

UOT 577.150.5/154.2-158.3-577.471:95

Döl dövründə müxtəlif səviyyəli hipoksiyanın ağ siçovulların baş beyində laktatdehidrogenaza və piruvatkinaza fermentlərinin fəallığına təsiri

Rəşidova A.M.

AMEA-nın A.İ.Qarayev adına Fiziologiya İnstitutu,
afag@mail.ru

Prenatal ontogenezin döl dövründə 10% və 12% O₂ və, müvafiq olaraq, 90% və 88% N₂ qaz qarışıqlarının təsirindən sonra hipoksiyaya məruz qalmış ağ siçovulların erkən postnatal ontogenezdə və cinsi yetkinlik dövründə baş beyin strukturlarında LDH- və PK-fermentlərinin fəallığının dəyişməsinə müqayisə etdikdə, hipoksiyanın təsirinə cavab olaraq postnatal dövrün müddəti uzandıqca fermentlərin fəallığının kontrol göstəricilərinə uyğun bərpa olunma meyilliliyi müşahidə olunur. 5%-li hipoksiyanın təsiri ilə müqayisə etdikdə – 10% və 12% hipoksiyafermentlərin fəallığının bərpası üçün nisbətəndaha əlverişlidir.

Açar sözlər: laktatdehidrogenaza (LDH), piruvatkinaza (PK) ağ siçovul, postnatal ontogenez, baş beyin strukturları, hipoksiya, enerji mübadiləsi, müxtəlif hüceyrəsubfraksiyaları.

Giriş

Prenatal hipoksik stressin patogenetik effekti prenatal ontogenezin dövründən çox asılıdır. Prenatal hipoksiyanın patogenezdə hüceyrə membranlarının struktur-funksional təhlükəninə pozulması mühüm rol oynayaraq, mərkəzi sinir sisteminin (MSS) fəaliyyətinə təsir edir [1]. Bununla bərabər, MSS-in energetik mübadiləsində də böyük dəyişikliklər baş verir. Ədəbiyyat mənbələrindən məlumdur ki, oksigen “aclığı” zamanı orqanizmdə bir çox fizioloji və biokimyəvi dəyişikliklər baş verir [2,3,4].

Oksigenin xeyli hissəsi baş beyində gedən biokimyəvi reaksiyalarda istifadə olunur və buna görə də baş beyin oksigen çatışmazlığına, yəni hipoksiyaya çox həssasdır. Məlumdur ki, oksigen azlığı hüceyrələrdə qlükozanın tam parçalanmasına (üç karbon turşuları tsiklində) imkan vermir və toxumalarda əmələ gələn piruvatı laktata çevirir. Bunun nəticəsində hüceyrənin daxilində pH azalır, yəni asidoz müşahidə olunur və biokimyəvi proseslərin tənzimlənməsi pozulur.

Beyində enerji mübadiləsi çox yüksək səviyyədə olduğu üçün, orqanizmin fəaliyyəti ilk növbədə beyin tələblərinin təmin edilməsinə və saxlanılmasına yönəldilməlidir.

Baş beyin bir sıra enerji mübadiləsi fermentlərinin, o cümlədən qlikolitik tsiklin fermentləri olan piruvatkinazanın (PK; ATP: pyruvate phosphotransferase, EK 2.7.1.40) və laktatdehidrogenazanın (LDH; L-lactate: NAD oxidoreductase, EK 1.1.1.27) fəallığının kəskin prenatal hipoksiya zamanı prenatal ontogenezin hər bir dövründə dəyişmə dinamikasını öyrənmək məqsəduyğun olardı [5,6,7].

Bu fermentlərin çatışmazlığı, əsasən, enerji asılı prosesləri pozmaqla, orqanizmi patoloji vəziyyətə gətirib çıxarır [8].

Qeyd etmək vacibdir ki, laktatdehidrogenazalı reaksiyalar müxtəlif təsirlər zamanı canlı orqanizmin toxumalarında aerob və anaerob proseslərin nisbətində baş verən dəyişikliklərin tədqiqi üçün əlverişli sistem sayılır. Sözsüz ki, hipoksiya şəraitində bu proses daha da şiddətlənir və əhəmiyyətli dərəcədə baş beyində və orqanizmdə struktur və funksional dəyişikliklərə gətirib çıxarır.

Baş beyin, xüsusilə, də inkişaf edən beyin hipoksiyaya həssaslığını nəzərə alaraq belə bir fikir irəli sürmək olar ki, hipoksiyanın fəsadları onun səviyyəsindən və orqanizmin inkişaf dövründən müəyyən dərəcədə asılıdır.

Bu baxımdan, təqdim olunan işdə bətdaxili döl dövründə müxtəlif səviyyəli hipoksiyaya məruz qalmış siçovullarda postnatal ontogenezdə laktatdehidrogenaza və piruvatkinaza fermentlərinin fəallığının dəyişmə problemi vacib və aktualdır.

Tədqiqatın obyekt və üsulları

Tədqiqatlar Avropa elmi fondu və heyvanlara qarşı humanist münasibət haqqında Helsinki bəyannaməsinin tövsiyə etdikləri prinsip və normativ sənədlər əsasında 3 yaş dövrünə aid (17-, 30- və 90-günlük) xəttisiz ağ siçovullar üzərində aparılmışdır. Dişi siçovullar boğazlığın döl dövründə hər gün 10 dəqiqə olmaqla 5 gün ərzində 10% və 12% oksigen, 90% və 88% azotlu qaz qarışığı ilə xüsusi barokamerada hipoksiyaya məruz qaldıqdan sonra onların balaları postnatal ontogenezin 17-, 30- və 90- günlərində dekapitasiya edilmişdir. Baş beyin nahiyələrinin toxumaları 1:9 nisbətində 0,2M tris-HCl b. (pH 7,4); 1mM EDTA; 0,25M saxaroza tərkibli mühitdə homogenizasiya edilmiş və 10 dəq. ərzində 1000g rejimində K-24 markalı (Almaniya) refrijeratorlu sentrifüqadasentrifüqalaşdırılmışdır. Alınan çöküntüdə tam dağılmamış hüceyrələr və nüvələr, toxuma qırıntıları xaric edilib, supernatant 11000-14000 g-da 20 dəqiqə ərzində sentrifüqalaşdırılmışdır. Supernatantdasitozol mayesi, çöküntüdə isə mitoxondri kütləsi alınır. Sitozol mayesi 100000g-da, 1,5-2,0 saat ərzində differensial sentrifüqalaşma üsulu ilə "VAC-25"-də (Almaniya) sentrifüqalaşdırıldıqdan sonra supernatantda alınır. Mitoxondri kütləsi 5 ml 0,32M saxaroza məhlulunda teflon dəstəciklə resuspenziya edildikdən sonra 14000g rejimində sentrifüqalaş-

dırılır. Supernatant xaric edilir, yuyulmuş mitoxondri kütləsi isə fermentin fəallığını və zülalın qatılığını təyin etmək üçün istifadə olunur. LDH və PK fermentlərinin mitoxondridaxili maksimal fəallığını aşkar etmək üçün ilk növbədə cisimləri dağıtmaq lazımdır. Adətən mitoxondriləri dağıtmaq üçün bir neçə üsuldan istifadə olunur: ultrasəs vasitəsilə, dondurmaq və sonra onları donunu açmaq və detergentlər ilə təsir etmək. Biz tədqiqatlarımızda 0,1%-li detergent Triton X-100 istifadə etmişik [9,10].

Kontrol vivarium şəraitində saxlanılmış əlavə stress faktorunu istisna etmək üçün eyni günlərdə və vaxtda barokameraya yerləşdirilmiş, lakin hipoksiyaya məruz qalmamış eyni yaşdan olan heyvanlar istifadə olunmuşdur.

Baş beyindən ayrılmış hipotalamus, beyincik, hissi-hərəkət, orbital və limbik qabıqlarının toxuma və subhüceyrə fraksiyalarında (mitoxondri və sitozol) laktatdehidrogenaza və piruvatkinazanın ümumi və xüsusi fəallığı, ümumi zülalın miqdarı təyin olunmuşdur.

LDH və PK fermentlərinin fəallığı Berqmeier H.U. [11] üsulu ilə, ümumi zülalın miqdarı isə Louri üsulu ilə təyin olunmuşdur [12] Alınmış nəticələr statistik yoxlanılmış və hesablanmışdır [13].

Nəticələr və onların müzakirəsi

Təcrübələrdə prenatal inkişafın döl dövründə müxtəlif səviyyəli hipoksiyaya məruz qalmış təcrübə dişi siçovullardan bala alınmış və postnatal inkişafın 17-, 30- və 90- günlərinə çatdıqda onların baş beyin strukturlarında LDH-nin və PK-nin fəallığı və zülalın miqdarı tədqiq olunmuşdur.

Təcrübələrdə biz siçovulları 12% hipoksiyaya məruz etdikdən sonra alınan nəticələrə üstünlük vermişik, kontrol və 5%-li hipoksiyanın təsirindən sonra alınan göstəricilərlə müqayisə etmişik. LDH və PK fermentlərinin fəallığındəyişmə dinamikasının göstəriciləri 4 cədvəldə öz əksini tapmışdır.

Belə ki, baş beyin strukturlarının toxuma homogenatlarında LDH fermentinin 12% hipoksiyanın təsirindən sonra kontrol qrup heyvanlarının ferment fəallığının göstəriciləri ilə müqayisədə kəskin artması müşahidə olunur ($<0,01$; $<0,001$). Qeyd etmək lazımdır ki, tədqiq olunan beyin strukturlarının hər birində fermentin ən yüksək göstəriciləri postnatal inkişafın 30-cu günündə olmuşdur ($<0,001$). Bunu belə izah etmək olar ki, siçovullarda postnatal inkişaf dövrünün 30-cu günü böhran dövrü hesab olunur, belə ki, məhz bu yaş orqanogenez prosesinin yekunlaşmasına təsadüf edir və fermentin fəallığının maksimuma çatmasını bu proseslə əlaqələndirmək olar.

5% hipoksiyanın təsirindən sonra fermentin fəallığının göstəriciləri ilə müqayisədə, 12% -li hipoksiyanın təsiri bir neçə dəfə yüksək olmuşdur ($<0,01$; $<0,001$). Lakin postnatal inkişafın 17-ci günündə sensor motor qabıqda və beyincikdə alınan göstəricilər istisna təşkil etmiş və burada

LDH-ın fəallığı 2 dəfə aşağı düşmüşdür. Bu fərqi nisbətən etibarlı saymaq ($<0,05$), və bunu yaşa uyğun baş beyin funksional xüsusiyyətləri ilə əlaqələndirmək olar. Toxuma səviyyəsində ən aşağı göstəricilər 90-cı günə təsadüf edir və hətta kontrol göstəricilərindən aşağı olmuşdur.

Mitoxondri səviyyəsində aparılan eksperimentlərdə 12% -li hipoksiyanın təsirindən sonra bir tədqiq olunan strukturda LDH-fermentinin fəallığı həm kontrol göstəriciləri ilə müqayisədə, həm də 5% hipoksiyanın təsirindən sonra strukturlarda alınan fermentin fəallığından kəskin fərqlənərək bir neçə dəfə artmışdır. Bu fərqləri etibarlı ($<0,01$) və yüksək etibarlı kimi qiymətləndirmək olar ($<0,001$). Yaş baxımından, 30-günlük ağ siçovulların beyin strukturlarında alınan göstəricilər, toxuma homogenatlarında olduğu kimi, daha yüksək olmuşdur. Bunu həmin yaş qrupundan olan ağ siçovullara xas olan beyin strukturlarının morfo-funksional dəyişikləri ilə əlaqələndirmək olar (Cədvəl 1). Belə ki, qeyd etdiyimiz kimi, bu yaş dövründə orqanogenez prosesinin tam formalaşması başa çatır, orqanizm, xüsusilə də baş beyin formalaşması yekunlaşır, və bu zaman o bütün rezerv imkanlarından istifadə edir. Daha çox LDH-ın yüksəlməsi hipotalamus və orbital qabıqda müşahidə olunur ($<0,01$; $<0,001$). Lakin, eksperimentin 90-cı günündə həm toxuma, həm də mitoxondri səviyyəsində hipoksiyanın təsir gücündən asılı olmayaraq LDH-ın kəskin azalması müşahidə olunur. Bu azalma 5% O_2 və 95% N_2 qaz qarışığının təsirindən sonra hipoksiyaya məruz qalmış siçovullarda daha kəskin qabıqaltı strukturlarda müşahidə olunur. Bunu belə izah etmək olar ki, bu strukturlarda fermentin fəallığının regenerasiyası ləng gedir, nəinki qabıq strukturlarında. Bu fərziyyəyə görə, LDH-ın fəallığı mühitin əlverişsiz təsirlərinə, bizim eksperimentlərdə isə hipoksiyaya, davamlılığı “baş beyin yarımkürələri qabığı → hippokamp → beyincik” sırasında aşağı düşür. Bu onu sübut edir ki, baş beyin yarımkürələri qabığının oksigenlə zəif təminatı onda əhəmiyyətli dərəcədə morfo-funksional dəyişikliklər yaradır.

Tədqiq olunan baş beyin strukturlarının sitozol subhüceyrə fraksiyalarında LDH-ın fəallığı kontrol göstəriciləri ilə müqayisədə nisbətən kəskin yüksəlmişdir, 17- və 30- günlük siçovullarda kəskin yüksələrək maksimuma çatmışdır ($<0,001$). Lakin, 17-günlük siçovullarla müqayisədə postnatal ontogenezin 90-ci günü baş beyin strukturlarında LDH-fermentinin nisbətən azalması müşahidə olunmuşdur və hipoksiyanın 5%-li təsirindən sonra alınan nəticələrlə müqayisədə etibarsız dərəcədə aşağı olmuşdur (Cədvəl 2).

Parallel olaraq, eyni zamanda ağ siçovulların erkən postnatal ontogenezdə (17- və 30-günlük) və cinsi yetkinlik zamanı (90-günlük) baş beyin müxtəlif strukturlarının toxuma, sitozol və mitoxondri subhüceyrə fraksiyalarında PK fermentinin fəallığının dəyişməsi aşkar olunmuş və öyrənilmişdir.

Cədvəl 3. Döl dövründə hipoksiyaya məruz qalmış ağ siçovulların baş beyin strukturlarının mitoxondri subfraksiyasında Piruvatkinaza fermentinin fəallığı ($1\mu\text{M}$ NADH / 1q təzə beyin toxumasından ayrılmış mitoxondri kütləsinə / 1dəq / 1mq zülalə, $\lambda=340\text{nm}$, 25°C , $M\pm m$, $n=6$)

Beyin strukturları	Göstəricilər	17 gün			30 gün			90 gün			
		kontrol		tecrübə	kontrol		tecrübə	kontrol		tecrübə	
		5%	10%	12%	5%	10%	12%	5%	10%	12%	
orbital qabıq	M	0,137	0,163	0,164	0,312	0,19	0,182	1,604	0,811	1,107	1,114
	$\pm m$	$\pm 0,01$	$\pm 0,011$	$\pm 0,013$	$\pm 0,016$	$\pm 0,017$	$\pm 0,017$	$\pm 0,11$	$\pm 0,07$	$\pm 0,911$	$\pm 0,961$
	p	-	-	-	*	*	*	-	***	-	-
hissi-hərəkət qabıq	M	0,099	0,075	0,23	0,327	0,31	0,29	1,030	0,516	0,723	0,734
	$\pm m$	$\pm 0,01$	$\pm 0,009$	$\pm 0,017$	$\pm 0,018$	$\pm 0,028$	$\pm 0,028$	$\pm 0,08$	$\pm 0,03$	$\pm 0,067$	$\pm 0,069$
	p	-	**	***	**	**	**	***	***	*	*
limbik qabıq	M	0,089	0,128	0,196	0,239	0,22	0,215	0,358	0,382	0,267	0,273
	$\pm m$	$\pm 0,01$	$\pm 0,01$	$\pm 0,016$	$\pm 0,017$	$\pm 0,03$	$\pm 0,018$	$\pm 0,02$	$\pm 0,03$	$\pm 0,019$	$\pm 0,021$
	p	*	**	**	**	**	**	-	-	*	*
hipotalamus	M	0,070	0,073	0,14	0,272	0,43	0,436	0,314	0,371	0,329	0,336
	$\pm m$	$\pm 0,01$	$\pm 0,008$	$\pm 0,012$	$\pm 0,013$	$\pm 0,017$	$\pm 0,038$	$\pm 0,02$	$\pm 0,02$	$\pm 0,026$	$\pm 0,029$
	p	-	**	**	***	*	*	-	-	-	-
beyincik	M	0,084	0,102	0,228	0,182	0,23	0,243	0,198	0,367	0,225	0,229
	$\pm m$	$\pm 0,01$	$\pm 0,009$	$\pm 0,014$	$\pm 0,016$	$\pm 0,021$	$\pm 0,022$	$\pm 0,02$	$\pm 0,02$	$\pm 0,017$	$\pm 0,018$
	p	-	***	***	***	*	**	***	***	-	-

Cədvəl 4. Döl dövründə hipoksiyaya məruz qalmış ağ siçovulların baş beyin strukturlarının sitozol subfraksiyasında Piruvatkinaza fermentinin fəallığı (1µM NADH / 1q təzə beyin toxumasından ayrılmış sitozol həcminə / 1dəq / 1mq zülalə, λ=340nm, 25°C, M±m, n=6)

Beyin strukturları	Göstəricilər	17 gün			30 gün			90 gün					
		kontrol	təcürbə		kontrol	təcürbə		kontrol	təcürbə				
			5%	10%		12%	5%		10%	12%	5%	10%	12%
orbital qabıq	M	0,107	0,524	0,388	0,361	0,374±	0,327	0,466	0,478	0,541	0,469	0,623	0,619
	±m	±0,01	±0,034	±0,027	±0,022	±0,03	±0,02	±0,038	±0,039	±0,04	±0,031	±0,052	±0,053
	p	***	***	***	***		-	-	-		-	-	-
hissi-hərəkət qabıq	M	0,118	0,503	0,317	0,284	0,420	0,361	0,464	0,483	0,793	0,582	0,861	0,873
	±m	±0,01	±0,044	±0,021	±0,024	±0,04	±0,023	±0,036	±0,037	±0,06	±0,041	±0,074	±0,077
	p	***	***	***	***		-	-	-		*	-	-
limbik qabıq	M	0,086	0,415	0,232	0,224	0,555	0,260	0,751	0,746	0,797	0,613	0,856	0,861
	±m	±0,006	±0,034	±0,019	±0,018	±0,04	±0,018	±0,069	±0,066	±0,06	±0,042	±0,071	±0,073
	p	***	***	***	***		***	*	*		*	-	-
hipotalamus	M	0,111	0,484	0,362	0,355	0,441	0,291	0,488	0,480	0,794	0,621	0,903	0,892
	±m	±0,01	±0,039	±0,027	±0,026	±0,03	±0,018	±0,039	±0,036	±0,07	±0,043	±0,082	±0,079
	p	***	***	***	***		***	-	-		-	-	-
beyincik	M	0,113	0,445	0,373	0,365	0,621	0,332	0,762	0,779	0,785	0,643	0,981	0,974
	±m	±0,01	±0,037	±0,029	±0,028	±0,04	±0,02	±0,067	±0,065	±0,08	±0,041	±0,086	±0,087
	p	***	***	***	***		***	-	-		-	-	-

Tədqiqatlar göstərdi ki, toxumada orbital qabıqda erkən postnatal ontogenezin 17-ci günündə PK-nın xüsusi fəallığı həm kontrol, həm də hipoksiyanın 5%-li təsirindən sonra artmışdır. Bu, daha qabarıq formada beyincikdə və hipotalamusda izlənilirdi – burada PK-nın fəallığı kontrola nisbətən təxminən 3 dəfə yüksək olmuş, dəqiqliklə desək, $0,391 \pm 0,403 \mu\text{M NADH/1 q t\acute{a}z\acute{e} \text{tox./1 d\acute{e}q. /1 mq z\acute{u}lala}$ müvafiq olaraq təşkil etmişdir ($p < 0,001$).

Döl dövründə 10% və 12% O_2 və müvafiq olaraq, 90% və 88% N_2 qaz qarışıqlarının təsirindən sonra hipoksiyaya məruz qaldıqdan sonra 30-günlük siçovulların orbital, hissi-hərəkəti, limbik qabıqlarının və hipotalamusun toxumasında PK fermentinin fəallığının dinamikasında identik mənzərə müşahidə olunur və 5%-li hipoksiyada alınan mənzərədən xeyli dərəcədə fərqlənir: burada orbital qabıqda və hipotalamusda kontrola nisbətən fermentin fəallığı 2-2,5 dəfə etibarlı dərəcədə yüksəlmişdir. Beyincikdə fermentin fəallığının göstəriciləri istisna təşkil etmişdir – burada 17-ci günün göstəriciləri kontrol ilə müqayisədə nisbətən aşağı düşmüşdür və $0,51 \mu\text{M NADH/1 q t\acute{a}z\acute{e} \text{tox./1 d\acute{e}q. /1 mq z\acute{u}lala}$ (54%) təşkil etmişdir ($p < 0,01$), postnatal dövrü uzandıqca isə (90-cı gün) kontrol səviyyəsinə çatmağa meyilli olmuşdur.

90-günlük siçovullarda PK-nın xüsusi fəallığı strukturlarda aşağı düşmüş ($p < 0,01$), orbital qabıqda isə, istisna olaraq əksinə, yüksəlmişdir.

Tədqiq olunan beyin strukturlarının mitoxondri subhüceyrə fraksiyalarında 17-günlük siçovullarda döl dövründə 10% və 12% O_2 və müvafiq olaraq, 90% və 88% N_2 qaz qarışıqlarının təsirindən sonra hipoksiyaya məruz qaldıqda, PK-nın fəallığı hər bir beyin strukturunda, (orbital qabıq göstəricilərini istisna etməklə - burada müsbət dinamika olsa da, kontrol göstəriciləri ilə fərq etibarsız idi), etibarlı dərəcədə kontrol göstəricilərindən yüksək olmuşdur ($< 0,01$; $< 0,001$).

Postnatal dövrü uzandıqca (30 və 90 günlərdə) orbital, hissi-hərəkəti, limbik qabıqlarda, hipotalamus və beyincikdə PK fermentinin fəallığının dinamikasında identik mənzərə müşahidə olunur ($< 0,01$; $< 0,001$). Hipoksiyanın 5% -li təsirindən sonra 90-cı gün üçün alınan göstəricilərlə müqayisədə beyin strukturlarında 10%-12%-li hipoksiyanın təsirindən sonra fermentin fəallığı nisbətən bərabər paylanmışdır. Hipoksiyanın səviyyəsindən asılı olmayaraq, 30- və 90-cı günlərdə ən yüksək göstəricilər beyincikdə olmuşdur (Cədvəl 3).

Postnatal ontogenezdə beyin strukturlarının sitozol subhüceyrə fraksiyalarında PK-nın fəallığının dəyişmə dinamikası identik mənzərə verir. Belə ki, 17 -ci gün fermentin fəallığı kontrola nisbətən 3-5 dəfə yüksəlir, 30-cu və 90-cı gün kontrol səviyyəyə enməsinin meyilliliyi aşkar olunmuşdur ($p < 0,05$).

PK fermentinin fəallığının dəyişmə dinamikasının yaş grupundan asılılığını ümumiləşdirib qeyd etmək olar ki, 17-günlük heyvanların beyin strukturlarının toxuma və subhüceyrə fraksiyalarında PK-nın fəallığı əsasən kontrola nisbətən təxminən 3-7 dəfə yüksəlmişdir.

30-günlük heyvanların öyrənilən strukturlarının toxumasında PK fermentinin yüksəlməsinə baxmayaraq, sitozol və mitoxondri subfraksiyalarında onun fəallığı 17-günlük heyvanlarla müqayisədə kəskin azalmışdır.

90-günlük heyvanların öyrənilən strukturlarının toxuma və mitoxondri səviyyələrində PK fermentinin fəallığı əsasən kontrola nisbətən yüksəlir və yalnız sitozolda kontrol səviyyəsinə enmək meylı olmuşdur (Cədvəl 4).

Yəni, hipoksiyanın təsirinə cavab olaraq postnatal dövrünün müddəti uzandıqca PK-fəallığının kontrol göstəricilərinə uyğun bərpa meyilliliyi müşahidə olunur.

Siçovulların baş beyininin müxtəlif strukturlarında zülalın ümumi miqdarının tədqiqi zamanı məlum olmuşdur ki, hipoksiyanın təsirindən sonra heyvanın yaşından asılı olaraq, zülalın miqdarının dinamikası eyni tipli dəyişmir. Təcrübələrdə hipoksiyanın nəticəsində 17- və 30-günlük siçovullarda zülalın səviyyəsinin enməsi baş verir və hətta 30-cu gün bu enmə maksimal göstəricisinə çatır. Lakin, 90-cı gün zülalın miqdarının orbital qabığının toxumasında 5,6 dəfəyədək kəskin artması müşahidə edilir. Yalnız, hissi-hərəkəti qabığın sitozol subfraksiyasında postnatal dövrü uzandıqca zülalın miqdarının kontrol səviyyəsinədək bərpası nisbətən zəif gedir – burada 90-cı günə onun miqdarı 42,3% təşkil etmişdir.

Beləliklə, PK-fəallığının hipoksiyanın təsirindən sonra yüksəlməsini, onun baş beyin strukturlarının sinir hüceyrələrində biosintetik və bioenergetik proseslərin tənzimi mexanizmində metabolik pozuntuların qarşısını almaq qabiliyyəti ilə izah etmək olar. Müqayisə etdukdə görürük ki, 10 və 12% hipoksiyanın təsirinə cavab olaraq postnatal inkişafın müddəti uzandıqca, PK-fəallığının kontrol göstəricilərinə uyğun bərpa meyilliliyi müşahidə olunur. Lakin, bu qismən 90-cı günə təsadüf edir.

Bunu da belə izah etmək olar ki, döl dövründə hipoksiyaya məruz qalmış analardan alınan balalarda postnatal dövrdə hipoksiyanın yaratdığı ağır və dayanıqlı uzunmüddətli fəsadlar mövcuddur və müşahidə olunur [14,15]. Yəni, təcrübə heyvanları özləri hipoksiyaya bilavasitə məruz qalmasalar da, PK-fermentinin fəallığında müşahidə olunan dəyişiklikləri analarından epigenetik və yaxud başqa üsul ilə alındığını güman etmək olar [16].

LDH fermentinin fəallığının hipoksiya zamanı dəyişməsinə gəldikdə, qeyd etmək lazımdır ki, beyin toxumasının aerob mübadiləyə meylı olmasına baxmayaraq, LDH qlikoliz prosesini anaerob şəraitində davam etdirən yeganə fermentdir. Yəni, ekstremal şəraitdə baş beyin toxumalarında

baş verən dəyişikliklərdə LDH-ın artmasını onun anaeroblaşması ilə izah etmək olar. Burada, LDH-ın izoferment spektrində anaerob fraksiyalarının artmasını nəzərdə tutmaq olar. Qeyd etmək vacibdir ki, LDH-reaksiyalarının sürət və istiqaməti, qlikolizin intensivliyi ilə üçkarbonlu turşuların tsiklində, qlikoneogenez reaksiyalarında və ya digər proseslərdə piruvatın istifadə sürəti arasında olan nisbətə göstəricisidir. Ona görə də, LDH-lı reaksiya hipoksiya zamanı baş beyin toxumalarında aerob və anaerob proseslər nisbətində baş verən dəyişikliklərdə marker sistem sayıla bilər.

Digər tərəfdən, döl dövründə hipoksiyanın mənfi təsiri qlikolizdə öz neqativ fəsadları ilə yekunlaşır. Güman etmək olar ki, bir sıra qlikolitik fermentləri kodlaşdıran DNT zəncirində zədələnmə baş verir [17,18]. Əgər, bu mülahizə doğru olarsa, o zaman əmələ gəlmiş fəsadlar dönməz olmalıdır. Bizim tədqiqatlarda, ümumiyyətlə, hipoksiyanın təsirinə cavab olaraq postnatal dövrün müddəti uzandıqca, 90 gün keçəndən sonra belə laktatdehidrogenazın fəallığının kontrol göstəricilərinə uyğun bərpası, demək olar ki, qismən müşahidə olunur.

Aparılan tədqiqatların nəticələri göstərir ki, prenatal ontogenezin döl dövründə 10% və 12% O₂ və müvafiq olaraq, 90% və 88% N₂ qaz qarışıqlarının təsirindən sonra hipoksiyaya məruz qalmış ağ siçovulların erkən postnatal ontogenezdə və cinsi yetkinlik dövründə baş beyin müxtəlif strukturlarının (limbik, hissi-hərəkət, orbital qabıqlarında, hipotalamus və beyincikdə) toxuma və subhüceyrə fraksiyalarında LDH və PK fermentlərinin fəallığının dinamikasında əsaslı dəyişikliklər baş verir. Bu dəyişikliklər heyvanın postnatal dövrünün inkişaf mərhələsindən, yəni yaşından, tətbiq olunan baş beyin strukturundan, subhüceyrə fraksiyalarından və s. müəyyən qədər asılıdır. Alınan faktiki məlumatlar neyrokimya sahəsinə yeni informasiya verə bilər.

Nəticələr

1. İlk dəfə olaraq baş beyin strukturlarında: orbital, hissi-hərəkət, limbik qabıqlarının, hipotalamus və beyinciğin toxuma, mitoxondri və sitozol subhüceyrə fraksiyalarında prenatal ontogenezin döl dövründə müxtəlif səviyyəli hipoksiyanın təsiri şəraitində LDH-nın və PK-nın fəallığının dəyişmə dinamikasında məlumatlar əldə edilmişdir. Prenatal ontogenezin döl dövründə hipoksiyaya məruz qalmış ağ siçovulların erkən postnatal ontogenezdə və cinsi yetkinlik dövründə baş beyin strukturlarının LDH- və PK- fermentlərinin fəallığının dəyişməsinə müqayisə etdikdə, hipoksiyanın təsirinə cavab olaraq postnatal dövrünün müddəti uzandıqca bu fermentlərin kontrol göstəricilərinə uyğun qismən bərpası müşahidə olunur.

2. Təcrübə heyvanları özləri bilavasitə hipoksiyaya məruz qalmasalar da, müşahidə etdiyimiz dəyişiklikləri analarından epigenetik və yaxud başqa

üsul ilə alındığı sübut olunur. LDH- və PK-nın fəallığının hipoksiya zamanı yüksəlməsini, onların baş beyin strukturlarının sinir hüceyrələrində biosintetik və bioenergetik proseslərin tənzimi mexanizmində metabolik pozuntuların qarşısını almaq qabiliyyəti iləvə adaptiv- kompensatormexanizmlərinin fəaliyyəti ilə izah etmək olar.

Ədəbiyyat siyahısı:

1. Трофимова Л.К., Граф А.В., Маслова М.В. и др. Поведение половозрелых белых крыс, подвергнутых антенатальной прерывистой гипоксии в период раннего онтогенеза: гендерные отличия. Изв. Рос. Академии Наук, сер. Биологическая, 2010, № 1, с. 54-59.
2. Граф А.В., Маклакова А.С., Маслова М.В. и др. Влияние пренатальной гипоксии, проведенной на стадии органогенеза, на поведение белых крыс в постнатальном периоде. Изв. РАН, сер. Биологическая, 2006, № 4, с. 476-481.
3. Граф А.В., Гончаренко Е.Н., Соколова Н.А. и др. Антенатальная гипоксия: участие в развитии патологий ЦНС в онтогенезе. 2008, т.25, № 1-2, с.11-16.
4. Рашидова А.М. Пренатальная гипоксия и активность пируваткиназы структур головного мозга белых крыс в постнатальном онтогенезе. Сборник трудов Всероссийской научной конференции с международным участием «Свободные радикалы, антиоксиданты и старение», Россия, Астрахань, 2-3 ноября 2016, с.88-90.
5. Бабазаде С.Н. Влияние хронической гипоксии, перенесенной во время зачатия, на активность гексокиназы в различных участках головного мозга белых крыс в постнатальном онтогенезе. Тр. Института Физиологии им. А.И. Караева и общества физиологов Азербайджана «Проблемы физиологии и биохимии», Баку, 2012, т. XXX, с.177-180.
6. Luc Pellerin and Pierre J. Magistretti How to balance the brain energy budget while spending glucose differently. J. Physiology, 2003, 546, 2, p.325
7. Rashidova A.M., Babazadeh S.N., Mamedkhanova V.V., Abiyeva E.Sh.. "Prenatal hypoxia and dynamics of changes in the activity of some enzymes of energy metabolism in brain structures". "Sylwan Journal", Poland, 2017, Vol.161, N 8, p.199-214.
8. Mazurek S., Zwerschke W., Jansen-Dürr P. et al. Effects of the human papilloma virus HPV-16 E7 oncoprotein on glycolysis and glutaminolysis: role of pyruvate kinase type M2 and the glycolytic-enzyme complex. Biochemical Journal, 2001, v.356, p.247-256.
9. Chinopoulos C., Zhang S.F., Thomas B., Ten V., Starkov A.A. Isolation and functional assessment of mitochondria from small amounts of mouse brain tissues// Methods Mol. Biol., 2011, v.793, p.311-324.
10. Прохорова М.И. Кн. Методы биохимических исследований. Изд-во С.-П. Унив., 1982, с. 29-43.

11. H.U. Bergmeyer, *Methods of Enzymatic Analysis*, Verlag Chemie, Weinheim, 1973, p.121-122; 154-155.
12. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии, М., 1980, «Высшая школа», 224.
13. Лакин Г.Ф. «Биометрия», М., «Наука», 1990, 352 с.
14. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы гипоксии. //Вест.РАМН, 2000, №9, с.3-12.
15. Меерсон Ф.З. Адаптационная медицина: концепция долговременной адаптации. М.Дело, 1993, 138 с.
16. Журавин И.А., Туманова Н.Л., Васильев Д.С. Изменение адаптивных механизмов мозга в онтогенезе крыс, перенесших пренатальную гипоксию. Доклады Академии наук. 2009, т.425, №1, с.123-125.
17. Анохина Е.Б., Буравкова Л.Б. Механизмы регуляции транскрипционного фактора HIF при гипоксии. (Обзор) ж.Биохимия, 2010, т.75, с. 185-195.
18. Semenza G.L., et al. Transkriptional regulation of genes encoding glycolytic enzymes by hypoxia-inducible factor 1. *Journal of Experimental Biology*. 2006, v.209. p.3851-3861.

Резюме

Влияние различных уровней гипоксии в плодном периоде на активность лактатдегидрогеназы и пируваткиназы структур головного мозга

А.М.Рашидова

Изучалось влияние различных уровней гипоксии в плодном периоде развития на деятельность мозга и как составная часть на особенности компенсаторно-адаптивных реакций в постнатальном онтогенезе. Впервые была изучена сравнительная динамика изменения активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и пируваткиназы (ПК) в 5-и структурах головного мозга 17-, 30- и 90- дневных нелинейных белых крыс в 4-х экспериментальных условиях.

Были обнаружены изменения в динамике активности ферментов ЛДГ и ПК. Полученные данные, содействуя объяснению адаптационных особенностей ферментов, также способствуют выдвижению предположения относительно энергетического обмена в гликолитическом цикле мозга в целом при гипоксии.

Summary

Effect of Different Levels of Hypoxia in the Fetus Period of Prenatal Development on Lactate Dehydrogenase and Pyruvate Kinase Activities in Brain Structures

A.M.Rashidova

The effect of different levels of hypoxia in the fetus period of development on brain activity and as an integral part on the compensatory- adaptive reactions in postnatal ontogenesis has been studied. For the first time changes in the comparative dynamics in lactate dehydrogenase (LDH) and pyruvate kinase (PK) activities in five brain structures of 17-, 30- and 90-day unilinear white rats under 4 experimental conditions has been studied.

It was revealed changes in the dynamics of LDH and PK activity. In addition to the contribution to the explanation of adaptive features of the enzymes these data aids a supposition relatively energy metabolism in brain glycolytic cycle to be put forward as a whole in hypoxia.