

AZ-ZÜLALLI QIDA RASIONLU AĞ LABORATOR SIÇOVULLARDA KƏSKİN SƏS QICIĞINDAN SONRA BAŞ BEYİN PREFRONTAL QABIQ NEYRONLARININ MORFOLOJİ XÜSUSİYYƏTLƏRİ

SULTANLI M.E.

*AMEA akademik Abdulla Qarayev adına Fiziologiya İnstitutu
msultanli80@gmail.com*

Abstract: It was found that acute sound stress causes changes in the structure and size of PFC neurons in white laboratory rats; some of the revealed changes remain even 40 days after exposure. The most severe microscopic disorders are observed in the components of the microsystem of neuronal protein synthesis, which is manifested in structural and quantitative changes in the nucleus and cytoplasmic substance of Nissl. It was found that protein deficiency in the food of white laboratory rats slows down the recovery of neurons in the prefrontal cortex after acute audio genic stress, while some structural microscopic changes become decompensated.

GİRİŞ

Az-zülallı qida rasionlu ağ laborator siçovullarda 120 saniyə müddətində 120 db intensivlikdə fasiləsiz zəng təsirindən 20 və 40 gün sonra baş beyin prefrontal qabıq neyronları histoloji öyrənilmişdir. Aydın olmuşdur ki, kəskin audiogen stress heyvanlarda prefrontal qabıq neyronları quruluşunda və ölçülərində dəyişikliklər törədir. Kəskin audiogen stressdən həttə 40 gün sonra prefrontal qabıq neyronları zülal sintezi mikrosisteminin tərkib hissələrində quruluş pozulmaları qalmaqdadır ki, bu da özünü nüvəciklərin və sitoplazmatik Nissl substansiyasının struktur və kəmiyyət dəyişikliklərində göstərir. Ağ laborator siçovulların qida rasionunda zülal çatmamazlığı kəskin audiogen stressdən sonra prefrontal qabıq neyronlarında bərpa proseslərinin ləngiməsinə, bəzi mikroskopik struktur dəyişikliklərinin isə dekompensator xarakter almasına səbəb olur.

Baş beyin prefrontal (fronto-orbital) qabığı məməlilərin müxtəlif nümayəndələrində davranışı, yaddaşı, sensosomatik funksiyaları nizamlayan mühüm quruluşlara aiddir [1, 2]. Mərkəzi sinir sisteminin stressə cavab və adaptasiya mexanizmlərində prefrontal qabığın vacib rolu barədə silsilə kompleks tədqiqatlar aparılmışdır [2, 3]. Ancaq stressə məruz qalan heyvanların qida rasionunda zülalların çatmamazlığı şəraitində kəskin stress qıcığından sonra qeyd edilən nahiyyənin neyronlarında morfoloji dəyişikliklərin dinamikası, stressə adaptasiya gedişində bərpanın morfoloji təzahürləri faktik olaraq öyrənilməmiş qalır. Bu, xüsusən də, az-zülallı qida rasionlu ağ laborator siçovullarda kəskin səs qıcığı ilə şərtlənmiş stressə aiddir. Fikrimizcə, neyronların audiogen stressdən sonrakı bərpa və uyğunlaşma reaksiyalarına, stressogen faktor ilə bərabər, hüceyrə-toxuma plastikliyində mühüm əhəmiyyətli proteinlərin çatmamazlığı da təsir göstərə bilər.

Qidada zülal çatmamazlığı şəraitində kəskin səs qıcığından sonra stressə davamlı və stressə davamsız ağ laborator siçovulların prefrontal beyin qabığı neyronlarında morfoloji dəyişiklikləri dinamikada müqayisəli işiq-mikroskopik öyrənmək olmuşdur.

MATERIALLAR VƏ METODLAR

Tədqiqatın hazırkı fraqmenti 30 baş 150,0-200,0 qr çəkili cinsi-yetkin erkək ağ siçovul üzərində icra edilmişdir. Bunlardan 6 siçovulda yalnız "intakt" göstəricilər təyin olunmuşdur ("norma"). Digər 24 heyvan isə eksperimentə daxil edilmişdir. Heyvanlar xüsusi kamerada 120 saniyə müddətində qıcıqlandırıcı faktor kimi 120 db intensivlikdə fasiləsiz zəng təsirinə məruz qalmışdır. Stress faktoru seçimində siçovullarda beyin qabığına audiogen patoloji təsirlərə dair mənbələr əsas götürülmüşdür [4]. Qıcıqlandırmadan sonra həmin 24 heyvanın 8-i "stressə davamlı", 16-sı isə - "stressə davamsız" kimi qiymətləndirilmişdir. Stressə davamlılıq dərəcəsinin təyində laborator praktikada qəbul olunmuş bir sıra davranış göstəriciləri əsas götürülmüşdür: - qıcolmalar; qəfəsin qaranlıq hissəsində

davamlı gizlənmə; - hərəkətsizlik müddətinin kəskin artması; - dikdurma sayının və baş-boyun çevrilmələrinin kəskin azalması; qəfəsin mərkəzindən keçidlərin minimuma düşməsi [4].

Bundan sonra eksperiment heyvanları hər birində 12 ədəd olmaqla 2 qrupa bölünmüşdür:

“Müqayisə qrupu: 4 – “stressə davamlı” və 8 – “stressə davamsız”. Bu qrupdakı siçovullar M. Nikinorov et al. [5] təklif etdiyi resept üzrə hazırlanmış xüsusi tərkibli zülallarla zəngin qida ilə eksperimentin sonuna, yəni 40-cı günə qədər yemlənirilmişdir. “Müqayisə qrupu” heyvanlarının yem rasionunun tərkibi aşağıdakı kimi olmuşdur (cədvəl 1).

Cədvəl 1.

“Müqayisə qrupu” ağ siçovullarının qida rasionunun tərkibi

Qida rasionu inqrediyentləri (“zülallı qida”)	Miqdar
Kazein	20,0 qr
Niştasta	65,0 qr
Bitki yağı	5,0 ml
Sellüloza	5,0 qr
Vitamin qarışığı	1,0 qr
Duz (NaCl)	0,4 qr

Qeyd: Yem heyvanın 100,0 qr çəkisinə əsasən hazırlanmışdır. İçməli su məhdidiyyəti olmamışdır.

- “Əsas qrup”: 4 – “stressə davamlı”; 8 – “stressə davamsız”. Bu qrupun heyvanlarında qida rasionundan zülalların 80,0%-i (heyvanın hər 100,0 qr çəkisinə 16,0 qr kazein) çıxarılaraq niştasta və sellüloza ilə əvəzlənmişdir. Əsas qrup heyvanlarına eksperimentin sonuna – 40-cı günə qədər - göstərilən tərkibli az-zülallı yem verilmişdir.

Xüsusi vurğulayırıq ki, maye deprivasiyasının qarşısını almaq üçün təcrübələrə alınmış heyvanların hamısı daimi olaraq içməli su ilə təmin edilmişdir.

Müqayisə və əsas qrup heyvanları eksperimentin 20-ci və 40-cı günlərində massiv hava embolu yaratmaqla cansızlaşdırılmışdır. Material götürülərkən onurğalı təcrübə heyvanları ilə davranış qaydalarına dair Avropa Birliyi Konvensiyasının müvafiq tələblərinə ciddi riayət edilmişdir [6].

Baş beyin prefrontal nahiyəsinin tərkib hissələrinin təyində siçovul beyni stereotaksik koordinatları əsas götürülmüşdür [7]. Sağ və sol yarımkürələrdən kəsilərək alınmış prefrontal qabıq hissələri işıq-mikroskopik tədqiqat üçün 4,0%-li biferləşdirilmiş neytral formalində, 96,0%-li spirtə və Karnua məhlulunda ən azı 36 saat fiksə edilmişdir. Müvafiq parafin bloklarından hazırlanmış 3,0-5,0 mkm qalınlıqlı kəsiklər aşağıdakı boyaqqlar ilə boyanmışdır: hematoksilin-eozin, pikrofuksin, 0,05%-li tionin-asetat, 0,1%-li toluidin abısı, 0,1%-li metilen abısı, Nissl üsulu ilə metilen göyü və Golgi üsulu ilə gümüşləmə [8]. Hazırlanmış preparatlar “Axio Scope A14” (“Carl Zeiss”) işıq mikroskopunda təhlil olunmuşdur. Ağ siçovulda prefrontal qabıqda daha dəqiq seçilən II (submolekulyar; xarici dənəvər) qatda neyronların sitoplazmasının, nüvəsinin, nüvəciklərin sahəsi (mkm²), həmçinin neyrop plazmada bazofil maddənin (Nissl substansiyasının, tiqroid maddənin) parçalanma (xromatoliz) intensivliyi öyrənilmişdir. Ölçmələr və saymalar “Axio Scope A14” mikroskopuna bağlı “AxioCam ERc5s” videokamerasında icra edilmiş, kəmiyyət analizləri isə “Morphology” və “Biostatistica-6,0” proqramları paketi ilə aparılmışdır.

Xromatoliz intensivliyi 4 ballıq şkalada “şerti vahid” ilə qiymətləndirilmişdir: 0,0 – yoxdur; 1,0 ş.v. – zəif (sitoplazmanın 25,0%-dən azı); 2,0 ş.v. – orta (sitoplazmanın 25,0-50,0%-i); 3,0 ş.v. – yüksək (sitoplazmanın 50,0-75,0%-i); 4,0 ş.v. – çox yüksək (sitoplazmanın 75,0%-dən çoxu).

Xüsusi vurğulayırıq ki, hər bir parametrl üçün orta riyazi qiymət və onun orta xətası ($X \pm s_x$) hesablanısa da, tədqiqatın hazırkı mərhələsində qruplarda heyvanların sayının azlığını nəzərə alaraq, dinamikada yaranmış fərqlərin statistik etibarlılığı hələlik araşdırılmamışdır.

ALINMIŞ NƏTİCƏLƏR VƏ ONLARIN MÜZAKİRƏSİ

Ağ laborator siçovullarında baş beynin prefrontal nahiyəsi qabığında 3 hüceyrə populyasiyası ayırd etdik. Bunlar aşağıdakılardır: 1) neyronlar, 2) qliositlər və 3) damar şəbəkəsi ilə əlaqəli

hüceyrələr. Bizim tədqiqatda cinsi-yetkin erkək ağ siçovullarda həmin nahiyyənin müxtəlif zonalarında neyronlar ümumi hüceyrə sayının 30,0-35,0%-ni təşkil edir. Bunu əsas götürərək ağ laborator siçovullarda prefrontal nahiyyəni histoloji cəhətdən nisbi-azsaylı neyron populyasiyası ilə səciyyələnən “aqranulyar” tip qabığa aid edirik. Bizim bu qənaətimiz primatlarda və gəmiricilərdə baş beyin fronto-orbital və sensomotor qabıq sahələrini müqayisəli öyrənmiş bəzi digər müəlliflərin mövqeyi ilə üst-üstə düşür [7, 9, 10].

Nəticələrimizə əsasən, daha çox rast gəlinən neyron tipi müxtəlif ölçülü piramid neyronlardır; digər morfoloji tiplərin sayı əhəmiyyətli dərəcədə azdır (səbətəbənzər, ulduzabənzər, ikiqat simmetrik dendrit şəbəkəli, horizontal və s.). Ümumi-histoloji olaraq prefrontal nahiyyənin ucunda qabığın 6 qatlı (təbəqəli) quruluşu nisbətən aydın seçilir.

Kəskin səs təsirindən sonrakı 20-ci və 40-cı günlərdə alınmış nümunələrin təhlili göstərir ki, həm müqayisə, həm də əsas qrupların heyvanlarında neyronlarda ən qabarıq dəyişikliklər sitoplazmatik Nissl substansiyasında müşahidə olunur. Belə ki, intakt heyvanlarda xromatoliz - Nissl substansiyasının parçalanması, boyağa həssaslığının itməsi - faktik qeyd edilməsə də, kəskin səs qıcığından sonra sitoplazmanın nüvətrafı zonalarında (perikarionda) bazofillik azalır, Nissl substansiyası fraqmentasiyaya uğrayır. Dinamikada xromatoliz tədricən səngiyir. Qıcıq təsirindən 40 gün sonra adi və zülallar ilə zəngin qida rasionlu siçovullarda bunun intensivliyi minimuma düşür. Ancaq qidada zülal çatmamazlığı şəraitində əsas qrup heyvanlarında həm ilkin xromatoliz intensivliyi çox yüksəkdir, həm də sonrakı tədrici bərpa prosesi xeyli ləng gedir.

Cədvəl 2

Kəskin səs qıcığı ilə şərtlənmiş stressdən sonrakı dövrdə ağ laborator siçovullarda baş beyin prefrontal nahiyyəsi qabığının II (submolekulyar; xarici dənəvər) qatında neyronların bəzi kəmiyyət göstəricilərinin dəyişmə dinamikası

Təcrübə qrupları		Audiogen stressdən sonrakı müddət	Prefrontal qabığının II qatında neyronların morfometrik göstəriciləri			
			Sitoplazma sahəsi (mkm ²)	Nüvə sahəsi (mkm ²)	Nüvəciklərin sahəsi (mkm ²)	Xromatoliz intensivliyi (şerti vahid; ş.v.)
“Norma” n=6			58,9±2,9	10,4±1,12	4,9±0,23	0,0
Müqayisə (zülal ilə zəngin qida)	Stressə davamsız	20-ci gün n=4	53,5±2,7	11,2±1,02	4,6±0,21	1,7±0,09
		40-cı gün n=4	55,8±2,8	10,8±1,08	4,7±0,26	1,1±0,07
	Stressə davamlı	20-ci gün n=2	54,1±2,8	10,8±1,06	4,8±0,28	1,6±0,09
		40-cı gün n=2	57,7±3,1	10,6±1,13	4,8±0,22	0,9±0,06
Əsas (az-zülallı qida)	Stressə davamsız	20-ci gün n=4	50,1±2,7	12,5±1,23	4,1±0,24	2,4±0,14
		40-cı gün n=4	53,2±3,0	11,4±1,22	4,4±0,22	2,0±0,09
	Stressə davamlı	20-ci gün n=2	53,0±2,8	11,0±1,13	4,3±0,25	2,0±0,11
		40-cı gün n=4	55,2±3,1	10,7±1,21	4,6±0,21	1,5±0,09

Qeyd: n – heyvanların sayı

Neyronlarda sitoplazma sahəsinin orta göstəriciləri kəskin səs təsirindən sonra azalır; bu, az-zülallı qida rasionlu (əsas qrup) heyvanlarda, xüsusən də - stressə davamsız fərdlərdə - daha qabarıq görünür. Ancaq neyronlarda nüvələrin sahəsi, əksinə, artıma meyillidir. Bunun nüvədə və sitoplazmada osmotik təzyiqlərdə yaranmış disbalans ilə əlaqəli nüvənin ikincili-osmotik şişməsi, hidratasiyası ilə şərtləndiyini düşünürük, amma bu iddiamız daha əsaslı təhlil tələb edir.

Kəskin səs ilə qıcıqlanmadan sonra neyronlarda nüvəciklərin işıq-optik quruluşunda, sayında və sahəsində baş verən dəyişiklikləri neyrodaxili zülal sintezi pozulmasının daha bir dolaylı təzahürü kimi qiymətləndiririk. Belə ki, nüvəciklər kövsəkləşərək boyaqlara həssaslığını bu və ya digər dərəcədə itirir, onların sayı və ölçülə bilən sahəsi azalır. Nüvəciklərin quruluş və kəmiyyət dəyişiklikləri əsas qrupda stressə davamsız siçovullarda daha intensivdir və xromatolizə paralel olaraq təcrübənin hətta 40-cı günündə də qalmaqdadır.

Kəskin səs qıcığından sonra ağ laborator siçovullarda baş beyin prefrontal qabıq neyronlarının bəzi kəmiyyət göstəricilərinin dəyişmə dinamikası 2-ci cədvəldə verilmişdir (cədvəl 2).

NƏTİCƏLƏR

1. Kəskin audiogen stress ağ laborator siçovulların baş beyin prefrontal qabıq neyronlarının quruluşunda və ölçülərində dəyişikliklər törədir; həmin dəyişikliklərin bir qismi qıcıqdan 40 gün sonra da izlənilir.

2. Kəskin audiogen stressdən 40 gün sonra prefrontal qabıq neyronları zülal sintezi mikrosisteminin tərkib hissələrində quruluş pozulmaları qalmaqdadır ki, bu da özünü nüvəciklərin və sitoplazmatik Nissl substansiyasının struktur və kəmiyyət dəyişikliklərində göstərir.

3. Ağ laborator siçovulların qida rasionunda zülal çatmamazlığı kəskin audiogen stressdən sonra prefrontal qabıq neyronlarında bərpa proseslərinin ləngiməsinə, bəzi struktur mikroskopik dəyişikliklərin isə dekompensator xarakter almasına səbəb olur.

ƏDƏBİYYAT

1. Мачинская Р.Н. Управляющие системы мозга // Журнал ВНД, 2015, т.65, № 1, с. 33-60.
2. Kesner R.P., Churchwell J.C. An analysis of rat prefrontal cortex in mediating executive function // Neurobiol. Learn. Mem., 2011, vol.96, N3, pp. 417-431.
3. Bali A., Jaggi A.S. Clinical, experimental stress studies: methods and assessment // Rev. Neurosci., 2015, vol. 26 (5), pp. 555-579.
4. Кузнецова Г.Д. Аудиогенные судороги у крыс разных генетических линий // Журнал ВНД, 1998, т. 48, вып.1, с. 143-152.
5. Nikinorov M., Urbanek-Karlowska B., Karlowska K. Protein deficient diets. Activity of selected enzymes of protein and carbohydrate metabolism // Toxicology. 1973, vol.1, p. 263-276.
6. Guidelines for accommodation and care of animals (article 5 of the convention) approved by the multilateral consultation / Strasbourg, 15 june 2006, cons. 123 (2006).
7. Watson C., Paxinos G. The Rat Brain in stereotaxis coordinates. London, San Diego: Academic Press, 2007, 456 p.
8. Dey P. Basic and Advanced Laboratory Techniques in Histopathology and Cytology / Springer, Singapore, 2018, 275 p.
9. Uylings H.B., van Eden C.G. Qualitative and quantitative comparison of the prefrontal cortex in rat and in primates, including humans // Prog Brain Res. 1990, vol. 85, pp. 31-62.
10. Kanari L., Ramaswamy S., Shi Y., Morand S. et al. Objective morphological classification of neocortical pyramidal cells // Cereb. Cortex, 2019, vol.29 (4), pp. 1719-1735.