влиянием хронического эмоционально-болевого стресса и их коррекции антигипоксантами.

#### *Газокислородный обмен.*

Газокислородный обмен у животных в динамике хронического эмоционально-болевого стресса изменяется с продолжительностью опыта. В стадии тревоги приводит к повышению потребления кислорода в организме экспериментальных животных. При этом максимальный уровень потребления кислорода наблюдается через 2 недели эксперимента. Для обеспечения такого высокого уровня метаболизма клеток организма требуется большое количество кислорода.

Через 1 месяц эксперимента газокислородный обмен почти полностью нормализуется. По мнению Г.Селье, организм переходит в стадию резистентности. На наш взгляд в этих сроках эксперимента начинается стадия истощения. Дальнейшие исследования показали, что стресс приводит к снижению газокислородного обмена и это коррелирует со стрессовыми воздействиями на организм животных. Так, если через 2 мес. эксперимента газокислородный обмен снижается по сравнению с контролем на 29,2%, то через 3 мес. – на 37,5%. Когда снижение газокислородного обмена достигает 50%, полностью нарушается гомеостаз клетки и наступает гибель организма.

Изучение влияния катапина и бензонала на газокислородный обмен животных в условиях хронического эмоционально-болевого стресса показали, что эти препараты частично снимают отрицательный эффект стресса на организм. Через 1, 2 и 3 недели стресса, т.е. в стадии тревоги в присутствии катапина газокислородный обмен повышается по сравнению с контролем всего лишь на 12,6; 20,4 и 8,0%, в присутствии бензонала – 10,9;

18,7 и 10,6%. В условиях истощения, т.е. через 2 и 3 мес. стресса, газоокислородный обмен в присутствии катапина понижается всего лишь на 4,5 и 6,2%, в присутствии бензонала - на 2,8 и 5,1%.

Таким образом, в стадии тревоги хронического эмоционально-болевого стресса повышается газоокислородный обмен в организме животных, с переходом на стадию резистентности потребление кислорода у экспериментальных животных постепенно нормализуется, а в стадии истощения – заметно снижается. Катапин и бензонал почти полностью снимают эффект стресса на газоокислородный обмен в организме животных.

#### *Тимус и надпочечники.*

Наши исследования показали, что в стадии тревоги (через 1 и 2 недели стресса) вес тимуса повышается на 26,3 и 33,8%. После 3 недельного стресса в стадии резистентности вес тимуса возвращается к норме. После 1 месяца воздействия стресса вес тимуса уменьшается всего лишь на 12,5 %. В стадии истощения (после 2 и 3 – х месяцев) вес тимуса сократился на 36,3% соответственно от уровня здоровых животных. В начале стресса (2 неделя) вес тимуса повышается на 33,8 %, то в присутствии катапина на 8,0 %, бензонала – на 7,7 %. При более длительных сроках эксперимента (2 мес.) в отсутствие гипометаболизма вес тимуса крыс уменьшается на 36,3%, в присутствии катапина на 5,3 %, бензонала на 6,0 %.

Измерения массы надпочечников. После 1-недельного эксперимента вес надпочечников повышается всего лишь на 12,0%, то после 2 и 3 - недельного эксперимента повышается соответственно на 20,5 и 28,8% от уровня контроля. В стадии резистентности (через 1 месяц стресса) как мы уже показали, вес надпочечников уменьшается и приближается к показателям нормы. В стадии истощения (спустя 2 и 3 месяца от стресса) уменьшение веса надпочечников значительно усиливается (на 15,4 и 21,4 %).

На начальном этапе стресса в отсутствие катапина и бензонала вес надпочечников повышается, а с увеличением длительности воздействия стресса, напротив, уменьшается. При введении в организм экспериментальных животных катапина или бензонала выше отмеченные изменения замедляются. Если в начале стресса (2 неделя) вес надпочечников повышается на 20,5 %, то в присутствии катапина на 7,3%, бензонала – на 8,8%. При более длительных (2 мес.) сроках эксперимента вес надпочечников контрольных крыс уменьшается на 15,4 %, в присутствии катапина на 4,3% и с бензоналом на 3,4 %.

#### *Катехоламины головного мозга и надпочечники.*

В 1, 2 и 3 неделях стрессового состояния содержание адреналина в надпочечниках повышается на 40,4; 44,5 и 40,8 % соответственно от уровня нормы, то норадреналина – только лишь на 8,9; 14,0 и 12,9 %.

В стадии резистентности (спустя месяц от начала стресса) как мы уже показали выше, содержание адреналина в надпочечниках повышается на 32,3 % от уровня нормы, то норадреналина – на 11,9 %. В стадии истощения (через 2 и 3 месяца стресса) содержание адреналина уменьшается на 12,3 и

17,8 %, норадреналина на 15,8 и 21,6%. Через 2 недельного стресса при отсутствии гипометаболических содержание адреналина в надпочечниках повышается на 44,4 %, то в присутствии бензонала и катацина повышается всего лишь на 11,4 и 14,0 %. Если на этих сроках эксперимента в надпочечниках в отсутствии гипометаболических содержание норадреналина повышается на 14,0 %, то в присутствии бензонала и катацина - почти полностью нормализуется.

Во 2 месяце стресса содержание адреналина в ткани надпочечников в отсутствии гипометаболических уменьшается, а с бензоналом или катацином почти приближается к показателям нормы.

При 1 недельном стрессе содержание адреналина и норадреналина в мозге повышается (на 13,3 и 13,5% соответственно от уровня нормы) равномерно. Продолжение стрессорного воздействия (2 неделя) приводит к усилению в мозге синтеза адреналина (на 16,6 % выше нормы), но замедляется синтез норадреналина (на 15,1 %). У крыс, подвергнутых стрессу в течение 3 недель, содержание адреналина в ткани мозга незначительно уменьшается (на 7,4 %), а через 1 месяц уменьшение содержания адреналина значительно усиливается (на 19,0 %). Через 3 недельного и 1 месячного стресса соответственно отмечается, уменьшение содержание норадреналина заметно усиливается (соответственно на 22,8 и 31,2 % от уровня нормы). В стадии истощения (спустя 2 и 3 месяца) содержание катехоламинов в ткани мозга вновь повышается. При этом содержание адреналина повышается соответственно на 10,6 и 18,3 % от уровня нормы, а норадреналина – на 23,3 и 28,6 %.

Во 2 недели стресса содержание адреналина в мозге повышается на 16,6 %, то в присутствии бензонала и катацина повышается всего лишь на 6,2 и 3,4%, содержание норадреналина в мозге уменьшается на 15,1 %, то в присутствии бензонала или катацина полностью нормализуется. Во 2 месяце содержание адреналина повышается на 10,6 %, а при присутствии бензонала или катацина полностью нормализуется. В этих сроках содержание норадреналина повышается на 23,3 % у контрольных животных, а в присутствии гипометаболических приближается к показателям нормы.

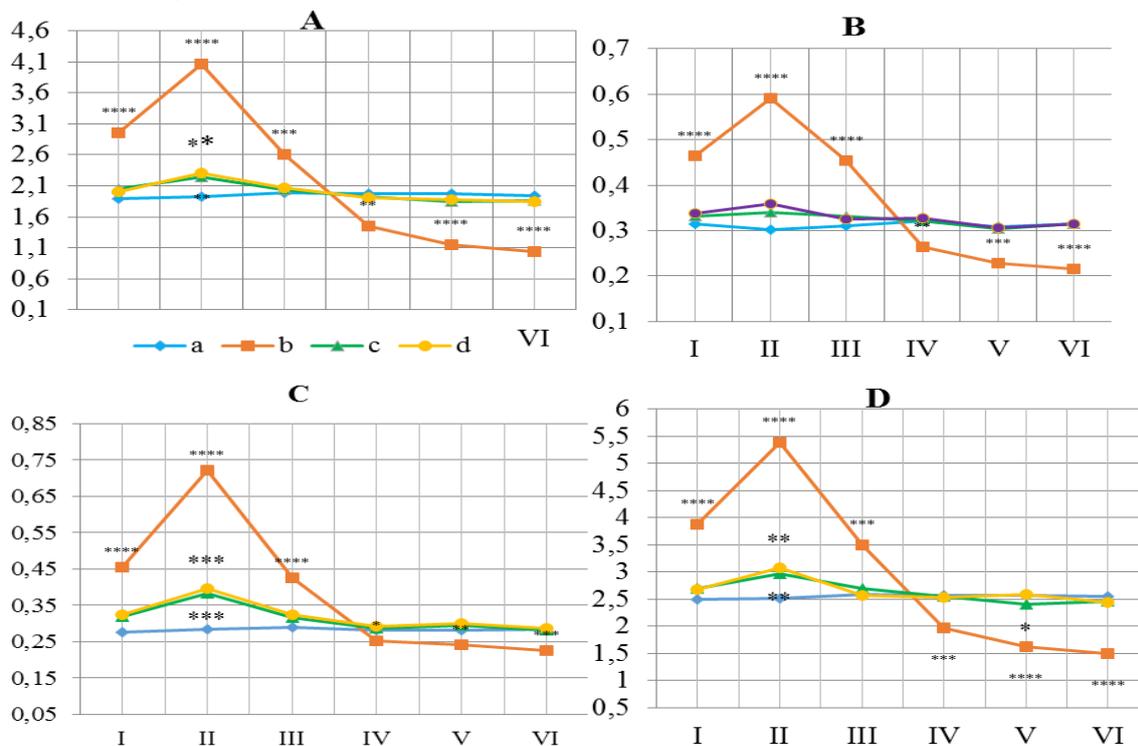
В четвёртой главе, озаглавленной **«Нарушение дыхательного и энергетического обмена некоторых органов крыс в динамике развития стресса и их коррекции антигипоксантами»** приводятся результаты причин нарушения дыхательного и энергетического обмена некоторых органов крыс в различных стадиях стресса и их коррекции антигипоксантами.

*Адениновые нуклеотиды (АН).*

Через 1 недели стрессорного воздействия содержание АТФ, АДФ и АМФ в ткани мозга повышается соответственно на 56,0, 48,1 и 65,1 % от уровня нормы (рис. 1). Во второй недели эксперимента повышение содержания АН в ткани мозга усиливается. При этом содержание АТФ, АДФ и АМФ повышается соответственно на 111,0; 95,0 и 153,9 % от нормы, сумма

АН повышается на 119,9 %. На 3 недели стресса содержание АТФ, АДФ и АМФ повышается соответственно на 30,9; 46,0 и 47,9 % от нормы, то содержание АН повышается на 41,6%. Через месячный стресс содержание адениновых нуклеотидов в тканях мозга уменьшается. Так, если содержание АТФ уменьшается на 26,0 %, то содержание АДФ и АМФ – на 17,2 и 10,0 % соответственно от уровня нормы. В стадии истощения уменьшение содержание АН в мозге заметно усиливается. Если содержание АТФ через 2, а также 3 месяца эксперимента уменьшается соответственно на 42,0 и 46,4 % от нормы, то содержание АДФ – на 26,2 и 31,4 % и АМФ – на 14,9 и 21,1 %. В стрессе в тканях печени, тимуса и надпочечников наблюдается аналогичные изменения.

В стадии тревоги у животных, получивших катацин или бензонал повышение содержания АТФ, АДФ и АМФ уменьшается и приближается к показателям нормы. В стадии истощения содержание АН в головном мозге уменьшается, а гипометаболики замедляют уменьшение содержания адениновых нуклеотидов.



**Рисунок 1. Влияние антигипоксантов на содержание адениновых нуклеотидов головного мозга крыс в динамике развития стресса ( $M \pm m$ ;  $n = 8 - 10$ ).**

**A – АТФ, B – АДФ, C – АМФ, D – Сумма адениновых нуклеотидов. a – норма, b - контроль, c – катацин, d – бензонал. По оси ординаты – содержание адениновых нуклеотидов, в мкмоль/г сырой ткани. По оси абсциссы – сроки эксперимента: I – 1 неделя, II – 2 неделя, III – 3 - неделя, IV – 1 месяц, V – 2 месяц, VI - 3 месяц.**

Здесь и в других рисунках и таблицах разница достоверности (P) показаны звездочками: \* P < 0,05; \*\* P < 0,02; \*\*\* P < 0,01; \*\*\*\* P < 0,001.

Таким образом, в 1,2 и 3 неделях хронического эмоционально-болевого стресса содержание АН головного мозга, печени, тимуса и надпочечников повышается, в начальном этапе в стадии резистентности уменьшается, в

стадии истощения резко уменьшается. Под влиянием антигипоксантов вышеуказанные показатели во всех стадиях стресса не отличаются от таковых здоровых животных.

Изменения, наблюдаемые в содержании АН в тканях головного мозга при хроническом эмоционально-болевым стрессе выявлены и в печени, надпочечниках и тимусе.

*Дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий.*

В митохондриях головного мозга на 1 недели хронического эмоционально-болевого стресса в 3 и 4 состояниях глутамата скорость дыхания митохондрий повышается на 13,7 и 7,4 соответственно (1 таблица).

**Таблица 1**

**Влияние антигипоксантов на скорость окисления глутамата в митохондриях головного мозга крыс в динамике развития стресса (M ± m; n = 8 – 10).**

Сроки эксперимента	Вариант	Скорость дыхания, нанограмм атом кислорода /мин мг белка			
		V <sub>3</sub>	V <sub>4</sub>	ДК <sub>ч</sub>	АДФ/О
1 неделя	Контроль	40,0±3,4	12,1±1,5	3,30±0,12	2,65±0,07
	Опыт	45,5±4,2	13,0±1,7	3,50±0,10	2,78±0,08
	Катацин	42,5±3,3	12,1±1,3	3,51±0,10	2,83±0,05
	Бензонал	41,9±4,0	12,0±1,2	3,41±0,10	2,88±0,06
2 неделя	Контроль	37,8±3,2	12,0±1,4	3,15±0,10	2,70±0,09
	Опыт	49,9±4,6 <sup>****</sup>	15,1±1,8	3,30±0,11	2,81±0,08
	Катацин	40,4±2,6	12,0±1,7	3,36±0,10	2,84±0,09
	Бензонал	39,1±3,0	12,0±1,6	3,26±0,12	2,86±0,06
3 неделя	Контроль	41,6±3,9	12,7±1,6	3,27±0,12	2,66±0,08
	Опыт	45,2±4,1	15,2±1,7	2,97±0,10 <sup>*</sup>	2,58±0,07
	Катацин	41,7±3,6	13,1±1,5	3,18±0,13	2,65±0,06
	Бензонал	41,1±3,2	12,6±1,4	3,26±0,10	2,64±0,08
1 месяц	Контроль	40,0±2,8	12,2±1,3	3,28±0,13	2,74±0,07
	Опыт	32,1±2,3 <sup>**</sup>	15,3±1,4 <sup>*</sup>	2,10±0,09 <sup>****</sup>	2,41±0,06 <sup>*</sup>
	Катацин	37,9±2,5	12,4±1,2	3,05±0,08	2,71±0,07
	Бензонал	39,0±2,4	12,3±1,2	3,17±0,08	2,72±0,05
2 месяц	Контроль	38,8±3,3	12,0±1,2	3,23±0,12	2,69±0,10
	Опыт	26,5±2,1 <sup>****</sup>	15,6±1,5 <sup>**</sup>	1,70±0,08 <sup>****</sup>	2,05±0,08 <sup>****</sup>
	Катацин	35,8±3,1	10,9±1,9	3,28±0,10	2,78±0,07
	Бензонал	37,1±3,0	10,9±2,0	3,40±0,09	2,85±0,06
3 месяц	Контроль	40,8±2,2	12,1±1,2	3,37±0,13	2,72±0,08
	Опыт	24,5±2,0 <sup>****</sup>	15,8±1,6 <sup>**</sup>	1,55±0,11 <sup>****</sup>	1,88±0,07 <sup>****</sup>
	Катацин	39,0±2,1	10,2±1,0	3,20±0,12	2,99±0,08
	Бензонал	39,6±2,3	10,1±1,0	3,27±0,12	2,95±0,06

Эти изменения немного повышают (6%) дыхательный контроль по Чансу (ДК<sub>ч</sub>). В этих условиях эксперимента дыхания митохондрий особенно заметно повышается сукцинатом (в состоянии 3 и 4 повышается соответственно на 58,0 и 27,4% от уровня контроля). При этом величина дыхательного контроля по Чансу повышается на 23,6%, однако коэффициент АДФ/О почти не изменяется. С увеличением длительности стрессовых воздействий (2 неделя) дыхательной функции митохондрий мозга еще сильнее усиливается, без существенных изменений параметров окислительного фосфорилирования. При этом скорость окисления глутамата в состоянии 3 и 4 повышается соответственно на 32,0 и 25,6 % от уровня нормы, сукцинатом – соответственно на 101,9 и 117,8%. Это означает, что в стадии тревоги скорость дыхания митохондрий головного мозга особенно по сукцинатному пути заметно повышается.

Таким образом, в стадии тревоги митохондрии из обычного метаболизма переходит на более высокий уровень метаболизма. На 3 неделе стресса – в стадии резистентности повышение скорость фосфорилирующего окисления глутамата по сравнению 2 недельного стресса уменьшается и приближается к показателям нормы, а скорость дыхания в состоянии 4 остается повышенным (на 19,7 %). Эти изменения приводит к снижению величины дыхательный контроль по Чансу на 9,2 %, коэффициент АДФ/О снижается на 3,0%. При этом дыхания митохондрий сукцинатом по сравнению 2 недельно стресса уменьшается, однако по сравнению контроля повышается (состоянии 3 на 45,8%, состоянии 4 на 83,6%). Эти изменение приводит к снижению величины дыхательного контроля по Чансу 20,7 %, а коэффициент АДФ/О – на 6,8%. В конце стадии резистентности (спустя месяц), в митохондриях мозга наблюдается разобщение дыхания и окислительного фосфорилирования. Поэтому скорость фосфорилирующего окисления глутамата уменьшается по сравнению с нормой на 19,8 %, а скорость дыхания в состоянии 4 почти нормализуется. В результате чего величина ДК<sub>ч</sub> уменьшается на 36,0%, а коэффициент АДФ/О – на 12,1 %.

После 1 месяца стресса скорость окисления сукцината в состоянии 3 приближается к контрольным величинам, а скорость дыхания в состоянии 4 повышается на 45,5%. В том числе, величина ДК<sub>ч</sub> и коэффициент АДФ/О уменьшается соответственно на 31,2 и 10,1%. Это показывает, что в стадии резистентности в митохондриях головного мозга активность транслоказы усиливается. В стадии истощения скорость фосфорилирующего окисления и эффективность синтеза АТФ значительно уменьшается и эти изменения коррелируются с длительностью стресса. Так, если через 2 месяца скорость дыхания митохондрий глутаматом в состоянии 3 уменьшается на 31,7 % от уровня нормы, то через 3 месяца – на 40,0%. При этом в состоянии 4 скорость дыхания митохондрий во 2 и 3 месяце эксперимента повышается на 30,0 и 30,6 % соответственно от уровня контроля.

В результате чего, величина ДК<sub>ч</sub> уменьшается на 47,4 и 54,0 % соответственно, а коэффициент АДФ/О - на 23,8 и 30,9 %. После двухмесячного стресса скорость фосфорилирующего окисления сукцината уменьшается соответственно на 28,2% от уровня контроля, скорость дыхания в состоянии 4, напротив, повышается на 26,0%. Величина дыхательного контроля по Чансу и коэффициент АДФ/О уменьшается соответственно на 42,8 и 14,5%. После 3 месяца стресса скорость дыхания в состоянии 3 уменьшается на 36,9%, а дыхания в состоянии 4 почти полностью нормализуется. Величина ДК<sub>ч</sub> и коэффициент АДФ/О уменьшается, соответственно на 40,9 и 20,5%. Это в стадии истощения приводит к разобщению дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях головного мозга, снижению синтеза АТФ.

Катацин и бензонал при хроническом эмоционально-болевым стрессе ощутимо снижают вышеупомянутые изменения.

Значит, в стадии тревоги хронического эмоционально-болевого стресса в стадии тревоги дыхания митохондрий головного мозга повышается. Это особенно заметно наблюдается при окислении сукцината. В начальном этапе в стадии резистентности дыхания митохондрий в фосфорилирующем состоянии приближается к показателям нормы, особенно при окислении глутаматом, однако состояние в 4 остается высоким. При этом величина ДК<sub>ч</sub> глутаматом уменьшается незначительно, однако сукцинатом заметно уменьшается. В этих условиях эксперимента коэффициент АДФ/О глутаматом полностью нормализуется, сукцинатом незначительно уменьшается. При хроническом эмоционально-болевым стрессе изменения, которые наблюдались, в митохондриях головного мозга наблюдаются и в митохондриях печени.

*Ротенон чувствительные и нечувствительные НАД.Н оксидазы митохондрий печени.*

Через 1 и 2 неделя стресса, т.е. в стадии тревоги внутренний путь окисления НАД.Н по сравнению нормы повышается соответственно на 16,7 и 33,2% от уровня нормы. В то же время в присутствии катацина и бензонала скорость окисления НАД.Н по внутреннему пути не отличается от нормы. В этих условиях эксперимента независимо в присутствии или отсутствие антигипоксантов внешний путь окисления НАД.Н не изменяется. Однако, в конце стадии тревоги (через 3 неделя стресса) внутренний путь окисления НАД.Н по сравнению 2 неделя в некоторой степени уменьшается, внешний путь окисления НАД.Н, напротив, незначительно (на 7,8%) повышается. В присутствии антигипоксантов внутренний и внешний путь окисления НАД.Н не изменяется. Таким образом, эти данные указывают, что снижение дыхательной активности внутренней мембраны и повышение внешнего пути окисления митохондрий в конечном этапе тревоги является одним из самых ранних функциональных нарушений митохондрий при хроническом эмоционально-болевым стрессе. В стадии резистентности снижении внутреннего пути окисления НАД.Н и повышение внешнего пути окисления

НАД.Н в некоторой степени ускоряется. В присутствии антигипоксантов обе путь окисления НАД.Н не изменяется. В стадии истощения, через 2 месяца внутренний путь окисления НАД.Н уменьшается на 11,4%, внешний путь окисления НАД.Н заметно повышается (на 25,7%). Через 3 месяца эксперимента отклонение окисления НАД.Н от уровня нормы заметно ускоряется: внутренний путь окисления НАД.Н уменьшается на 29,8%, внешний путь окисления НАД.Н повышается на 48,7%.

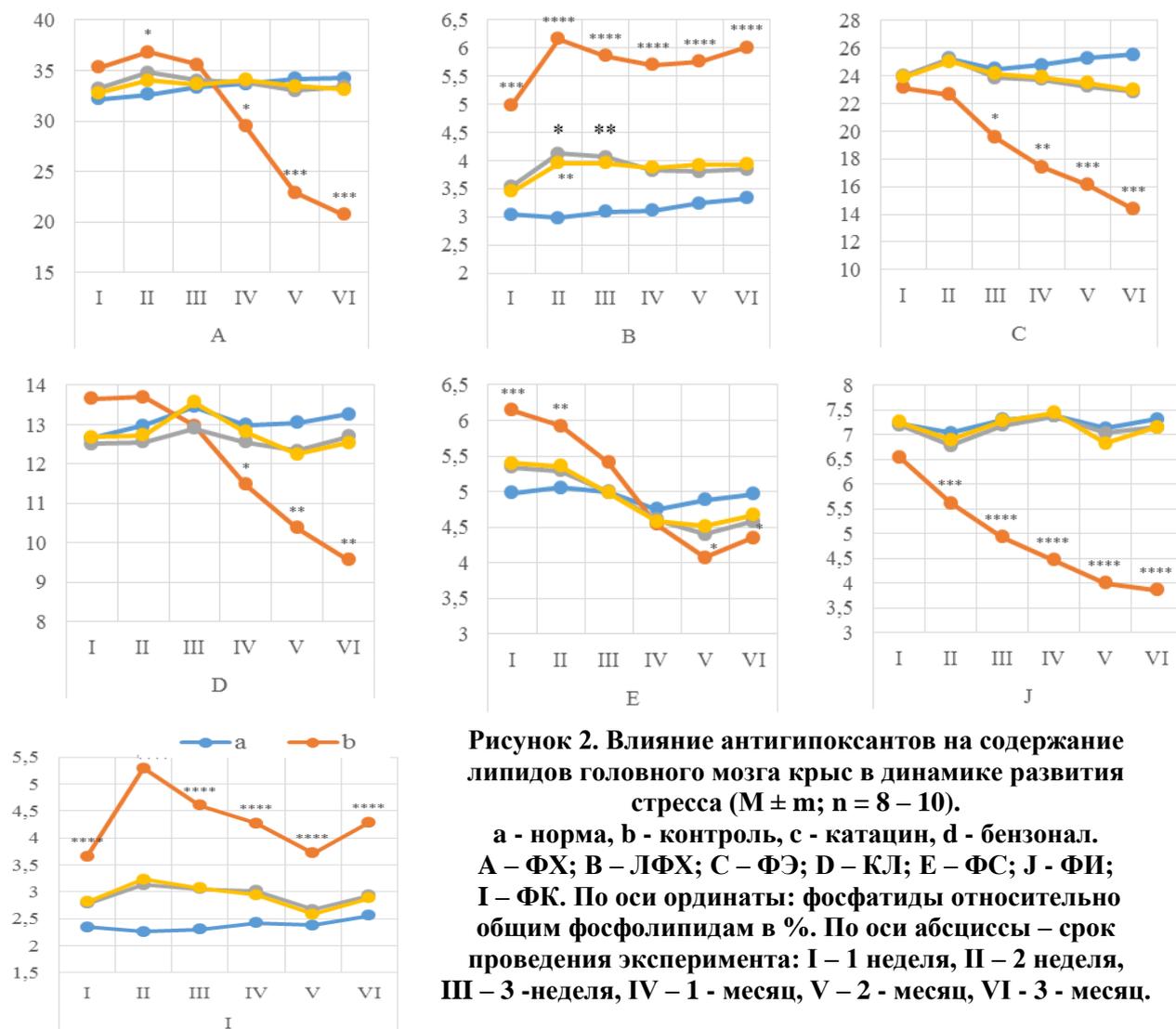
В присутствии антигипоксантов внутренний и внешний путь окисления НАД.Н не изменяется. В стадии резистентности снижении внутренний путь окисления НАД.Н и повышение внешний путь окисления НАД.Н в некоторой степени ускоряется. Условием активации внешнего пути окисления НАД.Н и ингибирования внутреннего пути окисления субстратов при набухании является десорбция цитохрома  $c$  с внутренней мембраны митохондрий в межмембранное пространство. Высвобождающийся цитохром  $c$  является «смертным приговором» клетки (Green, Reed, 1998).

В пятой главе диссертации, озаглавленной **«Нарушение обмена липидов и фосфолипидов некоторых органов и митохондрии крыс в динамике развития хронического эмоционально-болевого стресса и их коррекции антигипоксанами»** приводятся результаты исследования нарушения обмена липидов и фосфолипидов некоторых органов и митохондрии крыс в динамике развития хронического эмоционально-болевого стресса и их коррекции антигипоксанами.

При развитии стресса в головном мозгу, печени, тимуса и надпочечников наблюдались следующие изменения. Независимо от стадии стресса содержание холестерина, свободные жирные кислоты в ткани мозга, тимуса, печени и надпочечников повышается, а фосфатидилинозита (ФИ) уменьшается. В то же время по изменению общих липидов и фосфолипидов при стрессе можно разделить на три фазе: первая фаза - повышается; вторая фаза - приближается показателям нормы; третья фаза - заметно уменьшается. В присутствии антигипоксантов содержание холестерина и свободные жирные кислоты приближается к показателям нормы, а содержания липиды и фосфолипиды почти полностью нормализуется.

В митохондриях головного мозга независимо от сроков стресса содержания лизофосфатидилхолина (ЛФХ) и фосфатидной кислоты (ФК) увеличивается (рис.2). В 1 недели стресса в митохондриях головного мозга содержание ЛФХ заметно увеличивается, фосфатидилхолин (ФХ) и кардиолипид (КЛ) незначительно повышается, фосфатидилэтанолламин (ФЭ) незначительно, ФИ значительно снижается. На 2 недели стресса содержание фосфатидилсерин (ФС) приближается к показателям нормы, увеличение ФХ и уменьшение ФИ ускоряется, вместе с тем увеличение КЛ продолжается. На 3 недели стресса содержание ФХ и ФС приближается к норме, снижение ФЭ и ФИ ускоряется. На 1 месяце стресса содержание ФХ и КЛ уменьшается, содержание ФС почти полностью нормализуется, уменьшение содержание ФЭ и ФИ ускоряется. На 2 месяц стресса выше перечисленные фракции

фосфолипидов особенно содержание ФИ, ФХ и ФЭ уменьшается. В конце стадии истощения, т.е. в 3 месяце стресса в митохондриях головного мозга содержание ЛФХ увеличивается на 72,9%, содержание ФХ, ФЭ, ФС, ФИ, СМ и КЛ снижается на 28,2; 26,9; 23,3; 48,6; 9,3и 23,8%. Как показывают результаты наших исследований на 1 недели стресса в тревоги в присутствии антигипоксантов содержание ФЭ, ФС, ФИ, СМ, КЛ уравнивается с показателями нормы, а ФХ, ЛФХ приближается к показателям нормы. В стадии истощения в присутствии антигипоксантов содержание ФЭ, ФС, ФИ, СМ, КЛ ФХ и ЛФХ приближается к показателям нормы.



В шестой главе диссертации, озаглавленной «Изменение активности фосфолипазы митохондрии головного мозга и печени крыс в динамике развития стресса и их коррекции антигипоксантами» приведены результаты исследований по изменению активности фосфолипаз митохондрий головного мозга и печени крыс в динамике развития хронического эмоционально-болевого стресса и их коррекции антигипоксантами.

### *Митохондрии головного мозга.*

В стадии тревоги если в отсутствие препаратов активность фосфолипазы  $A_2$  в митохондриях мозга по гидролизу общих фосфолипидов повышается на 144,4 % от уровня нормы, то в присутствии катапина повышается всего лишь – на 29,8 %, бензонала – 32,5 %. При стрессе, если активность фермента по образованию свободных жирных кислот повышается на 116,0 % от уровня нормы, в присутствии катапина и бензонала – на 25,7 и 22,0%. Так, если активность фермента в отсутствие препаратов по гидролизу фосфатидилхолин и фосфатидилэтаноламин повышается на 120,5 и 154,3 % соответственно от уровня контроля, то в присутствии катапина повышается на 28,0 и 25,9 %, бензоном – 31,8 и 36,7 %. В стадии истощения исследование действие катапина и бензонала на активность фосфолипазы  $A_2$  в митохондриях мозга у опытных крыс показало, что длительное введение препаратов почти полностью нормализует активность фермента. Так, если в отсутствие препаратов активность фермента по гидролизу общих фосфолипидов, фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин и по образованию свободных жирных кислот повышается на 57,6; 55,4; 43,8 и 68,7 % соответственно от уровня нормы, то с катапином всего лишь на 9,8; 10,5; 6,0 и 11,2 %, бензоном – 6,9; 9,7; 7,4 и 13,5 %.

В 1 недели стресса активность лизофосфолипазы  $A_1$  митохондрии мозга по образованию свободных жирных кислот повышается в 1,35 раза. С увеличением длительности эксперимента (через 2 и 3 недели) активность фермента резко возрастает (в 1,84 и 1,78 раза). Начиная 1 мес стресса активность фермента по сравнению 3 недельного стресса в некоторой степени уменьшается. Через 1, 2 и 3 мес эксперимента активность лизофосфолипазы  $A_1$  митохондрии мозга повышается соответственно в 1,69; 1,60 и 1,55 раза в отношении нормы. Активность лизофосфолипазы  $A_1$  мембран митохондрий мозга крыс в норме наиболее активно в отношении лизофосфатидилэтаноламин (ЛФЭ), чем ЛФХ. При стрессе субстратная специфичность лизофосфолипазы  $A_1$  митохондрии мозга крыс сохраняется. Через 1, 2 и 3 недели, стресса активность фермента по образованию глицерофосфохолина повышается в 1,26; 1,81 и 1,56 раза соответственно от уровня контроля, то по образованию глицерофосфоэтаноламина – в 1,58; 2,13 и 2,18 раза. Это означает, что при стрессе лизофосфолипазы  $A_1$  митохондрии мозга более высокой скоростью гидролизует лизофосфатидилэтаноламин, чем лизофосфатидилхолин. Аналогичный характер изменения наблюдается через 1, 2 и 3 месяца (по образованию глицерофосфохолина соответственно в 1,56; 1,47 и 1,40 раза, по образованию глицерофосфоэтаноламина – в 1,93; 1,82 и 1,80 раза).

Через 1 недели стресса активность фосфолипазы Д митохондрии мозга повышается в 1,45 раза. С увеличением длительности стресса (через 2 и 3 недели) повышение активности фермента заметно усиливается (повышается соответственно в 1,82 и 1,79 раза от нормы). Более поздних сроках стресса (через 1, 2 и 3 мес.) активность фермента остается повышенными, однако по сравнению 2 и 3 недельного эксперимента незначительно уменьшается.

Значит при тревоге катацин и бензонал в митохондриях головного мозга почти не изменяют гидролитическую активность фосфолипаз, в резистентности – остается в норме, в истощении доводит до уровня нормы.

#### *Митохондрии печени.*

В стадии тревоги (через 2 недели стресса) активность фосфолипазы А<sub>2</sub> митохондрий печени в отношении ФХ и ФЭ ингибируются одинаково. Например, в отсутствие антигипоксантов активность фермента по ФХ и ФЭ увеличивается на 1,80 и 2,31, в присутствии катацина на 1,17 и ,24; бензонала на 1,10 и 1,21.

Если на 2 недели эксперимента активность фермента мозга по образованию свободные жирные кислоты и по гидролизу ЛФХ и ЛФЭ в контроле повышается в 1,84; 1,81 и 2,12 раза соответственно от уровня нормы, то в присутствии катацина – 1,20; 1,22 и 1,30 раза, бензонала – 1,23; 1,21 и 1,32 раза. Примерно аналогичный характер изменения наблюдается через 2 месяцев стресса. Так, если в отсутствие препаратов по образованию свободные жирные кислоты и по гидролизу лизофосфатидилхолин и лизофосфатидилэтанолламин в контроле повышается в 1,40; 1,37 и 1,42 раза соответственно от уровня нормы, то в присутствии катацина – 1,15; 1,12 и 1,17 раза, бензонала – 1,15; 1,11 и 1,19 раза. Через 1, 2 и 3 недели, стресса активность фермента по образованию глицерофосфохолина повышается в 1,31; 1,62 и 1,52 раза соответственно от уровня контроля, то по образованию глицерофосфоэтанолламина – в 1,48; 1,90 и 1,94 раза. Аналогичный характер изменения наблюдается через 1, 2 и 3 месяца.

Катацин и бензонал заметно нормализовали активность фосфолипазы Д мембран митохондрии мозга крыс при стрессе. Так, если через 2 недельного стресса активность фосфолипазы Д митохондрии мозга по гидролизу фосфолипидов повышается в 1,82 раза от нормы, в присутствии катацина и бензонала соответственно в 1,24 и 1,20 раза. При стрессе, в стадии тревоги активность фосфолипазы Д мозга по гидролизу фосфатидилхолин и фосфатидилэтанолламин повышается соответственно в 2,22 и 1,89 раза соответственно от уровня нормы, то после введения катацина – в 1,30 и 1,25 раза, бензонала – в 1,31 и 1,26 раза.

В стадии истощения активность фосфолипазы Д митохондрии мозга повышается по образованию фосфатидной кислоты в 1,69 раза от нормы, в присутствии катацина и бензонала соответственно в 1,16 и 1,12 раза. Аналогичный характер изменения активности фосфолипазы Д митохондрии мозга наблюдается в отношении фосфатидилхолин и фосфатидилэтанолламин. Так, если в отсутствие препаратов активность фермента повышается по образованию холина и этанолламина повышается соответственно в 1,98 и 1,75 раза от нормы, то в присутствии катацина повышается всего лишь в 1,18 и 1,17 раза, бензонала – в 1,21 и 1,15 раза. Через 1, 2 и 3 недельного стресса активность фосфолипазы Д по образованию холина увеличивается на 1,62; 2,09 и 2,15 раза и аналогичный характер сохраняется на 1, 2 и 3 мес эксперимента. Значит, введение катацина и бензонала в организм животных

со стрессом полностью нормализует гидролитическую активность липолитических энзимов в мембранах митохондрий.

В седьмой главе диссертации, озаглавленной **«Нарушение ПОЛ некоторых органов и митохондрии крыс в динамике развития стресса и их коррекции антигипоксанами»** направлена на исследования нарушения ПОЛ некоторых органов и митохондрии крыс в динамике развития хронического эмоционально-болевого стресса и их коррекции антигипоксанами.

В 1 недели стресса процессы ПОЛ в митохондриях мозга и печени повышается соответственно на 65,0 и 40,3% от уровня показателей нормы, на 2 недели стресса повышение процессы ПОЛ усиливается (повышается на 102,2 и 84,4%). Однако дальнейшее увеличение стрессовых воздействий процессы ПОЛ по сравнению 2 недельного эксперимента незначительно замедляется, однако, по сравнению нормы, остается еще высоким. Через 1, 2 и 3 месячного эксперимента процессы ПОЛ в митохондриях мозга относительно контроля повышается на 65,0; 102,2 и 88,1 %, а в митохондриях печени – на 40,3, 84,3 и 76,0%.

Вышеупомянутые изменения наблюдаются и в надпочечниках и тимусе, головном мозгу и печени. Бензонал и катацин ощутимо снижают процессы ПОЛ.

Анализируя полученные результаты можно заключить, что компоненты липолитической системы и ПОЛ клетки и митохондрий взаимосвязаны друг с другом, они осуществляют ферментативные превращения фосфолипидов, которые приводит к изменению структурных и функциональных параметров мембраны: соотношения бислойных и небислойных участков в мембране, локальных зарядов на мембране, проницаемости для различных ионов, выбывание цитохрома  $c$  из внутренней мембраны, степени сопряженности окислительного фосфорилирования. С другой стороны, активность самих фосфолипаз, а также тип катализируемой реакции, гидролиз, трансацилирование, трансалкилирование) и ПОЛ определяются в значительной степени структурным состоянием мембраны. Таким образом, клеточные и особенно митохондриальные фосфолипазы и ПОЛ являются эндогенными регуляторами, которые поддерживают гомеостаз в клеточных и митохондриальных мембранах, регулирует их функциональную активность в изменяющихся физиологических условиях, а также имеют большое значение в процессах адаптации к стрессорным воздействиям.

В клетке и митохондриях катацин и бензонал приближают содержание и соотношение липидов и фосфолипидов мембран к показателям нормы, нарушенные в результате стрессового воздействия, увеличиваются «бислойные» области. Эти изменения приводят к восстановлению митохондриального дыхания и синтеза АТФ, снижению нарушения клеточного ядра за счет резкого снижения выхода цитохрома  $c$  из внутренней мембраны митохондрий. Поэтому можно прийти к выводу, что катацин и бензонал могут быть использованы как лекарственное средство, снижающее влияние стресса на организм.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. При хроническом эмоционально-болевым стрессе, в стадии тревоги у крыс повышается газоислородный обмен, масса тимуса и надпочечников. В стадии резистентности постепенно возвращается к исходному уровню, а в стадии истощения заметно уменьшается.
2. а) В стадии тревоги в ткани головного мозга содержание адреналина повышается. В ранней стадии тревоги содержание норадреналина повышается, а в конце уменьшается. В стадии резистентности содержание катехоламинов уменьшается, в стадии истощения вновь возрастает; б) В стадии тревоги, в надпочечниках содержание катехоламинов, особенно адреналина повышается, в стадии резистентности приближается к показателям нормы, а в стадии истощения уменьшается.
3. В стадии тревоги содержание АТФ и суммы адениновых нуклеотидов в ткани головного мозга, тимуса, надпочечников и печени повышается, в стадии резистентности постепенно приближается к показателям нормы, а в стадии истощения уменьшается. Это означает, что внутримитохондриальное содержание АТФ является регулятором, и оно контролирует активность транслоказы и  $H^+$  - АТФ-синтазы.
4. В стадии тревоги дыхательной и окислительно-фосфорилирующей функции митохондрии головного мозга и печени повышается. В стадии резистентности наблюдается «мягкое» разобщение окислительное фосфорилирование, а в стадии истощения уменьшается дыхание и синтез АТФ.
5. В начале тревоги окисления НАДН по внутреннему пути повышается, затем немного снижается, в резистентности снижение ускоряется, в истощении заметно снижается; окисление во внешнем пути в тревоги не изменяется, в резистентности ускоряется, в истощении ускорение заметно увеличивается. Это означает, что цитохром<sub>c</sub> в стадии тревоги постепенно выходит из внутренней мембраны митохондрий в межмембранном пространстве, а в стадии резистентности выход цитохрома<sub>c</sub> из мембраны ускоряется.
6. Независимо от стадии стресса содержание холестерина, свободные жирные кислоты и ЛФХ в ткани разных органов повышается, а ФИ уменьшается; другие фракции фосфолипидов в стадии тревоги либо повышается, либо не изменяется, а в стадии резистентности уменьшается.
7. Не зависимо от стадии стресса процессы ПОЛ в ткани и митохондрии разных органов, и активность фосфолипазы А<sub>2</sub>, лизофосфолипазы А<sub>1</sub> и фосфолипазы Д митохондрии головного мозга и печени повышается.
8. Не зависимо от стадии стресса процессы ПОЛ в тканях различных органов и митохондриях увеличивается.
9. Введение катапина и бензонала в организм животных и последующее стрессовое воздействие снижает отклонение от нормы вышеупомянутые показатели и приближает к показателям здоровых животных.

**SCIENTIFIC COUNCIL 14.07.2016.B.01.03 ON AWARD OF SCIENTIFIC  
DEGREE OF DOCTOR OF SCIENCE AT THE NATIONAL UNIVERSITY  
OF UZBEKISTAN AND INSTITUTE OF  
MICROBIOLOGY**

---

**NAMANGAN STATE UNIVERSITY**

**ABDULLAEV GAFFURJAN RAKHIMJONOVICH**

**MITOCHONDRIAL FUNCTIONS DISORDER IN THE MECHANISM OF STRESS  
DEVELOPMENT AND ITS CORRECTION BY ANTIHYPOXANTS**

**03.00.08 – Human and animal physiology  
(biological sciences)**

**ABSTRACT OF DOCTORAL DISSERTATION**

**TASHKENT – 2016**

The theme of the doctoral dissertation is registered by the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan under number № 30.09.2014/B2014.5.B101.

The doctoral dissertation has been carried out at Namangan state university.

The abstract of the dissertation is posted in three languages (Uzbek, Russian and English) on the webpage of the Scientific Council (www.nuu.uz) and on the website of "ZiyoNet" information and education portal (www.ziyo.net.uz)

**Scientific consultant:** **Almatov Karim Tojibaevich**  
Doctor of Biological sciences, professor

**Official opponents:** **Matschanov Azat Taulbayevich**  
Doctor of Biological sciences, professor

**Rajamuradov Zaynitdin Turapovich**  
Doctor of Biological sciences, professor

**Tulyaganov Rustam Tursunovich**  
Doctor of Biological sciences

**Leading organization:** **Andijan State University**

The defense of the dissertation will take place on 30» november 2016 at 10<sup>00</sup> at the meeting of Scientific Council No 14.07.2016.B.01.03 at the National University of Uzbekistan and Institute of Microbiology (Address: 100174, Tashkent, 4 University street, conference hall of Biology faculty of the National University of Uzbekistan. Tel: (+99871) 227-12-24; fax: (+99871) 246-53-21, (+99871) 246-02-24; e-mail: nauka@nuu.uz.).

Doctoral dissertation could be reviewed at the Information-resource center of the National University of Uzbekistan (registration No \_\_\_\_). Address: 100174, Tashkent, 4 University street, Administrative Building of the National University of Uzbekistan. Tel.: (+998 71) 236-46-55; fax: (+99871) 246-02-24.

The abstract of the dissertation is distributed on 30» november 2016 y.

(Registry record No 17 dated 30» november 2016 y.)



**G.I. Djumaniyazova**

Acting of Chairman of the Scientific Council on Award of Scientific Degree of Doctor of Science D.B.S., professor

**Z.A. Mamatova**

Scientific Secretary of the Scientific Council on Award of Scientific Degree of Doctor of Science, Ph.D, senior researcher

**T.U. Rakhimova**  
Chairman of the Scientific Seminar under the Scientific Council on Award of Scientific Degree of Doctor of Science D.B.S., professor

## INTRODUCTION (annotation of the doctoral dissertation)

**Topicality and relevance of the theme of the dissertation.** At present, identification of mechanisms of chronic emotional stress effect on physiological and biochemical processes in organism at cellular membrane and molecular levels and preventing stress is one of the most actual problems, pending before scientists of the world. According to WHO, 80% of the world population is exposed under influence of chronic fatigue syndrome disease. In EU countries 40 million out of a 147 million workers suffer from stress and it brings damage to society of \$ 19 billion<sup>2</sup>.

In the years of independence in the area of further enhance the level of life of our people it is paid special attention to the fundamental reform of the health system and the formation of a healthy lifestyle. Program activities, carried out in this direction, gives their results in education of the younger generation and further improve of people's health.

Today, all over the world, identification of mechanism of influence of different origin's stress on organs and tissues in «in vitro» and «in vivo» conditions on physiological, biophysical, membrane and molecular levels, as well as variety of biological substances and drugs is one of the most urgent problems. To distinguish from each other changes that occur in cells, organelles and membranes of organs and tissues of organism at conducting of research for the correction of negative influence of stress on organism; to show similarity or difference between the effect of acute and chronic stress; to reveal influence of substances having antihypoxic and antioxidant properties; to prove mechanism of negative effect of drugs used in the treatment of stress on organism, together with a positive effect.

Given dissertation research to a certain extent serves for the fulfillment of tasks, stipulated by Presidential Decree № 1652 “On measures to further deepen the health system reform” from 28 November 2011, and №2221 “On State program to further strengthen of reproductive health, maternal health, children and teenagers in Uzbekistan for the period of 2014 - 2018 years” from 1 August 2014, Resolution of the Cabinet of Ministers №416 “On measures to support domestic producers of medicines and medical products”, dated 14 July 2006, as well as other legal instruments adopted in this area.

**Relevance of the research to the priority areas of science and technology development of the republic.** This study was performed in accordance with the priority areas of science and technology of the Republic - VI. “Medicine and Pharmacology”; V. «Agriculture, biotechnology, ecology and environmental protection”.

**Review of international scientific researches on the topic of the dissertation.** Scientific research directed at studying of the mechanisms of emotional stress and improve the organism's physiological endurance in its

---

<sup>1</sup>Social Stress Clinic; [www.infoecology.ru](http://www.infoecology.ru)

damaging influence are conducted at leading research centers and higher educational institutions of the world, including in the Department of Preventive Medicine (USA), American National Health Institute (USA), University of Lisbon (Portugal), Aristotle University of Thessaloniki (Greece), American Institute of Stress (USA), Berlin Institute of Stress (Germany), Stress Institute in Paris (France), Energy Metabolism Disorders and Therapies, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (Madrid, Spain), Erasmus University Medical Center (Rotterdam, Netherlands), Kafedra Biofizyki Srodowska, Uniwersytet Lodzki (Poland), Medical University of Graz (Graz, Austria), Warsaw University of Life Sciences (Warsaw, Poland), Institute of Psychological Stress Study (Haifa, Israel), Kharkov medical University (Ukraine), Volgograd scientific Centre (Russia), Tbilisi state University (Georgia), National University of Uzbekistan and Institute of Bioorganic chemistry (Uzbekistan).

As a result of the researches carried out in the world on disrupt of normal physiological processes of the organism by stress, a number of research results were obtained, including: revealed pathological changes in the membranes of mitochondria under stress (Department of Preventive Medicine, New York, United States of America); studied biochemistry and pathophysiology of mitochondrial phospholipids (University of Lisbon, Portugal); shows the state of mitochondrial dysfunction in the pathogenesis and stress (Aristotle University of Thessaloniki, Greece); systematized data on the tissue specificity of the LPO under emotional stress in rats (Tbilisi State University, Georgia); proven data on antihypoxants, damage cells and mitochondria under stress, the processes of hypoxia, the effect of poisons and toxins in the oxidative stress (Kangwon National University (South Korea), Ti Yu Chang Road, Hangzhou (China), Mumbai University (India), revealed the LPO and gaseous oxygen metabolism in cells and mitochondria, the processes of oxidative phosphorylation, violation of the structure and function of mitochondria in various pathological conditions (National University of Uzbekistan, Institute of Bioorganic chemistry and Tashkent state medical Academy, Uzbekistan).

In the world on study influence of stress on organs and tissues of organism for a number of priority areas of research are carried out, including: confirmation of stress factors' kinds and their mechanism of molecular and physiological effects on organism; study of cellular and tissue alterations in various stages of stress; definition of mechanisms of stress' influence on different age periods of organism; study of changes in the humoral regulation and autonomic nervous system in various stages of stress; creation of drugs, having antihypoxic and antioxidant properties that enhance an individual endurance of organism to stress.

**The degree of study of the problem.** It was found mechanisms of emotional stress and their role in mitochondrial pathology (Ressler et al, 2016; Lambertini et al, 2015; Morava et al, 2013.), and ways of improvement of the individual endurance of physiological functions to its violate influence (McEwen et al, 2015; Morena et al, 2015; Warren et al, 2013). Obtained multiple experimental data indicate, that all the phenomena associated with emotions are the result of the

activity of certain brain regions (Szabo, Billett, Turner, 2001;.Borovsky, Adham et al., 2001) and that mitochondria are the primary targets of various pathological effects (Di, Canton et al., 2007;.Szeto, 2008; Huttemann et al., 2008;. Wallace, Fan, Procaccio, 2010). It was proved treatment of disorders arising later stress in the respiratory chain of mitochondria of rat brain (Aboul-Fotouh, 2013); mechanisms of emotional stress development in the pathogenesis of neurodegenerative diseases (Vasenina et al, 2013.); possibility, that stress may be a factor, have a damaging effect on organs and systems, leading to development of stress disorders (Sudakov, 1995; Tyopliy, 2008).

In the above mentioned scientific research it has been thoroughly investigated influence of chronic stress on stability of physiological systems at molecular level, cellular and humoral violation of the general regulation of immune system and other pathological processes. As well, it has been shown mechanisms of influence of some antihypoxants in various physiological and pathological conditions. Including benzonal and catacine synchronously change oxygen consumption in organism (AllamuratovSh.I., 1999; Asanov K.A., 2002) respiratory function of mitochondria (Kurmuk A.G., Nazrullaev A. Ahmerov R.N, 1990; Nazrullaev S.S. 1994; Asanov K.A., Nurdinov Sh.Sh., 2002; Asanov KA, 2002; Qulmamatova I.E., Shirinova.A. et al., 2002), the processes of formation and use of adenine nucleotides in cell, i.e. translate into economy mode of oxygen expenditure in tissues and substrates (Almatov K.T., Shirinov I.A. et al., 2000; Shirinova I.A., 2005).

In the literatures there are no data on violations of the energy and lipid metabolism in brain, thymus, adrenal glands and liver of rats in different stages (anxiety, resistance and exhaustion) emotionally pain stress, changes in the activity of lipid peroxidation and phospholipase on cellular, membrane and molecular levels, as well as impact of antihypoxants – catacine and benzonal on stress. Data, obtained on influence of catacine and benzonal in all stages of emotional-pain stress on changes in various organs of human and animals tissues could create the possibility of a deeper study of the structural and functional disturbance mechanisms in cell, and in particular mitochondria, the discovery of new promising areas of their correction, accurate diagnosis of patients and their effective treatment.

**Connection of the theme of dissertation with the scientific-research works of the higher educational institution, where the dissertation is conducted.** The dissertation has been carried out on the basis of fundamental research program «Investigation of the mechanism of the effect of various bioactive substances and flavonoids on metabolism and energy in organism», approved by Decree №1 from January 10, 2013 of Scientific and Technical Council of the Namangan State University.

**The aim of the research.** The aim of this work was to study the changes in gaseous oxygen metabolism of organism, some physiological readings of energy and lipid metabolism, processes of lipid peroxidation and activity of lipolytic enzymes of rats' organs in the dynamics of the development of chronic emotional

pain stress and possibilities of correction of these changes with the introduction catacine and benzonal in their organism.

**The tasks of the research are:**

studying of gaseous oxygen metabolism in rats; determining changes in thymus and adrenal glands mass, as well as of brain catecholamines and adrenal glands content;

determining the content of adenine nucleotides in brain, adrenal, thymus and liver tissues;

studying of respiration and oxidative phosphorylation of mitochondria of the brain and liver, changes in the activity of rotenone - sensitive and rotenone-insensitive NAD.H oxidases;

determination of phospholipids and lipid metabolism in brain, the adrenals, thymus and liver;

determining of phospholipids and lipid metabolism in mitochondria of brain, liver, adrenal glands and thymus, and phospholipase activity;

determining of activity of phospholipase A<sub>2</sub>, lysophospholipase A<sub>1</sub> and phospholipase D in brain and liver mitochondria;

definition of LPO in brain tissue, adrenal, thymus, brain and liver mitochondria.

**The object of the research** are white laboratory rat, isolated from them brain, thymus, adrenal glands tissues, liver, catecholamines, adenine nucleotides, mitochondria, lipids, phospholipids, lipolytic enzymes and lipid peroxidation as well as antihypoxants - catacine and benzonal.

**The subject of the research** - physiological and biochemical readings, used for assessment of the appropriateness of catacine and benzonal in stress conditions.

**The methods of research.** Physiological, biophysical and molecular-biological methods (differential centrifuges, polarography, thin layer chromatography, spectrophotometry, photocalorimetry) were used in the experiments.

**Scientific novelty of the research** is as follows:

it was revealed molecular mechanisms of differences structural and functional disorders from each other of cellular and mitochondrial membranes of various organs under the influence of chronic emotional pain stress in the anxiety, resistance and exhaustion stages;

it was proved that increase of transferase activity compared with phospholipase hydrolytic activity increases the content of lipids and phospholipids, «ionic layer» membrane and increase of metabolism within cell;

it was revealed dependence of the enhancement of catecholamines and adenine nucleotides (AN) synthesis in cell in anxiety stage of stress by increasing respiration and oxidative phosphorylation, as well as gaseous oxygen exchange;

it was proved that the increase of transferase activity of phospholipases results in the approximation of cell structure and function, ATP synthesis in mitochondria, gaseous oxygen exchange in organism to that of healthy animals in the resistance stage;

it was revealed increase of “monolayer” formation in a membrane, output of cytochrome *c* from inner mitochondrial membrane as a result of hydrolytic activity elevation, phospholipase synthesis delay in cells under exhaustion stage of stress;

it was proved approach to norm or equation of energy and lipid metabolism change in cells and mitochondria under the influence of chronic emotional pain stress at administration of catacine and benzonal to animals.

**Practical results of the research** are as follows:

Results received from detection of changes, tracked in brain, thymus, adrenal glands and liver in anxiety, resistance and exhaustion stages chronic emotional pain stress is used as an additional material in scientific research and teaching of physiology to students;

Results received about influence of catacine and benzonal in chronic emotional pain stress created the possibility of diagnosis for determination the severity of pathological changes in patients in medical clinics, as well as their use in the effective treatment.

**The reliability of the research results.** Each experiment was performed at least 5-10 times. This is justified by the possibility of calculating the average value of a reliable and sustainable result. Statistical data processing, errors calculation, the mean, confidence intervals, standard deviations were conducted using a computer program STATISTICA 6.0 and the standard methods. To determine the statistical significance of the results Student's T-test was calculated.

**Scientific and practical significance of the research results.** Scientific significance of research results determined by proposal of a new approach to the integrated assessment of gaseous oxygen, energy and lipid metabolism states, adenine nucleotides and catecholamines contents, LPO and lipolytic enzymes activity in the dynamics of chronic emotional pain stress development, and facilitate of determination of molecular sides of stress process of that state.

Practical significance of research results is experimental explanation and confirmation of the possibility of using and reasonability of catacine and benzonal for correction of chronic emotional pain stress and resources of solutions of the molecular mechanisms of stress problems. Results, obtained in work may be recommended for connection in manuals and textbooks on physiology, biochemistry, biophysics, and can be added to texts of lectures for students on the abovementioned subjects.

**Implementation of the research results.**

On the basis of obtained scientific results on mitochondrial function disorders in stress development and its correction by antihypoxants:

Change of lipids, phospholipids contents activity in tissues and mitochondria, LPO and phospholipase processes were identified, scientists-researchers of Amity university (India) use these research results in their scientific works (Amity University (India) certificate from September 30, 2016). Data showed that the change of lipids, cholesterol, phospholipids and lysophospholipids contents, increase in activity of lipolytic enzymes and activation of lipid peroxidation

process are one of the factors that determines of mechanism of stress pathological effect;

Results gained by change of lipid metabolism of tissues and mitochondria of an organism, phospholipases activity, LPO processes and mitochondrial phospholipase in scientific project OT-F3-109 “Scientific substantiation of new sides of etiopathogenesis of atherosclerosis problems, its gradual rehabilitation program, development of treatment methods with the help of immunomodulators, natural and artificial physical factors” (NamSU, 2007-2011) used for detecting of lipid metabolism and lipolytic enzymes’ changes in various stages of atherosclerosis, arising under the influence of emotional stress (certificate of Committee for coordination of science and technology FTK-03-13/780 from November 9, 2016 ). Utilization of scientific results served for treatment of lipid and phospholipids metabolism disorders in different stages of atherosclerosis by immunocorrectors.

**Testing of the research results.** The results of the research were reported in lecture and were tested, including at “Problems and perspectives of biological, ecological and agrobiological education” (Tashkent, 2006, 2008); scientific-practical conference “Perspectives of Physical and chemical biology and biotechnology” (Andijan, 2007), dedicated to the 70th anniversary of academician A. Kasymov; in international scientific and practical conferences “Student and technological progress” (Novosibirsk, 2010) and “Biology - Science of the XXI Century” (Pushchino, 2010); in international scientific and practical conferences, the republican scientific-practical conferences “Modern trends of Physiology and Biophysics” (Tashkent, 2010), dedicated to the 75th anniversary of academician B.O. Toshmuhamedov; in international scientific-practical conference “Actual problems of biochemistry and bionanotechnology” (Kazan, 2012, 2013); “Actual problems of physical chemistry” (Tashkent, 2015) dedicated to the 80th anniversary of academician B.O. Toshmuhamedov; “Actual problems of Biology and Ecology” (Tashkent, 2015) devoted to the 70th anniversary of professor K.T. Almatov, “Modern trends of Physical and chemical biology and ecotoxicology” (Tashkent, 2016) devoted to the 70th anniversary of professor U.Z. Mirhodzhaev, “Theoretical and practical problems of modern science and education” (Kursk, 2016) and “Science and Education” (Munich, 2016); in seminars of Life safety department of Namangan State University (2006-2016).

**Publication of the research results.** A total of 24 scientific works were published on the theme of the dissertation, of these 12 scientific articles, recommended by the Supreme Attestation Commission of the Republic of Uzbekistan for publishing basic scientific results of doctoral dissertations including 9 national and 3 international journals.

**Structure and volume of the dissertation.** The structure of dissertation consists of introduction, 7 chapters, 9 conclusions, references. The volume of the dissertation is 194 pages.

## THE MAIN CONTENT OF THE DISSERTATION

In the introduction the topicality and relevance of the dissertation were substantiated, the aims and tasks of the research were formulated, the object and subject of the research were characterized, the relevance of the research to the priority areas of science and technology development of the republic was shown, the scientific novelty and practical significance of the results were disclosed, scientific and practical significance of the obtained results and implementation of the research results were revealed, information about the publication of the research results and the structure of the dissertation were presented.

In the first chapter of the dissertation “**Stress development and mechanisms of action, a review of published data on correction of mitochondrial changes by antihypoxants**” are given data on changes in physical and biological functions of organism, lipid metabolism, lipid peroxidation, role of phospholipase in the structure and function of cell and their correction, participation of mitochondria in structure and function of cell, mitochondrial phospholipases participation in the hydrolysis and synthesis of phospholipids, influence of catacine and benzonal on physiological and biochemical readings of cells.

In the second chapter of the dissertation “**Establishment of a model of chronic emotional pain stress in animals, isolation of mitochondria from different organs and methods for determining the level of change**» provides the materials and methods.

Establishment of chronic emotional pain stress model in animals was carried out on nonpedigreed white male rats weighing 180-200 g body. Approximately two weeks before the start of the experiment, rats were determined by emotional test of “open field”. To do this, the animals suddenly placed in a dark box in the center of the field, which is the arena of a diameter of 1.5 m, divided into squares with sides of 20 cm, illuminated mirror incandescent 500 watt, suspended in the central part at the height of 60 cm from the floor (in the center “open field” was created illumination 1,000 lux) (Ivanova, Skotselyas et al, 1979;. Sudakov, 1981; Sudakov, 1984). For five days on two minutes motor activity of the animals was evaluated in meters (the number of squares crossed, multiplied by a factor of 0.3), and the number of fecal pellets was counted, urination, outputs to the center of the “open field” washings and by standing on its hind legs. All these indicators serve as a criterion of rats emotionality. The rats were immobilized, placed to the close cell and carried paws and tail electrocutaneous irritation (current frequency - 50 Hz, power of - 30 V, pulse frequency - 7 per minute, impulse width - 0.5 seconds) for 30 minutes daily. Depending on the group animals subjected to electrocutaneous irritation within 1, 2 and 3 weeks, 1, 2 and 3 months (Sudakov, 1981; Sudakov, 1984; Sadykov, 1995).

Evaluation of gaseous oxygen metabolism of animals was produced using the polarographic method (Almatov, Ahmerov et al., 1993). For this purpose, animal was placed in a hermetic chamber (container) with a built Clark electrode, sensitive

to the O<sub>2</sub> content in the air. This container is connected to micropump and a generally isolated from the external environment. The micropump promotes circulation of air, which provides a constant uniform stirring and maintaining the O<sub>2</sub> concentration inside the closed environment. The installation connected with a special unit, in which a closed Clark electrode is installed. All connections in the installation are made of polyethylene tubes. Test animal was placed into the container (glass jars with tight lids or bottles with a capacity 50-1000 ml with screw cap). As a result of its breath there was a decrease of O<sub>2</sub> in a gaseous medium that recorded using by polarographic installation, connected to oxygen sensitive Clark electrode.

For the determination of catecholamines in adrenal and brain tissues target organ is removed, weighed and required quantity of tissue (3 - 5 g) was quickly crushed with scissors and triturated in a mortar with a small amount (5 - 10 ml) of trichloroacetic acid and glass powder (Asatiani, 1965). The mixture is brought by trichloroacetic acid to the appropriate dilution (for brain - 1: 5, for adrenal - 1: 20). Samples were stirred for 30 min., then is filtered through a folded filter. Adrenal extracts still diluted with water to a final dilution of 1: 1000 (at acidification).

For AN determination all preparative procedures are performed at temperature of 2-4<sup>0</sup>C. The extraction is carried out in a mixture of 8% perchloric acid with 40% ethanol precooled to the desired temperature in a special refrigerator. The added alcohol prevents freezing of tissue extracts at low temperatures, which is very convenient for mass determinations of metabolites in many biological samples, as it requires defrosting each extract (Farell, Olson, 1973; Kosenko, 1981).

Mitochondria were isolated from the tissue of the brain and liver of animals on the conventional method of differential centrifugation (Hogeboom, Schneider, Pallade, 1948) with some modifications (Almatov et al., 1993a).

Mitochondrial respiration rate in different metabolic states (V<sub>2</sub>-oxidation in the presence of substrates, V<sub>3</sub> - in the presence of ADP, V<sub>4</sub> - after exhaustion of ADP V<sub>DNF</sub>-uncoupled oxidation with 2,4 - dinitrophenol) recorded by polarographic method using a rotating platinum electrode under standard conditions of polarography cell volume of 1 ml at 25<sup>0</sup>C in a medium with the following composition: sucrose - 250 mm, KCl - 12mm, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> - 5 mM Tris-HCl-buffer - 5 mM, pH - 7.4. Oxidation substrates: succinate and glutamate on 10 mM. The reaction was started by adding 3.4 mg of protein suspension of mitochondria to polarography cell. Content of ADP was 200 microns, DNP-5·10<sup>-5</sup>M (Almatov, Ahmerov et al., 1993b). ADP/O ratio and the value of the respiratory control of Chance determined by method of Chance B., Williams G.R. (1956). Internal and external paths of oxidation of mitochondrial NAD.H was determined after freezing and thawing of mitochondria. Oxidation of NAD.H evaluated by adding to the cell 1 ml 3 mol NAD.H<sub>2</sub>. Oxidation of NAD.H as determined in the presence of 2 mg rotenone. Incubation medium: 0,30M of sucrose containing 10 mM Tris-HCl, pH 7.4 (Rakhimov, Almatov 1977).

The rate of oxidation of glutamate, succinate and NAD.H on internal and external paths of various metabolic conditions expressed in ng of oxygen / min mg protein.

The speed of lipid peroxidation process was determined by thiobarbituric acid – micromethod, developed Yu.A. Vladimirov and A.I.Archakov (1972). The incubation mixture of 1 ml contains: 0.2 mM  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ; 1 mM of NADPH; 0.012 mM of Mohr salt ( $\text{FeSO}_4 (\text{NH}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ); 50  $\mu\text{l}$  of a suspension of brain tissue, thymus, adrenal gland, and liver; 50 mM of tris-HCl buffer, pH 7.4.

Total lipids is extracted from the tissue with a mixture of chloroform and methanol, and the extract is washed with water from the non-lipid contaminants or weak saline, dried, and lipids precipitate weighed on an analytical balance (Prohorova, 1982).

To separate the water-soluble hydrolysis products of phospholipids it was used the method of horizontal flow chromatography (Kargapolov, 1981).

Mitochondrial phospholipase activity was assessed by changes in the phospholipid composition in the organelles of incubation at 37<sup>0</sup>C (Gorbataya, Mirtalipov, Almatov, Rakhimov, 1988; Mirtalipov, 1990).

In the third chapter of the dissertation “Violation of gaseous oxygen exchange and some readings of rats in the dynamics of chronic emotional pain stress development and their correction by antihypoxants” deals with finding of violations of gaseous oxygen exchange and some physiological parameters under influence of chronic emotional pain stress and their correction by antihypoxants.

#### *Gaseous oxygen exchange.*

Gaseous oxygen metabolism in animals in dynamics of chronic emotional pain stress varies with the duration of the experience. In the anxiety stage leads to an increase in oxygen consumption in organism of experimental animals. At this maximum oxygen consumption is observed after 2 weeks of the experiment. To ensure such a high level of metabolism of the organism's cells it is required large amounts of oxygen.

After 1 month of the experiment gaseous oxygen exchange almost completely normalized. According to H. Selye, organism goes into a stage of resistance. In our opinion the exhaustion stage begins in these terms of the experiment. Further studies have shown, that stress leads to lower gaseous oxygen exchange and this correlates with the stress influences on the animal organism. For example, if after two months of experiment gaseous oxygen exchange is reduced compared with the control to 29.2%, after 3 months – to 37.5%. When the gaseous oxygen exchange decline reaches 50%, cell homeostasis completely disrupted, and occurs a death of the organism.

The study of influence of catacine and benzonal on gaseous oxygen exchange of animals in conditions of chronic emotional pain stress have shown that these drugs partially relieve the negative effects of stress on organism. After 1, 2 and 3 weeks of stress, i.e. in the anxiety stage catacine gaseous oxygen exchange is increased as compared to the control of only 12.6; 20.4 and 8.0%, in the presence of benzonal - 10.9; 18.7 and 10.6%. At the conditions of exhaustion, i.e. after 2 and

3 months of stress in the presence of catacine gaseous oxygen exchange decreases by only 4.5 and 6.2%, in the presence of benzonal - 2.8 and 5.1%.

Thus, in the anxiety stage of chronic emotional pain stress increases gaseous oxygen exchange in the organism of animals, with the transition to the stage of the resistance oxygen consumption in experimental animals gradually return to normal, and in the stage of exhaustion - is markedly reduced. Catacine and benzonal almost completely remove the effect of stress on the gaseous oxygen exchange in the organism of animals.

#### *Thymus and adrenal glands.*

Our studies have shown that in the anxiety stage (after 1 and 2 weeks of stress) thymus weight is increased to 26.3 and 33.8%. After 3 weeks of stress, in the resistance stage thymus weight returns to normal. After 1 month of stress influence thymus weight decreased only 12.5%. In the exhaustion stage (after 2 and 3 - months) thymus weight was reduced to 36.3%, respectively, on the level of healthy animals. At the beginning of stress (week 2) thymus weight increased by 33.8%, in the presence of catacine to 8.0%, benzonal - to 7.7%. At longer periods of the experiment (2 months) in the absence of hypometabolics thymus weight of rats decreased to 36.3%, in the presence of catacine 5.3%, benzonal 6.0%.

#### *Adrenal mass measurement.*

After a 1-week of experiment adrenal weight increased by only 12.0%, after 2 and 3 – weeks of experiment increases respectively 20.5 and 28.8% of control levels. At the resistance stage (1 month of stress) as we have shown, the adrenal weight decreases and approaches the performance of standards. At the exhaustion stage (at 2 and 3 months of stress) adrenal weight reduction greatly enhanced (to 15.4 and 21.4%).

At the initial stage of stress in the absence of catacine and benzonal adrenal weight increases and with increasing duration, exposure to stress, on the contrary, decreases. At administration of catacine and benzonal experimental animals above noted changes slowed down. If at the beginning of stress (Week 2) adrenal weight increased to 20.5%, in the presence of catacine 7.3%, and benzonal - to 8.8%. At a long-term (2 months) of experiment adrenal weight of control rats is reduced to 15.4% in the presence catacine 4.3% and benzonal 3.4%.

#### *Brain catecholamines and adrenal glands.*

In the 1, 2 and 3 weeks of stress state of adrenaline content in the adrenal glands increased to 40.4; 44.5 and 40.8%, respectively, of normal level, the noradrenaline - only 8.9; 14.0 and 12.9%. At the resistance stage (1 month of stress) as we have shown, the content of adrenaline in the adrenal glands increased to 32.3% compared to the norm, the norepinephrine - by 11.9%. In the exhaustion stage (after 2 and 3 months of stress) adrenaline decreased by 12.3 and 17.8%, norepinephrine 15.8 and 21.6%. After 2 weeks in the absence of stress hypometabolics adrenal epinephrine content increased by 44.4%, in the presence benzonal and catacine only increases by 11.4 and 14.0%. If these terms in the adrenal glands of the experiment in the absence of hypometabolics noradrenaline content increased by 14.0%, in the presence of benzonal and catacine - almost

completely normalized.

At 2 month stress adrenaline in the adrenal tissue in the absence of hypometabolics decreases, and with benzonal or catacine almost comes nearer to normal readings.

At 1-week stress, adrenaline and noradrenaline in the brain is increased (by 13.3 and 13.5% respectively from the normal level) is uniformly

Continued stress exposure (2 weeks) leads to an increase in the synthesis of adrenaline the brain (16.6% above normal), but slows down the synthesis of noradrenaline (15.1%). Rats exposed to stress for 3 weeks, the content of epinephrine in the brain decreases slightly (7.4%), and after 1 month decrease greatly enhanced content epinephrine (19.0%). After 3 weeks and 1 month, respectively, the stress is marked, the reduction is enhanced noradrenaline content markedly (by 22.8 and 31.2% of the normal level). In this, adrenaline increased to 10.6 and 18.3% of the standard level, and noradrenaline – to 23.3 and 28.6%. During 2 weeks of stress adrenaline in the brain is increased to 16.6%, in the presence benzonal and catacine increased only to 6.2 and 3.4%, content of noradrenaline in brain is reduced to 15.1%, in the presence benzonal or catacine fully normalized. At 2 month adrenaline increased by 10.6%, and completely normalized at presence of benzonal or catacine. In these terms noradrenaline content increased to 23.3% in the control animals, and in the presence of hypometabolics rates approach to normal readings.

In the fourth chapter, entitled **“The disorders of respiratory and energy metabolism of certain organs of rats in the dynamics of stress and their correction by antihypoxants”** are given results of the causes of respiratory and energy metabolism disorders of certain organs of rats in various stages of stress and correction by antihypoxants.

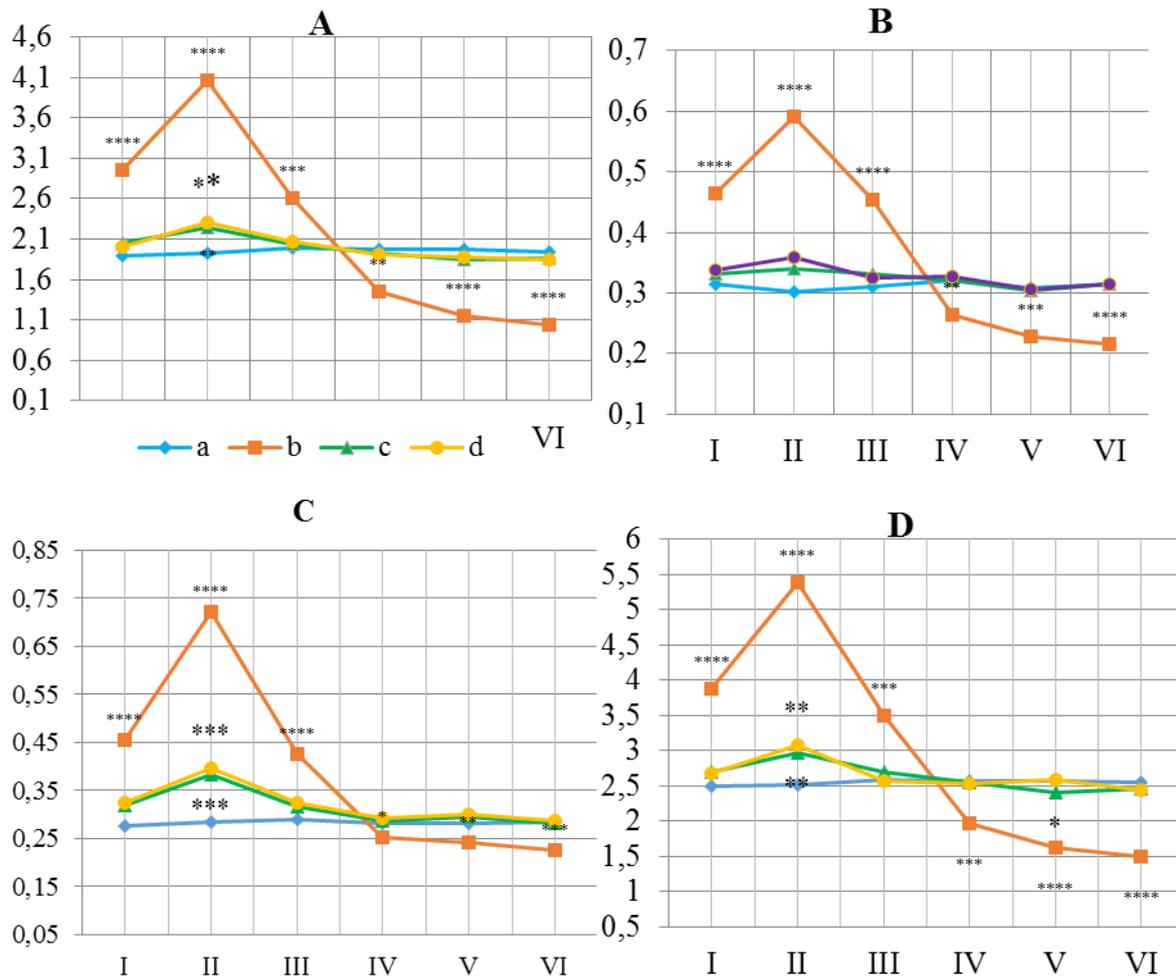
#### *Adenine nucleotides (AN).*

After 1 week of stress exposure ATP content, ADP and AMP in the brain tissue increases, respectively 56.0, 48.1 and 65.1% of normal levels (Fig. 1). In the second week of the experiment elevated levels of AN increase in brain tissue. In this case the content of ATP, ADP and AMP rises to 111.0 respectively; 95.0 and 153.9% from the norm, the amount of AN increased by 119.9%. At 3 weeks of stress ATP content, ADP and AMP increased respectively by 30.9; 46.0 and 47.9% of normal, the content of AN increased by 41.6%. After a month stress adenine nucleotide content in brain tissue is reduced. Thus, if ATP content is reduced to 26.0%, content of ADP and AMP - 17.2 and 10.0%, respectively, from the normal level. The exhaustion reduction AN content in the brain is enhanced markedly. If the content of ATP at 2 and 3 months of the experiment decreases respectively by 42.0 and 46.4% of normal, the content of ADP - 26.2 and 31.4% and AMP - 14.9 and 21.1%

Under stress, similar to the nature of the changes observed in the liver, adrenal glands and thymus.

In the anxiety stage animals receiving catacine and benzonal or elevated levels of ATP, ADP and AMP decreases and approaches the performance standards. At

the stage of exhaustion in the brain decreases the content of AN and hypometabolics slowly decrease in the content of adenine nucleotides.



**Figure 1. Effect on antihypoxants on content of adenine nucleotides in the brain of rats in the dynamics of stress development ( $M \pm m$ ;  $n = 8 - 10$ ).**

**A - ATP, B - ADP, C - AMP, D - The amount of adenine nucleotides. a - norm, b - control, c - catacine, d - benzonal. Along the ordinate axis - adenine nucleotide content, in mol/g wet tissue. On abscissa axis - terms of the experiment: I - week 1, II - 2 weeks, III - 3 week, IV - 1 month, V - 2 month, VI - 3 month. Here and in other figures and tables S.E.M. pointed by asterisks: \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,02$ ; \*\*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*\*  $P < 0,001$ .**

Thus, in 1,2 and 3 weeks of chronic painful emotional stress AN content in brain, liver, thymus and adrenal rises, in the initial stage is reduced step resistant, under depletion drastically reduced. Under the influence of the above antihypoxants performance in all stages of stress is no different from those of healthy animals.

Changes, observed in AN content in the brain tissue at chronic emotional pain stress found in the liver, adrenal glands and thymus.

*Respiration and mitochondrial oxidative phosphorylation.*

At the beginning of stress (Week 1) the rate of respiration of mitochondria from brain with glutamate in 3 and 4 states respectively increased to 13.8 and 7.2%

(Table 1), resulting in a slight increase of respiratory control values of Chance ( $RC_{Ch}$ ) (by 6.0%).

**Table 1**

**Antihypoxants influence on the oxidation rate of glutamate in rat brain mitochondria in the dynamics of stress ( $M \pm m$ ;  $n = 8 - 10$ ).**

Terms of experiment	Version	Respiration rate, ng of oxygen atom /min of mg protein			
		$V_3$	$V_4$	$\Delta K_q$	$\Delta D\Phi/O$
1 week	control	40,0±3,4	12,1±1,5	3,30±0,12	2,65±0,07
	experiment	45,5±4,2	13,0±1,7	3,50±0,10	2,78±0,08
	catacine	42,5±3,3	12,1±1,3	3,51±0,10	2,83±0,05
	benzonal	41,9±4,0	12,0±1,2	3,41±0,10	2,88±0,06
2 week	control	37,8±3,2	12,0±1,4	3,15±0,10	2,70±0,09
	experiment	49,9±4,6 <sup>****</sup>	15,1±1,8	3,30±0,11	2,81±0,08
	catacine	40,4±2,6	12,0±1,7	3,36±0,10	2,84±0,09
	benzonal	39,1±3,0	12,0±1,6	3,26±0,12	2,86±0,06
3 week	control	41,6±3,9	12,7±1,6	3,27±0,12	2,66±0,08
	experiment	45,2±4,1	15,2±1,7	2,97±0,10 <sup>*</sup>	2,58±0,07
	catacine	41,7±3,6	13,1±1,5	3,18±0,13	2,65±0,06
	benzonal	41,1±3,2	12,6±1,4	3,26±0,10	2,64±0,08
1 month	control	40,0±2,8	12,2±1,3	3,28±0,13	2,74±0,07
	experiment	32,1±2,3 <sup>**</sup>	15,3±1,4 <sup>*</sup>	2,10±0,09 <sup>****</sup>	2,41±0,06 <sup>*</sup>
	catacine	37,9±2,5	12,4±1,2	3,05±0,08	2,71±0,07
	benzonal	39,0±2,4	12,3±1,2	3,17±0,08	2,72±0,05
2 month	control	38,8±3,3	12,0±1,2	3,23±0,12	2,69±0,10
	experiment	26,5±2,1 <sup>****</sup>	15,6±1,5 <sup>**</sup>	1,70±0,08 <sup>****</sup>	2,05±0,08 <sup>****</sup>
	catacine	35,8±3,1	10,9±1,9	3,28±0,10	2,78±0,07
	benzonal	37,1±3,0	10,9±2,0	3,40±0,09	2,85±0,06
3 month	control	40,8±2,2	12,1±1,2	3,37±0,13	2,72±0,08
	experiment	24,5±2,0 <sup>****</sup>	15,8±1,6 <sup>**</sup>	1,55±0,11 <sup>****</sup>	1,88±0,07 <sup>****</sup>
	catacine	39,0±2,1	10,2±1,0	3,20±0,12	2,99±0,08
	benzonal	39,6±2,3	10,1±1,0	3,27±0,12	2,95±0,06

In these experimental conditions, the mitochondrial respiration markedly improved particularly succinate (in the 3 and 4 respectively increased by 58.0 and 27.4% of control level). The value of respiratory control of Chance increased to 23.6%, but the rate of ADP/O remains almost unchanged. With increasing duration of the stress effects (Week 2) mitochondrial respiratory function of the brain is enhanced even more, without significant changes in the parameters of oxidative phosphorylation. In this case the oxidation rate of glutamate in the 3 and 4 states respectively increases to 32.0 and 25.6% of the norm levels, succinate - respectively to 101.9 and 117.8%. This means that in the anxiety stage

mitochondrial respiration rate markedly increases especially in the brain succinate path.

Thereby, in the anxiety stage mitochondria proceed from a low metabolism to a higher level of metabolism. In the 3 week of stress - in the resistance stage increase rate of glutamate phosphorylating oxidation than 2 week of stress decreases and approaches the performance standards, and respiratory rate in 4 state is increased (to 19.7%). These changes lead to a decrease in the value of the respiration control of Chance 9.2%

ADP/O ratio is reduced to 3.0%. Thus mitochondrial respiration succinate over a 2-week stress is reduced, but compared to control increases (state 3 45.8%, on the state 4 to 83.6%). These changes lead to a decrease in the value of the respiratory control of Chance to 20.7% and the ratio of ADP/O - 6.8%. After 1 month of the experiment, brain mitochondrial uncoupling observed in respiration and oxidative phosphorylation. The rate of oxidation decreases phosphorylation of glutamate compared to the norm to 19.8%, and respiratory rate in a state of almost normal. As a result, the value of the respiration control of Chance decreased to 36.0% and the ratio of ADP/O – to 12.1%. After 1 month of stress rate of succinate oxidation in state 3 is close to the reference value and respiratory rate in state 4 is increased to 45.5%. In particular, the magnitude of the respiratory control ratio of Chance and ADP/O is reduced respectively to 31.2 and 10.1%. This shows that the resistance in the stage in the cerebral mitochondrial translocase activity increases.

The rate of depletion stage oxidation and phosphorylation efficiency ATP synthesis is greatly reduced and these changes are correlated with the duration of the stress. For example, if the rate of mitochondrial respiration glutamate in 2 months in state 3 is reduced to 31.7% from the level of the norm, then after 3 months of the experiment - to 40.0%. At the same time the rate of mitochondrial respiration in state 4 at 2 and 3 months of the experiment increased by 30.0 and 30.6%, respectively, from the control level. As a result, the amount of respiratory control Chance reduced to 47.4 and 54.0% respectively, and the ADP / O ratio - 23.8 and 30.9%. After 2 month stress phosphorylating succinate oxidation rate decreases respectively 28.2% of control levels, respiration rate in the state 4, on the contrary, increased by 26.0%. The magnitude of the respiratory control of Chance and ADP/O ratio is reduced respectively to 42.8 and 14.5%. After 3 months of stress rate of respiration in state 3 is reduced to 36.9%, and the state 4 respiration almost fully normalized. The magnitude of respiratory control ratio according Chance and ADP/O decreases, respectively to 40.9 and 20.5%. This means that in the exhaustion stage respiration and oxidative phosphorylation uncoupling in brain mitochondria leading to a decrease of synthesis, especially ATP.

Catacine and benzonal in chronic emotional pain stress, significantly reduce the above-mentioned changes. So, at chronic emotional pain stress, brain mitochondrial respiration increases in the anxiety stage. This is especially noticeable observed at succinate oxidation. The initial step resistance respiration in phosphorylated state of mitochondria approaches to readings of standards, particularly in the oxidation of glutamate, but in the state 4 stays high. The value of

respiratory control of Chance slightly decreased with glutamate, but significantly decreased with succinate. In these experimental conditions, the rate of ADP/O glutamate fully normalized, succinate significantly reduced. At chronic emotional pain stress changes that were observed in brain mitochondria observed in liver mitochondria.

*Rotenone-sensitive and insensitive NAD.H oxidase of liver mitochondria.*

After 1 and 2 weeks of stress, i.e. in anxiety phase oxidation NAD.H in inner path than the norm increases respectively to 16,7 and 33.2% of normal levels. At the same time and in the presence of catacine and benzonal NAD.H oxidation rate on the inner path is different from the norm. In these experimental conditions, no matter in presence or absence of extrinsic pathway antihypoxants NAD.H oxidation does not change. However, at the end of the anxiety stage (after 3 weeks of stress) inner path NAD.H oxidation than 2 weeks to some extent decreases the extrinsic pathway oxidation NAD.H contrast, slightly (to 7.8%) increased. In the presence of antihypoxants internal and external oxidation NAD.H path does not change. Thus, these data indicate that the reduction of the respiratory activity of the inner membrane and increase the extrinsic pathway of mitochondrial oxidation in the final stage of anxiety is one of the earliest functional abnormalities of mitochondria in chronic painful emotional stress. Under reducing resistance inner path NAD.H oxidation and improving the extrinsic pathway NAD.H oxidation somewhat accelerated. In the presence of both antihypoxants oxidation NAD.H path does not change. At the stage of exhaustion, inner path NAD.H oxidation is reduced by 11.4%, the extrinsic pathway oxidation NAD.H significantly increased after 2 months (25.7%). After 3 month experimental deviation from the norm NAD.H oxidation level significantly accelerated: the inner path NAD.H oxidation is reduced by 29.8%, outer path NAD.H oxidation increased by 48.7%.

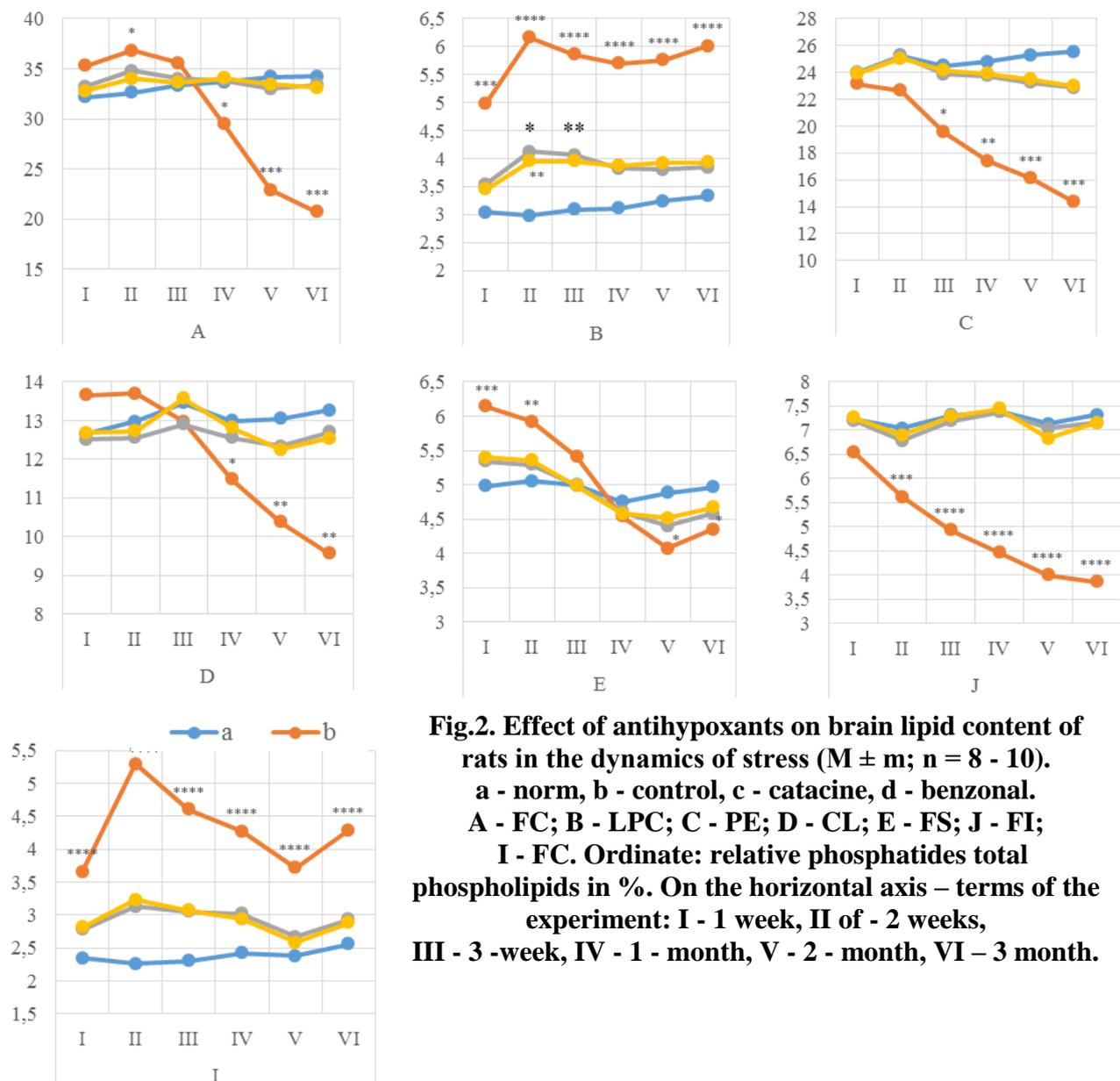
In the presence of internal and external antihypoxants oxidation of NAD.H path does not change. In the resistance stage reducing of inner path of NAD.H oxidation and increasing the outer pathway of NAD.H oxidation somewhat accelerated. Outer pathway activation conditions NAD.H and oxidation inhibiting the intrinsic pathway of substrate oxidation during swelling is desorbed cytochrome c from the inner mitochondrial membrane to the intermembrane space. Releasing cytochrome c is a “death sentence” of cells (Green, Reed, 1998).

In the fifth chapter of the thesis, entitled “**Disorder of lipid metabolism and phospholipid of some organs and mitochondria of rats in the dynamics of chronic emotional pain stress development and their correction by antihypoxants**” are given results of the research of lipid metabolism and phospholipids of some organs and mitochondria of rats in the dynamics of chronic emotional pain stress development and their correction by antihypoxants.

At the development of stress following changes were observed in brain, liver, thymus and adrenal. Regardless of the stress stage cholesterol, free fatty acid contents in brain, thymus, liver and adrenal tissues increase, and phosphatidylinositol (PI) decreases. At the same time, on change of total lipids and phospholipids stress can be divided into three phase: the first phase – is increased;

the second phase - approaching to normal readings; the third phase - is noticeably reduced. In the presence antihypoxants cholesterol and free fatty acids contents approaching the normal readings, and the content of lipids and phospholipids almost completely normalized.

In brain mitochondria, regardless of the stress terms content lysophosphatidylcholine (LPC) and phosphatidic acid (PA) increases (Fig. 2). In one week of stress in brain mitochondria LPC content increases markedly, phosphatidylcholine (PC), and cardiolipin (CL) increases slightly phosphatidylethanolamine (PE) slightly FI is significantly reduced. At 2 weeks of stress contents of phosphatidylserine (PS) is close to that of the norm, increasing PC and FI reduction accelerated, together with the continued increase in the CR. At 3 weeks of stress PC and PS content closer to the norm, reducing the PE and FI accelerates. At 1 month, the stress of PC and CR content decreases, the FS content is almost fully normalized, reducing the content of PE and PI accelerated.



At 2 month stress above mentioned fraction of phospholipids content especially PI, PC and PE decreases. After exhaustion, i.e. 3 month of stress increases to 72.9% in brain mitochondria LPC content of PC maintenance, PE, PS, PI, CM and CR decreased to 28.2; 26.9; 23.3; 48.6; 9,3 and 23.8%. As the results of our studies on 1 week of stress in anxiety in the presence of antihypoxants PE, PS, PI, CM, CL contents equated with performance standards, and PC, LPC approaching to standards readings. In the exhaustion stage, at the presence of antihypoxants PE, PS, FI, CM, CL PC and LPC content approaching standards readings.

In the sixth chapter of the dissertation, entitled “**Changes in the activity of phospholipase of brain and liver mitochondria of rats in the dynamics of stress development and their correction by antihypoxants**” presents the results of research on changing the activity of phospholipases of brain and liver mitochondria of rats in dynamics of of chronic emotional pain stress development and their correction by antihypoxants.

#### *Brain mitochondria.*

In the anxiety stage if in the absence of drugs fosfolipazyA2 activity in brain mitochondria by hydrolysis of phospholipids general increased by 144.4% from the norm, in the presence of catacine increases only - by 29.8%, benzonal - 32.5%. Under stress, if enzyme activity by the formation of free fatty acids increased to 116.0% from the norm, and in the presence of catacine and benzonal - 25.7 and 22.0%. Thus, if enzyme activity in the absence of drugs by hydrolysis of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine increased to 120.5% and 154.3, respectively, of the control level, then increased to 28.0 and 25.9%, in the presence benzonal and catacine - 31.8 and 36, 7%. At the exhaustion stage of research influence of catacine and benzonal on phospholipase A<sub>2</sub> activity in brain mitochondria in the experimental rats showed that long-term administration of drugs almost completely normalize the activity of enzymes. Thus, in the absence of enzyme preparations for hydrolysis activity of total phospholipids, phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine and free fatty acid formation increases to 57.6; 55.4; 43.8 and 68.7% respectively from the level of the norm, then catacine only 9.8; 10.5; 6.0 and 11.2%, benzonal - 6.9; 9.7; 7.4 and 13.5%.

In the first week of stress lysophospholipase A<sub>1</sub> activity of brain mitochondria by formation of free fatty acids increases to 1.35 times. With an increase of experiment duration (2 weeks and 3) enzyme activity increases dramatically (1.84 and 1.78 times). Beginning the 1 month of stress enzyme activity comparing 3 weeks of stress decreases in some degree. After 1, 2 and 3 months of the experiment lysophospholipase A<sub>1</sub> activity of brain mitochondria increases correspondingly to 1.69; 1.60 and 1.55 times in relation to norm. Lysophospholipase A<sub>1</sub> activity in membranes of rat brain mitochondria normally most active against lysophosphatidylethanolamine (LPE) than LPC. At stress substrate specificity of lysophospholipase A<sub>1</sub> maintained in rats brain mitochondria. After 1, 2 and 3 weeks of stress enzyme activity on formation glycerophosphocholine increases to 1.26; 1.81 and 1.56 times, respectively, level

of control, formation of glycerophosphoethanolamine - 1.58; 2.13 and 2.18 times. This means that at stress lysophospholipase A<sub>1</sub> of brain mitochondria at higher speed hydrolyzes lysophosphatidylethanolamine than lysophosphatidylcholine. The similar nature of the change is observed after 1, 2 and 3 months (formation of glycerophosphocholine respectively 1.56, 1.47 and 1.40 times, formation of glycerophosphoethanolamine - 1.93, 1.82 and 1.80 times).

After 1 week of stress phospholipase D activity increases in brain mitochondria to 1.45 times. With increasing of stress duration (in 2 or 3 weeks) increase of enzyme activity markedly enhanced (improved respectively 1.82 and 1.79 times the norm). Later periods of stress (1, 2 and 3 months), enzyme activity is increased, but compared to 2 or 3 weeks of the experiment significantly reduced.

So at anxiety catacine and benzonal in brain mitochondria almost no change hydrolytic activity of phospholipase in the resistance - is normal, in the exhaustion leads up to the level of standards.

#### *Mitochondria of the liver.*

In the anxiety stage (after 2 weeks of stress) phospholipase A<sub>2</sub> activity against liver mitochondria PC and PE inhibited equally. For example, in the absence of antihypoxants enzyme activity on PC and PE is increased to 1.80 and 2.31 in the presence of catacine to 1.17 and 1.24; benzonal to 1.10 and 1.21.

If at the second week of the experiment the activity of brain enzyme on free formation of fatty acid by hydrolysis of LPC and LPE increased in the control to in 1.84; 1.81 and 2.12 times, respectively, the level of norm, then in the presence of catacine - 1.20; 1.22 and 1.30 times, benzonal - 1.23; 1.21 and 1.32 times. Approximately analogical character of change observed after 2 months of stress. Thus, in the absence of drugs for the formation of free fatty acid and lysophosphatidylcholine and lysophosphatidylethanolamine hydrolysis in control increases to 1.40; 1.37 and 1.42 times, respectively, the level of norm, then in the presence of catacine- 1.15; 1.12 and 1.17 times, benzonal - 1.15; 1.11 and 1.19 times. After 1, 2 and 3 weeks of stress on the enzyme activity of formation increases glycerophosphocholine - 1.31; 1.62 and 1.52 times, respectively, the level of control, on formation of glycerophosphoethanolamine - 1.48; 1.90 and 1.94 times. The similar character of the change is observed after 1, 2 and 3 months.

Catacine and benzonal significantly normalized phospholipase D activity in membranes of rat brain mitochondria at stress. So, if after 2 weeks of stress activity of phospholipase D of brain mitochondria by hydrolysis of phospholipids is increased 1.82 times from the norm, and in the presence of catacine and benzonal respectively 1.24 and 1.20 times. At stress, in the anxiety stage of phospholipase D activity in brain on hydrolysis of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine increased respectively to 2.22 and 1.89 times, the level of standards, after administration of catacine - 1.30 and 1.25 times, benzonal - 1.31 and 1.26 times.

At the exhaustion stage phospholipase D activity in brain mitochondria increases on the formation of phosphatidic acid to 1.69 times from the norm, and in the presence of catacine and benzonal respectively 1.16 and 1.12 times. The similar

character of changes in phospholipase D activity of brain mitochondria is observed in respect of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine. Thus, in the absence of drugs enzyme activity increases on the formation of choline and ethanolamine increased respectively to 1.98 and 1.75 times the norm, in the presence of catacine increased only to 1.18 and 1.17 times benzonal - 1, 1.15 and 21 times. After 1, 2 and 3 weeks of stress activity of phospholipase D on formation choline increased to 1.62; 2.09 and 2.15 times the similar character and remains at 1, 2 and 3 months experiment. So, the introduction of catacine and benzonal to animals with stress completely normalizes hydrolytic activity of lipolytic enzymes in the mitochondrial membranes.

In the seventh chapter of the dissertation, entitled **“Disorders of lipid peroxidation of some organs and mitochondria of rats in the dynamics of stress and their correction by antihypoxants”** aims to study disorders of lipid peroxidation of some organs and mitochondria of rats in the dynamics of the development of chronic emotional pain stress and their correction by antihypoxants.

In the 1 week of stress LPO processes in the brain and liver mitochondria increased respectively by 65.0 and 40.3% of the level of performance standards, for 2 weeks of stress increase of LPO processes amplified (increased by 102.2 and 84.4%). However, further increases in stress effects of lipid peroxidation processes than 2 weeks of the experiment slightly slows down, however, compared to the norm, there is still high. After 1, 2 and 3-month experiment LPO processes in the mitochondria of the brain compared to the control increased by 65.0; 102.2 and 88.1%, and in the liver mitochondria - 40.3, 84.3 and 76.0%.

The above changes are observed in the adrenal glands and thymus, brain and liver. Benzonal and catacine significantly reduce lipid peroxidation processes.

Analyzing the results it can be concluded that the components lipolytic system and LPO cells and mitochondria are interconnected with each other, they perform the enzymatic conversion of phospholipids, which leads to changes in the structural and functional membrane parameters: ratio of bilayer and non-bilayer sites in the membrane, local charges on the membrane permeability for different ions, elimination of cytochrome c from the inner membrane, the degree of conjugation of oxidative phosphorylation. On the other hand, phospholipase activity itself, and the type of reaction catalyzed (hydrolysis, trans acylation, transalkylation) and LPO are determined largely by the structural state of the membrane. Thus, cellular and mitochondrial particularly phospholipase and Paul are endogenous regulators that maintain homeostasis in cell and mitochondrial membranes, regulates the functional activity in the changing physiological conditions and are important in the process of adaptation to stress influences

In the cell, the mitochondria catacine and benzonal bring content and ratio of lipids and membrane phospholipids to that of the norm violated as a result of stress, increased “bilayer” regions. These changes lead to the restoration of mitochondrial respiration and ATP synthesis, reduce violations of the cell nucleus by a sharp decline in output of cytochrome c from the mitochondrial inner

membrane. Therefore, we can conclude that catacine and benzonal can be used as a drug that reduces the effects of stress on organism.

## CONCLUSION

1. At chronic emotional pain stress, in anxiety stage gaseous oxygen exchange, thymus and adrenal mass is increased in rats. In the resistance stage it is gradually return to its original level, and in the exhaustion stage it is noticeably reduced.
2. a) In the anxiety stage noradrenaline content increases in brain tissue. In the early stage of anxiety noradrenaline increases and decreases in the end. Under the resistance stage catecholamine content decreases, in exhaustion stage increases again; b) In the anxiety stage, content of catecholamines in the adrenal glands, particularly adrenalin increases in resistance approaching to normal readings, and decreases in exhaustion stage.
3. In the anxiety stage, amount of ATP and adenine nucleotides content in brain, thymus, adrenal gland and liver tissues are increased in steps of gradually approaching resistance performance standards, and are reduced in the exhaustion stage. This means that the content of ATP is inner mitochondrial controller, and it controls the activity of translocase and  $H^+ - ATP$  synthase.
4. In the anxiety stage respiratory and oxidation-phosphorylating functions enhance in brain mitochondria and liver. In the resistance stage, there is a "soft" uncoupling of oxidative phosphorylation, and exhaustion decreased respiration and ATP synthesis.
5. At the beginning of the anxiety oxidation of NAD.H along to inner path increases, then decreases slightly, the decline accelerated in the resistance, the depletion is significantly reduced; external anxiety oxidation path does not change in resistance is accelerated in the depletion of acceleration markedly increases. This means that an anxiety stage cytochrome  $c$  gradually goes from the inner membrane of mitochondria in the intermembrane space, and in the output stage of resistance cytochrome  $c$  of membrane accelerates.
6. Regardless of the stress stage cholesterol, free fatty acids and LPC in the tissue of different organs increases and decreases FI; Other phospholipid fraction or in anxiety step increases or unchanged, but is reduced in the resistance.
7. Regardless of the stress stage peroxidation processes in the tissue and mitochondria of different organs, and phospholipase  $A_2$ , lysophospholipase  $A_1$  and phospholipase D activity increases in brain and liver mitochondria.
8. Regardless of the stress stage peroxidation processes increase in the tissues of various organs and mitochondria.
9. Introduction catacine and benzonal to animals and subsequent stress effect reduces the deviation from the norm and the aforementioned indicators closer to that of healthy animals.

**ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИЛМИЙ ИШЛАРИ РЎЙХАТИ**  
**СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ**  
**LIST OF PUBLISHED WORKS**

**I бўлим (I часть; I part)**

1. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т., Каримова Г.М. Сурункали рухий зарбани ривожланишида каламуш айрисимон беги липидларининг микдорий ўзгаришлари // Ўзбекистон биология журнали. 2011. - № 1. С – 13-16 б. (№5. 03.00.00)
2. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т., Каримова Г.М.,Халиков Ж.Р. Влияние гипометаболикков на содержание адениновых нуклеотидов в ткани тимуса крыс при хроническом эмоциональном стресс // ЎзМУ Хабарлари, 2011г. – №. 2 – С. 95-99. (№9. 03.00.00)
3. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т. Влияния катапина и бензонала на обмен липидов в тимусе крыс в динамике развития хронического эмоционального стресса // ЎзМУ Хабарлари, 2011. –махсус сон. – С. 7-9. (№9. 03.00.00)
4. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т. Влияние катапина на газокислородный обмен крыс в динамике развития хронического эмоционально-болевого стресса // Инфекция, иммунитет и фармакология, 2014. – № 4 – С. 17-24.(№7. 03.00.00)
5. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т.,Мирзакулов С.О. Влияние хронического эмоционального стресса на обмен липидов головного мозга крыс // Инфекция, иммунитет и фармакология, 2014. № 6. – С. 8-13. (№7. 03.00.00)
6. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т. Изменение активности лизофосфолипазы А<sub>1</sub> митохондрий печени в динамике развития хронического эмоционально-болевого стресса и его коррекция катапином // Назарий ва клиник тиббиёт, 2015.– № 1. С – 12-16 б. (№4. 03.00.00)
7. Abdullaev.G.R., Almatov.K.T. Influence of Catacine on Phospholipase A<sub>2</sub> Activity of Rat Liver in the Dynamics of Chronic Emotional-Painful Stress Development // American Journal of Biochemistry, 2016. –Vol. 6, No. 1. – P. 16-20 (№ Global, IF=0,654).
8. Abdullaev.G.R., Almatov.K.T. Alterations of Phospholipids Synthesis in Mitochondrial Membrane of the Liver Cells in the Dynamics of Chronic Emotional Painful Stress Development // American Journal of Biochemistry, 2016. –Vol. 6, No. 2. – P. 51-58 (№ Global, IF=0, 654).
9. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т., Каримова Г.М. Влияние катапина на процессы перекисного окисления липидов митохондрий печени крыс в динамике развития стресса // Инфекция, иммунитет и фармакология, 2016. – № 4. – С. 8-11. (№7. 03.00.00)
10. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т. Изменение внутреннего и внешнего пути окисления НАДН в митохондриях печени крыс в динамике развития хронического эмоционально-болевого стресса и их коррекция антигипоксантами // Инфекция, иммунитет и фармакология, 2016г. – № 4. – С. 11-17. (№7. 03.00.00)

11. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т. Изменение энергетический метаболизм митохондрий печени крыс в динамике развития хронического эмоционально-болевого стресса и их коррекции катацином // Ўзбекистон биология журнали. 2016й, – № 2. – С. 20-26.(№5. 03.00.00)

12. Abdullaev.G.R., Niyazmetov.V.A., Almatov.K.T. Influence of catacine on lipid peroxidation processes of rat organs in the dynamics of stress development // European Journal of Biomedical and pharmaceutical sciences, 2016. –Vol. 3, №11. – P. 18-21 (№ Global, IF=3, 881).

### **II бўлим (II часть; II part)**

13. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т. Изменение транспорта  $Ca^{+2}$ , активности липолитических ферментов и энергетический метаболизм мембран митохондрий печени при хроническом стрессе // Биология, Экология ва Тупроқшуносликнинг долзарб муаммолари: Республика илмий амалий анжумани.– Тошкент, 2006. – С. 51.

14. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т.,Иргашева Г.М.,Клемешева Л.С.Изменение некоторых физиологических показателей организма в динамике эмоционального стресса // Физикавий-кимёвий биология ва биотехнологиянингистикболлари.Халқаро илмий амалий анжумани. – Андижон, 2007.– С. 268-269.

15. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т. Влияния катацина и бензонала на обмен липидов головного мозга крыс в динамике развития хронического эмоционального стресса // Материалы XLVIII международной научной студенческой конференции.– Новосибирск, 2010г. – С. 15.

16. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т., Каримова Г.М.,Халиков Ж.Р.Изучения действия некоторых антигипоксантов на липидный обмен в тканях тимуса крыс при стрессе // Материалы XIV Пущинская школа-конференция молодых ученых. – Пущино, 2010г. – С. 134-137.

17. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т. Изменение содержания катехоламинов надпочечников крыс в динамике развития хронического стресса // Материалы республиканской научной конференции посвящённой 75-летию академика Б.А. Тошмухаммедова.Актуальные проблемы современной физиологии и биофизики– Ташкент, 2010г. – С. 5-6 .

18. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т.,Мирзакулов С.О.Изменение содержания липидов головного мозга крыс в динамике развития хронического эмоционального стресса // V международная конференция, посвящённой 20-летию научно-техническому центру «Тимбо» «Стратегия развития науки и технологии в XXI веке», – Ташкент,2011г. – С. 170-174.

19. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т., Каримова Г.М. Изменение энергетической функции митохондрий головного мозга при стрессе // III-Всероссийская Интернет конференция, «Актуальные проблемы Биохимии и Бионанотехнологии». – Россия-Казань, 2012г. – С. 8-11.

20. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т.,Мирзакулов С.О. Изменение содержания адениновых нуклеотидов печени крыс в динамике развития

стресса // Ўзбекистон талаба ёшларининг Республика миқёсидаги анъанавий илмий-амалий анжумани, –Тошкент, 2013й, С. – 46-48.

21. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т., Каримова Г.М. Влияния катапина на процессы перекисного окисления липидов митохондрий печени крыс в динамике развития стресса // Материалы научно-практической конференции «Актуальные проблемы физико-химической биологии». – Ташкент, 2015г. – С. 16-18.

22. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т. Изменение внутреннего и внешнего пути окисления НАДН в митохондриях печени крыс в динамике развития хронического эмоционально-болевого стресса // Материалы научно-практической конференции «Актуальные проблемы Биологии и Экологии». – Ташкент, 2015г. – С. 7-10.

23. Абдуллаев Г.Р., Алматов К.Т. Изменение активность фосфолипазы Д митохондрии головного мозга крыс в динамике развития хронического эмоционально-болевого стресса // Материалы международной научно-практической конференции «Теоретические и прикладные проблемы современной науки и образования «Курск, 24 – 25 марта 2016г. – С. 7-10.

24. Abdullaev.G.R., Almatov K.T. The change of phospholipase A<sub>2</sub> and lysophospholipase a1 activity of rat brain mitochondria in the dynamics of the chronic emotional-pain stress development// Science and Education Materials of the XI international research and practice conference Vol.I April 6th – 7th, 2016 Munich, Germany 2016. – С. 49-59.

Автореферат «ЎзМУ хабарлари» журналида таҳрирдан ўтказилди.

Бичими 60x84<sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Ризограф босма усули. Times гарнитураси.

Шартли босма табағи: 4,5. Адади 100. Буюртма № \_\_.

«ЎзР Фанлар Академияси Асосий кутубхонаси» босмахонасида чоп этилган.

Босмахона манзили: 100170, Тошкент ш., Зиёлилар кўчаси, 13-уй.