

UOT 612.822.2+665.738

S.V.Ağayeva

Azərbaycan Dövlət Pedaqoji Universiteti

agaeva.samira.84@mail.ru

MELATONİN TOLUOL İNTOKSİKASİYASI ŞƏRAİTİNDƏ SİÇOVULLARIN BAŞ BEYİN STRUKTURLARINDA QAYT MÜBADİLƏSİNİ BƏRPA EDİR

Açar sözlər: melatonin, toluol, qamma-aminyaq turşusu, qlutamin turşusu, asparagin turşusu, qlutamatdekarboksilaza, QAYT-aminotransferaza

Tədqiqatda melatoninin toluol intoksikasiyası şəraitində 3 aylıq siçovulların baş beyininin müxtəlif strukturlarının toxumasında QAYT mübadiləsinə təsiri öyrənilmişdir. Toluolun təsiri nəticəsində 3 aylıq siçovulların baş beyininin müxtəlif strukturlarında QAYT-ın miqdarı artmış, Qlu və Asp-ın miqdarı azalmışdır. Bu zaman QDK-nın fəallığı yüksəlmiş, QAYT-T-nin fəallığı aşağı enmişdir. Melatoninin toluol intoksikasiyası şəraitində təsiri QAYT mübadiləsində iştirak edən bütün komponentlərin səviyyəsinin qismən bərpasına səbəb olmuşdur. Melatonin toluol intoksikasiyası şəraitində baş beyində QAYT mübadiləsini korrektə edir.

C.B.Agaeva

МЕЛАТОНИН ВОССТАНАВЛИВАЕТ ОБМЕН ГАМК В СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В УСЛОВИЯХ ТОЛУОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Ключевые слова: мелатонин, толуол, гамма-аминомасляная кислота, глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, глутаматдекарбоксилаза, ГАМК-аминотрансфераза

Изучено влияние мелатонина на обмен ГАМК в различных тканях головного мозга трехмесячных крыс в условиях интоксикации толуолом. Результаты наших исследований показали, что при воздействии толуола происходит увеличение содержания ГАМК, уменьшение содержания свободных Глу и Асп в различных структурах головного мозга трехмесячных крыс. При этом активность ГДК повышается, активность ГАМК-Т понижается. После влияния мелатонина происходит частичное восстановление компонентов ГАМК при интоксикации толуолом. Мелатонин корректирует обмен ГАМК в головном мозге в условиях интоксикации толуолом.

MELATONIN RESTORES THE GABA METABOLISM IN THE BRAIN STRUCTURES OF RATS UNDER THE CONDITIONS OF TOLUENE INTOXICATION

Keywords: melatonin, toluene, gamma-aminobutyric acid, glutamine acid, asparagine acid, glutamate acid decarboxylase, GABA aminotransferase

The study investigated the effect of melatonin on GABA exchange in different tissues of the brain of 3-month-old rats under the conditions of toluene intoxication. As a result of the toluene effect, the content of GABA has increased and the content of Glu and Asp has decreased in different brain structures of 3-month-old rats. At the same time, the activity of the GAD has increased, and the activity of the GABA-T has decreased. The effect of melatonin under the conditions of toluene intoxication has led to a partial recovery of all the components involved in the GABA exchange. Melatonin corrects GABA exchange in brain in the context of toluene intoxication.

Endogen neyrohormon olan melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) epifiz vəzidə triptofandan sintez olunan indol amindir (5). Melatonin nüvə və mitoxondriyə asanlıqla daxil olaraq sərbəst radikalları təmizləyərək antioksidant təsir göstərir (8). Melatonin bir antioksidant olaraq birbaşa oksigenin fəal formasını (OFF) təmizləyir, antioksidant fermentlərin istehsalını və aktivləşməsini stimullaşdırır (3) və mitoxondrial keçiricilik keçid məsələsini yaxşılaşdırmaqla mitoxondrial tənəffüs zəncirində sitoxrom C sərbəst buraxılmasının və oksidləşdirici fosforlaşmanın inhibe edilməsi ilə membran lipidlərinin peroksidli oksidləşməsini azaldaraq mitoxondrial funksiyaların təsirliliyini artırır (1). Melatonin birbaşa və dolaylı bir antioksidant olduğundan bir neyrotoksin kimi təklif edilmişdir (12).

Toluol neyrotoksin maddədir. Onun xroniki istifadəsi müxtəlif orqanların funksional və struktur pozulmalarına səbəb olur. Bu ekotoksikantın təsirindən sonra neyrohormon, neyromediator və onların reseptorlarının funksiyasında dəyişikliklər müşahidə olunur (10).

Bundan əlavə toluolun qarın boşluğuna inyeksiyasının OFF-nın yaranma sürətinin əhəmiyyətli dərəcədə yüksəlməsinə və beyindəki qlutatonun səviyyəsinin azalmasına səbəb olduğu göstərilmişdir (6). OFF öz növbəsində lipidlərə, zülallara və nuklein turşularına zərər verir. Bu davranış dəyişikliklərinə vasitəçilik edən neyrodegenerativ pozulmalara səbəb olur. Melatonin sərbəst radikallardan güclü təmizləyici olaraq oksidləşmə əsaslı neyrotoksikliyi azaldır (2).

Neyrotoksikantların təsiri zamanı MSS-də əmələ gələn patoloji proseslərin və pozulmaların korreksiyası üçün lazımi tədbirlərin hazırlanması nəzəri və klinik təbabətdə böyük əhəmiyyət kəsb edir. Bu baxımdan

melatoninin toluol intoksikasiyası şəraitində bir sıra MSS xəstəliklərinin patogenezində mühüm rol oynayan qamma-aminyağ turşusu (QAYT) mübadiləsinə olan təsirini öyrənmək böyük maraq doğurur.

Material və metodlar

Bütün təcrübələr Avropa Birliyinin Beynəlxalq Bəyannaməsinin eksperiment və digər elmi məqsədlər üçün istifadə olunan heyvanların qorunması prinsiplərinə uyğun olaraq aparılmışdır.

Təcrübələrdə Vistar xəttindən olan adi qidalanma rejimi üzrə vivari şəraitində saxlanılan 3 aylıq ağ siçovullardan istifadə olunmuşdur. Eksperiment heyvanlar aşağıdakı qruplara ayrılmışdır: 1) kontrol qrup; 2) təcrübi qrup. Təcrübə qrup heyvanları da 2 yarımqrupa ayrılmışdır: I yarımqrup – toluolun (1000 mq/kq, 5 gün) təsirinə məruz qalmış heyvanlar, II yarımqrup – toluol intoksikasiyası modelində melatoninin (10 mq/kq) təsirinə məruz qalan heyvanlar.

Həm kontrol, həm də təcrübə qrupunda olan heyvanların baş beyin müxtəlif strukturlarının (baş beyin yarımkürələrinin qabığı, beyincik, beyin sütunu və hipotalamus) toxumasında QAYT, qlutamin turşusunun (Qlu) və asparagin turşusunun (Asp) miqdarı yüksək gərginlikli elektroforez metodu ilə təyin edilmişdir. Qlutamatdekarboksilazanın (QDK) fəallığını təyin etmək üçün İ.A.Sitinski, T.N.Priyatkina və QAYT-aminotransferazanın (QAYT-T) fəallığını təyin etmək üçün isə N.S.Nilova metodundan istifadə edilmişdir. Alınan nəticələr Fişer, Styudentə görə və Vilkokson qeyri-parametrik (Manna-Uitni) statistik üsulla işlənmişdir. Hər təcrübə seriyasında aşağıdakı əsas kəmiyyətlər təyin edilmişdir: orta arifmetik kəmiyyət (M), orta kvadratik xəta (m) və t kəmiyyəti hesablanaraq bunun əsasında fərqi ehtimalı müəyyənləşdirilmişdir.

Nəticələr və onların müzakirəsi

Aparılan təcrübələrin nəticələri göstərdi ki, kontrol 3 aylıq siçovullarda QAYT-in miqdarı baş beyin yarımkürələrinin qabığının toxumasında $2,97 \pm 0,12$, beyincikdə $2,43 \pm 0,08$, beyin sütununda $2,19 \pm 0,08$ və hipotalamusda $3,72 \pm 0,14$ mkmol/q olmuşdur (cədvəl 1). 1000 mq/kq dozada toluolun 1 aylıq siçovulların qarın boşluğuna 5 gün yeridilməsindən sonra tədqiq olunan strukturların toxumasında QAYT-in miqdarı kontrolla müqayisədə 29-53% çox olmuşdur. 1 aylıq siçovulların qarın boşluğuna 5 gün müddətində hər gün toluolun 1000 mq/kq dozada yeridilməsindən 3 saat sonra melatonin 10 mq/kq dozada yeridilmişdir. Bu zaman QAYT-in miqdarı kontrolla müqayisədə baş beyin yarımkürələrinin qabığının toxumasında 7%, beyincikdə 16%, beyin sütununda 12% və hipotalamusda 7% çox olmuşdur.

Cədvəl 1.

Melatoninin (10 mq/kq) toluol (1000 mq/kq) intoksikasiyası şəraitində (5 gün) 3 aylıq siçovulların baş beyininin müxtəlif strukturlarının toxumasında QAYT, Qlu və Asp-ın miqdarına (mkmol/q) təsiri ($M \pm m$, $n=5$).

Baş beyin strukturları	Təcrübənin şərti	Göstəricilər	QAYT	Qlu	Asp
Beyin qabığı	Kontrol	$M \pm m$	2,97±0,12	4,82±0,16	3,40±0,10
	Toluol	$M \pm m$	4,14±0,19***	3,42±0,11***	2,41±0,09***
		%	139	71	71
	Toluol+ melatonin	$M \pm m$	3,18±0,15	4,34±0,12*	3,13±0,11
%		107	90	92	
Beyincik	Kontrol	$M \pm m$	2,43±0,08	5,41±0,19	3,15±0,09
	Toluol	$M \pm m$	3,73±0,11***	3,64±0,14***	1,98±0,07***
		%	153	67	63
	Toluol+ melatonin	$M \pm m$	2,82±0,09*	4,81±0,14*	2,74±0,09*
%		116	89	87	
Beyin sütunu	Kontrol	$M \pm m$	2,19±0,08	6,04±0,15	3,02±0,12
	Toluol	$M \pm m$	3,18±0,10***	4,61±0,13***	2,08±0,07***
		%	145	76	69
	Toluol+ melatonin	$M \pm m$	2,45±0,07*	5,56±0,11*	2,75±0,08
%		112	92	91	
Hipotalamus	Kontrol	$M \pm m$	3,72±0,14	6,63±0,13	3,97±0,09
	Toluol	$M \pm m$	4,81±0,17**	5,32±0,25**	3,26±0,13**
		%	129	80	82
	Toluol+ melatonin	$M \pm m$	3,98±0,12	6,30±0,17	3,77±0,14
%		107	95	95	

Qeyd: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

3 aylıq kontrol siçovullarda Qlu-nun miqdarı baş beyin yarımkürələrinin qabığının toxumasında 4,82±0,16, beyincikdə 5,41±0,19, beyin sütununda 6,04±0,15 və hipotalamusda 6,63±0,13 mkmol/q hesablanmışdır. Toluol intoksikasiyası şəraitində Qlu-nun miqdarı kontrollə müqayisədə 20-33% azalmışdır. Melatoninin toluol intoksikasiyası şəraitində qarın boşluğuna yeridilməsi nəticəsində bu aminturşunun miqdarında kontrollə müqayisədə baş beyin yarımkürələrinin qabığının toxumasında 10%, beyincikdə 11%, beyin sütununda 8% və hipotalamusda 5% azalma baş vermişdir.

3 aylıq kontrol siçovullarda Asp-ın miqdarı isə baş beyin yarımkürələrinin qabığının toxumasında 3,40±0,10, beyincikdə 3,15±0,09, beyin sütununda 3,02±0,12 və hipotalamusda 3,97±0,09 mkmol/q olmuşdur.

Toluol intoksikasiyası şəraitində Asp-ın səviyyəsində 18-37% azalma baş vermişdir. Melatoninin toluol intoksikasiyası şəraitində qarın boşluğuna yeridilməsi Asp-ın səviyyəsində toluol intoksikasiyası şəraitində baş verən enmənin azalmasına səbəb olmuşdur. Müvafiq şəraitdə Asp-ın miqdarı kontrollu müqayisədə baş beyin yarımkürələrinin qabığının toxumasında 8%, beyincikdə 13%, beyin sütununda 9% və hipotalamusda 5% azalmışdır.

Kontrol 3 aylıq siçovullarda QDK-nın fəallığı baş beyin yarımkürələrinin qabığının toxumasında $83,25 \pm 3,99$, beyincikdə $96,61 \pm 3,82$, beyin sütununda $61,47 \pm 2,62$ və hipotalamusda $107,28 \pm 3,32$ mkmol QAYT/q.saət olmuşdur (cədvəl 2). Toluol intoksikasiyası şəraitində QDK-nın fəallığı kontrollu müqayisədə 34-58% yüksəlmişdir. Melatoninin toluol intoksikasiyası şəraitində qarın boşluğuna yeridilməsi bu fermentin səviyyəsində toluol intoksikasiyası şəraitində baş verən artmanın aşağı düşməsinə səbəb olmuşdur. Müvafiq şəraitdə QDK-nın fəallığı kontrollu müqayisədə baş beyin yarımkürələrinin qabığının toxumasında 9%, beyincikdə 15%, beyin sütununda 12% və hipotalamusda 10% yüksəlmişdir.

Cədvəl 2.

Melatoninin (10 mq/kq) toluol (1000 mq/kq) intoksikasiyası şəraitində (5 gün) 3 aylıq siçovulların baş beyininin müxtəlif strukturlarının toxumasında QDK (mkmol QAYT/q.saət) və QAYT-T (mkmol Qlu/q.saət) fermentlərinin fəallığına təsiri ($M \pm m$, $n=5$).

Baş beyin strukturları	Təcrübənin şərti	Göstəricilər	QDK	QAYT-T
Baş beyin yarımkürələrinin qabığı	Kontrol	$M \pm m$	$83,25 \pm 3,99$	$86,90 \pm 2,43$
	Toluol	$M \pm m$	$120,73 \pm 4,38^{***}$	$63,44 \pm 2,69^{***}$
		%	145	73
	Toluol+ melatonin	$M \pm m$	$90,72 \pm 4,21$	$80,83 \pm 2,54$
%		109	93	
Beyincik	Kontrol	$M \pm m$	$96,61 \pm 3,82$	$89,53 \pm 2,84$
	Toluol	$M \pm m$	$152,68 \pm 5,48^{***}$	$56,42 \pm 2,27^{***}$
		%	158	63
	Toluol+ melatonin	$M \pm m$	$111,15 \pm 3,60^*$	$80,56 \pm 2,11^*$
%		115	90	
Beyin sütunu	Kontrol	$M \pm m$	$61,47 \pm 2,62$	$70,58 \pm 2,20$
	Toluol	$M \pm m$	$86,08 \pm 3,78^{***}$	$48,81 \pm 2,18^{***}$
		%	140	69
	Toluol+ melatonin	$M \pm m$	$68,85 \pm 1,76^*$	$64,92 \pm 1,97$
%		112	92	
Hipotalamus	Kontrol	$M \pm m$	$107,28 \pm 3,32$	$98,16 \pm 2,60$
	Toluol	$M \pm m$	$143,76 \pm 5,44^{***}$	$75,33 \pm 3,07^{***}$
		%	134	77
	Toluol+ melatonin	$M \pm m$	$118,04 \pm 4,47$	$93,27 \pm 2,43$
%		110	95	

Kontrol 3 aylıq siçovullarda QAYT-T-nin fəallığı fəallığı baş beyin yarımkürələrinin qabığının toxumasında $86,90 \pm 2,43$, beyincikdə $89,53 \pm 2,84$, beyin sütununda $70,58 \pm 2,20$ və hipotalamusda $98,16 \pm 2,60$ mkmol Qlu/q.saət olmuşdur. Toluol intoksikasiyası şəraitində QAYT-T-nin fəallığı kontrolla müqayisədə 23-37% azalmışdır. Melatoninin toluol intoksikasiyası şəraitində qarın boşluğuna yeridilməsi nəticəsində bu fermentin fəallığında kontrolla müqayisədə baş beyin yarımkürələrinin qabığında 7%, beyincikdə 10%, beyin sütununda 8% və hipotalamusda 5% azalma baş vermişdir.

Toluolun təsirinə neyrokimyəvi reaksiya göstərir ki, insanın bu maddəyə məruz qalması ilə baş verən neyrokimyəvi dəyişikliklər arasında əlaqə mövcuddur (13). Toluolun neyrobioloji təsirinə QAYT və qlutamat reseptorları vasitəçilik edə bilər.

Toluolun təsiri OFF-nin induksiyasının artmasına və oksidativ stressə səbəb olur. Öz növbəsində OFF, hidrogen peroksid (H_2O_2), superoksid anion (O^{2-} və hidrosil radikal (OH) kimi yüksək konsentrasiyada bioloji makromolekullar ilə qarşılıqlı əlaqə qura bilər, müxtəlif fermentlərin inaktivləşməsinə, lipidlərin peroksidli oksidləşməsinə, DNT zədələnməsinə və hüceyrə ölümünə səbəb olur. Melatoninin oksigen məhsulları səbəbindən yaranan molekulyar zədələnməni ləğv etdiyi proseslər ədəbiyyat məlumatlarında göstərilmişdir (11).

Siçovullar toluola xroniki şəkildə məruz qaldıqda beyin qabığında, hippokampda və beyincikdə lipidlərin peroksidli oksidləşməsinin səviyyəsi yüksək olmuşdur, melatonin yeridilməsi toluolun təsirinə qarşı çıxdı və lipidlərin peroksidli oksidləşməsinə kontrol səviyyəyə qaytardı. Toluol buxarlarını inhalyasiya edən (gündə 10 dəqiqə olmaqla 5000-6000 ppm konsentrasiyada 12 gün ərzində) siçovullarda dendrit inkişafının qorunmasında melatonin potensial qoruyucu təsir göstərir (9). Antioksidant fermentlər orqanizmdə sərbəst radikallara qarşı ilk müdafiə xəttini təşkil edir. Onların tənzimlənməsi əsasən oksidantların əsas modulyatorları olduqlarını nəzərə alaraq hüceyrənin oksidləşmə vəziyyətindən asılıdır. Melatonin həm antioksidant fermentlərin fəaliyyətinə, həm də bu fermentlər üçün hüceyrə mRNT səviyyəsinə təsir göstərir. Melatoninin bu fermentləri tənzimləyir. Melatoninin yeridilməsi birbaşa OFF-ni təmizləyə və dolaylı yolla antioksidant gücünü artırmaqla toluolun neyrotoksikliyinə qarşı neyroproteksiyanı təmin edə bilər (2).

Melatonin QAYTA reseptorları kompleksi ilə qarşılıqlı təsir göstərə bilər. Melatonin siçovul beynində QAYTA reseptorları ilə QAYT əlaqəli səviyyəni artırır. Bundan əlavə, melatonin dovşanlarda QAYT-ın qabıq neyronlara təsirini artırır. Melatonin MSS-də QAYTergik fəaliyyəti modullaya bilən neyrosteroidogeneza və tsiklik AMF istehsalına təsir göstərmək üçün BZ

(benzodiazepin) reseptorları ilə qarşılıqlı əlaqə qura bilər (7). QAYT beyni oksidləşdirici stressdən qoruya bilər (4).

Aparığımız təcrübələrin nəticələri göstərdi ki, toluol intoksikasiyası nəticəsində baş beyin strukturlarında QAYT-ın miqdarında artma, Qlu-nun miqdarında azalma, QDK fermentinin fəallığında yüksəlmə, QAYT-T fermentinin səviyyəsində isə kontrollu müqayisədə azalma baş vermişdir. Toluol intoksikasiyası şəraitində melatoninin yeridilməsindən sonra bu göstəricilərin səviyyəsi kontrola yaxınlaşmışdır. Aldığımız nəticələrə əsasən deyə bilərik ki, melatonin toluol intoksikasiyası şəraitində QAYT mübadiləsində baş verə biləcək dəyişiklikləri qismən bərpa edir.

ƏDƏBİYYAT

1. *Acuna-Castroviejo D., Escames G., Rodriguez M.I., Lopez L.C.* Melatonin role in the mitochondrial function // *Front Biosci.*, 2007, v.12, pp.947-963
2. *Baydas G., Kutlu S., Naziroglu M. et al.* Inhibitory effects of melatonin on neural lipid peroxidation induced by intracerebroventricularly administered homocysteine // *J. Pineal Res.*, 2003, v.34, pp.36-39
3. *Chabra A., Shokrzadeh M., Naghshvar F. et al.* Melatonin ameliorates oxidative stress and reproductive toxicity induced by cyclophosphamide in male mice // *Hum Exp Toxicol.*, 2014, v.33, pp.185-195
4. *Eltahawy N.A., Saada H.N., Hammad A.S.* Gamma Amino Butyric Acid Attenuates Brain Oxidative Damage Associated with Insulin Alteration in Streptozotocin-Treated Rats // *Ind J. Clin. Biochem.*, 2017, v.32, № 2, pp.207-213
5. *Gürpınar T., Ekerbiçer N., Uysal N. et al.* The effects of the melatonin treatment on the oxidative stress and apoptosis in diabetic eye and brain // *Scientific World Journal*, 2012, 2012: 498489. doi: 10.1100/2012/498489
6. *Mattia C.J., Ali S.F., Bondy S.C.* Toluene-induced oxidative stress in several brain regions and other organs // *Mol Chem Neuropathol.*, 1993, v.3, pp.313-328
7. *Niles L.P.* Melatonin Interaction with BZ-GABA_A Receptors // *Sleep and Sleep Disorders*, 2006, pp.95-99
8. *Paradies G., Petrosillo G., Paradies V. et al.* Melatonin, cardiolipin and mitochondrial bioenergetics in health and disease // *J. Pineal Res.*, 2010, v.48, pp.297-310
9. *Pascual R., Zamora-Leon S., Perez N. et al.* Melatonin ameliorates neocortical neuronal dendritic impairment induced by toluene inhalation in the rat // *Exp. Toxicol. Pathol.*, 2010, doi: 10.1016/j.etp.201003.006
10. *Perrine S.A., O'Leary-Moore S.K., Galloway M.P. et al.* Binge toluene exposure alters glutamate, glutamine and GABA in the adolescent rat brain as measured by proton magnetic resonance spectroscopy // *Drug and alcohol dependence*, 2011, v.115, №1-2, pp.101-106

11. *Reiter R.J., Korkmaz A., Paredes S.D. et al.* Melatonin reduces oxidative/nitrosative stress due to drugs, toxins, metals and herbicides // *Neuroendocrinol. Lett.*, 2008, v.29, pp.101-105
12. *Reiter R.J., Manchester L.C., Tan D.X.* Neurotoxins: free radical mechanisms and melatonin protection. *Curr Neuropharmacol* 2010, v.8, pp.194-210
13. *Shonagh K.O'L., Matthew P.G., Andrew P.Mc. et al.* Neurochemical Changes after Acute Binge Toluene Inhalation in Adolescent and Adult Rats: A High-Resolution Magnetic Resonance Spectroscopy Study // *Neurotoxicol Teratol.*, 2009, v.31, №6, pp.382-389

Redaksiyaya daxil olub 28.01.2020