

YÜKSƏKDƏRƏCƏLİ İDMANÇILARDA YARIŞDAN QABAQ QANDA VƏ AĞIZ SUYUNDA DİHDROPİRİMİDİNAZAYA BƏNZƏR ZÜLAL 2-nin SƏVİYYƏSİNİN MÜƏYYƏN EDİLMƏSİ

N.Ə. Musayeva^{1a}, A.Ə. Mehdiyev^{2b}, P.İ. Aydınova^{1c}

¹*Azərbaycan Dövlət Bədən Tərbiyəsi və İdman Akademiyası*

²*Azərbaycan Respublikası Elm və Təhsil Nazirliyinin akademik Abdulla Qarayev adına
Fiziologiya İnstitutu*

^a naila.musayeva@sport.edu.az, orcid.org/0000-0002-9308-8026

^b arifmekht@sport.edu.az, orcid.org/0000-0002-8531-0627

^c pariaydinova@sport.edu.az, orcid.org/0009-0006-3184-9244

Nəşr tarixi

Qəbul edilib: 11 iyul 2023

Dərc olunub: 26 sentyabr 2023

© 2022 ADBTİA Bütün hüquqlar qorunur

Annotasiya. Məqalə yarışdan qabaq yüksəkdərəcəli idmançıların trombositlərində və ağız suyunda dihidropirimidinazaya bənzər zülal 2-nin (DBZ2) səviyyəsinin və qan zərdabında DBZ2-yə qarşı təbii autoanticisimlərin səviyyəsinin qiymətləndirilməsinə həsr olunub. Kontrol yerinə həmin idmançılardan sakit vəziyyətdə qan və ağız suyunun nümunələri istifadə olunub. DBZ2-nin və DBZ2-yə qarşı təbii autoanticisimlərin səviyyələri adsorbsiyanın orta səviyyəsi olan polisteren plənşetlərində dolayı immuno-enzim analizi üsulu ilə yerinə yetirilib. Tədqiqatların nəticələrində yarışdan qabaq idmançıların zərdabında gözə çarpan DBZ2-yə qarşı təbii autoanticisimlərin səviyyəsinin azalması ($p < 0.01$) və onların trombositlərində və ağız suyunda DBZ2-nin heç bir dəyişikliklərinin olmaması qeyd olunub. Əvvəlki illərdə aldığımız dəlilləri əsas tutaraq, əldə etdiyimiz nəticələr idmançıların beynin qabıqaltı nahiyələrində DBZ2-nin səviyyəsinin eynixarakterli dəyişikliklərinin əks etdirdiyini və yarışdan qabaq onların aqressiya səviyyəsinin artmasına dəlalət etdiyi barədə qənaətə gəlməyə bizə imkan verir.

Açar sözlər: *idmançılar, trombositlər, qan zərdabı, dihidropirimidinazaya bənzər zülal 2 (DBZ2), DBZ2-yə qarşı təbii autoanticisimlər, dolayı immuno-enzim analizi, idman yarışları.*

Hazırda məşq prosesində idmançıların ha zırlaşdırılması və yarışlara onların yüksək fiziki və mənəvi səviyyəsinə çatdırılması üçün məşqçinin onların orqanizmində fizioloji proseslərin nə səviyyədə olması barədə əlində dəqiq məlumat olmalıdır. Bu cür məlumatın əldə edilməsi yalnız dəqiq, müasir və yüksək həssaslığa malik olan üsulların tətbiqi ilə mümkündür.

Hər bir yarışda iştirak idmançılar üçün həyəcanlılığın yaşanması ilə müşayiət olunan hadisədir. Eyni zamanda insanlar stresli vəziyyətlərə düşərkən, öz həyat təcrübəsinə və sinir sisteminin gücünə əsaslanaraq, neqativ psixoloji amillərin təsirləri onları müxtəlif nişanlı emosional reaksiyaları ilə qarşılayırlar. Emosional reaksiyanın dəqiq göstəricisi olan stres hormonlarının səviyyəsinin dəyişilməsinə baxmayaraq, həmin stresli vəziyyətinə qarşı insan sinir sisteminin uyğunlaşmasının və ya uyğunlaşmamasının (“fight or flight” reaksiyası) müəyyən edilməsi çox vacib problemdir.

Orqanizminin duru mayələrində əvvəlki illərdə akademik Abdulla Qarayev adına Fiziologiya İnstitutunun “İntegrativ fəaliyyətin molekulyar əsasları” laboratoriyasında aparılan tədqiqatların nəticələri göstəriblər ki, adaptasiya prosesinin göstəricisi yerinə dihidropirimidinazaya bənzər zülal 2-nin (DBZ2) [7, 10] istifadə edilməsi mümkündür. Xüsusən, heyvan modellərində və insanlar üzərində aparılan tədqiqatlar bu zülalın depressiya, aqressiya davranışı və həyəcanlılıq yaranmasında aktiv iştirak edilməsi barədə sübutlar əldə edilib [1,

8]. Bizim qarşımıza qoyulan məqsəd yarış qa-bağı idmançıların trombositlərində və ağız su-yunda DBZ2-nin səviyyəsinin və zərdab nü-munələrində DBZ2-yə qarşı təbii autoantici-simlərin səviyyəsinin müəyyən edilməsidir.

Material və metodlar. Tədqiqatlar yük-səkdərəcəli oğlan basketbolçular ($n=8$) üzərində aparılıb və onların sakit vəziyyətində və “startqabağı həyəcan” şəraitində qan və ağız suyu nümunələri götürülüb. Sınaqdan keçənlərin venasından antikoagulyant yerinə etilendiamin tetraasetat (EDTA)-nın 5%-li məhlulunu ehtiva edən 5 ml həcmində qan sınaq borularına yığılıb və 700 RCF sürətilə, 10 dəq ərzində sentrifuqada qanın plazması ayrılıb. Plazma nümunələrindən 9000 RCF sürətilə, 16 dəq ərzində sentrifuqada trombositlər çöktürülüb, ekstraksiya buferinin vasitəsilə suda həll olunan zülallar ekstraksiya olunub və dolayı immuno-enzim analiz üsulunda (DİEA) 20 mq/ml qatılıqda 0.1 M tris-HCl buferində (pH 8.6) antigen yerinə istifadə olunub. Reaksiya orta səviyyəli adsorbsiya olan polisteren planşetlərinin (Sigma, Almaniya) üzərində aparılıb. Birincili anticisimlər yerinə anticisimlər buferində (pH 7.3) DBZ2-yə qarşı poliklonal ada dovşanlarının immunoqlobulinləri tətbiq olunub. İkincili anticisimlər yerinə anticisimlər buferinin tərkibində (pH 7.3) ada dovşanlarının immunoqlobulinlərinə qarşı qıtıqotu peroksidaza ilə konyuqasiya olunmuş keçi immunoqlobulinləri (Sigma, Almaniya) istifadə olunub. Peroksidaza substratının yerinə 0.05 M sitrat-fosfat buferində (pH 4.5) 0.5 mq/ml qatılıqda ortofenilendiamin tətbiq olunub. Reaksiyanı dayandırılmaq üçün planşetin oyuqlarına substrat əlavə etdikdən 20 dəq sonra hər bir oyuğa 50 mkl həcmində 3 M NaOH əlavə olunub və reaksiyanın nəticələri “Molecular Devices Spectra Max 250” (MTX Lab Systems, Inc., ABŞ) 492 nm dalğa uzunluğunda (nisbi dalğa uzunluğu 630 nm) qeydə alınıb[3].

Sınaq borularında çöküntülərin (trombositlər) üstündə olan zərdab DBZ2-yə qarşı təbii autoanticisimlərin səviyyəsinin müəyyən edilməsi üçün istifadə olunub. DİEA-nin qoyulma-

sının bu formasında antigen yerinə 0.1 M tris-HCl buferində (pH 8.6) 20 mq/ml qatılıqda təmizlənmiş DBZ2 tətbiq olunub. Zərdab nümunələri anticisim buferində (pH 7.3) 1:75 durulaşdırılma nisbətilə DİEA-də birincili anticisimlər yerinə tətbiq olunub. İkinci anticisimlər yerinə anticisimlər buferinin tərkibində (pH 7.3) insan immunoqlobulinlərinə qarşı qıtıqotu peroksidaza ilə konyuqasiya olunmuş siçan immunoqlobulinləri (Sigma, Almaniya) istifadə olunub. Reaksiyanın sonrakı mərhələləri yuxarıda göstərilən kimi aparılıb.

DİEA üsulu ilə DBZ2-nin səviyyəsinin müəyyən edilməsi üçün basketbolçulardan ağız suyu nümunələri də götürülüb. Reaksiyanın gedişi trombositlərdə DBZ2-nin səviyyəsinin müəyyən edilməsi kimi oxşar şəkildə yerinə yetirilib.

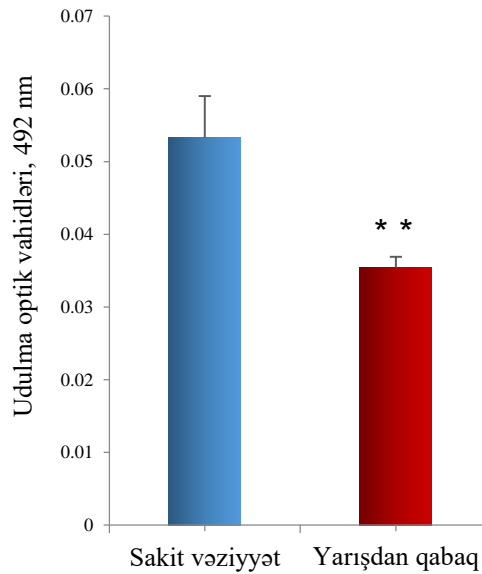
DBZ2 mal baş beynindən amonium sulfatın qismən (0-40%) çöktürülməsi və sefadeks G-150 sütununun üzərində (3 X 60 sm) gel-xromatoqrafiya vasitəsilə çıxarılıb. Sonra ultrafiltrasiya üsulunun vasitəsilə zülalın qatılığı 3 dəfəyə qədər qatılaşdırılıb və distillə suyuna qarşı 6 s ərzində, $+5^{\circ}\text{C}$ temperatur şəraitində dializləşdirilib. Dializdən sonra kalsium ionlarından azad olması üçün zülal qabaqca deionizə olunmuş 40 Mm EDTA məhlulunda sirkələdici üstündə $+5^{\circ}\text{C}$ temperatur şəraitində gecə ərzində saxlanılıb. Sonra da dar (pH 4-6) diapazonda olan amfolinlərin tətbiqi ilə izoelektrik fokuslaşma üsulunun 5 s ərzində zülal məhlulunun fraksiyaları ayrılıb və gəldən elusiya olunarkən, bütün nümunələrin pH göstəricilərini müəyyən etdikdən sonra pH-ın qradienti tərtib olunub. DBZ2-nin izoelektrik nöqtəsinə aid olan fraksiyası DBZ2 kimi saxlanılıb və dondurulub. Zülalın homogenliyini 4-12%-li poliakrilamid gəldə tris-qlisin bufer sisteminə (pH 8,3) elektroforez üsulu ilə müəyyən olunub[6].

Əldə olunmuş nəticələr hər qrup üzrə toplanılıb və Styudentin *t*-meyarının əsasında statistik təhlil aparılıb [13].

Tədqiqatın nəticələri və onların müzakirəsi. Aparığımız tədqiqatların nəticələri

gös-tərir ki, yüksək dərəcəli basketbolçuların sakitlik vəziyyətinə nisbətən yarışdan dərhal qabaq onların zərdab nümunələrində DBZ2-yə qarşı təbii autoanticisimlərin səviyyəsinin gözə çarpan azalması müşahidə olundu. Xüsusən, basketbolçuların sakit vəziyyətində DBZ2-yə qarşı təbii autoanticisimlərinin səviyyəsi 0.053 ± 0.006 udulma optik vahidləri (UOV) olduğu halda, yarışdan dərhal qabaq onların səviyyəsi 0.035 ± 0.002 UOV-ə bərabər oldu ($p < 0.01$;

Şək. 1). Eyni zamanda basketbolçuların sakitlik vəziyyətində və yarışdan dərhal qabaq zamanında trombositlərdə DBZ2-nin səviyyəsi etibarlı dərəcədə fərqlənmirdi (müvafiq olaraq, 0.341 ± 0.002 UOV və 0.299 ± 0.03 UOV, $p > 0.05$). Basketbolçuların ağız suyunda da sakitlik və yarışdan qabaq vəziyyətlərində DBZ2-nin səviyyələri arasında fərq aşkar olunmadı (müvafiq olaraq, 0.225 ± 0.016 UOV və 0.22 ± 0.014 UOV).



Şəkil 1. İdmançıların zərdabında yarışdan qabaq zamanı DBZ2-yə qarşı təbii autoanticisimlərin səviyyəsinin dəyişiklikləri. ** - $p < 0.01$.

Basketbolçuların trombositlərində və zərdab nümunələrində tədqiqatlarımızda qeyd olunmuş dəyişikliklər yalnız qanda baş verən proseslər ilə bağlı deyil və beyin nahiyələrində gedən proseslər barədə dəqiq məlumatın əldə edilməsinə imkan verirlər. Belə ki, trombositlərdə serotoninergik sistemin göstəriciləri insan beyninin qabığına serotoninergik sistemin dəyişikliklərini tam dərəcədə əks etdirirlər [4, 5] və beyin qabığına DBZ2-nin səviyyəsini çox yüksək dəqiqlik ilə əks etdirir. Digər tərəfdən, vurğulamaq lazımdır ki, insan bədənində bütün (suda həll olunan, hidrofob strukturlu və tənзимedici rolu yerinə yetirən zülallar daxil olmaq şərtilə) zülallara qarşı təbii autoanticisimlər aşkar olunur [12]. Bu cür zülallar orqanizm daxilində heç bir patoloji proseslərin

gedişində iştirak etməzlər və yalnız zülalların homeostazında tənзимedici funksiyaları realizə edirlər. Əvvəlki illərdə akademik Abdulla Qarayev adına Fiziologiya İnstitutunun “İntegrativ fəaliyyətin molekulyar əsasları” laboratoriyasında (rəhbər – b.e.d. A.Ə.Mehdiyev) heyvanlar üzərində aparılan tədqiqatların nəticələri şahadət edir ki, qan zərdabında DBZ2-yə qarşı təbii autoanticisimlərin səviyyəsi çox dəqiq dərəcədə heyvanların qabıqaltı strukturlarında onun səviyyəsini əks etdirir [8].

Beləliklə, yüksək dərəcəli basketbolçuların “startqabağı həyəcan” vəziyyəti zamanı zərdab nümunələrində DBZ2-yə qarşı təbii autoanticisimlərin səviyyəsinin gözə çarpan azalması onların beyninin qabıqaltı strukturlarında eyni dərəcədə və istiqamətdə DBZ2-nin səviyyəsinin azalması ilə əlaqəli proseslərin

yəsinin dəyişilməsinə dəlalət edir. Əvvəlki illərdə dominantlıq modelində siçovul üzərində aparılan tədqiqatların nəticələri göstəriblər ki, təcavüzkar siçovulların zərdabında DBZ2-yə qarşı təbii autoantici-simlərin səviyyəsi və aqressiya davranışını tənzim edən beyinin amiq-dalasında DBZ2-nin səviyyəsi oxşar və qabarıq şəkildə azalırdı [9]. Digər tərəfdən, cərrahiyyə əməliyyatına təyin olunan xəstələrdə həyəcanlılığın yüksək səviyyəsini göstərən onların zərdabında DBZ2-yə qarşı təbii autoantici-simlərin səviyyəsinin kəskin dərəcədə artırılmasıdır [1]. Heyvanlar və insanlar üzərində alınmış sözügedən tədqiqatların nəticələrini nəzərə alaraq, basketbolçuların üzərində bizim aldığımız nəticələr belə qənaətə gəlməyə töhfə verirlər ki, yarışdan qabaq yüksək dərəcəli basketbolçuların həyəcanlılıq səviyyəsi müşahidə olunmurdu və onlarda qan zərdabında apardığımız analizin nəticələri əsasında yalnız aqressiya səviyyəsinin artımı müəyyən olunurdu.

ƏDƏBİYYAT

1. **Аллахвердиева Т.Н., Мехтиеv Х.Ш., Гайсина А.А., Мехтиеv А.А.** *Серотонин-модулируемый антиконсолидационный белок способствует выживанию животных разных видов при воздействии бактериальных и химических токсинов.* Журнал эволюцион. Биохимии и физиологии, 2019, т. 55, № 1, с. 23-27.
2. **Гулиева Ш.М., Мехтиеv А.А.** *Участие дигидропиримидиназа-подобного белка 2 в регуляции тревожности у человека.* Российский физиол. Журнал им. И.М.Сеченова, 2023, т. 108, №1, с.34-45.
3. **Catty D., Raikundalia Ch.** *Immune enzyme analysis.* In Catty D (ed) *Antibodies. Volume II: A Practical Approach.* Oxford University Press, IRL Press, Oxford. 1989, pp. 152-238.
4. **Collins Ch.M., Kloek J., Elliott J.M.** *Parallel changes in serotonin levels in brain and blood following acute administration of MDMA.* J PsychopHarm. 2013, 27:109–112.
5. **Elliott J.M., Kent A.** *Comparison of [125I] iod-lysergic acid diethylamide binding to human frontal cortex and platelet tissue.* J Neurochem. 1989, 53:191-196.
6. **Gaisina A.A., Mekhtiev A.A., Nurullayeva A.N., Palatnikov G.M., Shamilov E.N.** *The impact of background γ -radiation on erythrocyte nuclear pathology, the serotonergic system, and cytochrome P-450 in hens (*Gallus gallus domesticus*) from Azerbaijan.* Ecotoxicology. 2022, (5):846-851. Doi:10.1007/s10646-022-02540-8.
7. **Goshima Y., Nakamura F., Strittmatter P. & Strittmatter S.M.** *Collapsin-induced growth cone collapse mediated by an intracellular protein related to UNC-33.* Nature. 1995, 376:509-514.
8. **Hasanova L.F.** *The changes of serotonin-modulating anticonsolidation protein and dihydropyrimidinase-related protein 2 in the amygdala and blood of depressive rats.* Azerbaijan Journal of PHysiology. 2022, 37, 2:7-12.
9. **Huseynov Sh.B., Mekhtiev A.A.** *Studies of the engagement for serotonergic system in regulation of aggressive behavior in two behavioral models on rats.* Journal of Life Sciences & Biomedicine, 2022, V. 4 (77), No 1, p. 97-105.
10. **Inagaki N., Chihara K., Arimura N., Ménager C., Kawano M.N. et al.** *CRMP-2 induces axons in cultured hippocampal neurons.* Nature Neuroscience. 2001, 4: 781–782.
11. **Mekhtiev A.A., Allahverdiyeva T.N., Movsumzadeh S.K.** *DNA integrity-protecting and survival-promoting activity of serotonergic system in sturgeon juveniles and sazans.* Fish PHysiology and Biochemistry. 2017, V. 43, № 4, pp. 1153-1160.
12. **Poletayev A.B.** *Regulatory autoantibodies.* In book: *Monoclonal Antibodies in Neurobiology.* 1995, Novosibirsk, pp. 37-47.
13. **Rohlf F.J. & Sokal R.R.** *Statistical tables. In: Biometry: the Principles and Practice of Statistics in Biological Research.* 1995. 3rd edn, p. 199. WH Freeman&Co, New York.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ ДИГИДРОПИРИМИДИНАЗА-ПОДОБНОГО БЕЛКА 2 В КРОВИ И СЛЮНЕ У ВЫСОКОКЛАССНЫХ СПОРТСМЕНОВ ПЕРЕД НАЧАЛОМ СОРЕВНОВАНИЙ

Н.А. Мусаева^{1a}, А.А. Мехтиеv^{2b}, П.И. Айдынова^{1c}

¹ Азербайджанская Государственная Академия Физической Культуры и Спорта

² Институт физиологии им. академика Абдуллы Гараева Министерства Науки и Образования Азербайджанской Республики

^a naila.musayeva@sport.edu.az, orcid.org/0000-0002-9308-8026

^b arifmekht@sport.edu.az, orcid.org/0000-0002-8531-0627

^c pariaydinova@sport.edu.az, orcid.org/0009-0006-3184-9244

Аннотация. Статья посвящена определению уровня дигидропипимидиназа-подобного белка 2 (ДПБ2) в тромбоцитах и слюне и естественных аутоантител к ДПБ2 в сыворотке у высококлассных спортсменов перед началом соревнований. Пробы крови и слюны, взятые у этих же спортсменов в спокойном и расслабленном состоянии, служили в качестве контроля. Определение уровня ДПБ2 и естественных аутоантител к нему были выполнены с помощью непрямого иммуноферментного анализа на полистироловых планшетах с умеренным уровнем сорбции. Полученные результаты указывают на значительное снижение уровня естественных аутоантител к ДПБ2 в сыворотке ($p < 0.01$) и на отсутствие

изменений уровня ДПБ2 в тромбоцитах и слюне у этих спортсменов перед началом соревнований. Основываясь на полученных ранее нами данных, можно прийти к заключению о том, что результаты отражают аналогичные изменения уровня ДПБ2 в подкорковых структурах головного мозга спортсменов и указывают на повышение уровня их агрессивности перед началом соревнований.

Ключевые слова: спортсмены, тромбоциты, сыворотка крови, дигидропипимидиназа-подобный белок 2 (ДПБ2), естественные аутоантитела к ДПБ2, непрямоy иммуноферментный анализ, спортивные соревнования.

EVALUATION OF DIHYDROPYRIMIDINASE-RELATED PROTEIN 2 IN THE HIGH-CLASS SPORTSMEN'S BLOOD AND SALIVA BEFORE COMPETITION

N.A. Musayeva^{1a}, A.A. Mehdiyev^{2b}, P.I. Aydinova^{1c}

¹ Azerbaijan State Academy of Physical Education and Sport

² Academician Abdulla Garayev Institute of Physiology, Ministry of Science and Education of Azerbaijan Republic

^a naila.musayeva@sport.edu.az, orcid.org/0000-0002-9308-8026

^b arifmekht@sport.edu.az, orcid.org/0000-0002-8531-0627

^c pariaydinova@sport.edu.az, orcid.org/0009-0006-3184-9244

Annotation. The article concerns evaluation of the levels of dihydropyrimidinase-related protein 2 (DRP2) in the platelets and saliva and natural anti-DRP2 autoantibodies in the serum of the high-class sportsmen before com-

petition beginning. The blood and saliva samples taken from the same sportsmen in quiet and relaxed state served as controls. Evaluation of the levels of DRP2 and natural anti-DRP2 autoantibodies was carried out by indi-

rect ELISA test on polystyrene plates with moderate level of adsorption. The results indicate to noticeable down regulation of natural anti-DRP2 autoantibodies in the serum ($p < 0.01$) and to lack of any changes of DRP2 levels in the platelets and saliva of these sportsmen before competition beginning. Basing on our earlier data, we come to a conclusion that the results reflects the similar changes of DRP2

level in the sportsmen's brain subcortical structures and indicate to increase of their aggression level prior to competition beginning.

Keywords: *sportsmen, platelets, serum, dihydropyrimidinase-related protein 2 (DRP2), natural anti - DRP2 autoantibodies, indirect ELISA test, sport's competition.*