

ORCID and contributionship:

Kosharnyi V. V.: 0000-0002-7815-3950 ^{ABEDF}
Nefodova O. O.: 0000-0002-3956-2065 ^{BE}
Rutgaizer V. G.: 0000-0001-7868-8253 ^{BE}
Abdul-Ogly L. V.: 0000-0002-6942-2397 ^{ABED}
Kozlovska G. O.: 0000-0002-6362-7789 ^{BE}
Velikorodny V. I.: 0000-0002-3183-7036 ^{BE}
Kozlovska O. G.: 0000-0001-5886-3931 ^{BE}

Conflict of interest:

The Authors declare no conflict of interest.

Corresponding author

Kosharnyi Volodymyr Vitaliyovych
Dnipro State Medical University
Ukraine, 49044, Dnipro, 9 V. Vernadsky str.
Tel: +380505686448
E-mail: kosha.v@ukr.net

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article.

Received 06.03.2022

Accepted 15.09.2022

DOI 10.29254/2077-4214-2022-3-166-398-420

UDC 577.1:661.29:577.112.3:599.323.4

¹Nechiporuk V. M., ¹Pentyuk L. O., ¹Shushkovskaya Y. Y., ¹Niushko T. Y., ²Korda M. M.

SUBMICROSCOPIC CHANGES IN THE SENSORIMOTOR AREA OF THE CEREBRAL CORTEX UNDER THE CONDITIONS OF EXPERIMENTAL HYPERHOMOCYSTEINEMIA, HYPER- AND HYPOTHYREOSIS AND THEIR COMBINED INFLUENCE

¹National Pirogov Memorial Medical University (Vinnytsya, Ukraine)

²I. Horbachevsky Ternopil State Medical University (Ternopil, Ukraine)

nechiporuk@vnmu.edu.ua

Thyroid hormones (TH) play essential roles in growth and metabolic homeostasis in both humans and animals. In intrauterine life, provide temporal signals for the induction of differentiation and maturation programs at certain stages of fetal development. Among other things, THs regulate neuron plasticity processes, stimulate angiogenesis and neurogenesis, and also modulate the dynamics of cytoskeleton elements and intracellular transport processes. Homocysteine (HCy) is considered a risk factor for vascular diseases and brain atrophy. High levels of HCy have been found to promote increased oxidative stress, DNA damage, initiation of apoptosis, and excitotoxicity, all important mechanisms of neurodegeneration. HCy is also prothrombotic and proatherogenic and causes damage to the vessel wall, causing brain atrophy in the elderly. In addition, epidemiological data confirm that HCy is a risk factor for cognitive impairment and Alzheimer's disease.

The study aimed to establish submicroscopic changes in the cerebral cortex's sensorimotor area under experimental hyperhomocysteinemia, hyper-, and hypothyroidism and their combined effects.

Thiolactone HHCy was modeled by administering to animals exogenous homocysteine (HCy) in the form of thio-lactone at a dose of 100 mg/kg of body weight once a day for 28 days. Hyperthyroidism was modeled by daily administration of L-thyroxine at a dose of 200 µg/kg during the 21 day, hypothyroidism by daily administration of mercazolil at a dose of 10 mg/kg during the 21 day. Separate groups of animals were injected with L-thyroxine and mercazolil in parallel with HCy.

HHCy was accompanied by destructively changed organelles and submicroscopic changes in astrocytic glia and blood capillaries. In turn, hyperthyroidism has caused hypertrophy of mitochondria, a decrease in the number of ribosomes, and destructive changes in hemocapillaries. The most significant alterative and degenerative changes in neurocytes of the cortex of the large hemispheres under hyperthyroidism and HHCy were established. Submicroscopically, the most profound violations of their ultrastructure were found in the neurons of animals modeled with HHCy and hypothyroidism compared to all previous observation groups.

Conclusions: submicroscopic studies of the sensorimotor cortex of the cerebral hemispheres of experimental groups under conditions of simulated HHCy, hypo- and hyperthyroidism, and especially under conditions of their combined influence, established profound submicroscopic neurodegenerative changes in the cerebral cortex. Established neurodegenerative changes in cortical neurocytes occur against neurovascular disorders' background and neuroglia's alteration.

Key words: hyperthyroidism, hypothyroidism, hyperhomocysteinemia, the cerebral cortex.

Connection of the publication with planned research works. The study was carried out within the framework of the National Pirogov Memorial Medical University on the topic: «Influence of exogenous and endogenous factors on the exchange of hydrogen sulfide and associated metabolic processes in normal and pathological conditions», state registration number 0113U006461.

Introduction. It is known that thyroid hormone dysfunction profoundly affects emotional and cognitive deficits [1, 2]. Thyroid hormones are essential in brain development processes such as neuronal differentiation, neurospongium growth, synaptogenesis, and dendritic proliferation [3]. Hyperthyroidism, a common disease with the typical clinical feature of excessive circulating thyroid hormones, is often associated with a range of neuropsychiatric symptoms, including nervousness, irritability, depression, anxiety, memory impairment, poor concentration, and tremors [4]. Hypothyroidism is also associated with bipolar affective disorders, depression, or cognitive decline, especially in older people [5].

Parasecretion of circulating thyroid hormones in hyperthyroidism affects nerve function in brain regions with the highest concentration of receptors [6].

A study of the brain's structure in hyperthyroidism using fluorodeoxyglucose showed that patients with hyperthyroidism showed lower activity of the limbic system and frontal and temporal lobes compared to healthy people [4]. However, compared to hyperthyroid status, methimazole antithyroid therapy for 77 days caused increased metabolism in the left parahippocampal, fusiform, and right superior frontal gyri [7]. In addition, twenty-nine patients with hyperthyroidism induced by eight weeks of daily oral administration of 250 µg of levothyroxine were found to have increased connectivity between the temporal lobe and the cognitive control network [8].

Moreover, in a group of 28 healthy individuals with hyperthyroidism induced by 250 µg of tetraiodothyronine (T4) for eight weeks, gray matter volume increased in the right posterior cerebellum but was reduced in the bilateral visual cortex and anterior cerebellum compared with euthyroid gland [9].

Recently, much attention has been paid to the relationship between the level of homocysteine (HCy) and the appearance of cognitive disorders [10]. It has long been recognized that high levels of HCy increase the risk of cardiovascular diseases and cerebrovascular diseases by two times for every five µmol/L of HCy [11]. In addition, high levels of HCy are a risk factor for developing brain atrophy and Alzheimer's disease [12]. Furthermore, HCy is recognized as a proatherogenic and prothrombotic factor, increases smooth muscle proliferation, reduces endothelial DNA synthesis, inhibits anticoagulant factors, increases platelet aggregation, and impairs endothelium-dependent arterial vasodilation [13].

In experimental animal models, it was shown that HCy induces excitotoxicity mediated by interaction with the N-methyl-D-aspartate receptor, causes mitochondrial dysfunction and thus causes apoptosis, promotes phosphorylation, and enhances the neurotoxic effect of beta-amyloid [14, 15].

The study aimed to establish submicroscopic changes in the cerebral cortex's sensorimotor area under ex-

perimental hyperhomocysteinemia, hyper-, and hypothyroidism and their combined effects.

Object and research methods. Experiments were carried out on 50 outbred white male rats weighing 180-200 g. The rats were kept under standard daylight on a regular diet. All studies were conducted in compliance with the requirements of humane treatment of experimental animals, regulated by the Law of Ukraine "On the Protection of Animals from Cruelty" (No. 3447-IV dated 21.02.2006) and the European Convention on the Protection of Vertebrate Animals Used for Research and Other scientific goals (Strasbourg, March 18, 1986).

All animals were divided into six groups: 1st – intact rats. This group of animals was intragastrically injected with a 1% starch solution; 2-a – animals with thiolactone HHCy, which was induced by intragastric administration of HCy in the form of thiolactone at a dose of 100 mg/kg of body weight in a 1% starch solution once a day for 28 days. The dose, routes, and duration of thiolactone HCy administration were borrowed from literature data and did not cause the death of animals [16]; 3-a – animals with hyperthyroidism, which were injected intragastrically with L-thyroxine daily during the 21 days at a dose of 200 µg/kg in a 1% starch solution [17]; 4-a – animals with thiolactone HHCy, which were injected intragastrically with L-thyroxine at a dose of 200 µg/kg in a 1% starch solution daily during the 21 days; 5-a – animals with hypothyroidism, which were injected intragastrically with mercazolil in a 1% starch solution at a dose of 10 mg/kg of weight every day for the 21 days [17]; 6-a – animals with thiolactone HHCy, which were injected intragastrically with Mercazolil at a dose of 10 mg/kg in a 1% starch solution daily during the 21st day. The animals were removed from the experiment 24 hours after the last administration of the selected substances. Collection of material for electron microscopic examination of kidneys was carried out according to generally accepted rules [18]. Pieces of tissue from the sensorimotor area of the cerebrum to carry out ultrastructural studies were taken from animals of all experimental groups, and their processing was carried out according to generally accepted rules [18]. The material was fixed in a 2.5% glutaraldehyde solution with an active reaction medium of pH 7.2–7.4 and prepared on a phosphate buffer. Postfixation was carried out with a 1% solution of osmium tetroxide, after which it was dehydrated in alcohol and propylene oxide and poured into a mixture of epoxy resins. Ultrathin sections made on an LKB-3 ultramicrotome (Sweden) were stained with a 1% aqueous solution of uranyl acetate, contrasted with lead citrate according to the Reynolds method studied in a PEM-125K electron microscope.

Research results. The ultrastructural studies established that the neurons of the control group of animals are characterized by a round euchromatin nucleus with a rounded osmiophilic nucleolus and electron-bright neuroplasm. The caryolemma has uniform, clearly contoured membranes between which there is a perinuclear space, and many nuclear pores are found. Electron light euchromatin with diffusely scattered small clumps of condensed chromatin predominates in the karyoplasm. A centrally located osmiophilic nucleus with small light zones. Neuroplasm of moderate electron density, in which general-purpose organelles are present. A well-developed system of uniform tubules of the granular

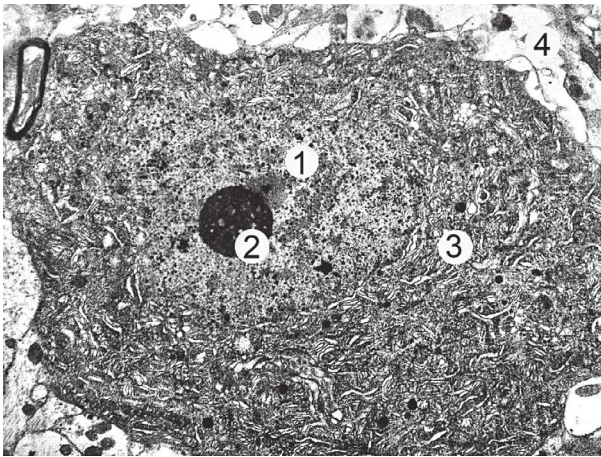


Figure 1 – Ultrastructure of the cortex neurocyte of the large hemispheres of an intact animal group. Magnification: x8000. Designation: 1 – round nucleus with light karyoplasm, 2 – rounded nucleolus, 3 – numerous tubules of the granular endoplasmic reticulum in the neuroplasm, 4 – neuropil.

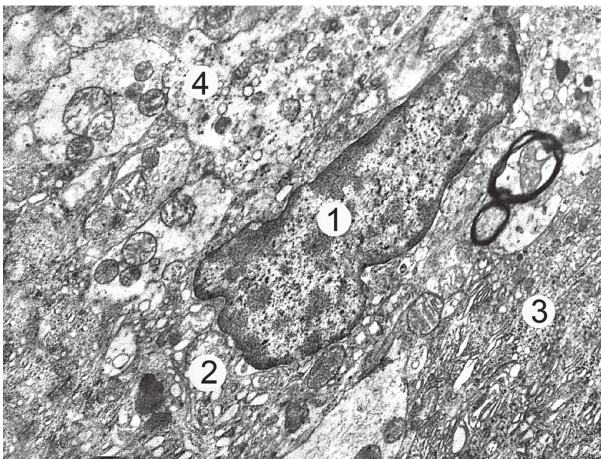


Figure 2 – Ultrastructure of an intact animal's oligodendrocyte of the cerebral cortex. Magnification: x9000. Designation: 1 – nucleus, 2 – cytoplasm of oligodendrocyte, 3 – a fragment of neurocyte, 4 – neuropil.

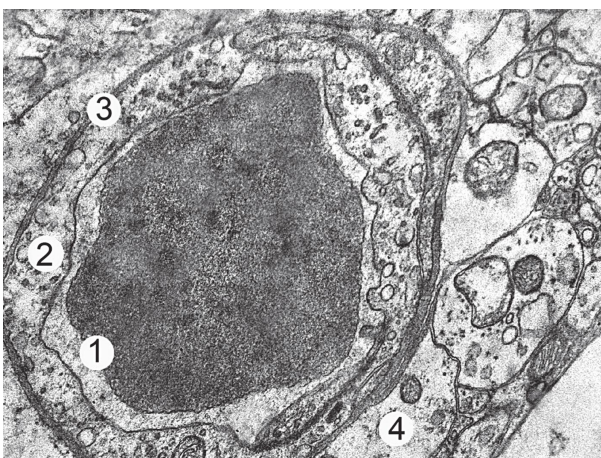


Figure 3 – Submicroscopic organization of an intact animal's blood capillary of the cortex of the large hemispheres. Magnification: x16000. Designation: 1 – the lumen of a capillary with an erythrocyte, 2 – a thin cytoplasmic area of an endotheliocyte, 3 – the basement membrane, 4 – the cytoplasm of an astrocyte process.

endoplasmic reticulum and cisterns of the Golgi complex. There are numerous ribosomes on the surface of the granular endoplasmic reticulum. Free ribosomes are also identified, which often form clusters in the form of polysome chains. In addition to the protein-synthesizing organelles, there are well-expressed energy-supplying organelles in the neuroplasm – mitochondria, which are characterized by different shapes and sizes. In most cases, they have an elongated shape with contoured, osmiophilic outer and inner membranes. Mitochondrial matrix is electron bright and fills the spaces between numerous cristae with clear borders. In addition, individual dense, osmiophilic lysosomes are noted (fig. 1). It was found that neurotubules and neurofilaments, which are part of neurofibrils, are present in the neuroplasm of perikaryons and processes of neurocytes.

In addition to the main neurons at the ultrastructural level, neurogliaocytes are found – protoplasmic astrocytes that belong to the macroglia. Processes with winding contours characterize these cells. Neuroplasm is electronically transparent and poor in membrane organelles. Weakly developed tubules of the endoplasmic reticulum and cisterns of the Golgi complex. Small, rounded mitochondria with clear membranes, well-contoured cristae, and a mitochondrial matrix of moderate electron density are found. The nucleus is round with euchromatin and marginally located lumps of heterochromatin. The karyolem is characterized by clear contours with a uniformly expanded perinuclear space; small nucleoli are found. Protoplasmic astrocytes form astrocytic legs with hemocapillaries with their processes.

Oligodendrocytes are also found, characterized by moderately electron-dense neuroplasm with better-developed organelles compared to astrocytic glia. The nuclei of oligodendrocytes are oval with a predominance of euchromatin in the karyoplasm, and the nuclear membrane is transparent. In the neuroplasm, there are well-developed tubules of the granular endoplasmic reticulum with fixed ribosomes. Golgi cisternae are concentrated near the nucleus. Small mitochondria are diffusely located in the neuroplasm and have a typical structure. Single lysosomes are detected (fig. 2).

It was established submicroscopically that blood capillaries of the somatic type are located in the cortex of the large hemispheres of the brain. Tight junctions tightly connect endothelial cells. The electron-bright cytoplasm of endotheliocytes is characterized by a small number of organelles, single tubules of the granular endoplasmic reticulum, free ribosomes, small mitochondria with transparent membranes, and a moderately dense mitochondrial matrix. The nuclei of endothelial cells are elongated with clear karyolemma and karyoplasm in which euchromatin prevails. Many micropinocytotic vesicles and caveolae are found. Microvilli were noted on the luminal surface. The basal membrane is uniform and clearly contoured (fig. 3). Pericytes have light cytoplasm and moderately developed membrane organelles. Irregular shaped nucleus with evenly distributed euchromatin in the karyoplasm and clear karyolemma.

Ultrastructurally, in the second group of animals, which were modeled with hyperhomocysteinemia, it was established that in "light" neurocytes, which are an analog of hypochromic cells detected at the micro-

scopic level, a reduction of part of the organelles is determined, and those that are present are destructively changed. The endoplasmic reticulum undergoes significant changes, the length of the tubules decreases, they are expanded and vacuolated, and their membranes are fragmented. The cisterns of the Golgi complex are also expanded with the formation of large electron-luminous vacuoles. Mitochondria are swollen, large, and vesicle-like, with an electron-bright matrix and reduced cristae. A moderate number of ribosomes and osmiophilic lysosomes are determined in the hyaloplasm. The nuclei of neurocytes are increased in size, and euchromatin prevails in the karyoplasm, but there are lumps of heterochromatin, which has a primarily marginal location. The caryolemma has indistinct membrane contours, and intussusceptions are present; there are few nuclear pores, and local expansion of the perinuclear space is determined (fig. 4).

The ultrastructure of "dark" neurocytes, which corresponds to the condition of hyperchromic neurocytes at the light-optical level, is characterized by osmiophilic karyo- and neuroplasm. Such neurocytes have a high electron density of the nucleus and neuroplasm and contain perikaryons reduced in size and thinned processes. Nuclei are compacted, pyknotic, osmiophilic heterochromatin predominates in the karyoplasm; the nuclear envelope throughout is indistinct, blurred, and forms intussusceptions. An osmiophilic nucleus is revealed, which lies next to the karyolemma. Tubules of the endoplasmic reticulum are numerous, branched, and in some areas, expanded. The cisterns of the Golgi complex are short and are rarely found. Mitochondria mainly contain an osmiophilic matrix and indistinct cristae (fig. 5).

Ultrastructural changes in astrocytic glia are manifested by intracellular swelling and, accordingly, the cytoplasm's entire area and processes' swelling. In the nuclei, euchromatin predominates, and heterochromatin has a marginal location. There is a local expansion of the perinuclear space. The density of organelles is low. Electron light neuroplasm includes numerous vacuolated tubules of the endoplasmic reticulum and cisternae of the Golgi complex. Mitochondria are deformed, mostly electron-dense, with partially reduced cristae (fig. 6).

Ultrastructurally, blood capillaries under simulated hyperhomocysteinemia mainly have dilated, and blood-filled lumens, with manifestations of sludge and blood clots, wall edema, and significant perivascular edema are determined. The basement membrane is thickening or thinning with signs of increased osmiophily. Endotheliocyte cytoplasm is characterized by edema; cell nuclei are small and contain invaginations of karyolema. A small osmiophilic nucleolus is present, and heterochromatin prevails in the karyoplasm. The density of organelles is low; few microbubbles and vesicles are found in the peripheral cytoplasmic areas of cells, and the luminal surface is devoid of microvilli. The integrity of intercellular contacts is preserved (fig. 7).

Ultrastructurally, it was established that in the third group of animals, in which hyperthyroidism was modeled, "dark" neurons corresponding to the morphological state of hyperchromic cells were found in the organ. Such neurocytes are characterized by decreased perikaryons, delicate processes, and intensely osmiophilic neuro- and karyoplasm. Electron-dense neuroplasm

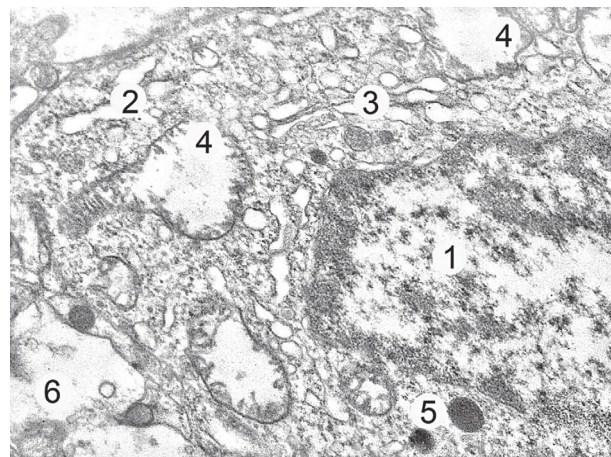


Figure 4 – Ultrastructural changes of the "bright" neurocyte of the large hemispheres' cortex under simulated hyperhomocysteinemia. Magnification: x22000. Designation: 1 – nucleus, 2 – expanded tubules of the endoplasmic reticulum, 3 – cisterns of the Golgi complex, 4 – vacuolated mitochondria, 5 – lysosomes, 6 – neuropil.

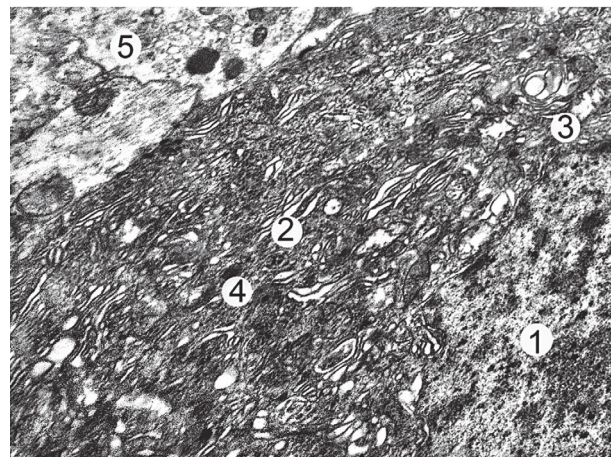


Figure 5 – Ultrastructural changes of the "dark" neurocyte of the large hemispheres' cortex under simulated hyperhomocysteinemia. Magnification: x14000. Designation: 1 – Nucleus, 2 – endoplasmic reticulum tubules in osmiophilic neuroplasm, 3 – altered mitochondrion, 4 – lysosome, 5 – neuropil.

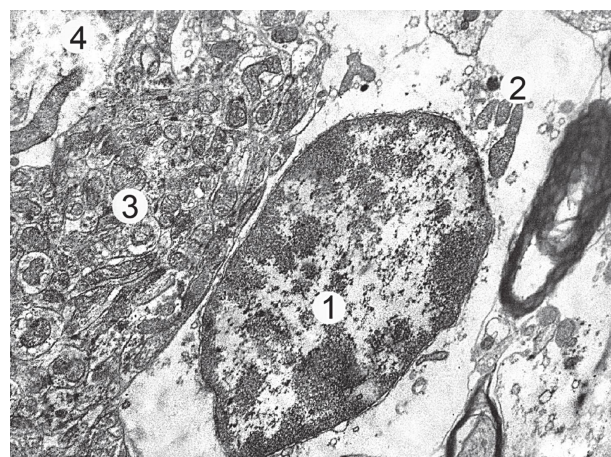


Figure 6 – Submicroscopic changes in an astrocyte of an animal's cerebral cortex under simulated hyperhomocysteinemia. Magnification: x10000. Designation: 1 – nucleus, 2 – mitochondria, 3 – fragment of a "dark" neurocyte, 4 – neuropil.

contains unevenly thickened tubules of the granular endoplasmic reticulum; some are fragmented. The cisterns, vacuoles, and vesicles of the Golgi complex are also destructured. Most mitochondria are characterized

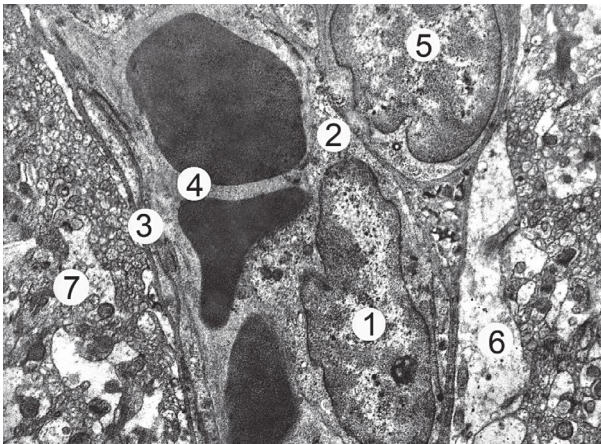


Figure 7 – Submicroscopic changes in hemocapillaries of the large hemispheres' cortex under simulated hyperhomocysteinemia. Magnification: x9000. Designation: 1 – nucleus, 2 – endotheliocyte cytoplasm, 3 – basement membrane, 4 – capillary lumen, 5 – pericyte, 6 – perivascular edema, 7 – neuropil.

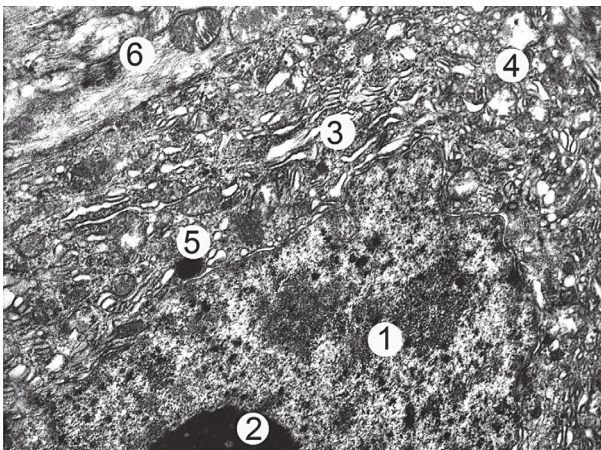


Figure 8 – Ultrastructural changes of the dark neurocyte of the cerebral animal cortex under conditions of hyperthyroidism. Magnification: x12000. Designation: 1 – osmiophilic karyoplasm of the nucleus, 2 – nucleolus, 3 – tubules of the granular endoplasmic reticulum, 4 – mitochondrion, 5 – lysosome, 6 – neuropil.

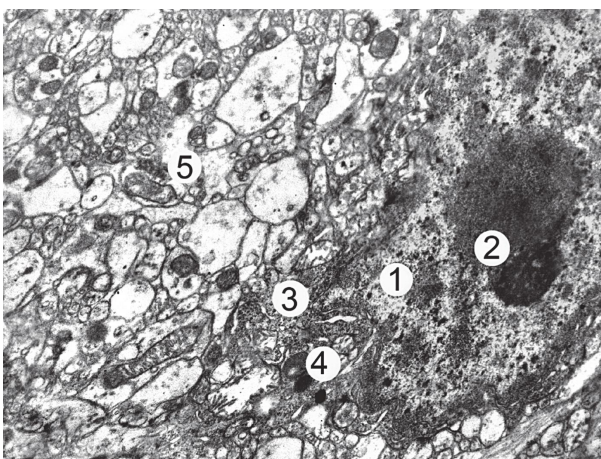


Figure 9 – Ultrastructural changes of an animal's oligodendrocyte of the cerebral cortex under hyperthyroidism. Magnification: x11000. Designation: 1 – nucleus, 2 – nucleolus, 3 – osmiophilic neuropil, 4 – lysosome, 5 – neuropil.

by small sizes, an electron-dense matrix, and indistinct cristae. Some of them are characterized by vacuolization, lightening of the matrix, and reduction of cristae. Electron-dense primary and secondary lysosomes are also detected (fig. 8).

Also, "light" neurocytes, characterized by neuroplasm of low electron density, were found, and unevenly expanded tubules of the endoplasmic reticulum and cisterns of the Golgi complex were also found. Most mitochondria are hypertrophied, vacuole-like, with a matrix of low electron density and partially reduced cristae. A decrease in the number of ribosomes is determined in the neuroplasm. Nuclei are enlarged, euchromatin prevails in the karyoplasm, and small clumps of heterochromatin are present.

Ultrastructurally, in the oligodendrocytes of the cortex of the cerebral hemispheres of this observation group, a large heterochromatin nucleus is revealed, in which there is a prominent nucleolus containing granular and fibrillar components. Caryolemma forms intussusception. The organelles' density is low and destructively changed (fig. 9).

Astrocytes contain swollen, electroluminescent neuroplasm, destructively changed, innumerable organelles. The nucleus is rounded and small, in which heterochromatin predominates. The caryolemma has indistinct membranes, and there are few nuclear pores.

Ultrastructurally, destructive changes are also detected in the hemocapillaries, manifested by the lumens' expansion and blood filling or their sharp narrowing. Endothelial cells had small, deformed nuclei in which heterochromatin prevailed. The cytoplasm of endotheliocytes contains thickened or significantly thinned areas, in which there is a decrease in the number of micropinocytotic vesicles. The basement membrane is characterized by thickening and homogenization, but in other areas, it was contoured. Adjacent to it are swollen, electron-bright processes of astrocytes, which form enlarged perivascular spaces (fig. 10).

Submicroscopically, the animals of the fourth experimental group showed the most significant alternative and degenerative changes in the neurocytes of the large hemispheres' cortex under simulated hyperthyroidism and hyperhomocysteinemia compared to the previous observation groups. For "dark" and intensely "dark" neurons, which correspond to hyperchromic and hypochromic cells established at the microscopic level, nuclei and organelles of the neuroplasm undergo considerable destruction. Such cells are characterized by a decrease in perikaryons and a change in their shape and thinning of processes. The caryolemma forms deep intussusceptions, the borders of its membranes are practically not contoured. Electron-dense neuroplasm includes non-extended, expanded, and fragmented tubules of the endoplasmic reticulum and cisterns of the Golgi complex, which have paranuclear localization (fig. 11). Significant destruction is also characteristic of mitochondria, not only the cristae but also their outer membrane are fragmented. Nevertheless, most of them contain an enlightened matrix. Primary and secondary osmiophilic lysosomes are determined in the hyaloplasm.

Also, "light" cells are found among the dark neurocytes, which have increased sizes, their perikaryons are rounded, and the processes are thickened. Electron-light euchromatin prevails in the nuclei, and locally expanded loci of the perinuclear space are determined. In the cytoplasm, the density of organelles is low, their membranes are damaged, fragmented, and osmiophilic secondary lysosomes are present.

Submicroscopic changes in astrocytes are characterized by neuroplasm of low electron density, organelles are few and destructively changed, and many osmiophilic lysosomes are recognized. In addition, there are significant areas of cytoplasm devoid of organelles. The nucleus is rounded and small, and a compacted small nucleolus is defined in it (fig. 12).

The neuroplasm of oligodendrocytes is small in volume, electron-dense, and contains destructured organelles, a directional, elliptical nucleus, in which heterochromatin predominates.

Most capillaries are characterized by narrow lumens. Endothelial cell nuclei are characterized by profound changes in the nuclei, described by osmiophilic karyoplasm; there are significant invaginations of the karyolemma, the membranes of which are poorly contoured, and nuclear pores are not defined. Cytoplasmic areas are destructured, and membranes of the luminal and basal parts of the cell are poorly defined. Single micropinocytotic vesicles. The basal membrane is thickened, swollen, homogeneous, and indistinct (fig. 13).

At the ultrastructural level, among the neurocytes of the fifth research group, "light" cells were also detected, corresponding to the state of tigrolysis determined at the light-optical level. The neuroplasm of such cells contains expanded short tubules of the granular endoplasmic reticulum and cisterns of the Golgi complex, and the number of enlarged vacuoles and microvesicles increases. The number of free and membrane-bound tubules of the endoplasmic reticulum of ribosomes sharply decreases. Mitochondria vary in size and nature of changes. Relatively preserved, with transparent membranes, moderately osmiophilic matrix, and slightly fragmented crystals are found. There are also vacuolated, with an electron-light matrix and reduced crystals. The nuclei of such cells have deep intussusceptions of the karyolemma and locally indistinct contours of its membranes. In the karyoplasm, euchromatin prevails, but a rather prominent nucleolus is identified, which includes granular and fibrillar components and indicates the activation of an adaptive reaction to the influence of a damaging factor (fig. 14).

Under the influence of hypothyroidism, changes in gliocytes of the cortex of the cerebrum are submicroscopically determined, astrocytes contain enlightened swollen neuroplasm, in which organelles are single, destructured, small mitochondria with relatively preserved cristae are identified. In addition, the nuclei are round-oval, with shallow invaginations, in the karyoplasm heterochromatin forms osmiophilic clusters (fig. 15).

Ultrastructurally, oligodendrocytes also change; their karyo- and neuroplasm is condensed and osmiophilic. Nuclei are large and irregular in shape; heterochromatin prevails in them. Organelles, swollen, partially fragmented.

A submicroscopic study of this experimental group's hemocapillaries of the cerebral cortex showed that blood flow disturbance causes changes in their ultrastructural organization. Blood capillaries with narrowed lumens and perivascular edema and vessels with expanded lumens filled with formed blood elements are revealed, confirming the stasis phenomenon. In addition, swollen, expanded perivascular spaces formed by swollen processes of astrocytes were found around the investigated hemocapillaries. Endothelial cells contain-

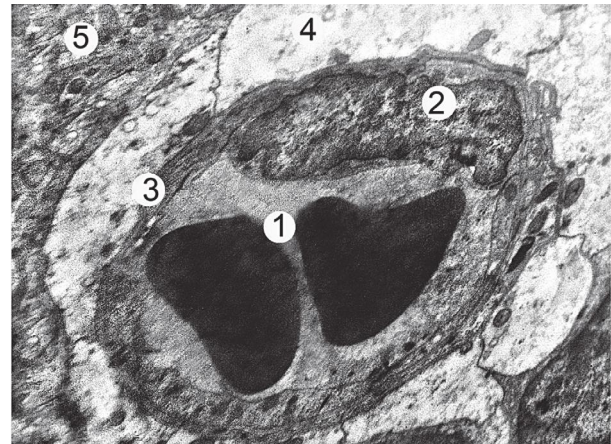


Figure 10 – Ultrastructural changes in cerebrum hemocapillaries under hyperthyroidism conditions. Magnification: x10000. Designation: 1 – capillary lumen with erythrocytes, 2 – endotheliocyte nucleus, 3 – basement membrane, 4 – perivascular edema, 5 – neuropil.

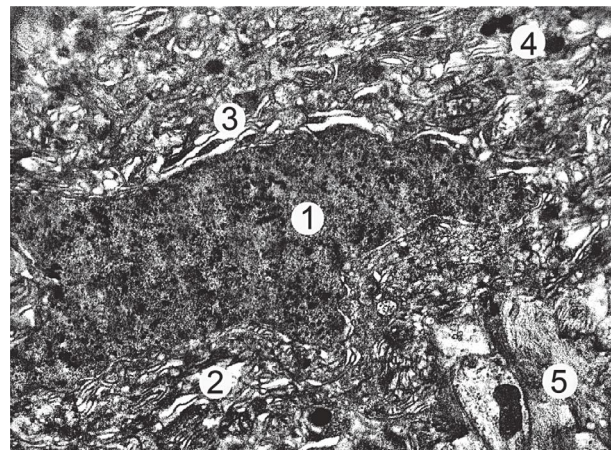


Figure 11 – Ultrastructure of an intensely "dark" neurocyte of the large hemispheres' cortex under hyperthyroidism and hyperhomocysteinemia. Magnification: x10000. Designation: 1 – osmiophilic, irregularly shaped nucleus, 2 – neuroplasm, 3 – endoplasmic reticulum tubules, 4 – lysosomes, 5 – neuropil.

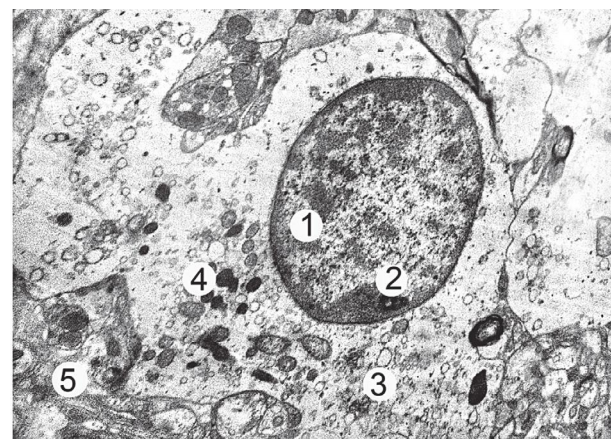


Figure 12 – Submicroscopic changes in the astrocyte of the large hemispheres' cortex under hyperthyroidism and hyperhomocysteinemia. Magnification: x9000. Designation: 1 – nucleus, 2 – nucleolus, 3 – fragmented organelles, 4 – lysosomes, 5 – neuropil.

ing an irregular, elongated nucleus are placed on the thinned basement membrane. Peripheral, cytoplasmic areas of endotheliocytes are also thin, and few micropinocytotic vesicles and caveolae are found in them. The microvilli of the luminal surface are single (fig. 16).

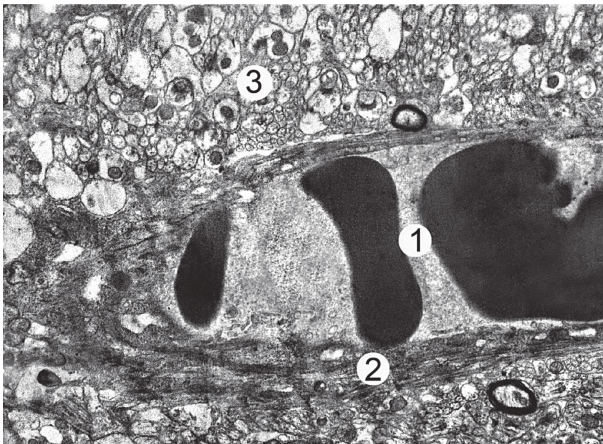


Figure 13 – Ultrastructural changes in the blood capillary of the large hemispheres' cortex under hyperthyroidism and hyperhomocysteinemia. Magnification: x10000. Designation: 1 – lumen with erythrocytes, 2 – fragmented, destructured wall, 3 – neuropil.

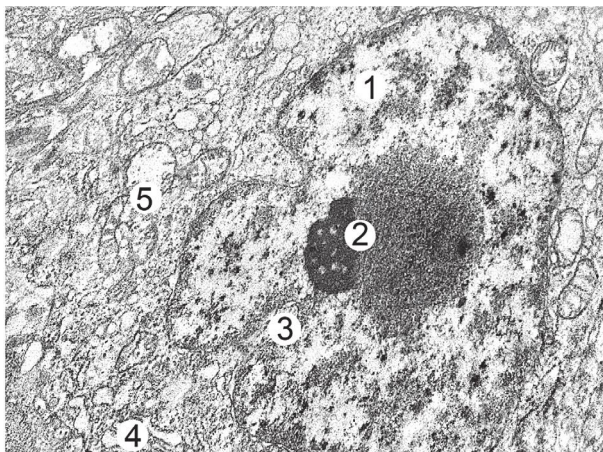


Figure 14 – Ultrastructural changes of a neurocyte of the cerebral animal cortex with experimental hypothyroidism. Magnification: x14000. Designation: 1 – electron light karyoplasm of the nucleus, 2 – nucleolus, 3 – invagination of karyolemma, 4 – tubules of granular endoplasmic reticulum, 5 – mitochondrion.



Figure 15 – Ultrastructural changes of an astrocyte of the large hemispheres' cortex under simulated hyperthyroidism. Magnification: x12000. Designation: 1 – nucleus, 2 – tubules of the endoplasmic reticulum in the electroluminescent neuropil, 3 – mitochondrion, 4 – lysosome, 5 – neuropil.

Submicroscopically, in the neurons of the sixth experimental group of animals, which were simulated HHCy and hypothyroidism, the most profound violations of their ultrastructure were established compared to all

previous observation groups. Many neurocytes are characterized by total tigrolysis, manifested by the clarification of the neuroplasm, destructuring, fragmentation, and lysis of membrane organelles, particularly tubules of the endoplasmic reticulum and mitochondria. The number of ribosomes and polysomes fixed to the membranes of the endoplasmic reticulum decreases sharply. Vacuoles of different sizes and shapes are found. Nuclei are characterized by high osmiophilia, electron-dense heterochromatin occupies almost the entire area of cells, the karyolem is indistinct and homogeneous, and there are no nucleoli (fig. 17).

Among the “dark” neurocytes, there are cells with significant, profound damage to the neuro- and karyoplasm. The karyolemma forms deep invaginations; correspondingly, the nucleus has changed shape and characteristic signs of karyorrhexis. Such osmiophilic, electron-dense nuclei are poorly defined against the background of neuroplasm. There are also “shadow” cells that do not contain a nucleus, and their neuroplasm contains destructured, fragmented osmiophilic tubules of the endoplasmic reticulum (fig. 18).

Significant ultrastructural changes are found in astrocytic gliocytes. Single organelles, mainly destructively altered mitochondria, are present in the electroluminescent neuroplasm. Cell nuclei are small in size, osmiophilic, and heterochromatin predominates in them. Processes are characterized by swelling and lightening; parts are located between the components of the neuropil.

Oligodendrocytes are characterized by dark, irregularly shaped osmiophilic nuclei in which heterochromatin predominates. Cariolem forms invaginations, vaguely contoured. Locally expanded perinuclear space. Organelles are destructured and damaged. Fragments of destroyed membrane organelles are revealed (fig. 19).

Hemocapillaries are characterized mainly by narrow lumens. Endotheliocytes contain deformed, osmiophilic nuclei. There were single, destructively changed organelles in the cytoplasm. Micropinocytotic vesicles were not detected in the cytoplasmic parts of the cells, and they were homogeneous and swollen. The luminal part of the plasmalemma is indistinct and blurred. The basal membrane is homogeneous and osmiophilic. Apoptically changed pericytes are determined. There is perivascular edema (fig. 20).

Discussion of research results. We found that in the group of animals with HHCy, the reduction of part of the organelles is determined in the “light” neurocytes, and those present are destructively changed. The ultrastructure of “dark” neurocytes, which corresponds to the condition of hyperchromic neurocytes at the light-optical level, is characterized by osmiophilic karyo- and neuroplasm. Submicroscopic changes in astrocytic glia are manifested by intracellular swelling, the entire area of the cytoplasm, and swelling of processes. Ultrastructurally, blood capillaries under simulated hyperhomocysteinemia mainly have dilated, and blood-filled lumens, with manifestations of sludge and blood clots, wall edema, and significant perivascular edema are determined. It is known that a high level of HHCy is associated with negative consequences for health and the development of many pathological processes [19].

Betaine homocysteine methyltransferase (BHMT) is an enzyme involved in lowering the level of HC by con-

verting the latter into methionine with the help of betaine. Prieur E. and others. 2017 [20], using mice with a knockout of the BHMT gene, found an increased level of Hcy, reduced total brain volume, and impaired reference and spatial memory. The authors concluded that the absence of BHMT affects neurological function, and betaine, as a donor of methyl groups, performs a significant function at an early stage of development, contributing to the development of blastocysts [21]. Methylation is also critical for proper postnatal brain development. During early brain development, methylation is involved in plasticity and synaptic transmission [22]. The deficiency of BHMT and betaine as an osmolyte, which can regulate cell volume and fluid balance and maintain the osmotic composition of the brain, is critical for the brain's normal functioning due to its complex architecture [3, 23].

In a group of animals with hyperthyroidism, we found that "dark" neurons corresponding to the morphological state of hyperchromic cells are found in the cerebral cortex. Most mitochondria were hypertrophied. A decrease in the number of ribosomes is determined in the neuropil. Nuclei are enlarged, euchromatin prevails in the karyoplasm, and small clumps of heterochromatin are present. Submicroscopically, destructive changes are also detected in the hemocapillaries, manifested by the lumens' expansion and blood filling or their sharp narrowing. Endothelial cells had small, deformed nuclei in which heterochromatin prevailed. Several neurobiological studies have revealed the presence of metabolic, morphological, and functional brain changes associated with an excess of thyroid hormones [24]. According to the data from positron emission tomography, metabolic changes in the brain were found in patients with hyperthyroidism. Compared to healthy controls, patients with hyperthyroidism had reduced glucose metabolism in the frontal, limbic, and temporal lobes [25].

Zhang et al. [26] demonstrated a significantly reduced concentration of glutamate in the posterior cingulate cortex in hyperthyroidism, indicating a significant role of glutamate in brain dysfunction. On the other hand, structural variations of some brain regions were found in some studies using functional magnetic resonance imaging in a state of rest. The authors suggest that impaired neurocognitive functions in patients with hyperthyroidism may be associated with abnormal changes, mainly in areas of the passive brain network, the cognitive network, and the cerebellum. Based on the above studies, it can be assumed that in patients with hyperthyroidism, some changes in the brain's functional connections can be observed, which cause neural, emotional, and cognitive dysfunctions.

We established the most significant alterative and degenerative changes in the neurocytes of the cortex of the large hemispheres under the conditions of simulated hyperthyroidism and HCG compared to previous observation groups. A characteristic reduction of perikaryons and a change in their shape, and thinning of processes were revealed. Significant destruction has been established for mitochondria. In the cytoplasm, the density of organelles was low, and their membranes were damaged, fragmented, and osmiophilic secondary lysosomes were present. Submicroscopic changes in astrocytes are characterized by neuropil of low electron density, organelles are few and destructively changed,

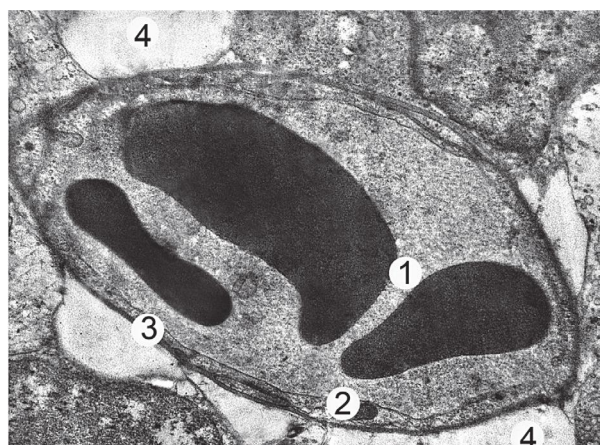


Figure 16 – Ultrastructural state of hemocapillaries of the animal cerebral cortex with experimental hypothyroidism. Magnification: x10000. Designation: 1 – erythrocytes in the capillary lumen, 2 – a cytoplasmic area of an endotheliocyte, 3 – basement membrane, 4 – swollen astrocytic legs.

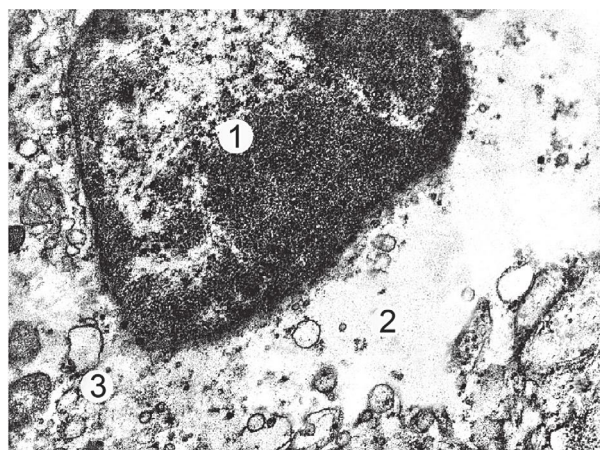


Figure 17 – Ultrastructural changes of a neurocyte of an animal's cerebral cortex under hypothyroidism and hyperhomocysteinemia. Magnification: x12000. Designation: 1 – nucleus, 2 – bright neuropil, 3 – fragments of tubules of the granular endoplasmic reticulum.

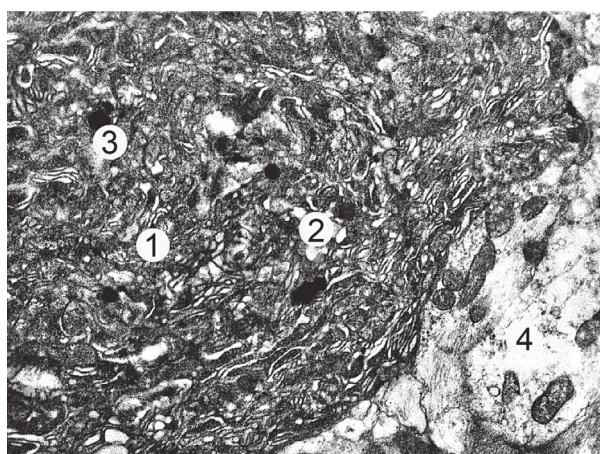


Figure 18 – Submicroscopic changes in the neurocyte of an animal cerebral cortex's "shadow" cell under hypothyroidism and hyperhomocysteinemia. Magnification: x12000. Designation: 1 – osmiophilic neuropil, 2 – fragmented tubules of the granular endoplasmic reticulum, 3 – lysosomes, 4 – neuropil.

and many osmiophilic lysosomes are recognized. In addition, there are significant areas of cytoplasm devoid of organelles. Endothelial cell nuclei are characterized by profound changes in the nuclei, described by osmio-

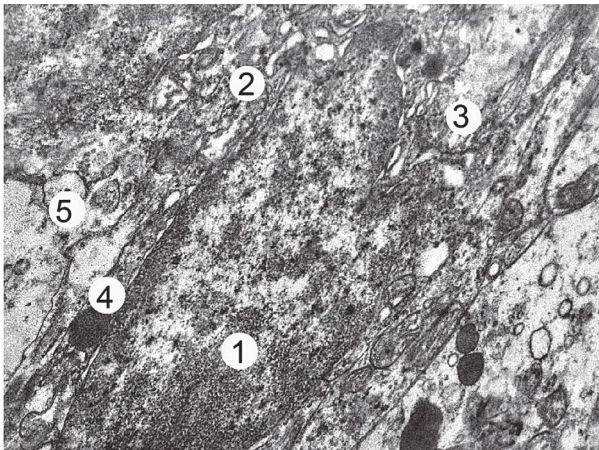


Figure 19 – Submicroscopic changes in an animal's oligodendrocyte of the cerebral cortex under hypothyroidism and hyperhomocysteinemia. Magnification: x12000. Designation: 1 – nucleus, 2 – osmiophilic neuroplasm, 3 – damaged mitochondria, 4 – lysosomes, 5 – neuropil.

philic karyoplasm; there are significant invaginations of the karyolemma, the membranes of which are poorly contoured, and nuclear pores are not defined. In addition, cytoplasmic areas are destructured, and the basement membrane is thickened, swollen, homogeneous, and indistinct. Winning results were obtained by Zhang et al. [27] identified the hippocampus as the primary region in which decreased functional connectivity with bilateral anterior cingulate cortex, posterior cingulate cortex, and right medial orbitofrontal cortex correlates with both disease duration and level of depression in hyperthyroidism.

In addition, Gottlich et al. [8] induced short-term hyperthyroidism in 29 healthy men by administering 250 µg of levothyroxine (8 weeks). The authors found that short-term hyperthyroidism leads to increased functional connectivity between the temporal lobes and the cognitive control network, indicating a crucial role of thyroid hormones in regulating paralimbic structures. The authors concluded that impaired neurocognitive functions in patients with hyperthyroidism might be associated with abnormal changes, mainly in the main areas of the brain responsible for cognitive functions and the cerebellum. Many clinical works try to focus on the possible direct consequences of HHCy in the occurrence of neurodegenerative disorders: it is established that HHCy increases in the cerebrospinal fluid with age for reasons that are not clear. It was demonstrated that HHCy is accompanied by the deposition of beta-amyloid peptide in the brains of patients with Alzheimer's disease [28], mediated by HCY-connected endoplasmic protein, which potentiates the activity of the c-secretase enzyme, and also causes increased intracellular and extracellular accumulation of beta-amyloid peptide [29, 30].

At the ultrastructural level, in hypothyroidism, among the neurocytes, "light" cells corresponding to the state of tigrolysis, determined at the light-optical level, were detected. Mitochondria vary in size and nature of changes. The nuclei of such cells have deep invaginations of the karyolemma and locally indistinct contours of its membranes. In the karyoplasm, euchromatin prevails, but a rather prominent nucleolus is determined, which includes granular and fibrillar components and indicates the activation of an adaptive re-

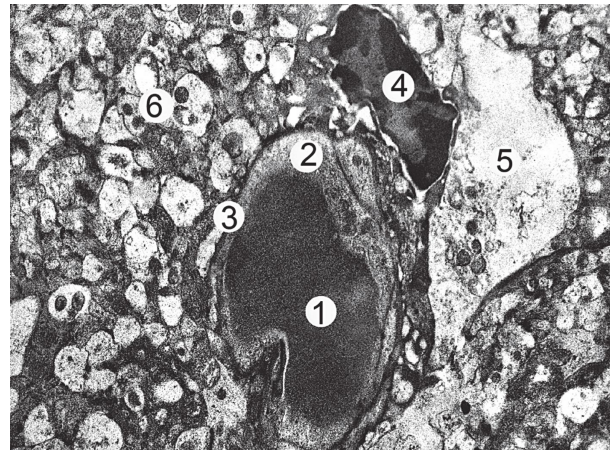


Figure 20 – Submicroscopic changes in an animal's hemocapillary cerebral cortex under hypothyroidism and hyperhomocysteinemia. Magnification: x8000. Designation: 1 – capillary lumen, 2 – endotheliocyte cytoplasm, 3 – basement membrane, 4 – pericyte, 5 – perivascular edema, 6 – neuropil.

action to the influence of a damaging factor. Astrocytes contain lightened swollen neuroplasm, in which organelles are single, destructured, and small mitochondria with relatively preserved cristae are identified. The nuclei are round-oval, with shallow invaginations, in the karyoplasm heterochromatin forms osmiophilic clusters. Ultrastructurally, oligodendrocytes also change; their karyo- and neuroplasm is condensed and osmiophilic. Nuclei are large, irregularly shaped, and dominated by heterochromatin. Organelles are swollen and partially fragmented. A submicroscopic study of this experimental group's hemocapillaries of the cerebral cortex showed that blood flow disturbance causes changes in their ultrastructural organization. Endothelial cells containing an irregular, elongated nucleus are placed on the thinned basement membrane. Peripheral, cytoplasmic areas of endotheliocytes are also thin, and few micropinocytotic vesicles and caveolae are found in them. It has been established that there is a close relationship between neuroinflammation and a decrease in antioxidant properties in HHCy-induced brain cells. It was shown in [31] that HHCy induces and accelerates the disruption of the redox system in vascular and neuronal cells and induces lipid peroxidation [32]. It has been demonstrated that in severe inflammatory status, that is, in sepsis, comatose states, and multiple traumatic lesions, there is a constant trend towards HHCy, not associated with vitamin B₁₂ and folic acid deficiency [33]. In various clinical scenarios, a systemic inflammatory response is consistently associated with adverse clinical outcomes [34], which is likely mediated by prolonged HHCy activation of the macrophage system cascade with subsequent increase in ROS production and, therefore, potentiates oxidative stress.

Submicroscopically, the most profound violations of their ultrastructure were found in the neurons of animals modeled with HHCy and hypothyroidism compared to all previous observation groups. Many neurocytes are characterized by total tigrolysis, manifested by the clarification of the neuroplasm, destructuring, fragmentation, and lysis of membrane organelles, particularly tubules of the endoplasmic reticulum and mitochondria. Significant ultrastructural changes are found in astrocytic gliocytes. Organelles are destructured and dam-

aged. Fragments of destroyed membrane organelles are revealed. Hemocapillaries are characterized mainly by narrow lumens. Endotheliocytes contain deformed, osmophilic nuclei. Apoptically changed pericytes are determined. There is perivascular edema. Various epidemiological studies suggest that an increase in the level of Hcy is an independent risk factor for developing vascular diseases and neurodegenerative disorders. The best and unquestionable are the cases determined by a genetic deficiency of cystathionine- β -synthase (CBS) and other congenital disabilities of remethylation and transsulfonation pathways, which cause severe forms of HHCy (total Hcy >50 μ M) or homocystinuria. A severe form of HHCy (>100 μ M) in children with a CBS defect correlates with a 10-fold increase in the concentration of HCG in the cerebrospinal fluid [35]. This genetic defect limits purine and thymidine synthesis through severe alteration/inhibition of the transmethylation pathway. The result is a severe delay or neural tube defect [36]. In experimental animal models, it has been demonstrated that Hcy can be intrinsically toxic by disrupting the blood-brain barrier [37]; similar results were obtained in clinical studies among people [38]. The most crucial aspect of HHCy is a constant tendency to decrease the methylation potential of the cell, which affects the S-adenosylmethionine/S-adenosylhomocysteine ratio [39].

In addition, HHCy contributes to the hypomethylation of DNA and the transcription of cyclin A in endothelial cells, causing increased expression of p66shc, which contributes to increased oxidative stress and damage to nerve cells [8].

Conclusions. Conducted submicroscopic studies of the sensorimotor area of the cortex of the cerebral hemispheres of the experimental groups under the conditions of hypo- and hyperthyroidism simulated HHCy, and especially under the conditions of their combined influence, established profound submicroscopic changes in the morphofunctional triad – “neuron-gliocyte-hemocapillary” with damage to plasmatic and organoid membranes. Established neurodegenerative changes in cortical neurocytes occur against neurovascular disorders’ background and neuroglia’s alteration.

Prospects for further research. It is appropriate to investigate the relationship between the ultrastructural state of the cerebral cortex and changes in the metabolism of sulfur-containing amino acids in these organs and the concentration of thyroid hormones in the body, as well as to investigate the effect of cofactors of enzymes of the metabolism of sulfur-containing amino acids (vitamins B₆, B₉, B₁₂, and betaine) on the ultrastructural state of organs (liver, kidney, heart, and brain) in rats with experimental hyper- and hypothyroidism.

References

1. Bode H, Ivens B, Bschor T, Schwarzer G, Henssler J, Baethge C. Association of Hypothyroidism and Clinical Depression: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Psychiatry*. 2021 Dec 1;78(12):1375-1383. DOI: 10.1001/jamapsychiatry.2021.2506.
2. Ritchie M, Yeap BB. Thyroid hormone: Influences on mood and cognition in adults. *Maturitas*. 2015 Jun;81(2):266-75. DOI: 10.1016/j.maturitas.2015.03.016.
3. Williams GR. Neurodevelopmental and neurophysiological actions of thyroid hormone. *J Neuroendocrinol*. 2008 Jun;20(6):784-94. DOI: 10.1111/j.1365-2826.2008.01733.x.
4. Emoto N, Okazaki-Hada M, Yamaguchi Y, Okajima F, Goto R, Sugihara H. Risk Preferences, Rationality of Choices, and Willingness to Pay for Preventive Medicine in Patients with Graves’ Thyrotoxicosis. *Patient Prefer Adherence*. 2021 Sep 7;15:1971-1979. DOI: 10.2147/PPA.S323472.
5. Smith CD, Grondin R, LeMaster W, Martin B, Gold BT, Ain KB. Reversible cognitive, motor, and driving impairments in severe hypothyroidism. *Thyroid*. 2015 Jan;25(1):28-36. DOI: 10.1089/thy.2014.0371.
6. Schreckenberger MF, Egle UT, Drecker S, Buchholz HG, Weber MM, Bartenstein P, et al. Positron emission tomography reveals correlations between brain metabolism and mood changes in hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Dec;91(12):4786-91. DOI: 10.1210/jc.2006-0573.
7. Miao Q, Zhang S, Guan YH, Ye HY, Zhang ZY, Zhang QY, et al. Reversible changes in brain glucose metabolism following thyroid function normalization in hyperthyroidism. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2011 Jun-Jul;32(6):1034-42. DOI: 10.3174/ajnr.A2449.
8. Göttlich M, Heldmann M, Göbel A, Dirk AL, Brabant G, Münte TF. Experimentally induced thyrotoxicosis leads to increased connectivity in temporal lobe structures: a resting state fMRI study. *Psychoneuroendocrinology*. 2015 Jun;56:100-9. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2015.03.009.
9. Pilhatsch M, J Stamm T, Stahl P, Lewitzka U, Berghöfer A, Sauer C, et al. Treatment of bipolar depression with supraphysiologic doses of levothyroxine: a randomized, placebo-controlled study of comorbid anxiety symptoms. *Int J Bipolar Disord*. 2019 Oct 4;7(1):21. DOI: 10.1186/s40345-019-0155-y.
10. Smith AD, Refsum H. Homocysteine, B Vitamins, and Cognitive Impairment. *Annu Rev Nutr*. 2016 Jul 17;36:211-39. DOI: 10.1146/annurev-nutr-071715-050947.
11. Janssen AW, de Leeuw FE, Janssen MC. Risk factors for ischemic stroke and transient ischemic attack in patients under age 50. *J Thromb Thrombolysis*. 2011 Jan;31(1):85-91. DOI: 10.1007/s11239-010-0491-3.
12. Wang Q, Zhao J, Chang H, Liu X, Zhu R. Homocysteine and Folic Acid: Risk Factors for Alzheimer’s Disease-An Updated Meta-Analysis. *Front Aging Neurosci*. 2021 May 26;13:665114. DOI: 10.3389/fnagi.2021.665114.
13. Safaei M, Akhondpoor Manteghi A, Shahini N, Mohammadpour AH. Comparison of serum levels of asymmetric dimethylarginine between patients who take two types of atypical anti psychotics. *Med J Islam Repub Iran*. 2019 Oct 23;33:114. DOI: 10.34171/mjiri.33.114.
14. Kaye AD, Jeha GM, Pham AD, Fuller MC, Lerner ZI, Sibley GT, et al. Folic Acid Supplementation in Patients with Elevated Homocysteine Levels. *Adv Ther*. 2020 Oct;37(10):4149-4164. DOI: 10.1007/s12325-020-01474-z.
15. Lauriola M, D’Onofrio G, Ciccone F, Germano C, Cascavilla L, Paris F, et al. Relationship of Homocysteine Plasma Levels with Mild Cognitive Impairment, Alzheimer’s Disease, Vascular Dementia, Psychobehavioral, and Functional Complications. *J Alzheimers Dis*. 2021;82(1):235-248. DOI: 10.3233/JAD-210166.
16. Stangl GI, Weisse K, Dinger C, Hirche F, Brandsch C, Eder K. Homocysteine thiolactone-induced hyperhomocysteinemia does not alter concentrations of cholesterol and SREBP-2 target gene mRNAs in rats. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2007 Jan;232(1):81-7.
17. Lin YH, Lin KH, Yeh CT. Thyroid Hormone in Hepatocellular Carcinoma: Cancer Risk, Growth Regulation, and Anticancer Drug Resistance. *Front Med (Lausanne)*. 2020 May 22;7:174. DOI: 10.3389/fmed.2020.00174.
18. Goralskiy LP, Homich VT, Kononskiy OI. Osnovy histolohichnoi tekhniki i morfofunktsionalni metody doslidzhen u normi ta pry patolohii. *Zhitomir: Polissya*; 2011. 288 s. [in Ukrainian].
19. Jakubowski H. Homocysteine Modification in Protein Structure/Function and Human Disease. *Physiol Rev*. 2019 Jan 1;99(1):555-604. DOI: 10.1152/physrev.00003.2018.
20. Prieur EAK, Pjetri E, Zeisel SH, Jadavji NM. Reduced brain volume and impaired memory in betaine homocysteine S-methyltransferase knockout mice. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2017 Nov;42(11):1228-1231. DOI: 10.1139/apnm-2017-0182.
21. Smith AD, Refsum H, Bottiglieri T, Fenech M, Hooshmand B, McCaddon A, et al. Homocysteine and Dementia: An International Consensus Statement. *J Alzheimers Dis*. 2018;62(2):561-570. DOI: 10.3233/JAD-171042.

22. Mariani Wigley ILC, Mascheroni E, Peruzzo D, Giorda R, Bonichini S, Montirosso R. Neuroimaging and DNA Methylation: An Innovative Approach to Study the Effects of Early Life Stress on Developmental Plasticity. *Front Psychol.* 2021 May 17;12:672786. DOI: 10.3389/fpsyg.2021.672786.
23. Herrera AS, Ashraf GM, Del Carmen Arias Esparza M, Tarasov VV, Chubarev VN, Avila-Rodriguez MF, et al. Cerebrospinal Fluid, Brain Electrolytes Balance, and the Unsuspected Intrinsic Property of Melanin to Dissociate the Water Molecule. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2018;17(10):743-756. DOI: 10.2174/1871527317666180904093430.
24. Liu B, Wen L, Ran Q, Zhang S, Hu J, Gong M, et al. Dysregulation within the salience network and default mode network in hyperthyroid patients: a follow-up resting-state functional MRI study. *Brain Imaging Behav.* 2020 Feb;14(1):30-41. DOI: 10.1007/s11682-018-9961-6.
25. Wijayabandara M, Appuhamy S, Weerathunga P, Chang T. Effective treatment of osmotic demyelination syndrome with plasmapheresis: a case report and review of the literature. *J Med Case Rep.* 2021 Jan 11;15(1):6. DOI: 10.1186/s13256-020-02573-9.
26. Zhang Q, Bai Z, Gong Y, Liu X, Dai X, Wang S, et al. Monitoring glutamate levels in the posterior cingulate cortex of thyroid dysfunction patients with TE-averaged PRESS at 3T. *Magn Reson Imaging.* 2015 Jul;33(6):774-8. DOI: 10.1016/j.mri.2015.03.004.
27. Zhang W, Liu X, Zhang Y, Song L, Hou J, Chen B, et al. Disrupted functional connectivity of the hippocampus in patients with hyperthyroidism: evidence from resting-state fMRI. *Eur J Radiol.* 2014 Oct;83(10):1907-13. DOI: 10.1016/j.ejrad.2014.07.003.
28. Zecca C, Pasculli G, Tortelli R, Dell'Abate MT, Capozzo R, Barulli MR, et al. The Role of Age on Beta-Amyloid1-42 Plasma Levels in Healthy Subjects. *Front Aging Neurosci.* 2021 Aug 31;13:698571. DOI: 10.3389/fnagi.2021.698571.
29. Quiroga C, Gatica D, Paredes F, Bravo R, Troncoso R, Pedrozo Z, et al. Herp depletion protects from protein aggregation by up-regulating autophagy. *Biochim Biophys Acta.* 2013 Dec;1833(12):3295-3305. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2013.09.006.
30. Wang TC, Chiu CJ, Chen PC, Chang TY, Tyler RS, Rojas-Roncancio E, et al. Increased Incidence of Tinnitus Following a Hyperthyroidism Diagnosis: A Population-Based Longitudinal Study. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021 Nov 3;12:741719. DOI: 10.3389/fendo.2021.741719.
31. Moretti R, Giuffrè M, Caruso P, Gazzin S, Tiribelli C. Homocysteine in Neurology: A Possible Contributing Factor to Small Vessel Disease. *Int J Mol Sci.* 2021 Feb 19;22(4):2051. DOI: 10.3390/ijms22042051.
32. Petras M, Tatarikova Z, Kovalska M, Mokra D, Dobrota D, Lehotsky J, et al. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for the neuronal system disorders. *J Physiol Pharmacol.* 2014 Feb;65(1):15-23.
33. Minović I, Kieneker LM, Gansevoort RT, Eggersdorfer M, Touw DJ, Voerman AJ, et al. Vitamin B6, Inflammation, and Cardiovascular Outcome in a Population-Based Cohort: The Prevention of Renal and Vascular End-Stage Disease (PREVEND) Study. *Nutrients.* 2020 Sep 4;12(9):2711. DOI: 10.3390/nu12092711.
34. Ploder M, Kurz K, Spittler A, Neurauder G, Roth E, Fuchs D. Early increase of plasma homocysteine in sepsis patients with poor outcome. *Mol Med.* 2010 Nov-Dec;16(11-12):498-504. DOI: 10.2119/molmed.2010.00008.
35. Moretti R, Caruso P. The Controversial Role of Homocysteine in Neurology: From Labs to Clinical Practice. *Int J Mol Sci.* 2019 Jan 8;20(1):231. DOI: 10.3390/ijms20010231.
36. Leung KY, Pai YJ, Chen Q, Santos C, Calvani E, Sudiwala S, et al. Partitioning of One-Carbon Units in Folate and Methionine Metabolism Is Essential for Neural Tube Closure. *Cell Rep.* 2017 Nov 14;21(7):1795-1808. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.10.072.
37. Kamath AF, Chauhan AK, Kisucka J, Dole VS, Loscalzo J, Handy DE, et al. Elevated levels of homocysteine compromise blood-brain barrier integrity in mice. *Blood.* 2006 Jan 15;107(2):591-3. DOI: 10.1182/blood-2005-06-2506.
38. Zeng P, Shi Y, Wang XM, Lin L, Du YJ, Tang N, et al. Emodin Rescued Hyperhomocysteinemia-Induced Dementia and Alzheimer's Disease-Like Features in Rats. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2019 Jan 1;22(1):57-70. DOI: 10.1093/ijnp/pyy090.
39. Ganguly P, Alam SF. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. *Nutr J.* 2015 Jan 10;14:6. DOI: 10.1186/1475-2891-14-6.

СУБМІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ СЕНСОМОТОРНОЇ ДІЛЯНКИ КОРИ ВЕЛИКОГО МОЗКУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРГОМОЦИСТЕІНЕМІЇ, ГІПЕР- ТА ГІПОТИРЕОЗУ І ЇХ ПОЄДНАНОМУ ВПЛИВІ

Нечипорук В. М., Пентюк Л. О., Шушковська Ю. Ю., Ньюшко Т. Ю., Корда М. М.

Резюме. Гормони щитовидної залози відіграють важливу роль у розвитку мозку та забезпечують його функціонування протягом усього життя як у людей, так і у тварин. Встановлено, що ГГЦ сприяє посиленню окисного стресу, пошкодженню ДНК, ініціації апоптозу та ексайтотоксичності, усім важливим механізмам нейродегенерації. ГЦ також є протромботичним і проатерогенним і викликає пошкодження судинної стінки, хворобу Альцгеймера та судинну деменцію.

Мета – встановити субмікроскопічні зміни сенсомоторної ділянки кори великого мозку за умов змодельованої ГГЦ на фоні гіпер- та гіпотиреозу.

Об'єкт і методи. Тіолактонову ГГЦ моделювали введенням тваринам екзогенного ГЦ у вигляді тіолактону в дозі 100 мг/кг маси тіла один раз на добу протягом 28 діб. Гіпертиреоз моделювали шляхом щоденного введення L-тироксину в дозі 200 мкг/кг протягом 21-го дня, гіпотиреоз – щоденного введення мерказолілу в дозі 10 мг/кг протягом 21-го дня. Окремим групам тварин вводили L-тироксин і мерказоліл паралельно з ГЦ.

Результати дослідження. ГГЦ супроводжувалась деструктивно зміненими органами, субмікроскопічними змінами астроцитарної глії та кровоносних капілярах. В свою чергу гіпертиреоз викликав гіпертрофію мітохондрій, зменшення числа рибосом та деструктивними змінами в гемокапілях. Встановлені найбільш значні альтеративні та дегенеративні зміни в нейронах кори великих півкуль за умов гіпертиреозу та ГГЦ. Субмікроскопічно в нейронах тварин, яким моделювали ГГЦ і гіпотиреоз встановлено найбільш глибокі порушення їх ультраструктури порівняно із всіма попередніми групами спостереження.

Висновки. Проведені субмікроскопічні дослідження сенсомоторної ділянки кори півкуль головного мозку дослідних груп за умов змодельованих ГГЦ, гіпо- та гіпертиреозу та особливо за умов їх поєднаного впливу, встановили глибокі субмікроскопічні нейродегенеративні зміни в корі мозку. Встановлені нейродегенеративні зміни нейронів кори відбуваються на тлі нейроваскулярних розладів та альтерації нейроглії.

Ключові слова: гіпертиреоз, гіпотиреоз, гіпергомоцистеїнемія, кора мозку.

SUBMICROSCOPIC CHANGES IN THE SENSORIMOTOR AREA OF THE CEREBRAL CORTEX UNDER THE CONDITIONS OF EXPERIMENTAL HYPERHOMOCYSTEINEMIA, HYPER- AND HYPOTHYREOSIS AND THEIR COMBINED INFLUENCE

Nechiporuk V. M., Pentyuk L. O., Shushkovskaya Y. Y., Niushko T. Y., Korda M. M.

Abstract. Thyroid hormones are fundamental to the development of the brain and ensure its functioning throughout life. Hyperhomocysteinemia (HHCy) has been shown to be an important risk factor for cerebrovascular disease leading to stroke, Alzheimer's disease, and vascular dementia. Recent experimental studies have shown the effect of HHCy on cerebrovascular biology and the molecular mechanisms that explain these changes.

The aim – to define the submicroscopic changes in the sensorimotor area of the cerebral cortex under influence of HHCy against the background of hyper- and hypothyroidism.

Object and methods. HHCy was modeled by administering exogenous HCy to animals in the form of thiolactone at a dose of 100 mg/kg of body weight once a day for 28 days. Hyperthyroidism (intragastric L-thyroxine for 21 days 200 µg/kg*day), hypothyroidism (thiamazole 10 kg*day) for 21 days. Separate groups of animals were injected with L-thyroxine and thiamazole in parallel with HCy.

Study results. HHCy was accompanied by destructively changed organelles, submicroscopic changes in astrocytic glia and blood capillaries. In turn, hyperthyroidism caused hypertrophy of mitochondria, a decrease in the number of ribosomes and destructive changes in hemocapillaries. The most significant alterative and degenerative changes in neurocytes of the cortex of the large hemispheres under conditions of hyperthyroidism and HHCy. Submicroscopically, the most profound violations of their ultrastructure were found in the neurons of animals that were modeled with HHCy and hypothyroidism compared to all previous experimental groups.

Conclusions. Submicroscopic studies of the sensorimotor area of the cortex of the cerebral hemispheres of the experimental groups under conditions of simulated HHCy, hypo- and hyperthyroidism, and especially under conditions of their combined influence, established deep submicroscopic neurodegenerative changes in the cerebral cortex. Established neurodegenerative changes in cortical neurocytes occur against the background of neurovascular disorders and alteration of neuroglia.

Key words: hyperthyroidism, hypothyroidism, hyperhomocysteinemia, cerebral cortex.

ORCID and contributionship:

Nechiporuk V. M.: 0000-0002-0744-9236 ^{BD}

Pentiuk L. O.: 0000-0002-8012-1712 ^B

Niushko T. Yu.: 0000-0002-5428-0621 ^B

Shushkovskaya Yu. Yu.: 0000-0002-8006-5888 ^B

Korda M. M.: 0000-0003-0676-336X ^{AF}

Conflict of interest:

The Authors declare no conflict of interest.

Corresponding author

Nechiporuk Vitaliy Mykhaylovych
National Pirogov Memorial Medical University
Ukraine, 21018, Vinnytsya, 56 Pyrohova st.
Tel.: +380684985968
E-mail: nechiporuk@vnmu.edu.ua

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article.

Received 14.03.2022

Accepted 07.08.2022

DOI 10.29254/2077-4214-2022-3-166-398-420

УДК 577.1:661.29:577.112.3:599.323.4

Нечипорук В. М., ¹Пентюк Л. О., ¹Шушковська Ю. Ю., ¹Нюшко Т. Ю., ²Корда М. М.

СУБМІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ СЕНСОМОТОРНОЇ ДІЛЯНКИ КОРИ ВЕЛИКОГО МОЗКУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ, ГІПЕР- ТА ГІПОТИРЕОЗУ І ЇХ ПОЄДНАНОМУ ВПЛИВІ

¹Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова (м. Вінниця, Україна)

²Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України
(м. Тернопіль, Україна)

nechiporuk@vnmu.edu.ua

Тиреоїдні гормони (ТГ) відіграють важливу роль у рості та метаболічному гомеостазі як у людей, так і у тварин. У внутрішньоутробному житті, забезпечують часові сигнали для індукції програм диференціації та дозрівання на певних стадіях розвитку плоду. Серед іншого ТГ регулюють процеси пластичності нейронів, стимулюють ангиогенез та нейрогенез, а також модулюють динаміку елементів цитоскелета та внутрішньоклітинних транспортних процесів. Гомоцистеїн (ГЦ) вважається фактором ризику судинних захворювань, а також атрофії мозку. Встановлено, що високі рівні ГЦ сприяють підвищенню оксидативного стресу, пошкодженню ДНК, запуску апоптозу та ексайтотоксичності, усіх важливих механізмів нейродегенерації. ГЦ також є протромботичним і проатерогенним і викликає пошкодження стінки судин, викликає атрофію мозку у літніх людей. Епідеміологічні дані підтверджують, що ГЦ є фактором ризику когнітивних порушень та хвороби Альцгеймера.

Метою дослідження було встановити субмікроскопічні зміни сенсомоторної ділянки кори великого мозку за умов експериментальної гіпергомоцистеїнемії, гіпер- та гіпотиреозу і їх поєднаному впливі.

Тіолактонову ГГЦ моделювали введенням тваринам екзогенного гомоцистеїну (ГЦ) у вигляді тіолактону в дозі 100 мг/кг маси тіла один раз на добу протягом 28 діб. Гіпертиреоз моделювали шляхом щоденного введення L-тироксину в дозі 200 мкг/кг протягом 21-го дня, гіпотиреоз – щоденного введення мерказолілу в дозі 10 мг/кг протягом 21-го дня. Окремим групам тварин вводили L-тироксин і мерказоліл паралельно з ГЦ.

ГГЦ супроводжувалась деструктивно зміненими органелами, субмікроскопічними змінами астроцитарної глії та кровоносних капілярах. В свою чергу гіпертиреоз викликав гіпертрофію мітохондрій, зменшення числа рибосом та деструктивними змінами в гемокапілях. Встановлені найбільш значні альтеративні та дегенеративні зміни в нейронах кори великих півкуль за умов гіпертиреозу та ГГЦ. Субмікроскопічно в нейронах тварин, яким моделювали ГГЦ і гіпотиреоз встановлено найбільш глибокі порушення їх ультраструктури порівняно із всіма попередніми групами спостереження.

Висновки: проведені субмікроскопічні дослідження сенсомоторної ділянки кори півкуль головного мозку дослідних груп за умов змодельованих ГГЦ, гіпо- та гіпертиреозу та особливо за умов їх поєднаного впливу, встановили глибокі субмікроскопічні нейродегенеративні зміни в корі мозку. Встановлені нейродегенеративні зміни нейронів кори відбуваються на тлі нейроваскулярних розладів та альтерації нейроглії.

Ключові слова: гіпертиреоз, гіпотиреоз, гіпергомоцистеїнемія, кора мозку.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Дослідження виконано в рамках НДР Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова за темою: «Вплив екзогенних та ендогенних чинників на обмін гідроген сульфідів та асоційованих з ним метаболічних процесів в нормі та при патології», № державної реєстрації 0113U006461.

Вступ. Відомо, що дисфункція гормонів щитоподібної залози справляє глибокий вплив на емоційний та когнітивний дефіцит [1, 2]. Гормони щитоподібної залози є важливим фактором для процесів розвитку мозку, таких як диференціація нейронів, ріст нейроспонгії, синаптогенез та проліферація дендритів [3]. Гіпертиреоз, поширене захворювання з типовою клінічною ознакою надмірної циркуляції гормонів щитоподібної залози, яке часто асоціюється з рядом нейропсихічних симптомів, включаючи нервозність, дратівливість, депресію, тривожність, порушення пам'яті, погану концентрацію та тремтіння [4]. Гіпотиреоз також пов'язаний з біполярними афективними розладами, депресією або втратою когнітивних функцій, особливо у літніх людей [5].

Парасекреція циркулюючих гормонів щитоподібної залози при гіпертиреозі впливає на нервову функцію в областях мозку з найвищою концентрацією рецепторів [6].

Дослідження структури мозку за гіпертиреозу з використанням фтордезоксиглюкози показало, що пацієнти з гіпертиреозом демонстрували нижчу активність лімбічної системи, лобових і скроневих часток порівняно зі здоровими [4]. Однак, порівняно з гіпертиреозом статусом, антитиреоїдна терапія метимазолом протягом 77 днів спричиняла посилення метаболізму в лівій парагіпокампульній, веретеноподібній та правій верхній лобовій звивині [7]. Було виявлено, що у 29 пацієнтів із гіпертиреозом, спричиненим 8-тижневим щоденним пероральним прийомом 250 мкг левотироксину, спостерігалось посилення зв'язку між скроневою часткою та мережею когнітивного контролю [8].

Більше того, у групі з 28 здорових осіб із гіпертиреозом, викликаним прийомом 250 мкг тетраїодтироніну (T_4) протягом 8 тижнів, обсяги сірої речовини зросли в правому задньому мозочку, але був знижений

у двосторонній зоровій корі та передньому мозочку в порівнянні з пацієнтами з еутиреоїдною залозою [9].

Останнім часом приділяється багато уваги взаємозв'язку рівня гомоцистеїну (ГЦ) та появою когнітивних розладів [10]. Давно було визнано, що високі рівні ГЦ підвищують ризик виникнення серцево-судинних захворювань та цереброваскулярних захворювань в 2 рази на кожні 5 мкмоль/л ГЦ [11]. Крім того, високі рівні ГЦ є фактором ризику розвитку атрофії мозку та хвороби Альцгеймера [12]. ГЦ визнано проатерогенним і протромботичним фактором, збільшує проліферацію гладких м'язів, знижує синтез ендотеліальної ДНК, пригнічує антикоагулянтні фактори, збільшує агрегацію тромбоцитів і погіршує ендотеліозалежну артеріальну вазодилатацію [13].

В експериментальних моделях на тваринах було показано, що ГЦ індукує ексцитотоксичність, опосередковану взаємодією з N-метил-D-аспартат рецептором, викликає дисфункцію мітохондрій і таким чином викликає апоптоз, сприяє фосфорилуванню і посилює нейротоксичний ефект бета-амілоїда [14, 15].

Метою дослідження було встановити субмікроскопічні зміни сенсомоторної ділянки кори великого мозку за умов експериментальної гіпергомоцистеїнемії, гіпер- та гіпотиреозу і їх поєднаному впливі.

Об'єкт і методи дослідження. Досліди проведені на 50 безпородних білих щурах-самцях масою 180-200 г. Щурів утримували при стандартному світловому дні на звичайному харчовому раціоні. Усі дослідження було проведено з дотриманням вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин, регламентованих Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.).

Всіх тварин поділили на 5 груп: 1-а – інтактні щури. Цій групі тварин внутрішньошлунково вводили 1% розчин крохмалю; 2-а – тварини з тіолактоною ГГЦ, яку викликали внутрішньошлунковим введенням ГЦ у вигляді тіолактону в дозі 100 мг/кг маси тіла на 1% розчині крохмалю один раз на добу протягом 28 діб. Доза, шляхи та тривалість введення тіолактону ГЦ запозичена з літературних даних і не викликала загибелі тварин [16]; 3-а – тварини з гіпертиреозом, яким

щоденно протягом 21-го дня вводили внутрішньошлунково L-тироксин в дозі 200 мкг/кг на 1% розчині крохмалю [17]; 4-а – тварини з тіолактоною ГГЦ, яким щоденно протягом 21-го дня вводили внутрішньошлунково L-тироксин в дозі 200 мкг/кг на 1% розчині крохмалю; 5-а – тварини з гіпотиреозом, яким щоденно протягом 21-го дня вводили внутрішньошлунково мерказоліл на 1% розчині крохмалю в дозі 10 мг/кг маси [17]; 6-а – тварини з тіолактоною ГГЦ, яким щоденно протягом 21-го дня вводили внутрішньошлунково мерказоліл в дозі 10 мг/кг на 1% розчині крохмалю. Тварин виводили з експерименту через 24 години після останнього введення обраних речовин. Забір матеріалу для електронномікроскопічного дослідження нирок проводили згідно загальноприйнятих правил [18]. Для проведення ультраструктурних досліджень забирали шматочки тканини сенсомоторної ділянки великого мозку у тварин всіх експериментальних груп, а їх обробку здійснювали згідно загальноприйнятих правил [18]. Матеріал фіксували у 2,5% розчині глютаральдегіду з активною реакцією середовища рН 7,2–7,4, приготовленому на фосфатному буфері. Постфіксацію здійснювали 1% розчином чотириокису осмію, після чого проводили його дегідратацію в спирттах і пропілен оксиді та заливали в суміш епоксидних смол. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамікромомі ЛКВ-3 (Швеція), забарвлювали 1% водним розчином ураніацетату, контрастували цитратом свинцю згідно методу Рейнольдса та вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125К.

Результати дослідження. Проведені ультраструктурні дослідження встановили, що нейрони контрольної групи тварин характеризуються круглим еухроматиновим ядром із осміофільним ядерцем округлої форми та електронно світлою нейроплазмою. Каріолема має рівномірні, чітко контуровані мембрани між якими розташований перинуклеарний простір, виявляється багато ядерних пор. У каріоплазмі переважає електронно світлий еухроматин із дифузно розсіяними невеликими, грудками конденсованого хроматину. Центральне розташоване осміофільне ядерце із невеликими світлими зонами. Нейроплазма помірної електронної щільності, в якій наявні органили загального призначення. Добре розвинена система рівномірних каналців гранулярної ендоплазматичної сітки та цистерн комплексу Гольджі. На поверхні гранулярної ендоплазматичної сітки наявні чисельні рибосоми. Також визначаються вільні рибосоми, які часто формують скупчення у вигляді ланцюжків полісом. Окрім білоксинтезуючих органел у нейроплазмі добре виражені органили енергозабезпечення – мітохондрії, які характеризуються різною формою та розмірами. У більшості, вони мають видовжену форму із контурованими, осміофільними зовнішньою та внутрішньою мембранами. Мітохондріальний матрикс електронно світлий, заповнює проміжки між численними кристами, які мають чіткі межі. Відзначаються поодинокі щільні, осміофільні лізосоми (рис. 1). Виявлено, що у нейроплазмі перикаріонів та відростках нейронів наявні нейротрубочки та нейрофіламенти, які входять до складу нейрофібрил.

Крім головних нейронів на ультраструктурному рівні, виявляються нейрогліюцити – протоплазматичні астроцити, які належать до макроглії. Дані клітини характеризуються відростками із звивистими конту-

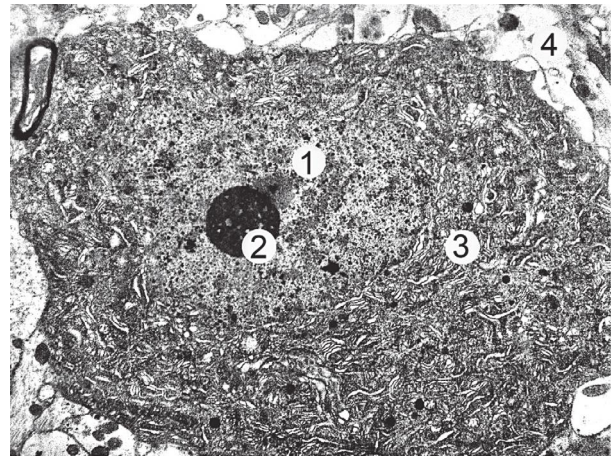


Рисунок 1 – Ультраструктура нейрона кори великих півкуль інтактної групи тварин. Зб.: x8000. Позначення: 1 – кругле ядро з світлою каріоплазмою, 2 – округле ядерце, 3 – чисельні каналці гранулярної ендоплазматичної сітки в нейроплазмі, 4 – нейрофіл.

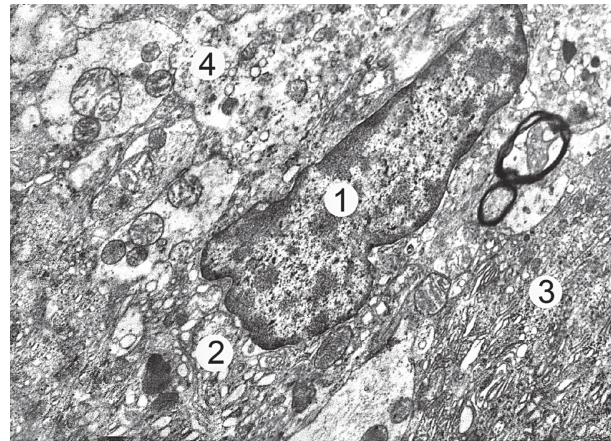


Рисунок 2 – Ультраструктура олігодендроцита кори великого мозку інтактної тварини. Зб.: x9000. Позначення: 1 – ядро, 2 – цитоплазма олігодендроцита, 3 – фрагмент нейрона, 4 – нейрофіл.

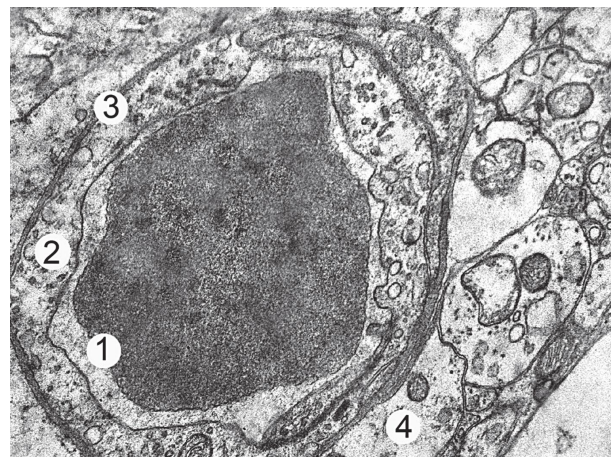


Рисунок 3 – Субмікроскопічна організація кровоносного капіляра кори великих півкуль інтактної тварини. Зб.: x16000. Позначення: 1 – просвіт капіляра з еритроцитом, 2 – тонка цитоплазматична ділянка ендотеліоцита, 3 – базальна мембрана, 4 – цитоплазма відростка астроцита.

рами. Нейроплазма електронно прозора, бідна на мембранні органили. Слабо розвинені каналці ендоплазматичної сітки та цистерни комплексу Гольджі. Виявляються дрібні, округлої форми мітохондрії із чіткими мембранами та добре контурованими кри-

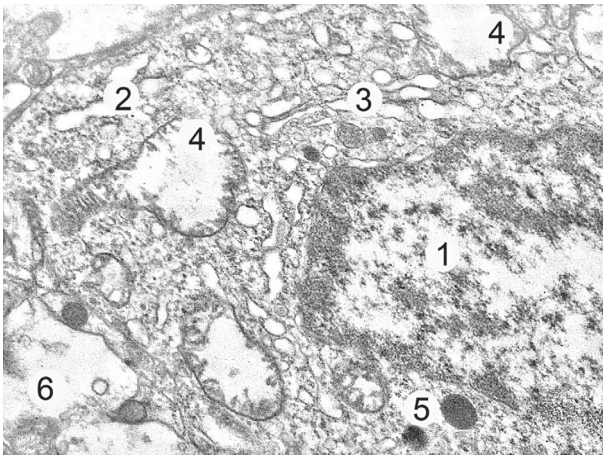


Рисунок 4 – Ультраструктурні зміни “світлого” нейрона кори великих півкуль за умов змодельованої гіпергомоцистеїнемії. 3б.: x22000. Позначення: 1 – ядро, 2 – розширені каналці ендоплазматичної сітки, 3 – цистерни комплексу Гольджі, 4 – вакуолізовані мітохондрії, 5 – лізосоми, 6 – нейропіль.

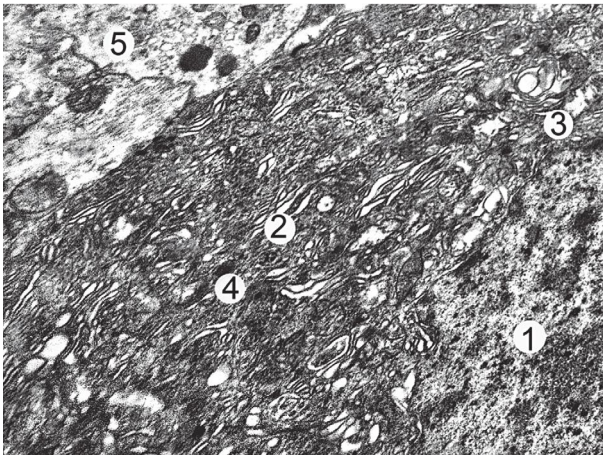


Рисунок 5 – Ультраструктурні зміни “темного” нейрона кори великих півкуль за умов змодельованої гіпергомоцистеїнемії. 3б.: x14000. Позначення: 1 – Ядро, 2 – каналці ендоплазматичної сітки в осміофільній нейроплазмі, 3 – змінена мітохондрія, 4 – лізосома, 5 – нейропіль.

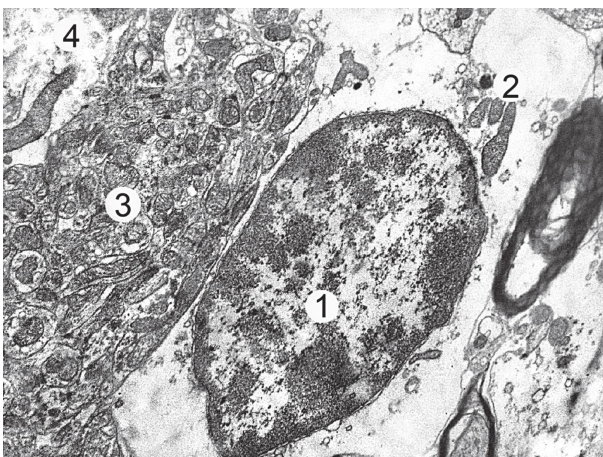


Рисунок 6 – Субмікроскопічні зміни астроцита кори великого мозку тварини за умов змодельованої гіпергомоцистеїнемії. 3б.: x10000. Позначення: 1 – ядро, 2 – мітохондрії, 3 – фрагмент “темного” нейрона, 4 – нейропіль.

тами, мітохондріальний матрикс помірно електронної щільності. Ядро кругле із еухроматином та маргінально розташованими грудками гетерохроматину. Каріолема характеризується чіткими контурами із

рівномірно розширеним перинуклеарним простором, виявляються невеликі ядерця. Протоплазматичні астроцити формують своїми відростками астроцитарні ніжки із гемокапілярами.

Також виявляються олігодендроцити, для яких характерна помірно електроннощільна нейроплазма із краще розвиненими органелами порівняно із астроцитарною глією. Ядра олігодендроцитів овальні із переважанням еухроматину в каріоплазмі, ядерна мембрана чітка. У нейроплазмі знаходяться добре розвинені каналці гранулярної ендоплазматичної сітки із фіксованими рибосомами. Цистерни комплексу Гольджі зосереджені поблизу ядра. Дрібні мітохондрії дифузно розташовані у нейроплазмі та мають типову будову. Виявляються поодинокі лізосоми (рис. 2).

Субмікроскопічно встановлено, що у корі великих півкуль головного мозку розташовані кровоносні капіляри соматичного типу. Ендотеліальні клітини щільно з’єднані між собою за допомогою щільних контактів. Електронно світла цитоплазма ендотеліоцитів характеризується невеликою кількістю органел, наявні поодинокі каналці гранулярної ендоплазматичної сітки, вільні рибосоми, невеликі мітохондрії із чіткими мембранами та помірної щільності мітохондріальним матриксом. Ядра ендотеліальних клітин видовжені із чіткою каріолемою та каріоплазмою в якій переважає еухроматин. Виявляється багато мікропіноцитозних пухирців та кавеол. На люменальній поверхні відзначалися мікрворсинки. Базальна мембрана однорідна, чітко контурована (рис. 3). Періцити мають світлу цитоплазму, помірно розвинені мембранні органели. Ядро неправильної форми із рівномірно розташованим еухроматином у каріоплазмі та чіткою каріолемою.

Ультраструктурно у другій групі тварин, яким моделювали гіпергомоцистеїнемію встановлено, що в “світлих” нейронах, які є аналогом гіпохромних клітин виявлених на мікроскопічному рівні, визначається редукція частини органел, а ті, що наявні, деструктивно змінені. Значних змін зазнає ендоплазматична сітка, зменшується протяжність каналців, вони розширені, вакуолізовані, їх мембрани фрагментовані. Цистерни комплексу Гольджі також розширені із утворенням великих електронноосвітливих вакуолей. Мітохондрії набряклі, великі, везикулоподібні, із електронноосвітлим матриксом та редукованими кристами. У гіалоплазмі визначається помірна кількість рибосом, осміофільні лізосоми. Ядра нейрокитів збільшені за розмірами, в каріоплазмі переважає еухроматин, проте наявні грудки гетерохроматину, що має переважно маргінальне розташування. Каріолема має нечіткі контури мембран та наявні інвагінації, ядерних пор небагато, визначається локально розширення перинуклеарного простору (рис. 4).

Ультраструктура “темних” нейрокитів, які на світлооптичному рівні відповідають стану гіперхромних нейрокитів, характеризується осміофільною каріо- та нейроплазмою. Такі нейрокити мають високу електронну щільність ядра і нейроплазми, містять зменшені за розмірами перикаріони та стоншені відростки. Ядра ущільнені, пікнотичні, в каріоплазмі переважає осміофільний гетерохроматин, ядерна оболонка на всьому протязі нечітка, розмита, формує інвагінації. Виявляється осміофільне ядерце, яке лежить поряд

із каріолемою. Канальці ендоплазматичної сітки чисельні, розгалужені, на деяких ділянках розширені. Цистерни комплексу Гольджі непряжні, виявляються рідко. Мітохондрії переважно містять осміофільний матрикс та нечіткі кристи (рис. 5).

Ультраструктурні зміни астроцитарної глії проявляються внутрішньоклітинним набряком, а відповідно і всієї площі цитоплазми та набряком відростків. У ядрах переважає еухроматин, гетерохроматин має маргінальне розміщення. Наявне локальне розширення перинуклеарного простору. Щільність органел невисока. Електронно світла нейроплазма включає нечисельні вакуолізовані канальці ендоплазматичної сітки та цистерни комплексу Гольджі. Мітохондрії деформовані, переважно електронно щільні, з частково редукованими кристами (рис. 6).

Ультраструктурно кровоносні капіляри за умов змодельованої гіпергомоцистеїнемії переважно мають розширені та кровонаповнені просвіти, із проявами сладжів та тромбів, визначається набряк стінки та значний периваскулярний набряк. Для базальної мембрани характерне потовщення, або стоншення із ознаками підвищеної осміофільії. Для цитоплазми ендотеліоцитів характерний набряк, ядра клітин невеликі, містять інвагінації каріолеми. Наявне невелике осміофільне ядрце, в каріоплазмі переважає гетерохроматин. Щільність органел невисока, в периферичних цитоплазматичних ділянках клітин виявляється небагато мікропухирців та везикул, люменальна поверхня позбавлена мікрворсинок. Цілісність міжклітинних контактів збережена (рис. 7).

Ультраструктурно встановлено, що в третій групі тварин яким, моделювали гіпертиреоз в органі виявляються "темні" нейрони, що відповідають морфологічному стану гіперхромних клітин. Для таких нейроцитів характерним є зменшення перикаріонів, витончені відростки інтенсивно осміофільна нейрота каріоплазма. Електронно щільна нейроплазма містить невномірно потовщені канальці гранулярної ендоплазматичної сітки, частина з них фрагментовані. Деструктуризовані також цистерни, вакуолі і пухирці комплексу Гольджі. Для більшості мітохондрій характерні невеликі розміри, улектронно щільний матрикс та нечіткі кристи, для частини з них вакуолізація, прояснення матриксу та редукція крист. Також виявляються електронно щільні первинні та вторинні лізосоми (рис. 8).

Також виявлялися "світлі" нейроцити, для яких характерна нейроплазма низької електронної щільності, виявлялися нерівномірно розширені канальці ендоплазматичної сітки та цистерни комплексу Гольджі. Більшість мітохондрій гіпертрофовані, вакуолеподібні, із матриксом низької електронної щільності та частково редукованими кристами. У нейроплазмі визначається зменшення числа рибосом. Ядра збільшені, в каріоплазмі превалює еухроматин, наявні невеликі грудки гетерохроматину.

Ультраструктурно в олігодендроцитах кори півкулі головного мозку цієї групи спостереження виявляється велике гетерохроматинове ядро, в якому наявне велике ядрце, що містить гранулярний і фібрилярний компоненти. Каріолема утворює інвагінації. Щільність органел невисока і вони деструктивно змінені (рис. 9).

Астроцити містять набряклу, електронно світлу нейроплазму деструктивно змінені, нечисельні ор-



Рисунок 7 – Субмікроскопічні зміни гемокапіляра кори великих півкуль за умов змодельованої гіпергомоцистеїнемії. Зб.: x9000. Позначення: 1 – ядро, 2 – цитоплазма ендотеліоцита, 3 – базальна мембрана, 4 – просвіт капіляра, 5 – перицит, 6 – периваскулярний набряк, 7 – нейропіл.

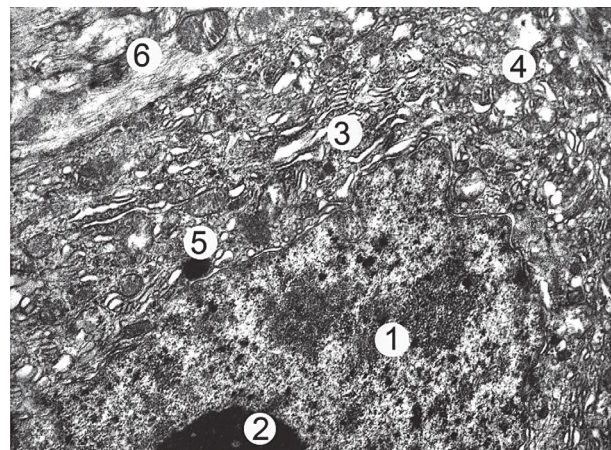


Рисунок 8 – Ультраструктурні зміни темного нейроцита кори великого мозку тварини за умов гіпертиреозу. Зб.: x12000. Позначення: 1 – осміофільна каріоплазма ядра, 2 – ядрце, 3 – канальці гранулярної ендоплазматичної сітки, 4 – мітохондрія, 5 – лізосома, 6 – нейропіл.

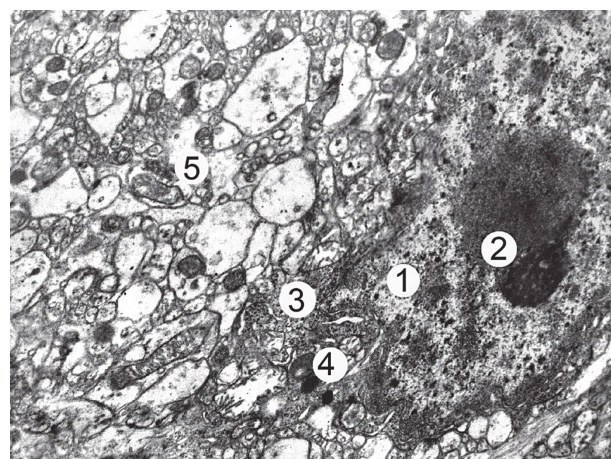


Рисунок 9 – Ультраструктурні зміни олігодендроцита кори великого мозку тварини за умов гіпертиреозу. Зб.: x11000. Позначення: 1 – ядро, 2 – ядрце, 3 – осміофільна нейроплазма, 4 – лізосома, 5 – нейропіл.

ганели. Ядро округле, невелике, в якому переважає гетерохроматин. Каріолема має нечіткі мембрани, ядерних пор мало.

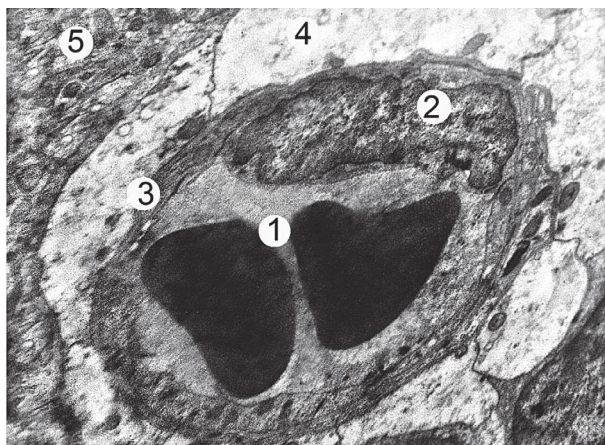


Рисунок 10 – Ультраструктурні зміни гемокапіляра великого мозку за умов гіпертиреозу. Зб.: x10000. Позначення: 1 – просвіт капіляра з еритроцитами, 2 – ядро ендотеліоцита, 3 – базальна мембрана, 4 – периваскулярний набряк, 5 – нейропіль.

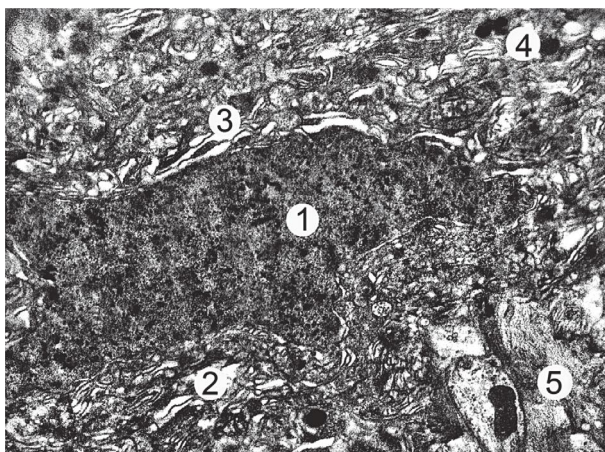


Рисунок 11 – Ультраструктура інтенсивно “темного” нейрона кори великих півкуль за умов гіпертиреозу та гіпергомоцистеїнемії. Зб.: x10000. Позначення: 1 – осміофільне, неправильної форми ядро, 2 – нейроплазма, 3 – каналці ендоплазматичної сітки, 4 – лізосоми, 5 – нейропіль.

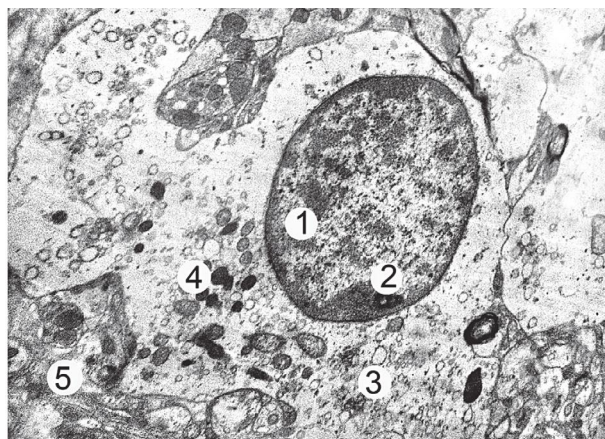


Рисунок 12 – Субмікроскопічні зміни астроцита кори великих півкуль за умов гіпертиреозу та гіпергомоцистеїнемії. Зб.: x9000. Позначення: 1 – ядро, 2 – ядрце, 3 – фрагментовані органели, 4 – лізосоми, 5 – нейропіль.

Ультраструктурно в гемокапілярах також виявляються деструктивні зміни, які проявляються розширенням та кровонаповненням просвітів або різким їх звуженням. Ендотеліальні клітини мали невеликі, деформовані ядра, в яких переважав гетерохрома-

тин. Цитоплазма ендотеліоцитів містить потовщені або значно витончені ділянки, в яких наявне зниження числа мікропіноцитозних міхурців. Для базальної мембрани характерне потовщення, гомогенізація, проте на інших ділянках вона була чітко контурована. До неї прилягають набряклі, електронносвітлі відростки астроцитів, що формують збільшені периваскулярні простори (рис. 10).

Субмікроскопічно у тварини четвертої експериментальної групи, встановлені найбільш значні альтеративні та дегенеративні зміни в нейронах кори великих півкуль за умов змодельованого гіпертиреозу та гіпергомоцистеїнемії порівняно з попередніми групами спостереження. Для “темних” та інтенсивно “темних” нейронів, що відповідають встановленим на мікроскопічному рівні гіперхромних та гіпохромних клітин, значної деструкції зазнають ядра та органели нейроплазми. Для таких клітин характерне зменшення перикаріонів та зміна їх форми, стоншення відростків. Каріолема формує глибокі інвагінації, межі її мембран практично не контуруються. Електроннощільна нейроплазма включає непростягні, розширені та фрагментовані каналці ендоплазматичної сітки та цистерни комплексу Гольджі, що мають парануклеарну локалізацію (рис. 11). Для мітохондрій також характерна значна деструкція, фрагментуються не лише кристи, а й зовнішня їх мембрана. Переважна їх кількість містять просвітлений матрикс. У гіалоплазмі визначаються первинні і вторинні осміофільні лізосоми.

Також поміж темними нейронами виявляються “світлі” клітини, що мають збільшені розміри, їх перикаріони округлі, відростки потовщені. В ядрах превалює електронносвітлий еухроматин, визначаються локально розширені локуси перинуклеарного простору. В цитоплазмі щільність органел невисока, їх мембрани пошкоджені, фрагментовані, наявні осміофільні вторинні лізосоми.

Субмікроскопічні зміни астроцитів характеризуються нейроплазмою низької електронної щільності, органели нечисельні і деструктивно змінені, визнається багато осміофільних лізосом. Наявні значні площі цитоплазми позбавлені органел. Ядро округле, невелике, в ньому визначається ущільнене невелике ядрце (рис. 12).

Нейроплазма олігодендроцитів невеликого об’єму, електроннощільна, містить деструктуризовані органели, ядро неправильної, еліпсоїдної форми, в якому переважає гетерохроматин.

Для більшості капілярів характерні неширокі просвіти. Для ядер ендотеліальних клітин характерні глибокі зміни ядер, для яких характерна осміофільна каріоплазма, наявні значні івагінації каріолеми, мембрани якої погано контуровані, ядерні пори не визначаються. Цитоплазматичні ділянки деструктуризовані, погано виражені мембрани люменальної і базальної частини клітини. Мікропіноцитозні пухирці поодинокі. Базальна мембрана потовщена, набрякла, гомогенна, нечітка (рис. 13).

На ультраструктурному рівні серед нейронів п’ятої дослідної групи також виявлялися “світлі” клітини, що відповідають стану тигролізу, визначеному на світлооптичному рівні. Нейроплазма таких клітин містить розширені, непростягні каналці гранулярної ендоплазматичної сітки та цистерни комплексу Гольджі, зростає число збільшених вакуоль і мікропухир-

ців. Різко зменшується число вільних і фіксованих до мембран каналців ендоплазматичної сітки рибосом. Мітохондрії різнотипні за розмірами і характером змін. Виявляються відносно збережені, з чіткими мембранами, помірної осміофільності матриксом та незначно фрагментованими кристами. Також наявні вакуолізовані, з електронноосвітлим матриксом та редукованими кристами. Ядра таких клітин мають глибокі інвагінації каріолеми локально нечіткі контури її мембран. У каріоплазмі переважає еухроматин, проте визначається досить велике ядерце, яке включає гранулярний і фібрилярний компоненти та свідчить про активацію пристосувальної реакції на вплив пошкоджуючого фактора (рис. 14).

За умов впливу гіпотиреозу субмікроскопічно визначаються зміни в гліоцитах кори великого мозку, астроцити містять просвітлену набряклу нейроплазму, в якій органели поодинокі, деструктуризовані, визначаються невеликі мітохондрії з відносно збереженими кристами. Ядра округло-овальні, з неглибокими інвагінаціями, в каріоплазмі гетерохроматин формує осміофільні скупчення (рис. 15).

Ультраструктурно олігодендроцити також зазнають змін, їх каріо- і нейроплазма ущільнена, осміофільна. Ядра великі, неправильної форми, в них переважає гетерохроматин. Органели, набряклі, частково фрагментовані.

Субмікроскопічне дослідження гемокапілярів кори великого мозку цієї експериментальної групи показало, що порушення кровоплину викликає зміни їх ультраструктурної організації. Виявляються кровоносні капіляри із звуженими просвітами і периваскулярним набряком та судини з розширеними просвітами, що заповнені форменими елементами крові, що підтверджує явище стазу. Навколо досліджуваних гемокапілярів виявлялися набряклі, розширені периваскулярні простори, що утворені набряклими відростками астроцитів. На стоншеній базальній мембрані розміщені ендотеліальні клітини, що містять неправильної, видовженої форми ядра. Периферичні, цитоплазматичні ділянки ендотеліоцитів також витончені, в них виявляється мало мікропіноцитозних міхурців та кавеол. Мікрворсинки люменальної поверхні поодинокі (рис. 16).

Субмікроскопічно в нейронах шостої експериментальної групи тварин, яким моделювали ГГЦ і гіпотиреоз встановлено найбільш глибокі порушення їх ультраструктури порівняно із всіма попередніми групами спостереження. Для багатьох нейроцитів характерний тотальний тигроліз, що проявляється просвітленням нейроплазми, деструктуризацією, фрагментацією та лізисом мембранних органел, зокрема каналців ендоплазматичної сітки та мітохондрій. Різко зменшується число фіксованих до мембран ендоплазматичної сітки рибосом та полісом. Виявляються вакуолі різних за розмірами та формою. Для ядер характерна висока осміофілія, практично всю площу клітин займає електроннощільний гетерохроматин, каріолема нечітка, гомогенна, відсутні ядерця (рис. 17).

Серед "темних" нейроцитів наявні клітини із значними, глибокими пошкодженнями нейро- та каріоплазми. Каріолема формує глибокі інвагінації, відповідно ядро зміненої форми, для нього характерні ознаки каріорексису. Такі осміофільні, електроннощільні ядра погано визначаються на тлі нейроплазми.

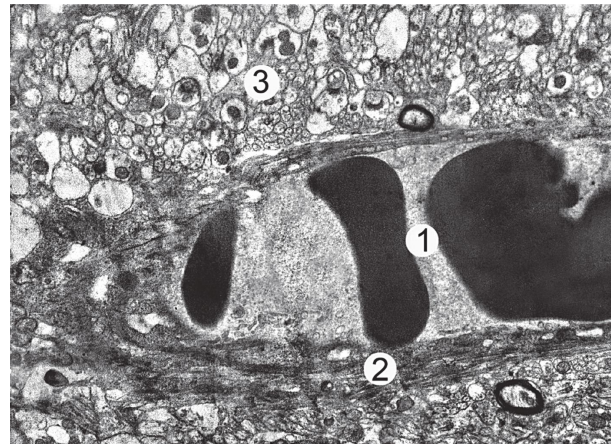


Рисунок 13 – Ультраструктурні зміни кровоносного капіляра кори великих півкуль за умов гіпертиреозу та гіперкомоцистеїнемії. 36.: x10000. Позначення: 1 – просвіт з еритроцитами, 2 – фрагментована, деструктуризована стінка, 3 – нейропіль.

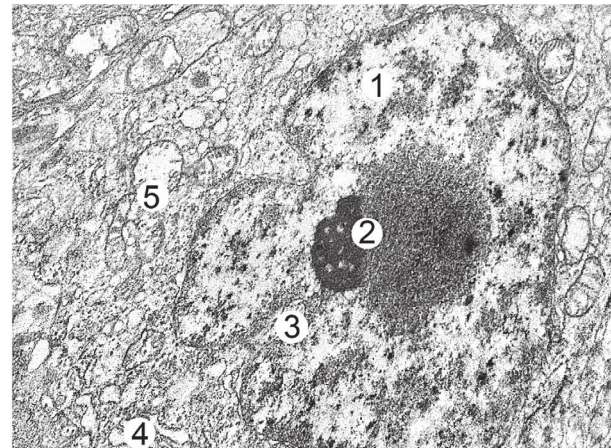


Рисунок 14 – Ультраструктурні зміни нейрона кори великого мозку тварини при експериментальному гіпотиреозі. 36.: x14000. Позначення: 1 – електронноосвітла каріоплазма ядра, 2 – ядерце, 3 – інвагінація каріолеми, 4 – каналці гранулярної ендоплазматичної сітки, 5 – мітохондрія.



Рисунок 15 – Ультраструктурні зміни астроцита кори великих півкуль за умов змодельованого гіпертиреозу. 36.: x12000. Позначення: 1 – ядро, 2 – каналці ендоплазматичної сітки в електронноосвітлій нейроплазмі, 3 – мітохондрія, 4 – лізосома, 5 – нейропіль.

Також виявляються клітини "тіні", які не містять ядра, а їх нейроплазма містить деструктуризовані, фрагментовані осміофільні каналці ендоплазматичної сітки (рис. 18).

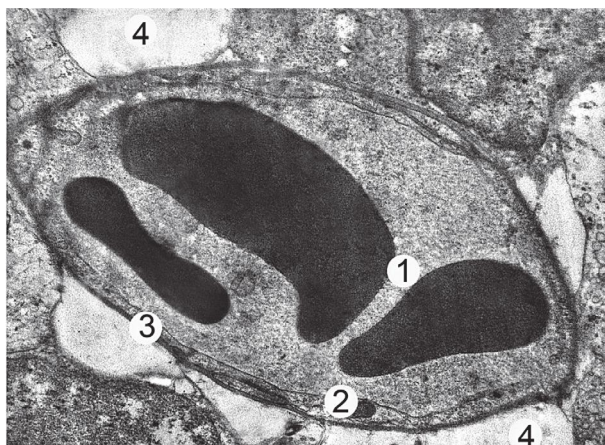


Рисунок 16 – Ультраструктурний стан гемокапіляра кори великого мозку тварини при експериментальному гіпотиреозі. 36.: x10000. Позначення: еритроцити в просвіті капіляра, 2 – цитоплазматична ділянка ендотеліоцита, 3 – базальна мембрана, 4 – набряклі астроцитарні ніжки.

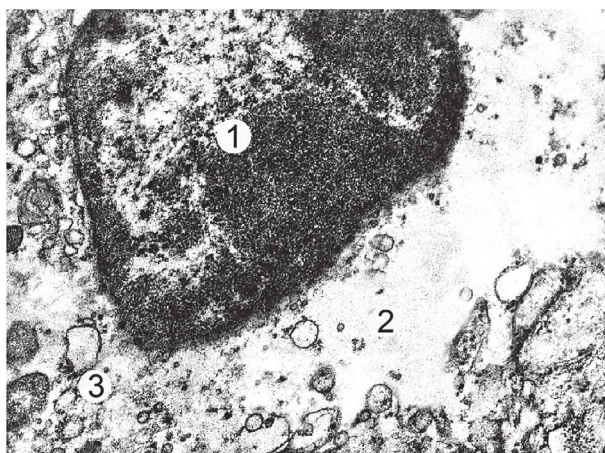


Рисунок 17 – Ультраструктурні зміни нейрона кори великого мозку тварини за умов гіпотиреозу та гіпергомоцистеїнемії. 36.: x12000. Позначення: 1 – ядро, 2 – світла нейроплазма, 3 – фрагменти каналців гранулярної ендоплазматичної сітки.

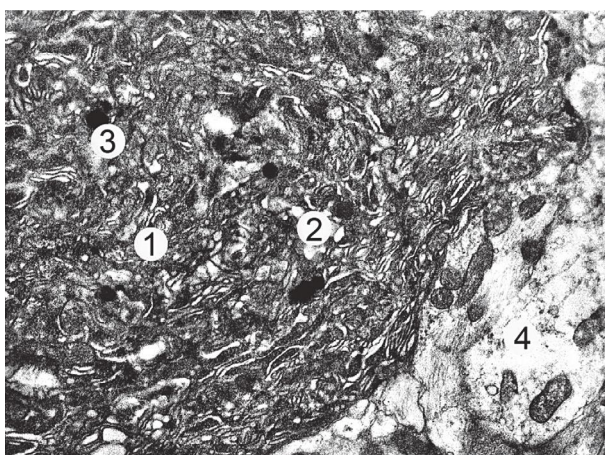


Рисунок 18 – Субмікроскопічні зміни нейрона клітини “тіні” кори великого мозку тварини за умов гіпотиреозу та гіпергомоцистеїнемії. 36.: x12000. Позначення: 1 – осміюфільна нейроплазма, 2 – фрагментовані каналці гранулярної ендоплазматичної сітки, 3 – лізосоми, 4 – нейрофілі.

Значні ультраструктурні зміни виявляються в астроцитарних гліоцитах. В електроннопрозорої нейроплазмі наявні поодинокі органели, переважно деструктивно змінені мітохондрії. Ядра клітин невеликі за розмірами, осміюфільні, в них переважає гетерохроматин. Для

відростків характерний набряк і просвітлення, частини їх містяться між компонентами нейропілю.

Для олігодендроцитів характерні темні, неправильної форми осміюфільні ядра в яких переважає гетерохроматин. Каріолема формує інвагінації, нечітко контурована. Локально розширений перинуклеарний протір. Органели деструктуризовані, пошкоджені. Виявляються фрагменти зруйнованих мембранних органел (рис. 19).

Для гемокапілярів характерні переважно вузькі, неширокі просвіти. Ендотеліоцити містять деформовані, осміюфільні ядра. В цитоплазмі були поодинокі, деструктивно змінені органели. В цитоплазматичних частинах клітин не виявлялися мікропіноцитозні міхурці, вони були гомогенні, набряклі. Люменальна частина плазмолемми нечітка, розмита. Базальна мембрана гомогенна, осміюфільна. Визначаються апоптично змінені перичити. Наявний периваскулярний набряк (рис. 20).

Обговорення результатів дослідження. Нами було встановлено, що у групі тварин з ГЦ у “світлий” нейронах, визначається редукція частини органел, а ті, що наявні, деструктивно змінені. Ультраструктура “темних” нейронів, які на світлооптичному рівні відповідають стану гіперхромних нейронів, характеризується осміюфільною каріо- та нейроплазмою. Субмікроскопічні зміни астроцитарної глії проявляються внутрішньоклітинним набряком, а відповідно і всієї площі цитоплазми та набряком відростків. Ультраструктурно кровоносні капіляри за умов змодельованої гіпергомоцистеїнемії переважно мають розширені та кровонаповнені просвіти, із проявами складжів та тромбів, визначається набряк стінки та значний периваскулярний набряк. Відомо, що високий рівень ГЦ пов’язаний з негативними наслідками для здоров’я та розвитком багатьох патологічних процесів [19]. Бетаїногмоцистеїнметилтрансфераза (БГМТ) – це фермент, який бере участь у зниженні рівня ГЦ шляхом перетворення останнього на метіонін за допомогою бетаїну. Prieur E. та ін. 2017 [20] використовуючи мишей з нокаутом гена БГМТ, виявили підвищений рівень ГЦ, зменшений загальний об’єм мозку, порушену референтну та просторову пам’ять. Автори зробили наступні висновки, що відсутність БГМТ впливає на неврологічну функцію, а бетаїн як донор метильних груп виконує значну функцію на ранньому етапі розвитку, сприяючи розвитку бластоцистів [21]. Метилування також має вирішальне значення для правильного постнатального розвитку мозку. Під час раннього розвитку мозку метилування бере участь у пластичності та синаптичній передачі [22]. Дефіцит БГМТ та бетаїну як осмоліту, який може регулювати клітинний об’єм і баланс рідини підтримувати осмотичного складу мозку є критичним для нормального функціонування мозку через його складну архітектуру [3, 23].

У групі тварин з гіпертиреозом нами встановлено, що в корі великого мозку виявляються “темні” нейрони, що відповідають морфологічному стану гіперхромних клітин. Більшість мітохондрій була гіпертрофована. У нейроплазмі визначається зменшення числа рибосом. Ядра збільшені, в каріоплазмі превалює еухроматин, наявні невеликі грудки гетерохроматину. Субмікроскопічно в гемокапілярах також виявляються деструктивні зміни, які проявляються розши-

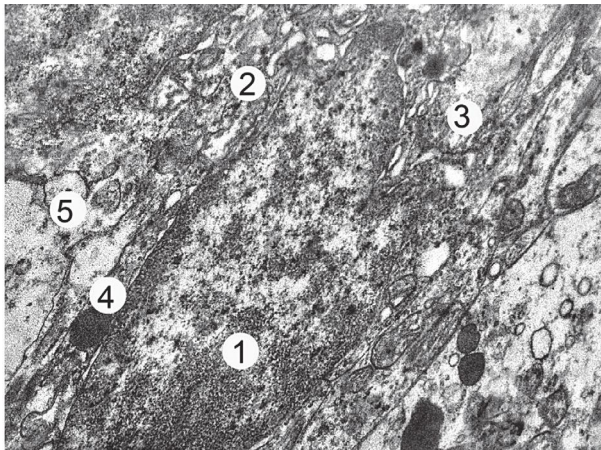


Рисунок 19 – Субмікроскопічні зміни олигодендроцита кори великого мозку тварини за умов гіпотиреозу та гіпергомоцистеїнемії. 36.: x12000. Позначення: 1 – ядро, 2 – осміофільне нейтроплазма, 3 – пошкоджені мітохондрії, 4 – лізосоми, 5 – нейропіль.

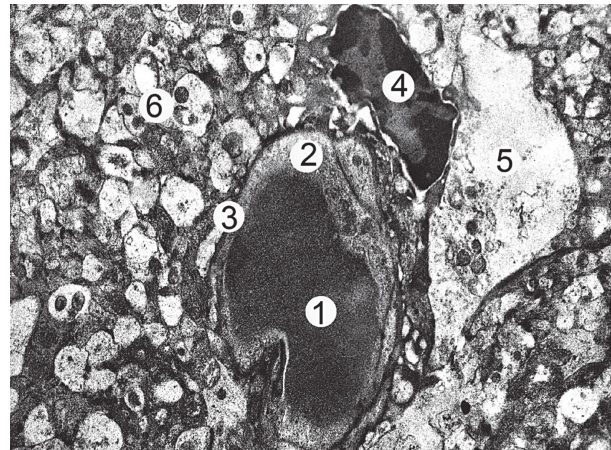


Рисунок 20 – Субмікроскопічні зміни гемокапіляра кори великого мозку тварини за умов гіпотиреозу та гіпергомоцистеїнемії. 36.: x8000. Позначення: 1 – просвіт капіляра, 2 – цитоплазма ендотеліоцита, 3 – базальна мембрана, 4 – перицит, 5 – периваскулярний набряк, 6 – нейропіль.

ренням та кровонаповненням просвітів або різким їх звуженням. Ендотеліальні клітини мали невеликі, деформовані ядра, в яких переважав гетерохроматин. Ряд нейробиологічних досліджень виявили наявність метаболічних, морфологічних і функціональних змін мозку, пов'язаних з надлишком тиреоїдних гормонів [24]. За даними позитронно-емісійної томографії виявлено метаболічні зміни головного мозку у хворих з гіпертиреозом. Порівняно зі здоровою контрольною групою, у пацієнтів з гіпертиреозом був знижений метаболізм глюкози в лобовій, лімбічній та скроневій частках [25].

Zhang та ін. [26] продемонстрували значно знижену концентрацію глутамату в задній поясній корі при гіпертиреозі, що вказує на основну роль глутамату в дисфункції мозку. З іншого боку, в деяких дослідженнях із застосуванням функціональної магнітно-резонансної томографії в стані спокою були виявлені структурні варіації деяких областей мозку. Автори припускають, що порушення нейрокогнітивних функцій у пацієнтів з гіпертиреозом може бути пов'язано з аномальними змінами, головним чином, у ділянках мережі пасивного режиму роботи мозку, когнітивної мережі, а також мозочка. Виходячи з наведених вище досліджень, можна припустити, що при гіпертиреозі у пацієнтів можуть спостерігатися деякі зміни у функціональних зв'язках мозку, які викликають нейронні, емоційні та когнітивні дисфункції.

Нами встановлені найбільш значні альтеративні та дегенеративні зміни в нейронах кори великих півкуль за умов змодельованого гіпертиреозу та ГГЦ порівняно з попередніми групами спостереження. Виявлене характерне зменшення перикаріонів та зміна їх форми, стоншення відростків. Для мітохондрій встановлена значна деструкція. У цитоплазмі щільність органел була невисока, а їх мембрани пошкоджені, фрагментовані, наявні осміофільні вторинні лізосоми. Субмікроскопічні зміни астроцитів характеризуються нейтроплазмою низької електронної щільності, органи нечисельні і деструктивно змінені, визнається багато осміофільних лізосом. Наявні значні площі цитоплазми позбавлені органел. Для ядер ендотеліальних клітин характерні глибокі зміни ядер, для яких характерна осміофільна каріоплазма, наявні значні

івагінації каріолеми, мембрани якої погано контуровані, ядерні пори не визначаються. Цитоплазматичні ділянки деструктуризовані, а базальна мембрана потовщена, набрякла, гомогенна, нечітка. Побідні результати отримали Zhang та ін. [27] визначили гіпокамп як основну область в якій зниження функціонального зв'язку з двосторонньою передньою поясною корою, задньою поясною корою і правою медіальною орбітофронтальною корою корелює як з тривалістю захворювання, так і з рівнем депресії гіпертиреозу.

Крім того, Gottlich та ін. [8] викликали короткочасний гіпертиреоз серед 29 здорових чоловіків шляхом перорального прийому 250 мг левотироксину (8 тижнів). Автори встановили, що короткочасний гіпертиреоз призводить до посилення функціонального зв'язку між скроневими частками та мережею когнітивного контролю, що вказує на ключову роль гормонів щитоподібної залози в регуляції паралімбічних структур. Автори зробили висновки, що порушення нейрокогнітивних функцій у пацієнтів з гіпертиреозом може бути пов'язано з аномальними змінами, головним чином, у основних ділянках мозку, які відповідають за когнітивні функції, а також мозочка. Багато клінічних робіт намагаються зосередити увагу на можливих прямих наслідках ГГЦ у виникненні нейродегенеративних розладів: встановлено, що ГЦ збільшується в спинномозковій рідині з віком, з незрозумілих причин. Було продемонстровано, що ГГЦ супроводжується відкладенням бета-амілоїдного пептиду в мозку пацієнтів з хворобою Альцгеймера [28], опосередкований ГЦ-зв'язаним ендоплазматичним білком, який потенціює активність ферменту с-секретази, а також викликає посилення внутрішньо- та позаклітинного накопичення бета-амілоїдного пептиду [29, 30].

На ультраструктурному рівні при гіпотиреозі серед нейронів виявлялися "світлі" клітини, що відповідають стану тигролізу, визначеному на світлооптичному рівні. Мітохондрії різнотипні за розмірами і характером змін. Ядра таких клітин мають глибокі інвагінації каріолеми локально нечіткі контури її мембран. У каріоплазмі переважає еухроматин, проте визнається досить велике ядро, яке включає гранулярний і фібрилярний компоненти та свідчить про активацію пристосувальної реакції на вплив пошкоджуючого

фактора. Астроцити містили просвітлену набряклу нейроплазму, в якій органели поодинокі, деструктуризовані, визначаються невеликі мітохондрії з відносно збереженими кристами. Ядра округло-овальні, з неглибокими інвагінаціями, в каріоплазмі гетерохроматин формує осміофільні скупчення. Ультраструктурно олігодендроцити також зазнають змін, їх каріо- і нейроплазма ущільнена, осміофільна. Ядра великі, неправильної форми, з них переважає гетерохроматин. Органели, набряклі, частково фрагментовані. Субмікроскопічне дослідження гемокапілярів кори великого мозку цієї експериментальної групи показало, що порушення кровоплину викликає зміни їх ультраструктурної організації. На стоншеній базальній мембрані розміщені ендотеліальні клітини, що містять неправильної, видовженої форми ядра. Периферичні, цитоплазматичні ділянки ендотеліоцитів також витончені, в них виявляється мало мікропіноцитозних міхурців та кавеол. Встановлено, що існує тісний зв'язок між нейрозапаленням та зниженням антиоксидантних властивостей в клітинах мозку індукованих ГГЦ. В роботі [31] було показано, що ГГЦ індукує та прискорює порушення окислювально-відновної системи в судинних і нейронних клітинах, індукує перекисне окислення ліпідів [32]. Було продемонстровано, що при тяжкому запальному статусі, тобто при сепсисі, коматозних станах, множинних травматичних ураженнях, спостерігається постійна тенденція до ГГЦ, не пов'язана з вітаміном B₁₂ та дефіцитом фолієвої кислоти [33]. У різних клінічних сценаріях системна запальна відповідь постійно пов'язана з негативними клінічними наслідками [34], який, ймовірно, опосередковуються тривалою активацією ГГЦ каскаду системи макрофагів з подальшим збільшенням продукції АФК і, отже, потенцією оксидативний стрес.

Субмікроскопічно в нейронах тварин, яким моделювали ГГЦ і гіпотиреоз встановлено найбільш глибокі порушення їх ультраструктури порівняно із всіма попередніми групами спостереження. Для багатьох нейроцитів характерний тотальний тигроліз, що проявляється просвітленням нейроплазми, деструктуризацією, фрагментацією та лізисом мембранних органел, зокрема каналців ендоплазматичної сітки та мітохондрій. Значні ультраструктурні зміни виявляються в астроцитарних гліоцитах. Органели деструктуризовані, пошкоджені. Виявляються фрагменти зруйнованих мембранних органел. Для гемокапілярів характерні переважно вузькі, неширокі просвіти. Ендотеліоцити містять деформовані, осміофільні ядра. Визначаються апоптично змінені перичити. Наявний

периваскулярний набряк. Різні епідеміологічні дослідження припускають, що підвищення рівня ГЦ є незалежним фактором ризику розвитку судинних захворювань та нейродегенеративних розладів. Найкращими і безсумнівними є випадки, що визначаються генетичним дефіцитом цистатіонін-β-синтази (ЦБС) та іншими генетичними дефектами шляхів реметилювання та транссульфування, які викликають важкі форми ГГЦ (загальний ГЦ > 50 мкМ) або гомоцистинурію. Важка форма ГГЦ (>100 мкМ) у дітей з дефектом ЦБС корелює з 10-кратним підвищенням концентрації ГЦ в спинномозковій рідині [35]. Цей генетичний дефект обмежує синтез пуринів і тимідину через серйозні зміни/інгібування шляху трансметилювання. Кінцевим результатом є серйозна затримка або дефект нервової трубки [36]. У експериментальних моделях на тваринах було продемонстровано, що ГЦ може бути по суті токсичним, порушуючи гематоенцефалічний бар'єр [37]; подібні результати отримані і в клінічних дослідженнях серед людей [38]. Найважливішим аспектом ГГЦ є постійна тенденція до зниження потенціалу метилювання клітини, що впливає на співвідношення S-аденозилметіонін/S-аденозилгомоцистеїн [39]. ГГЦ сприяє гіпометилюванню ДНК разом з транскрипцією цикліну А в ендотеліальних клітинах, викликає посилення експресії p66shc, що сприяє посиленню оксидативного стресу та пошкодженню нервових клітин [8].

Висновки. Проведені субмікроскопічні дослідження сенсомоторної ділянки кори півкуль головного мозку дослідних груп за умов змодельованих ГГЦ гіпо- та гіпертиреозу та особливо за умов їх поєднаного впливу, встановили глибокі субмікроскопічні зміни морфофункціональної тріади – “нейрон-гліоцит-гемокапіляр” з пошкодженням плазматичних та органідних мембран. Встановлені нейродегенеративні зміни нейроцитів кори відбуваються на тлі нейроваскулярних розладів та альтерації нейроглії.

Перспективи подальших досліджень. Доцільно дослідити взаємозв'язок між ультраструктурним станом кори мозку і змінами метаболізму сірковмісних амінокислот в цих органах та концентрацією тиреоїдних гормонів в організмі, а також дослідити вплив кофакторів ферментів метаболізму сірковмісних амінокислот (вітамінів B₆, B₉, B₁₂ та бетаїну) на ультраструктурний стан органів (печінки, нирок, серця та мозку) у щурів при експериментальному гіпер- та гіпотиреозі.

Література

1. Bode H, Ivens B, Bschor T, Schwarzer G, Henssler J, Baethge C. Association of Hypothyroidism and Clinical Depression: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Psychiatry*. 2021 Dec 1;78(12):1375-1383. DOI: 10.1001/jamapsychiatry.2021.2506.
2. Ritchie M, Yeap BB. Thyroid hormone: Influences on mood and cognition in adults. *Maturitas*. 2015 Jun;81(2):266-75. DOI: 10.1016/j.maturitas.2015.03.016.
3. Williams GR. Neurodevelopmental and neurophysiological actions of thyroid hormone. *J Neuroendocrinol*. 2008 Jun;20(6):784-94. DOI: 10.1111/j.1365-2826.2008.01733.x.
4. Emoto N, Okazaki-Hada M, Yamaguchi Y, Okajima F, Goto R, Sugihara H. Risk Preferences, Rationality of Choices, and Willingness to Pay for Preventive Medicine in Patients with Graves' Thyrotoxicosis. *Patient Prefer Adherence*. 2021 Sep 7;15:1971-1979. DOI: 10.2147/PPA.S323472.
5. Smith CD, Grondin R, LeMaster W, Martin B, Gold BT, Ain KB. Reversible cognitive, motor, and driving impairments in severe hypothyroidism. *Thyroid*. 2015 Jan;25(1):28-36. DOI: 10.1089/thy.2014.0371.
6. Schreckenberger MF, Egle UT, Drecker S, Buchholz HG, Weber MM, Bartenstein P, et al. Positron emission tomography reveals correlations between brain metabolism and mood changes in hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Dec;91(12):4786-91. DOI: 10.1210/jc.2006-0573.

7. Miao Q, Zhang S, Guan YH, Ye HY, Zhang ZY, Zhang QY, et al. Reversible changes in brain glucose metabolism following thyroid function normalization in hyperthyroidism. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2011 Jun-Jul;32(6):1034-42. DOI: 10.3174/ajnr.A2449.
8. Göttlich M, Heldmann M, Göbel A, Dirk AL, Brabant G, Münte TF. Experimentally induced thyrotoxicosis leads to increased connectivity in temporal lobe structures: a resting state fMRI study. *Psychoneuroendocrinology*. 2015 Jun;56:100-9. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2015.03.009.
9. Pilhatsch M, J Stamm T, Stahl P, Lewitzka U, Berghöfer A, Sauer C, et al. Treatment of bipolar depression with supraphysiologic doses of levothyroxine: a randomized, placebo-controlled study of comorbid anxiety symptoms. *Int J Bipolar Disord*. 2019 Oct 4;7(1):21. DOI: 10.1186/s40345-019-0155-y.
10. Smith AD, Refsum H. Homocysteine, B Vitamins, and Cognitive Impairment. *Annu Rev Nutr*. 2016 Jul 17;36:211-39. DOI: 10.1146/annurev-nutr-071715-050947.
11. Janssen AW, de Leeuw FE, Janssen MC. Risk factors for ischemic stroke and transient ischemic attack in patients under age 50. *J Thromb Thrombolysis*. 2011 Jan;31(1):85-91. DOI: 10.1007/s11239-010-0491-3.
12. Wang Q, Zhao J, Chang H, Liu X, Zhu R. Homocysteine and Folic Acid: Risk Factors for Alzheimer's Disease-An Updated Meta-Analysis. *Front Aging Neurosci*. 2021 May 26;13:665114. DOI: 10.3389/fnagi.2021.665114.
13. Safaei M, Akhondpoor Manteghi A, Shahini N, Mohammadpour AH. Comparison of serum levels of asymmetric dimethylarginine between patients who take two types of atypical anti psychotics. *Med J Islam Repub Iran*. 2019 Oct 23;33:114. DOI: 10.34171/mjiri.33.114.
14. Kaye AD, Jaha GM, Pham AD, Fuller MC, Lerner ZI, Sibley GT, et al. Folic Acid Supplementation in Patients with Elevated Homocysteine Levels. *Adv Ther*. 2020 Oct;37(10):4149-4164. DOI: 10.1007/s12325-020-01474-z.
15. Lauriola M, D'Onofrio G, Ciccone F, Germano C, Cascavilla L, Paris F, et al. Relationship of Homocysteine Plasma Levels with Mild Cognitive Impairment, Alzheimer's Disease, Vascular Dementia, Psychobehavioral, and Functional Complications. *J Alzheimers Dis*. 2021;82(1):235-248. DOI: 10.3233/JAD-210166.
16. Stangl GI, Weisse K, Dinger C, Hirche F, Brandsch C, Eder K. Homocysteine thiolactone-induced hyperhomocysteinemia does not alter concentrations of cholesterol and SREBP-2 target gene mRNAs in rats. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2007 Jan;232(1):81-7.
17. Lin YH, Lin KH, Yeh CT. Thyroid Hormone in Hepatocellular Carcinoma: Cancer Risk, Growth Regulation, and Anticancer Drug Resistance. *Front Med (Lausanne)*. 2020 May 22;7:174. DOI: 10.3389/fmed.2020.00174.
18. Goralskiy LP, Homich VT, Kononskiy OI. Osnovy histolohichnoi tekhniki i morfofunksionalni metody doslidzhen u normi ta pry patolohii. *Zhitomir: Polissya*; 2011. 288 s. [in Ukrainian].
19. Jakubowski H. Homocysteine Modification in Protein Structure/Function and Human Disease. *Physiol Rev*. 2019 Jan 1;99(1):555-604. DOI: 10.1152/physrev.00003.2018.
20. Prieur EAK, Pjetri E, Zeisel SH, Jadavji NM. Reduced brain volume and impaired memory in betaine homocysteine S-methyltransferase knockout mice. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2017 Nov;42(11):1228-1231. DOI: 10.1139/apnm-2017-0182.
21. Smith AD, Refsum H, Bottiglieri T, Fenech M, Hooshmand B, McCaddon A, et al. Homocysteine and Dementia: An International Consensus Statement. *J Alzheimers Dis*. 2018;62(2):561-570. DOI: 10.3233/JAD-171042.
22. Mariani Wigley ILC, Mascheroni E, Peruzzo D, Giorda R, Bonichini S, Montirosso R. Neuroimaging and DNA Methylation: An Innovative Approach to Study the Effects of Early Life Stress on Developmental Plasticity. *Front Psychol*. 2021 May 17;12:672786. DOI: 10.3389/fpsyg.2021.672786.
23. Herrera AS, Ashraf GM, Del Carmen Arias Esparza M, Tarasov VV, Chubarev VN, Avila-Rodriguez MF, et al. Cerebrospinal Fluid, Brain Electrolytes Balance, and the Unsuspected Intrinsic Property of Melanin to Dissociate the Water Molecule. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2018;17(10):743-756. DOI: 10.2174/1871527317666180904093430.
24. Liu B, Wen L, Ran Q, Zhang S, Hu J, Gong M, et al. Dysregulation within the salience network and default mode network in hyperthyroid patients: a follow-up resting-state functional MRI study. *Brain Imaging Behav*. 2020 Feb;14(1):30-41. DOI: 10.1007/s11682-018-9961-6.
25. Wijayabandara M, Appuhamy S, Weerathunga P, Chang T. Effective treatment of osmotic demyelination syndrome with plasmapheresis: a case report and review of the literature. *J Med Case Rep*. 2021 Jan 11;15(1):6. DOI: 10.1186/s13256-020-02573-9.
26. Zhang Q, Bai Z, Gong Y, Liu X, Dai X, Wang S, et al. Monitoring glutamate levels in the posterior cingulate cortex of thyroid dysfunction patients with TE-averaged PRESS at 3T. *Magn Reson Imaging*. 2015 Jul;33(6):774-8. DOI: 10.1016/j.mri.2015.03.004.
27. Zhang W, Liu X, Zhang Y, Song L, Hou J, Chen B, et al. Disrupted functional connectivity of the hippocampus in patients with hyperthyroidism: evidence from resting-state fMRI. *Eur J Radiol*. 2014 Oct;83(10):1907-13. DOI: 10.1016/j.ejrad.2014.07.003.
28. Zecca C, Pasculli G, Tortelli R, Dell'Abate MT, Capozzo R, Barulli MR, et al. The Role of Age on Beta-Amyloid1-42 Plasma Levels in Healthy Subjects. *Front Aging Neurosci*. 2021 Aug 31;13:698571. DOI: 10.3389/fnagi.2021.698571.
29. Quiroga C, Gatica D, Paredes F, Bravo R, Troncoso R, Pedrozo Z, et al. Herp depletion protects from protein aggregation by up-regulating autophagy. *Biochim Biophys Acta*. 2013 Dec;1833(12):3295-3305. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2013.09.006.
30. Wang TC, Chiu CJ, Chen PC, Chang TY, Tyler RS, Rojas-Roncancio E, et al. Increased Incidence of Tinnitus Following a Hyperthyroidism Diagnosis: A Population-Based Longitudinal Study. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021 Nov 3;12:741719. DOI: 10.3389/fendo.2021.741719.
31. Moretti R, Giuffrè M, Caruso P, Gazzin S, Tiribelli C. Homocysteine in Neurology: A Possible Contributing Factor to Small Vessel Disease. *Int J Mol Sci*. 2021 Feb 19;22(4):2051. DOI: 10.3390/ijms22042051.
32. Petras M, Tatarikova Z, Kovalska M, Mokra D, Dobrota D, Lehotsky J, et al. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for the neuronal system disorders. *J Physiol Pharmacol*. 2014 Feb;65(1):15-23.
33. Minović I, Kieneker LM, Gansevoort RT, Eggersdorfer M, Touw DJ, Voerman AJ, et al. Vitamin B6, Inflammation, and Cardiovascular Outcome in a Population-Based Cohort: The Prevention of Renal and Vascular End-Stage Disease (PREVEND) Study. *Nutrients*. 2020 Sep 4;12(9):2711. DOI: 10.3390/nu12092711.
34. Ploder M, Kurz K, Spittler A, Neurauter G, Roth E, Fuchs D. Early increase of plasma homocysteine in sepsis patients with poor outcome. *Mol Med*. 2010 Nov-Dec;16(11-12):498-504. DOI: 10.2119/molmed.2010.00008.
35. Moretti R, Caruso P. The Controversial Role of Homocysteine in Neurology: From Labs to Clinical Practice. *Int J Mol Sci*. 2019 Jan 8;20(1):231. DOI: 10.3390/ijms20010231.
36. Leung KY, Pai YJ, Chen Q, Santos C, Calvani E, Sudiwala S, et al. Partitioning of One-Carbon Units in Folate and Methionine Metabolism Is Essential for Neural Tube Closure. *Cell Rep*. 2017 Nov 14;21(7):1795-1808. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.10.072.
37. Kamath AF, Chauhan AK, Kisucka J, Dole VS, Loscalzo J, Handy DE, et al. Elevated levels of homocysteine compromise blood-brain barrier integrity in mice. *Blood*. 2006 Jan 15;107(2):591-3. DOI: 10.1182/blood-2005-06-2506.
38. Zeng P, Shi Y, Wang XM, Lin L, Du YJ, Tang N, et al. Emodin Rescued Hyperhomocysteinemia-Induced Dementia and Alzheimer's Disease-Like Features in Rats. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2019 Jan 1;22(1):57-70. DOI: 10.1093/ijnp/pyy090.
39. Ganguly P, Alam SF. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. *Nutr J*. 2015 Jan 10;14:6. DOI: 10.1186/1475-2891-14-6.

СУБМІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ СЕНСОМОТОРНОЇ ДІЛЯНКИ КОРИ ВЕЛИКОГО МОЗКУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРГОМОЦИСТЕІНЕМІЇ, ГІПЕР- ТА ГІПОТИРЕОЗУ І ЇХ ПОЄДНАНОМУ ВПЛИВІ

Нечипорук В. М., Пентюк Л. О., Шушковська Ю. Ю., Ньюшко Т. Ю., Корда М. М.

Резюме. Гормони щитовидної залози відіграють важливу роль у розвитку мозку та забезпечують його функціонування протягом усього життя як у людей, так і у тварин. Встановлено, що ГГЦ сприяє посиленню окисного стресу, пошкодженню ДНК, ініціації апоптозу та ексайтотоксичності, усім важливим механізмам не-

йродегенерації. ГЦ також є протромботичним і проатерогенним і викликає пошкодження судинної стінки, хворобу Альцгеймера та судинну деменцію.

Мета – встановити субмікроскопічні зміни сенсомоторної ділянки кори великого мозку за умов змодельованої ГЦ на фоні гіпер- та гіпотиреозу.

Об'єкт і методи. Тіолактонову ГЦ моделювали введенням тваринам екзогенного ГЦ у вигляді тіолактону в дозі 100 мг/кг маси тіла один раз на добу протягом 28 діб. Гіпертиреоз моделювали шляхом щоденного введення L-тироксину в дозі 200 мкг/кг протягом 21-го дня, гіпотиреоз – щоденного введення мерказолілу в дозі 10 мг/кг протягом 21-го дня. Окремим групам тварин вводили L-тироксин і мерказоліл паралельно з ГЦ.

Результати дослідження. ГЦ супроводжувалась деструктивно зміненими органами, субмікроскопічними змінами астроцитарної глії та кровоносних капілярах. В свою чергу гіпертиреоз викликав гіпертрофію мітохондрій, зменшення числа рибосом та деструктивними змінами в гемокапілях. Встановлені найбільш значні альтеративні та дегенеративні зміни в нейронах кори великих півкуль за умов гіпертиреозу та ГЦ. Субмікроскопічно в нейронах тварин, яким моделювали ГЦ і гіпотиреоз встановлено найбільш глибокі порушення їх ультраструктури порівняно із всіма попередніми групами спостереження.

Висновки. Проведені субмікроскопічні дослідження сенсомоторної ділянки кори півкуль головного мозку дослідних груп за умов змодельованих ГЦ, гіпо- та гіпертиреозу та особливо за умов їх поєданого впливу, встановили глибокі субмікроскопічні нейродегенеративні зміни в корі мозку. Встановлені нейродегенеративні зміни нейронів кори відбуваються на тлі нейроваскулярних розладів та альтерації нейроглії.

Ключові слова: гіпертиреоз, гіпотиреоз, гіпергомоцистеїнемія, кора мозку.

SUBMICROSCOPIC CHANGES IN THE SENSORIMOTOR AREA OF THE CEREBRAL CORTEX UNDER THE CONDITIONS OF EXPERIMENTAL HYPERHOMOCYSTEINEMIA, HYPER- AND HYPOTHYREOSIS AND THEIR COMBINED INFLUENCE
Nechiporuk V. M., Pentiyuk L. O., Shushkovskaya Y. Y., Niushko T. Y., Korda M. M.

Abstract. Thyroid hormones are fundamental to the development of the brain and ensure its functioning throughout life. Hyperhomocysteinemia (HHCy) has been shown to be an important risk factor for cerebrovascular disease leading to stroke, Alzheimer's disease, and vascular dementia. Recent experimental studies have shown the effect of HHCy on cerebrovascular biology and the molecular mechanisms that explain these changes.

The aim – to define the submicroscopic changes in the sensorimotor area of the cerebral cortex under influence of HHCy against the background of hyper- and hypothyroidism.

Object and methods. HHCy was modeled by administering exogenous Hcy to animals in the form of thiolactone at a dose of 100 mg/kg of body weight once a day for 28 days. Hyperthyroidism (intragastric L-thyroxine for 21 days 200 µg/kg*day), hypothyroidism (thiamazole 10 kg*day) for 21 days. Separate groups of animals were injected with L-thyroxine and thiamazole in parallel with Hcy.

Study results. HHCy was accompanied by destructively changed organelles, submicroscopic changes in astrocytic glia and blood capillaries. In turn, hyperthyroidism caused hypertrophy of mitochondria, a decrease in the number of ribosomes and destructive changes in hemocapillaries. The most significant alternative and degenerative changes in neurocytes of the cortex of the large hemispheres under conditions of hyperthyroidism and HHCy. Submicroscopically, the most profound violations of their ultrastructure were found in the neurons of animals that were modeled with HHCy and hypothyroidism compared to all previous experimental groups.

Conclusions. Submicroscopic studies of the sensorimotor area of the cortex of the cerebral hemispheres of the experimental groups under conditions of simulated HHCy, hypo- and hyperthyroidism, and especially under conditions of their combined influence, established deep submicroscopic neurodegenerative changes in the cerebral cortex. Established neurodegenerative changes in cortical neurocytes occur against the background of neurovascular disorders and alteration of neuroglia.

Key words: hyperthyroidism, hypothyroidism, hyperhomocysteinemia, cerebral cortex.

ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Nechiporuk V. M.: 0000-0002-0744-9236 ^{BD}

Pentiuk L. O.: 0000-0002-8012-1712 ^B

Niushko T. Yu.: 0000-0002-5428-0621 ^B

Shushkovskaya Yu. Yu.: 0000-0002-8006-5888 ^B

Korda M. M.: 0000-0003-0676-336X ^{AF}

Конфлікт інтересів:

Автори статті підтверджують відсутність конфлікту інтересів.

Адреса для кореспонденції

Нечипорук Віталій Михайлович

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

Адреса: Україна, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова 56

Тел.: +380684985968

E-mail: nechiporuk@vnmu.edu.ua

А – концепція роботи та дизайн, **В** – збір та аналіз даних, **С** – відповідальність за статичний аналіз, **Д** – написання статті, **Е** – критичний огляд, **Ф** – остаточне затвердження статті.

Стаття надійшла 14.03.2022 року
Стаття прийнята до друку 07.08.2022 року