

ФОРМУВАННЯ АДАПТИВНОЇ РЕАКЦІЇ ЦНС ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГІПЕРТИРЕОЗУ: ОНТОГЕНЕТИЧНИЙ АСПЕКТ

В експерименті на щурах трьох вікових груп – ювенільних (5–6 тижнів), молодих (5–6 місяців), старих (20–24 місяців) вивчали ступінь формування адаптивної реакції кори і гіпокампа за умов гіпертиреозного стану. Підвищення рівня тиреоїдних гормонів супроводжувалося змінами концентрації вільних поліненасичених жирних кислот ($C_{18:2,3}$) у даних структурах мозку. В ювенільних тварин відмічали надмірне збільшення вмісту лінолевої та ліноленової кислот у корі й гіпокампі – в 3,2 та 5,4 раза відповідно. У молодих щурів також спостерігали зростання рівня даної фракції вільних жирних кислот, але помірно: в неокортексі – на 104,8 %, у гіпокампі – на 51,8 %. У старих тварин, на відміну від двох молодших вікових груп, гіпертиреоз викликав зниження рівня поліненасичених жирних кислот у корі великих півкуль на 66,4 %. Така перебудова жирнокислотного спектра вільних жирних кислот може модифікувати в'язкісні властивості мембран та модулювати їх рецепторну активність, зокрема щодо серотонінової медіаторної системи мозку.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпертиреоз, поліненасичені жирні кислоти, неокортекс, гіпокамп, онтогенез.

ВСТУП. Роль тиреоїдних гормонів (ТГ) у формуванні адаптивної реакції достатньо важлива та відома [7]. Підвищуючи пресорний катехоламіновий ефект, забезпечуючи достатній обмін клітин з переважанням катаболізму, що посилює енергетичний ресурс, ТГ відіграють суттєву роль в організації неспецифічної та, в подальшому, специфічної компенсаторної відповіді. Основна кількість робіт щодо участі даних гормонів у формуванні резистентності організму до стресових факторів стосувалась вегетативних систем, а також рухових функцій. Механізми організації вищої реакції, зокрема поведінкової і когнітивної активності, не з'ясовані та в більшості випадків суперечливі, хоча роль ТГ у формуванні психоемоційного статусу організму достатньо відома і широко обговорювалась у науковій літературі [11]. На перший погляд, можна передбачити підвищені можливості адаптування мозку за даного "гормонального стресу", хоча можливе і протилежне припущення – надмірний нейрометаболізм може призвести до дистресу та зриву компенсаторних процесів.

За даними експериментальних досліджень, однією з неспецифічних адаптативно-компенсаторних реакцій ЦНС є активація вільно-

© О. Г. Родинський, О. Ю. Кондратьєва, О. М. Демченко, 2016.

радикального окиснення як результат мобілізації енергетичних та пластичних ресурсів, що вважають обов'язковим атрибутом посиленого аеробного метаболізму. Лабільність даного процесу визначається віковими особливостями ЦНС. Зокрема, у старих тварин ця неспецифічна компенсаторна реакція відстрочена в часі та зменшена за інтенсивністю [6].

Зважаючи на те, що в процесі пероксид окиснення ліпідів (ПОЛ) використовуються перш за все поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК), то можлива модифікація складу ліпідів у бік зменшення "ненасиченості". Така перебудова жирнокислотного спектра змінюватиме в'язкісні й функціональні характеристики мембран, особливо щодо рецепторної активності. Модуляція синаптичної передачі окремих нейромедіаторних систем мозку, можливо, буде основою нейрохімічного механізму змін психоемоційної та когнітивної функцій ЦНС за умов гіпертиреозу [13]. Тому з'ясування вікового аспекту механізмів впливу ТГ на процеси формування адаптивних реакцій мозку, зокрема спонтанної поведінки та просторової пам'яті, стало метою даного дослідження.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експеримент проводили на білих щурах лінії Вістар трьох вікових

груп – ювенільних (5–6 тижнів), молодих (5–6 місяців), старих (20–24 місяців). Дослідження виконували відповідно до існуючих міжнародних вимог і норм гуманного ставлення до тварин (Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, Страсбург, 1986; Закон України від 21.02.2006 р. № 3447 – IV).

Гіпертиреоїдний стан моделювали шляхом введення з їжею подрібнених до порошку таблеток L-тироксину (“Berlin-Chemie AJ”, Німеччина) впродовж двох тижнів у дозах, які поступово підвищували, що пов’язано з інактивацією екзогенного тироксину. На початку експерименту доза препарату була більшою за добову продукцію тироксину (3–5 мкг/тварину) і становила 10 мкг/добу. Щодобово концентрацію тироксину підвищували на 10 мкг порівняно з попередньою. Вірогідність створеної моделі підтверджували визначенням у кінці експерименту концентрації тироксину і тиреотропного гормону в плазмі крові піддослідних щурів та оцінкою клінічного статусу тварин (маса тіла, частота серцевих скорочень, рухливість, збудливість, емоційність).

Для визначення рівня вільних жирних кислот (ВЖК) у ліпідах мозку тварин декапітували, брали мозок на холоді (0–2 °C) та виділяли кору великих півкуль і гіпокамп. Екстракцію ліпідів проводили за методом Фолча [8]. Тканини мозку гомогенізували в 3,5 мл суміші хлороформ–метанол у пропорції 1:2. Метилювання ВЖК проводили за допомогою 5 % розчину диметилсульфату в метанолі. ВЖК розчиняли в 1 мл хлороформу й виявляли методом газохроматографічного аналізу на хроматографі Chrom 5 (Чехія). Умови газорідної хроматографії: скляна колонка розміром 1 м×3 мм, нерухома фаза 5 % SP-2100 на хроматон N-Super (0,16–0,20 мм); газ-носії – азот (осч), витрачання – 60 мл/хв. Температура випаровувача – 230 °C; температура полум’яно-іонізаційного детектора – 250 °C; запрограмований режим температури – від 150 до 270 °C зі швидкістю 5°/хв. Якісний аналіз метилових ефірів жирних кислот проводили за часом утримування стандартів. Кількісну оцінку спектра жирних кислот ліпідів здійснювали методом нормування площин і визначали у відсотках.

Результати дослідження оброблено за допомогою параметричних методів статистики з використанням t-критерію Стьюдента для малих вибірок [3]. Зміни показників вважали вірогідними при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Дослідження формування системної пристосувальної інтегративної діяльності ЦНС за умов гіперти-

реоїдного статусу, проведені нами раніше, охоплювали рівень уродженої поведінкової реакції на освітлений відкритий простір, а також набутої харчової поведінки у 8-променевому лабіринті [1]. Показано, що організація захисної компенсаторної поведінки у “відкритому полі” залежала від онтогенетичного рівня розвитку ЦНС. Відмічено суттєвий поведінковий дефіцит в ювенільних щуренят, зменшення емоційності у молодих тварин та відсутність змін спонтанної рухливо-дослідницької активності у старих щурів. При вивченні набутої пошукової харчової поведінки у 8-променевому лабіринті також було виявлено майже протилежні, визначені віком тварин, зміни ступеня формування їждобувних рефлексів. Зокрема, в ювенільних щуренят спостерігали зменшення кількості виконаних реакцій з пошуку їжі. У молодих тварин, навпаки, гіпертиреоїдний стан супроводжувався покращенням виконання пристосувальних харчових рефлексів. Процес вироблення набутої їждобувної поведінки, як і уроджена спонтанна рухливо-дослідницька активність, у старих щурів залишався без суттєвих змін. Тобто організація інтегративної пристосувальної діяльності в ювенільних тварин майже відсутня, більш схожа на дезадаптацію, в молодих – суттєво виражена, у старих – меншою мірою.

Одним із можливих тиреоїдних механізмів формування адаптивної відповіді ЦНС може бути модуляція нейромедіаторних систем мозку та підтримання нейрометаболічного гомеостазу. З даного питання достатньо відомі дані про участь ТГ у модифікації складу мембранних ліпідів у бік підвищення “ненасиченості” [14]. Наслідком такої клітинної перебудови є функціональні зміни рецепторних властивостей мембран. До важливих показників ліпідного обміну клітини належить фракція вільних жирних кислот, які становлять основний ресурс для підтримання якісного і кількісного складу мембранних фосfolіпідів та, взагалі, ліпідного гомеостазу мозку.

При визначенні кількості ВЖК у мозку піддослідних щурів було виявлено суттєві зміни концентрації ПНЖК (лінолевої та ліноленової) залежно від віку тварин. В ювенільних щуренят спостерігали значне накопичення даних сполук: у корі – в 3,2 раза, в гіпокампі – у 5,4 раза (табл. 1, 2).

У неокортексі, крім підвищення кількості ПНЖК, збільшилась на 46 % ($p < 0,01$) загальна частка ненасичених ЖК. Зокрема, зросла на 62,9 % ($p < 0,01$) концентрація олеїнової ($C_{18:1}$) кислоти. У гіпокампі підвищення ненасиченої фракції ВЖК супроводжувалося зменшенням насиченої фракції: $C_{16:0}$, $C_{19:0}$, $C_{21:0}$ в межах 15–30 % ($p < 0,01$). Такий дисбаланс у спектрі ВЖК у

Таблиця 1 – Вміст (%) вільних лінолевої і ліноленової кислот у корі великих півкуль щурів різного віку (M±m)

Група тварин	Контроль	Гіпертиреоз
Ювенільні (n=12)	0,43±0,07	1,37±0,41*
Молоді (n=16)	1,67±0,13	3,42±0,89*
Старі (n=12)	1,22±0,20	0,41±0,20**

Примітка. * – достовірність відмінностей, порівняно з контролем, при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$.

Таблиця 2 – Вміст (%) вільних лінолевої і ліноленової кислот у гіпокампі щурів різного віку (M±m)

Група тварин	Контроль	Гіпертиреоз
Ювенільні (n=12)	0,16±0,06	0,87±0,18**
Молоді (n=16)	4,69±0,64	7,53±0,86*
Старі (n=12)	0,33±0,07	0,36±0,10

Примітка. * – достовірність відмінностей, порівняно з контролем, при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,001$.

бік ненасиченої фракції може бути результатом загальної адаптивної реакції накопичення різних сполук у відповідь на інтенсифікацію ПОЛ у процесі посилення функціональної активності мозку при гіпертиреозі. Відомо, що в стані стресової реакції мобілізація енергетичного та пластичного метаболізму ЦНС супроводжується компенсаторним посиленням аеробного обміну та, як наслідок, про-антиоксидативного балансу [10]. В процесі вільнорадикального окиснення ліпідів найбільш уразливою ланкою є поліненасичені жирні кислоти. Тому для підтримання стабілізації структури ліпідів при інтенсифікації ПОЛ зростає і рівень його використаних субстратів – ПНЖК.

Під час раніше проведених нами досліджень встановлено зменшення активності глутатіонпероксидази (ГПО) в неокортексі й гіпокампі за відсутності змін рівня первинних та кінцевих продуктів ПОЛ – дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду [2]. Таке зміщення рівноваги про-антиоксидативного обміну в бік останньої складової може бути компенсаторною реакцією на посилення ПОЛ. Можливо, за рахунок надмірної інтенсивності антиокиснювального захисту процесу радикалоутворення гальмувались. Зіставляючи ступінь надмірного підвищення вмісту ПНЖК та незначну інактивацію ГПО за відсутності змін продуктів ПОЛ, можна припустити, що накопичення ненасиченої фракції ВЖК, найімовірніше, є специфічною модифікацією структурної перебудови мембранних ліпідів, а не компенсаторно-приспосувальною відповіддю на посилення вільнорадикального окиснення ліпідів. Тому другим припущенням накопичення вільних ПНЖК у корі й гіпокампі ювенільних щуренят може бути виведення їх зі складу ліпідів мозку в процесі гідролізу [4].

Інтегративна діяльність ЦНС ювенільних тварин за умов гіпертиреозу, яка проявилася значним поведінковим та когнітивним дефіцитом, мала характерні ознаки депресивного стану, це, найімовірніше, пов'язано з надмірною активацією серотонінової медіаторної системи [4]. Тобто збільшення вмісту $S_{18:2,3}$ як результат гідролізу ліпідів ненасиченої фракції призводить до суттєвих змін жирнокислотного спектра ліпідів, що супроводжуються зменшенням “ненасиченості”, відповідно, збільшенням в'язкості та, як наслідок, посиленням латерального стискання білків-рецепторів і полегшенням зв'язування з ними серотоніну [9].

У молодих тварин направленість змін поведінкової активності також мала депримуєчий характер, але стосувалася лише емоційної сфери. Когнітивна функція, навпаки, покращувалася. На фоні розгортання такої вищої адаптивної реакції молодих щурів за умов посиленого тиреоїдного статусу спостерігали накопичення вільних ПНЖК, але, на відміну від ювенільних тварин, помірно: на 104,8 % – у неокортексі, на 51,8 % – у гіпокампі (табл. 1, 2). Такий перерозподіл ВЖК на користь ненасиченої фракції на фоні відсутності змін про-антиоксидативної рівноваги в даних структурах ЦНС дає можливість припустити наявність специфічного процесу модифікації структури ліпідів мозку [12].

В науковій літературі достатньо відомі дані про вагомую роль серотонінової модулюючої системи у формуванні когнітивних функцій, зокрема в процесі вироблення умовних реакцій при позитивному підкріпленні. Можливо, покращення виконання набутої харчової поведінки молодих щурів за умов експериментального гіпертиреозу є результатом активації серотонінергічної медіації [2]. Таким чином, гіпертиреоїдний статус у ювенільних та молодих тварин характеризувався зростанням частки вільних ПНЖК, але інтенсивнішим у молодшій за віком групі. Ці зміни, ймовірно, пов'язані зі специфічною адаптивною модифікацією жирнокислотного спектра ліпідів у бік вивільнення ПНЖК з їх складу, що можна пояснити перш за все модуляцією серотонінергічної медіаторної системи мозку. Зменшення ненасиченої фракції в структурі ліпідів призводило до збільшення в'язкості та, як результат, зменшення її проникності, а отже, і метаболізму. Для менш пластичної та вразливої дефінітивної ЦНС дана перебудова мембранних ліпідів була надмірною і проявилася порушенням уродженої та набутої поведінки. У молодих щурів, навпаки, помірно збільшення в'язкості ліпідів призвело до зменшеного, але більш “економного”, обміну та ефективного посилення серотонінової синаптичної передачі. Така ком-

пенсаторна нейрохімічна структурна перебудова кори і гіпокампа на функціональному рівні проявилася покращенням просторової пам'яті.

На відміну від молодших за віком щурів, у старих тварин концентрація вільних ПНЖК у неокортексі зменшувалась на 66,4 % ($p < 0,05$) (табл. 1). При цьому в даній структурі мозку спостерігали збільшення вторинних продуктів ПОЛ та зменшення активності ГПО [5]. Обидва показники є результатом посилення пероксидного окиснення мембранних ліпідів. Можливо, зменшення ресурсів вільних $C_{18:2,3}$ пов'язане з компенсаторним поповненням даного пулу в структурі естерифікованих фосфоліпідів. Тобто у старих тварин за умов гіпертиреозу розвивалась неспецифічна адаптивна реакція в системі структура–функція у вигляді інтенсифікації проантисексидативного механізму захисної клітинної відповіді. Можливо, підтримання ліпідного мембранного гомеостазу неокортексу супроводжувалося і “поведінковим гомеостазом”. Під час дослідження спонтанної поведінки у “відкритому полі” та вироблення їждобувних реакцій у 8-променевому лабіринті не було виявлено суттєвих змін когнітивної діяльності ЦНС даної вікової групи тварин. Тому введення ТГ старим щурам на фоні зниженого гормонального статусу

сприяло формуванню вищої адаптивної реакції мозку. Це ще раз підтверджує значну роль ТГ у підтриманні адаптивних можливостей ЦНС впродовж усього життя.

ВИСНОВКИ. 1. Підвищення тиреоїдного статусу супроводжувалося зростанням кількості вільних $C_{18:2,3}$ в корі й гіпокампі ювенільних (в 3,2–5,4 раза) та молодих (на 66–105 %) щурів і, навпаки, зменшенням (на 66 %) даних сполук у неокортексі старих тварин.

2. Нейрохімічні зміни складу ліпідів кори і гіпокампа за умов гіпертиреозу в молодих і ювенільних тварин були специфічною адаптивною реакцією ЦНС, направленою на модифікацію клітинного гомеостазу та модуляцію серотонінергічної медіаторної системи. У старих щурів ТГ підтримували стабільність жирнокислотного спектра ліпідів, клітинного метаболізму, що сприяло розвитку неспецифічної відповіді, спрямованої на підвищення функціональної активності кори.

3. Найбільш адаптивною інтегрованою діяльністю мозку за умов гіпертиреозу виявилось функціонування ЦНС молодих тварин, меншою мірою – старих щурів, більш уразливою – ювенільних щуренят.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Демченко О. М. Когнітивна активність щурів за умов дисфункції щитоподібної залози / О. М. Демченко // Вісн. проблем біології і медицини. – 2014. – 3 (109), вип. 2. – С. 127–132.
2. Демченко О. М. Вікові особливості адаптивних можливостей ЦНС за умов тиреоїдного дисбалансу / О. М. Демченко // Експерим. та клініч. фізіол. та біохім. – 2004. – 3. – С. 110–116.
3. Кокунин В. А. Статистическая обработка данных при малом числе опытов / В. А. Кокунин // Укр. биохим. журн. – 1975. – 47, № 6. – С. 776–791.
4. Кудряшов И. Е. Эффекты триптофана на вызванные ответы в срезах гиппокампа взрослых и 3-недельных крыс / И. Е. Кудряшов // Нейрохимия. – 2010. – 27, № 4. – С. 294–300.
5. Королева С. В. Типы биоинформационных программ внутри континуума регуляторных пептидов и непептидных медиаторов. Особенности взаимодействия дофаминовой и серотониновой систем / С. В. Королева, А. А. Николаева, И. П. Ашмарин // Нейрохимия. – 2012. – 29, № 2. – С. 150–161.
6. Масалова О. О. Поведенческие и нейрохимические эффекты комбинированного введения L-триптофана и трийодтиронина у тиреоидэктомизированных крыс разного возраста / О. О. Масалова // Психофар-

макология и биологическая наркология. – 2008. – 8, № 1–2. – С. 75–80.

7. Особенности психоневрологического статуса пациентов с гипертиреозом / Ю. В. Синицина, С. М. Котова, В. А. Точилор [и др.] // Мед. психология, психиатрия, психотерапия. – 2013. – 49, № 4. – С. 82–87.

8. Прохорова М. И. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / М. И. Прохорова. – Л. : Изд-во Ленинград. ун-та, 1982. – 250 с.

9. Уколова Т. Н. Постурально-моторные реакции и распределения моноаминов мозга у крыс кататонической линии в раннем онтогенезе / Т. Н. Уколова, Т. А. Алехина, И. О. Мешков // Нейрохимия. – 2012. – 29, № 2. – С. 128–133.

10. Эффекты окислительного стресса на ультраструктурную и функциональную активность митохондрий / С. А. Дмитриева, А. А. Пономарева, В. В. Рябов [и др.] // Биол. мембраны. – 2012. – 29, № 4. – С. 267–275.

11. Serum resectin and high sensitive CRP levels in patients with subclinical hypothyroidism before and after L-thyroxin therapy / D. Y. Aksoy, N. Cinar, A. Harmanci [et al.] // J. Med. Sci. Monit. – 2013. – 19, № 22. – P. 210–2015.

12. An outlook on organization of lipids in membranes: Searching for a realistic connection with the organization of biological membranes / L. A. Bagatolli, J. H. Ipsen, A. C. Simonsen [et al.] // Prog. Lipid Res. – 2012. – **49**. – P. 378–389.

13. Unliganded thyroid hormone receptor $\alpha 1$ impairs adult hippocampal neurogenesis / R. Kapoor, M. van Hegerlinden, K. Wallis [et al.] // The FASEB Journal. – 2010. – **24**. – P. 4793–4805.

14. Tata J. R. Looking for the mechanism of action of thyroid hormone / J. R. Tata // Journal of Thyroid Research. – 2011. – **2011**. – Article ID 730630, 12 p.

А. Г. Родинский, Е. Ю. Кондратьева, Е. М. Демченко
ДНЕПРОПЕТРОВСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

ФОРМИРОВАНИЕ АДАПТИВНОЙ РЕАКЦИИ ЦНС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГИПОТИРЕОЗА: ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АСПЕКТ

Резюме

В эксперименте на крысах трех возрастных групп – ювенильных (5–6 недель), молодых (5–6 месяцев), старых (20–24 месяцев) изучали степень формирования адаптивной реакции коры и гиппокампа в условиях гипертиреозного состояния. Повышение уровня тиреоидных гормонов сопровождалось изменениями концентрации свободных полиненасыщенных жирных кислот ($C_{18:2,3}$) в данных структурах мозга. У ювенильных животных отмечали чрезмерное увеличение содержания линолевой и линоленовой кислот в коре и гиппокампе – в 3,2 и 5,4 раза соответственно. У молодых крыс также наблюдали возрастание уровня данной фракции свободных жирных кислот, но умеренное: в неокортексе – на 104,8 %, в гиппокампе – на 51,8 %. У старых животных, в отличие от двух младших возрастных групп, гипертиреоз вызывал уменьшение уровня полиненасыщенных жирных кислот в коре больших полушарий на 66,4 %. Такая перестройка жирнокислотного спектра свободных жирных кислот может модифицировать вязкостные свойства мембран и модулировать их рецепторную активность, в частности относительно серотониновой медиаторной системы мозга.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипертиреоз, полиненасыщенные жирные кислоты, неокортекс, гиппокамп, онтогенез.

O. H. Rodynskiy, O. Yu. Kondratyeva, O. M. Demchenko
DNIPROPETROVSK MEDICAL ACADEMY

FORMATION OF THE ADAPTIVE RESPONSE OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM IN EXPERIMENTAL HYPOTHYROIDISM: ONTOGENETIC ASPECTS

Summary

In experiment on rats of three age groups – juvenile (5–6 weeks), the young (5–6 months) and old (20–24 months), there was studied the degree of formation of adaptive reactions cortex and hippocampus in a hyperthyroid condition. Increased levels of thyroid hormones (TH) was accompanied by changes in the concentration of free fatty acids ($C_{18:2,3}$) in these brain structures. In juvenile animals showed a significant increase the concentration of linoleic and linolenic acids in the cortex and hippocampus in 3.2 and 5.4 times. In young rats was also observed increase in this fraction of free fatty acids (FFA) in the neocortex to 104.8 %, in the hippocampus – 51.8 %. In older animals, as opposed to the two younger age groups, hypothyroidism caused a decrease in PUFA in the cerebral cortex of 66.4 %. These restructuring the fatty acid spectrum can modify the viscous properties of the membranes and modulate receptor activity of serotonin mediator systems of the brain.

KEY WORDS: hyperthyroidism, polyunsaturated fatty acids, the neocortex, hippocampus, ontogenesis.

Отримано 01.03.16

Адреса для листування: О. М. Демченко, Дніпропетровська медична академія, вул. Дзержинського, 9, Дніпропетровськ, 49044, Україна, e-mail: demchenko-yem@rambler.ru.