



XIV ГЛОБАЛЬНЫЕ НАУКИ И ИННОВАЦИИ 2021: ЦЕНТРАЛЬНАЯ АЗИЯ

МЕЖДУНАРОДНЫЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ



22-27 октября 2021, Нур-Султан (Астана), Казахстан



ӘОЖ 577.352;576

ҚҰРАМЫНДА АМРА-РЕЦЕПТОРЛАРЫ БАР НЕЙРОНДАРДЫҢ ГЛУТАМАТТЫҚ НЕЙРОУЫТТЫЛЫҚҚА ТӨЗІМДІЛІГІН ЗЕРТТЕУ

¹Қайрат Б.Қ., ¹Төлеуханов С.Т., ²Зинченко В.П., ²Гайдин С.Г., ²Косенков А.М.

¹әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан

²Клетка биофизикасы институты, Пушино, Ресей

Аннотация: Жұмыста құрамында кальций-өткізуші АМРА-рецепторлары бар нейрондардың глутаматтық нейроуыттылыққа төзімділігін зерттеу бойынша нәтижелер берілген.

Түйін сөздер: кальций, АМРА-рецепторлар, гиппокамп, глутамат, нейроуыттылық.

L-глутамат (Glu) – омыртқалылардың орталық жүйке жүйесіндегі (ОЖЖ) негізгі қоздырғыш нейротрансмиттерлердің бірі. Ол әртүрлі клеткалық және синапстық функцияларды, клеткалардың өлімі мен тірі қалуын, қозғалыс функцияларды, оқу мен есте сақтауды бақылайды [1]. Сүтқоректілердің миындағы глутаматтың мөлшері дофамин немесе серотонин сияқты басқа да маңызды қоздырғыш нейротрансмиттердің концентрациясынан айтарлықтай жоғары [2, 3]. Глутамат ОЖЖ маңызды физиологиялық функциялармен қатар, эпилепсия және басқа да нейродегенеративті аурулардың патофизиологиясына қатысады [4-7]. Мидың жарақаты мен инсульті кезінде глутамат зақымдану аймағындағы нейрондар мен глиальды клеткалардың зақымдануы мен өліміне әкелетін күшті нейротоксиге айналады [8]. Клетка культураларын қолдана отырып *in vitro* жағдайындағы нейрондардың өлімінің механизмін зерттеудің ұзақ тарихына қарамастан, глутаматтың нейротоксикалық әсер ету механизмін толық түсінуге әлі қол жеткізілген жоқ.

АМРА-рецепторлар (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid) ОЖЖ-дегі глутаматергиялық сигнализацияның басты делдалдары болып табылады. Олардың активациясы мен инактивациясы кинетикасының өте жылдам болуы постсинапстық мембрананың миллисекунд ішінде тез деполяризациялануына және нейрондар арасында импульстердің жоғары дәлділікпен таралуын қамтамасыз етеді.

Глутаматты нейроуыттылыққа байланысты көптеген зерттеулер глутамат әсерінен дизрегуляция процестерінің пайда болуы мен дамуының жасушалық механизмдерін сипаттауға арналған. Көпшілік жағдайда глутаматтың әсерінен кейін клеткалардың қалпына келу мүмкіндігіне аз көңіл бөлініп келеді. Бұл жұмыс Glu нейроуыттылық дамуының әртүрлі жағдайларында және Glu әсерінен кейін қысқа уақыт аралығында Ca^{2+} гомеостазына әсерінің жасушалық механизмдерін қарастырады.

Глутаматты нейроуыттылықтың дамуының клеткалық механизмдерін түсіну, сондай-ақ глутаматтың әсерінен кейін клетка функциясының қалпына келуі инсульт қаупі бар ми ұлпасының зақымдалуына қарсы тұрудың және әртүрлі жарақаттардан кейін нейрондардың қайтымсыз өлімге ұшырайтын аймағын азайту әдістерін жасауға көмектеседі.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Барлық эксперименттер лабораториялық практика кезіндегі жануарлардың пайдалану және күтімі туралы Ресей Федерациясының Денсаулық сақтау министрлігінің №708 (23 тамыз, 2010 жылы бекітілген) Актімен және Еуропа Қауымының парламентінің зертханалық жануарларды пайдалану және қорғау туралы директивасымен бекітілген ережелерге сай өткізілді. Экспериментте Sprague-Dawley жаңа туылған тышқандардан бөлініп алынған гиппокамп нейрондары мен астроцит клеткаларының аралас 14 күн *in vitro* (DIV) өсірілген культурасы пайдаланылады. $[Ca^{2+}]_i$ деңгейі жалпыға белгілі Grynkiewicz және әріптестерінің ұсынған техникасына сәйкес екі толқындық Fura-2 зондымен бағаланды. Клеткаларды бояу үшін құрамында соңғы концентрациясы 4 мкМ болатын

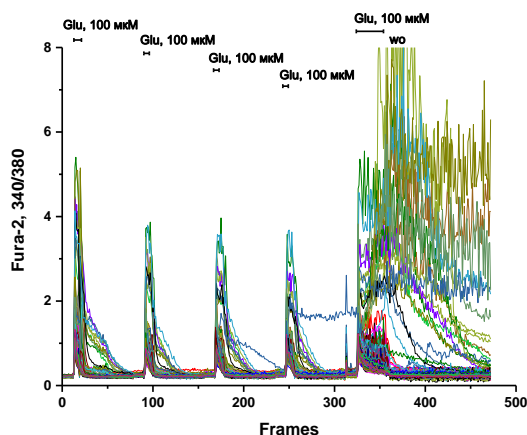


Хенкс ерітіндісінде Fura-2AM эфирі пайдаланылды. Нейрондардағы $[Ca^{2+}]_i$ -ның өзгерісі Fura-2 рентгенометриялық Ca^{2+} сезімтал зондының флуоресценттік интенсивтілігімен бағаланды. $[Ca^{2+}]_i$ Hamamatsu C9100 жоғары жылдамдықты монохромды CCD камерасымен және Leica жоғары жылдамдықты қоздыру сүзгісін өзгерту жүйесімен жабдықталған Leica DMI6000B моторланған инвертирленген микроскопы негізінде кескінді талдау жүйесінің көмегімен өлшенді, өте жылдам дөңгелекті сүзгілерде (коммутация кезеңі 10-30 мс). Біз Leica HC PL APO 20 × / 0.7 IMM объективін қолдандық. Қоздыру көзі ретінде жоғары қысымды HBO 103W сынап шамы бар Leica EL6000 жарықтандырғышы қолданылды. Fura-2 флуоресценциясы қоздырылған және BP340 / 30 және BP387 / 15 қоздырғыш сүзгілері, FT410 сәулелік сплиттері және BP510 / 84 сәулелену сүзгісі бар FU2 сүзгілер жиынтығының көмегімен (Leica, Германия) жазылған. Екі түрлі арнада алынған кескіндердің кадрлары ImageJ бағдарламасымен өңделді. Жалғыз жасушалардың кальций реакциясының амплитудасы кескінді талдау жүйесімен өлшенді және 340 және 380 нм қозған кезде фура-2 флуоресценттік сигналдарының қатынасы ретінде көрінді. Реактивтер инкубациялық ортаны жылдам ауыстыруға мүмкіндік беретін арнайы перфузия жүйесін қолдана отырып, HBSS ерітіндісінің үздіксіз ағынында жүргізілді. Қайталанған тәжірибелер үшін 2-3 түрлі культураларының инокуляцияларынан 2-5 жабын шыныда өсірілген культураларды қолданылды. N - экспериментте талданған нейрондардың саны; n - тәжірибелер саны. $[Ca^{2+}]_i$ өзгерістері суреттерде фонды алып тастағаннан кейін 1 с уақыт аралығымен алынған сигналдардың 340/380 нм қатынасы түрінде көрсетілді. Барлық тәжірибелер 28-30°C температурада жүргізілді. Excel, ImageJ және Origin 2016 деректерді талдау, жоспарлау және статистикалық өңдеу үшін пайдаланылды.

Нәтижелер және оларды талқылау

Егеуқұйрықтың гиппокампының аралас культурасындағы желілік белсенділікті реттеудегі кальций-өткізуші AMPA-рецепторлары бар нейрондардың рөлін зерттеу, сонымен қатар аталған клеткалар популяциясының физиологиялық ерекшеліктерін, атап айтқанда әртүрлі патологиялық жағдайларда тұрақтылықты анықтау үшін біз культуралардағы клеткалардың 30-50% өліміне әкелетін салыстырмалы түрде "жұмсақ" әсері бар эксперименттің оңтайлы хаттамасын таңдау міндетін қойдық.

Глутамат – күшті нейротоксин деген көзқарас бұрыннан танылған. Жарты ғасырдан астам уақыт бұрын ғалымдар өз жұмыстарында тышқанның көз торының ішкі қабаттарына натрий глутаматын енгізу кезінде нейрондардың өлімі анықталды. J.W. Olney орталық жүйке жүйесінің құрылымдарында нейрондардың глутамат-индукцияланған өлімін анықтады [9]. Ол анықталған әсерді "эксайтоуиттылық" деп атады. Сонымен қатар, ол эксайтоуиттылықты глутаматтың антагонистері тоқтата алады деп болжады. Егеуқұйрықтардың мишығы клеткаларының культураларындағы нейрондардың өлімі глутаматтың дозасы 10 мкМ-ден жоғары болған кезде байқала бастайды. Нейрондардағы глутамат рецепторларының барлық түрлерін ұзақ және шамадан тыс ынталандыру клеткадан тыс глутамат 100 мкМ концентрациясында жүреді. Егер клеткаларда энергия таусылса, онда глутамат концентрациясының қалыпты деңгейі де эксайтоуиттылық тудыруы мүмкін. Сонымен, эксайтоуиттылық глутаматтың постсинаптикалық рецепторларының ұзаққа созылған немесе күшті активтенуі нәтижесінде пайда болады. Кейбір жедел немесе созылмалы неврологиялық бұзылулардың патофизиологиясы эксайтоуиттылықпен байланысты [1]. Осыған байланысты зерттеуге глутаматтық уыттылық моделі негізге алынды, бірақ классикалық модельдерден ерекшелігі глутаматты қолдану (100 мкМ) магний иондары бар ортада және глицинді қоспай жасалды.

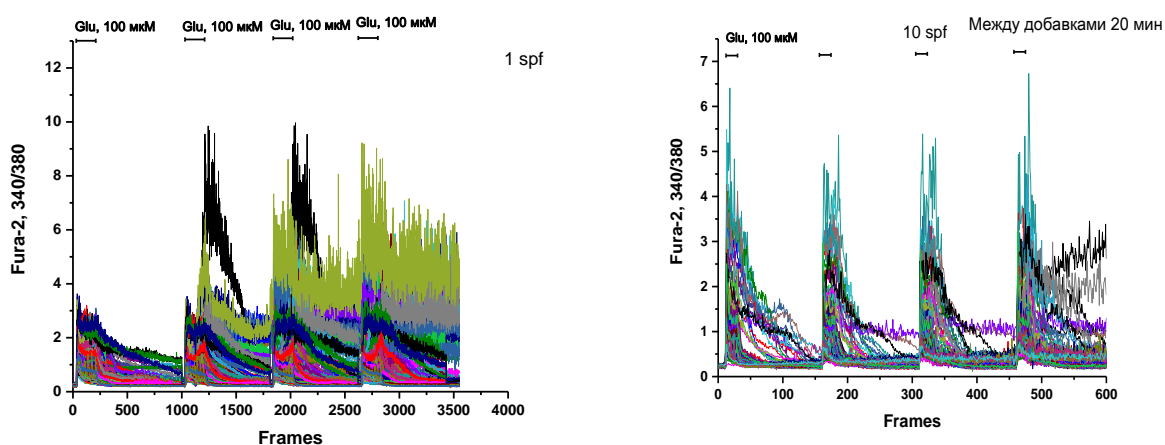


Сурет 1 – Глутаматтың 1 минуттық қысқа мерзімді әсеріндегі кальцийлік жауап

Тәжірибелер топтамасы глутаматтың 1, 3, 5 минуттық қайталанатын қысқа мерзімді әсерінен және ұзақтығы 15 минут болатын бір реттік әсер басталды. Ca^{2+} клеткаішілік концентрациясының қайтымсыз жоғарылауы (негізгі мәндерге дейін төмендемейді, әдетте тұрақты жоғары деңгейде сақталады) клетка қызметінің қайтымсыз бұзылуының критерийі ретінде қарастырылды, ол кейіннен оның өлімімен бірге жүреді. Кезекті глутамат қоспалар арасындағы интервал жазба жүргізілмеген уақытты ескергенде 15 минутты құрады.

100 мкМ глутаматтың бір минуттық әсерімен жүргізілген тәжірибелерде кальций концентрациясының қайтымсыз жоғарылауы бар клеткалардың саны минималды болатындығын және соған ұқсас клеткалар төртінші рет қосқаннан кейін ғана пайда болатындығын көруге болады. Сонымен қатар, жуудан кейін кальций концентрациясының төмендеу ұзақтығы бойынша жасушалар топтарға бөлінетінін көруге болады (desau/артқы фронт). Эксперимент соңында біз 100 мкМ глутаматтың бес минуттық аппликациясын жасадық және бірқатар клеткалардағы артқы фронттың ұзақтығы едәуір артты, ал кейбір жасушаларда қайтымсыз жоғарылау пайда болды.

Осыдан бір минуттық әсер біздің мақсаттарымызға жету үшін жеткіліксіз деп қорытынды жасауға болады.



A

B

Сурет 2 – Глутаматтың 2 минуттық (A) және 5 минуттық (B) қысқа мерзімді әсеріндегі кальцийлік жауап



Үш минуттық аппликация жағдайында баяу артқы фронты бар клеткалардың саны және Ca^{2+} клеткаішілік концентрациясының қайтымсыз жоғарылауы едәуір артады, ал қайтымсыз жоғарылауы бар клеткаларды 2 және 3 қысқа мерзімді глутамат қоспаларынан кейін анықтауға болады.

5 минуттық глутамат аппликациясымен жүргізілген тәжірибе нәтижелері қысқа мерзімді 3 минуттық глутамат әсерімен салыстырғанда айтарлықтай ерекшеленді. Ca^{2+} жасушаішілік концентрациясының қайтымсыз жоғарылауы бар клеткалар екінші қоспадан кейін де анықталды, 2-суреттен көріп отырғанымыздай баяу және жылдам кальций клиренсі бар клеткалар тобы анықталды. Glu рецепторларының ұзақ (10-15 мин) стимуляциясынан кейін нейрондардың баяу өлуі цитозольдік Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) концентрациясының тұрақты артуына байланысты екені белгілі, ол Glu әсерін тоқтатудан тыс мерзімде де сақталуы мүмкін.

Глутаматтың жинақталуы глутамат рецепторларының: NMDA, AMPA, KAR гиперстимуляциясына әкеледі. Нәтижесінде Na^+ және Ca^{2+} иондарының осы рецепторларға байланысты каналдар арқылы ағымы артады. Иондар концентрациясының артуынан кейін цитотоксикалық ісінуге әкелетін пассивті су ағыны жүреді. NMDAR глутаматтың нейротоксикалық аспектілерінде маңызды рөл атқарады [10]. Көптеген зерттеулер NMDAR-индукцияланған кальций әксайтоуыттылық "бірден қосылады", бұл оның пайда болу жылдамдығын көрсетеді.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ:

1. Wang Y., Qin Z. Molecular and cellular mechanisms of excitotoxic neuronal death // *Apoptosis*, 2010, Vol. 15, № 11. P. 1382–1402.
2. Kinawy A.A., Ezzat A.R., Al-Suwaigh B.R. Inhalation of air polluted with gasoline vapours alters the levels of amino acid neurotransmitters in the cerebral cortex, hippocampus, and hypothalamus of the rat. // *Exp. Toxicol. Pathol.*, 2014, Vol. 66, № 5–6. P. 219–24
3. Han J., Wan H.-T., Yang J.-H., Zhang Y.-Y., Ge L.-J., Bie X.-D. Effect of ligustrazine on levels of amino acid neurotransmitters in rat striatum after cerebral ischemia-reperfusion injury. // *J. Asian Nat. Prod. Res.*, 2014, Vol. 16, № 11. P. 1060–7.
4. Kostic M., Zivkovic N., Stojanovic I. Multiple sclerosis and glutamate excitotoxicity // *Rev. Neurosci.*, 2013, Vol. 24, № 1. P. 71–88.
5. Zhou Y., Danbolt N.C. Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain // *J. Neural Transm.*, 2014, Vol. 121, № 8. P. 799–817.
6. Plitman E., Nakajima S., la Fuente-Sandoval C. de, Gerretsen P., Chakravarty M.M., Kobylanski J., Chung J.K., Caravaggio F., Iwata Y., Remington G., et al. Glutamate-mediated excitotoxicity in schizophrenia: A review // *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 2014, Vol. 24, № 10. P. 1591–1605.
7. Gudiño-Cabrera G., Ureña-Guerrero M.E., Rivera-Cervantes M.C., FeriaVelasco A.I., Beas-Zárate C. Excitotoxicity Triggered by Neonatal Monosodium Glutamate Treatment and Blood–Brain Barrier Function // *Arch. Med. Res.*, 2014, Vol. 45, № 8. P. 653–659.
8. Gerkau N.J., Rakers C., Petzold G.C., Rose C.R. Differential effects of energy deprivation on intracellular sodium homeostasis in neurons and astrocytes // *J. Neurosci. Res.*, 2017, Vol. 95, № 11. P. 2275–2285.
9. Olney J.W., Gubareff T. Glutamate neurotoxicity and Huntington's chorea // *Nature*, 1978, Vol. 271, № 5645. P. 557–559.
10. Khodorov B. Glutamate-induced deregulation of calcium homeostasis and mitochondrial dysfunction in mammalian central neurons // *Progress in Biophysics & Molecular Biology*, 2004, Vol. 86. P. 279–351



СОДЕРЖАНИЕ
CONTENT

QARAYEV S.Q. (BAKU, AZERBAIJAN) BOTANICAL AND GEOGRAPHICAL ANALYSIS OF MESOTHERMIC RELICTS OF TURGAI FLORA OF AZERBAIJAN	3
САЛАМАТОВА АҚЖАРҚЫН ЕРБОЛАТҚЫЗЫ (ҚАРАҒАНДЫ, ҚАЗАҚСТАН) БИОЛОГИЯ САБАҚТАРЫНДА ЖОБАЛЫҚ ОҚЫТУ ТАНЫМДЫҚ ҚЫЗЫҒУШЫЛЫҚТЫ ДАМУ ТУРАЛЫ РЕТІНДЕ	10
ГАСАНОВА СЕВДА АДІЛКОМ, ГУЛИЕВА СЕВИНДЖ МЕХИ, СУЛЕЙМАНОВА ГЮЛЬШАН ЧЕРКЕЗ (БАКУ, АЗЕРБАЙДЖАН) ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ОБРАЗОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА ШТАММОМ АКТИНОМИЦЕТА <i>STREPTOMYCES SP.</i> BDU – 17	14
ҚУАНДЫҚОВА ГҮЛЧЕХРА ТҰҢҒЫШҚЫЗЫ, ҮКІБАЕВА ЛАЗАТ ОРАЗБАЙҚЫЗЫ (ТАРАЗ, ҚАЗАҚСТАН) ЖЫЛЫЖАЙ ЖАҒДАЙЫНДА ОРАҚ ТӘРІЗДІ ЦИРТОМИЙ (<i>CYRTOMIUM FALCATUM</i>) ПАПОРОТНИГІН КӨБЕЙТУ	15
ҚУАНДЫҚОВА ГҮЛЧЕХРА ТҰҢҒЫШҚЫЗЫ (ТАРАЗ, ҚАЗАҚСТАН) КАРТОПТЫ ЗАҚЫМДАЙТЫН ВИРУСТАРДЫҢ ТҮРЛЕРІ МЕН БИОЛОГИЯЛЫҚ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ.....	19
ЮНКЕВИЧ ТАТЬЯНА ВЛАДИМИРОВНА (МИНСК, РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ) МОНИТОРИНГ ОХРАНЯЕМЫХ РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ ВИДА <i>ASTRANTIA MAJOR L.</i> НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ	23
ТАПАЕВА МОЛДИР ХУДАЙБЕРДИЕВНА, ДӘУЛЕТҚЫЗЫ АЙБАРАЙ (АҚТӨБЕ, ҚАЗАҚСТАН) БИОЛОГИЯ САБАҚТАРЫН ОҚЫТУДЫҢ ӘДІСТЕРІН ТИІМДІ ПАЙДАЛАНУ	27
ДАВЛЕТЯРОВА МАРТА БАХТИЯРҚЫЗЫ, ЖАПАР ШЫНАР БОЛАТБЕКҚЫЗЫ (АЛМАТЫ, ҚАЗАҚСТАН) «СОСА - СОЛА» СУСЫНЫНЫҢ АДАМ ОРГАНИЗМІНЕ ӘСЕРІ	30
ФАИМОВА ГҮЛДЕН ҚАНАТҚЫЗЫ (ӨСКЕМЕН, ҚАЗАҚСТАН) БИОЛОГИЯ ПӘНІН ТАБЫСТЫ ОҚЫТУДАҒЫ ҚАЛЫПТАСТЫРУШЫ БАҒАЛАУ	33
КУТАС Е. Н., ФИЛИПЕНЯ В.Л., МАХОНИНА О.И., НЕХВЯДОВИЧ А.В. (МИНСК, БЕЛАРУСЬ) ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ СТЕРИЛИЗАЦИИ НА ВЫХОД ЖИЗНЕСПОСОБНЫХ ЭКСПЛАНТОВ ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ СОРТОВ СУРФИНИИ И КАЛИБРАХОА	37
БАТОШОВ АВАЗБЕК РИСКУЛОВИЧ, ХОШИМОВ ХУШБАХТ РУСТАМЖОН ЎҒЛИ (НАМАНГАН, ЎЗБЕКИСТОН) ФАРҒОНА ВОДИЙСИ ШИМОЛИЙ АДИРЛАРИДА <i>PRIMULA FEDTSCHENKOI</i> REGEN. (<i>PRIMULACEAE</i>) ТУРИНИНГ ЯНГИ ЎСИШ НУҚТАЛАРИ	41
¹ҚАЙРАТ Б.Қ., ¹ТӨЛЕУХАНОВ С.Т., ²ЗИНЧЕНКО В.П., ²ГАЙДИН С.Г., ²КОСЕНКОВ А.М. ¹ (АЛМАТЫ, ҚАЗАҚСТАН), ² (ПУЩИНО, РЕСЕЙ) ҚҰРАМЫНДА АМРА-РЕЦЕПТОРЛАРЫ БАР НЕЙРОНДАРДЫҢ ГЛУТАМАТТЫҚ НЕЙРОУЙТТЫЛЫҚҚА ТӨЗІМДІЛІГІН ЗЕРТТЕУ	45
ӘСЕТ ГҮЛЖАН НҮРЖАНҚЫЗЫ (ӨСКЕМЕН, ҚАЗАҚСТАН) ЕЛІМІЗДЕ КЕЗДЕСЕТІН <i>SALIXACEAE</i> ТҰҚЫМДАСЫНЫҢ ТҮРЛЕРІ, БИОЛОГИЯЛЫҚ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ ЖӘНЕ МАҢЫЗЫ	49
ҚҰСПАҒАЛИЕВА ХАНСУЛУ, БЕРЖАНОВА МАҒИЯ ІЗҒАЛИҚЫЗЫ, КАЛИЕВА АҚМАРАЛ ЯРОЛЛАҚЫЗЫ (АТЫРАУ, КАЗАХСТАН) ҚҰМАРШЫҚ ӨСІМДІГІНІҢ ЭКОЛОГИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙЫ	53