

Кузьменко Ю.Ю.,  
Брюзгіна Т.С.,  
Стеченко О.В.,  
Трофимова І.М.

## ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ЖИРНИХ КИСЛОТ У НИРКАХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ТИРЕОЇДЕКТОМІЇ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (м.Київ)

**Резюме.** Методом газорідинної хроматографії досліджено зміни у жирно-кислотному складі ліпідів в тканинах нирки в динаміці розвитку гіпотиреозу та після його фармакологічної корекції. Встановлено, що вже на ранніх етапах після повної тиреоїдектомії (14 днів) відбувається перерозподіл співвідношень жирних кислот у бік збільшення їх насичених форм за рахунок зменшення поліненасичених, який набуває ще більшої виразності через 35 днів експерименту. Зменшення ступеню відмінностей у жирнокислотному складі через 50 днів може бути ознакою часткового пристосування організму до дефіциту гормонів щитовидної залози. Через 100 днів ці компенсаторні зміни зазнають зриву, про що свідчить розбалансування вмісту майже всіх досліджених жирних кислот, особливо поліненасичених, серед яких зміни набувають різноспрямований характер. Монотерапія L-тироксина не викликає повного відновлення співвідношень жирних кислот, тоді як комбіноване лікування L-тироксина та кальцитоніном призводить до нормалізації показників.

**Ключові слова:** жирні кислоти, нирки, щури, гіпотиреоз, газорідинна хроматографія

### Вступ

При клінічно вираженому гіпотиреозі завжди спостерігаються порушення ліпідного обміну, тому що тиреоїдні гормони стимулюють ліполіз, окислення жирних кислот [3]. Знаходячись у складі ліпідів, мононенасичені і незамінні жирні кислоти виконують безліч життєво необхідних функцій. При зниженні рівня тиреоїдних гормонів підвищується насиченість плазматичних мембран клітин ЖК на тлі підвищення у 1,5 рази концентрації в них холестерину. Важливу роль відіграє співвідношення насичених та ненасичених жирних кислот у організмі [5].

У зв'язку з вищезазначеним метою дослідження було вивчити зміни жирно-кислотного складу в тканинах нирки щурів у динаміці розвитку гіпотиреозу для оцінки ефективності замісної терапії та створення теоретичного базису для пошуку нових схем лікування.

### Матеріали і методи дослідження

Методом газорідинної хроматографії досліджено тканини нирок 130 білих щурів-самців лінії Вістар масою 180-200 г. Утримання та проведення маніпуляцій з тваринами проводили в умовах віварію Національного медичного університету імені О.О. Богомольця згідно положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1985). Було сформовано 6 груп по 10 тварин у кожній: I – щури через 14 днів після тотальної ти-

реоїдектомії; II – через 35 днів після операції; III – через 50 днів після операції; IV – через 100 днів після операції; V – щури, які на протязі 100 днів після тиреоїдектомії отримували L-тироксин (виробник – «Фармак», Україна) у дозі 10мкг/кг ваги тварини per os; VI – щури, які на протязі 100 днів після тиреоїдектомії отримували L-тироксин (ЛТ) per os та кальцитонін (МК) (препарат «міакальчик», виробник – «Novartis», Швейцарія) у дозі 1,0 МО/кг ваги внутрішньом'язово. Паралельно з кожною експериментальною групою було досліджено по 10 інтактних щурів. Результати, отримані від контрольних тварин, були перевірені на однорідність за допомогою критерію Колмогорова-Смирнова. Відсутність статистично значущих відмінностей між ними дозволили об'єднати їх в одну групу.

Стан маніфестного гіпотиреозу моделювали шляхом проведення тотальної тиреоїдектомії під кетаміновим наркозом [2]. Підготовку тканин нирок експериментальних та контрольних щурів для газохроматографічного аналізу жирних кислот (ЖК) проводили за існуючою методикою [4]. Визначалися 9 найбільш інформативних ЖК: С 14:0 міристинова, С 15:0 пентадеканова, С 16:0 пальмітинова, С 17:0 маргарінова, С 18:0 стеаринова, С 18:1 олеїнова, С 18:2 лінолева, С 18:3 ліноленова, С 20:4 арахідонова, кількісну оцінку яких проводили методом нормування площин піків метилових похідних ЖК. Отримані дані вмісту ЖК у відсотках обробляли мето-

дом варіаційної статистики з використанням критерію t - Стьюдента.

#### Результати дослідження та їх обговорення

Аналіз співвідношення (ЖК) в нирках інтактних статовозрілих щурів показав, що насичені ЖК (НЖК) складають  $\approx 1/3$  ЖК, тоді як на ненасичені ЖК (ННЖК) припадає  $\approx 2/3$ . Серед останніх переважають поліненасичені ЖК (ПНЖК), які у жирнокислотному балансі нирки дорослих тварин займають половину вмісту (табл.). У групі НЖК в найбільшій кількості представлені пальмітинова та стеаринова ЖК, а ННЖК – арахідонова ЖК.

Через 14 діб після тотальної тиреоїдектомії в нирках спостерігається перерозподіл НЖК та ННЖК. У групі НЖК при загальному підвищенні показника зміни вмісту окремих НЖК мають різноспрямований характер. Хоча відсоток міристинової та пентадеканової ЖК зменшується  $\approx$  у 2 рази, а пальмітинової та стеаринової збільшується в значно меншій мірі, внаслідок того, що частка останніх у групі НЖК була домінуючою, їх загальний вміст перевищував контрольний показник на 25% (табл.). У групі ННЖК зменшується вміст олеїнової (на 35%) та арахідонової (на 8%) ЖК (табл.).

Зростання вмісту НЖК, можливо, є компенсаторною відповіддю на зменшення олеїнової ЖК, так як відомо, що через окислення саме цих ЖК в мітохондріях виробляється

основна кількість АТФ. З іншого боку, підвищення рівня НЖК, в першу чергу пальмітинової, викликає розвиток окислювального стресу. Крім того, нестача ПНЖК може бути ознакою підсилення перекисного окислення ліпідів, тому що ПНЖК одні з перших витрачаються при окислювальних процесів. Зменшення ПНЖК не може не відображатися і на стані плазматичних мембран, про що свідчить підвищення рівня гемолізу еритроцитів у тиреоїдектомованих щурів в цей же термін спостережень [2].

Через 35 діб спостерігається подальше зростання відсотку НЖК, внаслідок значного збільшення ( $\approx 3-5$  раз) міристинової та пентадеканової ЖК, кількість яких у попередній термін спостережень був знижений, та пальмітинової ЖК. Не дивлячись на зростання останньої, зменшується співвідношення стеаринової ЖК (табл.), яка синтезується з пальмітинової, що може бути ознакою порушень у ланцюгу біосинтезу ліпідів. У групі ННЖК зміни також мають різноспрямований характер. Вміст олеїнової МНЖК збільшується  $\approx$  на 30% у порівнянні з контролем. Майже вдвічі збільшується лінолева ПНЖК, тоді як її похідна – арахідонова ПНЖК відповідно зменшується (табл.). Ці ЖК відносяться до сімейства омега-6. Ліноленова ПНЖК, яка є попередником ЖК сімейства омега-3, не змінюється у кількості, тоді як для нормально-

ТАБЛИЦЯ 1

ЗМІНИ СПІВВІДНОШЕНЬ ЖК У НИРКАХ ЩУРІВ У ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ НАБУТОГО ГІПОТИРЕОЗУ

	К	14 діб	35 діб	50 діб	100 діб	ЛТ	ЛТ+МК
С 14:0	1,3 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1*	6,3 $\pm$ 0,1	3,0 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,1*	1,6 $\pm$ 0,3	0,9 $\pm$ 0,1*
С 15:0	0,6 $\pm$ 0,05	0,3 $\pm$ 0,05*	1,7 $\pm$ 0,3	1,1 $\pm$ 0,3	0,4 $\pm$ 0,1*	1,2 $\pm$ 0,3*	0,4 $\pm$ 0,05
С 16:0	21,1 $\pm$ 1,3	26,7 $\pm$ 1,3*	29,5 $\pm$ 1,5*	24,4 $\pm$ 1,0*	26,6 $\pm$ 1,6*	20,7 $\pm$ 1,0	22,3 $\pm$ 1,5
С 17:0	0,3 $\pm$ 0,05	0,4 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,05	0,4 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,1
С 18:0	9,1 $\pm$ 0,8	12,9 $\pm$ 1,0*	6,7 $\pm$ 0,7*	9,1 $\pm$ 0,9	8,9 $\pm$ 0,9	11,6 $\pm$ 1,0	9,4 $\pm$ 0,9
С 18:1	12,8 $\pm$ 0,7	8,4 $\pm$ 0,9	16,4 $\pm$ 0*	12,2 $\pm$ 1,0	9,1 $\pm$ 0,9*	12,9 $\pm$ 1,1	13,4 $\pm$ 1,0
С 18:2	8,7 $\pm$ 0,6	8,0 $\pm$ 0,8	15,3 $\pm$ 1,1*	12,0 $\pm$ 1,1*	14,9 $\pm$ 1,0*	8,9 $\pm$ 0,9	5,0 $\pm$ 0,5*
С 18:3	0,5 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,3*	0,6 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1
С 20:4	45,5 $\pm$ 1,3	42,1 $\pm$ 1,3*	22,9 $\pm$ 1,6*	37,3 $\pm$ 1,6	38,1 $\pm$ 1,6*	42,0 $\pm$ 1,5*	47,6 $\pm$ 1,8
Сумма НЖК	32,5 $\pm$ 0,9	40,9 $\pm$ 1,8*	44,9 $\pm$ 1,9*	38,0 $\pm$ 1,7*	37,0 $\pm$ 2,0*	35,5 $\pm$ 1,6*	33,4 $\pm$ 1,7
Сумма МНЖК	12,8 $\pm$ 0,7	8,4 $\pm$ 1,8*	16,4 $\pm$ 1,9*	12,2 $\pm$ 1,7*	8,9 $\pm$ 2,0*	12,9 $\pm$ 1,6	13,4 $\pm$ 1,7
Сумма ПНЖК	54,7 $\pm$ 0,9	50,7 $\pm$ 1,6*	38,7 $\pm$ 1,6*	49,8 $\pm$ 1,6	54,1 $\pm$ 1,8	51,5 $\pm$ 1,5*	53,2 $\pm$ 1,5

до функціонування організму важливим є не тільки кількість ПНЖК, а й баланс омега - 3 та омега - 6 жирів.

Тобто, через 35 діб після тиреоїдектомії у щурів відбувається більш виразне розбалансування у ліпідному обміні у нирках, ніж через 14 діб, де зміни, скоріш усього були відображенням стресу, який зазнав організм після операції.

Через 50 діб співвідношення ЖК дещо стабілізується і по багатьох параметрах або повертаються, або наближаються до контрольних показників (таб.), що може свідчити про компенсаторний характер жирнокислотного обміну у нирках.

При збільшенні строку спостережень до 100 діб, хоча сума НЖК не змінюється у порівнянні з попереднім терміном, відбувається статистично значущий перерозподіл перших трьох з досліджених ЖК: міристинова та пентадеканова ЖК – зменшуються у кількості, а пальмітинова – збільшується (таб.). Це ж відноситься і до ПНЖК, однотипність суми яких з контрольним показником обумовлена різною направленістю змін у цій групі ЖК: олеїнова та арахідонова ЖК – зменшуються у кількості, а ліолева та ліоленова – збільшуються. Так як зменшується відсоток найбільш показних ПНЖК, то можна вважати, що через 100 діб розвитку гіпотиреозу зростання насиченості ЖК на фоні зниження ПНЖК відображає зміни у хімічному складі мембранних структур нирки.

У тиреоїдектомованих щурів, які на протязі 100 діб отримували L-тироксин, відсоток більшості ЖК не відрізнявся від контрольних показників, за виключенням пентадеканової ЖК, яка була збільшена у кількості, та арахідонової ЖК, відсоток якої не досягав контрольних величин (таб.). Підвищена кількість НЖК при зниженому відсотку ПНЖК свідчить, що замісна терапія L-тироксином не забезпечує повного відновлення жирно кис-

лотного складу у нирках тиреоїдектомованих щурів і, відповідно, будови мембран.

Комбіноване лікування гіпотиреозу L-тироксином та міокальциком призводить до нормалізації співвідношень НЖК, МНЖК та ПНЖК. І хоча їх окремі представники незначно, але статистично значуще відрізняються від контролю, ці ЖК представлені у мінімальній кількості і, скоріш усього, не відіграють вирішальної ролі.

#### Висновки

В нирках інтактних статевозрілих щурів переважають ненасичені ЖК, серед яких домінує арахідонова ЖК. Після повної тиреоїдектомії вже на ранніх етапах (14 діб) відбувається перерозподіл співвідношень жирних кислот у бік збільшення їх насичених форм за рахунок зменшення поліненасичених, який набуває ще більшої виразності через 35 діб експерименту. Зменшення ступеню відмінностей у жирнокислотному складі через 50 діб може бути ознакою часткового пристосування організму до дефіциту гормонів щитовидної залози. Через 100 діб ці компенсаторні зміни зазнають зриву, про що свідчить розбалансування вмісту майже всіх досліджених жирних кислот, особливо поліненасичених, серед яких зміни набувають різноспрямований характер. Монотерапія L-тироксином не викликає повного відновлення співвідношень жирних кислот, тоді як комбіноване лікування L-тироксином та кальцитоніном призводить до нормалізації показників.

Отримані результати можуть бути використані для розкриття деяких механізмів розвитку змін у нирках при гіпотиреозі, а також оцінки ефективності застосування фармакологічних засобів.

ГІПОТИРЕОЗУ

ЛТ+МК
0,9±0,1*
0,4±0,05
22,3±1,5
0,4±0,1
9,4±0,9
13,4±1,0
5,0±0,5*
0,6±0,1
47,6±1,8
33,4±1,7
13,4±1,7
53,2±1,5

## ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ПОЧКАХ КРЫС ПОСЛЕ ТИРЕОИДЭКТОМИИ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ

Кузьменко Ю.Ю., Брюзгина Т.С., Стеченко Е.В., Трофимова И.Н.

*Резюме.* Методом газожидкостной хроматографии изучены изменения в жирнокислотном составе липидов в тканях почки в динамике развития гипотиреоза и после его фармакологической коррекции. Установлено, что уже на ранних этапах после полной тиреоидэктомии (14 суток) происходит перераспределение соотношений жирных кислот в сторону увеличения их насыщенных форм за счет уменьшения полиненасыщенных, которое приобретает еще большую выразительность через 35 суток эксперимента. Уменьшение степени отличий в жирнокислотном составе через 50 суток может быть признаком частичного приспособления организма к дефициту гормонов щитовидной железы. Через 100 суток эти компенсаторные изменения испытывают срыв, о чем свидетельствует разбалансировка содержания почти всех исследованных жирных кислот, особенно полиненасыщенных, среди которых изменения приобретают разнонаправленный характер. Монотерапия L-тироксином не вызывает полного возобновления соотношений жирных кислот, тогда как комбинированное лечение L-тироксином и кальцитонином приводит к нормализации показателей.

*Ключевые слова:* жирные кислоты, почки, крысы, гипотиреоз, газожидкостная хроматография

## CHARACTERISTICS OF CHANGES IN FATTY ACIDS OF RAT KIDNEYS AFTER THYROIDECTOMY AND PHARMACOLOGICAL CORRECTION

Kuzmenko Y.Y., Bruzgina T.S., Stechenko E.V., Trofimova I.N.

*Summary.* Changes in the fatty-acid content of lipids in the tissues of kidney, at the stage of dynamic development of hypothyroidism and after its pharmacological correction were studied, using the method of gas-liquid chromatography. It was established, that at the early stages, after a complete thyroidectomy (14 days), redistribution of the proportion of fatty-acids to increase of their saturated forms occur, at the expense of reduction of the number of polyunsaturated fatty-acids, which obtains an even more pronounced form after 35 days of the experiment. Decrease of a degree of differences in fatty-acid structure after 50 days can be a sign of a partial adaptation of the organism to the deficiency of hormones of the thyroid gland. After 100 days, these compensatory changes experience a disruption, which is proved by the unbalancing of the contents of almost all studied fatty-acids, especially polyunsaturated, in which the changes obtain a multidirectional character. Monotherapy using an L-thyroxin, doesn't invoke a full renewal of the proportion of fatty-acids, where as the combined treatment with L-thyroxin and calcitonin results in the normalisation of the results.

*Key words:* fatty-acids, kidneys, rats, hypothyroidism, gas-liquid chromatography.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Стеченко Л.О., Петренко В.А., Бик П.Л., Кузян В.Р., Куфтирева Т.П. Спосіб моделювання гіпотиреозу у щурів Патент №27821, Україна, МПК G09B23/28(2006.01) Офіційний бюлетень.- 2007р
2. Стеченко Л.А., Петренко В.А., Куфтирева Т.П., Антоненко Л.И., Аршинникова Л.Л. Сердце при гипотиреозе (экспериментальное исследование).- Киев: Национальный медицинский институт имени А.А.Богомольца, 2008.-
3. Сыч Ю.П., Фадеев В.В., Мельниченко Г.А. и др. Нарушения липидного обмена при субклиническом гипотиреозе// Проблемы эндокринологии.-2004.-Т.50, N3.-С.48-51.
4. Яницца Л.В., Брюзгина Т.С., Губський Ю.І. Жирнокислотний склад ліпідів головного мозку щурів при токсичному ураженні дихлоретаном та введенні нікотинамідом // Современные проблемы токсикол. -2005.-№1.-С.19-22.
5. Das U.N. Essential fatty acids: Biology and their clinical implications// Asia Pac. J. Pharmacol.- 1991.- V.6.- N 4.-P.317—330.