

П.О. Неруш, О.М. Демченко

## Жирнокислотний склад структур головного мозку щурів різного віку за умов тироксинового токсикозу

*В опытах на крысах трех возрастных групп линии Вистар (неполовозрелых, половозрелых и старых) с модельным гипертиреозидным состоянием (моделирование проводилось путем введения с пищей L-тироксина в течение двух недель и заключительным контролем концентрации тироксина в сыворотке крови) изучали состав жирных кислот в коре больших полушарий и гиппокампе. Установлено, что наибольшие изменения спектра свободных жирных кислот (СЖК) отмечены в коре и гиппокампе половозрелых животных и несколько меньше – у неполовозрелых и старых. У неполовозрелых животных в коре полушарий повышалось содержание СЖК в спектре  $C_{17}-C_{20}$ . В гиппокампе более чем в 5 раз увеличивалось содержание линолевой и линоленовой кислот. У старых животных гипертиреозидное состояние характеризовалось более выраженными изменениями жирнокислотного состава липидов в неокортексе и менее выраженными – в гиппокампе.*

### ВСТУП

Ліпідний склад тканини мозку залишається практично незмінним і навіть під впливом таких різних зовнішніх факторів, як дієта, стресові стани, котрі різко змінюють ліпідний склад вісцеральних органів і плазми. Установлено, що всі полярні ліпіди зосереджені в мембранах клітин. Тому вивчення ліпідів, що екстрагуються з мозку може дати достатньо правильне уявлення про властивості ліпідів мембран нейронів. У зв'язку з цим зміну ліпідів мозку можна розглядувати як симптом початку патологічного стану [9, 13]. При цьому особливої уваги заслуговує зміна обміну фосфоліпідів, які складають більше ніж половину вмісту всіх ліпідів і є головними ліпідними компонентами біологічних мембран і мієліну. Встановлено, що фосфоліпідні фракції включають як насичені жирні кислоти  $C_{12:0}$ ,  $C_{14:0}$ ,  $C_{16:0}$ ,  $C_{18:0}$ ,  $C_{20:0}$  і  $C_{22:0}$ , так і ненасичені  $C_{16:1}$ ,  $C_{18:1}$ ,  $C_{18:2}$ ,  $C_{20:2}$ ,  $C_{20:4}$  і  $C_{22:6}$ . Важливими факторами процесу взаємодії клітини з хімічними агентами є в'язкість і

латеральна рухливість клітинної мембрани. Елементом, що значною мірою визначає в'язкість біологічних мембран, вважають вид вуглецевого ланцюга жирних кислот у складі мембранних фосфоліпідів [5, 8]. Жирні кислоти беруть участь в інтеграції біологічних мембран, зумовлюючи їх структурні та функціональні особливості [1, 16, 17]. Від стану мембрани залежить адекватність взаємодії клітини з навколишнім середовищем, активність рецепторного апарату та ферментних систем, збудження клітини та її реакція на дію подразників [6]. Отже, можна вважати, що метаболізм жирних кислот є свого роду маркером функціонального стану клітинних мембран.

Мета нашої роботи – вивчити вміст окремих вільних жирних кислот (ВЖК) у структурах головного мозку щурів за умов гіпертиреозидного стану.

### МЕТОДИКА

Досліди проведено на 40 щурах лінії Вистар трьох вікових груп – статевонезрілих (5 тиж),

репродуктивного віку (5–6 міс) і старих (20–22 міс).

У I серії дослідження (статевонезрілі тварини) використано 16 щурів – 8 контрольних і 8 дослідних. У II і III серіях – по 12 тварин, з яких 6 становили контрольну і 6 – дослідну групи.

Гіпертиреоїдний стан моделювали введенням з їжею здрібнених до порошку таблеток L-тироксину впродовж двох тижнів у зростаючих дозах, що пов'язано з інактивацією екзогенного тироксину. Спочатку вводили препарат в дозі 10 мкг/добу, яка була вищою від добової продукції тироксину (в нормі близько 3–5 мкг/тварину). Щодобово дозу тироксину збільшували на 10 мкг в порівнянні з попередньою. Концентрацію тироксину визначали в сироватці крові в кінці дослідження імуноферментним методом.

Оцінку відтворення гіпертиреозу проводили на основі концентрації тиреоїдного гормону  $T_4$  та клінічного статусу тварин: зменшення маси тіла, тахікардії, підвищення збудливості [4].

Тварин декапітували і відбирали мозок відповідно до гіпокампа і кори великих півкуль. Екстракцію ліпідів проводили за методом Фолча [15]. Тканини мозку (по 250 мг) гомогенізували в 3,5 мл суміші хлороформ–метанол–вода.

Фосфоліпідну фракцію гідролізували, після чого жирні кислоти перетворювали в відповідні метилові ефіри. Естерифіковані жирні кислоти розчиняли в 1 мл хлороформу і аналізували методом газохроматографічного аналізу на хроматографі Chrom-5 (Чехія) в ізотермічному режимі з полум'яно-іонізуючим детектором. Жирні кислоти виявляли в температурному діапазоні від 185 до 250°C. Кількісну оцінку спектра жирних кислот ліпідів проводили за методом нормування площин і визначали частку кислот у відсотках.

Результати дослідів проаналізовані методом математичного аналізу програми Excel для Windows 98.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Нами встановлено, що гіпертиреоїдний стан у щурів супроводжувався суттєвими змінами вмісту ВЖК у корі великих півкуль і гіпокампі залежно від віку тварин.

У статевонезрілих щурів у корі великих півкуль встановлено збільшення вмісту ВЖК у спектрі  $C_{17}$ – $C_{20}$ , причому концентрація лінолевої та ліноленової кислот збільшилася на 256 % ( $P<0,01$ ), олеїнової – на 59 % ( $P<0,05$ ), маргаринової – на 43 % ( $P<0,01$ ) і арахідової – на 45 % ( $P<0,05$ ).

У гіпокампі більш ніж у 5 разів збільшилося накопичення лінолевої та ліноленової кислот, а також бегенової – в 2 рази. На відміну від кори вміст багатьох ВЖК у цій частині мозку зменшувався: лауринової – на 100 %, пальмітолеїнової – на 31 %, пальмітинової – на 19 %, нонадеканової – на 25 %, генейкозанової – на 27 %, трикозанової – на 57 %, тетракозанової – на 52 % ( $P<0,05$  відносно контролю).

Найбільші зміни спектра ВЖК виявлено в корі та гіпокампі у статевозрілих щурів, дещо менші – у статевонезрілих і старих тварин (табл. 1, 2).

У статевозрілих щурів у неокортексі зміни жирних кислот характеризувались однонаправленістю і проявлялися суттєвим підвищенням вмісту міристинової кислоти (на 375 %,  $P<0,01$ ).

Меншою мірою збільшувався вміст інших кислот. Так, вміст нонадеканової підвищувався на 140 % ( $P<0,05$ ), лінолевої та ліноленової – на 130 % ( $P<0,05$ ); дещо меншими були зміни відносно пентадеканової – на 14 % порівняно зі значеннями у контрольній групі.

Аналогічна картина спостерігалася і в гіпокампі, де також переважно відмічено підвищення вмісту окремих ВЖК. Це проявилось істотним підвищенням вмісту трикозанової та бегенової кислот – на 175 і 97 % ( $P<0,01$ ) відповідно; дещо менше накопичувалися лінолева та ліноленова – на

Таблиця 1. Жирнокислотний склад (%) ліпідів у корі великих півкуль шурів різного віку (M±m)

Жирні кислоти	Статево незрілі шури		Статево зрілі шури		Старі шури	
	Контроль (n=8)	Гіпертиреоз (n=8)	Контроль (n=6)	Гіпертиреоз (n=6)	Контроль (n=6)	Гіпертиреоз (n=6)
Лауринова C <sub>12:0</sub>	0,03±0,01	0,02±0,01	0,08±0,02	0,10±0,05	0,02±0,01	0,03±0,01
Міристинова C <sub>14:0</sub>	0,11±0,03	0,11±0,03	0,04±0,01	0,19±0,03*	0,13±0,03	0,14±0,03
Пентадецилова C <sub>15:0</sub>	0,90±0,14	1,06±0,29	2,19±0,08	2,50±0,1*	1,29±0,40	1,80±0,19
Пальмітолеїнова C <sub>16:1</sub>	0,35±0,03	0,26±0,08	0,12±0,03	0,16±0,004	0,40±0,03	0,33±0,09
Пальмітинова C <sub>16:0</sub>	17,50±1,18	15,17±1,66	10,46±1,22	9,82±0,99	11,70±0,84	14,73±2,29
Маргарина C <sub>17:0</sub>	2,11±0,36	3,01±0,16*	5,29±0,023	6,53±1,32	2,83±0,38	2,13±0,83
Олеїнова C <sub>18:1</sub>	8,09±0,27	12,90±1,19*	7,0±0,81	7,69±0,13	9,88±0,52	11,29±1,36
Стеаринова C <sub>18:0</sub>	15,29±0,40	12,58±1,16	4,89±0,29	4,78±0,86	8,65±0,70	10,83±1,00
Лінолева галіоленова C <sub>18:2,3</sub>	0,47±0,08	1,71±0,43**	1,86±0,13	4,28±0,91*	1,36±0,29	0,51±0,20*
Нонадеканова C <sub>19:0</sub>	6,34±0,87	6,44±0,62	5,61±0,74	13,44±2,37*	6,40±0,86	6,34±0,92
Арахідова C <sub>20:0</sub>	0,29±0,03	0,42±0,03*	0,37±0,02	0,66±0,16	0,17±0,05	0,50±0,07**
Генейказанова C <sub>21:0</sub>	10,78±1,44	10,37±0,96	7,72±0,80	5,86±1,07	9,95±0,90	7,78±1,28
Бегенова C <sub>22:0</sub>	0,50±0,05	0,81±0,19	1,30±0,01	1,12±0,29	0,67±0,13	0,62±0,29
Трикозанова C <sub>23:0</sub>	0,10±0,03	0,09±0,04	0,16±0,02	0,18±0,03	0,09±0,03	0,29±0,05**
Тетракозанова C <sub>24:0</sub>	2,38±0,20	2,42±0,34	1,45±0,28	1,80±0,23	2,50±0,65	3,10±0,90
Пентакозанова C <sub>25:0</sub>	34,13±4,49	32,87±3,05	51,46±4,41	40,69±2,33	43,96±5,44	39,58±5,56
Загальні ліпіди	6,98±0,62	7,29±1,11	7,35±1,11	7,43±1,44	11,07±1,63	9,26±0,50
Сума ненасичених кислот	8,91±1,02	14,87±1,12*	8,98±0,85	10,13±0,88	11,64±1,20	12,13±0,87
Сума насичених кислот	91,09±1,02	85,13±1,13	91,02±0,87	89,87±0,90	88,36±1,22	87,88±1,00

Примітка. Тут і в табл. 2 \* P&lt;0,05 порівняно з контрольною групою.

Таблиця 2. Жирнокислотний склад (%) ліпідів у гіпокампі щурів різного віку ( $M \pm m$ )

Жирні кислоти	Статевонезрілі щури		Статевозрілі щури		Старі щури	
	Контроль (n=8)	Гіпертиреоз (n=8)	Контроль (n=6)	Гіпертиреоз (n=6)	Контроль (n=6)	Гіпертиреоз (n=6)
Лауринова $C_{12:0}$	0,02±0,005	сліди	0,04±0,01	0,04±0,002	0,06±0,04	0,07±0,04
Міристинова $C_{14:0}$	0,19±0,01	0,14±0,04	0,04±0,011	0,04±0,005	0,04±0,03	0,11±0,01*
Пентадецилова $C_{15:0}$	2,06±0,08	1,93±0,18	2,03±0,31	2,42±0,03	2,02±0,32	1,95±0,29
Пальмітолеїнова $C_{16:1}$	0,58±0,04	0,40±0,01*	0,13±0,04	0,17±0,04	0,30±0,02	0,41±0,04*
Пальмітинова $C_{16:0}$	17,18±0,88	13,92±0,80*	6,90±0,71	5,64±0,72	10,86±0,67	11,37±1,41
Маргарінова $C_{17:0}$	2,95±0,19	3,48±0,16	4,43±0,68	6,73±0,45*	2,57±0,51	1,95±0,23
Олеїнова $C_{18:1}$	11,62±1,00	13,07±1,74	6,22±1,05	5,07±0,22	11,42±0,44	11,12±1,36
Стеаринова $C_{18:0}$	14,42±1,38	14,27±1,46	6,13±1,00	5,06±0,46	8,46±0,76	8,98±0,95
Лінолеватлінолеїнова $C_{18:2}$	0,17±0,08	1,07±0,21*	5,51±0,74	9,39±1,05*	0,36±0,07	0,46±0,12
Нонадеканова $C_{19:0}$	8,54±0,21	6,39±0,39*	7,02±0,10	6,09±0,62	6,43±0,64	6,44±0,58
Арахідова $C_{20:0}$	0,05±0,01	0,06±0,03	0,46±0,06	0,79±0,06*	0,28±0,03	0,25±0,09
Генейказанова $C_{21:0}$	11,89±0,37	8,69±1,05*	6,40±0,96	5,20±0,51	8,58±1,30	8,87±0,90
Бегенова $C_{22:0}$	0,39±0,07	0,78±0,04*	0,70±0,10	1,38±0,02*	0,84±0,24	0,86±0,22
Трикозанова $C_{23:0}$	0,35±0,07	0,15±0,02*	0,08±0,02	0,22±0,05*	0,15±0,05	0,22±0,02*
Тетракозанова $C_{24:0}$	2,04±0,31	0,97±0,24*	3,43±0,05	1,29±0,20*	3,95±0,26	4,08±0,92
Пентакозанова $C_{25:0}$	28,31±2,12	34,64±2,82	50,48±5,68	50,32±0,95	43,31±2,86	42,89±3,79
Загальні ліпіди	6,82±0,61	6,44±0,42	8,50±0,28	9,36±1,24	13,74±1,37	12,51±1,04
Суманенасичених кислот	12,37±2,20	14,54±1,97	11,86±1,10	14,63±0,92	12,06±1,07	12,00±1,00
Суманенасичених кислот	87,63±2,20	85,46±2,00	88,14±1,10	85,37±0,91	87,94±1,07	88,00±1,02

70 %, арахідова – на 72 % ( $P < 0,05$ ) та маргарінова – на 52 % ( $P < 0,05$ ). Одночасно у гіпокампі вміст насиченої кислоти  $C_{24:0}$  був зниженим на 62 % ( $P < 0,05$ ).

У корі великих півкуль старих щурів, на відміну від статевозрілих, спостерігалася різнонаправленість змін як у бік підвищення, так і зниження вмісту окремих жирних кислот. Відмічено підвищення концентрації насичених жирних кислот: арахідової – на 194 % ( $P < 0,01$ ) та трикозаної – на 222 % ( $P < 0,01$ ) і зниження ненасичених – лінолевої і ліноленової – на 62 % ( $P < 0,05$ ). У гіпокампі збільшився вміст міристинової кислоти на 175 % ( $P < 0,05$ ) та пальмітолеїнової – на 37 % ( $P < 0,05$ ).

Таким чином, гіпертиреоїдний стан у старих щурів супроводжувався більш вираженими проявами змін жирнокислотного складу ліпідів у неокортексі і меншою мірою в гіпокампі.

Аналіз отриманих результатів свідчить, що вміст жирних кислот у філогенетично відмінних відділах мозку у тварин різного віку змінювався неоднаково. Суттєва перебудова спектра жирних кислот у корі головного мозку та гіпокампі може вказувати на стан клітинних мембран, що супроводжується змінами їх в'язкості та проникності, які зумовлюють виконання мембранних функцій за нових умов [2].

У старих тварин при тиреоїдному дисбалансі більш виражені зміни спектра ВЖК відмічені в неокортексі порівняно з гіпокампом. У неокортексі спостерігалися зміни вмісту окремих насичених кислот –  $C_{20:0}$  і  $C_{23:0}$ , що можна пояснити активацією їх синтезу під впливом тиреоїдних гормонів [10]. Разом з тим у статевонезрілих тварин гіпертиреоїдний стан характеризувався збільшенням у корі вмісту ненасиченої олеїнової кислоти. Нами встановлено, що в ліпідах кори великих півкуль у статевонезрілих і статевозрілих щурів концентрація вказаних ненасичених кислот

збільшувалася в 3,6 та в 2,3 раза відповідно ( $P < 0,01$ ) порівняно з контрольними групами тварин. Це можна пояснити селективним захопленням їх з плазми крові, що пов'язано з активацією ліполізу під впливом тиреоїдних гормонів і симпат-адреналової системи за умов гіпертиреоїдного стану [3].

З іншого боку, за рівнем витрачання або накопичення поліненасичених жирних кислот можна оцінювати ступінь вільнорадикального окиснення ліпідів мозку. Зниження вмісту поліненасичених жирних кислот у корі головного мозку старих щурів може бути результатом активації перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [4]. ПОЛ взаємозв'язане з процесом оновлення складу фосfolіпідів мембран. Інтенсифікація ПОЛ призводить до прискорення обміну фосfolіпідів, зміни їх складу, до змін ліпідобілкових відношень і, як наслідок, до змін структури мембран, порушення активності мембранних ферментів  $Ca^{2+}$ -АТФази,  $Na^+$ ,  $K^+$ -АТФази, активності рецепторного апарату клітин [4, 12, 16, 17].

Можливо, що в процесі розвитку мозку пероксидації ліпідів активно протистоять антиокиснювальні системи. Про це свідчить рівень накопичення ненасичених жирних кислот. Зниження антиоксидантних властивостей тканин організму в процесі старіння [7, 11, 14], і пов'язане з цим зменшення концентрації поліненасичених жирних кислот встановлено й іншими авторами [12].

Таким чином, на основі проведених дослідів доведено, що найбільші зміни в спектрі жирних кислот виявлено в корі головного мозку та гіпокампі статевозрілих щурів і дещо менші – у статевонезрілих і старих. У статевонезрілих тварин у неокортексі підвищувався вміст насичених жирних кислот у спектрі  $C_{17}-C_{20:0}$ . У гіпокампі встановлено значне підвищення (більше ніж в 5 раз) вмісту лінолевої та ліноленової кислот. У старих тварин більш виражені зміни складу ліпідів виявлені в неокортексі.

**P.A. Nerush, E.M. Demchenko**

### **FATTY-ACIDIC CONTENT IN CEREBRUM STRUCTURES OF HYPOTHYROID RATS OF DIFFERENT AGE GROUPS**

The content of fatty acids in the cerebral cortex and hippocampus was studied in an experiment on Wistar rats of the three age groups (5-weeks, puberal and old – 20-22 weeks) with an induced hypothyroidism (simulation was achieved by a 2 week prior supplement of L-thyroxin and final monitoring of thyroxin levels in serum). It was determined that the major variations of free fatty acids were noticed in the cerebral cortex and hippocampus among puberal rats, and somewhat lower shifts in premature (5 weeks) and old animals. The increase of free fatty acids in premature rats was registered in spectrum C<sub>17</sub>-C<sub>22</sub>. The increase of linoleic and linolenic acids were registered five times higher in hippocampus. In old rats hyperthyroidism was characterized by more apparent shifts in fatty-acidic content of lipids of neocortex and less apparent in hippocampus.

*Dnipropetrovsk Medical Academy*

#### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Аврова Н.Ф. Липиды нервной ткани // Нейрохимия. – 1986. – 5, №2. – С. 203–210.
2. Агаджанян Н.А., Макарова И.И., Головкин М.Ю. О метаболическом взаимоотношении липидов головного мозга крыс при изменении геомагнитной ситуации // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2001. – 131, №3. – С. 321–324.
3. Гурин В.Н. Обмен липидов при гипертермии, гипотермии и лихорадке. – Минск: Беларусь, 1986. – 190 с.
4. Демченко О.М., Неруш П.О. Особенности болевой реакции у старых шуров за умов тиреопатичного стану // Таврич. медико-биол. вестн. – 2004. – 7, №1. – С. 55–59.
5. Карагезян К.Г., Овечья Г.А., Овсепян Л.М., Сукиасян Л.В. Количественные изменения фосфолипидов и их жирнокислотного состава в головном мозге белых крыс при односторонней ганглиосимпат-

- эктомии // Нейрохимия. – 1988. – 7, №4. – С. 597–601.
6. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. – Спб.: Питер, 1999. – 512 с.
7. Колосова Н.Г., Щеглова Т.В., Амстиславская Т.Г., Лоскутова Л.В. Сравнительный анализ содержания продуктов ПОЛ в структурах мозга крыс Вистар и ОХYS разного возраста // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2003. – 135, №6. – С. 696–699.
8. Комиссаров И.В. Механизмы химической чувствительности синаптических мембран. – К.: Наук. думка, 1986. – 238 с.
9. Крепс Е.М. Липиды клеточных мембран. – Л.: Наука, 1981. – 251 с.
10. Кубарко А.И., Гурин В.Н. Влияние фармакологических средств и чрезвычайных раздражителей на фазовые переходы липидов мозга, их связь с температурой тела // Здравоохранение Белоруссии. – 1978. – №11. – 88 с.
11. Курята О.В., Гейченко В.П., Карапетян К.Г., Куделя І.В. Вікові зміни активності перекисного окислення ліпідів і фосфоліпідного складу мембран еритроцитів // Фізіол. журн. – 2002. – 48, №2. – С. 148–152.
12. Лішневська В.Ю., Брюзгина Т.С., Коркушко О.В. Вікові зміни жирно-кислотного складу мембран еритроцитів // Там само. – 2003. – 49, №6. – С. 47–51.
13. Неруш П.А. Влияние аргинин-вазопрессина на возбудимость и содержание жирных кислот структур головного мозга крыс при неврозе // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1991. – №3. – С. 271–274.
14. Подколзин А.А., Донцов В.И., Крутько В.Н. и др. Профилактика старения // Физиология человека. – 2002. – 28, №3. – С. 108–111.
15. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). – Л.: Изд-во Ленинград. ун-та, 1982. – 250 с.
16. Marchioli R., Barzi F., Bomba E. et al. Early protection against sudden death by n-3 polyunsaturated fatty acids affor myocardial infarction // Circulation. – 2002. – 105, №16. – P.1897–1903.
17. Lands WEM. Biochemistry and physiology of eicosanoid precursors in cell membranes // Eur. Heart J. – 2001. – 22. – P. D22–D25.

*Дніпропетров. мед. академія М-ва освіти і науки України*

*Матеріал надійшов до редакції 25.10.2004*