

HİPOKSİK PREKONDİSIONLAŞMANIN PRENATAL HİPOKSIYA OLMUŞ AĞ SIÇOVULLARIN BAŞ BEYNİNDƏ PİRUVATKİNAZANIN FƏALLIĞINA TƏSİRİ

RƏŞİDOVA A.M.

AMEA-nın Akademik Abdulla Qarayev adına Fiziologiya İnstitutu

afag.rashidova@gmail.com

Abstract: Pyruvate kinase activity was determined in a comparative aspect at 17, 30, and 90 days of postnatal development in the brain structures of white rat that were prenatally exposed to preconditioned hypoxia, then to 5% hypoxia. With the prolongation of postnatal development period, the restoration of the enzyme activity to the control level did not take place in response to hypoxia. The PK-activity turned out to be several times lower than the indices of the exposure to only 5% of hypoxia and higher the control level ones. One can assume that application of preconditioning hypoxia played the role of a protector in the energy metabolism of the brain in hypoxia.

Keywords: *Pyruvate kinase (PK), white rat, prenatal ontogenesis, brain structures, hypoxic preconditioning, hypoxia, energy metabolism.*

GİRİŞ

Orqanizmin işemik və hipoksik tolerantlığının formalaşdırılması üsulu kimi prekondisionlaşma ön şərt kimi tibb sahəsində perspektivli bir elmi istiqamətdir. Effektiv prekondisionlaşma sxemlərinin hazırlanması, hipoksiya və işemiya genezli bir çox xəstəliklərin qarşısının alınmasını və müalicəsini əhəmiyyətli dərəcədə yaxşılaşdırma bilər [1].

Hipoksiya geniş yayılmış və kliniki baxımdan ciddi stres faktorlara aiddir. Prenatal hipoksiyanın patogenezdə hüceyrə membranlarının struktur-funksional təmliyyətinin pozulması mühüm rol oynayaraq, mərkəzi sinir sisteminin (MSS) fəaliyyətinə təsir edir[2]. Bununla bərabər, MSS-in energetik mübadiləsində də böyük dəyişikliklər baş verir [3]. Oksigenin xeyli hissəsi baş beyində gedən biokimyəvi reaksiyalarda istifadə olunur və buna görə də baş beyin hipoksiyaya çox həssasdır. Məlumdur ki, oksigenin azlığı hüceyrələrdə gedən 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 beynin tələblərinin təmin edilməsinə və saxlanılmasına yönəldilməlidir. Baş beyin bir sıra enerji mübadiləsi fermentlərinin, o cümlədən qlikolitik siklin fermenti olan piruvatkinazanın (PK; ATP: pyruvate phosphotransferase, EK 2.7.1.40) fəallığının kəskin prenatal hipoksiya zamanı prenatal ontogenezdə dəyişmə dinamikasını öyrənmək məqsədə uyğun olardı [4]. Bu fermentlərin çatışmazlığı, əsasən, enerjiasılı prosesləri pozmaqla, orqanizmi patoloji vəziyyətə gətirib çıxarır [5, 6].

Bütün bunları nəzərə alaraq, hipoksik prekondisionlaşma beynin reperfüzion zədələmələrində profilaktik bir yanaşma üsulu kimi hesab oluna bilər. Baxmayaraq ki, baş beyin, əlxüsüs inkişaf edən beyin, oksigen çatışmazlığına, yəni hipoksiyaya çox həssasdır, ədəbiyyat mənbələrində erkən hipoksik prekondisionlaşmanın neyroprotektor effekti haqqında eksperimental dəlillər, demək olar ki, yox dərəcədədir. Bunu nəzərə alaraq, belə bir fikir irəli sürmək olar ki, hipoksiyanın fəsadları onun səviyyəsindən və orqanizmin inkişaf dövründən asılıdır və hipoksik prekondisionlaşma üsulunun istifadəsi müəyyən protektor rolunu reallaşdırma bilər.

TƏDQIQATIN MATERIALLARI VƏ METODLARI

Hipoksik prekondisionlaşma fenomeninin mümkün inkişaf mexanizmlərini reallaşma və həyata keçirmək yollarını təhlil etmək işin məqsədinə təşkil etmişdir. Bununla bağlı prenatal inkişafın döl

önü dövründə (orqanogenez dövründə) 15%-li oksigen və, müvafiq olaraq, 85% -li azot qaz qarışıqlarının vasitəsi ilə bətdaxili ön şərt kimi hipoksik prekondisionlaşma 7 gün ərzində istifadə olunmuşdur. Sonra isə prenatal inkişafın döl dövründə (17-21 gün) 5%-li oksigen, müvafiq olaraq, 95%-li azot qaz qarışığının təsiri vasitəsi ilə hipoksiyaya məruz qalmış ağ siçovulların erkən postnatal ontogenezdə (17 və 30 gün) və cinsi yetkinlik dövründə (90 gün) baş beyinin müxtəlif strukturlarının sitozol və mitoxondri səviyyəsində PK fermentinin fəallığının dinamikasını aşkar etmək və öyrənmək məqsəd qoyulmuşdur.

Təcrübələr zamanı Azərbaycan Milli Elmlər Akademiyasının lokal bioetika komitəsinin nəzarəti altında Avropa Birliyi Şurasının Direktivində (86/609 / ABŞ) göstərilən onurğalı təcrübə heyvanlara qarşı bioetik normativlərə riayət olunmuş və eksperimentlər bu sənədlər əsasında 3 yaş dövrünə aid (17-, 30- və 90-günlük) ağ siçovulların baş beyin strukturlarının subhüceyrədaxili kompartmentlərində aparılmışdır [7]. Kontrol kimi vivarium şəraitində saxlanılmış və hipoksiyaya məruz qalmamış eyni yaşda olan heyvanlar istifadə olunmuşdur. Baş beyindən differensə olunmuş hipotalamus, beyincik, hissi-hərəkəti, orbital və limbik qabıqlarının subhüceyrə fraksiyalarında PK fermentinin fəallığı Berqmeyer H.U. (Methods of Enzymatic Analysis, Verlag Chemie, Weinheim, 1973, p. 154-155), ümumi zülalın miqdarı isə Bredford üsulu ilə təyin olunmuşdur.

TƏDQIQATIN NƏTİCƏLƏRİ VƏ ONLARIN MÜZAKİRƏSİ

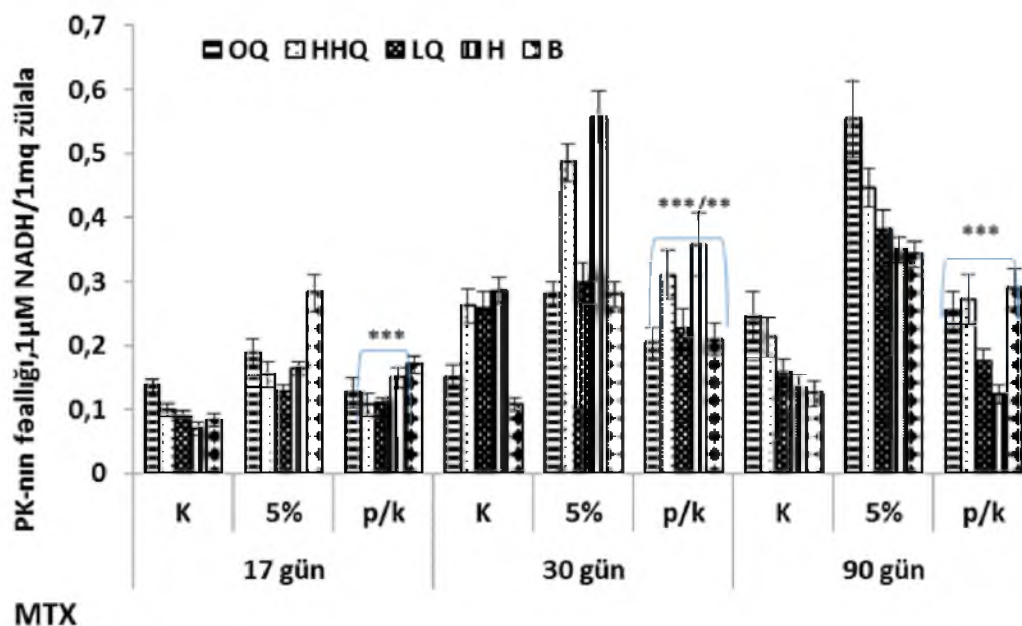
Bətdaxili ön şərt kimi hipoksik prekondisionlaşma, sonra isə kəskin 5%-li hipoksiyaya məruz qalmış ağ siçovullarda erkən postnatal ontogenezdə (17- və 30-günlük) və cinsi yetkinlik dövrlərində (90-günlük) baş beyin müxtəlif strukturlarının sitozol və mitoxondri subhüceyrə səviyyələrində PK fermentinin fəallığının dəyişməsi aşkar olunmuş və öyrənilmişdir.

Mitoxondri səviyyəsində aparılan eksperimentlərdə erkən postnatal ontogenezin 17-ci günündə PK-nın xüsusi fəallığı hipotalamus və beyincikdə kontrol göstəriciləri ilə müqayisədə yüksəlmiş ($p < 0,05$; $< 0,01$), yalnız kəskin 5%-li hipoksiyadan sonra alınan nəticələrdən isə kəskin dərəcədə fərqlənərək azalmışdır. Digər beyin strukturlarında fermentin fəallığında yüksəliş cüzi olmuşdur. Postnatal ontogenezin 30-cu günündə yalnız 5%-li hipoksiyadan sonra alınan göstəriciləri ilə müqayisədə PK-nın fəallığı qabıq nahiyələrdə (orbital, hissi-hərəkəti və limbik qabıqlarda) etibarlı dərəcədə azalmış ($< 0,001$) və kontrol səviyyəsinə yaxınlaşmışdır, yəni kontrol göstəriciləri ilə müqayisədə bu fərq nisbi olmuşdur ($< 0,05$). Qeyd etmək lazımdır ki, PK-ın aktivliyi heyvanın yaşı artdıqca kontrola və yalnız 5%-li hipoksiyaya nisbətən tədqiq olunan baş beyin strukturlarında etibarlı dərəcədə dəyişirdi. Bu 90-cı gün üçün fermentin fəallığının nəticələrindən görünür ($p < 0,01$; $< 0,001$) (Şəkil 1).

Beyin nahiyələrinin sitozol subhüceyrə fraksiyalarında PK-nın fəallığının yaşıdan və nahiyədən asılı olaraq dəyişmə dinamikası postnatal ontogenezdə izlənilir (Şəkil 2). Belə ki, 17-ci gün fermentin fəallığı kontrola ilə müqayisədə yenə də hipotalamusda və beyincikdə etibarlı dərəcədə yüksəlmişdir ($p < 0,01$). Postnatal ontogenezin 30-cu günündə PK-nın fəallığı kontrol göstəricilərindən 1.5 dəfə yüksək olduqda, yalnız 5%-li hipoksiyanın göstəriciləri ilə müqayisədə qabıq nahiyələrində bir qədər mülayim azalma müşahidə olunurdu ($< 0,01$). Eyni dinamikanı postnatal ontogenezin 90-cı günündə də izləmək olar. Lakin burada PK fermentinin fəallığının göstəriciləri həm kontrolda, həm də ki 5%-li hipoksiyanın təsirindən sonra yaşca erkən ağ siçovul qruplarından olan göstəricilərdən nisbətən yüksək olmuşdur. Fermentin ən yüksək fəallığı beyincikdə ($< 0,001$), sonra isə hissi-hərəkəti və limbik qabıqlarda ($< 0,01$) alınmışdır. Orbital qabıqda dəyişikliklər nisbətən mülayim ($< 0,05$), hipotalamusda isə kontroldan cüzi dərəcədə aşağı olmuşdur (Şəkil 2).

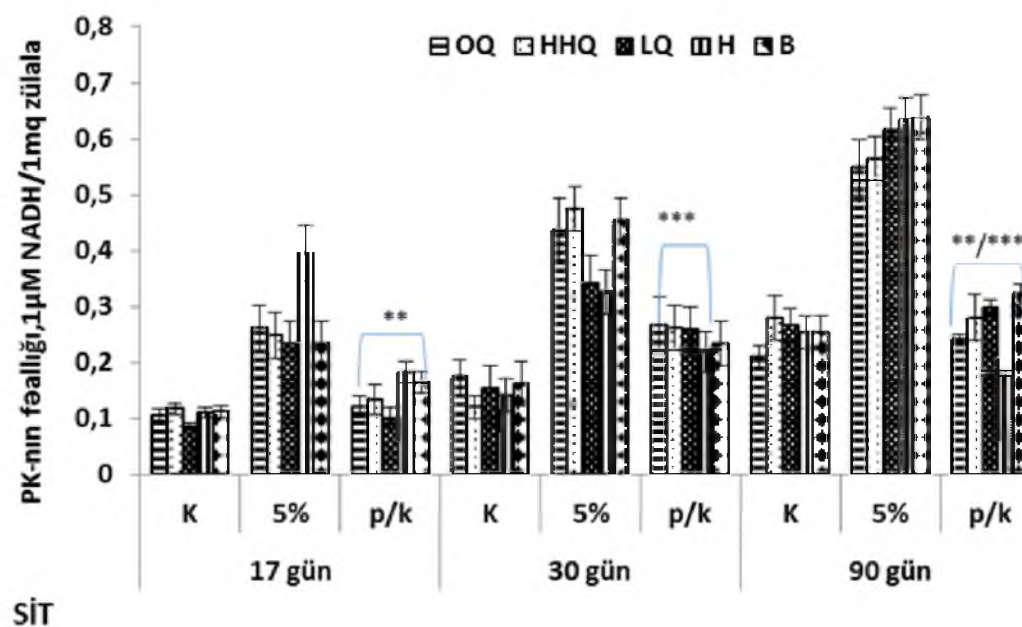
Müqayisə etdikdə, aparılan tədqiqatların nəticələri göstərir ki, hipoksiyanın təsirinə cavab olaraq postnatal dövrünün müddəti uzadıldıqca PK fermentinin fəallığının kontrol göstəricilərinə uyğun bərpası olunmur, hətta o, kontrol qrup heyvanların göstəricilərdən bir neçə dəfə yüksək, yalnız kəskin 5%-li hipoksiyanın təsirindən sonra isə alınan göstəricilərdən fərqli olaraq aşağı olmuşdur. Fərz etmək olar ki, hipoksik prekondisionlaşma üsulunun istifadəsi baş beyində gedən energetik mübadilədə müəyyən protektor rolunu reallaşıdır bilmişdir [1]. Digər tərəfdən, bətdaxili hipoksiyaya məruz qalmış balalarda postnatal dövrdə onun (yəni, hipoksiyanın) yaratdığı ağır və dayanıqlı uzunmüddətli fəsadlar mövcuddur və müşahidə olunur [8]. Yəni, təcrübə heyvanları özləri hipoksiyaya bilavasitə

məruz qalmasalarda, PK-fermentinin fəallığında müşahidə olunan dəyişiklikləri analarından epigenetik, və yaxud başqa üsul ilə alındığını güman etmək olar[9].



Şəkil 1. Orqanogenez dövründə 15%-li hipoksik prekondisionlaşmadan sonra 5%-li hipoksiyaya məruz qalmış ağ siçovulların erkən postnatal ontogenezdə və cinsi yetkinlik dövründə baş beyin strukturlarının mitoxondri subhüceyrə fraksiyasında piruvatkinazanın fəallığı ($p < 0,01$; $< 0,001$).

Qeyd:burada və sonra: 1) OQ – orbital qabıq; HHQ- hissi-hərəkəti qabıq; LQ- limbik qabıq; H- hipotalamus; B- beyincik; 2) * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ kontrol göstəricilərinə nisbətən etibarlıq meyarı; 3) K- kontrol, p/k – hipoksik prekondisionlaşma.



Şəkil 2. Orqanogenez dövründə 15%-li hipoksik prekondisionlaşmadan sonra 5%-li hipoksiyaya məruz qalmış ağ siçovulların erkən postnatal ontogenezdə və cinsi yetkinlik dövründə baş beyin strukturlarının sitozol subhüceyrə fraksiyasında piruvatkinazanın fəallığı ($p < 0,01$; $< 0,001$).

Ümumiyyətlə, orqanogenez dövründə hipoksiyanın mənfi təsiri qlikolizdə öz neqativ fəsadları ilə yekunlaşır. Güman etmək olar ki, bir sıra qlikolitik fermentləri kodlaşdıran DNT zəncirinin

sahələrində zədələnmə baş verir [10]. Əgər bu mülahizə doğru olarsa, əmələ gəlmiş fəsadlar dönməz olmalıdı. Bizim tədqiqatlarda hipoksiyanın təsirinə cavab olaraq postnatal dövrün müddəti uzadıldıqca, 90 gün belə keçəndən sonra PK-nın fəallığının kontrol göstəricilərinə uyğun bərpası müşahidə olunmadı.

NƏTİCƏLƏR

1) Ağ siçovulları bətn daxili ön şərt kimi 7 gün ərzində hipoksik prekondisionlaşma və sonra 5 gün ərzində 5%-li hipoksiyaya məruz etdikdən sonra postnatal ontogenezdə onların baş beyin nahiyyələrində PK-nın fəallığının kontrol göstəricilərinə uyğun bərpası olunmur.

2) Baş beyin nahiyyələrində PK fermentinin fəallığının dəyişməsinə müqayisə etdikdə, hipoksiyanın təsirinə cavab olaraq postnatal dövrünün müddəti uzadıldıqca fermentin fəallığı kontrol göstəricilərdən yüksək, və yalnız 5%-li hipoksiyanın təsirindən sonra alınan göstəricilərdən isə bir neçə dəfə aşağı olmuşdur. Fərz etmək olar ki, hipoksik prekondisionlaşma üsulunun istifadəsi baş beyində müəyyən protektor rolunu reallaşdırma bilmişdir.

3) Təcrübə heyvanları özləri bilavasitə hipoksiyaya məruz qalmasalarda, müşahidə etdiyimiz dəyişiklikləri analarından epigenetik, və yaxud başqa üsul ilə alındığı sübuta yetir. PK-nın hipoksiya təsirindən sonra yüksəlməsini onun baş beyin strukturlarının sinir hüceyrələrində biosintetik və bioenergetik proseslərin tənzimi mexanizmində metabolik pozuntuların qarşısını almaq qabiliyyəti ilə izah etmək olar.

ƏDƏBİYYAT

1. Новиков В.Е., Левченкова О.С., Пожилова Е.В. Прекондиционирование как способ метаболической адаптации организма к состояниям гипоксии и ишемии // Вестник Смоленской государственной медицинской академии, 2018, т. 17, №1, с. 69-79.
2. Иванов К.П. Гипоксия мозга и роль активных форм кислорода и недостатка энергии в дегенерации нейронов // Успехи физиологических наук, 2012, т. 43, № 1, с. 95-110.
3. Wang Y., Zhong Sh., Christopher J., Schofield C. J., Ratcliffe P.J., Lu X. Nuclear entry and export of HIF-1α are mediated by HIF-1α and exportin, respectively // J Cell Sci. 2018, 131 (22): jcs219782. <https://doi.org/10.1242/jcs.219782>
4. Pellerin L., Magistretti P.J. How to balance the brain energy budget while spending glucose differently // J. Physiology, 2003, 546, 2, p. 325.
5. Li A.G., Murphy E.C., Culhane A.C., Powell E., Wang H., Bronson R.T., Von T., Giobbie-Hurder A., Gelman R.S., Briggs K.J., Piwnicka-Worms H., Zhao J.J., Kung A.L., Kaelin W.G., Livingston D.M. BRCA1-IRIS promotes human tumor progression through PTEN blockade and HIF-1α activation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2018, 115 (41): E9600-E9609. DOI: 10.1073/pnas.1807112115.
6. Rashidova A.M. Differential effects of decimetric electromagnetic microwaves on pyruvate kinase activity in the rat brain during ontogenesis // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology, 2021, V. 57, №2, p. 241–251. DOI: 10.1134/S002209302102006X
7. Chinopoulos C., Zhang S.F., Thomas B., Ten V., Starkov A.A. Isolation and functional assessment of mitochondria from small amounts of mouse brain tissue // *Methods Mol Biol.* 2011. V. 793. P. 311-324. DOI: 10.1007/978-1-61779-328-8_20
8. Граф А.В., Гончаренко Е.Н., Соколова Н.А. и др. Антенатальная гипоксия: участие в развитии патологий ЦНС в онтогенезе // Нейрохимия. 2008, т. 25, № 1-2, с. 11-16.
9. 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.
10. Semenza G.L. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine // Cell. 2012. V. 148 № 3, P. 399-408.