

Теоретическая и профилактическая медицина

УДК 612. 83: 612. 014. 42; 612. 434. 14

Роль холинового эфира N-бензоил-D, L-валина в изменении биоэлектрической активности одиночных мотонейронов спинного мозга крыс при экспериментальном гипотиреозе**В. О. Топузян¹, И. Р. Карапетян¹, Т. С. Хачатрян²***¹Институт тонкой органической химии
им. А. Л. Мнджояна НАН РА**²Институт физиологии им. Л. А. Орбели НАН РА
0014, Ереван, пр. Азатутян, 26*

Ключевые слова: холиновый эфир N-бензоил-D, L-валина, гипотиреоз, тиреоидэктомия, мотонейроны, спинной мозг, вызванная активность, программный анализ, скользящая частота, сериальные гистограммы, межимпульсные интервалы

В настоящее время наиболее распространёнными патологиями щитовидной железы являются её дисфункции – гипотиреоз и гипертиреоз. Гипотиреоз – клинический синдром, вызванный длительным, стойким недостатком гормонов щитовидной железы в организме, сопровождающийся снижением их биологического эффекта на тканевом уровне. Распространённость манифестного первичного гипотиреоза в популяции составляет 0, 2 - 1%, латентного первичного гипотиреоза – 7 - 10% среди женщин и 2 - 3% среди мужчин. За 1 год 5% случаев латентного гипотиреоза переходит в манифестный. Патогенетически гипотиреоз классифицируется как: 1) первичный (тиреогенный); 2) вторичный (гипофизарный); 3) третичный (гипоталамический); 4) тканевой (транспортный, периферический). По степени тяжести первичный гипотиреоз подразделяют на: 1) латентный (субклинический) – повышенный уровень тиреотропного гормона при нормальном уровне тироксина; 2) манифестный – гиперсекреция тиреотропного гормона, при сниженном уровне тироксина, клинические проявления – компенсированный и декомпенсированный; 3) тяжелого течения (осложнённый). Имеются тяжёлые осложнения, такие как кретинизм, сердечная недостаточность, выпот в серозные полости, вторичная аденома гипофиза. В подавляющем большинстве случаев гипотиреоз является

первичным. Наиболее часто первичный гипотиреоз развивается в исходе аутоиммунного тиреоидита, реже — после резекции щитовидной железы и терапии радиоактивным ^{131}I . Большую редкость представляет первичный гипотиреоз, развившийся в исходе подострого, фиброзирующего и специфических тиреоидитов, а также стойкий гипотиреоз в результате лечения диффузного токсического зоба тиреостатиками. В ряде случаев генез гипотиреоза остается неясным (идиопатический гипотиреоз). Можно выделить врожденные и приобретенные формы первичного гипотиреоза. Причиной врожденного гипотиреоза, встречающегося с частотой 1 случай на 4 — 5 тыс. новорожденных, являются: аплазия и дисплазия щитовидной железы, эндемический зоб, врожденный дефицит тиреотропного гормона, синдром периферической резистентности к тиреоидным гормонам (казуистика) [4,6,12-14,17].

В корригировании вышеотмеченных нарушений особого внимания заслуживает применение холиновых эфиров, заслуживающих существенного внимания с точки зрения особенностей их синтеза и биологической активности [1,19,20]. Согласно результатам исследований последних лет [7,10,16,18,22], холиновыми эфирами осуществляется ряд важнейших функций в растениях, а также в организме человека и животных. Вместе с тем продолжают отсутствовать сведения относительно применения эфиров холина при гипотиреозах и результатов их действия на мотонейроны спинного мозга. Исходя из поиска оптимальных средств, стимулирующих и благоприятствующих лечению данной весьма сложной и распространенной патологии организма человека и животных и с учётом вышеотмеченных особенностей холиновых эфиров, нами предпринята попытка исследовать действие одного из хсличовых эфиров: холинового эфира N-бензоил-D, L-валина, синтезированного в Институте тонкой органической химии им. А. Л. Мнджояна НАН РА под руководством д. х. н. Топузяна В. О., на одиночные мотонейроны спинного мозга крыс в норме и при экспериментальном гипотиреозе.

Материал и методы

Эксперименты были поставлены на 50 крысах-самцах, массой 200 — 220 г, разделённых на 3 подопытные группы: первая — интактные животные (10 экземпляров); вторая — животные с экспериментальным гипотиреозом, вызванным тиреоидэктомией (20); третья — животные с экспериментальным гипотиреозом, получавшие в течение 1 месяца внутримышечные инъекции холинового эфира N-бензоил-D, L-валина в дозе 200 мкг/кг массы тела, индивидуально (20). Дозировка холинового эфира N-бензоил-D, L-валина была избрана с учётом интенсивности патологии щитовидной железы и токсических свойств препарата. Тиреоидэктомия у 40 крыс осуществлялась по следующему алгоритму.

Для проведения операции крысы под эфирным наркозом фиксировались в положении на спине. Доступ к щитовидной железе осуществлялся через разрез кожи в области шеи длиной около 3,5 – 4 см. Затем обнажалась щитовидная железа, производили отпрепаровку $2/3$ её части с сохранением паращитовидных желёз и с помощью острых ножниц доли отсекались, после чего под каждую из них подводились лигатуры. Раны послойно зашивались. Животные хорошо переносили операцию и спустя 0,5 – 1 час после операции подходили к корму и воде.

Электрофизиологические исследования биоэлектрических показателей спинномозговой деятельности проводились в остром эксперименте. В острых опытах под эфирным наркозом крысу обездвиживали дитилином и переводили на искусственное дыхание; спинной мозг пересекался под новокаином ультразвуковым ножом на уровне T2 – T3. После прочной фиксации пояснично-крестцового отдела позвоночника в стереотаксическом приборе производили ламинэктомию данной области. Электрофизиологическими методами изучалась внеклеточная вызванная активность одиночных мотонейронов спинного мозга у интактных животных, гипотиреоидных животных и у гипотиреоидных животных, получавших в течение 1 месяца внутримышечные инъекции холинового эфира N - бензоил - D, L - валина в дозе 200 мкг/кг массы тела, индивидуально. Регистрацию и анализ внеклеточной вызванной активности одиночных мотонейронов спинного мозга производили с помощью специальных программ на компьютере. Проводилась оценка стационарности престаимульной и постстимульной активности нейрона после электрического раздражения седалищного нерва. Выборка спайков проводилась с помощью амплитудного дискриминатора посредством программного анализа. Вычислялась скользящая частота (для каждых 10 межимпульсных интервалов с шагом 5 интервалов), сериальные гистограммы до 50 порядка, гистограммы межимпульсных интервалов, на основе которых вычислялась средняя частота фонового нейронального потока одиночных клеток, а также спайковая выборка нескольких (до 20) повторений до и после раздражения. В ответ на раздражение седалищного нерва производили экстраклеточную регистрацию вызванной электрической активности одиночного мотонейрона. Последующий анализ биоэлектрической вызванной активности одиночных мотонейронов спинного мозга крыс осуществляли по алгоритму, подробно описанному в наших предыдущих статьях [2,3].

Результаты и обсуждение

На рисунке приведены примеры куммулятивных (1 – 3, а, б) и суммированных (1 – 3, в) постстимульных гистограмм вызванной активности одиночного мотонейрона спинного мозга у интактных живот-

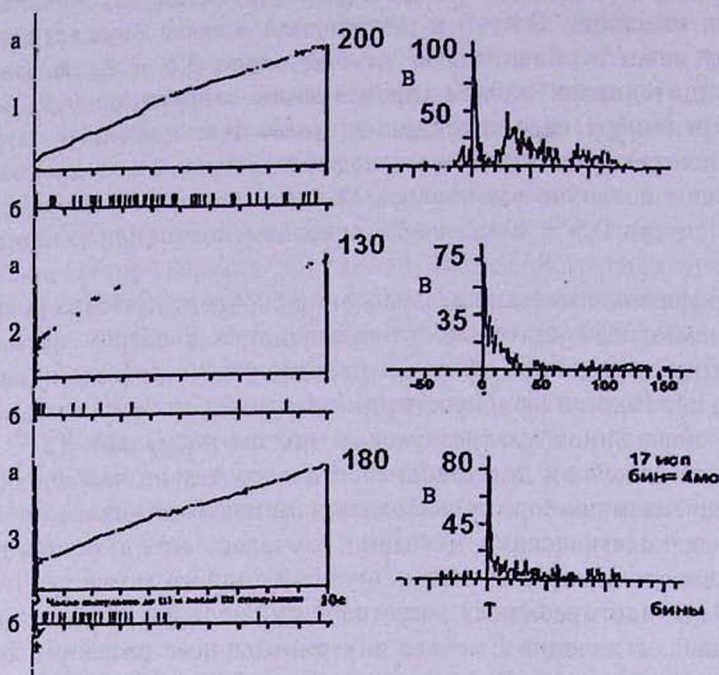


Рисунок. Куммулятивная постстимульная вызванная активность одиночного фоновоактивного мотонейрона спинного мозга крыс в норме (1, а, б, в); одиночного фоновоактивного мотонейрона спинного мозга крыс при гипотиреозе (2, а, б, в) и одиночного фоновоактивного мотонейрона спинного мозга у гипотиреоидных крыс, получавших в течение 1 месяца ежедневно внутримышечные инъекции холинового эфира N-бензоил - D, L-валина (3, а, б, в).

На «а»: ордината – число импульсов до и после стимуляции нерва, абсцисса – время регистрации импульсного потока; на «б»: картина импульсного потока после стимуляции нерва в избранном интервале времени; на «в»: ордината – процент импульсов (в бинах) от числа проб, абсцисса – последовательность бинов. Глубина отведения 3 мотонейронов – 1300 мк

ных (1, а, б, в); у гипотиреоидных крыс (2, а, б, в); у гипотиреоидных крыс, получавших в течение 1 месяца внутримышечные инъекции холинового эфира N-бензоил -D, L-валина в вышеуказанных дозах (3, а, б, в). Анализируя данный рисунок, можно сделать вывод о том, что при гипотиреозе наблюдается резкое урежение вызванной активности мотонейрона и трансформация её из регулярного типа разряда мотонейрона в патологический «пачечный» тип, вызванная, вероятно, дисфункцией щитовидной железы, связанной с недостатком кальция, весьма характерным для данной патологии. Данный эффект хорошо виден на куммулятивной постстимульной гистограмме (2, а) и на престаимульной части суммированной (17 испытаний) гистограммы (2, в) постстимульного вызванного импульсного потока (2, б). После применения холинового эфира N-бензоил-D, L-валина в дозе

200 мкг/кг массы тела у крыс с гипотиреозом происходит резкое учащение постстимульной вызванной активности мотонейрона, сопровождающееся исчезновением пачечной активности (3, а, б, в) и приближающееся по своим показателям к картине внеклеточной вызванной активности у интактных животных (1, а, б, в).

В результате проведенного анализа полученных данных мы пришли к выводу, что в целом имеется положительный эффект от применения при гипотиреозах. Итак, результаты ранее проведенных исследований по изучению действия холиновых производных [5,8,9,11,15,21], а также результаты данной серии исследований показали эффективность действия холинового эфира N-бензоил- D, L-валина на внеклеточную вызванную синаптическую активность одиночных мотонейронов спинного мозга крыс при экспериментальном гипотиреозе.

Поступила 16.07.09

Քոլինի եթեր N - բենզոիլ- D, L-վալինի դերը առնետների ողնուղեղի կենսաէլեկտրական ակտիվության փոփոխության մեջ փորձարարական հիպոթիրեոզի ժամանակ

Վ. Օ.Թոփուզյան, Ի. Ռ. Կարապետյան, Տ. Ս. Խաչատրյան

Ուսումնասիրվել է քոլինի եթեր N-բենզոիլ-D, L-վալինի ազդեցությունը առնետների ողնուղեղի առանձին մոտոնեյրոնների կենսաէլեկտրական ակտիվության փոփոխության վրա՝ նորմայում և փորձարարական հիպոթիրեոզի ժամանակ: Ստացված արդյունքները ցույց են տվել քոլինի եթեր N-բենզոիլ-D, L-վալին ստացող առնետների մոտ ողնուղեղի առանձին մոտոնեյրոնների հարուցված ակտիվության ստույգ բարելավման էֆեկտ: Ողնուղեղի առանձին մոտոնեյրոնների էլեկտրական ակտիվության գրանցումը կատարվել է համակարգչային հատուկ ծրագրերով on-line ռեժիմում:

Choline ester N- benzoil -D, L -valin role in the alternation of bioelectric activity of rats spinal cord single motoneurons in experimental hypothyroidism

V. O. Topuzyan, I. R. Karapetyan, T. S. Khachatryan

In the series of experiments the effect of the use of one of choline esters N-benzoil- D, L-valin on rats in norm and with experimental hypothyroidism has been studied. The obtained results have shown the protective action of choline ester N-benzoil- D, L-valin on the evoked activity of single spinal motoneurons of rats with

experimental hypothyroidism. The registration and analysis of the evoked activity of single motoneurons of spinal cord has been conducted by means of special computer programs in on-line mode.

Литература

1. Мнджоян О. Л., Топузьян В. О. Методы синтеза и свойства β -диметиламиноэфиров и холиновых эфиров аминокислот и пептидов. Ж. Успехи химии, 1981, т. L, 12, с. 2198 – 2211.
2. Хачатрян Т. С. Действие лидазы и тироксина на фоновую электрическую активность одиночных пирамидных нейронов коры больших полушарий крыс. Биол. журн. Армении, 2007, т. LIX, 3 – 4, с. 198 – 202.
3. Хачатрян Т. С. Протекция тироксином изменений вызванной активности повреждённых травмой одиночных мотонейронов спинного мозга крыс. Биол. журн. Армении, 2008, т. LX, 3, с. 64 – 67.
4. Abdullatif H. D., Ashraf A. P. Reversible subclinical hypothyroidism in the presence of adrenal insufficiency. J. Endocr. Pract., 2006, v. 5, 12, p. 572.
5. Brown M., Davies I. M., Moffat C. F., Redshaw J., Craft J. A. Characterisation of choline esterases and their tissue and subcellular distribution in mussel (*Mytilus edulis*). J. Mar. Environ. Res., 2004, v. 3, 57, p. 155 – 169.
6. Ciesielska-Kopacz N., Kos-Kudla B., Pluskiewicz W. The influence of thyroid diseases and their treatment on the development of osteoporosis. J. Przegl. Lek., 1998, v. 5, 55, p. 271 – 273.
7. Clauss K., Baumert A., Nimtz M., Milkowski C., Strack D. Role of a GDSL lipase-like protein as sinapine esterase in Brassicaceae. J. Plant J., 2008, v. 5, 53, p. 802 – 813.
8. Di Venosa G., Hermida L., Battle A., Fukuda H., Defain M. V., Mamone L., Rodriguez L., MacRobert A., Casas A. Characterisation of liposomes containing aminolevulinic acid and derived esters. J. Photochem. Photobiol., 2008, v. 1, 92, p. 1 – 9.
9. Eibl K. H., Lewis G. P., Betts K., Linberg K. A., Gandorfer A., Kampik A., Fisher S. K. The effect of alkylphosphocholines on intraretinal proliferation initiated by experimental retinal detachment. J. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2007, v. 3, 48, p. 1305 – 1311.
10. Grigoryan H. A., Hambardzumyan A. A., Mkrtchyan M. V., Topuzyan V. O., Halebyan G. P., Asatryan R. S. Alpha, beta-Dehydrophenylalanine choline esters, a new class of reversible inhibitors of human acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. J. Chem. Biol. Interact., 2008, v. 1, 171, p. 108 – 116.
11. Holmes-McNary M. Q., Cheng W. L., Mar M. H., Fussel S., Zeisel S. H. Choline and choline esters in human and rat milk and in infant formulas. J. Am. J. Clin. Nutr., 1996, 64, v. 4, p. 572 – 576.
12. Jonderko G., Straszeczka J., Marcisz C., Wieczorek U. Influence of treating hypothyroidism and hyperthyroidism upon psychical reaction time. J. Pol. Arch. Med., 1992, v. 5, 88, p. 295 – 301.
13. Jorde R. "Subclinical" thyroid disease. J. Tidsskr. Nor. Lægeforen., 2002, 122, v. 9, p. 938 – 940.
14. Larsen P. R. Ontogenesis of thyroid function, thyroid hormone and brain development, diagnosis and treatment of congenital hypothyroidism. In: DeGroot L. J., Larsen P. R., Henneman G., eds. The Thyroid and Its Diseases. 6th ed. New York: Churchill Livingstone, 1996, p. 541 – 567.
15. Masson P., Froment M. T., Gillon E., Nachon F., Lockridge O., Schopfer L. M. Hydrolysis of oxo- and thio-esters by human butyrylcholinesterase. J. Biochim. Biophys. Acta, 2007, v. 1, 1774, p. 16 – 34.
16. Meissner D., Albert A., Bottcher C., Strack D., Milkowski C. The role of UDP-glucose: hydroxycinnamate glucosyltransferases in phenylpropanoid metabolism and the response to UV-B radiation in *Arabidopsis thaliana*. J. Planta, 2008, v. 4, 228, p. 663 – 674.
17. Nerush P. O., Demchenko O. M. Effect of hypothyroidism on glial fibrillary acid protein in the

structures of the rat brain. *J. Fiziol. Zh.*, 2006, v. 6, 52, p. 45 -51.

18. *Sousa C., Lopez G., Pereira D. M., Taveira M., Valentao P., Seabra R. M., Pereira J. A., Baptista P., Ferreres F., Andrade P. B.* Screening of antioxidant compounds during sprouting of *Brassica oleracea* L. var. *costata* DC. *J. Comb. Chem. High Throughput Screen*, 2007, v. 5, 10, p. 377 - 386.
19. *Terkeltaub R.* Physiologic and pathologic functions of the NPP nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family focusing on NPP1 in calcification. *J. Purinergic Signal.*, 2006, v. 2, 2, p. 371 - 377.
20. *Walz J., Schwack W.* Multienzyme inhibition assay for residue analysis of insecticidal organophosphates and carbamates. *J. Agric. Food. Chem.*, 2007, v. 26, 55, p. 10563 - 10571.
21. *Zeisel S. H.* Choline: Needed for Normal Development of Memory. *J. Am. J. Clin. Nutr.*, 2000, v. 19, 905, p. 528 - 531.
22. *Zollinger M., Sayer C., Dannecker R., Schuler W., Sedrani R.* The macrolide everolimus forms an unusual metabolite in animals and humans: identification of a phosphocholine ester. *J. Drug Metab. Dispos.*, 2008, v. 8, 36, p. 1457 - 1460.