

UOT 612.82;612.273.2

*L.B. Qədirova*

*AMEA Akademik A. Qarayev adına Fiziologiya İnstitutu  
l.gadirova@physiology.science.az*

## **RÜŞEYM DÖVRÜNDƏ MÜXTƏLİF SƏVİYYƏLİ HİPOKSIYAYA MƏRUZ QALMIŞ AĞ SIÇOVULLARIN BAŞ BEYİN STRUKTURLARININ MİTOXONDRİ FRAKSİYASINDA QLUTAMİNAZA VƏ $Ca^{2+}$ -ATFazanın FƏALLIĞININ TƏDQIQI**

*Acar sözlər: prenatal hipoksiya, baş beyin, qlutaminaza,  $Ca^{2+}$ -ATFaza*

Prenatal ontogenezin rüşeym dövründə müxtəlif səviyyəli hipoksiyaya məruz qalmış heyvanların beyninin müxtəlif strukturlarının mitoxondri səviyyəsində fosfat-asılı qlutaminaza və  $Ca^{2+}$ -ATFazanın fəallığı müxtəlif şəkildə dəyişilir. Rüşeym dövründə hipoksiya ekstremal şərait kimi postnatal ontogenezdə beyində qlutaminaza fermentinin fəallığına təsir göstərərək 17 günlük heyvanlarda hipotalamusda, görmə və limbik qabıqlarında bu fermentin xüsusi fəallığının artmasına səbəb olur. 1 aylıq heyvanlarda da limbik qabıq və hipotalamusda artım müşahidə olunur. 3 aylıq heyvanlarda hipotalamus və hissi-hərəkəti qabıqda fermentin fəallığı yuxarı qalxır, beynin tədqiq etdiyimiz digər strukturlarında normaya yaxınlaşır. Müəyyən olunmuşdur ki, tədqiq etdiyimiz baş beyin strukturlarında  $Ca^{2+}$ -ATFaza fermentin fəallığı hipotalamus, limbik və görmə qabığına aşağı düşür. Qeyd olunan dəyişikliklər  $10\%O_2+90\%N_2$  qatılığı ilə hipoksiyaya məruz qalmış heyvanlarda daha qabarıq şəkildə müşahidə olunur, nəinki  $12\%O_2+88\%N_2$  qatılığı ilə hipoksiyaya məruz qalmış heyvanlarda. Aşkar olunmuş adaptiv-kompensator dəyişikliklər tədqiq olunan strukturların morfo-funksional xüsusiyyətlərindən və heyvanın yaşından asılıdır.

*Л.Б.Гадирова*

## **ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ГЛУТАМИНАЗЫ И $Ca^{2+}$ -АТФазы В МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗГА БЕЛЫХ КРЫС, ПЕРЕНЕСШИХ ГИПОКСИЮ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ В ЗАРОДЫШЕВЫЙ ПЕРИОД**

*Ключевые слова: пренатальная гипоксия, мозг, глутаминаза,  $Ca^{2+}$ -АТФаза*

Активность глутаминазы и  $Ca^{2+}$ -АТФазы в постнатальном онтогенезе, изменяется в различной степени в митохондриальной фракции структур головного мозга белых крыс, перенесших гипоксию различной степени в зародышевый период. В зародышевый период гипоксия оказывает влияние как экстремальный фактор и приводит к повышению удельной активности глутаминазы в гипоталамусе, зрительной и лимбической коре 17-дневных животных. У одномесячных животных также отмечается повышение активности в гипоталамусе и лимбической коре. У 3-месячных животных активность фермента

повышается в гипоталамусе и сенсомоторной коре, в других исследованных структурах мозга приближается к норме. Было выявлено, что в исследованных структурах мозга активность  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы снижается в гипоталамусе, лимбической и зрительной коре. Отмеченные изменения были более выражены у животных, перенесших 10%  $\text{O}_2$ +90%  $\text{N}_2$  гипоксию, нежели 12%  $\text{O}_2$ +88%  $\text{N}_2$  гипоксию. Выявленные адаптационно-компенсаторные изменения зависят от морфофункциональной особенности структур мозга и возраста животных.

*L.B. Gadirova*

### **INVESTIGATION OF ACTIVITY OF GLUTAMINASE AND $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase IN THE MITOCHONDRIA FRACTIONS OF BRAIN STRUCTURES OF RATS UNDERGONE TO DIFFERENT LEVEL HYPOXIA DURING GERMINAL PERIOD**

**Keywords:** *prenatal hypoxia, brain, glutaminase,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase*

Activity of glutaminase and  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase in postnatal ontogenesis changed in different degree in the mitochondria fraction of brain structures of rats undergone to various level hypoxia during germinal period. Hypoxia during germinal period acted as stress factor and led with increase of glutaminase activity in the hipotalamus, visual and limbic cortex in 17-day-old animal. It was also noticed increase of activity in hipotalamus and limbic cortex in 1-month-old animal. Activity of the enzyme increased in hipotalamus and sensory-motor cortex, while it approached control level in other studied brain structures in 3-month-old animal. It was revealed that activity of  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase decreased in hipotalamus, limbic and visual cortex in the studied brain structures. The changes noticed were more pronounced in animal undergone to 10%  $\text{O}_2$ +90%  $\text{N}_2$  hypoxia than to 12%  $\text{O}_2$ +88%  $\text{N}_2$  hypoxia. The adaptative-compensatory changes revealed depended on morpho-functional features of the brain structures and the age of animal.

#### **Giriş**

Hipoksiya prenatal inkişafda beynin müxtəlif strukturlarında neyroblastların proliferasiya, miqrasiya və diferensiasiya proseslərinə, neyron şəbəkələrinin formalaşmasına, sinaptik plastikliyinə ciddi mənfi təsir göstərir (3). Bu proseslərdə sinir hüceyrələrinin yetişməsində mühüm əhəmiyyət daşıyan neyromediatorların, xüsusən qlutamatın və onun mübadiləsinin fermentlərinin fəal iştirakı qeyd olunur (2). Prenatal hipoksiya neyron şəbəkələrinin formalaşmasını pozaraq uzunmüddətli davranış effektlərinə səbəb ola bilər. Beynin inkişafına prenatal hipoksiyanın qısamüddətli və uzunmüddətli təsirinin nəticələri reflekslərin inkişafının ləngiməsinə, təlim və yaddaşın pisləşməsinə, həmçinin nəsillərin beyninin müxtəlif strukturlarında neyrokimyəvi mexanizmlərin pozulmasına gətirib çıxara bilər (5).

Mərkəzi sinir sisteminin fəaliyyətinin tənzimlənməsində, təlim və yaddaş proseslərində əsas oyandırıcı neyromediatorun – qlutamatın əhəmiyyətli rol

oynadığını nəzərə alaraq onun mübadiləsinin pozulmasını çoxlu koqnitiv funksiyaların pozğunluqları ilə əlaqələndirirlər (6). Məlumdur ki, fosfat-asılı qlutaminaza (FT 3.5.1.2) beyində qlutamat mübadiləsində iştirak edən fermentdir. Beyində qlutaminazanın iştirakı ilə sintez olunan qlutamat neyromediator funksiyasını daşıyır (2; 7). Sinir hüceyrələrinin hüceyrə membranlarında ion nasosların fəaliyyəti müvafiq ATF-azaların fəallığından çox asılıdır.  $Ca^{2+}$ -ATFaza fermenti hüceyrə membranlarında  $Ca^{2+}$  ionların transmembran nəqliyyat proseslərində mühüm rol oynayır (9; 10).  $Ca^{2+}$ -ATFaza fermenti hidrolazalar sinfinə aiddir (FT 3.6.3.8).

Apardığımız tədqiqatlarda prenatal hipoksiyaya məruz qalmış heyvanların beynin qabığının müxtəlif sahələrində – hipotalamus, beyincik, orta və uzunsov beyində fosfat-asılı qlutaminaza və  $Ca^{2+}$ -ATFaza fermentlərin fəallığı erkən postnatal ontogenezdə öyrənilmişdir.

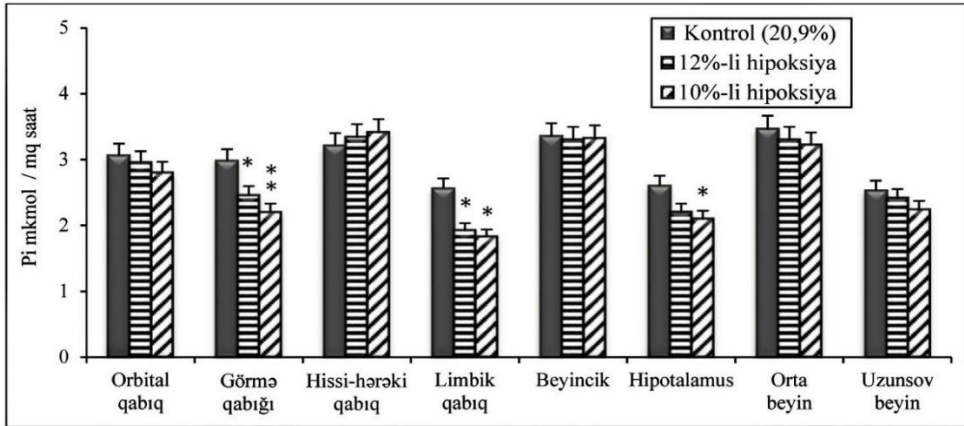
### **Material və metodlar**

Tədqiqatlarda rüşeym dövründə hipoksiyaya məruz qalmış 17 günlük, 1 və 3 aylıq ağ siçovullardan istifadə olunmuşdur. Təcrübədə heyvanlar prenatal ontogenezin rüşeym mərhələsində (3-9-cu günlərdə) hər gün 30 dəqiqə 10% oksigen + 90% azot və 12% oksigen + 88% azot qatılığı ilə hipoksiyaya məruz qalmışdılar. Həmin siçovullar postnatal ontogenezdə 17 günlük, 1 və 3 aylıq dövründə kəsilərək baş beyin aşağıdakı strukturlara – baş beyin görmə, orbital, sensomotor, limbik qabıq nahiyəsi, hipotalamus, beyincik, orta və uzunsov beyinə ayrılaraq soyuducuya qoyulub mitoxondri səviyyəsində təcrübələrdə istifadə olunmuşdur. Qlutaminazanın fəallığı Maqarlamov, Zaikin, Belyayeva (1979) metodu ilə təyin edilmişdir.  $Ca^{2+}$ -ATFaza fermentinin fəallığı sərbəst  $P_i$  görə hesablanmışdır (Abu Zaid, Sharma, Rivzi, 2002). Mitoxondri fraksiyası Chinopoulos (2011) metodu ilə differensial sentrifuqa etməklə ayrılmışdır. Ümumi zülal Bredford metodu ilə (Kruger N.J., 2002) təyin edilmişdir. Nəticələr MS Excel proqramı köməyi ilə statistik olaraq yoxlanılmışdır.

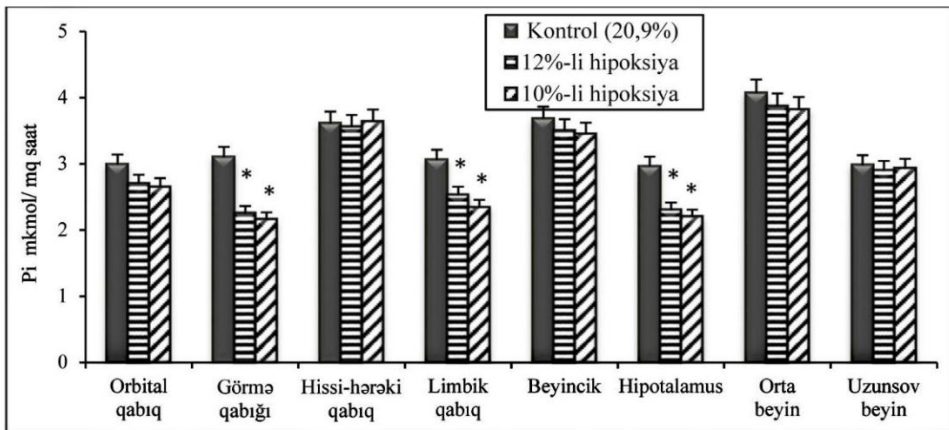
### **Tədqiqatın nəticələri və onların müzakirəsi**

Təcrübələrdə rüşeym dövründə müxtəlif səviyyəli hipoksiyaya məruz qalmış 17-günlük, 1- və 3-aylıq ağ siçovulların baş beyin strukturlarının mitoxondri fraksiyasında  $Ca^{2+}$ -ATFazanın fəallığı tədqiq edilmişdir. Müəyyən olunmuşdur ki, baş beyin strukturlarının mitoxondri fraksiyasında prenatal ontogenezin rüşeym dövründə keçirmiş hipoksiyanın təsirindən sonra  $Ca^{2+}$ -ATFaza fermentin fəallığı aşağı düşür. 10%  $O_2$ +90%  $N_2$  və 12%  $O_2$ +88%  $N_2$  qatılığı ilə hipoksiyaya məruz qalmış 17-günlük, 1-aylıq və 3-aylıq heyvanlarda tədqiq etdiyimiz beyin strukturlarının mitoxondri fraksiyasında  $Ca^{2+}$ -ATFazanın xüsusi fəallığında uyğun olaraq 8-29% və 4-25%; 2-30% və 3-27%; 4-21% və 2-14% azalma müşahidə olunur.

Belə ki, rüşeym dövründə 10% O<sub>2</sub>+90%N<sub>2</sub> qatılığı ilə hipoksiyaya məruz qalmış 17-günlük ağ siçovulların hipotalamus, görmə və limbik qabıqlarında fermentin fəallığı 19%, 26% və 29% kontrola nisbətən aşağı düşür. 12% O<sub>2</sub>+88%N<sub>2</sub> qatılığı ilə hipoksiyaya məruz qalmış 17-günlük siçovullarda Ca<sup>2+</sup>-ATFazanın xüsusi fəallığı baş beyin görmə qabığının mitoxondri fraksiyasında – 18%, limbik qabıqda – 25%, hipotalamusda isə – 15% aşağı düşür (şəkil 1).



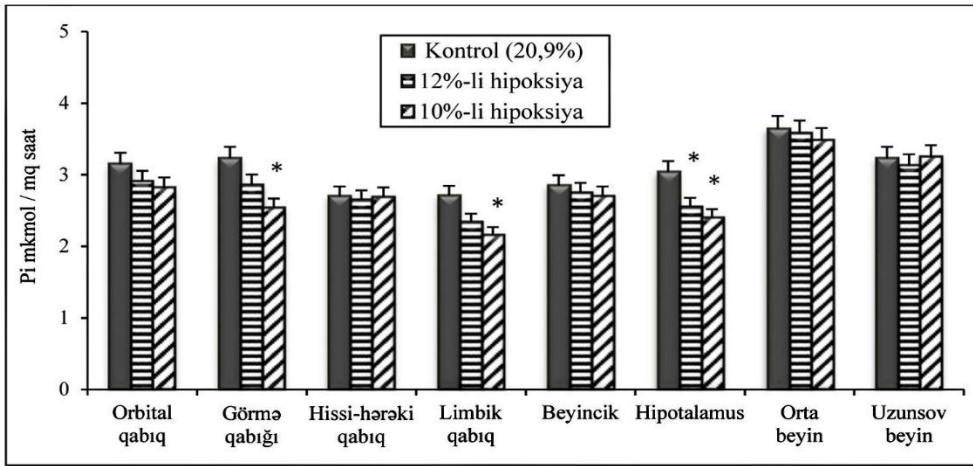
Şəkil 1. Rüşeym dövründə keçirilmiş müxtəlif səviyyəli (10% O<sub>2</sub> +90%N<sub>2</sub> və 12% O<sub>2</sub>+88%N<sub>2</sub>) hipoksiyanın 17-günlük ağ siçovulların beyin müxtəlif strukturlarının mitoxondri fraksiyasında Ca<sup>2+</sup>-ATFazanın fəallığına təsiri (P<sub>i</sub> mkmol / mq saat). \*-p<0.05, \*\*-p<0.01.



Şəkil 2. Prenatal ontogenezin rüşeym dövründə keçirilmiş müxtəlif səviyyəli (10% O<sub>2</sub> +90%N<sub>2</sub> və 12% O<sub>2</sub>+88%N<sub>2</sub>) hipoksiyanın 1-aylıq ağ siçovulların beyin müxtəlif strukturlarının mitoxondri fraksiyasında Ca<sup>2+</sup>-ATFazanın fəallığına təsiri (P<sub>i</sub> mkmol / mq saat). \*-p<0.05.

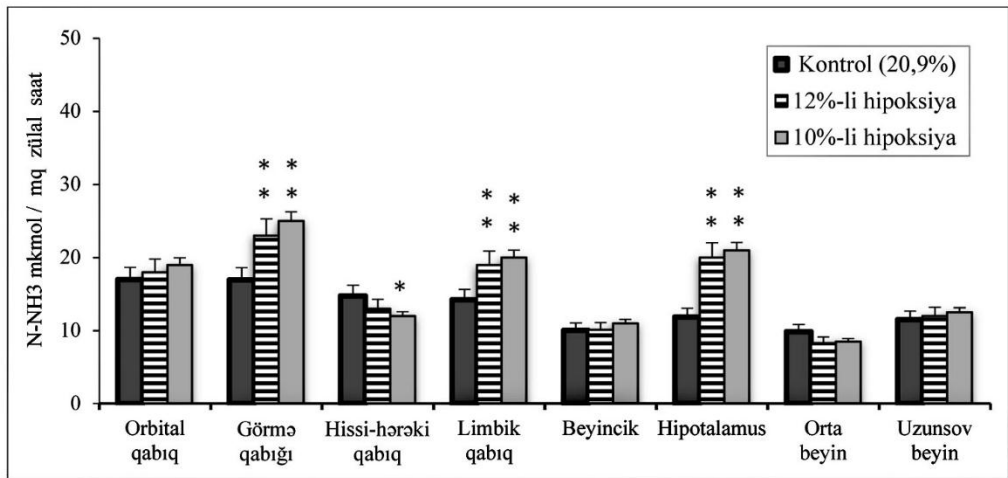
Prenatal ontogenezin rüşeym dövründə 10% O<sub>2</sub>+90% N<sub>2</sub> qatılığı ilə hipoksiyaya məruz qalmış biraylıq siçovullarda Ca<sup>2+</sup>-ATFaza fermentin fəallığı hipotalamus, limbik və görmə qabığında müvafiq olaraq 26%, 24% və 30% aşağı düşür. 12% O<sub>2</sub>+88% N<sub>2</sub> qatılığı ilə hipoksiyaya məruz qalmış biraylıq siçovullarda fermentin fəallığı limbik və görmə qabığında və beyincikdə kontrola nisbətən 17%, 27% və 22% aşağı düşür (şəkil 2).

Rüşeym dövründə 10% O<sub>2</sub>+90% N<sub>2</sub> qatılığı ilə hipoksiyaya məruz qalmış üçaylıq heyvanlarda Ca<sup>2+</sup>-ATFaza fermentin fəallığında hipotalamus, limbik və görmə qabığında 21%, 20% və 21% azalma müşahidə olunur. 12% O<sub>2</sub>+88% N<sub>2</sub> qatılığı ilə hipoksiyaya məruz qalmış 3-aylıq ağ siçovullarda Ca<sup>2+</sup>-ATFaza fermentinin fəallığın yalnız hipotalamusda 16% azalır, qalan tədqiq etdiyimiz beyin strukturlarında kontrola yaxınlaşır (şəkil 3).



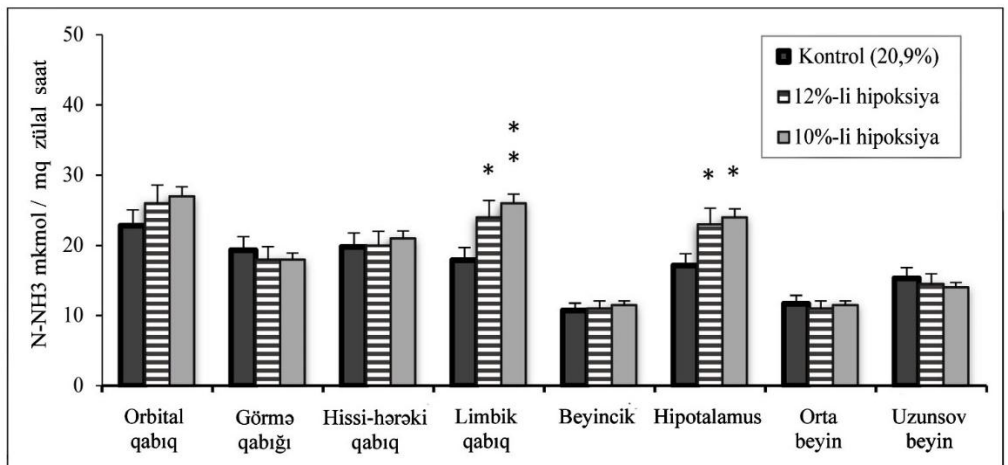
Şəkil 3. Rüşeym dövründə keçirilmiş müxtəlif səviyyəli (10% O<sub>2</sub>+90% N<sub>2</sub> və 12% O<sub>2</sub>+88% N<sub>2</sub>) hipoksiyanın 3-aylıq ağ siçovulların beyin müxtəlif strukturlarının mitoxondri fraksiyasında Ca<sup>2+</sup>-ATFazanın fəallığına təsiri (P<sub>i</sub> mkmol / mq saat). \*-p<0.05.

Müəyyən olunmuşdur ki, rüşeym dövründə müxtəlif səviyyəli hipoksiyanı keçirdikdən sonra postnatal ontogenezdə baş beyin strukturlarında qlutaminazanın xüsusi fəallığında müxtəlif dərəcəli dəyişikliklər baş verir. Belə ki, 10% O<sub>2</sub>+90% N<sub>2</sub> qatılığı ilə hipoksiyaya məruz qalmış 17-günlük ağ siçovulların hipotalamus, görmə və limbik qabıqlarında bu fermentin fəallığında 77%, 48% və 41% kontrola nisbətən yüksəliş, hissi-hərəkəti qabıqda isə 19% eniş qeyd olunur. 12% O<sub>2</sub>+88% N<sub>2</sub> qatılığı ilə hipoksiyaya məruz qalmış 17-günlük ağ siçovulların hipotalamus, görmə və limbik qabıqlarında 69%, 36% və 34% yüksəliş müşahidə olunur (şəkil 4).



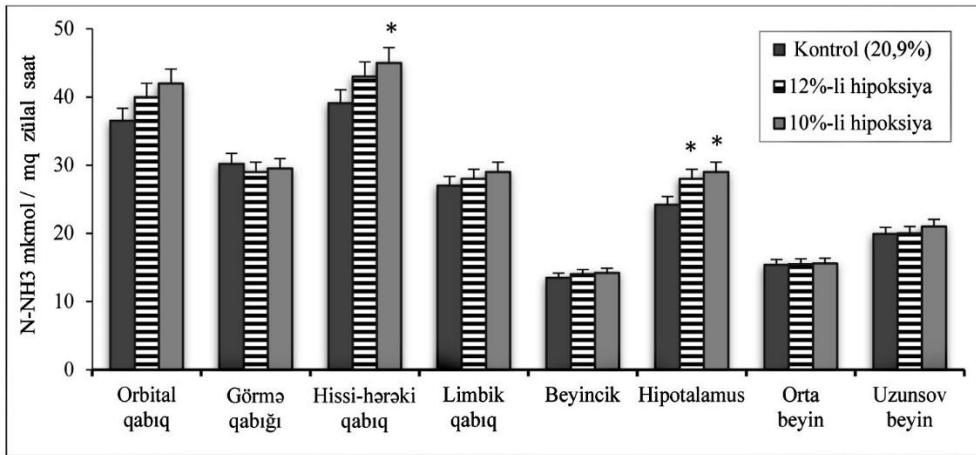
Şəkil 4. Prenatal ontogenezin rüşeym dövründə keçirilmiş müxtəlif səviyyəli (10% O<sub>2</sub>+90%N<sub>2</sub> və 12% O<sub>2</sub>+88%N<sub>2</sub>) hipoksiyanın 17-günlük ağ siçovulların beyin müxtəlif strukturlarının mitoxondri fraksiyasında qlutaminazanın xüsusi fəallığına təsiri (mkmol N-NH<sub>3</sub>/ mq zülal · saat ). \*-p<0.05, \*\*-p<0.01.

Rüşeym dövründə 10% O<sub>2</sub>+90%N<sub>2</sub> qatılığı ilə hipoksiyaya məruz qalmış biraylıq siçovullarda fermentin fəallığı hipotalamus və limbik qabıqda kontrola nisbətən 40% və 45% yuxarı qalxır. 12% O<sub>2</sub>+88%N<sub>2</sub> qatılığı ilə hipoksiyaya məruz qalmış 1-aylıq siçovullarda fosfat-asılı qlutaminaza fermentin fəallığında hipotalamus və limbik qabıqda kontrola nisbətən 35 və 34% yüksəliş müşahidə olunur. Qalan tədqiq etdiyimiz beyin strukturlarında göstəricilər kontrola yaxınlaşır (şəkil 5).



Şəkil 5. Rüşeym dövründə keçirilmiş müxtəlif səviyyəli (10% O<sub>2</sub>+90%N<sub>2</sub> və 12% O<sub>2</sub>+88%N<sub>2</sub>) hipoksiyanın 1 aylıq ağ siçovulların beyin müxtəlif strukturlarının mitoxondri fraksiyasında qlutaminazanın xüsusi fəallığına təsiri (mkmol N-NH<sub>3</sub>/ mq zülal · saat ). \*-p<0.05, \*\*-p<0.01.

Prenatal ontogenezin rüşeym dövründə 10%O<sub>2</sub>+90%N<sub>2</sub> qatılığı ilə hipoksiyaya məruz qalmış üç aylıq heyvanlarda qlutaminaza fermentinin fəallığında hipotalamus və hissi-hərəkəti qabıqda 15% və 20% artım qeyd olunur. 12%O<sub>2</sub>+88%N<sub>2</sub> qatılığı ilə hipoksiyaya məruz qalmış 3 aylıq ağ siçovullarda qlutaminaza fermentinin fəallığı hipotalamusda 16% yuxarı qalxır. Qalan tədqiq etdiyimiz beyin strukturlarında göstəricilər kontrola yaxınlaşır (şəkil 6).



Şəkil 6. Prenatal ontogenezin rüşeym dövründə keçirilmiş müxtəlif səviyyəli (10%O<sub>2</sub>+90%N<sub>2</sub> və 12% O<sub>2</sub>+88%N<sub>2</sub>) hipoksiyanın 3 aylıq ağ siçovulların beyin müxtəlif strukturlarının mitoxondri fraksiyasında qlutaminazanın xüsusi fəallığına təsiri (mkmol N-NH<sub>3</sub>/ mq zülal · saat). \*-p<0.05.

Beləliklə, aldığımız nəticələrdən görünür ki, prenatal ontogenezin rüşeym dövründə müxtəlif səviyyəli hipoksiyanın təsirindən sonra 17-günlük, 1- və 3- aylıq heyvanlarda uyğunlaşma-kompensator reaksiya kimi beyində qlutaminazanın fəallığı baş beyin strukturlarından və heyvanın yaşından asılı olaraq fərqli dəyişir. Bizim əldə etdiyimiz nəticələrə görə, prenatal hipoksiyaya məruz qalmış heyvanların baş beyində qlutaminazanın fəallığı 17-günlüklərdə daha çox yüksəlir nəinki 3-aylıqlarda və bu, mGluR I qlutamat reseptorların vəziyyətinin həmin qaydada dəyişdirilməsi haqqında məlumatlara (4) tam uyğundur. Prenatal hipoksiyanı keçirmiş bir aylıq siçovulların beyinin müxtəlif strukturlarında qlutaminazanın fəallığı daha az şəkildə yüksəlir. Postnatal ontogenezin üç dövrdə qlutaminazanın fəallığının artması qoruyucu-uyğunlaşma xarakter daşıyır və qlutamatın qlutamatergik neyronlarda neyrotransmitter funksiyasını, QAYT-ergik neyronlarda isə  $\gamma$ -aminyaq turşusunun sələfi (7) və sinir hüceyrələrinin sitrat tsiklinin intermediatları ilə əlaqəsini təmin edir.

## ƏDƏBİYYAT

1. *Заводник И.Б.* Митохондрии, кальциевый гомеостаз и кальциевая сигнализация // Биомедицинская химия, 2016, Т. 62, вып. 3, с.311-317
2. *Курбат М.Н.* L-глутамат: современный взгляд на известную аминокислоту // Нейрохимия, 2009, Т.26, №3, с.202-207
3. *Созаева Д.И., Бережанская С.Б.* Патогенетические механизмы формирования церебральных нарушений у детей раннего возраста, перенесших гипоксию в перинатальном периоде // Современные проблемы науки и образования, 2014, № 4. с. 9
4. *Тюлькова Е.И., Семенов Д.Г., Ватаева Л.А. и др.* Влияние пренатальной гипобарической гипоксии на активность глутаматергической сигнальной трансдукции мозга крыс // Бюл. эксперим. биол. и мед., 2011, Т.151, №3, с.275-277
5. *Bae N., Wang Y., Li L., et al.* Network of brain protein level changes in glutaminase deficient fetal mice // J. Proteomics, 2013, 80, pp.236-249
6. *Moghaddam B., Javitt D.* From revolution to evolution: the glutamate hypothesis of schizophrenia and its implication for treatment // Neuropsychopharmacology, 2012, v.37, №1, p.4-15
7. *Holten A.T., Gundersen V.* Glutamine as a precursor for transmitter glutamate, aspartate and GABA in the cerebellum: a role for phosphate-activated glutaminase // J. Neurochemistry, 2008, 104, pp.1032-1042
8. *Sandman C.A., Davis E.P., Buss C., Glynn L.M.* Prenatal programming of human neurological function // Int J Pept. 2011, Article ID: 837596, 9 p.
9. *Ono Y., Mori Y., Egashira Y., Sumiyama K., Takamori S.* Expression of plasma membrane calcium ATPases confers Ca<sup>2+</sup>/H<sup>+</sup> exchange in rodent synaptic vesicles // Sci Rep., 2019; 9(1): 4289
10. *Mahmmoud Y.A., Gaster M.* Uncoupling of sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase by N-arachidonoyl dopamine. Members of the endocannabinoid family as thermogenic drugs // British Journal of Pharmacology, 2012, v.166, pp.2060-2069