

cadmium and resulting hazards for human health. Journal of Occupational Medicine and Toxicology. 2006;1:22. doi: 10.1186/1745-6673-1-22.

12. Thévenod F, Lee WK. Toxicology of cadmium and its damage to mammalian organs. Metal Ions in Life Sciences. 2013;11:415-90. doi: 10.1007/978-94-007-5179-8_14.

13. Wang B, Du Y. Cadmium and its neurotoxic effects. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2013;898034. doi: 10.1155/2013/898034.

Стаття надійшла до редакції
13.03.2017



УДК 612.82:612.397:616.441

**О.Г. Родинський,
О.М. Демченко,
О.Ю. Кондратьєва,
А.Ю. Голубка,
Д.С. Ярошенко**

ГАЛЬМІВНИЙ МЕХАНІЗМ ВПЛИВУ ТИРЕОЇДНИХ ГОРМОНІВ НА КОГНІТИВНІ ФУНКЦІЇ МОЗКУ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»
кафедра фізіології
(зав. – д. мед. н., проф. О.Г. Родинський)
вул. Вернадського, 9, Дніпро, 49044, Україна
SE «Dnipropetrovsk medical academy of Health Ministry of Ukraine»
Department of Physiology
Vernadsky str., 9, Dnipro, 49044, Ukraine
e-mail: nphys@dsma.dp.ua

Ключові слова: гіпертиреоз, гіпотиреоз, ЦНС, ГАМК, ненасичені жирні кислоти, гіпокамп
Key words: hyperthyroidism, hypothyroidism, CNS, GABA, unsaturated fatty acids, hippocampus

Реферат. Тормозной механизм влияния тиреоидных гормонов на когнитивные функции мозга. Родинский А.Г., Демченко А.Н., Кондратьева Е.Ю., Голубка А.Ю., Ярошенко Д.С. В экспериментах на

неокортексе и гиппокампа в условиях дисфункции щитовидной железы. Повышенный уровень тиреоидных гормонов вызвал накопление полиненасыщенных линолевой и линоленовой кислот в неокортексе в 2 раза, в гиппокампе на 52%. Состояние гипотиреоза способствовало также повышению $C_{18:2,3}$ в неокортексе на 74,4%. Рост доли ненасыщенной фракции среди жирнокислотного состава неокортекса сопровождался также уменьшением содержания насыщенных $C_{16:0}$ и $C_{21:0}$ на 25% и 36% соответственно. Увеличение уровня ненасыщенной фракции СЖК коры больших полушарий, возможно, связано со снижением «ненасыщенности» структуры липидов, в свою очередь, может усиливать серотонинергическую синаптическую активность. Исследование концентрации нейромедиаторных аминокислот неокортекса выявило увеличение содержания серотонина как в условиях гипертиреоза (НС), так и в условиях гипотиреоза (НС). При гипертиреозе наблюдалось также повышение содержания ГАМК. Активность серотонин- и ГАМК-эргичных нейромедиаторных систем мозга при гипертиреоидном статусе можно рассматривать как наращивание тормозных процессов на фоне возбуждающего эффекта ТГ по принципу обратной связи. В условиях экспериментального гипотиреоза одним из путей уменьшения метаболизма, возможно, является углубление тормозных эффектов серотониновой системы ЦНС.

Abstract. Inhibitory mechanism of influence of thyroid hormones on cognitive function of the brain. Rodynsky A.G., Demchenko E.M., Kondratieva E.J., Golubka A.J., Yaroshenko D.S. *In experiments on young rats there were studied changes in the fatty acid spectrum of fraction of free fatty acids (FFA) of neocortex and hippocampus in conditions of thyroid dysfunction. Elevated levels of thyroid hormones caused accumulation of polyunsaturated linoleic and linolenic acids in the neocortex by 2 times, in the hippocampus – by 52%. State of hypothyroidism also contributed to the increase of C_{18:2,3} in the neocortex by 74.4%. Growth of share of unsaturated fatty acid fraction in the content of fatty acid spectrum of neocortex also was accompanied by decrease in saturated C_{16:0} and C_{21:0} by 25% and 36% respectively. Increase of the level of unsaturated fatty acids fraction of the cerebral cortex is possibly associated with the decrease in "unsaturation" structure of lipids, which in its turn may enhance serotonergic synaptic activity. Research of concentration of neuromediator amino acids in neocortex showed increase of serotonin content both in conditions of hyperthyroidism and hypothyroidism. In conditions of hyperthyroidism increased content of GABA was observed. Activity of serotonin- and GABA-ergic neurotransmitter systems of the brain in conditions of hyperthyroidism can be considered as increase of inhibitory processes in the effect of feedback. In conditions of experimental hypothyroidism activation of the inhibitory effects of CNS serotonergic system may be one of the ways to reduce the metabolism.*

Вищі функції мозку визначаються діяльністю нервової та ендокринної систем. Тиреоїдні гормони, що відповідають за становлення ЦНС у пренатальному періоді, забезпечують подальше формування когнітивної функції впродовж всього життя [1]. Але механізм впливу ТГ на ЦНС та, зокрема, формування психічної активності мозку не з'ясовані. Відомо, що свій вплив на когнітивні функції ТГ можуть виявляти як прямо на негеномному рівні, модифікуючи рецепторну функцію мембран, так і на геномному рівні, модулюючи клітинний метаболізм, що також змінює синаптичну активність нейронів відповідно до їх медіаторної належності [7]. Відомо, що ТГ, у першу чергу, модулюють активність основних збуджуючих, зокрема глутамат- і моноамінергічних систем мозку. Між тим, за останні роки модуляція ТГ гальмівної ГАМК-ергічної системи ЦНС набуває все більшої уваги [4,9].

Тому визначення ролі ТГ у регуляції вмісту окремих нейромедіаторних амінокислот гальмівного характеру є актуальною проблемою на шляху з'ясування механізмів дії цих гормонів на формування когнітивної функції ЦНС.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили на 30 білих щурах лінії Wistar (n=30). Експерименти проведені відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (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 вищою за

добову продукцію тироксину (3-5 мкг/тварину) і становила 10 мкг/добу. Щодобово концентрацію тироксину підвищували на 5 мкг порівняно з попередньою. Гіпотиреоїдний стан створювали введенням з їжею мерказолілу в дозі 10 мг/кг впродовж двох тижнів. Вірогідність створених моделей підтверджували визначенням у кінці експерименту концентрацій тироксину (Т₄) та тиреотропного гормону (ТТГ) в плазмі крові піддослідних щурів та оцінкою клінічного статусу тварин: маса тіла, ЧСС, рухливість, збудливість, емоційність.

З метою визначення рівня окремих 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 [5]. Тканини мозку гомогенізували в 3,5 мл суміші хлороформ-метанол у пропорції 1:2. Метилювання ВЖК проводили за допомогою 5% розчину диметилсульфату в метанолі. Цю фракцію розчиняли в 1 мл хлороформу й виявляли методом газохроматографічного аналізу на хроматографі „Chrom 5” (Чехія). Умови газорідної хроматографії: скляна колонка 1 м×3 мм, нерухома фаза 5% SP-2100 на хроматон N-Super (0,16 – 0,20 мм); газ носій – азот (осч), розходження – 60 мл/хв. Температура випаровувача – 230°C; температура полум'яно-іонізаційного детектора – 250°C; запрограмований режим температури – від 150°C до 270°C зі швидкістю 5°/хв. Якісний аналіз метилових ефірів жирних кислот проводили за часом утримування стандартів. Кількісну оцінку спектра жирних кислот ліпідів проводили за методом нормування площин і визначали у відсотках.

Визначення концентрації гліцину, ГАМК, глутамату в гомогенаті неокортекса проводили хроматографічним методом, заснованим на поділі гліцину, ГАМК та глутамату в системі н-бутанол: оцтова кислота: вода в тонкому шарі

сорбента з наступним кількісним визначенням по реакції з аллоксаном [6]. На стартову лінію пластини «сілуфол» наносили 0,2 мл тканинного екстракту і хроматографували в системі н-бутанол : оцтова кислота: вода у співвідношенні 8:2:1. Потім пластину висушували і проявляли 1% розчином аллоксану в ДМФА при 100°C. Плями, відповідні ГАМК, гліцину, глутамату, вирізали й елюювали в 3 мл ДМФА протягом 3 годин. Потім проби центрифугували при 2500 об/хв протягом 30 хв. (при температурі 15°C), після чого їх спектрофотометрували при довжині хвилі 540 нм. Вміст ГАМК, гліцину і глутамату розраховували за калібрувальною кривою з перерахунком на навіску тканини і виражали в мкмоль/г тканини.

Результати досліджень оброблені за допомогою параметричних методів статистики з використанням t-критерію Стьюдента для малих вибірок [2]. Зміни показників вважали вірогідними при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Частка естерифікованих ЖК становить 40% всієї маси ліпідів мозку. Окрім ЖК, що входять у структуру ліпідів, у тканині мозку є невеликий фонд ВЖК, що по відношенню до загального вмісту ЖК дорівнює 1-1,5%. Незважаючи на такий незначний об'єм, ці кислоти мають високий ступінь обмінюваності, що в 8-10 разів перевищує питому активність ліпідів мозку. Фракцію ВЖК можна розглядати як фонд, що забезпечує синтез ліпідів, як аніонний фонд. Їх

поверхнева активність може бути важливою для функцій мембран і мембранних ферментів, рецепторів. Аналіз численного літературного матеріалу дозволив висловити судження, що полярна частина молекули фосфоліпідів визначає їх загальні властивості, а склад ЖК надає молекулам специфічного характеру, що впливає на особливості їх біологічних функцій.

Вплив ТГ на обмін ліпідів мозку відомий лише на рівні загального клітинного обміну, тобто його прискорення при переважанні катаболічних процесів. Специфічність процесу полягає в тому, що ліпіди в мозку практично виконують роль пластичного ресурсу та, зокрема, забезпечують підтримання і модифікацію мембранної структури та, як наслідок, її сигнальну функцію. Тому дослідження рівня вільних жирних кислот ВЖК кори і гіпокампа за умов гіпертиреозу дозволить дослідити роль ТГ у регуляції якісного та кількісного складу фосфоліпідів нервової тканини.

Дослідження жирнокислотного спектру ліпідів кори і гіпокампа молодих щурів підтвердило основне припущення про участь ТГ у регуляції обміну ненасичених ЖК та, як наслідок, у зміні проникності мембран і їх в'язкісних властивостей. За умов гіпертиреозу стану спостерігалось значне накопичення лінолевої та ліноленової ЖК на 145% в неокортексі та на 83% в гіпокампі ($p < 0,05$) (табл. 1).

Таблиця 1

Зміни вмісту вільних лінолевої та ліноленової кислот у мозку щурів за умов гіпертиреозу

| ВЖК | Кора (%) | | Гіпокамп (%) | |
|---------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|
| | контроль (n=10) | гіпертиреоз (n=10) | контроль (n=10) | гіпертиреоз (n=10) |
| C _{18:2,3} | 1,67±0,11 | 3,42±0,98** | 4,96±0,64 | 7,55±0,86* |

Примітки: * - достовірність різниць відносно контрольної групи $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$.

Таке суттєве збільшення вмісту цих поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) за відсутності змін у рівні інших досліджуваних ВЖК, зокрема насичених, може відбуватися за двох причин. По-перше, якщо вважати фракцію ВЖК за депо для синтезу фосфоліпідів у нейронах *de novo*, то зростання долі цих ненасичених ЖК може бути результатом зменшення їх використання в структурі ліпідів мембран. По-друге, менш ймовірно, але можливо ця фракція

вибірково видаляється зі структури ФЛ у процесі гідролізу фосфоліпазами. Таку роль може виконувати, наприклад, фосфоліпаза A₂, яка розщеплює в процесі пластичного обміну ФЛ у другому положенні, де, як правило, знаходяться ненасичені ЖК. Таким чином, обидва процеси – зменшення синтезу і збільшення розпаду ФЛ відносно фракції ПНЖК призводять до зниження долі «ненасиченості» в складі мембранних ліпідів, що підвищує в'язкість та жорсткість мембран.

Як відомо з літературних джерел, така модифікація жирнокислотного складу ФЛ може посилювати синаптичну активність, зокрема серотонінергічну передачу [3]. Це припущення

підтвердилося результатами визначення вмісту окремих нейромедіаторних амінокислот у неокортексі молодих щурів (табл. 2).

Таблиця 2

Концентрація нейромедіаторних амінокислот у неокортексі щурів (M±m)

| Група тварин | ГАМК мкмоль/г тканин | Серотонін мкмоль/г тканин | Гліцин мкмоль/г тканин |
|--------------------|-------------------------|------------------------------|---------------------------|
| Гіпертиреоз (n=10) | 10,04±1,24 | 8,10±0,62 | 18,80±0,62 |
| Гіпотиреоз (n=10) | 7,24±0,78 | 8,34±0,71 | 18,80±0,59 |
| Контроль (n=10) | 6,62±0,62 | 6,09±0,67 | 16,01±0,68 |

П р и м і т к и : *- достовірність різниць відносно контрольної групи p<0,05;**- p<0,01.

У корі великих півкуль концентрація серотоніну збільшувалась на 33%. Окрім цього нейромедіаторного пулу, збільшувався вміст ГАМК на 51% та гліцину на 18%. Такі зміни на структурному рівні відображалися й на системному функціональному рівні. У раніше проведених дослідженнях харчової просторової поведінки молодих щурів з підвищеним тиреоїдним статусом було показано покращення виконання їждобувних реакцій у 8-променевому лабіринті. З літературних даних відомо, що навчання тварин з позитивним підкріпленням відбувається за активної участі серотонінергічної модулюючої нейромедіаторної системи [8]. Цікавою, на наш погляд, була б і така концепція. Можливо, посилення активності серотонінової системи, що більшою мірою виконує роль гальмівного механізму в мозку, є результатом захисного зворотнього механізму у відповідь на збуджуючий характер дії ТГ на ЦНС.

За умов дефіциту ТГ відбувалися зміни, подібні за направленням та суттєвіші за своєю виразністю. У неокортексі молодих щурів від-

значалося зростання рівня вільних ПНЖК на 95%, що в цілому призводило до підвищення вмісту сумарних ненасичених ЖК на 42%. Такий характер змін посилювався й зменшенням насичених ВЖК – C_{16:0} та C_{21:0} на 27% і 33% відповідно. У гіпокампі, на відміну від гіпертиреозу, в концентрації ПНЖК суттєвих перебудов не спостерігалось. Але зменшився вміст насичених ВЖК – C_{16:0}, C_{18:0} та C_{21:0}, загальних ліпідів та ненасиченої C_{18:1} в межах 22% – 58% (табл. 3). Такий суттєвий перерозподіл спектру депонованих ВЖК у корі великих півкуль, що направлений на зменшення використання його ненасиченої фракції в процесах синтезу ФЛ de novo, може значно корегувати проникність і в'язкість мембран та регулювати стан. Одночасно з цим, як і за умов гіпертиреозу, підвищувався вміст серотоніну в неокортексі на 40% (табл. 2). Щодо впливу гіпотиреозу на просторову пам'ять, можна зауважити про погіршення ступеня виконання харчових реакцій при навчанні у 8-променевому лабіринті.

Таблиця 3

Зміни жирнокислотного складу ліпідів у мозку щурів за умов гіпотиреозу, %

| ВЖК | Кора (%) | | Гіпокамп (%) | |
|---------------------|------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
| | контроль (n=10) | гіпотиреоз (n=10) | контроль (n=10) | гіпотиреоз (n=10) |
| C _{16:0} | 11,51±0,81 | 8,61±0,82* | 7,59±0,78 | 4,82±0,78** |
| C _{18:0} | 5,38±0,25 | 6,20±0,67 | 6,74±1,12 | 2,89±0,88** |
| C _{18:1} | 7,70±0,80 | 10,37±1,60 | 6,84±0,95 | 3,73±1,10* |
| C _{18:2,3} | 1,68±0,11 | 2,93±0,48* | 4,96±0,84 | 4,65±1,53 |
| C _{21:0} | 6,95±0,72 | 4,47±0,61* | 5,76±0,86 | 2,75±0,89* |
| Σ ненасичені | 8,08±0,80 | 11,84±1,12* | 10,68±1,10 | 8,09±0,86 |

П р и м і т к и : *-достовірність різниць відносно контрольної групи p<0,05;**- p<0,01.

ПІДСУМОК

Аналізуючи дані проведених досліджень, можна вивести, що на фоні гіпертиреозу посилення активності гальмівних нейромедіаторних систем неокортексу, можливо за принципом зворотнього зв'язку, буде формувати адаптивну реакцію у відповідь на переважаючий збуджуючий вплив ТГ на ЦНС. Активація серотонін- та ГАМК-ергічної нейротрансмісії буде сприяти балансу збуджуючих та гальмівних

процесів у неокортексі, що є специфічною адаптивною модифікацією в інтегративній діяльності ЦНС. За умов гіпотиреозу, який характеризується зменшенням метаболізму мозку, посилення серотонінової дифузної системи неокортексу, навпаки, є результатом загального гальмівного ефекту, особливо щодо формування просторової пам'яті.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Демченко О.М. Психо-емоційний статус щурів за умов дисфункції щитовидної залози / О.М. Демченко // Медичні перспективи. – 2014. – Т. 19, № 1. – С. 10 – 15.
2. Кокунин В.А. Статистическая обработка данных при малом числе опытов / В.А. Кокунин // Укр. биохим. журнал. – 1975. – Т 47, № 6. – С. 776 – 791.
3. Лычкова А.Э. Нервная регуляция функций щитовидной железы / А.Э. Лычкова // Вестник РАМН. – 2013. – № 6. – С. 49 – 54.
4. Пептидная регуляция специфических лиганд-рецепторных взаимодействий ГАМК на плазматических мембранах нервных клеток / Т.В. Выюнова, Л.А. Андреева, К.В. Шевченко [и др.]. // Нейрохимия. – 2014. – Т. 31, № 4. – С. 300 – 306.
5. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / М.И. Прохорова – Ленинград: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. – 250 с.
6. Уровень моноаминов и их метаболитов в структурах мозга крыс с экспериментальным тревожно-депрессивным состоянием, вызванным введением ингибитора дипептидилпептидазы IV в раннем постнатальном периоде / Е.Ю. Кушнарёва, Н.А. Крупина, Н.Н. Хлебникова [и др.] // Нейрохимия. – 2012. – Т. 29, № 2. – С. 139-144.
7. Decreased pain threshold and enhanced synaptic transmission in the anterior cingulate cortex of experimental hypothyroidism mice / Y. Jun, Z. Jian-yong, W. Shan [et al.]. // Molecular pain. – 2014. – N 10. – P. 10-38.
8. Flamant F. Editorial: "Thyroid hormone in brain and brain cells" / F. Flamant, N. Koibuchi, J. Bernal // Frontiers of Endocrinology. – 2015. – N 6 (99). – P. 10-14.
9. Intracellular blockade of GABA_A receptors in the rat hippocampal neurons / I. Khalilov, X. Leinekugel, M. Mukhtarov, R. Khazipov // Биол. мембраны. – 2014. – Т. 31, N 1. – С. 25-32.

REFERENCES

1. Demchenko OM. [Psycho-emotional status of rats under thyroid dysfunction]. *Medicni perspektivi*. 2014;19(1):10-15. Ukrainian.
2. Kokunin VA. [Statistical data processing with a small number of trails]. *Ukrai'ns'kiy biokhimichnyi zhurnal*. 1975;47(6):776-91. Russian.
3. Lychkova AE. [Nervous regulation of thyroid function]. *Vestnik RAMN*. 2013;6:49-54. Russian.
4. V'yunova TV., Andreeva LA., Shevchenko KV., Shevchenko VP., Myasoedov NF. [Peptide-specific regulation of receptor-ligand interactions at GABA on membranes of nerve cells]. *Nejrohimiya*. 2014;31(4):300-306. Russian.
5. Prochorova MI. [Methods of biochemical research (lipid and energy exchange)]. *Izdatelstvo Leningrad*. 1982;250. Russian.
6. Kushnareva EIu, Krupina NA, Khlebnikova NN. [Level of monoamines and their metabolites in the structures of rats' brain with experimental anxiety-depressive state, caused by introduction of inhibitor of dipeptidilpeptidase IV in early postnatal period]. *Nejrohimiya*. 2012;29(2):139-44. Russian.
7. Jun Y, Jian-yong Z, Wei Z, Shan W, Zhi-fu Y, Ke-feng D. Decreased pain threshold and enhanced synaptic transmission in the anterior cingulate cortex of experimental hypothyroidism mice. *Molecular pain*. 2014;10:10-38.
8. Flamant F, Koibuchi N, Bernal J. Editorial: "Thyroid hormone in brain and brain cells". 2015;6(99):10-14.
9. Khalilov I, Leinekugel X, Mukhtarov M, Khazipov R. [Intracellular blockade of GABA_A receptors in the rat hippocampal neurons]. *Biologicheskie membrany*. 2014;31(1):25-32. Russian.

Стаття надійшла до редакції
31.03.2017

