

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна  
Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

**АЛІ МОХАММЕД МООШЛІ АЛ-БАХАДЛІ**

УДК 612.55 + 591.139 : 001.891.5

**«ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМІВ ТЕРМОРЕГУЛЯЦІЇ ТА ТРИВАЛОСТІ  
ЖИТТЯ В ЕКСПЕРИМЕНТІ»**

Спеціальність 03.00.04 – «Біохімія»  
(Біологічні науки)

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

\_\_\_\_\_ АЛІ МОХАММЕД МООШЛІ АЛ-БАХАДЛІ

Науковий керівник: Божков Анатолій Іванович, доктор біологічних наук, професор.

Харків - 2019

## АНОТАЦІЯ

**АЛІ МОХАММЕД МООШЛІ АЛ-БАХАДЛІ Дослідження механізмів терморегуляції та тривалості життя в експерименті.** – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія (Біологічні науки). – Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, 2019.

Ще на початку ХХ сторіччя встановлено взаємозв'язок між інтенсивністю метаболізму та тривалістю життя. Поряд з цим відомо, що гіпобіоз може супроводжуватися збільшенням тривалості життя, однак прямого зв'язку між цими станами не встановлено. Результати досліджень, що відомі на сьогодні, дозволяють припустити, що, забезпечуючи регуляцію термогенезу як показника теплопродукції та швидкості метаболізму, можна впливати на тривалість життя. Незважаючи на відомі факти механізму термогенезу, вплив температури тіла на тривалість життя досліджено недостатньо повно. Разом з тим, вирішення проблеми взаємозв'язку термогенезу та тривалості життя є перспективним підходом не лише при розгляді проблем геронтології, але і цілого ряду медичних проблем, зокрема, ендокринних патологій. Цілком ймовірно, що найбільш ефективним підходом при вирішенні тих чи інших наукових проблем є створення та використання відповідних адекватних експериментальних моделей. В зв'язку з цим метою роботи була розробка експериментальних моделей щодо регулювання термогенезу, дослідження взаємозв'язку тривалості життя, термогенезу та активністю про- та антиоксидантної систем як одного з показників швидкості метаболізму. Дослідження характеристик про- та антиоксидантної системи представляє інтерес і в рамках перевірки вільно радикальної гіпотези старіння.

Як відомо, гормони щитоподібної залози відіграють важливу, а можливо і центральну роль в регуляції температури тіла. Вони здійснюють це шляхом зміни функції мітохондрій через регуляцію експресії мітохондріальних білків, зокрема транскрипції дихальних ферментів. У той же час, основним джерелом вільних радикалів теж є мітохондрії. Враховуючи те, що гормони щитовидної залози справляють широкий спектр дії на весь метаболізм, дослідження їх ролі у тривалості життя становить великий інтерес.

У зв'язку з цим, дослідження взаємозв'язку вмісту гормонів щитоподібної залози, тривалості життя та характеристик про- та антиоксидантної системи організму представляє великий інтерес у розумінні інтегративних механізмів регуляції онтогенезу. Тому метою даної роботи стало дослідження на існуючих моделях регуляції тривалості життя (калорійно-обмежена дієта) та на розроблених моделях нашої лабораторії (переїдання на ранньому етапі онтогенезу) та тироксиновій моделі прискореного старіння взаємозв'язку тривалості життя, регуляції термогенезу деяких показників про- та антиоксидантної систем.

Для досягнення мети використали фізіологічні (вимірювання маси тіла, температури тіла, тривалості життя), біохімічні методи дослідження (визначення субклітинних фракцій – мітохондрій, мікросом цитозолу<sup>4</sup>; визначення активності ферментів та вмісту гідроперекисів ліпідів), а також флуориметричні (визначення NO-синтезної активності, інтенсивності дихання мітохондрій і окисного фосфорилування); вміст гормонів щитоподібної залози визначали радіоімунологічним методом. Отримані данні обробляли методами статистики.

В першій частині роботи була використана модель переїдання на ранньому етапі онтогенезу. Для цього одній самці залишали лише двох дитинчат. Після досягнення місячного віку їх відлучали від матері і переводили на звичайний режим утримання. Було виявлено, що у таких умовах в місячному віці вони переважали за масою тіла контрольну групу на 32 %. Таких тварин відносили до групи, що пройшла переїдання на ранньому етапі онтогенезу (РПО). Визначення

змін маси тіла тварин в онтогенезі показало, що навіть при утриманні в стандартних умовах, також як і групи контрольних тварин, у них зберігалось переважання за масою тіла контрольних тварин майже до 31-місячного віку (при середній тривалості життя у лінії Вістар 23-25 місяців), хоча відмінності між дослідними та контрольними групами поступово зменшувались. Такий характер змін маси тіла вказував на те, що сформований метаболізм (зокрема, рівень гормонів, характер про-антиоксидантної системи) на ранньому етапі онтогенезу зберігався протягом усього онтогенезу, тобто він програмується. Було виявлено, що у цих тварин збільшувався масовий коефіцієнт печінки та серця, що свідчить про системні зміни організму.

Дослідження адаптивних можливостей до екстремальних факторів середовища тварин представляє великий інтерес, оскільки відомо, що зі збільшенням віку тварин знижується їх здатність адаптуватися до негативних факторів навколишнього середовища. Це положення є базовим у геронтологічній парадигмі. Досліджували стійкість як контрольної групи тварин, так і тварин, що пройшли переїдання в РПО, які досягли 20-місячного віку. Виявилось, що при утриманні тварин в кімнаті при температурі 32 °C протягом 30 днів 90 % тварин контрольної групи залишались живими. В випадку утримання 20-місячних тварин, що пройшли переїдання в РПО при тих же умовах, виживало біля 60 % тварин. Для підтвердження цього результату було проведено контрольний експеримент ще з однією групою тварин – це тварини, що знаходились на калорійно-обмеженій дієті (КОД). Важливо відмітити, що для цих тварин було характерним їх відставання за масою тіла від контрольних, температура їх тіла була знижена на 1,0-1,5 °C, і вони мали більшу тривалість життя, ніж контрольні тварини. Виявилось, що вони легко переносили гіпертермію, і в даному випадку виживали всі тварини [113].

Отже, тварини, які мали надлишкову масу тіла, втрачали здібність адаптуватися до підвищеною температури навколишнього середовища.

Дослідження виживання в процесі онтогенезу по методу Гехана тварин, що пройшли переїдання в РПО показали, що коефіцієнт їх виживання був меншим, особливо в 16-20 та 30-35 місячному віці порівняно з контрольною групою.

Отже, модель РПО представляє великий інтерес у досягненні поставленої мети даної роботи.

На моделі РПО було виявлено взаємозв'язок між тривалістю життя, температурою тіла та вмістом тироксину в сироватці крові. Збільшення вмісту тироксину на 30-50 % супроводжувалась збільшенням температури тіла на 0,8 – 1,0 °С, а тривалість життя скорочувалась. Поряд з цим виявлено і взаємозв'язок у тварин, що пройшли період РПО зі збільшенням у них вмісту гідроперекисів ліпідів в сироватці крові і мікросомах печінки, і збільшенням активності NO-синтетази. У цих тварин була знижена активність глутатіонпероксидази, що вказує на зміщення рівноваги в бік прооксидантів. Необхідно зазначити, що такі зміни в прооксидантній системі зберігались протягом майже всього онтогенезу, аж до 30-місячного віку.

Переїдання в РПО супроводжувалось вираженим зростанням активності NOS в печінці, мозку, серці та нирках, і це проявлялось навіть у 20-місячних тварин. Отже, переїдання в РПО супроводжувалось метаболічними перепрограмуванням. На моделі КОД, яка є однією з часто використовуваних експериментальних перепрограмованих моделей дослідження збільшення тривалості життя, було виявлено взаємозв'язок між температурою тіла і тривалістю життя експериментальних тварин.

В нашій роботі було встановлено взаємозв'язок між температурою тіла тварин на КОД (вона складала  $35,6 \pm 0,1$  °С), найнижчим вмістом тироксину в крові у порівнянні з контрольною групою тварин і найбільшою тривалістю життя у порівнянні з контрольними тваринами, та такими, які пройшли РПО.

Для підтвердження взаємозв'язку між вмістом тироксину в сироватці крові і температурою тіла була розроблена тироксинова модель прискореного старіння.

Для цього тварини отримували тироксин так, що його вміст в крові збільшувався на 30-40 % від контрольного рівня.

З метою дослідження можливих механізмів терморегуляції було досліджено функціональну активність мітохондрій печінки у гіпертиреоїдних щурів. Було показано, що тироксин є роз'єднувачем окисного фосфорилування. Виявили, що у тварин з експериментальним гіпертиреозом в мітохондріях збільшується продукція вільних радикалів, яка виражалась у 50 % зростанні вмісту гідроперекисів ліпідів в мітохондріях. Високий вміст тироксину супроводжується і зростанням гідроперекисів ліпідів у фракціях мікросом печінки (близько 30 %), однак це було вираженим в меншій мірі у порівнянні з мітохондріями печінки. Збільшення зростання гідроперекисів ліпідів в мітохондріях та мікросомах печінки не було пов'язане з інгібуванням таких антиоксидантних ферментів як глутатіонпероксидаза та глутатіонредуктаза, при цьому активність глутатіон-S-трансферази була збільшена 2,8 разів у порівнянні з контролем. Ці результати переконливо свідчать про формування нових метаболічних патернів в групі антиоксидантних ферментів, що супроводжувалось і змінами тривалості життя, і адаптивних реакцій на екзогенні фактори середовища.

Дослідження показників редокс-систем у тварин з гіпертиреозом в сироватці крові показало, що у таких тварин був збільшений вміст ТБК-активних продуктів, карбонільованих білків і зменшений на 36 % вміст церулоплазміну, а активність глутатіонпероксидази пригнічена на 46 % у порівнянні з контролем.

Отже, на різних експериментальних моделях (КОД, РПО та гіпертиреоз) показано зворотній взаємозв'язок між температурою тіла та тривалістю життя. На цей взаємозв'язок впливають вміст тироксину, тобто функція щитоподібної залози. Зміни активності щитоподібної залози справляли вплив на енергетичний обмін і характеристику редокс-систем організму.

Представляло інтерес дослідження взаємозв'язку температури тіла на тиреоїдний статус тварин на іншій експериментальній моделі. В нашій лабораторії

ведуться дослідження механізмів розвитку фіброзу печінки та індукованого багаторазовим введенням сірчаноокислої міді. Було виявлено, що при Cu-індукованому фіброзі печінки температура тіла знижена на 0,8-1,0 °С, і це зберігалось протягом 3-5 діб. Виявилось, що вміст тироксину у тварин з фіброзом печінки не відрізнявся від контрольних значень. Отже, механізми короткотривалої зміни температури тіла при переїданні, калорійно-обмеженій дієті та інтоксикації організму іонами міді були різними.

**Ключові слова:** тиреоїдний статус, термогенез, метаболічна пам'ять, коефіцієнт виживання, прооксиданти, антиоксиданти, експериментальний фіброз печінки, щурі.

#### **ABSTRACT**

**ALI MOHAMMED MOOSHLI AL-BAHADLY Investigation of the mechanisms of thermoregulation and life expectancy in the experiment.** – Qualification scientific paper, manuscript.

Thesis for a Candidate Degree in Biology: Speciality 03.00.04 – Biochemistry (Biology). – V. N. Karazin Kharkiv National University, the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, 2019.

At the beginning of the 20th century, the relationship between the intensity of metabolism and life expectancy was established. Along with this it is known that hypobiosis may be accompanied by an increase in life expectancy, but no direct relationship between these states is established. The results of today's research suggest that, by regulating thermogenesis as a measure of heat production and the rate of metabolism, it can be influenced by life expectancy. Despite the known facts of the mechanism of thermogenesis, the effect of body temperature on the duration of life is not sufficiently investigated.

However, the solution of the problem of the relationship between thermogenesis and life expectancy is a promising approach not only when considering problems of gerontology, but also a number of medical problems, in particular, endocrine

pathologies. It is clear that the most effective approach to solving certain scientific problems is to create and use appropriate adequate experimental models. In this regard, the purpose of the work was to develop experimental models for the regulation of thermogenesis, the study of the relationship of life expectancy, thermogenesis and activity of pro- and antioxidant systems as one of the indicators of the rate of metabolism.

The study of the characteristics of the pro- and antioxidant system is also of interest in the verification of a freely radical aging hypothesis. As you know, hormones of the thyroid gland play an important, and possibly central, role in regulating body temperature. They do this by changing the function of mitochondria through the regulation of expression of mitochondrial proteins, in particular the transcription of respiratory enzymes. At the same time, the main source of free radicals is also mitochondria. Given that thyroid hormones produce a wide range of effects on the entire metabolism, studying their role in life expectancy is of great interest. In this regard, the study of the relationship between the content of hormones of the thyroid gland, the duration of life and the characteristics of the pro- and antioxidant system of the organism is of great interest in the understanding of the integrated mechanisms of regulation of ontogenesis. Therefore, the purpose of this work was to study existing life-cycle regulation models (calorie-restricted diet) and developed models of our laboratory (overeating at an early stage of ontogenesis) and the thyroxine model of accelerated aging of the relationship of life expectancy, regulation of the thermogenesis of some pro- and antioxidant indices systems. For the purpose of using physiological (body weight measurements, body temperature, life expectancy), biochemical methods (determination of subcellular fractions - mitochondria, microsomes cytosol 4, determination of enzyme activity and the content of lipid hydroperoxides) as well as fluorimetric (determination of NO-synthetase activity, respiration rate of mitochondria and oxidative phosphorylation); the content of hormones of the thyroid gland was determined by the radio immunological method. The received data was processed by

statistical methods. In the first part of the work, a model of overeating was used at an early stage of ontogenesis. For this, only two males left only two children. After reaching the lunar age, they were excommunicated from their mother and transferred to normal retention. It was found that in the lunar age they predominated by weight by weight of the control group by 32 %. Such animals belonged to the group who had been overeating at an early stage of ontogeny. Determination of body weight changes in ontogenesis showed that even with keeping in standard conditions, as well as control animals, they retained predominance by weight of control animals for almost 31 months of age (with a mean life expectancy at the Vistar line 23-25 months), although the differences between research and control groups gradually decreased. Such a nature of changes in body weight indicated that the formed metabolism in the early stage of ontogenesis was maintained throughout ontogenesis, that is, it is programmed. It was found that these animals increased the mass coefficient of the liver and heart, indicating systemic changes in the body. Study of adaptive capacity to extreme environmental factors animals is of great interest because we know that with increasing age of the animals reduced their ability to adapt to adverse environmental factors. This provision is basic in the gerontological paradigm. Resistance to the control group of animals and animals that were over-eating in RPO, which reached the age of 20 months, was researched. It turned out that when keeping animals in the room at a temperature of 32 °C for 30 days, 90 % of the animals in the control group remained alive. In the case of retention of 20-month-old animals that were over-eating in the RPO under the same conditions, about 60 % of animals survived. To confirm this result, a control experiment was conducted with another group of animals - animals that were on a calorie-restricted diet (CRD). It is important to note that these animals were characterized by their lag behind body weight from controls, their body temperature was reduced by 1.0 to 1.5 °C, and they had a greater life expectancy than control animals. It turned out that they easily tolerated hyperthermia, and in this case all the animals survived [113]. Consequently, animals that had excess body weight lost their ability to adapt to the high temperature of

the environment. Survival studies in the ontogenesis process by the Gekhan method of overweight animals in RPO showed that their survival rate was lower, especially at 16-20 and 30-35 months of age. Consequently, the RPO model is of great interest in achieving the goal of this work. The relationship between life expectancy, body temperature, and thyroxin content in serum was found on the RPO model. An increase in thyroxine content by 30-50 % was accompanied by an increase in body temperature of 0.8 - 1.0 °C, and life expectancy declined. Along with this, interrelation with animals that have undergone RPO with an increase in their content of lipid hydro peroxides in blood serum and liver microsomes, and an increase in the activity of NO-synthetase have been detected. In these animals, the activity of glutathione peroxidase was reduced, indicating a shift in equilibrium toward oxidants. It should be noted that such changes in the oxidant system were maintained for almost all ontogenesis, up to 30 months.

Overeating in ROP was accompanied by a marked increase in NOS activity in the liver, brain, heart and kidneys, and this was manifested even in 20-month-old animals. Consequently, overeating in the RPO was accompanied by metabolic programs. The model of the CRD, which is one of the most frequently used experimental life expectancy study models, showed the relationship between body temperature and life expectancy of experimental animals. In our work, the correlation between animal body temperature and CRD ( $35.6 \pm 0.10$  °C) was found, the lowest content of thyroxin in the blood compared to the control group of animals and the highest life expectancy compared with control animals, which have passed RPO. To confirm the relationship between the content of thyroxin in serum and body temperature, a thyroxine model of accelerated aging was developed. For this, the animal received thyroxine so that its blood content increased by 30-40 % of the control values. In order to study the possible mechanisms of thermoregulation, the functional activity of liver mitochondria in hyperthyroidic rats was investigated. It has been shown that thyroxin is a dissociation of oxidative phosphorylation. It was found that in animals with experimental hyperthyroidism in mitochondria the production of free radicals increased, which was

expressed in 50 % increase in lipid hydroperoxides in mitochondria. High levels of thyroxine are accompanied by the growth of lipid hydroperoxides in liver microsomes (about 30 %), but it was less pronounced than liver mitochondria. The increase in the growth of lipid hydroperoxides in mitochondria and liver microsomes was not associated with inhibition of such antioxidant enzymes as glutathione peroxidase and glutathione reductase, while the activity of glutathione-S-transferase was increased 2,8 times compared to control. These results convincingly indicate the formation of new metabolic patterns in the group of antioxidant enzymes, which was accompanied by changes in life expectancy, and adaptive responses to exogenous environmental factors. The study of redox system indices in animals with hyperthyroidism in serum showed that these animals increased the content of TBC-active products, carbonyl proteins, and reduced the content of ceruloplasmin by 36%, while the activity of glutathione peroxidase was suppressed by 46 % compared with control. Consequently, different experimental models (CRD, RPO, and hyperthyroidism) show a reciprocal relationship between body temperature and life expectancy.

This relationship is affected by the thyroxine content, that is, the function of the thyroid gland. Changes in the activity of the thyroid gland have had an effect on the energy exchange and the characteristics of the redox systems. It was interesting to study the relationship of body temperature to the thyroid status of animals in another experimental model. In our laboratory, we are investigating the mechanisms of development of liver fibrosis and induced by the repeated introduction of sulfuric acid copper. It was found that when Cu-induced liver fibrosis, body temperature was reduced by 0.8-1.0 °C, and this was maintained for 3-5 days. It turned out that the thyroxine content in animals with liver fibrosis did not differ from the control values. Consequently, mechanisms of short-term change in body temperature during overeating, calorie-restricted diet and intoxication of the body with copper ions were different.

**Key words:** thyroid status, thermogenesis, metabolic memory, survival coefficient, prooxidants, antioxidants, experimental liver fibrosis, rats.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*Наукові праці у зарубіжних наукових фахових виданнях:*

1. Klimova E. M., Merezhko O.S., **Al-Bahadly Ali M. M.**, Kurguzova N. I., Bozhkov A. I. Age determines the intensity of thyrotropic hormone production in response to copper sulphate intoxication // *Advances in Biology & Earth Sciences*. 2018. Vol. 3, N 3. P. 234-240. (*Особистий внесок здобувача: визначення концентрації гормонів щитоподібної залози, участь в обговоренні результатів та їх інтерпретації*).
2. Божков А. И., Никитченко Ю. В., Климова Е. М., Ленькевич Е. С., Лебедь Е. Н., **Аль-Бахадли А. М. М.**, Алсардиа М. М. А. Молодые и старые животные используют различные метаболические стратегии адаптации к су-индуцированному фиброзу печени // *Успехи геронтологии*. 2016. Т. 29. № 4. С. 555–566. (Pubmed). (Перевидана в: Bozhkov A. I., Nikitchenko Yu. V., Klimova E. M., Linkevych O. S., Lebid K. M., **Al-Bahadli A. M. M.** and Alsardia M. M. A. Young and old rats have different strategies of metabolic adaptation to Cu-induced liver fibrosis // *Advances in Gerontology*. 2017. Vol. 7, N 1. P. 41–50. (SCOPUS)). (*Особистий внесок здобувача: визначення NO-синтетази, про- та антиоксидантних показників, виконано статистичну обробку отриманих даних, участь у обговоренні результатів*).
3. Bozhkov Anatoliy I., Klimova Olena M., Nikitchenko Yuriy V., Kurguzova Natalia I., Linkevych Olena S., Lebid Katherine M., Protsenko Olena S., Remneva Natalya A., **Al-Bahadly Ali M. M.**, Al-Begai Mohammad A. Y. Ontogenetic approach to the study of mechanisms of copper-induced liver fibrosis // *Advances in Aging Research*. 2017. Vol. 6. P. 39-54. (GoogleScholar, CrossRef). (*Особистий внесок*

здобувача: вимірювання концентрації тироксину та трийодтироніну, вимірювання фізіологічних показників, участь у обговоренні отриманих результатів).

4. Bozhkov Anatoly I., Nikitchenko Yuriy V., Lebed' Katerina N, Linkevych Olena S., Kurguzova Natalia I., Klimova Olena M., Al Begai Mohammad A. Y., **Al-Bahadly Ali M. M.**, Alsardia Mohammad M. A. The cyclic feeding regime induces decaying age-dependent oxidative stress and regulates the cell chain of the immunity // *Advances in Aging Research*. 2016. Vol. 5. P. 151-165. (Google Scholar, CrossRef).  
(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні експерименту, вимірювання імунних показників, вмісту гідроперекисів ліпідів, участь у обговоренні отриманих результатів).

5. Bozhkov A. I., Nikitchenko Yu. V. and **Al-Bahadly Ali M. M.** Overeating in early postnatal ontogenesis forms metabolic memory and reduces lifespan // *Journal of Gerontology & Geriatric Research*. 2016. Vol. 5, N 3. P. 1-9. (Google Scholar).  
(Особистий внесок здобувача: вимірювання гормонів щитоподібної залози, вмісту гідроперекисів ліпідів, активності глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази, активності NO-синтетази, активності ізоцитратдегідрогенази, вимірювання фізіологічних показників, обговорення та інтерпретація результатів, участь у написанні статті).

*Наукові праці апробаційного характеру (тези доповідей на наукових конференціях) за темою дисертації:*

6. **Al-Bahadly Ali M. M.**, Bozhkov A. I. Investigation of the influence of cu-induced liver therapy on body temperature and thyroid level in the experimental animals of various age // *Paragraphs in medicine : міжнародна конференція, 9 березня 2017 р.* : тези доп. Люблін, Польща, 2017. С.174-175. (Особистий внесок здобувача: вимірювання фізіологічних параметрів тварин, визначення концентрації гормонів щитоподібної залози, участь у обговоренні результатів та їх інтерпретації).

7. **Ал-Бахадлі Алі Мохаммед М.** Взаємозв'язок тиреоїдного статусу з тривалістю життя в експерименті // Молодь і поступ біології : XIII Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів, 25-27 квітня 2017 р. : тези доп. Львів, 2017. С. 22.

8. Климова Е. М. Калашникова Ю. В., Дроздова Л. А., **Аль-Бахадли Али М. М.** Маркеры аутоиммунного полигландулярного синдрома у больных миастенией // Приоритети сучасної медицини: теорія і практика : матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 5-6 лютого 2016 р. Одеса, 2016. С. 148-152. *(Особистий внесок здобувача: визначення концентрації гормонів тироксину, трийотироніну, тиреотропного гормону, участь в обговоренні результатів).*

9. Божков А. И., Никитченко Ю. В., **Аль-Бахадли Али М. М.** Передание в раннем постнатальном онтогенезе формирует метаболическую память и влияет на продолжительность жизни» // Проблемы старения и долголетия : матеріали науково-практичної конференції «Здоров'я, харчування, довголіття» пам'яті проф. Ю. Г. Григорова (до 85-річчя від дня народження), 16-17 травня 2016 р., Київ, 2016. Т. 25, № 2. С. 335. *(Особистий внесок здобувача: визначення концентрації тироксину, активності NO-синтетази, обговорення результатів).*

10. Лінкевич О. С., **Аль-Бахадлі Алі**, Агаркова А. Н. Особливості реактивності та первинної резистентності у молодих та старих тварин // Механізми функціонування фізіологічних систем : матеріали міжнародної наукової конференції, приурочена до 70-ліття біологічного факультету та 230-ліття фізіології у Львівському університеті, 15-17 жовтня 2014 р. Львів, 2014. С. 58-59. *(Особистий внесок здобувача: вимірювання фізіологічних параметрів тварин, виконання методики визначення показників фагоцитозу, участь у обговоренні результатів та їх інтерпретації).*

*Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:*

11. Коваленко Т. И., Минухин В. В., Климова Е. М., Быченко А. А., **А. М. Мушли А-Б.** Изучение ферментативной активности гранулоцитарных нейтрофилов у животных с экспериментальной инфекцией разного возраста // Актуальные вопросы современной медицины. Сб. науч. тр. по итогам межвузовской ежегодной заочной научно-практической конференции с международным участием. 2014. С. 86–89. (РИНЦ). *(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні експерименту, участь у обговоренні та інтерпретації отриманих результатів).*

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	18
ВСТУП.....	19
РОЗДІЛ 1. МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЯЦІЇ ТЕРМОГЕНЕЗУ ТА ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ТЕРМОГЕНЕЗУ З ТРИВАЛІСТЮ ЖИТТЯ ТА РЕАКЦІЄЮ ОРГАНІЗМУ НА ФАКТОРИ СЕРЕДОВИЩА (літературний огляд) .....	25
1. 1 Дослідження взаємозв'язку інтенсивності метаболізму і тривалості життя.....	25
1. 2 Механізми терморегуляції організму.....	30
1. 3 Роль гормонів щитоподібної залози в регуляції термогенезу....	33
1. 4 Можливий взаємозв'язок між вмістом гормонів щитоподібної залози і редокс-системами організму.....	38
1. 5 Роль гормонів щитоподібної залози в онтогенетичних процесах адаптації.....	43
1. 6 Вплив токсикологічних факторів зовнішнього середовища на синтез гормонів щитоподібної залози.....	46
Висновки до розділу 1.....	48
РОЗДІЛ 2 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	51
2. 1 Вибір об'єктів досліджень.....	51
2.1.1 Моделювання переїдання в ранньому постнатальному онтогенезі.....	51
2.1.2 Вивчення адаптаційної здатності тварин до екстремальних умов середовища.....	51
2.1.3 Моделювання у тварин калорійно обмеженої дієти .....	52
2.1.4 Моделювання у тварин індукованого гіпертиреозу .....	52
2.1.5 Моделювання у тварин Cu-індукованого фіброзу печінки .....	53

2.1.6 Застосування комплексу «Мікс-фактор».....	53
2.1.7 Моделювання циклічного режиму годування.....	54
2. 2 Фізіологічні методи дослідження.....	57
2. 3 Препаративні методи дослідження.....	57
2. 4 Аналітичні методи дослідження.....	59
2. 5 Статистичні методи дослідження.....	63
2.6. Характеристика використаних реактивів	64
Висновки до розділу 2.....	64
<b>РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....</b>	<b>66</b>
3. 1 Вивчення деяких соматичних та біохімічних характеристик у тварин в онтогенезі, які переїдали на ранньому етапі онтогенезу.....	66
3. 1. 1 Вплив переїдання на ранньому етапі онтогенезу на деякі соматометричні характеристики та тривалість життя тварин.....	66
3. 1. 2 Вивчення вмісту гормонів щитоподібної залози у тварин з переїданням в РПО і що знаходяться на КОД.....	73
3. 1. 3 Деякі характеристики показників прооксидантної системи у тварин в онтогенезі, що пройшли період переїдання в РПО.....	76
3. 1. 4 Дослідження активності деяких ферментів антиоксидантного захисту у тварин, що пройшли період переїдання в ранньому онтогенезі.....	78
3. 1. 5 Дослідження активності NO-синтезу в деяких тканинах тварин, які пройшли період переїдання в ранньому періоді онтогенезу...	82
Заключення до підрозділу 3.1.....	85
3. 2 Зв'язок тривалості життя , тиреоїдного статусу і термогенезу на моделі КОД та експериментального гіпертиреозу.....	87
3. 2. 1 Зв'язок тривалості життя, тиреоїдного статусу у тварин, що знаходилися на КОД.....	87

3. 2. 2 Функціональна активність мітохондрій печінки гіпертиреоїдних щурів.....	93
3. 2. 3 Інтенсивність вільнорадикальних процесів в мітохондріях і мікросомах печінки щурів з індукованим гіпертиреозом..	95
3. 2. 4 Деякі показники активності прооксидантно-антиоксидантної системи в сироватці крові гіпертиреоїдних щурів.....	101
3. 2. 5 Вміст гідроперекисів і активність глутатіонпероксидази мітохондрій печінки молодих і старих тварин, що знаходились на циклічному режимі харчування.....	103
Заключення до підрозділу 3. 2.....	109
3. 3 Регуляція термогенезу на експериментальній моделі фіброзу печінки.....	110
Висновки до розділу 3.....	119
ВИСНОВКИ.....	121
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	122
ДОДАТОК 1 Список публікацій здобувача за темою дисертації.....	145
ДОДАТОК 2.....	150

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- АФК -активні форми кисню  
ГП - глутатіонпероксидаза  
ГПЛ - гідроперекиси ліпідів  
ГР - глутатіонредуктаза  
ІГ – індукований гіпертиреоз  
КОД – калорійно обмежена дієта  
МДА – малоновий диальдегід  
ПОЛ – продукти перекисного окислення ліпідів  
РПО – ранній постнатальний онтогенез  
СМЧ – субмітохондріальні частинки  
СТФ – сироватковий тімічний фактор  
Т3- трийодтиронін  
Т4 – тироксин  
ТГ – тиреоїдний гормон  
ТТГ – тиреотропний гормон  
ХСС – хронічний слабкий стрес  
ЦРГ – циклічний режим годування  
INF- $\gamma$  – гама-інтерферон  
NOS – синтез оксиду азоту  
РНАНs - полігалогеновані ароматичні вуглеводні

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Інтерес дослідників до механізмів старіння біологічних систем неухильно зростає. Це пояснюється декількома причинами: збільшенням середньої тривалості життя в економічно розвинених країнах, і як наслідок зростає кількість так званих вік-залежних патологій (онкопатологій, гормональних та аутоімунних патологій) та інших. Разом з тим, стали зрозумілі деякі причини прискореного старіння і розроблені підходи до збільшення тривалості життя в експерименті. Вивчення молекулярних механізмів старіння залишається актуальною проблемою більшості біологічних та медичних наук, у тому числі і біохімії, оскільки сприяє виявленню патогенетичних основ залежних від віку хвороб. Більша частина сучасних досліджень, які присвячені механізмам старіння, пов'язані з пошуком «пускового» чи центрального механізму старіння: вільнорадикальна гіпотеза, мітохондріальна гіпотеза старіння, скорочення теломер, зміна гормонального статусу організму та інші. Однак, використання антиоксидантів або гормонотерапія не дозволяють збільшити тривалість життя в експерименті. Для виявлення механізмів старіння можливо доцільно було б дослідити взаємозв'язок між прооксидантною і антиоксидантною системами та гормонами щитоподібної залози в регуляції активності мітохондрій печінки і підтримці температурного гомеостазу. Температура тіла є одним із регуляторів метаболізму і цілком ймовірно, що мітохондрії, як одне з основних «джерел» вільнорадикальних продуктів, приймають пряму участь в регуляції термогенезу. Тому, дослідження взаємозв'язку між вмістом гормонів щитоподібної залози, функціональною активністю мітохондрій, зокрема в печінці, та продукцією вільних радикалів, які виконують як регуляторну, так і патологічну роль в онтогенезі, є важливою задачею у виявленні біохімічних механізмів старіння та патогенезу вік-залежних патологій. Одним з ефективних шляхів вирішення цієї задачі є розробка

експериментальних моделей з різною тривалістю життя щурів та дослідження на них певних регуляторних систем організму. Відомо, що калорійно-обмежена дієта, яка була розроблена ще McCay C. M., et al (1956) є визнаною моделлю збільшення тривалості життя на 30-40 % в експерименті. Однак, взаємозв'язок між рівнем гормонів щитоподібної залози та термогенезом у тварин зі збільшенням тривалості життя ще не досліджувався. Враховуючи неможливість екстраполяції цієї моделі на людину, у нашій лабораторії була розроблена модель циклічного режиму годування, яка може бути використана в геріатричній практиці. Представляло інтерес вивчити взаємозв'язок між рівнем гормонів щитоподібної залози та характеристиками про- та антиоксидантної систем.

Дисертаційна робота виконана у відділі біофізики мембран та відділі молекулярної біології онтогенезу НДІ біології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України.

**Мета та завдання досліджень.** Метою цієї роботи було дослідити взаємозв'язок тривалості життя, термогенезу і показників активності прооксидантної та антиоксидантної систем на різних експериментальних моделях.

Для реалізації поставленої мети були визначені такі завдання:

1. Дослідити взаємозв'язок тривалості життя, вмісту гормонів щитоподібної залози та показників про- та антиоксидантної системи на моделі калорійно-обмеженої дієти.

2. Вивчити взаємозв'язок між тривалістю життя, вмістом гормонів щитоподібної залози, активністю прооксидантної та антиоксидантної системи та температурою тіла на моделі переїдання на ранньому етапі онтогенезу

3. Дослідити вплив експериментального  $\text{CuSO}_4$ -індукованого фіброзу печінки на вміст тироксину, активність прооксидантної та антиоксидантної систем та температури тіла.

4. Вивчити функціональну активність мітохондрій по Чансу і характеристики прооксидантної та антиоксидантної систем в онтогенезі на тироксинівій моделі зменшення тривалості життя.

5. Дослідити показники прооксидантної та антиоксидантної системи у тварин різного віку, які перебувають на циклічному режимі годування.

- *об'єкт дослідження* – механізми терморегуляції та тривалість життя у тварин з переїданням в ранньому періоді онтогенезу віком до 1міс, тварин з калорійно-обмеженою дієтою, гіпертиреоїдних тварин та на моделі  $\text{CuSO}_4$ -індукованого фіброзу печінки.

- *предмет дослідження* – ферментні системи антиоксидантного захисту (глутатіонредуктаза,  $\text{NADP}^+$ -малатдегідрогеназа, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, 6-фосфоглюконатдегідрогеназа, ізоцитрат-дегідрогеназа, глутатіон-S-трансфераза, глутатіонпероксидаза тощо), продукти вільнорадикального окислення ліпідів, функціональна активність мітохондрій, активність синтезу гормонів щитоподібної залози на експериментальних моделях з переїданням в ранньому періоді онтогенезу (РПО), калорійно-обмеженою дієтою (КОД), гіпертиреозом та  $\text{CuSO}_4$ -індукованим фіброзом печінки.

**Методи дослідження.** Біохімічні (визначення вмісту гідроперекисів ліпідів, глутатіонредуктазної,  $\text{NADP}^+$ -малатдегідрогеназної, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної, 6-фосфоглюконатдегідрогеназної, ізоцитрат-дегідрогеназної, глутатіон-S-трансферазної, глутатіонпероксидазної активності, вмісту карбонільних груп білків, церулоплазміну); препаративні (отримання сироватки, гістологічних препаратів, фракцій мітохондрій та мікросом); радіоімунологічні (визначення концентрації гормонів щитоподібної залози); флуориметричні (визначення NO-синтезної активності, швидкості генерації активних форм кисню, інтенсивності дихання та окисного фосфорилування); фізіологічні (визначення ваги, температури тіла, виживання, працездатності). Статистичну обробку даних здійснювали, використовуючи методи

непараметричної (критерій Вілкоксона-Манна-Уїтні) та параметричної статистики (t-критерій Стьюдента) і пакету програм «Statistica V.6».

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше показано, що за умов переїдання в перші 30 днів постнатального онтогенезу спостерігалось збільшення вмісту гормонів щитоподібної залози, гідроперекисей ліпідів в мітохондріях та мембрані ендоплазматичного ретикулула печінки і сироватці крові та пригнічення деяких антиоксидантних ферментів, переважно глутатіонпероксидази, зміна мікрів'язкості мембран ендоплазматичного ретикулула, збільшення активності NO-синтетази в різних тканинах, що зберігалось протягом всього онтогенезу. Для цих тварин було характерно збільшення маси тіла, а також смертності при утриманні їх в умовах підвищеної температури середовища (32 °C протягом місяця).

На моделі експериментального гіпертиреозу показано, що підвищення вмісту тироксину супроводжується роз'єднанням окисного фосфорилування в мітохондріях печінки та підвищенням температури тіла, зміщенням рівноваги в системі прооксидантів та антиоксидантів у бік прооксидантів і скороченням тривалості життя цих тварин. На моделі з калорійно-обмеженою дієтою виявлено зменшення вмісту тироксину, зміщення рівноваги в системі прооксидантів та антиоксидантів в сторону антиоксидантів, а також збільшення тривалості життя і зниження температури тіла. Показано, що за циклічного режиму годування підвищувався вміст гідроперекисів ліпідів та антиоксидантних ферментів, що супроводжувалося збільшенням тривалості життя.

**Біоетична експертиза.** Роботу з лабораторними тваринами (щурами) проводили відповідно до вимог положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) та згідно відповідних Законів України. Комісією з біоетики НДІ біології порушень при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено (протокол № 3 від 23 березня 2017 р.).

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантом проведено експерименти з вивчення вмісту гормонів щитоподібної залози, активності ферментів та показників про- та антиоксидантної системи, визначення фізіологічних показників тварин, аналіз отриманих результатів та аналіз літературних даних, участь у написанні наукових статей та тез доповідей, написання та оформлення дисертації.

Обговорення основних положень дисертаційної роботи виконано спільно з науковим керівником д. б. н., проф. Божковим А. І.

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати дисертації були представлені на конференціях всеукраїнського та міжнародного рівнів:

XIII Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології» (Львів, 2017); Міжнародна конференція "Paragraphs in medicine» (м. Люблін, Польща, 2017); Міжнародна науково-практична конференція «Пріоритети сучасної медицини: теорія і практика» (Одеса, 2016); Науково-практична конференція з міжнародною участю «Здоров'я, харчування, довголіття», присвячена пам'яті професора Юрія Григоровича Григорова (до 85-річчя від дня народження) (Київ, 2016); Міжнародна конференція «Механізми функціонування фізіологічних систем» (Львів, 2014).

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів, результатів й обговорення, висновків, списку використаних джерел. Робота викладена на 150 сторінках друкованого тексту, проілюстрована 25 рисунками та 11 таблицями. Список цитованих джерел містить 202 найменувань.

**Практичне значення одержаних результатів.** Розроблені нами моделі переїдання в ранньому періоді онтогенезу та тироксинова модель прискореного старіння використовуються в практичній роботі по дослідженню нових фармацевтичних препаратів, дослідженню та усуненню ожиріння у тварин та при моделюванні патологічних станів печінки (фіброзу) в НДІ біології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна та інших наукових установах.

Результати дослідження впроваджені в навчальний процес на біологічному факультеті при розробці лабораторних робіт з дисциплін «Біохімія» та «Біотехнологія» для студентів біологічного факультету, які навчаються за освітньо-професійною програмою «Біологія» на першому (бакалаврському) рівні освіти, а також при розробці програм нормативних дисциплін, які викладаються на біологічному факультеті Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, «Молекулярна біологія» та «Біотехнологія» (впровадження підтверджено відповідним актом).

## РОЗДІЛ 1

### МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЯЦІЇ ТЕРМОГЕНЕЗУ ТА ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ТЕРМОГЕНЕЗУ З ТРИВАЛІСТЮ ЖИТТЯ ТА РЕАКЦІЄЮ ОРГАНІЗМУ НА ФАКТОРИ СЕРЕДОВИЩА (літературний огляд)

#### 1. 1 Дослідження взаємозв'язку інтенсивності метаболізму і тривалості життя

Існуючі на теперішній час дані свідчать про те, що гормони щитоподібної залози приймають участь у регуляції обміну речовин і, як наслідок, температури тіла. Якщо звернутися до існуючої загально визнаної експериментальної моделі регуляції тривалості життя - калорійно-обмеженій дієті, яка забезпечує збільшення тривалості на 30- 40 %, то можна відзначити, що у таких тварин знижений обмін речовин за рахунок істотного обмеження споживання їжі і знижена температура тіла [2, 9, 179]. До того ж, більшість існуючих експериментальних моделей подовження тривалості життя пов'язані, як правило, з гіпобіозом [16, 87, 88]. Гіпобіоз - це функціональний стан організму, який характеризується зниженим станом метаболізму порівняно з нормою для даного виду [79].

Перші експерименти щодо впливу гіпобіозу на тривалість життя були проведені П. І. Бахметьєвим ще в 1901 р на зимо сплячих кажанах. Свого часу ці роботи викликали велику зацікавленість у зв'язку з розробкою моделей довгожителства [6].

В роботі Pengelley E. T., Kelly K. N. ще в 1966 було показано, що дворазове збільшення тривалості життя у хом'яків можна отримати при зниженні їх температури тіла. Такі тварини занурювалися в глибокий сон, не споживаючи корму, і у них знижувалася швидкість обміну речовин та температура тіла [174].

Можна вважати, що різними способами зниження загального метаболізму, які використовуються, можна забезпечити настання гіпобіозу і, як наслідок, збільшення тривалості життя. Однак, домогтися цього досить складно [10].

Як відомо, гомойотермні організми володіють «досконалою» системою регуляції обміну речовин і підтриманням температури тіла у вузькому діапазоні фізіологічних значень. У тому випадку, якщо вони піддаються простому охолодженню, у них швидко і ефективно підвищується обмін речовин, що забезпечує підтримку не лише температури тіла, але і всього гомеостазу. У зв'язку з цим важко очікувати продовження життя простим обмеженням харчування або іншими способами зниження температури тіла.

Разом з тим, явище природного гіпобіозу (здатність змінити температуру тіла) встановлено для більш ніж 200 видів ссавців (тобто гомеотермних організмів). Таких тварин називають гетеротермними тваринами. Температура тіла таких тварин може змінюватися в різних умовах проживання, і вони діляться на зимосплячих та незимосплячих [4].

Було показано, що тимчасове зниження окисного метаболізму супроводжується зниженням рухової активності та спостерігається набагато частіше, і не лише у зимосплячих тварин [42].

Ці давно відомі дані вказують на особливу роль процесів окислення в термогенезі.

Відомо, що для дрібних гризунів (полівки, миші та ін.) характерно чергування весняних і осінніх поколінь. Тварини, які народилися навесні, мають дуже високу швидкість обміну речовин, швидко ростуть, досягають статевої зрілості, інтенсивно розмножуються і помирають у віці 4-6 міс. з усіма ознаками старіння [36, 89].

У той же час покоління, яке народилося пізнім літом, легко переживає зиму, періодично впадаючи в заціпеніння під час багаторазових періодів сну і пробудження протягом доби. В таких умовах у них сповільнюється ріст (в тому

числі і ріст виличкової залози), сповільнюється старіння, і у них продовжується період дозрівання майже на рік. Необхідно відзначити, що такий стан не є суворим або повним гіпобіозом. Швидше це короткі чергування гіпобіозу з нормобіозом. Однак, така періодичність зміни функціональних станів забезпечувала значне збільшення тривалості життя таких тварин. Навесні після виходу з гіпобіозу у них поновлюється ріст маси тіла та внутрішніх органів, в тому числі і виличкової залози, віна збільшується майже вдвічі. До осені вони швидко «старіють», як і весняна популяція. Однак, є дані, що деякі осінні полівки можуть пережити знову наступаючу зиму. Осінні бурозубки живуть до 12 місяців, тобто втричі довше весняних, а полівки в 6-7 разів довше весняних особин [36, 89].

Різниця в тривалості життя весняних (короткоживучих) і осінніх (довгоживучих) поколінь полівок визначається температурними режимами, що характерні для періоду раннього етапу розвитку. Настільки велика різниця в інтенсивності метаболізму і тривалості життя «весняних» і «осінніх» полівок може пояснюватися формуванням специфічних епігенотипів на ранньому етапі онтогенезу і провідним фактором такого метаболічного програмування особливостей факторів середовища (температурний режим, особливості харчування, тривалість світлового періоду). І те, що весняний послід полівок здатний легко переносити високу річну температуру, але нездатний пережити низькі температури, може надавати на взаємозв'язок метаболічного патерну з адаптивним потенціалом. Ці особливості вимагають нових, сучасних досліджень.

Навпаки, полівки, що народилися восени, здатні переносити зміни в умовах середовища в широкому температурному діапазоні, тобто у них ширший адаптивний потенціал [36].

Отже, умови існування саме в ранньому періоді розвитку, коли формується епігенотип, є визначальними у формуванні адаптивних характеристик особи в процесі онтогенезу і, як наслідок, різної тривалості життя [113].

Дослідження особливостей метаболізму зимоспячих тварин (ведмеді, бурундуки, ховрахи, тушканчики, їжаки та ін.), показали, що перед сплячкою у них накопичується досить велика кількість бурового жиру. У ховрахів він становить до 36% маси тіла, у червонощогокого ховраха - до 80 %. Бурий жир застигає при  $-18^{\circ}\text{C}$ , він викликає зниження швидкості метаболізму і зниження функції щитоподібної залози. Про наявність зв'язку між активністю щитоподібної залози і бурим жиром вказують і сучасні дослідники [195]. Такі зміни призводять до перебудови системи термогенезу.

В жировій тканині та печінці при підготовці до сплячки накопичується токоферол, а в мозку вдвічі збільшується вміст серотоніну [36]. Серотонін володіє судинозвужувальною дією, що призводить до сповільнення кровообігу, пригнічення функцій ендокринних залоз і зниження температури тіла [54].

Температура тіла у зимоспячих тварин знижується майже до температури навколишнього середовища, споживання кисню у них зменшується в 40 разів [3].

Відомо, що при зниженні температури розчинність  $\text{CO}_2$  підвищується, в результаті його вміст в організмі зимоспячих тварин зростає. Можна вважати, що склад газової суміші організму є одним з провідних факторів регуляції метаболізму і термогенезу.

Під час сплячки або заціпеніння основну метаболічну функцію підтримки життєдіяльності здійснює бурий жир, що супроводжується зміною всього метаболізму. Ці дані вказують на формування специфічного метаболічного патерну, провідну роль в якому відіграє бурий жир, щитоподібна залоза і газовий склад організму [115].

Відомо, що катехоламін відіграє важливу, а можливо, і ключову роль в регуляції термогенезу [78]. Існують дані, згідно з якими дія катехоламінів на термогенез реалізується шляхом роз'єднання окислення та фосфорилування, тобто зменшенням синтезу АТФ і збільшенням вироблення тепла [34, 59, 71, 101, 149]. Отже, катехоламіни є природними роз'єднувачами окисного фосфорилування.

Експериментальне моделювання гіпобіозу представляє інтерес з декількох позицій. Це дозволяє зрозуміти механізми регуляції метаболізму в екстремальних умовах, розробити модель експериментальної регуляції тривалості життя та досліджувати механізм метаболічного програмування.

В даний час існує декілька підходів, що дозволяють моделювати гіпобіоз. Всі вони ґрунтуються на перебудові гормонально-медіаторної активності моноамінових систем організму [78].

Відомий оксикапничний спосіб створення гіпобіозу. Він заснований на підвищенні вмісту  $\text{CO}_2$  в газовому середовищі проживання. Підвищений вміст  $\text{CO}_2$  веде до зменшення споживання кисню, стабілізації теплообміну. В таких умовах температура тіла у щурів може знижуватися до 21 - 26 °С. Необхідно зазначити, що у щурів в таких умовах відбувається блокування системи термогенезу [58, 81, 83].

Зниження температури тіла тварин можна досягти зниженням основного обміну такими лікарськими препаратами як антипіретики, гангліоблокатори, радіопротектори [33, 67].

Зниження загального обміну і зниження температури тіла можна досягти шляхом обмеження харчування, тобто при калорійно-обмеженій дієті [95,186].

Разом з тим, показано, що багато видів тварин погано переносять гіпобіоз – вони гинуть, або ж у них зберігається постійною температура тіла. Механізм такої різної відповіді тварин на гіпобіологічні фактори, на жаль, не досліджені.

Відомо, що гіпобіоз пов'язаний з блокадою терморегуляції. У зв'язку з цим, дослідження механізмів терморегуляції у гомойотермних тварин є актуальним завданням не лише для фахівців в галузі геронтології, але й біохімії, фізіології.

У зв'язку з цим дослідження системи терморегуляції у ссавців і участь в цих процесах гормонів щитоподібної залози представляє великий інтерес.

## 1. 2 Механізми терморегуляції організму

Як відомо, швидкість ферментативних реакцій залежить від температури [76]. Тому обмінні процеси в організмі залежать від підтримки і регуляції температури тіла. Цілком очевидно, що температура тіла один з провідних чинників регуляції метаболізму.

Залежно від типів терморегуляції, тварин класифікують за принципом способів підтримки температури тіла на гомойотермні тварини - здатні підтримувати температуру тіла близько оптимальної для метаболізму (37 - 39<sup>0</sup> C) незалежно від температури середовища і пойкилотермні - їх температура тіла в більшій чи меншій мірі коливається з температурою навколишнього середовища [31, 34].

Однак, дослідження терморегуляції тіла у різних груп організмів показало, що деякі види глибоководної риби мають навіть більш стабільну температуру тіла, ніж вищі хребетні, тобто вони здатні регулювати температуру тіла. Деякі пойкилотермні тварини (ящірки) здатні регулювати температуру свого тіла, використовуючи тепло навколишнього середовища, хоча такий спосіб має виражені обмеження [85, 86].

Дослідження температурної варіабельності тіла у різних гомойотермних організмів (птахів і ссавців) показало, що вона коливається в широких межах (табл. 1.1)

*Таблиця 1.1*

### **Варіабельність температури тіла тварин і птахів, °C**

Кінь – 37,5-38,5	Вівця – 38,5-40,0
Корова – 37,0-38,5	Коза – 38,5-40,0
Буйвол – 38,0-38,5	Свиня – 38,0-40,0
Олень – 38,0-38,5	Собака – 37,5-39,0
Верблюди – 37,5-38,5	Курка – 40,5 – 42,0

Ці комбінації залежать від віку, часу доби, пори року, стану тварини (вагітність, наявність патологій).

Однак, коливання температури тіла для даного виду тварин не перевищує 1 °С і можуть бути віднесені до природних коливань систем терморегуляції. Отже, система терморегуляції температури тіла є досить стабільною, її досить важко змінювати і регулювати умови проживання.

У зв'язку з цим тварини, які самі забезпечують нагрівання свого тіла, були названі ендотермними, а тварини, які використовують зовнішні джерела тепла - яйцекладучими ектотермними [56].

Необхідно зазначити, що у ендотермних тварин температура тіла, як правило, перевищує температуру навколишнього середовища. Температура тіла у ссавців і птахів, як зазначалося, коливається в досить вузьких межах і тому їх можна називати гомойотермними ендотермами.

Температура тіла у гомойотермних ендотермів регулюється унікальними гомеостатичними механізмами. Ці механізми керують інтенсивністю теплопродукції і тепловтрат і, як зазначалося, підтримують температуру тіла відносно постійною, незалежно від різних коливань температури середовища [15].

Ендотермна регуляція температури тіла забезпечується перш за все інтенсивністю обмінних процесів в організмі. Як відомо, вся енергія, яка вивільняється в результаті катаболізму, в кінцевому рахунку перетворюється в тепло, якщо не відбувається накопичення енергії в процесі синтезу макроергів або енергетично багатих на енергію сполук (глюкози, ліпідів та ін.) [64].

Цілком очевидно, що інтенсивність метаболізму є одним з найбільш важливих інтеграційних показників при оцінці життєдіяльності. Показано, що інтенсивність енергетичного обміну залежить від температури навколишнього середовища, часу доби, сезону року, маси і розміру тіла, типу харчування і віку [15].

Разом з тим, дослідженню взаємозв'язку терморегуляції і тривалості життя приділялося мало уваги і біохімічні механізми регуляції температури тіла у тварин різного віку досліджено недостатньо [1].

Концептуально підтримання балансу між теплопродукцією і тепловіддачею регулюється на декількох рівнях (біохімічному і фізіологічному). Якщо на фізіологічному рівні можна відзначити поведінкові і адаптивні механізми термогенезу, такі як скорочення м'язів, потовиділення і ін., то на біохімічному рівні це регулюється співвідношенням тепловіддачі і теплопродукції.

Тепловіддача регулюється, в основному, за допомогою розширення периферичних судин, завдяки потовиділенню, диханню, зігріванню їжі і повітря, що вдихається. Судинний механізм тепловіддачі зазвичай приводиться в дію рефлекторним шляхом. При дії холоду стінки судин скорочуються, шкіра блідне, тепловіддача знижується. Навпаки, від дії тепла судини розширюються, шкіра червоніє, тепловіддача посилюється, і організм звільняється від надлишків тепла, що утворюється в ньому.

Тепловіддача здійснюється також завдяки потовиділенню. Регуляція потовиділення здійснюється нервовими центрами, що розташовані в проміжному і спинному мозку, і порушуються рефлекторно від впливу тепла або безпосередньо від нагрітої крові. Діяльність цих центрів контролюється корою головного мозку.

Шляхом випаровування води з поверхні альвеол легенів виділяється досить велика кількість тепла. Частота і глибина дихання визначає кількість тепла, що виділяється. Цей спосіб тепловіддачі теж регулюється нервовою системою.

Зміна температури середовища впливає на так звані теплові рецептори, сигнали від яких надходять в гіпоталамус. У ньому розташовані центри терморегуляції - саме вони координують теплопродукцію і тепловіддачу [64].

Важливу роль у теплопродукції відіграють усі органи, проте найбільший вклад у цей процес вносять м'язи та печінка. Саме в цих тканинах звільняється найбільша кількість тепла в результаті каталізу [55].

Як показують експериментальні спостереження, при лихоманці в печінці відбуваються енергійні процеси обміну речовин, білкового розпаду, при цьому температура печінки виявляється вищою за температуру крові та інших органів, тобто температура тіла може змінюватися локально залежно від швидкості метаболізму в органах [31].

Іншим органом, в якому відбувається значне теплоутворення, є м'язи. Від дії низької температури рефлекторно виникає тремтіння (дрібні клонічні судоми), в результаті якого утворюється значна кількість тепла. М'язи також беруть участь у виробленні тепла навіть при відсутності видимих м'язових скорочень.

Як відомо, важливу, а можливо і центральну роль в терморегуляції відіграють залози внутрішньої секреції, і перш за все щитоподібна залоза і наднирники [25].

### **1. 3 Роль гормонів щитоподібної залози в регуляції термогенезу**

Було встановлено, що при низькій температурі тіла посилюється продукція гормонів щитоподібної залози (тироксину і трийодтироніну), на підставі чого було висловлено припущення про її роль у регуляції температури тіла [197].

Гормони щитоподібної залози прискорюють загальний обмін речовин і як наслідок посилюють теплоутворення [44].

Показано, що трийодтиронін стимулює холодний термогенез, який реалізується при дії низької температури на організм [68, 117]. На підставі такого взаємозв'язку останнім часом з'явилися роботи, які пропонують використовувати хронобіологічні методи досліджень у діагностиці експериментального гіпотиреозу [41]. На думку дослідників, структура і рівень добових ритмів терморегуляції відображають функціональну активність щитоподібної залози [65].

Отже, термогенез на думку цих дослідників знаходиться в прямій залежності від функцій щитоподібної залози.

Було також встановлено, що значення ректальної температури тіла у щурів протягом експерименту зазнають значних коливань протягом доби, що в одних випадках можна розглядати як ознаку гіпотиреозу ( $35,9\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), а в інших - гіпертиреозу ( $38,7$  і  $38,9\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Ці дані досить переконливо свідчать про провідну роль щитоподібної залози в регуляції температури тіла, а також про те, що у тварин, зокрема у щурів, температура тіла може змінюватися навіть в природних умовах у широкому діапазоні ( $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Тому щурі можуть бути гарною моделлю для дослідження механізмів термогенезу і тривалості життя [73].

Соболевим В. І. у 2017 р. було показано, що тиреоїдні гормони якісно змінюють характер кріопетлі в процесі саморегуляції організму після глибокої гіпотермії. Автор стверджує, що існує явище холодового гістерезису. Експериментальний гіпертиреоз змінює характер процесу саморозігрівання організму, що проявляється в якісній зміні виду кріопетлі за рахунок розширення температурного діапазону, в якому забезпечується високий рівень функціонування хімічної терморегуляції [74, 75].

Особливе місце в дослідженні характеру дії гормонів щитоподібної залози відводиться вивченню їх впливу на енергетику скоротливого акту. Як уже зазначалося, саме зміни енергетичного обміну пов'язані з проявами гіпобіозу. У роботах ряду дослідників показано, що тиреоїдні гормони беруть участь у регуляції ерготропних параметрів м'язового скорочення, зокрема, таких як сила скорочення, потужність виконання зовнішньої роботи, працездатність м'язу та інше [77].

Для вивчення енергетики скорочення скелетного м'язу - його термогенної функції, тобто здатності до теплопродукції і ролі в цьому процесі гормонів щитоподібної залози, дослідники проводили вимірювання термогенної «вартості» скоротливого акту, яка дозволяє провести оцінку теплової ефективності одиниці зовнішньої роботи, що виконана скелетним м'язом при ізотонічному скороченні [72].

Було показано, що у щурів з експериментальним гіпертиреозом при ізотонічному скороченні температура м'язу підіймалась в середньому на 180 % більше, ніж у щурів контрольної групи. Аналогічний ефект справляв експериментальний тиреотоксикоз середнього ступеню виразності, при якому температурний ефект м'язового скорочення збільшувався порівняно з контролем на 81 %. Видалення щитоподібної залози (гіпотиреоз) знижувало величину температурного ефекту скорочення передньоберцових м'язів на 23 %. При експериментальному гіпертиреозі обсяг зовнішньої роботи, виконаної м'язом, істотно перевищував рівень контролю, а при стані експериментального тиреотоксикозу значення досліджуваного показника знижувалося на 32 %. Отже, ергометрична функція скелетного м'язу у тварин експериментальних груп змінювалась різноспрямовано і кількісно визначалась тиреоїдних статусом [49].

Трийодтиронін має виражену здатність до активації теплоутворюючої функції скелетного м'язу, зокрема шляхом підвищення теплової вартості одиниці, що виконує скелетний м'яз. В основі подібного ефекту гормонів щитоподібної залози, можливо, лежать процеси, що якісно змінюють усю енергетику клітини. Від активності фізіологічної діяльності щитоподібної залози залежить ступінь температури, що виділяється, і це може бути використано як показник функціональної активності цього органу [191].

Васіліаді Г. К. було виявлено пряму функціональну залежність між температурою щитоподібної залози і рівнем тироксину в крові [18].

У роботах Басалаєвої Н.Л. показано, що йодіндукована блокада щитоподібної залози у самок щурів супроводжується змінами регіональної терморегуляції [5].

Роль гормону щитоподібної залози в регуляції маси тіла найкраще показана у пацієнтів з дисфункцією щитоподібної залози в умовах гіпотиреозу або гіпертиреозу. У пацієнтів з гіпотиреозом, індивідуальна вага тіла може бути збільшена на 30 % щодо еутиреоїдного стану [163]. Навпаки, гіпертиреоз може привести до зменшення маси тіла до 15 % [120, 129, 150, 190].

Роль гормонів щитоподібної залози у термогенних реакціях і енергетичному обміні розглянуті в роботах [167, 172]. У процесі отримання АТФ шляхом окисного фосфорилування через цикл Кребса встановлюється протонний градієнт через внутрішню мітохондріальну мембрану. Однак частина протонного градієнту протікає через роз'єднання білків, що призводить до виділення тепла. Тепло, що генерується таким чином, будучи побічним продуктом аеробного дихання, підтримує середовище для нормального функціонування біохімічних процесів. Додаткове виділення тепла відбувається в результаті харчування або зниження температури навколишнього середовища нижче термонеutralної. Порушення енергетичного балансу посилюють симпатичний сигнал до периферії, де в окремих тканинах, таких як бура жирова тканина у гризунів або м'язи у гризунів і у людини, відбувається збільшення виробництва тепла. Це посилення швидкості метаболізму і подальша теплопродуктивність відомі як адаптивний термогенез [106, 153].

Гормони щитоподібної залози сприяють як конститутивним, так і адаптивним процесам термогенезу [185]. Чисельні дослідження вказують на роль гормонів щитоподібної залози як основних регуляторів мітохондріальної функції і їх біогенезу *in vivo*.

Показано, що при гіпотиреозі знижується експресія мітохондріальних генів, а збільшення рівня гормонів щитоподібної залози впливає на транскрипцію дихальних ферментів [184]. Відомий також вплив гормонів щитоподібної залози на мітохондріальні білки родини UCP [151]. Ці білки (UCP1, UCP2, UCP3) приймають участь в окисленні субстрату з синтезом АТФ на внутрішній мембрані мітохондрій і виробленні тепла. Білки інтенсивно експресуються в різних тканинах, зокрема в глибокій білій жировій тканині, тканинах черевних органів і м'язів, а також в бурій жировій тканині, де вони відіграють вирішальну роль у відновленні нормотермії після анабіозу у сплячих видів тварин [143]. Гормон щитоподібної залози регулює UCP3 у скелетних м'язах та серці, і збільшує потоки

циклу Кребса, не впливаючи на синтез АТФ. Припускають, що UCP3 може бути основним фактором у регулюванні швидкості метаболізму гормону щитоподібної залози, однак ці питання все ще є предметом суперечок [105].

Гормони щитоподібної залози є важливим фактором регулювання енергетичного балансу як на периферії, так і в центральних органах. Гострі метаболічні порушення і фотоперіодичні маніпуляції з довгостроковими енергетичними потребами демонструють роль гормонів щитоподібної залози як в короткостроковому, так і в довгостроковому регулюванні механізмів енергетичного балансу. Регулювання тиреоїдними гормонами мітохондріальних функцій, зокрема регуляція розчіплювати білків, може мати загальні механізми регуляції метаболізму в периферичних тканинах і наявністю дефіциту енергії за допомогою гомеостатичних регуляторних механізмів у гіпоталамусі [94].

Різні продукти метаболізму гормонів щитоподібної залози до цієї пори не достатньо вивчені відносно механізмів енергетичного балансу. Можливо існує велика кількість факторів, які можуть приймати участь у регулюванні енергетичного балансу.

Ряд досліджень переконливо підтверджують важливу роль гормонів щитоподібної залози у термогенезі теплокровних видів. Існує думка, що висока термогенна здатність у гоміотермних організмів є результатом вищої активності щитоподібної залози, ніж у пойкилотермних видів, проте ці відмінності більше якісні, аніж кількісні [182, 185].

Як відомо, однією з гіпотез геронтології, що найбільше обговорюються, є вільно радикальна гіпотеза старіння, згідно з якою більшість метаболічних змін в онтогенезі, які проявляються втратою функціональної активності тих чи інших органів і організму в цілому, зумовлені посиленою продукцією вільних радикалів [142]. Основним джерелом вільних радикалів, як відомо, є мітохондрії та ендоплазматичний ретикулум, де активно протікають окислювальні процеси [27, 52, 82]. У зв'язку з цим, цікавим є дослідження можливого

взаємозв'язку між термогенезом, вмістом гормонів щитоподібної залози і показниками редокс-системи організму.

#### **1. 4 Можливий взаємозв'язок між вмістом гормонів щитоподібної залози і редокс-системами організму**

Як уже було зазначено, в регуляції основного обміну важлива роль належить гормонам щитоподібної залози. Також ендокринні гормони приймають участь в окислювальному метаболізмі, впливаючи на активність мітохондріальних компонентів дихального ланцюга [134, 157]. Цілком очевидно, що це може призвести до зростання утворення активних форм кисню (АФК) і окисного стресу [136]. Утворені токсичні продукти, які мають високий реакційний потенціал, можуть викликати окисне пошкодження клітинних макромолекул - білків, ліпідів і ДНК [96].

Як відомо, окислення - це найефективніший спосіб отримання енергії. Окислювальні процеси відбуваються в основному в мітохондріях, які є також мішенями для гормонів щитоподібної залози. Є літературні дані, що свідчать про взаємозв'язок між порушеннями функцій щитоподібної залози і окисними процесами в організмі [192]. Рядом дослідників показано, що гіпертиреоз пов'язаний зі зростанням виробництва вільних радикалів і продуктів окислення ліпідів [99, 131]. При гіпотиреозі, навпаки, знижується рівень вмісту продуктів вільних реакцій, можливо за рахунок метаболічного інгібування недостатністю гормонів щитоподібної залози [175, 189].

Варто зауважити, що деякі анти тиреоїдні препарати мають антиоксидантні властивості [144] і застосування антиоксидантної терапії може бути застосовано для зниження окисного пошкодження при гіпо- та гіпертиреозі.

Порушення гомеостазу організму можуть виникнути в результаті пошкоджувального потенціалу вільних кисневих радикалів, які неминуче

утворюються при звичайних метаболічних процесах. Ендогенними джерелами цих радикалів є мітохондріальний ланцюг перенесення електронів, транспортний ланцюг електронів мікросомальної мембрани, реакції окислення ферментів і автоокисні реакції [139, 140].

Як відомо, термін «окислювальний стрес» характеризує ситуацію, при якій є виражений дисбаланс між утворенням вільних радикалів або активних форм кисню і системою антиоксидантного захисту, що викликає порушення гомеостазу [61, 104].

Клітини можуть витримувати помірні окислювальні навантаження шляхом посилення експресії гена, що регулює її антиоксидантні системи захисту. Однак при пошкодженні ферментів або посиленні окислювального навантаження виникає дисбаланс, і в результаті настає окислювальний стрес [133].

Супероксидний і гідроксильний радикали, а також нерадикальний кисень (наприклад перекис водню  $H_2O_2$ ), зазвичай називають активними формами кисню (АФК), що мають найвищу біологічну активність. Ці продукти утворюються в усіх клітинах, залежно від інтенсивності аеробного метаболізму, особливо в активованих нейтрофілах, моноцитах, гладких м'язових клітинах і в ендотеліальних клітинах, де вони забезпечують «знешкодження» або інактивацію чужорідних мікроорганізмів [40, 165].

АФК легко вступають в реакцію з макромолекулами, такими як ліпідні, білкові і ДНК, що призводить до деградації клітинних мембран і надмірної активації або інактивації ферментів [167].

Кінцевими ефектами діяльності АФК є виникаючі мутації, метаболічні порушення, що в свою чергу, стає причиною розвитку запальних процесів, онкогенезу і порушення функціонування багатьох органів [156].

Існує думка, що окислювальний стрес відіграє ключову роль не лише в патогенезі старіння, а й при деяких дегенеративних захворюваннях, зокрема, атеросклерозі, серцево-судинних захворюваннях, діабеті 2 типу та раку [138].

Як відомо, синтез тиреотропного гормонів - тироксину (Т4) і трийодтироніну (Т3) здійснюється в фолікулярних клітинах під регулюючим впливом тиреотропного гормону гіпофізу ТТГ, який в свою чергу регулюється тиреотропін-релізінг-гормоном, що виділяється гіпофізом [155, 202].

Гормони щитоподібної залози мають широкий спектр дії. Вони регулюють ряд істотних фізіологічних процесів, таких як енергетичний метаболізм, ріст і формування центральної нервової системи, диференціювання і регенерації тканин. Молекулярна дія гормонів щитоподібної залози опосередкована рецепторами гормонів щитоподібної залози, які після зв'язування ліганда активують відповідні гени [124].

Було відзначено, що при гіпертиреозі збільшується число і розміри мітохондрій, особливо їх крист, при цьому одночасно збільшується концентрація і посилюється активність окисного фосфорилування ферментів [145].

Petrulea M. et al. показали, що надлишок гормонів щитоподібної залози супроводжується підвищеним окислювальним стресом і порушенням функцій антиоксидантної системи [177].

Відомо, що вітамін Е при гіпертиреозі може справляти позитивну дію на функцію щитоподібної залози. Використання антиоксидантів для лікування ряду патологій може чинити сприятливий вплив на зниження окисного пошкодження при гіпертиреозі [177].

Як відомо, рівень гормонів щитоподібної залози регулюється за типом зворотного зв'язку з гіпофізом і гіпоталамусом, який несе основну функцію в інтеграції функцій щитоподібної залози з потребами організму [145].

При зниженні рівня в крові гормонів щитоподібної залози гіпоталамус сприймає ці зміни і секретує гормон TRH. Цей гормон індукує виділення передньою часткою гіпофіза стимулюючий гормон (ТТГ), що в свою чергу призводить до збільшення секреції гормонів щитоподібної залози і підвищення їх концентрації в крові [188].

Показано, що хвороби щитоподібної залози частіше зустрічаються у жінок, ніж у чоловіків. Ці захворювання пов'язані або з гіперактивністю щитоподібної залози, що призводить до гіпертиреозу, або гіпоактивності, що спостерігається при гіпотиреозі [151]. Гіпотиреоз клінічно пов'язаний зі зниженням швидкості метаболізму, що призводить до негативного впливу на багато органів і системи організму [123].

У літературі є дані про здатність тиреоїдних гормонів знижувати біологічну ефективність окислення. Відомо, що при експериментальному гіпертиреозі настає гіпертрофія бурої жирової тканини, яка є джерелом синтезу і секреції біологічно активних речовин [49].

За даними ряду авторів, бура жирова тканина здатна продукувати білок термогенін, що володіє дією на систему узгодження дихання і фосфорилування [29, 152].

Взаємозв'язок між активністю щитоподібної залози і жирової тканини була показана в роботі Whiteman H. [197]. Було виявлено, що у мишей з мутацією в одному із рецепторів тиреоїдних гормонів TR $\alpha$ 1 спостерігається посилений метаболізм через виробництво енергії в бурій жировій тканині. Ця робота вказує на наявність і функціонування різних механізмів термогенезу, дослідження яке представляє великий інтерес для геронтологів.

Було показано, що підтримка вільнорадикального гомеостазу організму, попередження тироксином надмірної активації перекисного окислення ліпідів може бути здійснена за рахунок стимуляції активності супероксиддисмутази, каталази і сумарної антиоксидантної активності в міокарді і в крові тварин [26, 125].

Даний механізм має значення в зв'язку з тим, що фізичне навантаження в результаті підвищення швидкості метаболізму в скелетних м'язах призводить до стимуляції утворення прооксидантів, які чинять негативний вплив на їх контрактильні властивості, оскільки призводять до ушкодження клітинних

біомолекул, які зумовлюють механічну дисфункцію [125]. Показано, що фізичне тренування супроводжується компенсаторним зростанням активності антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази) і вмісту глутатіону (найважливішого неферментативного антиоксиданту) в скелетних м'язах. Крім того, тироксин підвищує активність ферментів антиоксидантного захисту в поперечно-смугастих м'язах [118]. Це сприяє захисту міоцитів і попереджає генералізоване пошкодження клітин при збільшенні скорочувальної активності під час плавання тварин.

Гіпотиреоз, навпаки, викликає оксидативне ушкодження ліпідів у скелетних м'язах, особливо в мембранах мітохондрій [135].

Існують дані, що з віком активність окислювального метаболізму змінюється її його ступінь обернено пропорційна тривалості життя для різних видів тварин [43]. Порушення балансу про- і антиоксидантних процесів в ході вікової інволюції відіграє чималу роль у розвитку залежних від віку патологій [50]. У цих умовах активація вільнорадикальних процесів корелює зі зниженням ефективності функціонування біологічних систем і утилізації вільних радикалів, що включають низькомолекулярні жиророзчинні природні антиоксиданти, в тому числі  $\alpha$ -токоферол [47].

З огляду на те, що однією з найпривабливіших і цікавих гіпотез старіння є гіпотеза, висловлена Д. Харманом (1956) і Н. М. Емануелем (1958) і її зв'язок з рівнем метаболізму та ролі в цих процесах гормонів щитоподібної залози, буде актуальною і перспективною експериментальна перевірка цієї гіпотези [90, 141].

Результати дослідження гормональної активності щитоподібної залози в умовах іммобілізаційного стресу, введення антиоксидантів, а також їх поєданого впливу вказують на зниження в крові рівня трийодтироніну і тироксину під дією іммобілізаційного стресу: у молодих тварин антиоксиданти сприяли розвитку гіпотиреоїдного стану; у старих - стимулювали синтез гормону утворення [91].

Необхідно зазначити, що, незважаючи на відносно велику кількість робіт, механізм залежної від віку терморегуляції, остаточно не встановлено. У зв'язку з цим, важливо зрозуміти роль гормонів щитоподібної залози в механізмах адаптації у тварин різного віку, чому і присвячена ця робота.

Варто зауважити, що гормони щитоподібної залози беруть участь і в процесах адаптації організму[114].

### **1. 5 Роль гормонів щитоподібної залози в онтогенетичних процесах адаптації**

У процесах постнатальної адаптації провідне місце займає ендокринна система. Регуляція процесів росту, розвитку і життєдіяльності здійснюється ендокринною системою, в тому числі і за допомогою йодовмісних гормонів щитоподібної залози - тироксину і трийодтироніну [46]. Ці низькомолекулярні регулятори є похідними амінокислоти тирозину, що містять неорганічний йод [71, 154].

Гормони щитоподібної залози, потрапляючи в кров у вільному стані, зв'язуються з різними білками плазми крові. У такому вигляді вони транспортуються в тканини. При цьому лише 0,04 % тироксину і 0,4 % трийодтироніну знаходяться в крові у вільному стані, не зв'язані з білками. Як відомо, тиреоїдні гормони можуть проявляти фізіологічну активність, лиш перебуваючи у вільному стані. Контроль за синтезом гормонів щитоподібної залози і їх звільненням в кровотік регулюється системою гіпоталамус-передня частка гіпофіза-щитоподібна залоза [53, 183].

Тиреотропний гормон гіпофізу (ТТГ) є індуктором утворення тироксину і трийодтироніну, а сам ТТГ індукується тиреоліберином, який утворюється в гіпоталамусі.

Тиреоїдні гормони, безпосередньо впливаючи на тиреотропні клітини аденогіпофіза, пригнічують секрецію ТТГ [148]. Таким чином, рівень ТТГ обернено пропорційний кількості циркулюючих в кровотоці йодтиронінів [45, 84].

Біологічна дія гормонів щитоподібної залози дуже різноманітна. Вони стимулюють синтез різних типів РНК, таким чином, приймаючи участь в синтезі білка та активності багатьох ферментних систем, впливають на процеси окислення і фосфорилування, справляючи дію на тканинне дихання, а також приймають участь у зростанні та диференціюванні різних типів клітин [39, 196].

Тиреоїдні гормони приймають активну участь в водно-електролітному обміні, при їх дефіциті знижується швидкість синтезу і активність  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази в проксимальних каналцях нефрона, що веде до зниження в них активної реабсорбції  $\text{Na}$  і порушення процесів всмоктування води [196].

Досить виражений вплив справляють гормони щитоподібної залози на серцево-судинну систему: при зниженні тиреоїдної функції загальна інтенсивність метаболічних процесів знижується, що створює умови, в яких тканинам не потрібна додаткова кількість крові і кисню [97, 168]. Це призводить до зменшення скоротливої здатності міокарда, зниження насосної функції серця [196].

Але найбільший ефект тиреоїдні гормони справляють на формування і дозрівання головного мозку. При дефіциті гормонів щитоподібної залози в період внутрішньоутробного розвитку плода затримується ріст кори великих півкуль і мозочка, сповільнюється ріст тіла нейронів переднього мозку, порушується диференціювання аксонів, дендритів та їх мієлінізація [196].

Йодна недостатність або надлишок йоду пригнічують синтез і секрецію тиреоїдних гормонів. Для збереження еутиреоїдного стану при надмірному надходженні йоду щитоподібна залоза блокує синтез тиреоїдних гормонів на етапі дейодування  $\text{T}_4$  в  $\text{T}_3$  [51].

Michalaki M.A et al. показали, що у людей з надмірною вагою рівні гормонів трийодтироніну ( $\text{T}_3$ ), тироксину ( $\text{T}_4$ ) и тиреотропного гормону (ТТГ) підвищені,

тобто є прямий взаємозв'язок між тиреоїдним статусом соматометричних показників організму [160].

Люди з надмірною вагою тіла мають потребу у підвищених концентраціях тироксину, що зумовлено затримкою его всмоктування у шлунково-кишковому тракті [99].

Існують дані про те, що для підтримки еутиреозу у тиреоїдектомованих організмів доза тироксину безпосередньо зв'язана з рівнем циркулюючого інтерлейкіну 6 (ІЛ-6) [173, 181]. Недавнє дослідження на різних клітинах людини показали, що інтерлекин - 6 блокує перетворення Т4 в Т3 при одночасному підвищенні їх інактивації - як Т3, так і Т4 [193].

У роботі Пальчикової Н. А. було показано, що посилення функціональної активності щитоподібної залози у експериментальних тварин (щурів) під впливом екстремально низьких температур має характер вираженої функціональної напруги з накопиченням у залозі трийодтиронину [63].

Гормони щитоподібної залози як прямо, так і опосередковано, через вплив на інші регуляторні системи, справляють дію на механізм онтогенетичної адаптації. Як відомо, одним з найбільш виражених вік-залежних змін є зміна стратегій адаптацій в онтогенезі. Представляє великий інтерес дослідити роль гормонів щитоподібної залози в адаптивних резервах організму, регуляції термогенезу та тривалості життя.

Як відомо, в процесах адаптації найважливішу роль відіграє імунна система, при цьому, як зазначалося, її функції, принаймні клітинна ланка імунітету, пов'язана з активністю прооксидантної системи [40, 48]. У зв'язку з цим було необхідно дослідити цей взаємозв'язок на моделі переїдання в РПО та калорійно-обмеженій дієті (КОД).

## **1. 6 Вплив токсикологічних факторів зовнішнього середовища на синтез гормонів щитоподібної залози**

Печінка відіграє важливу роль в утворенні і деградації фізіологічно активних речовин та регуляції метаболізму. Показано, що від функціонального стану печінки залежить й активність процесів метаболізму йод-вмісних гормонів щитоподібної залози, які приймають участь у регуляції температури тіла [114, 147].

В роботі Вісмонт Ф. І. зі співавтор. в результаті експериментальних досліджень було показано, що прояви бактеріального ендотоксину залежать від детоксикаційної функції печінки та ступеню вираженості ендотоксінемії [20-24].

Існує думка, що деякі фактори навколишнього середовища можуть викликати порушення в ендокринній системі, які призводять до репродуктивних проблем та порушень розвитку. Було показано, що похідні або суміші РНАНс безпосередньо впливають на активність щитоподібної залози через взаємодію з ферментами, що метаболізують тиреоїдний гормон, зокрема, уридіндифосфат-глюкуронілтрансферази (UGT), йодотіронін-дейодінази (IDs) та сульфотрансферази (SULT) в печінці і головному мозку; і з плазмовою транспортною системою тиреоїдних гормонів [93].

Зміни концентрації гормонів щитоподібної залози в поєднанні з високим впливом РНАНс також спостерігалися як у лабораторних тварин, так і у людей. Опромінення матерів під час вагітності РНАНс призводило до значного переносу РНАНс, які, як відомо, конкурують з сайтами зв'язування тироксину (Т4) для транскриптину плазми (ТТР) і, таким чином, можуть бути перенесені на плід з тими білками-носіями, які зазвичай опосередковують транспорт Т4 до плоду [135].

Зміни в рівнях гормонів щитоподібної залози і тонкі зміни в нейроповедінкових характеристиках спостерігалися також у немовлят, які зазнали впливу відносно високих рівнів РНАНс внутрішньоутробно і через лактацію.

Дослідження показали, що РНАНс можуть порушувати систему тиреоїдних гормонів на безлічі сайтів взаємодії, що може чинити глибокий вплив на нормальний розвиток мозку у піддослідних тварин, диких тварин і немовлят [119].

В інших роботах було показано, що у дорослих людей вплив фонових рівнів хімічних речовин не чинить вираженого впливу на функцію щитоподібної залози, в той час як їх високий вміст може призводити до помірних змін щитоподібної залози. У деяких дослідженнях наведені результати, що зв'язують недостатність деяких неврологічних функцій у немовлят і дітей з високим рівнем фонового впливу поліхлорованих біфенілів (ПХБ), діоксинів і / або супутніх забруднювачів [132].

Існують свідчення того, що поліхлоровані біфеніли, діоксини і фурани викликають гіпотиреоз у опромінених тварин, і що екологічні дози впливають на гомеостаз щитоподібної залози людини [108]. Аналогічним чином, антипірени зменшують рівень периферичного тиреоїдного гормону (ТГ) у гризунів. Дослідження також вказують на фталати як руйнівники структури щитоподібної залози, але ефект деяких фталатів, можливо, стимулює виробництво ТГ, на відміну від більшості інших хімічних речовин. Порушення функції щитоподібної залози може бути викликане різними механізмами, пов'язаними з активацією ферменту пероксидази щитоподібної залози, рецепторів для тиреоїдного або тиреоїдстимулюючого гормону, транспортних білків або механізми поглинання токсинів клітинами [148]. Периферичний метаболізм тиреоїдстимулюючого гормону може бути порушений через ефекти на йодтиронінідеіоназу або печінкові ферменти.

Про порушення центральної нервової системи гіпофізарної інтеграції гормональної та сексуальної поведінкової активності, розвитку і функції репродуктивної системи жінок і чоловіків та функції щитоподібної залози під впливом хімічних речовин описано в роботі [128]. Автори оцінюють потенційну роль порушення ендокринної системи факторами навколишнього середовища, які

індукують рак молочної залози, яєчок і передміхурової залози, а також ендометріоз, а також підтверджують взаємозв'язок ендокринної та імунної системи [40].

Незважаючи на відносно велику кількість робіт щодо вивчення ролі в регуляції метаболізму температури тіла, процесів адаптації, залишається недостатньо дослідженим взаємозв'язок між вмістом гормонів щитоподібної залози, термогенезом і тривалістю життя, чому і присвячена ця робота [113].

### **Висновки до розділу 1**

У цьому розділі проведено аналіз стану знань щодо взаємозв'язку інтенсивності метаболізму і тривалості життя, механізмів терморегуляції організму, ролі гормонів щитоподібної залози в регуляції термогенезу. Проаналізовано дані наукової літератури, що дозволяють встановити наявність можливого взаємозв'язку між вмістом гормонів щитоподібної залози і редокс-системами організму. Приведені літературні дані про роль гормонів щитоподібної залози в онтогенетичних процесах адаптації. Проаналізовано результати дослідження впливу токсичних факторів зовнішнього середовища на синтез гормонів щитоподібної залози.

Наявні дані вказують на особливу (центральну) роль процесу окисного метаболізму у формуванні гіпобіозу. Збільшення тривалості життя тварин може бути забезпечене й чергуванням короткого періоду гіпобіозу з парабіозом, це показано на полівках весняного і осіннього посліду. Ці результати переконливо свідчать про вплив факторів середовища на ранніх етапах онтогенезу на тривалість життя. Гіпобіоз пов'язаний з глибокою перебудовою організму. і перш за все, із значним збільшенням вмісту бурого жиру, накопиченням серотоніну, пригніченням функцій ендокринних залоз і багаторазовим зниженням споживання кисню, а також зниженням температури тіла. Найважливішим фактором

формування гіпобіозу є зміна газової суміші в організмі зі значним підвищенням вмісту CO<sub>2</sub>.

Важливу роль у регуляції термогенезу відіграють катехоламіни, які мають здатність роз'єднувати окисне фосфорилування. Гіпобіоз може бути досягнутий і експериментально, проте механізми цього явища вивчені недостатньо і багато тварин не здатні переносити зниження рівня метаболізму.

Інтенсивність метаболізму пов'язана з системою підтримки температури тіла. Тварини використовують різні системи підтримання температури тіла. Їх поділяють на ектотермних і ендотермних, або гомойотермні ектотерми і пойкилотермні ектотерми. Регуляція температури тіла здійснюється на декількох рівнях (фізіологічному і біохімічному). М'язова тканина і печінка приймають основну участь в термогенезі. Велику роль в терморегуляції відіграє щитоподібна залоза, а точніше її гормони Т3 і Т4. Добові коливання температури тіла вказують на те, що система терморегуляції може бути змінена фізіологічними методами. Щурі можуть бути вдалою моделлю в дослідженні ролі термогенезу і тривалості життя. Температура тіла різних органів може регулюватися автономно, що вказує на різні рівні метаболізму в різних органах. Гормони щитоподібної залози здатні регулювати термогенез як конститутивно, так і адаптивно, і це реалізується шляхом регуляції функцій мітохондрій через експресію мітохондріальних білків – родина ІСР, транскрипції дихальних ферментів. Вплив гормонів щитоподібної залози на функції мітохондрій може справляти дію на продукцію вільних радикалів. Ці роботи демонструють «здатність» щитоподібної залози забезпечувати температурну авторегуляцію, з одного боку, і наявність автономної системи регуляції цим органам - з іншого боку.

Отже, між температурою тіла, життєдіяльністю і вмістом гормонів щитоподібної залози, а також мозковою активністю, існує добре виражений взаємозв'язок. Однак, біохімічні механізми термогенезу в онтогенезі, знання яких

може відіграти важливу роль у розумінні механізмів регуляції тривалості життя, досліджені вкрай недостатньою мірою.

Разом з тим, можна вважати, що навіть незначна зміна температури тіла (0,3 - 0,5 °C) на відносно тривалий період (від декількох днів і більше) буде впливати на загальний метаболічний патерн організму.

Результати досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях [1, 10, 40, 48, 93, 113-115, 148].

## РОЗДІЛ 2

### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

#### **2. 1 Вибір об'єктів дослідження**

Експерименти були проведені на щурах-самцях лінії Wistar різних вікових груп. Дослідження виконувалися з дотриманням положень Європейської конвенції із захисту тварин, які використовуються з експериментальною та науковою метою (Страсбург, 1986) [127].

#### **2.1.1 Моделювання переїдання в ранньому постнатальному онтогенезі**

Переїдання в ранньому постнатальному онтогенезі (РПО) здійснювали шляхом зменшення кількості новонароджених щурят до двох особин на самку. У контрольній групі на одну самку доводилося 6-8 щурят [113].

Після досягнення 1-міс. віку тварин контрольної і дослідної груп переводили на стандартні умови утримання і годівлі таким чином було сформовано дві групи: в контрольній - 72 тварини, і в дослідній - 116 особин. Обидві групи перебували в однакових умовах [113].

#### **2.1.2 Вивчення адаптаційної здатності тварин до екстремальних умов середовища**

Для вивчення адаптаційної здатності до екстремальних умов середовища контрольних і дослідних тварини 20-ти міс. віку утримували при температурі 32 °С, тиску 743-750 мм рт. ст., тривалості світлового періоду 15 год, темного – 9 годин протягом 30-ти днів. Контрольна група складала 22 особи, дослідна –

16 особин. Визначали кількість тварин, що вижили за цей період (у відсотках) [113].

### **2.1.3 Моделювання у тварин калорійно обмеженої дієти**

Для порівняння використовували тварин, що знаходилися на калорійно обмеженій дієті з одномісячного віку, як описано [112]. Щури 3-міс. і 19-міс. були розділені на контрольні і експериментальні групи: контрольні тварини утримувалися в режимі стандартного харчування, а експериментальні групи отримували відповідно до CFR. CFR - режим харчування, на якому експериментальні щури втрачали до 30 % своєї маси тіла протягом 14 днів. Після цього режим годування був змінений, щоб відновити масу тіла через 14 днів. Потім тварин витримували в стандартних умовах у віварії протягом 30 днів для відновлення маси тіла. Всі ці етапи включали один цикл режиму харчування. Схема CFR детально описана [111].

При досягненні 3-, 20- і 31-міс. віку тварини були використані для визначення деяких біохімічних показників.

### **2.1.4 Моделювання у тварин індукованого гіпертиреозу**

Для отримання моделі індукованого гіпертиреозу (ІГ) щури-самці 17-міс. віку отримували тироксин з питною водою в концентрації 6 мг / л 0,002 N NaOH протягом 2 місяців як описано раніше [170]. Годування контрольних і дослідних тварин було однаковим. Температуру тіла щурів вимірювали термометром TW 2 193 Microtherma 2 T Hand Held Thermometer (BRAINTREE SCIENTIFIC, INC., USA) [ 7].

### 2.1.5 Моделювання у тварин Си-індукованого фіброзу печінки

При вивченні регуляції термогенезу на експериментальній моделі фіброзу печінки було використано 3-місячних (молодих) та 20-місячних (старих) тварин. Тварини кожного віку були розділені на три групи: контрольну, в якій щурів утримували в стандартних умовах віварію і не піддавали впливу іонів міді; дослідну, тваринам якої вводили сульфат міді послідовно 3 рази з інтервалом між введенням 48 год, і групу тварин, яким почергово, кожні 24 години вводили сульфат міді і мікс-фактор в дозі 4 мл / 100 г маси тварин (трьохкратно) [7, 110, 114, 148].

### 2.1.6 Застосування комплексу «Мікс-фактор»

Комплекс «Мікс-фактор» (інша назва комплексу - «Фунгідол» являє собою стерильну рідину темно коричневого кольору, в якій 14 % приходить на сухі речовини. На олігосахариди доводиться 67 %, на амінокислоти і олігопептиди - 23,3 %, ліпіди - 11 %, вітаміни і мінерали – 1 %.

Склад вільних амінокислот: треонін (3 %), валін (23 %), цистеїн (16 %), метіонін (11 %), лейцин (10 %), аргінін (4 %), ізолейцин (4 %) і лізин (1 %). Наряду з основними компонентами до складу «Мікс-фактор» входять: вітаміни: В1 (0,38 мг / л); В2 (3,24 мг / л) і РР (8,3 мг / л); мікроелементи: кальцій, фосфор, залізо; органічні кислоти [112, 114, 148].

При дослідженні впливу комплексу «Мікс-фактор» на інтенсивність перекисного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів при Си-індукованому ураженні печінки тварини були розділені на 5 груп по 15 тварин у кожній групі:

1 група – контрольна (тварини, яким вводили фізіологічний розчин у дозах, що відповідають дозам розчину сірчанокислої міді та комплексу «Мікс-фактор»).

2 група – тварини, яким вводили розчин сірчаноокислої міді внутрішньобрюшинно в дозі 1 мг / 100 г маси, що відповідало LD33, послідовно тричі з інтервалом 48 годин вранці до годування. Декапітацію тварин та вимірювання показників прооксидантно-антиоксидантного балансу проводили через 24 години після останнього введення.

3 група – тварини, яким вводили розчин сірчаноокислої міді в тій же дозі, і по тій же схемі, що і групі 2, але за 24 години до кожного введення вони отримували «Мікс-фактор» *per os* в дозі 0,1 мг / 100 г маси тіла. Через 24 години після останнього введення проводили декапітацію тварин та вимірювання показників прооксидантно-антиоксидантного балансу.

4 група – тварини, яким вводили тільки «Мікс-фактор» послідовно тричі з інтервалом 48 годин між введеннями *per os* в дозі 0,1 мг / 100 г. Через 24 години після останнього введення проводили декапітацію тварин та вимірювання показників прооксидантно-антиоксидантного балансу.

5 група – тварини, яким триразово вводили розчин сірчаноокислої міді внутрішньобрюшинно в дозі 1 мг / 100 г маси, з інтервалом 48 годин, а потім тричі «Мікс-фактор» *per os* в дозі 4 мг / 100 г (або 0,5 мл розчину на 100 г 52 м. т.). Через 24 години після останнього введення проводили декапітацію тварин та вимірювання показників прооксидантно-антиоксидантного балансу [112, 114, 148].

### **2.1.7 Моделювання циклічного режиму годування**

На першому етапі дослідження впливу *циклічного режиму годування (ЦРГ)* тварин 3 і 20 міс. віку поділяли на контрольну та експериментальну групи. Контрольні тварини знаходилися на стандартному режимі годування віварію. Експериментальні групи переводились на циклічний режим годування (ЦРГ) при якому тварин переводили на такий режим годування, при якому вони за 14 днів

втрачали до 30 % маси тіла. Після цього змінювали режим годування так, щоб забезпечити їм відновлення маси тіла за 14 днів - це становило 1-й цикл режиму годування. Потім цього щурів переводили на звичайні умови утримання у віварії на 30 днів-так званий, період реабілітації. Далі цикл 30 % втрати та відновлення маси тіла повторювали.

Для досягнення результатів з 30 % втрати маси тіла тварини за 14 днів отримували корм через день, а у дні годування отримували спеціалізований корм повноцінний за вмістом білків, ліпідів, вуглеводів та вітамінів - сухий комбікорм з кормовою цінністю 360 ккал / 100 г малими порціями в залежності від маси тіла (далі м. т.): від 200 – 300 г = 4 г комбікорму / 100 г м. т.; від 300 – 400 г = 3 г комбікорму / 100 г м. т. через день. При переведенні тварин на режим відновлення маси тіла, вони отримували спеціалізований корм щодня *ad libitum*.

Склад спеціалізованого сухого корму: пшениця 22,30 %, ячмінь 18,59 %, кукурудза 7,43 %, соняшник 37,17 %, риба суха 3,72 %, молоко сухе 4,46 %, мука люцерни 1,49 %, яєчний порошок 0,37 %, дріжджі 2,97 %, крейда 0,74 %, сіль 0,37 %, желатин 0,37 % (усього 360 ккал / 100 г).

При 30-ти денному *періоді реабілітації* тварини знаходилися на стандартному раціоні віварію.

Для визначення динаміки досліджуваних показників експериментальних молодих і старих тварин поділяли на 5 груп, у кожній групі по 10-12 тварин (Рис. 2.1).

1 група - *контрольні інтактні тварини* відповідно 3 і 20-ти місячного віку, інтактні, харчування *ad libitum*;

2 група - тварини, що отримували обмежене годування 14 днів і втрачали 30 % маси тіла (*період втрати маси тіла/ або період обмеженого харчування*);

3 група - тварини, які після 30 % втрати м. т. впродовж 14 днів знаходилися на годуванні *ad libitum* та відновлювали масу тіла (*період відновлення маси тіла*);

Далі тварини, які пройшли цикл втрати-відновлення маси тіла протягом 30 днів перебували на звичайному раціоні віварію (*період реабілітації*);

4 група - тварини, які пройшли повний період «реабілітації» і 14 днів перебували на обмеженому годуванні через день – (*другий період втрати маси тіла*);

5 група - тварини, які проходили (*2-й період відновлення маси тіла*);

Тварин розташовували по 1 особині у клітках, забезпечували вільний доступ до води, регулярно зважували в один і той же час (о 8 годині ранку) до годування [115].

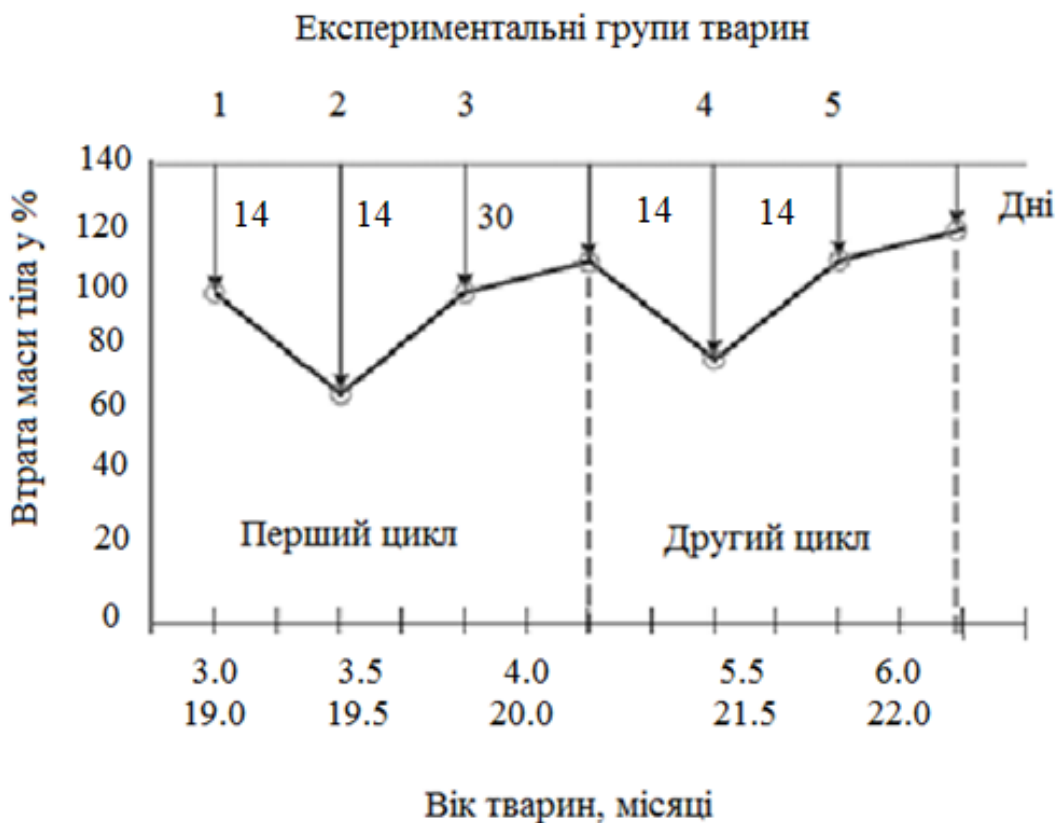


Рис. 2.1 Часові та вікові інтервали втрати та відновлення маса тіла протягом першого і другого циклів циклічного режиму годування

Забій тварин і проведення експериментів починали завжди в один і той же час доби (8 ранку). Перед забоєм тварин анестезували. Щурів виводили з досліду шляхом декапітації під ефірним наркозом.

## 2. 2 Фізіологічні методи дослідження

*Масу тіла* контрольних і дослідних тварин визначали щодня з 8 до 9 години до годування [113, 114, 115, 148].

*Виживання щурів* розраховували за методом Каплана-Мейєра, а порівняння кривих виживанн проводили за методом Гехана з поправкою Йейтса. Достовірно різними вважалися результати при  $p < 0,05$  між контрольними та дослідними групами [113].

*Ректальну температуру* тіла визначали в один і той же час з 8 до 9 ранку до прийому їжі термометром MicroTherma 2THandHeld (BraintreeScientific, INC., USA) [113, 148].

*Працездатність щурів* визначили в тесті плавання з вантажем [130], при температурі води в басейні 12-14 °C [114].

## 2. 3 Препаративні методи дослідження

*Одержання сироватки крові.* Під час декапітації експериментальних тварин кров збирали в сухі пробірки для отримання сироватки. Пробірки витримували 30 хв при 4 °C. Після закінчення зазначеного часу кров центрифугували 15 хв при 1000 g і відбирали сироватку.

*Одержання органів.* Для дослідження внутрішніх органів тварин розтинали, вилучали печінку, серце, нирки та мозок [113, 115].

Після декапітації тварин фрагменти печінки забирали завжди в одній і тій же частині і фіксували в 10 % розчині формаліну 48 годин для гістологічного аналізу.

Зразки печінки для гістологічного дослідження проводили за стандартною методикою. Зрізи товщиною 5 мкм фарбували за Ван-Гізоном [176]. Гістологічні препарати аналізували на мікроскопі Марка при збільшенні:  $\times 100$  і  $\times 400$  [110].

*Виділення мітохондрій.* Для отримання мітохондрій печінку перфузували холодним фізіологічним розчином ( $4^{\circ}\text{C}$ ), потім зважували і розраховували відносну масу печінки у відсотках до маси тіла [113, 115].

Наважку охолодженої тканини продавлювали через прес, додавали 100 мМ трис-НСІ буфер, рН 7,4, що містить 250 ммоль сахарози, 5 ммоль КСІ і 1 ммоль  $\text{MgSO}_4$ .

Співвідношення обсягу розчину до маси тканини складало 1 : 3. Гомогенізувала протягом 1 хв при 8000 об / хв., потім фільтрували через нейлонову тканину [113, 114, 115].

*Одержання мітохондрій та мікросом.* Мітохондрії і мікросоми виділяли з гомогенату диференціальним центрифугуванням [146] в середовищі такого складу: 0,3 М сахароза, 1 мМ ЕДТА, 10 мМ трис-НСІ, рН 7,4 [113, 114, 115].

Отриману фракцію мітохондрій двічі промивали середовищем виділення без ЕДТА. Готували суспензію мітохондрій на середовищі виділення без ЕДТА так, щоб 60-80 мг білка містилося в 1 мл. З постмітохондріальної фракції виділяли фракцію мікросом при центрифугуванні 80 000 g 90 хв при  $4^{\circ}\text{C}$  [113, 114, 115].

*Одержання субмітохондріальних частин печінки.* Субмітохондріальні частини печінки (СМЧ) отримували шляхом соніфікації суспензії мітохондрій в ультразвуковому диспергаторі УЗДН-А (Україна) (10 мг білка мітохондрій / мл середовища суспендування) за схемою : 15 сек соніфікації - 15 сек інтервал без соніфікації, повторювали тричі.

Отриману суспензію центрифугували 10 хв при 10000 g, відбирали надосадову фракцію, яку ще раз центрифугували 30 хв при 60000 g. Отриманий в результаті осад суспендували в 100 мМ трис-НСІ-буфері, рН 7,4 і використовували для визначення швидкості генерації  $\text{O}_2^-$  [113, 115].

*Визначення набрякання мітохондрій.* Набрякання мітохондрій реєстрували за зміною їх оптичної щільності в кюветі, що термостатується (37 °С) при постійному перемішуванні на спектрофотометрі Specord UV VIS (Німеччина) при 610 нм. Склад середовища інкубації: 10 мМ трис-НСl, рН 7,4, 0,25 М сахароза, 5мМ КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub>, 5 мкМ ротенон, 2 мМ сукцинат і 25 мкМ СаSO<sub>4</sub> [115].

## **2. 4 Аналітичні методи дослідження**

*Визначення концентрації тироксину (Т4)* проводили радіоімунологічним методом (нмоль/л) з використанням набору "Total T4 RIA" та "Total T3 RIA" виробництва IMMUNOTECH (Чеська республіка) і методом імуноферментного аналізу (нмоль/мл) [116, 148].

*Визначення концентрації трийодтироніну (Т3)* в сироватці крові проводили радіоімунологічним методом (нмоль/л) з використанням набору "Total T4 RIA" та "Total T3 RIA" виробництва IMMUNOTECH (Чеська республіка) і методом імуноферментного аналізу (нмоль/мл) [116, 148].

*Концентрацію тиреотропного гормону (ТТГ)* визначали методом імуноферментного аналізу, значення виражали в мМ/л [100,148].

*Визначення вмісту гідроперекису ліпідів (ГПЛ)* в мітохондріях і мікросомах печінки проводили за методом Ohkawa [169] і в сироватці за методом Asakawa [98]. Спектр поглинання забарвленого продукту записували на двопробеновому спектрофотометрі Specord UV VIS, вимірюючи різницю екстинкції при довжині хвилі 535 нм і 520 нм [158]. Вміст ГПЛ виражали в еквівалентних кількостях МДА, використовуючи коефіцієнт молярної екстинкції  $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  [110, 113, 114, 115].

*Глутатіонпероксидазну активність (КФ 1.11.1.9).* визначали у сироватці крові і спектрофотометрично при 340 нм за методом Paglia D. et al. [47] у 50 мМ К<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>-фосфатному буфері, рН 7,4, що містив 1мМ EDTA, 0,1 мМ NADPH, 1 од

глутатіонредуктази дріжджів, 1мМ GSH 0,2 % тритон X-100, 0,4 мМ перекису водню та 3 мМ азиду Na для інгібування каталази. Температура – 37 °С. Активність виражали в нмоль NADPH/хв на 1 мг білка або 1 мл сироватки з урахуванням коефіцієнта молярної екстинкції  $6,22 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  [110, 113, 114].

*Глутатіонредуктазную активність* (ГР, КФ 1.6.4.2;) в гомогенатах і мітохондріях печінки вимірювали спектрофотометрично за зменшенням NADPH [123] в середовищі, що містить 50 мМ  $\text{K}^+$ -фосфатний буфер, рН 7,4, 1мМ ЕДТА, 0,16 мМ NADPH, 1мМ GSSG, 0,2 % тритон X-100. Температура – 37 °С. Активність виражали в нмоль NADPH / хв мг білка з урахуванням коефіцієнту молярної екстинкції  $6,22 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  [110, 113, 114].

*NADP + -малатдегідрогеназную активність* (МДГ, КФ 1.1.1.40;) визначали в цитоплазмі і мітохондріях печінки спектрофотометрично за швидкістю відновлення NADP + [190] в 68 мМ трис-НСІ буфері, рН 7,4, що містить 0,85 мМ  $\text{MnCl}_2$ , 2 мМ малат, 0,4 мМ NADP<sup>+</sup>, 0,2 % тритон X-100. Температура – 37 °С. Активність виражали в нмоль NADPH / хв мг білка [113].

*Визначення глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активності* (КФ 1.1.1.49) і *6-фосфоглюконатдегідрогеназної активності* (КФ 1.1.1.44). 6-ФГДГ- активність вимірювали в гомогенатах, мітохондріях тканин спектрофотометрично за швидкістю відновлення NADP<sup>+</sup> [201], в 120 мМ трис-НСІ буфері, рН 7,4, що містить 10 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 0,9 мМ NADP<sup>+</sup>, 0,6 мМ 6 фосфоглюконат, 0,2 % тритон X-100. Г6ФДГ активність визначали шляхом вирахування 6ФГДГ активності із загальної (6ФГДГ + Г6ФДГ) активності, яку вимірювали у вищеописаному середовищі з додаванням 2 мМ глюкозо-6-фосфату. Температура – 37 °С. Активність виражали в нмоль NADPH / хв мг білка з урахуванням коефіцієнту молярної екстинкції  $6,22 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  [113].

*Ізоцитратдегідрогеназную активність* (ІЦДГ, КФ 1.1.1.42) в цитоплазмі і мітохондріях печінки визначали спектрофотометрично за швидкістю відновлення NADP + [103] в 34 мМ трис-НСІ буфері, рН 7,4, що містить 0,34 мМ ЕДТА, 1,5 мМ

MnCl<sub>2</sub>, 0,1 мМ NADP<sup>+</sup>, 1,5 мМ ізоцитрат, 0,2% тритон X-100. Температура – 37 °С. Активність виражали в нмоль NADPH / хв мГ білка [113, 114].

*Глутатіонпероксидазну активність (ГП, КФ 1.11.1.9)* визначали у фракції цитозоля, мітохондріях печінки спектрофотометрично при 340 нм за методом [171] в 50 мМ К<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>-фосфатном буфері (рН 7,4), що містить 1 мМ ЕДТА, 0,15 мМ NADPH, 1 од глутатіонредуктази дріжджів, 0,2 % тритон X-100 і 3 мМ азиду Na для інгібування КАТ. Гідроперекис кумолу додавали в концентрації 1,2 мМ, перекис водню - 0,4 мМ. Температура інкубації становила 37 °С. Активність виражали в нмоль NADPH / хв на мГ білка або мЛ сироватки з урахуванням коефіцієнта молярної екстинкції  $6,22 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  [113, 114].

*Визначення NO-синтезної активності (КФ 1.14.13.39).* NO-синтезну (NOS) активність визначали в цитоплазмі, мітохондріях и постмітохондріальній фракції печінки флуориметрично при 340 нм за зниженням рівня NADPH в середовищі, що містить 0,1 М трис-НСl буфер, рН 7,4, 1 мМ СаСl<sub>2</sub>, 0,08 ммоль NADPH и 0,011 ммоль L-аргініну, як описано [194]. Реєстрацію активності проводили при температурі 37 °С проти контролю, який додатково до описаного вище середовища містив 0,05 ммоль інгібітора NO-синтази Nw-нітро-L-аргініну [113].

*Швидкість генерації в суспензії СМЧ* вимірювали за освітою адренохрома (при 480 нм) з адреналіну в середовищі, що містить 100 мМ трис-НСl буфер, рН 7,4, 5 мМ сукцинату,  $5 \cdot 10^{-4}$  М адреналіну і 1 мкг антимиціна А (на 1 мЛ реакційного середовища). Швидкість генерації O<sub>2</sub><sup>-</sup> розраховували за коефіцієнтом молярної екстинкції адренохрома  $4,02 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  [162], з огляду на те, що для окислення 1 М адреналіну необхідно 1,4 М супероксидного радикала [115, 137].

*Інтенсивність дихання і окисного фосфорилування мітохондрій* визначали за допомогою закритого кисневого електрода Кларка [70] в кюветі, що термостатується (30 °С) в реакційному середовищі наступного складу: 150 мМ сахароза, 75 мМ КСl, 10 мМ КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub>, 2 мМ МgСl<sub>2</sub>, 10 мМ трис-НСl, рН 7,4, 0,6 -

1,2 мг білка в 1 мл. Субстрати окислення вносили в концентраціях: сукцинат, а-гліцерофосфат і b-оксибутират - 10 мМ. Концентрація внесеного ADP залежала від типу субстрату, який окислюється, і становила 100, 200 і 400 мкМ. Додаткові добавки в полярографічну ячейку залежно від типу активності, що вимірювалась: ротенон - 1 мкМ, ЕГТА - 1 або 2 мкМ, БСА - 1 мг / мл. За кривими споживання кисню розраховували швидкості дихання мітохондрій в метаболічних станах 2 і 3 по Чансом ( $V_2$  і  $V_3$ ), дихальний контроль (ДК,  $V_3 / V_2$ ).

*Швидкість генерації  $O_2^-$*  в суспензії мікросом при окисленні NADPH вимірювали за утворенням адренохрома (при 480 нм) з адреналіну в середовищі, що містить 0,15 М калій-фосфатного буфера, рН 7,8,  $10^{-4}$  М ЕДТА,  $10^{-4}$  М NADPH,  $5 \cdot 10^{-4}$  М адреналіну, 250 мкг / мл білка мікросом. Швидкість генерації  $O_2^-$  розраховували як описано вище [115].

*Глутатіон-S-трансферазну активність (ГТ, КФ 2.5.1.18)* вимірювали в цитозолі і мітохондріях печінки спектрофотометрично при 340 нм [200] в середовищі, що містить 0,1 М  $K^+$ -фосфатний буфер, рН 6,5, 1мМ 1 хлор-2,4-динітробензол, 5мМ GSH, 0,2 % тритон X-100. Температура -  $37^0$  С. Активність розраховували з використанням коефіцієнта молярної екстинкції  $9,6 \cdot 10^3$   $M^{-1} \cdot cm^{-1}$  [114].

*Вміст карбонільних груп білків сироватки крові* визначали з 2,4-динітрофенілгідразіном за методом [154]. Пофарбовані проби реєстрували на двопробеному спектрофотометрі Specord UV VIS (Німеччина) проти контролю (проба без 2,4-динітрофенілгідразіна) в діапазоні довжин хвиль від 330 нм до 625 нм. Вимірювали різницю екстинкції при 360 нм і 550 нм і розраховували вміст карбонільних груп білків, використовуючи коефіцієнт молярної екстинкції  $22 \cdot 10^3$   $M^{-1} \cdot cm^{-1}$ .

*Вміст білка* в досліджуваних зразках визначали за методом Lowry О. Н. в модифікації Miller [161].

*Вміст ферментативно-активного церулоплазміну (ЦП, КФ 1.16.3.1)* визначали в сироватці крові як описано в роботі [178] в середовищі, що містить 0,1 М ацетатного буфера, рН 5,5 і 0,1 % парафенилендіамина. Сироватку крові додавали в кількості 0,02 мл на 2 мл реакційного середовища. Тривалість інкубації - 1 година, температура – 37 °С. Реакцію зупиняли додаванням 0,01 % азиду натрію. Пофарбовані зразки спектрофотометрували при 530 нм, уміст ЦП виражали в нмоль/мл сироватки крові, використовуючи коефіцієнт перерахунку 5,83 [44, 114].

*Оцінку структурних властивостей мікосомальних мембран* проводили флуоресцентним зондом пірену (Pyrene, Sigma Co). Спектри флуоресценції пірену реєстрували, використовуючи спектрофлуориметр Varian Cary Eclipse (США) при довжині хвилі збудження 337 нм. Використовували середовище, що містило 100 мМ трис-НСІ буфер, рН 7,4, 0,25 мг мікосомального білка на 1 мл і 2,4 мкМ зонд. Зонд використовували в якості датчика в'язкості для внутрішніх областей мембран. Оскільки формування ексимеру призводить до спектрального зміщення флуоресценції, зонд може бути корисним для відображення співвідношення молекулярної рухливості [35]. Ексимеризацію пірену (співвідношення ексимер-мономер) розраховували за співвідношенням флуоресценції ексимеру (480 нм) і флуоресценції мономеру (390 нм) [113].

## **2.5 Статистичні методи дослідження**

Всі експерименти повторювали від 3 до 5 разів. В кожній експериментальній групі було не менше 5 тварин.

Отримані результати обробляли статистично з використанням пакету програм "Statistika V.6". Достовірність відмінностей між групами, що аналізувалися, оцінювали за допомогою методів параметричної (t-критерій Стьюдента) та непараметричної статистики (критерій Вілкоксона-Манна-Уїтні). Аналіз

відповідності виду розподілу ознаки закону нормального розподілу проводили за допомогою критерію Шапіро-Уїлкі. Виживання щурів розраховували за методом Каплана-Мейера, а порівняння кривих виживання проводили за методом Гехана з поправкою Йейтса. Відмінності вважали статистично достовірними при  $P < 0,05$ , які позначали в графіках і таблицях символом «\*».

## **2. 6 Характеристика використаних реактивів**

У роботі використовували такі реактиви: NADPH, NADP, GSH, GSSG, трис (оксиметил) амінометан, глутатіонредуктаза, тритон X-100,  $KH_2PO_4$ ,  $K_2HPO_4$ , ЕДТА, сахароза, малат, глюкозо-6-фосфат, ізоцитрат, тритон X-100;  $KH_2PO_4$ , азид натрію – виробництва фірми “Sigma” (США) та вітчизняного виробництва кваліфікації ЧДА, ХЧ та ОСЧ. Також були використані набір "Total T4 RIA" та "Total T3 RIA" виробництва IMMUNOTECH (Чеська республіка) і набір виробництва АО Вектор-Бест (Україна).

### **Висновки до розділу 2**

В даному розділі було охарактеризовано використані у дослідженнях фізіологічні методи визначення ваги, температури тіла, виживання, працездатності дослідних тварин; препаративні методи отримання сироватки, гістологічних препаратів, фракцій мітохондрій; радіоімунологічні методи визначення концентрації гормонів щитоподібної залози; спектрофотометричні методи визначення вмісту гідроперекисів ліпідів, глутатіонредуктазної,  $NADP^+$ -малатдегідрогеназної, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної, 6-фосфоглюконат-дегідрогеназної, ізоцитратдегідрогеназної, глутатіон-S-трансферазної, глутатіонпероксидазної активності, вмісту карбонільних груп білків, церулоплазміну; флуориметричні методи визначення NO-синтетазної активності,

швидкості генерації генерації  $O^{2-}$ , інтенсивності дихання та окисного фосфорилювання та методи статистичного аналізу отриманих результатів.

Дані методи були використані у власних дослідженнях, представлених у роботах [1, 10, 48, 93, 110, 113–115, 148].

## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### **3. 1 Вивчення деяких соматичних та біохімічних характеристик у тварин в онтогенезі, які переїдали на ранньому етапі онтогенезу**

##### **3. 1. 1 Вплив переїдання на ранньому етапі онтогенезу на деякі соматометричні характеристики та тривалість життя тварин**

Як відомо, в процесі ембріонального розвитку і в перші місяці постнатального періоду відбувається формування епігенетичних патернів геному організму [60, 69].

Дані, які існують на сьогоднішній день, вказують на те, що умови розвитку, а це, перш за все, трофічні фактори, котрі визначаються харчуванням матері, її генетичними особливостями, умовами життя, що формують глобальні фактори середовища, будуть визначати особливості метельювання ДНК та модифікацій гістонів, тобто формування гістонового коду [17, 102, 144]. Однак епігенетичний паттерн формується не одномоментно, а в часі. Чисельні дослідження епігенетики людини переконливо показали, що цей процес реалізується в період ембріонального розвитку і "закінчується" протягом першого року життя, тобто з закінченням годування матір'ю [66, 80, 107].

Було цікаво дослідити "збереження" соматичних та деяких біохімічних характеристик в онтогенезі щурів, оскільки метаболічні патерни, що тривало зберігаються, і які сформовані на ранній стадії розвитку, можуть впливати на формування відповідних реакцій на різноманітні фактори екзо- та ендогенної природи, а також, можливо, і на тривалість життя організму.

Чисельні дані про вплив кількості споживаної їжі на організм показані ще з піонерських робіт Кровела Маккея [159].

Надмірне вживання їжі від народження до 21 доби життя проявлялося у переважанні таких щурів за масою тіла в 1-місячному (міс.) віці порівняно з контролем на 32 % (Табл. 3.1). Така контрастна різниця свідчить про переїдання, тобто вживання надмірної кількості їжі.

Подальше утримання тварин, що пройшли період переїдання в ранньому періоді онтогенезу (РПО) в однакових стандартних умовах віварію, як і контрольних тварин, не усувало перевагу їх за масою тіла порівняно з контролем протягом усього онтогенезу, аж до 31-міс. віку (Табл. 3.1).

Таблиця 3.1

**Маса тіла контрольної групи тварин і груп тварин з переїданням в РПО**

Варіанти	Вік, місяці								
	1	2	3	4	5	11	14	20	31
Контроль	53,1 ±1,8	123,0 ± 4,2	199,0 ±3,7	246,1 ±6,2	274,1 ±6,2	403,2 ±6,7	420 ±5,6	467,8 ±8,4	484,2 ±44,9
Переїдання	70,4* ±1,5	159,9* ±3,3	231,5* ±3,9	278,1* ±4,4	319,7* ±4,6	434,5* ±7,1	451,0* ±6,5	503,0* ±7,9	509,2 ±26,1
К/П, %	32	30	25	13	16	7	7	7	5

Примітка: \* - позначена достовірна різниця між групами ( $P < 0,05$ ). В дослідженнях використано 5 тварин в кожній експериментальній групі

Необхідно звернути увагу на те, що зі збільшенням віку тварин різниця їх маси тіла поступово знижувалася порівняно з контролем (Табл. 3.1). Отже, переїдання в ранньому постнатальному онтогенезі, супроводжувалося харчовим програмуванням (nutritional programming) метаболізму, яке підтримувалося

протягом онтогенезу. Отже, харчові переваги формуються на ранніх етапах онтогенезу і зберігаються в онтогенезі.

Раніше було показано, що харчове програмування супроводжується зміною рівня метилювання ДНК, що свідчить про вплив харчування на епігенотип [109].

В 3-міс. віці тварини, що пройшли період переїдання в РПО, переважали контрольних тварин за масою тіла на 25 %, при цьому у них була збільшеною і маса печінки. Необхідно зазначити, що у 2,5- 3 місячному віці у щурів завершується статеве дозрівання. Так, у 3-міс. тварин масовий коефіцієнт печінки був достовірно вищим за контрольних тварин (Табл. 3.2). Це може свідчити про гіпертрофію печінки – органу, що відповідає за функцію детоксикації і регуляції всього метаболізму в організмі. Можна вважати, що 3-міс. тварини, що пройшли період переїдання в РПО, мають системні зміни у всьому організмі. Однак, до 31-міс. віку різниця у масі тіла порівнянно з контрольними тваринними зменшилась, а масовий коефіцієнт печінки не відрізнявся від контролю (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

**Вплив переїдання в РПО на деякі соматометричні показники  
у 3-міс. та 31-міс. тварин**

Показники	3- міс. тварини		31-міс. тварини	
	Контроль	Переїдання	Контроль	Переїдання
Маса тіла	199,0±3,7	231,3±3,9*	484,2±44,9	509,2±26,1
Маса печінки	7,5±0,62	11,2±0,7*	13,3±1,4	15,8±1,4
Масовий коефіцієнт печінки г/г·10 <sup>-2</sup>	4,1±0,21	5,1±0,38*	2,7±0,16	2,9±0,14
Маса серця	-	-	1,3±0,09	1,6±0,08*
Масовий коефіцієнт серця г/гх10 <sup>-2</sup>	-	-	0,27±0,01	0,32±0,010*

Примітка: \* - позначена достовірна різниця між групами (P <0,05) ). В дослідженнях використано 5 тварин в кожній експериментальній групі

Разом з тим, масовий коефіцієнт серця у старих тварин, хоча й не значно, але достовірно перевищував контрольних тварин, так само як у 3-міс. тварин (Табл. 3.2). Отже, можна очікувати, що такі зміни соматичних показників впливають і на біохімічні статус цих тварин.

З метою перевірки здатності тварин з харчовим програмуванням шляхом переїдання в РПО успішно адаптуватися до екстремальних умов середовища, ми використали 30-денне утримання цих тварин при 32 °С, яке на 10 °С більше за норму, і є екзогенним стресовим фактором для організму.

Виявилось, що при утриманні контрольних щурів 20-міс. віку при температурі 32°C кількість тварин, що вижили становила близько 90 % (Рис. 3.1, крива 1), тобто вони були досить стійкі до гіпертермії. У той же час, крива виживання в тих же умовах щурів, які в ранньому періоді онтогенезу переїдали, значно поступалась контрольній групі, а кількість тварин, що вижила, була дещо більшою за 50 % (Рис. 3.1, крива 2).

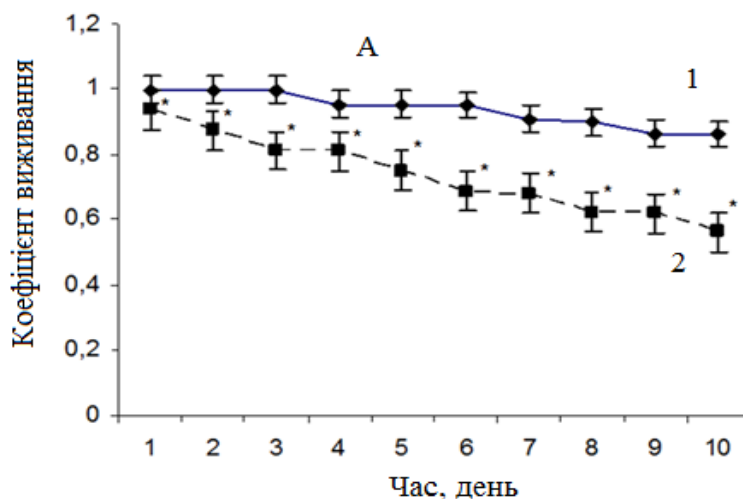


Рис. 3.1 Коефіцієнт виживання, розрахований за методом Гехана в контрольній групі тварин (1) та тварин з перекормом в РПО (2), яких утримували при 32 °С протягом 30-ти днів; \* - достовірна різниця між групами ( $P < 0,05$ ). В дослідженнях використано 5 тварин в кожній експериментальній групі

Отже, тварини, що пройшли короткий період переїдання і мають надлишкову масу тіла, погано адаптувалися до дії гіпертермії навіть у 20-міс. віці, тобто через 19 місяців після завершення періоду переїдання. Отже, метаболічні системи, що приймають участь у забезпеченні адаптивних процесів, зокрема термогенезу, відрізнялися від таких контрольних тварин.

Така виражена втрата здатності щурів, що пройшли період переїдання РПО, переносити високу температуру може пояснюватися порушенням регуляції термогенезу.

Отримані нами дані переконливо свідчать про роль системи термогенезу у тривалості життя ссавців. Це важливо відзначити, оскільки склалась уява про те, що гомойотермні організми надійно контролюють температуру тіла, а коливання температури зовнішнього середовища не будуть чинити будь-якого істотного впливу на процес виживання.

Якщо вказати число тварин, що вижили на 30 день після утримання при 32 °С, то в контрольній групі ця кількість становила 86 %, а в групі з переїданням - усього 56 % (Рис 3.2).

Для підтвердження результатів щодо впливу режимів годівлі на стійкість до гіпертермії було визначено кількість тварин, що виживали при таких же умовах утримання, проте перебували на КОД з 1-міс. віку. Виявилось, що в таких умовах тварини, які знаходились на КОД, виживали в 98 % випадків, тобто значно перевищували контрольну групу тварин і тим більше тварин, які пройшли період переїдання на ранньому етапі онтогенезу (Рис. 3.2).

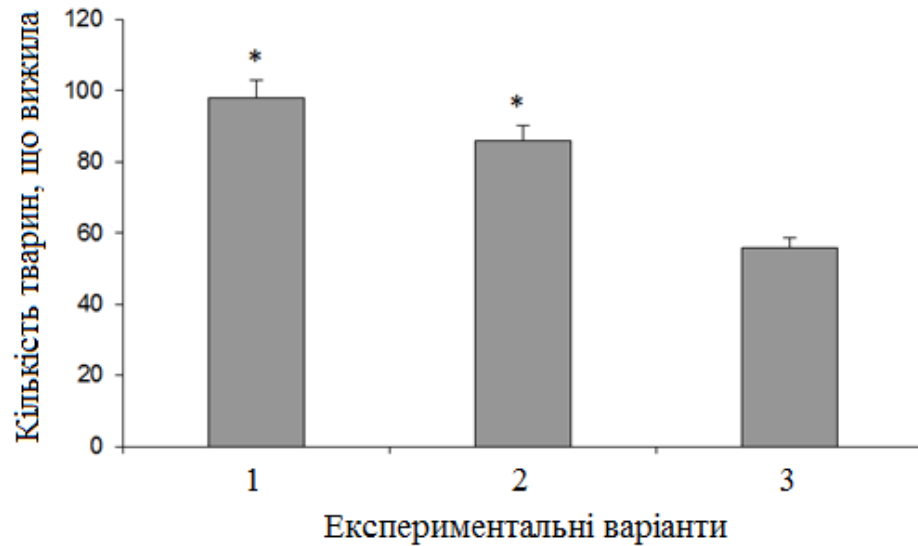


Рис. 3.2 Кількість тварин (у відсотках), що вижили на 30-й день утримання при 32 °С в групі тварин, які знаходились на КОД (1); в контрольній групі на стандартному раціоні (2); у групі тварин, що утримувались на стандартному раціоні, але пройшли періоди переїдання в РПО (3); \* достовірна різниця ( $P < 0,05$ ) з групою порівняння. В дослідженнях використано 8 тварин групі 1, по 5 тварин в групі 2, 3

Отже, стійкість тварин до тривалого утримання при підвищеній температурі (32 °С) залежить від умов утримання. Найбільшу стійкість проявляли тварини, що утримувались на КОД, середню – тварини, що утримувались в стандартних умовах віварію (контроль) і найменшу стійкість – тварини, що пройшли період переїдання в РПО.

Представляло інтерес визначити тривалість життя тварин, що пройшли період переїдання в РПО та тварин, яких утримували в стандартних умовах віварію. Виявилось, що коефіцієнт виживання для контрольних та експериментальних тварин з переїданням в РПО в разі їх утримання в стандартних умовах віварію показав незначні, проте достовірні відмінності щодо виживання тварин порівняно з контрольною групою тварин (Рис. 3.3).

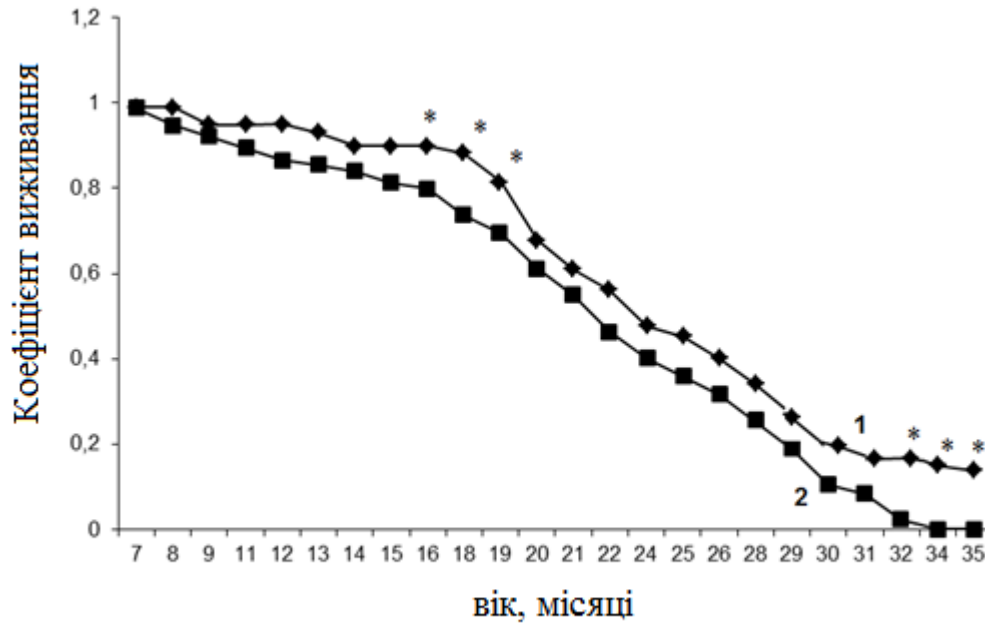


Рис. 3.3 Коефіцієнт виживання, розрахований за методом Гехана в контрольній групі тварин (1) та тварин з переїданням в РПО (2), яких утримували при стандартних умовах віварію; \* - достовірна різниця між групами ( $P < 0,05$ ). В дослідженнях використано 5 тварин в кожній експериментальній групі

Отже, терморезистентність тварин може служити тест-системою при оцінці адаптаційних можливостей організму. Тварини, що пройшли період переїдання в РПО, погано адаптувалися до гіпертермії, і поступалися за здатністю виживати контрольній групі на 30 %, а тваринами, що перебувають на КОД - на 42 %. Такі суттєві відмінності адаптивної здатності до гіпертермії дозволяють вважати, що до 20 -міс. віку у тварин, що пройшли в минулому період переїдання в ранньому онтогенезі, зберігаються змінені метаболічні показники, які забезпечували адаптацію до гіпертермії.

Проведені раніше дослідження взаємозв'язку між температурою тіла тварин та тривалістю життя на моделі калорійно обмеженої дієти показали, що у тварин на КОД температура тіла була на 1–1,5 °С нижче контрольних тварин [11, 13, 111].

Визначення температури тіла у тварин, які переїдали на ранньому етапі онтогенезу, більша за контрольних тварин на  $0,8-1$  °C і складала в середньому  $(38,3\pm 0,3)$  °C, натомість як у контрольних тварин вона складала  $(37,4\pm 0,2)$  °C, а у тварин, що знаходилися на КОД з 1-міс. віку –  $(35,6\pm 0,1)$  °C.

Таким чином, у тварин з переїданням в 1-місячному віці температура тіла була підвищена, а у тварин на КОД - знижена. Отже, між температурою тіла та тривалістю життя в умовах гіпертермії існує зворотній взаємозв'язок, зокрема, для цих експериментальних моделей.

В цьому відношенні представляло інтерес дослідити вміст гормонів щитоподібної залози у цих тварин, оскільки тироксин приймає участь у термогенезі, а між термогенезом і тривалістю життя існує виражений взаємозв'язок [116]. Тому на наступному етапі роботи визначали співвідношення між температурою тіла, коефіцієнтом виживання та вмістом тироксину в сироватці крові у тварин трьох різних експериментальних груп: тварин, що знаходилися на КОД, які пройшли період переїдання в РПО та контрольної групи, яку утримували в стандартних умовах віварію.

### **3. 1. 2 Вивчення вмісту гормонів щитоподібної залози у тварин з переїданням в РПО і що знаходяться на КОД**

Необхідно зазначити, що вміст тироксину в сироватці крові тварин, що переїдали в РПО, був достовірно вищим у щурів 3-, 20- і 31- міс. віку порівнянню з контролем (Рис. 3.4А). Однак, в онтогенезі його вміст змінювався по-різному. Вміст тироксину в сироватці крові контроліх тварин в онтогенезі з 3- до 31-міс. віку зменшувався (Рис. 3.4). Так, у 31-міс. тварин його містилось на 32 % менше порівняно з 3-міс. тваринами (Рис. 3.4А). У той же час його вміст зі збільшенням віку тварин з переїданням в РПО не змінювався і в 31-міс. тварин з переїданням в

РПО тироксину містилось на 46 % більше, ніж у контрольних тварин того ж віку. (Рис. 3.4А).

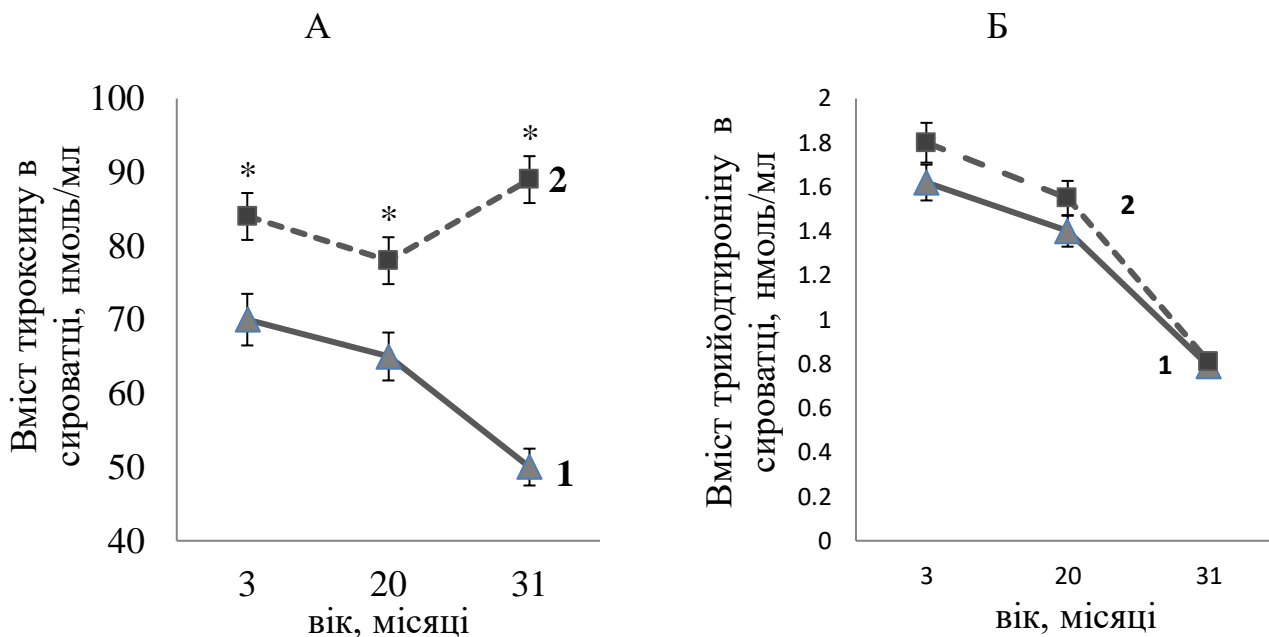


Рис. 3.4 Вміст тироксину (А) і трийодтироніну (Б) у сироватці крові контрольних тварин (1) та тварин, які переїдали в РПО (2) в 3-, 20- і 31-міс. віці; \* - достовірна різниця між групами ( $P < 0,05$ ). В дослідженнях використано 5 тварин в кожній експериментальній групі

Вміст тироксину в сироватці крові 3-міс. тварин з переїданням в РПО був достовірно вищим на 20 % порівняно з контрольними тваринами цього ж віку (Рис. 3.4).

Вміст трийодтироніну в онтогенезі контрольної групи тварин незначно і майже лінійно з 3- по 31- міс. вік зменшувався в 2,2 рази (Рис. 3.4Б). Концентрація трийодтироніни в сироватці крові щурів з переїданням в РПО не відрізнялася від такої у контрольних тварин, і також зменшувалася в 2,2 рази до 31-міс. віку порівняно з 3-міс. тваринами (Рис. 3.4Б).

Отже, переїдання в РПО супроводжувалось зростанням концентрації вмісту тироксину у таких тварин. Підвищений рівень цього гормону зберігався протягом

усього період онтогенезу, а на пізніх етапах відмінності між контролем та дослідними тваринами навіть зростали [1, 10].

На наступному етапі роботи визначали «узгодженість» змін виживання контрольної та досліджуваної груп тварин та вмісту тироксину їх в сироватці крові. Виявилось, що між цими показниками існує чітка взаємозворотна залежність. Коефіцієнт виживання тварин після 30-денного утримання при 32 °С був найвищим у групі КОД, і у них був найнижчим вміст тироксину в сироватці крові (Рис. 3.5).

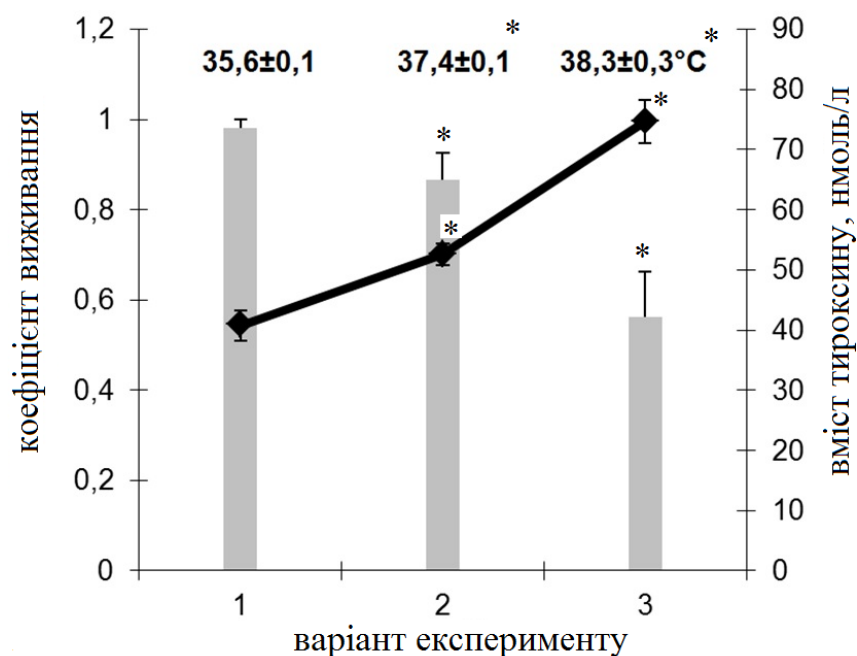


Рис. 3.5 Коефіцієнт виживання за Геханом (гістограми), вміст тироксину в сироватці крові (графік) і температура тіла через 30 днів утримання при температурі 32° С в різних експериментальних групах: 1 - КОД; 2 стандартна дієта; 3 - стандартна дієта з переїданням в РПО; \* - позначена достовірна різниця при  $P < 0,05$  у порівнянні з КОД . В дослідженнях використано 8 тварин групи 1, по 5 тварин в групі 2, 3

Зменшення коефіцієнту виживання після гіпертермії в контрольній групі і в групі з переїданням супроводжувалося лінійним збільшенням вмісту тироксину в

сироватці крові. При цьому спостерігали й взаємозв'язок цих показників з температурою тіла: пряму - з вмістом тироксину, зворотню – з тривалістю життя (Рис. 3.5). При цьому спостерігається виражений взаємозв'язок з температурою тіла і вмістом тироксину. Так, низький уміст тироксину у тварин, що утримувались на КОД, корелював зі зменшенням у цих тварин температури тіла ( $35,6^{\circ}\text{C}$  порівняно з  $37,4^{\circ}\text{C}$ ), а збільшення вмісту тироксину у тварин, що пройшли період переїдання в РПО, корелювало зі значним зростанням вмісту тироксину в сироватці [1, 10, 93].

Отже, підвищений вміст тироксину збігався зі зменшенням коефіцієнта виживання таких тварин і підвищенням температури тіла, і навпаки, зменшення вмісту тироксину від контрольного рівня збігалося зі збільшенням коефіцієнту виживання та зниженням температури тіла тварин [1, 93, 148]. Ці результати підтверджують дані, отримані раніше на іншій експериментальній моделі [116].

### **3. 1. 3 Деякі характеристики показників прооксидантної системи у тварин в онтогенезі, що пройшли період переїдання в РПО**

Як відомо, активно обговорюється вільнорадикальна гіпотеза старіння, проте, остаточного підтвердження вона поки що так і не отримала. В якості доказів ведеться пошук взаємозв'язку між тривалістю життя та кількістю продуктів вільнорадикальних реакцій, що утворюються, або кореляції між кількістю антиоксидантів та тривалістю життя. Однак встановити таку кореляцію поки що не вдалося. Це може пояснюватися тим, що як антиоксиданти, так і продукти вільнорадикальних реакцій виконують велику кількість різноманітних функцій. У зв'язку з цим, необхідно дослідити характеристики про-антиоксидантної системи на різних експериментальних моделях і протягом онтогенезу. В такому випадку можна зрозуміти роль про-антиоксидантної системи в механізмах регуляції

метаболічних процесів. Ми вважаємо, що модель РПО може бути одним з підходів при дослідженні ролі про-антиоксидантної системи в регуляції тривалості життя.

Необхідно відмітити, що вміст гідроперекисів ліпідів у 3-, 20- і 31-місячних щурів в сироватці крові змінювались незначно. Так їх вміст незначно зменшувався у 20-міс. тварин порівняно з 3-міс., а у 31-міс. вони не відрізнялись від 3-міс. (Рис. 3.6 А)

Вміст гідроперекисів ліпідів у сироватці крові 3-міс. тварин з переїданням в РПО хоча і незначно, але достовірно перевершував контрольний рівень (Рис. 3.6). Це переважання дослідних (переїдання в РПО) тварин зберігалось такими ж у 20-, так і у 31-міс. тварин (Рис. 3.6).

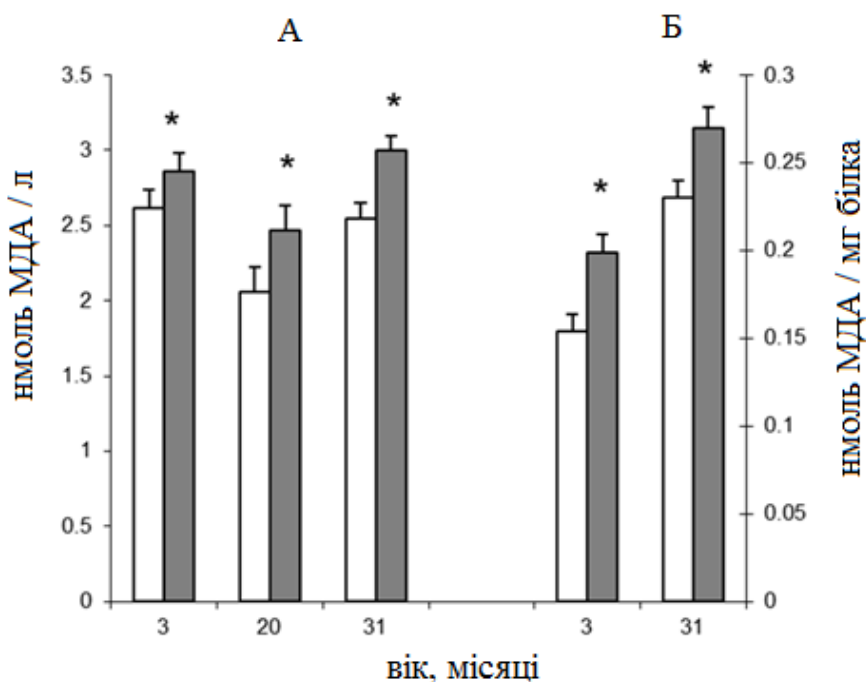


Рис. 3.6 Вміст гідроперекисів ліпідів в сироватці крові (А) і у фракції мікросом (Б) у 3-х, 20-ти і 31-міс. тварин контрольної групи (□) і тварин з переїданням в РПО (■); \* - різниця достовірна ( $P < 0,05$ ) порівняно з контролем. В дослідженнях використано 5 тварин в групі

Отже, збільшення вмісту гідроперекисів ліпідів у сироватці тварин, що пройшли період переїдання в РПО, зберігається на всьому онтогенезі незалежно від подальших умов утримання тварин, тобто «запам'ятовується» на метаболічному рівні.

Як відомо, найбільша кількість вільних радикалів утворюється в мітохондріях, зокрема, печінки, і фракції мікросом мембран ендоплазматичного ретикулуму.

Уміст гідроперекисів ліпідів у фракції мікросом печінки 3-міс. тварин був достовірно вище (на 29 %) контрольного рівня, і ця різниця зберігалася, хоча й була виражена в меншій мірі, у 31-міс. тварин (Рис. 3.6Б).

Вміст гідроперекисів ліпідів у мікросомах старих 31-міс. контрольних тварин був вищим на 49 % порівняно з 3-міс. тваринами. У групі тварин з переїданням в РПО ця різниця залишалася подібною і становила 36 % (Рис. 3.6Б).

Отже, перегодовування тварин в РПО супроводжувався збільшенням вмісту продуктів вільнорадикальних реакцій в сироватці крові і мікросомах печінки, і характеристика цього показника зберігалася протягом усього онтогенезу. Збільшення вмісту гідроперекисів ліпідів у тварин з переїданням в РПО може бути обумовлено зменшенням у них активності антиоксидантних ферментів.

### **3. 1. 4 Дослідження активності деяких ферментів антиоксидантного захисту у тварин, що пройшли період переїдання в ранньому онтогенезі**

Як відомо, глутатіонпероксидаза каталізує відновлення окисленого глутатіону, який є одним із основних небілкових антиоксидантів.

Активність глутатіоредуктази (ГР) у фракції цитозолу клітин печінки 3 міс. тварин, які пройшли період переїдання в РПО, не відрізнялася від контрольного рівня (Табл. 3.3). Як відомо, важливим ферментом глутатіонового циклу є глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа (Г6ФД). Вона забезпечує утворення НАДФ-Н в

клітини із НАДФ+. НАДФ·Н необхідний для підтримання рівня відновленого глутатіону в клітині. Відновлений глутатіон виконує антиоксидантну функцію в клітині. Визначення її активності у 3-міс. тварин, що пройшли період переїдання в РПО, показало, вона достовірно не відрізнялась від контрольного рівня (Табл. 3.3.).

У 3-міс. тварин, що пройшли період переїдання в РПО, активність ізоцитратдегідрогенази також не відрізнялась від такої контрольних тварин (Табл. 3.3.), що свідчить про те, що активність енергетичного обміну не відрізнялась суттєво від контрольних тварин.

У той же час, активність NO-синтезу (NOS) в цитоплазмі 3-міс. тварин була на 27 % вище контрольного рівня (Табл. 3.3), що вказує на збільшення у них продукції NO.

Таблиця 3.3

**Активність деяких ферментів антиоксидантного захисту у фракції цитозолу клітин печінки 3-міс. тварин контрольної групи та тварин з переїданням**

Групи тварин	Форми				
	ГР	МДГ	Г6ФДР	ЩДГ	NOS
Контроль	108,6±16,1	111,7±7,2	65,7±6,7	687,8±61,2	30,3±3,1*
Переїдання	100,4±7,4	99,3±9,3	72,4±8,7	618,8±43,3	38,5±1,4

Примітка: \* - різниця достовірна ( $P < 0,05$ ) в групах. В дослідженнях використано 5 тварин в групі

NOS контролює утворення оксиду азоту і цитруліну із аргініну, кисню і НАДФ. Необхідно відмітити, що оксид азоту в організмі ссавців утворюється у фагоцитуючих клітинах в процесі знищення бактеріальних клітин. Поряд з цим,

він приймає участь в нейтротрансмісії, регулюванні кровообігу та цілому ряді інших функціональних систем. В теперішній час виділено три ізоформи NOS.

Особливу роль у системі антиоксидатного захисту відіграє глутатіонпероксидаза (ГП). Це родина ферментів, які каталізують відновлення гідроперекисів ліпідів у відповідні спирти і відновлення перекису водню до води. В теперішній час відомо 8 форм ГП, які відрізняються за місцем локалізації в організмі. Більша частина ГП представляє собою селеновмісні тетрамірні білки і глікопротеїни.

Необхідно зауважити, що глутатіон, глутатіонпероксидаза і глутатіонредуктаза утворюють глутатіонову антиоксидантну систему. Глутатіон не лише виконує антиоксидантні функції, але й визначає стан редокс-статусу внутрішньоклітинного середовища.

Тіолові групи в клітині знаходяться у відновленому стані (SH) в концентрації біля 5 мМ. Така висока концентрація глутатіону в клітині призводить до того, що він відновлює будь-який дисульфідний зв'язок (S-S), що утворюється між цистеїнвмісними білками цитозолу. При цьому відновлена форма глутатіону (GSH) під дією глутатіонпероксидази перетворюється в окислену (GSSG).

Відновлюється окислений глутатіон за участю глутатіонредуктази. Співвідношення (GSH/GSSG) в клітині є важливим параметром токсичності внутрішньоклітинного середовища. У зв'язку з цим активність глутатіонпероксидази є важливим показником антиоксидатної системи клітин та організму в цілому.

У наступній серії експериментів визначали активність ГП в сироватці крові експериментальних тварин. 3-, 20- і 32-міс. тварин, які пройшли період переїдання в РПО.

Виявили, що у 3-х міс. тварин активність ГП в сироватці тварин з переїданням була на 25 % нижче контролю, у 20-міс. тварин, навпаки вона

достовірно не відрізнялася, а у 31- міс. віку була достовірно нижче контролю на 25 % (Рис. 3.7).

Отже, ГП сироватки крові була знижена, за виключенням щурів 20-міс. віку. Ці результати добре корелюють з підвищеним вмістом у цих тварин в сироватці крові вмісту гідроперекисів ліпідів. Крім того, переїдання в РПО супроводжувалось пригніченням ГП і це співпадало зі зменшенням тривалості життя таких тварин.

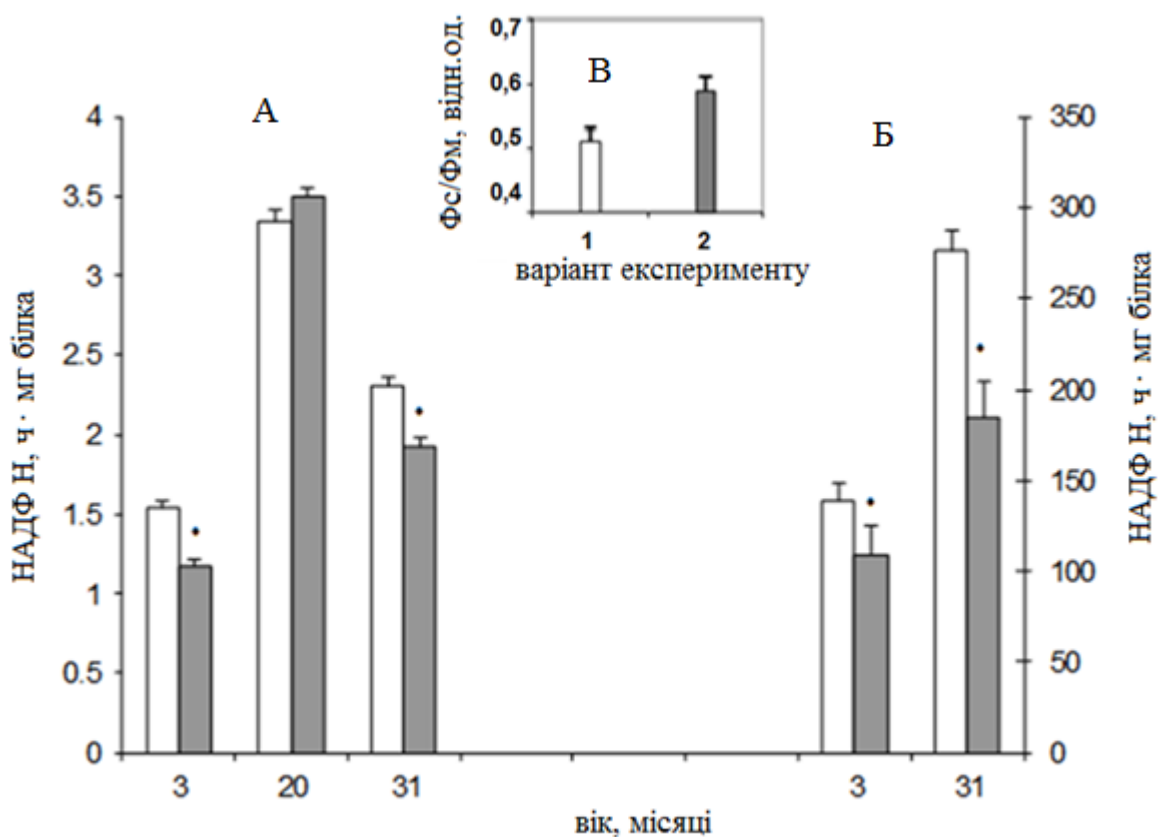


Рис 3.7 Активність глутатіонпероксидази в сироватці крові (А) та мікросомах (Б) печінки в контрольних групах щурів (□) і груп з переїданням в РПО (■); ступінь ексимерізації пірена (В) у контрольних (1) та тварин з переїданням в РПО (2); \* - різниця достовірна ( $P < 0,05$ ) в групах. В дослідженнях використано 5 тварин в групі

Як уже відмічалось, існує декілька ізоформ ГП, які локалізуються у різних компартментах клітини. В наступній серії робіт визначали активність ГП, яка локалізована у фракціях мікросом печінки щурів.

Виявилося, що активність ГП, яка локалізована в мікросомах печінки 3 міс. щурів що пройшли період переїдання в РПО, була на 22 % меншою в порівнянні з контрольними 3-міс. тваринами (Рис. 3.7Б).

Ще в більшій мірі активність цього ферменту була знижена порівняно з контрольними 31-міс. тваринами, які пройшли період переїдання в РПО (Рис. 3.7Б).

Отже, переїдання в ранньому періоді онтогенезу супроводжувалося підвищенням температури тіла, зниженням стійкості до гіпертермії, незначним скороченням тривалості життя при стандартних умовах утримання, збільшенням вмісту гідроперекисів ліпідів у сироватці крові і мембран ендоплазматичного ретикулуму, зниженням активності глутатіопероксидази, і ці зміни зберігалися протягом онтогенезу.

### **3. 1. 5 Дослідження активності NO-синтези в деяких тканинах тварин, які пройшли період переїдання в ранньому періоді онтогенезу**

Як відомо, оксид азоту відіграє важливу роль у функціонуванні органів і тканин ссавців. У 1989 р вперше була описана NO-синтаза L-аргінін, NADPH: кисень оксидоредуктаза - Є.с. 1.14.13.39 [167] (NOS), а з 1991 по 1994 рр. виділені три основні форми цього ферменту. NOS каталізує утворення оксиду азоту та цитруліну з аргініну, кисню і NADPH [166].

На даний час відомо, що NOS локалізована не лише в імунокомпетентних клітинах, а й нервовій тканині, в компонентах серцево-судинної системи, епітелію і інших тканинах [121, 199].

Було необхідно визначити активність NOS в мітохондріях та мікросомах печінки щурів, що пройшли період переїдання в РПО на деяких етапах онтогенезу, оскільки оксид азоту приймає участь в регуляції метаболізму.

Було виявлено, що загальна активність NOS в мітохондріях 3-міс щурів з переїданням в РПО була вищою за відповідний контроль на 37 % (Рис. 3.8А). У старих 31-міс. тварин активність NOS в мітохондріях була на 54 % вище відносно старих тварин, що утримувалися в стандартних умовах (Рис. 3.8А).

Ці результати свідчать про наявність NOS в мітохондріях, її активність у тварин, що пройшли період переїдання, збільшувалась.

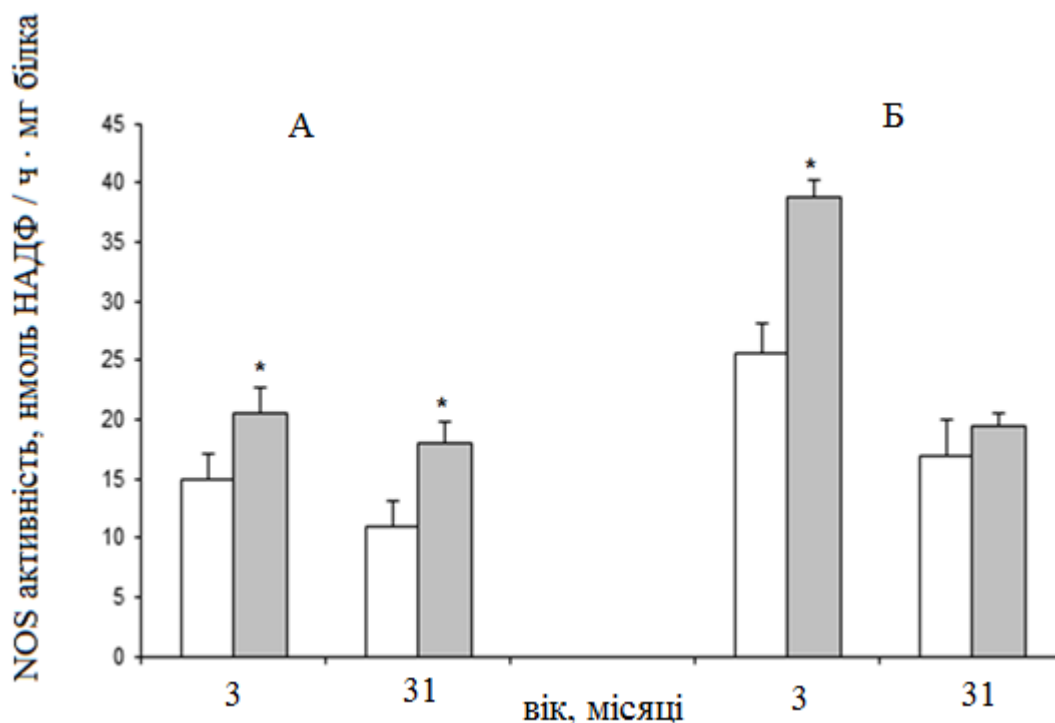


Рис. 3.8 Активність NOS в мітохондріях (А) та мікросомах (Б) печінки у 3- і 31-міс. щурів, що знаходилися на стандартному раціоні харчування (□) та на раціоні з перегодовуванням в РПО (■);\* - різниця достовірна ( $P < 0,05$ ) в групах. В дослідженнях використано 5 тварин в групі

Активність загальної NOS у фракції мікросом печінки 3-міс. тварин з переїданням була на 51 % вище відповідного контролю (Рис. 3.8В), а у старих тварин цієї різниці не виявлено (Рис. 3.8В).

Отже, активність NOS в мітохондріях і мікросомах змінювалась по різному в онтогенезі.

На наступному етапі роботи було визначено активність NOS у 20-міс. тварин контрольної і дослідної груп у різних тканинах.

В наступній серії експериментів визначали активність NOS у 20-міс. тварин, які пройшли передання в РПО, в різних тканинах: печінці, мозку, серці та селезінці.

Було виявлено, що активність NOS в печінці 20-міс. тварин з переїданням в РПО був вище відповідного контролю на 67 % (Рис. 3.9). Активність NOS в мозку 20-міс. щурів з переїданням вдвічі вища, ніж у контрольних тварин. В серці та в нирках вона також перевищила контрольний рівень відповідно на 40 % і 75 % (Рис. 3.9).

Відповідно, переїдання тварин в РПО супроводжувалося значним зростанням активності NOS у печінці, мозку, серці та нирках 20-міс. щурів. В найбільшій мірі переїдання індукувало підвищення активності NOS у мозку. Підвищена активність NOS у тварин з переїданням в РПО зберігалась до пізніх етапів онтогенезу [10].

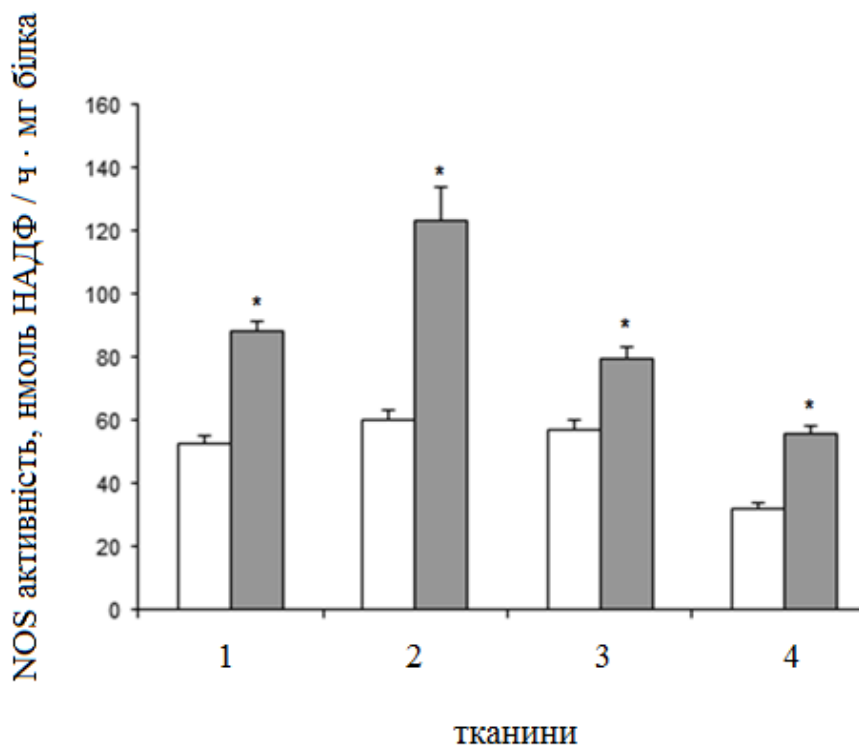


Рис. 3.9 Активність NOS в різних тканинах 20-міс. щурів контрольної групи (□) і груп з переїданням в РПО (■): 1 - печінка; 2 - мозок; 3 - серце; 4 – нирки. В дослідженнях використано 5 тварин в групі

Отримані результати свідчать про те, що переїдання в ранньому онтогенезі супроводжувалося метаболічним програмуванням, яке характеризувалося зміною редокс-системи організму, зсувом рівноваги в бік прооксидантів, збільшенням кількості тироксина на тлі зниження адаптивних можливостей до гіпертермії та скорочення тривалості життя. Можна припустити, що в цій метаболічній ланці важлива, а може бути, і визначальна роль належить тироксину, як наслідок, функції щитоподібної залози [113].

### Заключення до підрозділу 3. 1

Переїдання з моменту народження до 1-міс. віку у щурів супроводжувалося збільшенням маси тіла на 30 % порівняно з відповідним віковим контролем. Таке переїдання супроводжувалося формуванням нового специфічного метаболічного

патерну. Для такого метаболічного патерну було характерно збільшення вмісту тироксину і зміна показників редокс-систем (Рис. 3.10).



Рис. 3.10 Метаболічний патерн, характерний для 3-міс. щурів, що пройшли період переїдання в РПО. В дослідженнях використано 5 тварин в групі

- |    |  |    |                         |
|----|--|----|-------------------------|
| 1. | тироксин в сироватці крові                       | 9  | активність NOS в нирках |
| 2. | трийодтиронін                                    | 10 | активність NOS в мозку  |
| 3. | вміст гідроперекисів ліпідів в сироватці крові   | 11 | активність ГП           |
| 4. | вміст гідроперекисів ліпідів в мікосомах печінки | 12 | активність ГР           |
| 5. | ексимеризація пірена                             | 13 | активність МДГ          |
| 6. | активність NOS в мітохондріях і цитозолі         | 14 | активність Г6ФДР        |
| 7. | активність NOS в печінці                         | 15 | активність ІЦДГ         |
| 8. | активність NOS в серці                           |    |                         |

На діаграмі показано зміни показників у відсотках по відношенню до контролю, який прийняли за 100 %.

Такий специфічний метаболічний патерн зберігався з невеликими кількісними змінами протягом всього онтогенезу, тобто програмувався на етапі онтогенезу від народження до 1-міс. віку. Для тварин з таким специфічним метаболічним патерном було характерним підвищення температури тіла в середньому на 1 °С, вони мали дещо меншу здатність переносити (адаптуватися) до підвищеної температури утримання (32 °С).

### **3. 2 Зв'язок тривалості життя, тиреоїдного статусу і термогенезу на моделі КОД та експериментального гіпертиреозу**

#### **3. 2. 1 Зв'язок тривалості життя, тиреоїдного статусу у тварин, що знаходилися на КОД**

Як відомо, калорійно-обмежена дієта є однією з визнаних моделей експериментального підвищення тривалості життя [9]. Дослідженню механізмів підвищення тривалості життя після переведення тварин на КОД присвячена велика кількість робіт [122, 126, 180, 187]. Однак механізм підвищення тривалості життя в цій моделі залишається не зрозумілим. Як відзначав професор Анісімов В. М. «без розгадки цього явища створення теорії старіння навряд чи можливо» [2]. У зв'язку з цим, дослідження взаємозв'язку тиреоїдного статусу і термогенезу у тварин, що знаходяться на КОД, представляє великий інтерес.

Переведення одномісячних щурів на КОД, супроводжувалося збільшенням тривалості життя порівняно з тривалістю життя тварин, що утримувалися на звичайному режимі годування (Рис. 3.11).

Варто зауважити, що якщо в групі контрольних тварин після 20-міс. віку спостерігається інтенсивне вимирання і максимальна тривалість життя у цієї

когорти становила 32-33 місяці, то у тварин, що знаходилися на КОД, вимирання носило поступовий характер і максимальна тривалість життя у такої когорти становила 46 міс., що на 43 % вище контролю (Рис. 3.11).

Необхідно відзначити, що ректальна температура тіла у онтогенезі щурів, що знаходилися на КОД, була достовірно нижчою контрольних тварин на 2 °С у 4-5 міс. і на 4 °С у 30-міс. тварин. Так, температура тіла у 30-міс. щурів на КОД знизилась до 34 °С (Рис. 3.11, гістограма).

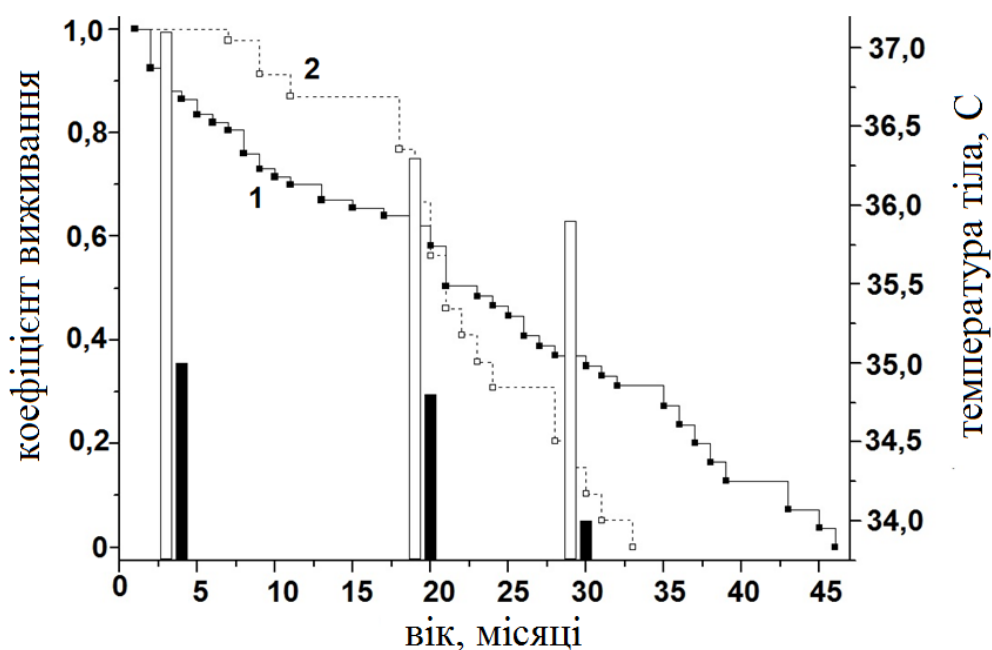


Рис. 3.11 Тривалість життя щурів контрольної групи (1) і групи, яка перебувала на КОД з віку 1 міс. (2), та температура тіла щурів на різних етапах онтогенезу у контрольних (□), і у щурів, що утримувалися на КОД (■). В дослідженні використано 25 тварин

Ці результати вказують на те, що старі тварини, які знаходились на КОД, можуть бути охарактеризовані як тварини з гіпометаболічним станом. Як зазначено в огляді літератури, гіпобіоз супроводжувався підвищенням тривалості

життя. Плавная крива життєдіяльності щурів з 20-міс. віку співпадала зі зниженням температури тіла, що «сприяло» підвищенню тривалості життя у них. Отже, зниження температури тіла у тварин на КОД можна інтерпретувати як адаптивну реакцію, спрямовану на підвищення тривалості життя. Більше того, як було показано, що 20-міс. тварини, що містяться на КОД, мали значно більшу стійкість до гіпертермії, що добре узгоджується з їх зниженою температурою тіла. Раніше було показано, що тварини, які перебували на КОД, не втрачають здатності до регенерації печінки після часткової гепатектомії [9].

Зниження температури тіла у тварин, що знаходяться на КОД, спостерігалось на тлі достовірного зниження вмісту тироксину на 35-39 % і трийодтироніна на 50 % (Рис. 3.12).

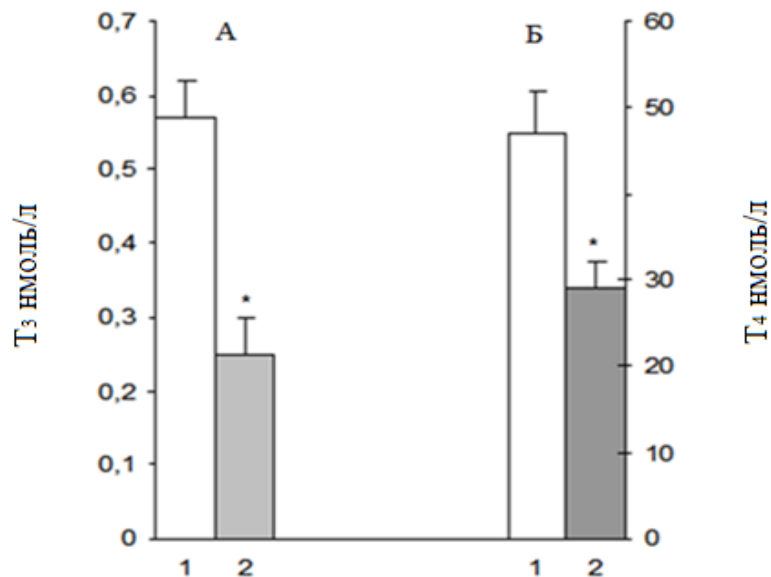


Рис. 3.12 Вміст трийодтироніну Т3 (А) і тироксину Т4 (Б) у сироватці крові щурів: (1) - тварини в групі «контролю», (2) - тварини, що знаходилися на КОД; \* - різниця достовірна ( $P < 0,05$ ) порівняно з контролем. В дослідженнях використано 8 тварин

Необхідно відзначити, що у випадку переїдання в ранній період онтогенезу та скорочення тривалості життя тварин мало місце збільшення вмісту тироксину, і не так значно, як його зменшення при КОД. При цьому у таких тварин спостерігалось й значне зменшення у них у сироватці крові рівня трийодтироніну.

Отже, між вмістом тиреоїдних гормонів, температурою тіла та тривалістю життя у тварин, що знаходяться на КОД, існує тісний взаємозв'язок.

Раніше було показано, що регулярне споживання тироксину з питною водою супроводжувалося розвитком гіпертиреозу і скороченням середньої тривалості життя щурів [116].

Для підтвердження і дослідження цього взаємозв'язку тваринам давали споживати з питною водою тироксин протягом двох місяців, починаючи з 17-міс. віку, що супроводжувалося збільшенням тироксину в сироватці крові у таких тварин майже вдвічі. При цьому у них збільшувався і вміст трийодтироніну на 48 % (Табл. 3.4). Це свідчить про ефективну конверсію  $T_4$  у  $T_3$ , в якій приймає участь селензалежна монодейодиназа.

Таблиця 3.4

**Середні значення температури тіла, вмісту тироксину і трийодтироніну в сироватці крові контрольних 19-міс. щурів і щурів із 2-х місячним гіпертиреозом, які протягом 2 місяців отримували екзогенний тироксин**

Показник	Контроль	Гіпертиреоз
Вміст тироксину, нмоль/л	$30,98 \pm 2,03$	$60,18 \pm 7,02^*$
Вміст трийодтироніну, нмоль/л	$0,66 \pm 0,04$	$0,98 \pm 0,11^*$
Ректальна температура, $^{\circ}\text{C}$	$36,3 \pm 0,3$	$38,2 \pm 0,3^{**}$

Примітка: зірочкою позначено достовірну різницю ( $P < 0,05$ ) порівняно з контролем. В дослідженнях використано 5 тварин в кожній групі

Температура тіла у щурів з таким експериментальним гіпертиреозом була майже на 2 °С вище середньої температури тіла контрольних тварин (Табл. 3.4).

Відповідно, між вмістом тироксину в крові, ректальною температурою тварин та тривалістю їх життя існує взаємозв'язок, який проявляється не лише на моделі КОД, але й у випадку тривалого вживання екзогенного тироксину (тобто, індукованого гіпертиреозу (ІГ)) [1].

Як відомо, зміна температури тіла відображає баланс між теплопродукцією та тепловіддачею організму. У випадку ІГ ми спостерігали збільшення теплопродукції, а це, в свою чергу, може супроводжуватися і зміною морфологічних та вагових характеристик таких тварин. Маса тіла 19-міс. щурів з експериментальним 2-х місячним гіпертиреозом була менше контрольних тварин на 36 % (Табл. 3.5). Зменшення маси тіла щурів на тлі стабільного підвищення температури тіла переконливо свідчить про збільшення теплопродукції у цих тварин. У такому випадку можна очікувати підвищення функціонального навантаження на печінку як одного з органів енергетичного обміну організму.

Таблиця 3.5

**Зміни маси тіла тварин, маси печінки і співвідношення білка мітохондріальної фракції 19-міс.щурів з 2-х місячним гіпертиреозом**

Показник	19-ти місячні щурі	
	Контроль	Гіпертиреоз
Маса тварини, г	407,5 ± 7,5	264,0 ± 6,0*
Маса печінки, г	9,3 ± 0,36	10,9 ± 0,76
Співвідношення маси тварин до маси печінки, г/г × 10 <sup>-2</sup>	2,3 ± 0,10	4,2 ± 0,2*
Співвідношення білку мітохондріальної фракції до маси тіла тварини, г/г × 10 <sup>-4</sup>	2,9 ± 0,3	4,7 ± 0,68*

Примітка: середні значення з 5-9 повторностей при P <0,05 у порівнянні з контрольним варіантом

Виявилося, що маса печінки у щурів з ІГ була дещо збільшеною, а з урахуванням маси тіла, відносна маса цього органу була майже вдвічі більше контрольних тварин (Табл. 3.5). Можна очікувати, що збільшення відносної маси печінки буде супроводжуватися збільшенням кількості мітохондрій в розрахунку на одиницю маси тварини.

Було виявлено, що вміст білка у фракції мітохондрій, виділених з печінки щурів з ІГ, була збільшеною в 1,6 рази порівнянно з контрольними тваринами в розрахунку на масу тварини (Табл. 3.5).

Відповідно, підвищення температури тіла у тварин з ІГ при відставанні їх за масою з відносним збільшенням маси печінки та кількості мітохондрій свідчить про значне збільшення вуглеводневого та ліпідного обміну, який супроводжувався посиленням теплопродукції, відставанням у зростанні маси тіла.

Можно очікувати, що ці метаболічні перебудови на тлі гіпертиреозу мають не лише кількісний, але й якісний кооперативний характер. У зв'язку з цим можна припустити, що в мітохондріях печінки будуть змінюватися і їх структурні характеристики.

Відомо, що одним з інтегрованих показників структурно-функціонального стану мітохондрій є швидкість їх набрякання [28, 37]. Визначення швидкості Са-індукованого набрякання мітохондрій у 1-, 3- та 24-міс. контрольних щурів показав наявність вираженої вікової залежності цього показника (Рис. 3.13).

Час напівнабрякання мітохондрій у 19-міс. щурів з гіпертиреозом був утричі меншим порівняно з контрольними тваринними ( $0,28 \pm 0,03$ ) хв. та ( $0,91 \pm 0,07$ ) хв. відповідно (Рис. 3.13).

Отже, ІГ характеризується кооперативними змінами метаболізму, що торкаються й функціональної характеристики печінки, і зокрема структурних особливостей мітохондрій таких тварин.

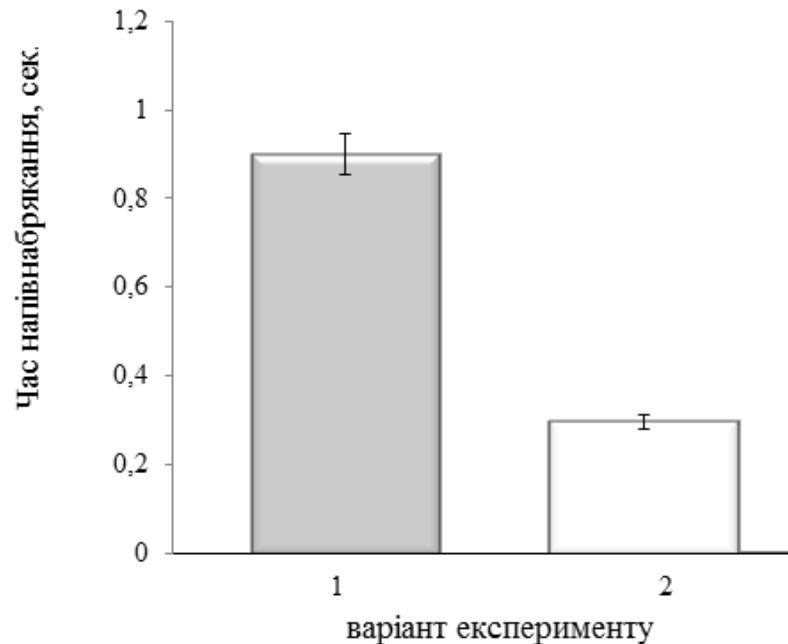


Рис. 3.13 Час напінабрякання мітохондрій печінки 19-місячних контрольних щурів (1) та щурів 19-місячного віку з індукованим гіпертиреозом (2). В дослідженнях використано 5 тварин в кожній групі

### 3. 2. 2 Функціональна активність мітохондрій печінки у гіпертиреоїдних щурів

Центральну роль в регуляції термогенезу займають мітохондрії. Поряд з цим, мітохондрії не лише забезпечують організм молекулами, «багатими» на енергію. Вони є одним із основних джерел активних форм кисню. Ефективність теплопродукції в організмі визначається особливістю функціонування мітохондрій в м'язовій тканині і печінці. У зв'язку з цим, на наступному етапі роботи визначали функціональну активність мітохондрій печінки у тварин з гіпертиреоїдним статусом.

Виявилося, що швидкість нефосфорилуючого окислення сукцинату стану ( $V_2$ ) за Гансом в ізольованих мітохондріях печінки щурів з ІГ була збільшеною на 57,2 %, а швидкість фосфорилуючого окислення стану ( $V_3$ ) за Гансом на 16 % порівнянно з контрольними тваринами (Табл. 3.6). Показник ступеню сполучення - дихальний контроль (ДК) у дослідних щурів був знижений на 24 % (Табл. 3.6), що вказує на прояв ефекту роз'єднання дихання і фосфорилування.

Таблиця 3.6

**Швидкість споживання кисню, дихальний контроль (ДК) в мітохондріях печінки щурів при використанні різних субстратів окислення.**

Параметр	Контроль	Дослід
Субстрат окислення – сукцинат		
$V_2$ , наноатом О/хв.мг білка	41,82±2,04	65,74±6,48*
$V_3$ наноатом О/ хв.мг білка	157,6±9,38	183,6±15,50
ДК	3,78±0,20	2,86±0,31*
Субстрат окислення – $\alpha$ -гліцерофосфат		
$V_2$ , наноатом О/ хв.мг білка	10,67±0,76	35,09±3,47*
$V_3$ наноатом О/ хв.мг білка	10,57±1,50	40,97±3,98*
ДК	0,98±0,09	1,18±0,09
Субстрат окислення – $\beta$ -оксибутират		
$V_2$ , наноатом О/ хв.мг білка	16,87±1,88	14,94±1,72*
$V_3$ наноатом О хв.мг білка	69,00±5,2	19,81±3,99*
ДК	4,23±0,46	1,47±0,28*

Примітка: представлені середні значення з 5-9 дослідів. Зірочками позначені відмінності ( $P < 0,05$ ) у порівнянні з контролем

Більші виражені відмінності між щурами з ІГ і контрольними тваринами виявлялися при окисленні другого субстрату  $\alpha$  - гліцерофосфату в мітохондріях. Споживання кисню мітохондріями при нефосфорилуючому окисленні (V2) збільшувалася в 3,5 рази, а фосфорилуючого - в 3,9 разів. При цьому дихальний контроль залишався незмінним (Табл. 3.6).

При окисленні  $\beta$ -оксибутирату мітохондріями печінки щурів з ІГ, навпаки, фосфорилуюче окислення зменшувалось у 3,6 разів, нефосфорилуюче окислення не змінювалось, а дихальний контроль зменшувався втричі (Табл. 3.6).

Отримані результати свідчать про дію тироксину як роз'єднувача окисного фосфорилування в мітохондріях, що і проявлялося посиленням теплопродукції у щурів з індукованим гіпертиреозом.

Можна вважати, що такі зміни в мітохондріях будуть супроводжуватися й посиленням вільно-радикальних процесів. У зв'язку з цим на наступному етапі роботи визначали деякі показники вільнорадикальних процесів в мітохондріях і мікросомах тварин з індукованим гіпертиреозом, оскільки саме вони вносять основний вклад у формування редокс-системи організму і можуть бути зв'язані з прискоренням процесів старіння.

### **3. 2. 3 Інтенсивність вільнорадикальних процесів в мітохондріях і мікросомах печінки щурів з індукованим гіпертиреозом**

Великий інтерес представляє встановлення можливого взаємозв'язку між ефектом роз'єднання окисного фосфорилування і продукції вільних радикалів. Як відомо, роз'єднувачі порушують систему узгодження процесів окислення в дихальному ланцюгу і фосфорилування. В таких умовах концентрація АТР або Р не являється лімітуючим фактором регуляції і процес дихання стає не контрольованим.

Показано, що такий відомий роз'єднувач як динітрофенол, викликає витік H<sup>+</sup> через мітохондріальну мембрану і значно зменшує електрохімічний протонний градієнт. В цьому відношенні тироксин можна розглядати як природний роз'єднувач, а сам процес роз'єднання як механізм термогенезу.

Раніше в нашому інституті було показано, що «помірне» незначне роз'єднання окисного фосфорилування 2,4 – динітрофенолом призводило до збільшення тривалості життя *Drosophila melanogaster* [61].

Оскільки роз'єднувачі порушують дихальний контроль, тобто стимулюють дихання за відсутності синтезу АТФ і стимулюють гідроліз АТФ у самих мітохондріях, збільшуючи таким чином теплопродукцію. Такий ефект пояснюється і зменшенням маси тіла у тварин з гіпертиреозом та постійне підвищення температури на 1,5- 2 °С, що було показано в попередньому розділі.

На наступному етапі визначали основні показники про-антиоксидантної системи.

Генерація супероксидних радикалів в мітохондріях печінки щурів з ІГ була збільшена порівнянно з контрольною групою на 50 % (Рис. 3.14). Як відомо, поряд з мітохондріями, ще одним «субстратом» генерації активних форм кисню є NAD (P) H-залежні редокс-ланцюги ендоплазматичного ретикулуму [7].

Виявили значне збільшення генерації супероксидних радикалів в мітохондріях і мікросомах печінки щурів з ІГ має супроводжуватися й збільшенням вмісту продуктів ПОЛ. Було виявлено, що вміст ТБК-активних продуктів, про який судили за кількістю МДА, у них було збільшено як і в мітохондріях (на 48 %), так і в мікросомах (на 31 %, Рис. 3.14. ).

Отже, збільшення теплопродукції в мітохондріях печінки щурів з ІГ супроводжувалося і збільшенням інтенсивності вільнорадикальних процесів, як в мітохондріях, так і в мікросомах.

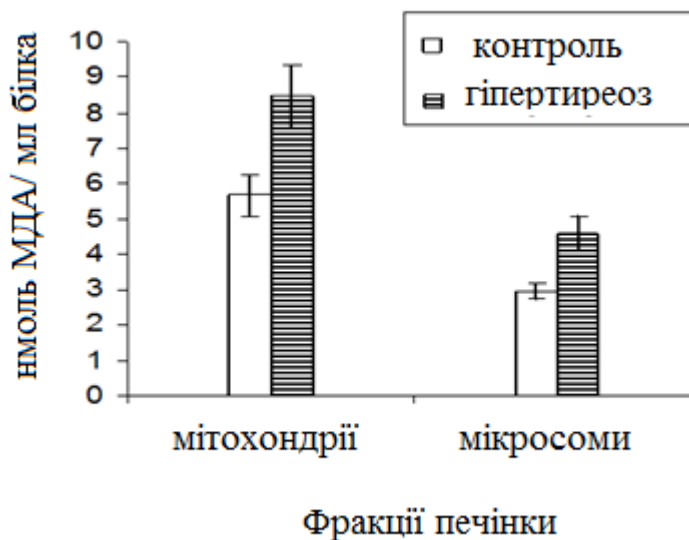


Рис. 3.14 Інтенсивність генерації супероксидного радикалу у фракціях мітохондрій і мікросом печінки контрольних 19-міс. щурів і щурів з гіпертиреозом. Представлені середні значення з 5-ти експериментів

В інактивації гідроперекисів та інших токсичних сполук вільнонорадикального походження приймають участь ферменти родини глутатіонпероксидази, які мають різну клітинну локалізацію і субстратну специфічність. Глутатіонпероксидази, локалізовані в мітохондріях тварин з ІГ, не відрізнялися за активністю від цих ферментів в мітохондріях контрольних тварин (Табл. 3.7).

Активність мітохондріальної глутатіонредуктази, яка приймає участь в реакції відновлення глутатіону, також не відрізнялася від контрольних тварин (Табл. 3.7).

Однак, глутатіон-S-трансфераза, яка є багатофункціональною родиною ферментів, відіграє важливу роль в метаболізмі ксенобіотиків, ліпідів і продуктів вільнорадикальних реакцій була знижена у тварин з індукованим гіпертиреозом на 70% порівняно з контрольними тваринами в мітохондріях печінки (Табл. 3.7.)

Таблиця 3.7

**Активність деяких ферментів антиоксидантного захисту мітохондрій печінки контрольних тварин і тварин з 2-міс. гіпертиреозом**

Ферменти	Контрольна група	Група з гіпертиреозом
Глутатіонпероксидаза, індукована перекисом водню	101,1± 15,2	89,3±25,5
Глутатіонпероксидаза, індукована гідроперекисом кумолу	123,3±20,4	102,4±23,2
Глутатіонредуктаза	26,1±1,6	29,5±1,9
Глутатіон-S-трансфераза	164,4±1,6	96,3±4,1*

Примітка: представлені середні значення з 5 дослідів, \* позначені відмінності при  $P < 0,05$  у порівнянні з контролем

Як відомо, найбільша кількість глутатіонпероксидази локалізується в цитоплазмі клітин. Визначення активності глутатіонпероксидази в цитоплазмі показало, що у щурів з ІГ обидві досліджувані форми глутатіонпероксидази були менш активними на 30 % в порівнянні з контрольними тваринами (Табл. 3.8). Це свідчить про зміщення рівноваги в системі про-антиоксиданти в бік прооксидантів, тобто окислювачів. Активність глутатіонредуктази залишалася незмінною порівняно з контрольним рівнем, а глутатіон-S-трансфераза була менш активною вдвічі у порівнянні з контролем (Табл. 3.8).

Отже, глутатіон-S-трансфераза як в мітохондріях, так і цитозолі клітин печінки була значно пригнічена з тварин з гіпертиреозом.

При цьому активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, яка забезпечує утворення НАДФ-Н і підтримання рівня відновленого глутатіону, у тварин з ІГ була збільшена в 2,8 рази порівняно з контролем (Табл. 3.8).

Можна припустити, що майже трикратне збільшення активності Г6ФДГ у тварин з гіпертиреозом на тлі зменшення активності глутатіон-S-трансфераз є компенсаторною реакцією, яка спрямована на збільшення вмісту глутатіону. Отже, на тлі гіпертиреозу формується специфічний метаболічний патерн, що підтверджує результати попереднього розділу

Таблиця 3.8

**Активність деяких ферментів антиоксидантного захисту в цитозолі клітин печінки контрольних тварин і тварин з 2-х місячним гіпертиреозом**

Ферменти	Контрольна група	Група з гіпертиреозом
Глутатіонпероксидаза, індукована перекисом водню	100,9± 6,4	77,4±6,7*
Глутатіонпероксидаза, індукована гідроперекисом кумолу	254,7±11,8	185,8±15,0*
Глутатіонредуктаза	40,6±1,3	38,0±1,3
Глутатіон-S-трансфераза	745,3±59,0	354,8±26,2*
Глутатіон-6-фосфатдегідрогенази	22,8±2,7	66,1±8,1*

Примітка: представлені середні значення з 5 дослідів, \* позначені відмінності при  $P < 0,05$  у порівнянні з контролем

На наступному етапі роботи досліджували зміни активності малатдегідрогенази і ізоцитратдегідрогенази в мітохондріях і цитоплазмі печінки щурів з гіпертиреозом. Активність малатдегідрогенази (МДГ) в мітохондріях щурів з ІГ була збільшена в порівнянні з контролем в 1,6 рази (Рис. 3.15). Однак

при цьому активність ізоцитратдегідрогенази, навпаки, була в 1,5 рази нижче порівняно з контролем (Рис. 3.15).

Відомо, що існують дві форми малатдегідрогенази: одна локалізована в мітохондріях, а друга – в цитоплазмі, і співвідношення активності цих форм в різних органах різне [57]. Було цікаво визначити співвідношення активності мітохондріальної і цитоплазматичної МДГ в печінці контрольних і щурів з ІГ.

Виявилося, що активність МДГ в цитоплазмі печінки в декілька разів вище в порівнянні з мітохондріальною, а в цитоплазмі клітин печінки щурів з ІГ вона була вище в порівнянні з такою в контрольній групі в 6,8 разів (Рис. 3.15 А). При цьому активність ізоцитратдегідрогенази в цитоплазмі клітин печінки щурів з ІГ була, як і в мітохондріях в 1,4 рази нижче контролю (Рис. 3.15 Б).

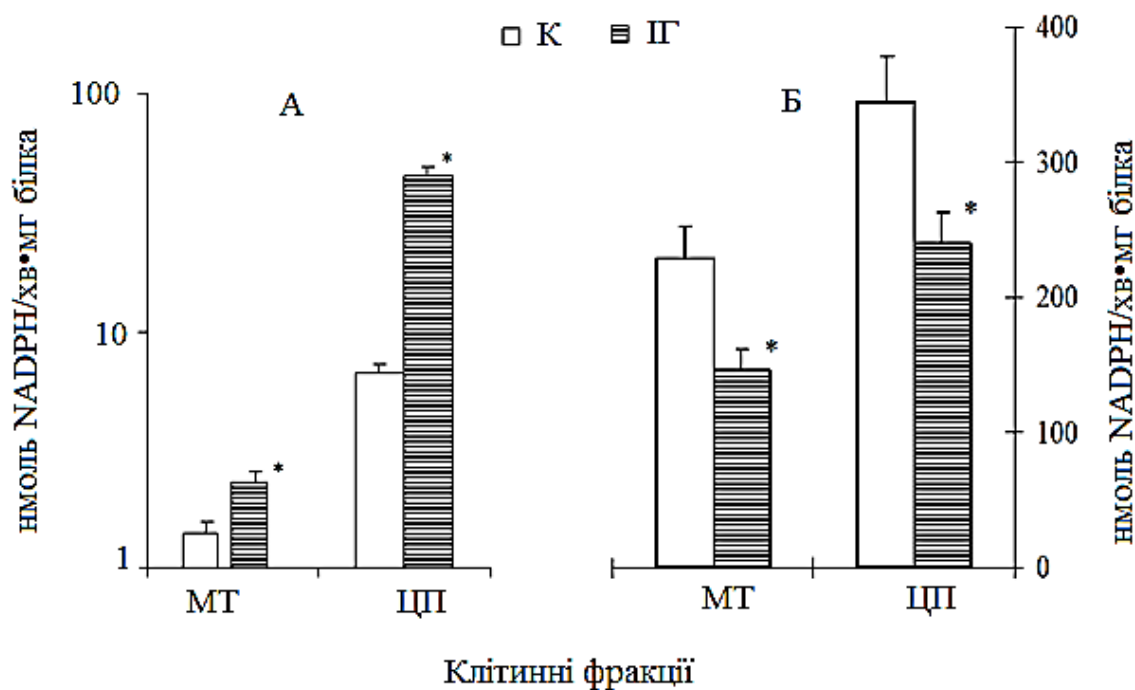


Рис. 3.15 Активність малатдегідрогенази (А) і ізоцитратдегідрогенази (Б) в мітохондріях (МТ) і цитозолі печінки (ЦП) контрольної групи (□) і щурів з 2-х місячним гіпертиреозом (▨). В дослідженнях використано 5 тварин в кожній групі

Співвідношення активності МДГ в мітохондріях / цитоплазмі клітин печінки у контрольних тварин становило 4,7, а у щурів з ІГ - 19,6.

Отже, активність досліджених антиоксидантних ферментів як мітохондрій, так і клітин печінки в цілому або не відрізнялася від контрольного рівня, або ж була нижчою контрольних значень, при цьому формувалася новий внутрішньоклітинний патерн активності ряду ферментів. Зміна активності антиоксидантних ферментів в печінці щурів може супроводжуватися і зміною показників про- та антиоксидантної системи в організмі в цілому.

Для визначення цього досліджували деякі показники про- та антиоксидантної системи в сироватці крові.

### **3. 2. 4 Деякі показники активності прооксидантно-антиоксидантної системи в сироватці крові гіпертиреоїдних щурів**

Характеристика про-антиоксидантних систем печінки не завжди може відображати ці показники на рівні всього організму. У зв'язку з цим, були визначені показники, які характеризують про- і антиоксидантну системи в сироватці крові.

Було виявлено, що вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові щурів з ІГ був збільшений на 60 % порівняно з контролем (Табл. 3.9).

Вміст карбонільованих білків в сироватці крові був вищим на 30 % порівняно з контролем (Табл. 3.9).

Така чітко виражена активність прооксидантної системи у щурів з ІГ може бути пов'язана з низькою активністю ферментів антиоксидантного захисту у цих тварин.

Активність глутатіонпероксидази в сироватці крові щурів з ІГ була зниженою порівняно з контрольним рівнем на 37 % (Табл. 3.9).

## Показники сироватки крові 19-місячних щурів

Показник	Групи тварин	
	Контроль	Гіпертиреоз
Вміст ТБК-активних продуктів (нмольМДА/мг)	1,56 ± 0,07	2,50 ± 0,09*
Вміст карбонильованих білків (нмоль/мг білка)	2,17 ± 0,09	2,83 ± 0,12*
Активність глутатіонпероксидази (нмоль/мин.мг білка)	2429,0 ± 209,0	1553,0 ± 228,0*
Церулоплазмін (нмоль/мл)	1,34 ± 0,24	0,86 ± 0,15*

Примітка: представлені середні значення з 5 дослідів, \* позначені відмінності при  $P < 0,05$  у порівнянні з контролем

Як відомо, церулоплазмін сироватки крові може виконувати різноманітні функції, в тому числі і антиоксидантну [14, 19, 30, 32]. Його вміст у сироватці крові щурів з щурів з ІГ був зменшений також на 37 % (Табл. 3.9).

Отже, прооксидантна активність у 19-міс. щурів з 2-х міс. гіпертиреозом була збільшена не лише в печінці, а й в організмі в цілому, при цьому у тварин з гіпертиреозом була зменшена активність цілого ряду антиоксидантних ферментів.

Виявлений взаємозв'язок між змінами маси тіла, вмістом гідроперекисів ліпідів та активністю глутатіонпероксидази на різних моделях: переїдання в РПО. експериментальний гіпертиреоз і КОД вказує на його фундаментальну регуляторну роль в організмі при екстремальних умовах. Встановлення такого взаємозв'язку може бути перспективним діагностичним тестом при характеристиці різних функціональних станів, в тому числі пойкилотермних. У зв'язку з цим в наступній серії експериментів досліджували вміст гідроперекисів

ліпідів у фракціях печінки та активність глутатіонпероксидази у тварин, які знаходились на циклічному режимі харчування.

### 3. 2. 5 Вміст гідроперекисів і активність глутатіонпероксидази мітохондрій печінки молодих і старих тварин, що знаходились на циклічному режимі харчування

При переведенні тварин на циклічний режим годування (ЦРГ) щурі отримували таку кількість їжі, і в такому режимі, щоб вони за 14 днів втратили 25 – 30 % маси тіла від вихідної маси як для групи молодих (3-міс.), так і старих (19-20-міс.) тварин. Через 14 днів тварини переводили на такий режим харчування, при якому вони відновлювали свою масу тіла. Після цього тварин переводили на звичайний режим утримання на місяць, і повторювали другий цикл «втрата-відновлення маси тіла».

Було виявлено циклічні зміни маси тіла у молодих і старих тварин (Рис. 3.16).

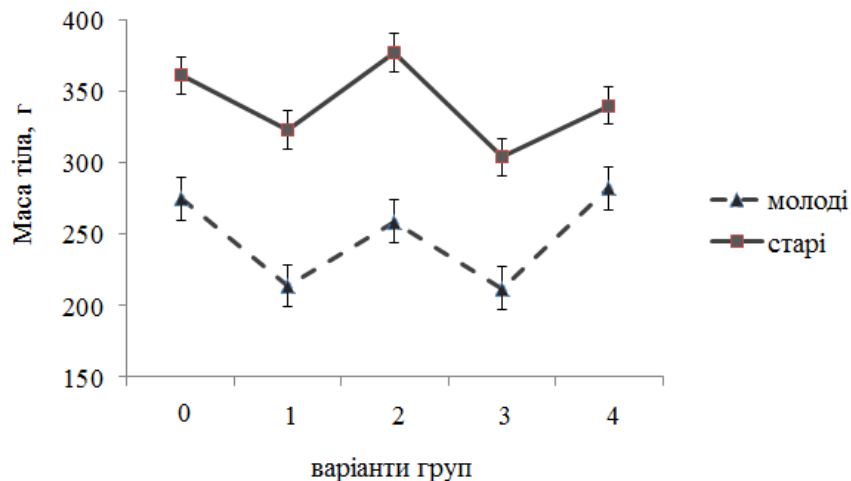


Рис. 3.16 Маса тіла молодих і старих тварин, що знаходились на циклічному режимі харчування. Варіанти груп: 0- вихідна маса тіла, 1 – втрата маси тіла в першому циклі; 2 – відновлення маси тіла в першому циклі; 3 – втрата маси тіла у другому циклі; 4- відновлення маси тіла у другому циклі. В дослідженнях використано по(10-12) тварин в кожній експериментальній групі

Такі циклічні зміни маси тіла супроводжувались і циклічними змінами маси печінки. Однак, якщо ці дані представити у вигляді масового коефіцієнту ( $\text{г/г} \cdot 10^{-2}$ ), то після 2-х циклів ЦРГ масовий коефіцієнт печінки ставав однаковим у молодих і старих тварин при досить великих його відмінностях між молодими і старими тваринами до початку експерименту (Рис. 3.17).

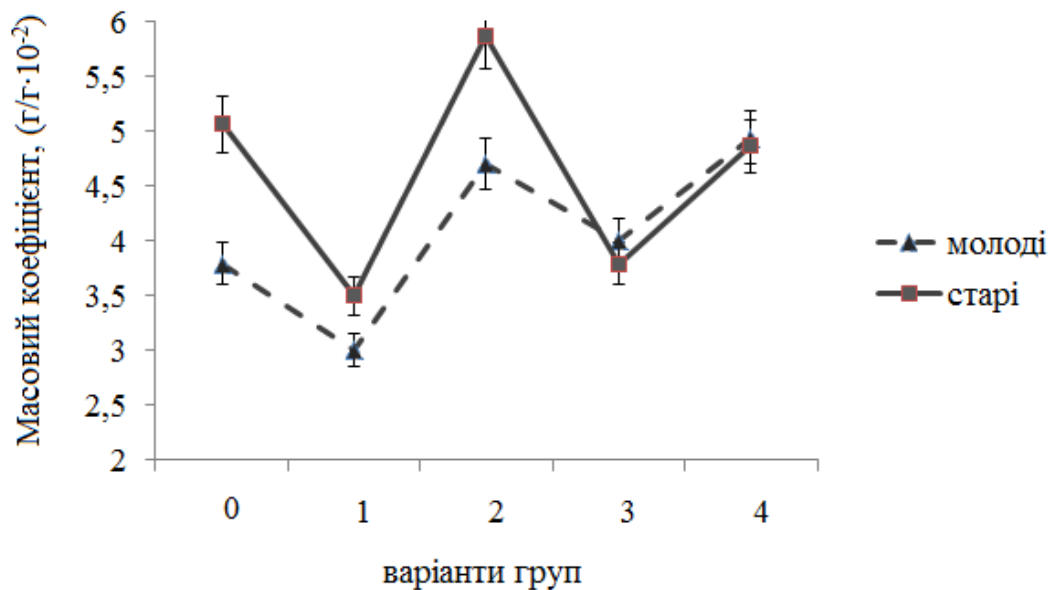


Рис. 3.17 Масовий коефіцієнт печінки у молодих і старих тварин, що знаходились на циклічному режимі харчування. Варіанти груп: 0- вихідна маса тіла, 1 – втрата маси тіла в першому циклі; 2 – відновлення маси тіла в першому циклі; 3 – втрата маси тіла у другому циклі; 4- відновлення маси тіла у другому циклі. В дослідженнях використано по(10-12) тварин в кожній експериментальній групі

Ці результати можуть вказувати на виражений вікзалежний характер швидкості зміни маси тіла і маси печінки.

На наступному етапі роботи визначали вміст гідроперекисів ліпідів в сироватці крові у молодих і старих тварин, що знаходились на ЦРГ.

Визначення вмісту гідроперекисів ліпідів в мітохондріях печінки молодих та старих щурів, що знаходились на ЦРГ, показало, що вони також ритмічно змінювались (Рис. 3.18).

Виявилося, що втрата маси тіла в першому циклі супроводжувалась збільшенням вмісту гідроперекисів ліпідів в мітохондріях печінки на 35 % від вихідного рівня у молодих тварин і також на 35 % у старих (Рис. 3.18).

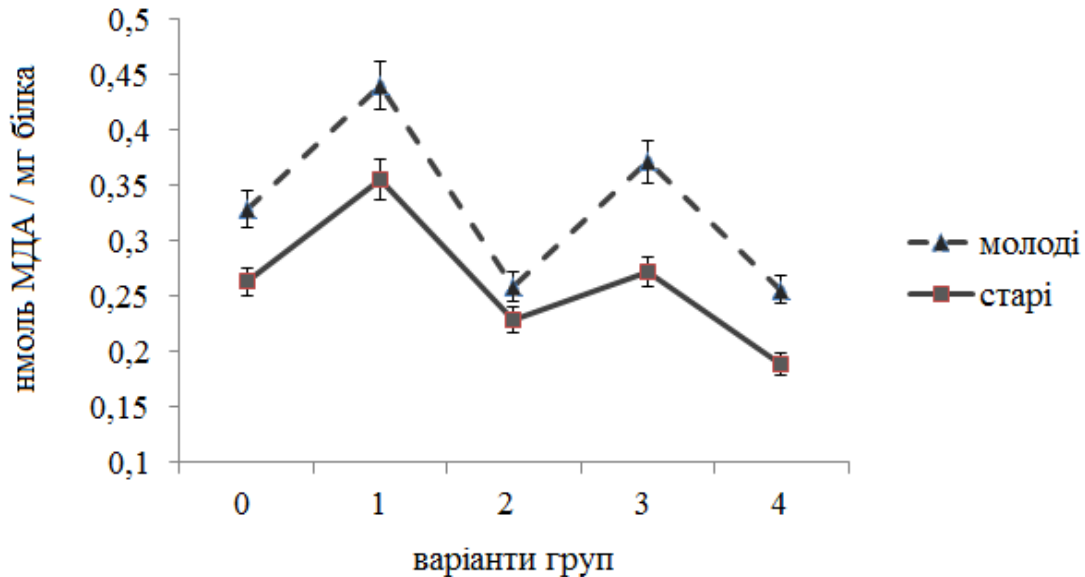


Рис. 3.18 Вміст гідроперекисів ліпідів в мітохондріях печінки молодих і старих тварин, що знаходились на циклічному режимі харчування. Варіанти груп: 0- вихідна маса тіла, 1 – втрата маси тіла в першому циклі; 2 – відновлення маси тіла в першому циклі; 3 – втрата маси тіла у другому циклі; 4- відновлення маси тіла у другому циклі. В дослідженнях використано по(10-12) тварин в кожній експериментальній групі

Відновлення маси тіла у молодих тварин в першому циклі супроводжувалось зменшенням вмісту гідроперекисів ліпідів в мітохондріях печінки на 41 % порівняно з втратою маси тіла і була нижче на 22 % від вихідного рівня (Рис. 3.18). У старих тварин їх вміст у мітохондріях печінки був на 36% меншим порівняно з варіантами втрати маси тіла і не відрізнявся від вихідного рівня (Рис. 3.18).

При другому циклі втрати маси тіла вміст гідроперекисів ліпідів знову збільшувався порівняно з відновленням маси тіла, однак їх вміст був на 16 % менше порівняно з першим циклом втрати маси (Рис. 3.18). Подібний характер змін спостерігався і у старих тварин. Так, їх вміст в мітохондріях у другому циклі втрати маси незначно збільшувався порівняно з їх вмістом після відновлення маси в першому циклі (також на 18 %) і був меншим порівняно з першим циклом на 24 % (Рис. 3.18)

Відновлення маси тіла в другому циклі супроводжувалось зменшенням вмісту гідроперекисів в мітохондріях печінки у молодих на 25 %, у старих на 31 % порівняно з їх вмістом при другому циклі втрати маси тіла (Рис. 3.18).

Необхідно зауважити, що вміст гідроперекисів ліпідів в мітохондріях печінки після двох циклів ЦРГ було зменшено порівняно з вихідним рівнем у молодих на 22 % і на 30 % у старих тварин.

Отже, втрата маси тіла і зменшення маси печінки у тварин, що знаходились на ЦРГ, супроводжувалось ритмічними змінами вмісту гідроперекисів ліпідів в мітохондріях у молодих і старих тварин. Варіабельність цього показника була близькою у тварин різного віку. При цьому варіабельність мала затухаючий характер з пониженням, що приводило до достовірного зменшення їх вмісту через 2 цикли ЦРГ порівняно з вихідним рівнем і це особливо виражено для старих тварин. В наступній серії визначали активність глутатіонпероксидази в мітохондріях молодих і старих тварин, що знаходились на ЦРГ.

Виявилось, що активність глутатіонпероксидази у тварин, що втратили масу тіла в першому циклі, також підвищувалась, як і гідроперекиси ліпідів, причому у молодих тварин це підвищення було двократним порівняно з вихідним рівнем (Рис. 3.19).

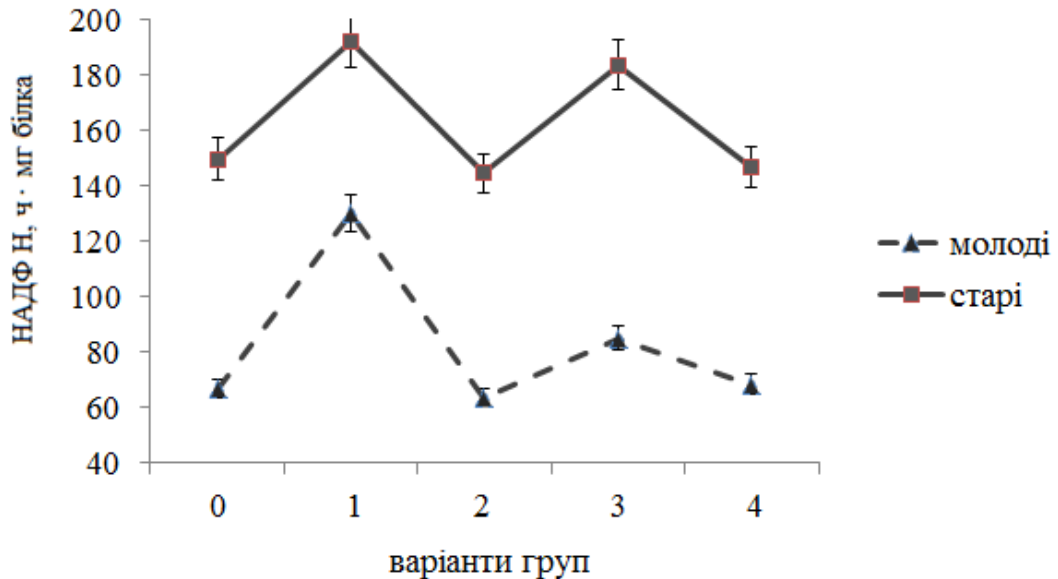


Рис. 3.19 Активність глутатіонпероксидази у тварин в мітохондріях печінки молодих і старих тварин, що знаходились на циклічному режимі харчування. Варіанти груп: 0- вихідна маса тіла, 1 – втрата маси тіла в першому циклі; 2 – відновлення маси тіла в першому циклі; 3 – втрата маси тіла у другому циклі; 4- відновлення маси тіла у другому циклі. В дослідженнях використано по (10-12) тварин в кожній експериментальній групі

Активність глутатіопероксидази підвищувалась у старих тварин, однак, лише на 29 % (Рис. 3.19). Після відновлення маси в першій цикл у молодих тварин вона поверталась до вихідного рівня, і у старих тварин також [115].

Після втрати маси тіла у другому циклі активність глутатіонпероксидази знову зростала, однак незначно порівняно з першим циклом, лише на 35 %. У старих тварин це збільшення теж було незначним – на 27 % (Рис. 3.19).

Після двох циклів втрати=відновлення маси тіла активність глутатіонпероксидази не відрізнялась від вихідного рівня як у молодих, так і у старих тварин [115].

Таким чином, на моделі ЦРГ виявили ритмічні зміни вмісту продуктів вільнорадикальних реакцій і збільшення активності антиоксидантних ферментів. Варто зауважити, що збільшення активність глутатіонпероксидази не «компенсувало» зростання продуктів віднорадикальних реакцій. У зв'язку з цим, представляло інтерес дослідити співвідношення між активність глутатіонпероксидази і вмістом гідроперекисів ліпідів, тобто нмоль NADPH / хв · мг білка / нмоль МДА / мг білка. Умовно цей коефіцієнт можна назвати «коефіцієнтом надійності» антиоксидантного захисту.

*Таблиця 3.10*

**Коефіцієнт надійності антиоксидантного захисту (глутатіонпероксидаза / гідроперекиси ліпідів) в мітохондріях печінки щурів, що знаходились на циклічному режимі харчування**

Вік, місяці	Варіанти груп				
	0	1	2	3	4
3	212,9±22,0	306,0 ± 32,8*	263,0±26,0	263,4±25,9	314,6±39,3*
19	575,0±46,3	575,5±29,9	865,5±97,0*	717,4±85,4*	850,1±99,3*

Примітка: 0- вихідна маса тіла, 1 – втрата маси тіла в першому циклі; 2 – відновлення маси тіла в першому циклі; 3 – втрата маси тіла у другому циклі; 4- відновлення маси тіла у другому циклі; \* - різниця достовірна ( $P \leq 0,05$ ) між вихідним рівнем і ЦРГ. В дослідженнях використано по(10-12) тварин в кожній експериментальній групі

Виявилось, що по-перше, «коефіцієнт надійності» за цим критерієм був значно вищим у старих тварин (Табл. 3.10); по-друге, він достовірно збільшувався у молодих тварин після першого циклу втрати маси тіла і залишався на високому рівні в подальшому, незалежно від втрати чи відновлення маси. По-третє, у старих тварин «коефіцієнт надійності» мав помірну динаміку, він не змінювався після першого циклу втрати маси і різко збільшувався після першого циклу відновлення маси і в подальшому залишався таким же високим.

Отже, показники про↔антиоксидатної системи є важливим і активно реагуючими на зміни функціонального стану організму.

### **Заклучення до підрозділу 3. 2**

Переведення одномісячних тварин на КОД супроводжувалось збільшенням тривалості життя на 40 %, у цих тварин була знижена температура тіла. Різниця між температурою тіла контрольних тварин та тварин на КОД збільшувалась в процесі онтогенезу. Якщо у 4-5-міс. щурів відмінності складала 2 °С, то у 30-міс. тварин – 4 °С., їх температура тіла складала 34 °С. Вміст тироксину і трийодтироніну зменшувався на 35-39 % і 50 % відповідно. У тварин, що утримувалися на КОД, змінювалась структура мітохондрій. На експериментальній моделі гіпертиреозу показали, що тироксин є роз'єднувачем дихання та фосфорилування. На тлі роз'єднання виявили 50 % збільшення генерації супероксидних радикалів в мітохондріях печінки. На тлі збільшення вільнорадикальних процесів спостерігалось формування нового патерну антиоксидантних ферментів, зменшувалась активність глутатіонпероксидази і глутатіон -S- трансферази, і значне збільшення глутатіон-6-фосфатдегідрогенази, збільшення активності малатдегідрогенази в мітохондріях і цитозолі. Ці зміни проявлялись не лише в клітинах печінки, але й в організмі в цілому.

Отже, має місце виражений взаємозв'язок між регуляцією термогенезу, тривалістю життя та станом редокс-систем [113].

### 3.3 Регуляція термогенезу на експериментальній моделі фіброзу печінки

Як відомо, температура тіла тісно пов'язана з рівнем загального метаболізму організму [12, 92]. Рівень метаболізму може бути знижений різними факторами, такими як лікарські препарати, токсичні сполуки та інше.

Раніше в нашій лабораторії було виявлено, що багаторазові послідовні введення тваринам сірчаноокислої міді в дозах 1 мг / 100 г маси супроводжувався зниженням ректальної температури. Така експериментальна модель може бути вдалою для перевірки взаємозв'язку вмісту тироксину, температури тіла і показників про-антиоксидантної системи. Це важливо для встановлення можливих меж варіабельності цих показників.

У наступній серії експериментів визначали зміни температури тіла у тварин, що отримували сірчаноокислу мідь [110].

Було виявлено, що на тлі введення тваринам сірчаноокислої міді в дозі 1 мг / 100 г маси тіла спостерігалось зниження температури тіла на 0,6 - 0,7 °С (Рис. 3.20А).

Таке достовірне зниження температури тіла підтверджує припущення про те, що іони міді пригнічують загальний метаболізм тварин. Якщо це так, то можна очікувати, що у таких тварин буде пригнічена і інтенсивність росту. Маса тіла 3-міс. контрольних тварин збільшувалася за час експерименту на 8 % (Рис. 3.20Б, В).

В той же час тварини, які отримували сірчаноокислу мідь, втрачали масу тіла і достовірно відрізнялись від контрольних груп, і це виявлялося як у молодих, так і у старих тварин (Рис. 3.20Б, В).

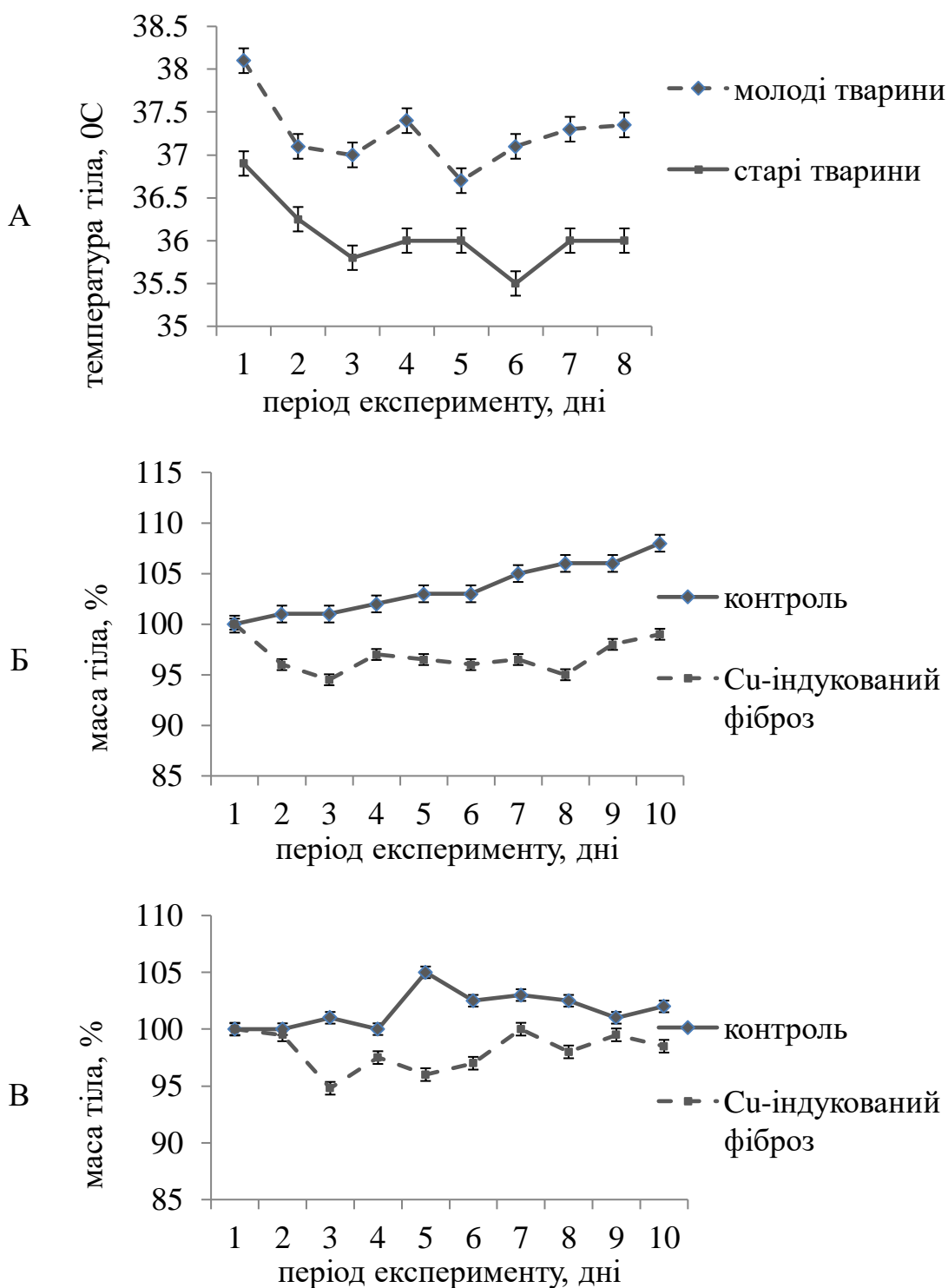


Рис. 3.20 Динаміка температури тіла (А) у молодих (—) і старих (- -) тварин, та маса тіла молодих (Б) і старих (В) контрольних груп (—) та груп, які отримували сірчанокислу мідь (- -) В дослідженнях використано по 5 тварин в кожній експериментальній групі

Необхідно відзначити, що температура тіла старих тварин, які утримувалися в стандартних умовах, була на  $0,6^{\circ}\text{C}$  нижче, ніж у 3-міс. тварин (Рис. 3.20А), що підтверджує данні, отримані раніше.

Після хронічної інтоксикації іонами міді різниця в температурі тіла між молодими і старими тваринами становила  $0,8 - 1,5^{\circ}\text{C}$  (Рис. 3. 20А).

Отже, «відгук» системи терморегуляції на інтоксикацію організму іонами міді був виражений більшою мірою у старих тварин [110].

Можна вважати, що зниження температури тіла і пригнічення загального метаболізму вплине на здатність таких тварин здійснювати роботу.

Відомо, що оцінка працездатності у лабораторних тварин може бути визначена за часом плавання тварин з вантажем.

В даний час розроблено декілька способів визначення працездатності в тесті з вантажем. Ми використовували метод, який поєднував в собі не лише фізичне навантаження, але і емоційний стрес, для цього плавання проводили у воді при температурі  $14^{\circ}\text{C}$ .

Виявили, що старі 20-міс тварини контрольної групи в 6 разів швидше втрачали здатність утримуватися на воді порівняно з молодими тваринами (Рис. 3.21).

Молоді 3-міс. тварини на тлі інтоксикації організму іонами міді після першого випробування плаванням утримувалися на воді в 3,7 рази менше, ніж контрольна група тварин (Рис. 3.21). Повторне випробування цих же тварин не впливало на час плавання порівняно з першим плаванням (Рис. 3.21).

У той же час, інтоксикація організму старих тварин іонами міді не впливала на час їх плавання порівняно з контрольними тваринами того ж віку (Рис. 3.21). Повторне плавання старих тварин після інтоксикації було довшим, ніж плавання контрольної групи старих тварин (Рис. 3.21).

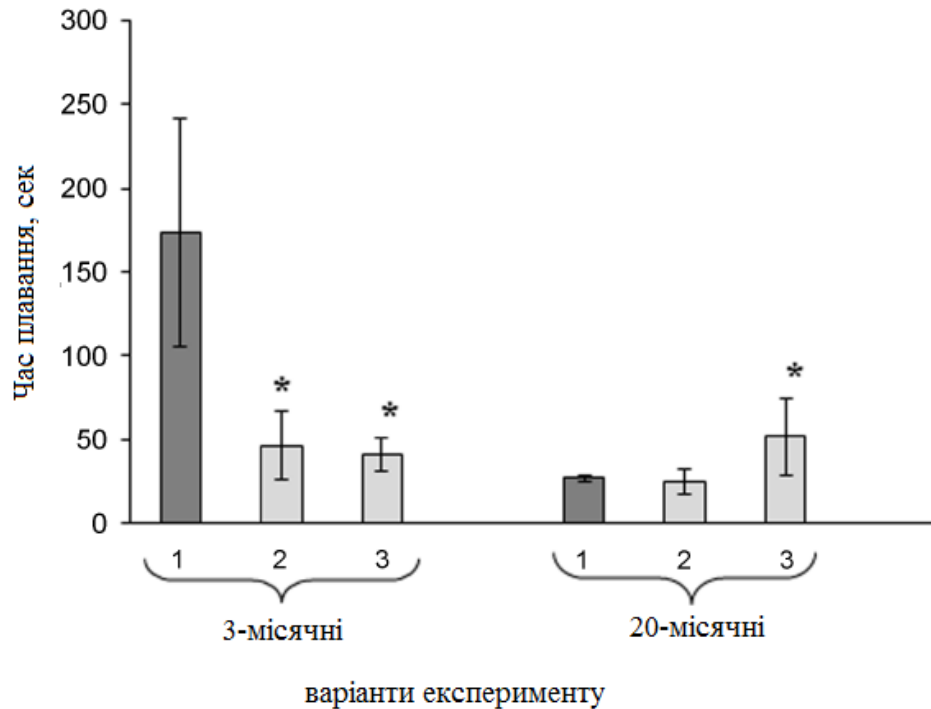


Рис. 3.21 Час плавання 3- та 20-місячних щурів контрольної групи (1), через 24 години після останнього введення сульфату міді (2), та повторне плавання цих тварин через 24 години після першого плавання (3); \* - різниця достовірна ( $P < 0,05$ ) порівняно з контролем. В дослідженнях використано по 5 тварин в кожній експериментальній групі

Отже, зниження температури в результаті інтоксикації супроводжувалося втратою працездатності молодих тварин. Старі тварини швидше молодих тварин відновлювали працездатність при повторних фізичних навантаженнях.

В наших дослідженнях було показано, що багатократне послідовне введення сірчаноокислої міді в дозі 1 мг/ 100 г маси тіла супроводжувалось розвитком запального процесу в печінці. Представляло інтерес визначення стану редокс-систем у таких тварин. Дослідження, проведені нами щодо активності ряду антиоксидантних ферментів на різних експериментальних моделях показали, що в найбільшій мірі на різні впливи змінювалась активність глутатіонпероксидази. У зв'язку з цим в даній роботі визначали вміст гідроперекисів ліпідів і активність

глутатіонпероксидази в сироватці крові тварин після багатократного введення сірчаноокислої міді [114].

Виявилося, що вміст гідроперекисів ліпідів в сироватці крові яку у молодих, так і у старих тварин в момент досягнення «найнижчої» температури після введення сірчаноокислої міді збільшувалась в 2 рази порівняно з відповідним віковим контролем (Рис. 3.22).

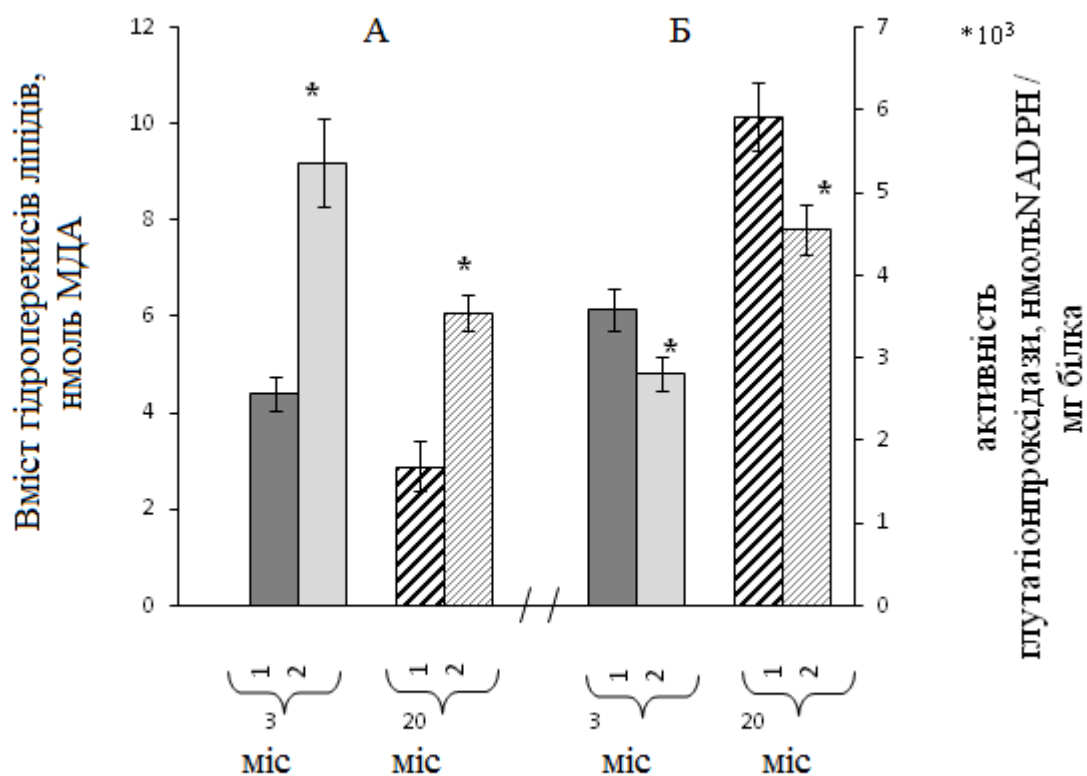


Рис. 3.22 Вміст гідроперекисів ліпідів у 3-х міс. контрольних (■) і у тварин з Cu-індукованим фіброзом (■), то ж у 20 міс. контрольних (▨) і у тварин з Cu-індукованим фіброзом (▩) у сироватці крові (А), а також активність глутатіонпероксидази у цих же тварин (Б). В дослідженнях використано по 5 тварин в кожній експериментальній групі

Отже, зниження температури тіла на тлі введення сірчаноокислої міді супроводжувалось вираженим оксидативним стресом, який проявлявся в однаковій мірі у молодих і старих тварин [93].

Таке збільшення вмісту гідроперекисів ліпідів відбувалося при зниженні активності глутатіонпероксидази в сироватці крові в однаковій мірі у молодих і старих тварин на 22 -28 % порівняно з відповідним віковим контролем) [10, 110, 114].

Можна заключити, що пригнічення швидкості росту тварин, зниження їх температури тіла після індукції запального процесу введенням сірчаноокислої міді, супроводжувалось зміщенням рівноваги в про-антиоксидантної системи в бік прооксидантів формально так само як і при моделі гіпертиреозу [10].

На наступному етапі роботи визначали вміст тиреоїдних гормонів в сироватці крові цих тварин.

Виявилось, що вміст тироксину у старих тварин було меншим на 30 % порівняно з молодими тваринами, що узгоджується з нашими даними, отриманими раніше. Трикратне введення сірчаноокислої міді тваринам не значно зменшувало вміст Т4 у молодих і не впливало на його вміст у старих тварин (Рис. 3.23). Необхідно відзначити, що при оцінці середніх значень показників не враховується індивідуальна варіабельність цих показників, а це важлива характеристика у відповідній реакції. У зв'язку з цим визначали діаграми розсіювання вмісту тиреоїдних гормонів [93].

Було виявлено, що триразове послідовне введення тваринам сірчаноокислої міді незначно збільшувало індивідуальну варіабельність вмісту Т4 як у молодих так і у старих тварин.

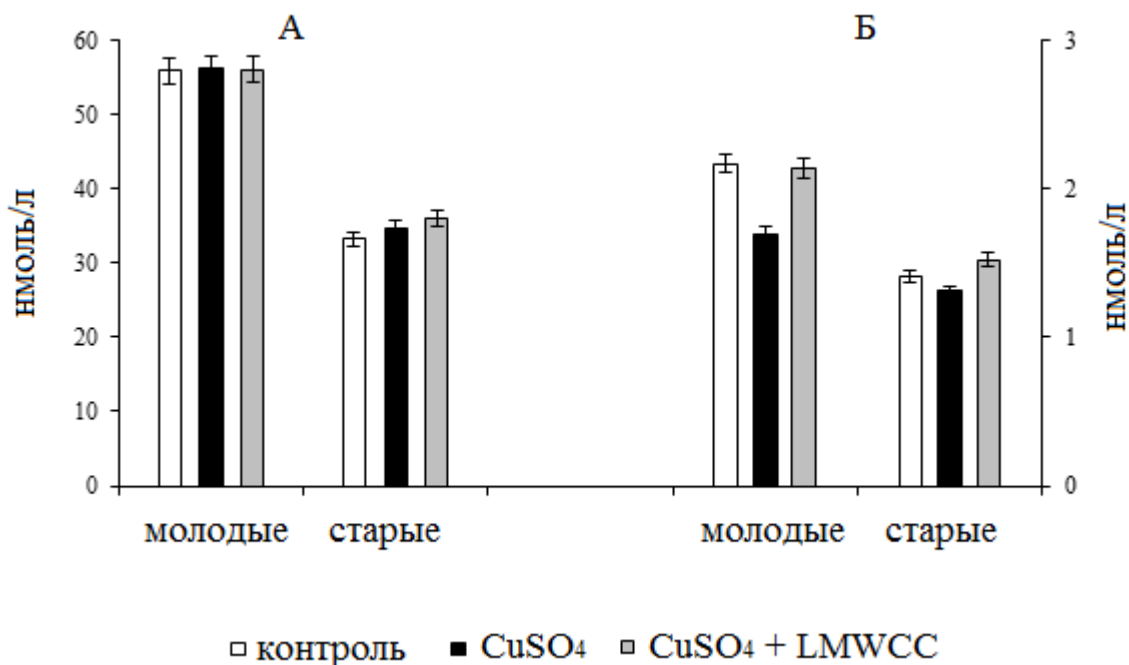


Рис. 3.23 Вміст тироксину (А) і трийодтироніну (Б) в сироватці крові інтактних тварин (□) та групи тварин, які отримували сірчаноокислу мідь тричі з інтервалами 48 годин в дозі 1 мг / 100 г маси тіла і тварин (■), які отримували також сірчаноокислу мідь, а між її введенням вони тричі отримували мікс-фактор в дозі 0,1 мг / 100 г маси тіла, у випадку молодих і старих тварин; \* - відзначена різниця між інтактним контролем і досвідченими варіантами при  $P \leq 0,05$  В дослідженнях використано по 5 тварин в кожній експериментальній групі

Отже зниження температури тіла тварин на тлі інтоксикації іонами міді не корелювало зі зменшенням у них вмісту Т4 [93]. Це можна пояснити тим, що зниження температури тіла при калорійно-обмеженій дієті і при інтоксикації іонами міді здійснюється різними механізмами.

Вміст Т3 в групі інтактних старих тварин був зменшеним на 23 % порівняно з молодими тваринами (Рис. 3.23). Введення молодим і старим тваринам сірчаноокислої міді не змінювало вмісту Т3 у молодих і старих тварин порівняно з контрольним рівнем (Рис. 3.23).

Разом з тим, діаграми розсіювання, побудовані для вмісту Т3, показали, що у молодих тварин варіабельність вмісту Т3 збільшувалася, а відповідь старих тварин за змістом Т3 не відрізнялась від контрольних значень тварин того ж віку [93, 113].

Раніше нами було виявлено, що токсичні ефекти іонів міді можуть бути нівельовані введенням низькомолекулярних компонентів, що отримані з коров'ячого молозива або дріжджових екстрактів (мікс-фактор) [114]. У зв'язку з цим в наступній серії експериментів визначали зміни маси і температури тіла у тварин, яким вводили мікс-фактор на тлі інтоксикації організму іонами міді. Виявили, що введення мікс-фактора усували відставання тварин за масою тіла, а їх температура тіла не відрізнялася від контрольної групи тварин (Рис. 3.23).

Вміст тироксину у тварин, яким вводили мікс-фактор на тлі інтоксикації не змінювався в порівнянні з контрольною групою тварин як у молодих, так і у старих. Однак, якщо в контрольному варіанті і у варіанті після введення сірчаноокислої міді індивідуальна варіабельність була виражена, то після введення мікс-фактора вона збільшувалась, особливо в групі старих тварин. Отже, в групі старих тварин збільшувались індивідуальні особливості у вмісті тироксину після введення мікс-фактора на тлі інтоксикації.

Індивідуальна варіабельність у відповіді щитоподібної залози за змістом Т3 у щурів після введення мікс-фактору на тлі інтоксикації також збільшувалася, як і для Т4 (Рис. 3.23).

Отже, інтоксикація тварин сірчаноокислою міддю, яка супроводжувалася втратою маси тіла і зниженням температури тіла, не чинила істотних змін на вміст гормонів щитоподібної залози. Введення тваринам мікс-фактору на тлі інтоксикації, яка супроводжувалася нормалізацією температури тіла і маси їх тіла, так само не впливало на функціональну активність щитоподібної залози. Однак мікс-фактор значно збільшував варіабельність у вмісті гормонів щитоподібної залози, що пов'язано з різницею відповідних реакцій у різних тварин, тобто

збільшувало індивідуальну варіабельність у вмісті гормонів щитоподібної залози [148].

Як відомо, одним з факторів регуляції активності щитоподібної залози є тиреотропний гормон (ТТГ), який синтезується в гіпофізі [164]. Разом з тим, прямої кореляції між вмістом гормонів щитоподібної залози і ТТГ не існує. Це може пояснюватися тим, що синтез гормонів регулюється великою кількістю різноманітних факторів, зокрема, системою дейодиназ [198]. Визначення співвідношень вмісту гормонів щитоподібної залози і ТТГ у молодих і старих тварин після інтоксикації сірчаною кислотою міддю може дозволити прояснити регуляторні механізми функціонування щитоподібної залози у тварин різного віку.

Виявилося, що вміст ТТГ у старих тварин був більшим, ніж у інтактних молодих тварин (Рис. 3.24).

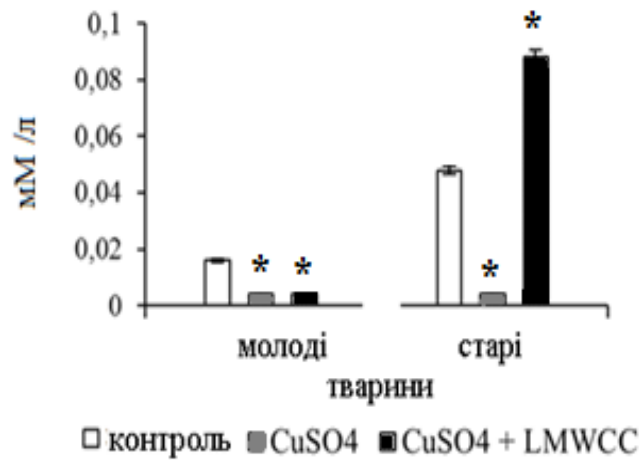


Рис. 3.24 Вміст тиреотропного гормону в сироватці крові інтактних тварин, групи тварин, які отримували сірчаною кислотою мідь тричі з інтервалами 48 годин в дозі 1 мг / 100 г маси тіла, і тварин, які отримували також сірчаною кислотою мідь, а між її введенням вони тричі отримували мікс-фактор в дозі 0,1 мг / 100 г маси тіла, у випадку молодих і старих тварин; \* - відзначена різниця між інтактним контролем і дослідженими варіантами при  $P \leq 0,05$ . В дослідженнях використано по 5 тварин в кожній експериментальній групі

У тому випадку, якщо тварини на тлі інтоксикації міддю отримували мікс-фактор, то вміст ТТГ у молодих тварин залишався незмінним порівняно з інтоксикацією. У той же час, їх вміст у старих тварин після мікс-фактору збільшувався в 20 разів (Рис. 3.24).

Отже, інтоксикація сірчаноокислою міддю супроводжувалась зменшенням продукції ТТГ гіпофіза, і це було більшою мірою виражено у старих тварин, оскільки їх вихідний рівень був вищим у старих тварин. Введення біологічно активних сполук - мікс-фактору на тлі інтоксикації не впливало на продукцію ТТГ у молодих тварин і різко збільшувало продукції у старих тварин.

### **Висновки до розділу 3**

В літературі існують свідчення про вплив негативних факторів наколишнього середовища, в тому числі сірчаноокислої міді, на функцію щитоподібної залози. Наші дослідження показали, що багатократні послідовні введення експериментальним тваринам сірчаноокислої міді в дозі 1 мг/ 100 г пригнічували ріст, знижували температуру тіла на 0,6 – 0,8 °С і індукували прояви оксидативного стресу, однак вміст тироксину незначно знижувався у молодих тварин і не змінювався у старих. Незмінним залишався вміст трийодтироніну в сироватці крові тварин, що отримували сірчаноокислу мідь. В той же час, інтоксикація сірчаноокислою міддю супроводжувалась достовірним зменшенням у молодих, і особливо у старих тварин тиреотропного гормону. Вважалось, що між вмістом ТТГ і активністю щитоподібної залози існує виражений взаємозв'язок. Однак в останній час з'явилися роботи, які показали, що у ряді випадків такий прямий взаємозв'язок відсутній. Можна стверджувати, що у випадку інтоксикації організму сірчаноокислою міддю відсутній прямий зв'язок між вмістом ТТГ і гормонами щитоподібної залози. Це можна пояснити тим, що іони міді швидко проникають у головний мозок і чинять на нього специфічний вплив. Про це

свідчать дані щодо збільшення ТТГ в сироватці крові після введення мікс-фактору, який справляв виражений ефект у старих тварин. Отримані результати вказують на те, що при інтоксикації організму сірчаною кислотою міддю використовуються інші механізми термогенезу порівняно з гіпертиреозом чи КОД.

Результати досліджень даного підрозділу наведено в таких публікаціях [1, 10, 93, 110, 113-115, 148].

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичний аналіз і експериментальне рішення актуальної наукової задачі щодо ролі прооксидантної та антиоксидантної систем, а також функціональної активності мітохондрій, і рівня тиреоїдних гормонів у контролі процесів старіння та тривалості життя, що необхідно для зменшення негативних впливів старіння і продовження активного життя.

1. Встановлено, що зміни в активності прооксидантної та антиоксидантної систем в печінці, сироватці крові та рівнях гормонів щитоподібної залози в крові за умов калорійно-обмеженої дієти тісно пов'язані із тривалістю життя щурів.

2. Показано, що за умов переїдання на ранньому етапі онтогенезу вкорочує тривалість життя і що асоціюється з порушенням роботи прооксидантної та антиоксидантної систем в крові, печінці, активацією NOS в мітохондріях і мікосоммах різних органів та рівнем гормонів щитоподібної залози в крові.

3. Встановлено, що за експериментального Cu-індукованого фіброзу печінки рівень тироксину не змінювався, температура тіла знижувалась, а біологічно активні низькомолекулярні компоненти дріжджових екстрактів, які мали антиоксидантні властивості, зменшували токсичну дію іонів міді.

4. Показано, що за експериментального гіпертиреозу по-різному змінюється функціональна активність мітохондрій і активність низки ензимів мітохондрій, що асоціюється зі скороченням тривалості життя.

5. Встановлено, що коефіцієнт надійності функціонування антиоксидантної системи був вищим у старих тварин порівняно з молодими тваринами за умов циклічного режиму годування, оскільки він збільшував активність антиоксидантних ферментів.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аль-Бахадлі Али М. М. Взаємозв'язок тиреоїдного статусу з тривалістю життя в експерименті / Молодь і поступ біології: тези доп. XIII Міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів, 25-27 квітня 2017 р. Львів, 2017. С. 22.
2. Анисимов В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения: в 2 т. – 2-е изд., перераб. и доп. Санкт-Петербург : Наука, 2008. Т.1. 481 с.
3. Антонова Е. П., Илюха В. А., Сергина С. Н. Антиоксидантная защита у зимоспящих млекопитающих // Принципы экологии. 2015. № 2. С. 4–20.
4. Ануфриев А. И. Механизмы зимней спячки и холодоустойчивости зимоспящих беличьих Якутии // Наука и образование. 2015. № 1. С. 109-119.
5. Басалаева Н. Л., Исаев А. П. Особенности влияния йодиндуцированной блокады щитовидной железы на региональную терморегуляция самок крыс // Вестник ЮУрГУ. Серия «Образование, здравоохранение, физическая культура». 2013. Т. 13, № 4. С. 90-93.
6. Бахметьев П. И. Рецепт дожить до ХХ1 века : Биологический очерк // Естествознание и география. 1901. № 8. С. 1-13.
7. Билан Д. С., Шохина А. Г., Лукьянов С. А., Белоусов В. В. Основные редокс- пары клетки // Биоорганическая химия. 2015. Т 41, № 4. С.385-402.
8. Божков А. И. Эпигеном и метаболическая память в формировании стратегий возрастзависимых адаптаций. // Биологические механизмы старения : материалы IX Международного симпозиума, 6-29 мая 2010 г. Харьков, 2010. С. 10.
9. Божков А. И., Мензянова Н. Г. Калорийно-ограниченная диета индуцирует альтернативные пути метаболизма липидов для поддержания

- пролиферативных процессов в регенерирующей печени // Успехи геронтологии. 2009. Т. 22, № 3. С. 440-447.
10. Божков А. И., Никитченко Ю. В., Аль-Бахадли Али М. М. Переедание в раннем постнатальном онтогенезе формирует метаболическую память и влияет на продолжительность жизни» / Здоров'я, харчування, довголіття пам'яті професора Юрія Григоровича Григорова (до 85-річчя від дня народження): тези доп. науково-практичної конференції з міжнародною участю, 16-17 травня 2016 р. Київ, 2016. С. 335.
11. Божков А. И., Никитченко Ю. В., Климова Е. М., Львов С. В. Экспериментальное моделирование продолжительности жизни // Материалы XII Всероссийского совещания по проблемам управления ВСПУ, 16-19 июня 2014 г. Москва, 2014. С.6566-6574.
12. Божков А. И., Никитченко Ю. В., Сидоров В. И., Кургузова Н. И., Климова Е. М. Гормезисная модель метаболической памяти и возможности регуляции темпов старения // Проблемы старения и долголетия. 2012. Т. 21, № 3. С. 245-254.
13. Божков А. И. Низкокалорийная диета как модель увеличения продолжительности жизни и исследования механизмов старения / Успехи геронтологии. 2001. № 8. С. 89–99.
14. Бондаренко В. В. Влияние гипербарической оксигенации и церулоплазмينا на окислительно-восстановительные процессы и сопряженное с ним фосфорилирование в слюнных железах при хронической нитратной интоксикации // Стоматология. 2001. Т. 80, № 6. С. 12–14.
15. Бочаров М. И. Терморегуляция организма при холодовых воздействиях // Вестн. сев. (аркт.) федер. универ. Серия: мед.-биолог. науки. 2015. № 2. С. 5-16.
16. Быкова О. В., Маркевич Л. Н., Коломийцева И. К. Влияние искусственного гипобиоза на количество липидов в тимоцитах крыс // Вестник

- Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2012. № 1(1). С. 100-103.
17. Ванюшин Б. Ф. Эпигенетика сегодня и завтра // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Vol. 17, N 4/2. С.807-832.
18. Василяди Г. К. Численное выражение термогенеза как показатель функциональной активности щитовидной железы // Вестник новых медицинских технологий. 2012. № 1. С. 1-6.
19. Васильев В. Б., Качурин А. М., Сорока Н. В. Дисмутирование супероксидных радикалов церулоплазмином - детали механизма // Биохимия. 1988. Т. 53, №12. С. 2051–2058.
20. Висмонт Ф. И. Механизмы изменения температуры тела у крыс и кроликов в зависимости от состояния детоксикационной функции печени и выраженности эндотоксинемии // Функциональная система организма в норме и при патологии : сб. науч. тр. под ред. В. С. Улащика, А. Г. Чумака. Минск : РИВШ, 2008. С. 80-84.
21. Висмонт Ф. И., Висмонт А. Ф. Эндотоксинемия и дизрегуляторная патология / Новости мед.-биол. наук. 2008. № 1-2. С. 41-46.
22. Висмонт Ф. И., Глебов А. Н. Зависимость температуры тела и сосудистых терморегуляторных реакций от состояния детоксикационной функции печени при стрессе, вызванном действием в организме бактериального эндотоксина // Фундаментальные и прикладные проблемы стресса : материалы III Междунар. науч.-практ. конф., 16-17 апреля 2013 г. Витебск, 2013. С. 10-12.
23. Висмонт Ф. И., Глебов А. Н. Роль детоксикационной функции печени в формировании тиреоидного статуса организма и терморегуляции // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. 2013. № 2(10). С.61-65.

24. Висмонт Ф. И. Грищенко К. Н. Участие клеток Купфера и гепатоцитов в формировании терморегуляторных реакций организма на действие эндотоксина // *Здравоохранение* 2001. № 8. С. 29-31.
25. Гаврилович Н. Н., Золотухина Т. В. Холодовое воздействие на организм человека и его адаптация в условиях высокогорья // *Здоровье для всех : материалы VII Международной научно–практической конференции*, 18 – 19 мая 2017. Пинск, 2017. С. 257-259.
26. Городецкая И. В. Механизмы повышения йодсодержащими тиреоидными гормонами физической выносливости животных в условиях стресса различного происхождения // *Вестник ВМГУ*. 2012. Т11, № 4. С. 26-31.
27. Громова Е. В., Кокорев А. В. Активность окислительных процессов в митохондриях клеток печени матери и плода в зависимости от обеспеченности организма матери йодом // *Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства*. 2016. № 19(2). С. 209-214.
28. Данилович Г. В., Данилович Ю. В., Горчев В. Ф. Порівняльне дослідження методами спектрофлуориметрії та протокової цитометрії поляризації плазматичної і внутрішньої мітохондріальної мембран гладеньком'язових клітин із використанням потенціалчутливого зонда DiOC 6(3) // *Укр. біохім. журнал*. 2011. Т. 83, № 3. С. 99–105.
29. Елсукова Е. И., Медведев Л. Н. Бурый жир – специализированный эффектор терморегуляции // *Механизмы терморегуляции и биоэнергетики: взаимодействие функциональных систем : материалы Всероссийского симпозиума (с международным участием), 1-5 октября 2002 г. Иваново, 2002. С. 21-43.*
30. Ермолаева Е. Н., Кривохижина Л. В., Кантюков С. А., Яковлева В. П. Роль церулоплазмينا относительно коррекции свободнорадикального окисления при острой физической нагрузке // *Современные проблемы науки и образования*. 2016. № 3. С.1-4.

31. Еськов Е. К., Тобоев В. А. Конвергентное сходство механизмов терморегуляции у теплокровных животных и консолидированных скоплений насекомых // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2013. Т. 15, № 3. С.169-176.
32. Закирова А. Н., Мингазетдимнова Л. Н., Камилов Ф. Х. Антиоксидант церулоплазмин: влияние на перекисное окисление липидов, гемореологию и течение стенокардии // Тер. Архив. 1994. Т.88, № 9. С. 24–28.
33. Звягинцева Т. В., Киричек Л. Т., Ганзий Т. В., Сыровая А. О., Миронченко С. И., Ермоленко Т. Н. Экспериментальное изучение жаропонижающего эффекта амкесола // Медицина сьогодні і завтра. 2009. № 3-4. С.4-10.
34. Иванов К. П. Современные теоретические и практические проблемы гомойотермии и терморегуляции // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова 2006. Т. 92, № 5. С. 578-592.
35. Иванова С.В. Оценка структурного состояния липидной фазы мембран эритроцитов при заболеваниях печени флуоресцентным методом. // Вестник ВГМУ. 2008. №3. С. 1–9.
36. Калабухов Н. И. Спячка млекопитающих. Москва : Наука, 1985. 264 с.
37. Кандаурова Н. В., Чуніхін О. Ю., Бабіч Л. Г., Шликов С. Г., Костерін С. О. Модулятори трансмембранного кальцієвого обміну в мітохондріях міометрія змінюють їхній гідродинамічний діаметр / Український біохімічний журнал. 2010. Т. 82, № 6. С. 52-57.
38. Климова Е. М., Калашникова Ю. В., Дроздова Л. А., Аль-Бахадли Али М. М. Маркеры аутоиммунного полигландулярного синдрома у больных миастенией // Пріоритети сучасної медицини: теорія і практика : матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 5-6 лютого 2016 р. Одеса, 2016. С. 148 – 152.

39. Коваленко Т. В. Неонатальный транзиторный гипотиреоз: прогноз для здоровья и развития детей // Пробл. Эндокринологии. 2001. Т. 47, № 6. С. 23-27.
40. Коваленко Т. И., Минухин В. В., Климова Е. М., Быченко А. А., Мушли Али. Изучение ферментативной активности гранулоцитарных нейтрофилов у животных с экспериментальной инфекцией разного возраста // Актуальные вопросы современной медицины. Сб. науч. тр. по итогам межвузовской ежегодной заочной научно-практической конференции с международным участием. 2014. С. 86–89.
41. Козлов В. Н. Хронобиологические методы исследования терморегуляции в экспериментальной патофизиологии // Современные проблемы ветеринарной медицины и животноводства : сб. науч. тр., 26-27 апреля 2005 г. Уфа, 2005. С. 95-100.
42. Коньшев В. А. Питание и регулирующие системы организма. Москва : Медицина, 1985. 637 с.
43. Коркушко О. В., Хавинсон В. Х., Бутенко Г. М., Шатило В. Б. Пептидные препараты тимуса и эпифиза в профилактике ускоренного старения. Санкт-Петербург : Наука, 2002. 202 с.
44. Короткевич Т. В., Касап В. А., Андрушевич Т. Ф. Влияние бактериального липополисахарида на температуру тела и содержание холестерина липопротеинов крови у крыс в условиях экспериментального гипо- и гипертиреоза // Механизмы функционирования висцеральных систем : тез. докл. V Всерос. конф. с междунар. участием, 16–19 окт. 2007. Санкт-Петербург, 2007. С. 158–159.
45. Кубарко А. И., Ymashita S. Щитовидная железа. Фундаментальные аспекты. Минск : Нагасаки, 2002. 368 с.
46. Курец Н. И., Черевко А. Н., Логинова И. А. Неонатальный транзиторный гипотиреоз // Мед. Новости. 2002. № 12. С. 20-26.

47. Ланкин В. З., Тихазе А. К., Беленков Ю. Н. Антиоксиданты в комплексной терапии атеросклероза: pro et contra. Москва : Медпрактика, 2003. 83 с.
48. Лінкевич О. С., Аль-Бахадлі Алі М. М., Агаркова А. М. Особливості імунореактивності та первинної резистентності у молодих та старих тварин // Механизмы функционирования физиологических систем : тезисы докл. международной конференции, 15-17 листопада 2014 р. Львів, 2014. С.58-59.
49. Литвяк К. А., Соболев В. И. Термогенная функция скелетной мышцы белых крыс при различном тиреоидном статусе (исследование in situ) // Вісник проблем біології і медицини. 2013. № 1. С. 224 – 228.
50. Лишневска В. Ю. Реологічні властивості крові у осіб похилого віку, хворих на ІХС // Буковинський медичний вісник. 2002. Т. 6, № 4. С. 93–96.
51. Логинова И. А. Онтогенетические аспекты функции щитовидной железы. Транзиторный неонатальный гипотиреоз // Репродуктивное здоровье в Беларуси. 2009. № 4 (04). С. 106-114.
52. Лукьянова Л. Д. Сигнальная роль митохондрий при адаптации к гипоксии // Фізіол журн, 2013. Т. 59, № 6. С.141-154.
53. Лычкова А. Э. Нервная регуляция функции щитовидной железы // Вестник РаМН. 2013. № 6. С.49-55.
54. Максименко Е. Г. Савченко Г. С. Уровень триптофана и серотонина в условиях судорожной готовности головного мозга // Вісник Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна. Сер. Медицина. 2000. Вип. 1, № 494. С. 39-42
55. Максимович О. М. До проблеми формування екологічної компетентності учнівської молоді // Науковий вісник Південноукраїнського національного педагогічного університету ім. К. Д. Ушинського. 2011. № 11-12. С.155-161.
56. Миркин Б. М., Наумова Л. Г. Основы общей биологии : учебное пособие / под ред. Г. С. Розенберга. Москва : Университетская книга, 2005. 200 с.

57. Михайлова Е. В., Попова Т. Н., Сафонова О. А. Сравнительная характеристика каталитических свойств митохондриальной и цитоплазматической форм Nad-зависимой малатдегидрогеназы из печени крысы в норме и при токсическом гепатите // Биомедицинская химия. 2009. Т. 55. Вып. 4. С. 489-499.
58. Мурадян Х. К. Кореляційна залежність між газообміном, температурою тіла та вмістом мітохондріального білка печінки мишей // Фізіол. Журнал. 2002. Т. 48. № 4. С. 14-18.
59. Нейфах С. А., Здродовская Е. П. К вопросу о термогенезе в животном организме вследствие разобщения тканевого окислительного фосфорилирования // Биохимия. 1961. Т. 26. С. 1040 .
60. Озернюк Н. Д., Исаева В. В. Эволюция онтогенеза. Москва : Т-во науч. изд. КМК , 2016. 407 с.
61. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / под ред. Е. Б. Меньшикова. 2-е изд., испр.и доп. Москва : Слово. 2006. 553 с.
62. Падалко В. И. Разобщитель окислительного фосфорилирования продлевает жизнь дрозофил // Биохимия. 2005. Т. 70. № 9. С. 1193-1197.
63. Пальчикова Н. А. Функциональное состояние щитовидной железы при действии на организм экологических факторов разной природы : автореферат на соискание ученой степени доктора биологических наук : специальность 14.00.16. «Патологическая физиология». Новосибирск, 2004. 31 с.
64. Патология терморегуляции : уч.-мет. пособие для студентов факультета ветеринарной медицины / под ред. М. А. Макарук. и доп. УО ВГАВМ : Витебск, 2005. 28 с.
65. Пономарева Л. Ф., Кузбеков Р. С., Козлов В. Н. Суточные ритмы терморегуляции как объективный критерий достоверной модели экспериментального гипотиреоза // Перспективы развития пищевой

- промышленности России : материалы науч .практ. конф., 14 окт. 2005 г. Оренбург, 2005. С. 407–410.
66. Разин С. В. Пространственная организация эукариотического генома и работа эпигенетических механизмов // Генетика. 2006. Т. 42. С. 1605-1610.
67. Савченков Ю. И. Курс лекций по нормальной физиологии. Красноярск : КрасГМУ, 2012. 470 с.
68. Северина Т. Г., Кубарко А.И. Влияние острой иммерсионной гипотермии на температуру тела и активность лизосомных ферментов печени устойчивых и неустойчивых к холоду крыс // Мед. журн. 2009. Т. 28, № 2. С. 112–115.
69. Северцов А. С. Теория эволюции. Москва : центр ВЛАДОС, 2005. 380 с.
70. Скулачев В. П. Аккумуляция энергии в клетке. Москва : Наука, 1969. 440 с.
71. Скулачев В. П., Маслов С. П., Сивкова В. Г., Калинин Л. П., Маслова Г. М. Холодовое разобщение окислительного фосфорилирования в мышцах белых мышей // Биохимия. 1963. Т. 27. С. 70-79.
72. Соболев В. И., Махсудов М. С., Мерхелевич Л. Г., Чали Гемачу., Рабо Гемедо, Маурисио Дакошта. Влияние 2,4-динитрофенола на температурный эффект мышечного сокращения при экспериментальном гипертиреозе // Физиологический журнал им. И. М. Сеченова. 1995. № 3. С. 80-84.
73. Соболев В. И. Зависимость функциональных параметров сокращения скелетной мышцы крыс от уровня циркулирующего трийодтиронина // Российский физиологический журнал. 2016. № 11. С. 1369-1382.
74. Соболев В. И. Характер действия адреналина на латентный период М-ответа скелетной мышцы крыс в зависимости от уровня циркулирующего трийодтиронина // Ученые записки Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия. 2016. Т. 2(68), № 2. С. 58-69.

75. Соболев В. И. Характеристика холодового калоригенеза у гипертиреоидных белых крыс в процессе «выхода» из состояния глубокой гипотермии // Теория и практика современной науки. 2017. № 2(20). С. 930-933 .
76. Сонькин В. Д., Кирдин А. А., Андреев Р. В., Акимов Е. Б. Гомеостатический несократительный термогенез у человека: факты и гипотезы // Физиология человека. 2010. Т. 36, № 5. С. 1-19.
77. Станішевська Т. І., Соболев В. І. Характеристика латентних періодів збудження і укорочення м'яза білих щурів залежно від рівня циркулюючого трийодтироніну // Фізіологічний журнал. 2012. Т. 58, № 1. С. 68 – 75.
78. Тимофеев Н. Н., Прокопьева Л. П. Нейрохимия гипобиоза и пределы криорезистентности организма: состояния гипобиоза (нормотермического и сверхглубокого). Москва : Медицина, 1997. 205с.
79. Тимофеев Н. Н. Гипобиоз и криобиоз. Прошлое, настоящее, будущее. Москва : Информ–Знание, 2005. 256 с.
80. Томилин Н. В. Наследование эпигенетических модификаций хроматина, направляемое РНК // Цитология. 2009. Т. 51, № 4. С. 291-296.
81. Утко Н. О., Пішель І. М., Безруков В. В., Мурадян Х. К. Швидкість газообміну, терморегуляція та активність антиоксидатних ферментів при старінні мишей лінії C57/B1/6 // Фізіолог.журнал. 2008. Т. 54, № 2. С. 75-81.
82. Фомченко Н. Е., Воропаев Е. В., Скачков А. В., Затора Н. Ю. Биологическая роль митохондрий в старении организма // Проблемы здоровья и экологии, 2015. № 4(46). С. 8-13.
83. Фролькис В. В., Мурадян Х. К. Старение, эволюция и продление жизни. Киев : Наукова думка, 1992. 238 с.
84. Храмова Е. Б., Суплотова Л. А., Сметанина С. А. Развитие детей с транзиторным неонатальным гипотиреозом, проживающих в условиях йодной эндемии // Педиатрия. 2003. № 3. С. 10-15.

85. Черлин В. А. Тепловые адаптации рептилий и механизмы их формирования // Принципы экологии. 2015. № 1. С. 17–76.
86. Черлин В. А. Термобиология рептилий и ее применение в экологических исследованиях и природоохранной деятельности // Вопросы герпетологии. 2012. С. 344–349.
87. Чернилевский В. Е. Проблемы гипобиоза и продления жизни // Доклады МОИП. 2008. № 41. С. 105-123.
88. Чернилевский В. Е. Радикальное продление жизни. Подходы к решению проблемы // Доклады МОИП. Секция геронтологии. Москва. 2010. Т. 43. С. 170-208.
89. Чернилевский В. Е. Общебиологический подход к изучению причины старения // Биологические проблемы старения и увеличения продолжительности жизни. 1988. С. 21-32.
90. Эмануэль Н. М., Липчина Л. П. Лейкоз у мышей и особенности его развития при воздействии ингибиторов цепных окислительных процессов // Докл. АН СССР. 1958. Т. 121. С. 141-144.
91. Ясенявская А. Л. Изучение влияния иммобилизационного стресса и антиоксидантов на гормональную активность щитовидной железы белых крыс на разных этапах онтогенеза // Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского. 2010. № 2(2). С. 689–693.
92. Abreu-Vieira G. Thermal physiology and metabolism. Interplay between heat generation and energy homeostasis. Stockholm : Department of Molecular Biosciences, The Wenner-Gren Institute, Stockholm University, 2015. 66 p.
93. Al-Bahadly Ali M. M., Bozhkov A. I. Investigation of the influence of cu-induced liver therapy on body temperature and thyroid level in the experimental animals of various age // Paragraphs in medicine : тези доп. міжнародної конференції 9 березня 2017 р. м. Люблін, Польща, 2017. С. 174-175.

94. Alkemade A., Friesema E. C., Unmehopa U. A., Fabriek B. O., Kuiper G. G., Leonard J. L., Wiersinga W. M., Swaab D. F., Visser T. J., Fliers E. Neuroanatomical pathways for thyroid hormone feedback in the human hypothalamus // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005. N 90(7). P.4322-4334.
95. Anderson R. M., Shanmuganayagam D., Weindruch R. Caloric restriction and aging: studies in mice and monkeys // *Toxicol. Pathol.* 2009. № 37. P. 7-51.
96. Araujo A. S., Ribeiro M. F., Enzweiler A., Schenkel P., Fernandes T. R., Partata W. A., Irigoyen M. C., Llesuy S., Belló-Klein A. Yocardial antioxidant enzyme activities and concentration and glutathione metabolism in experimental hyperthyroidism // *Mol. and Cell Endocrinol.* 2006. N 249. P. 133-139.
97. Ares S., Escobar-Morreale H. F., Quero J., Durán S., Presas M. J., Herruzo R., Morreale de Escobar G. Neonatal hypothyroxinaemia: effects of iodine intake and premature birth / *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1997. Vol. 82. P. 1704-1712.
98. Asakawa T., Matsushita S. Coloring condition of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides // *Lipids.* 1980. № 15. P. 137-140.
99. Asayama K., Dobashi K., Hayashibe H., Megata Y., Kato K. Lipid peroxidation and free radical scavengers in thyroid dysfunction in the rat: a possible mechanism of injury to heart and skeletal muscle in hyperthyroidis // *Endocrinology.* 1987. N 121. P. 2112-2118/
100. Asvold B. O., Bjørro T., Vatten L. J. Association of serum TSH with high body mass differs between smokers and never-smokers // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2011. N 94. P. 5023-5027.
101. Banet M., Hensel H., Liebermann H. The central control of shivering and non shivering thermogenesis in the rat // *J. Physiol.* 1978. Vol. 283. P. 569-584.
102. Barski A., Cuddapah S., Cui K., Roh T. Y., Schones D. E., Wang Z., Wei G., Chepelev I., Zhao K. High-resolution profiling of histone methylations in the human genome / *Cell.* 2007. Vol. 129. P. 823-837.

103. Bauman D. E., Brown R. E., Davis C. J. Pathways of fatty acid synthesis and reducing equivalent generation in mammary gland of rat sow and cow // *ArchBiochem Biophys.* 1970. N 140. P. 237-244.
104. Baynes J. Perspectives in diabetes: Role of oxidative stress in development of complications in diabetes // *Diabetes.* 1991. N 40. P. 405-412.
105. Bézaire V., Seifert E. L., Harper M. E. Uncoupling protein- 3: clues in an ongoing mitochondrial mystery // *FASEB J.* 2007. N 21. P. 312–324.
106. Bianco A. C., Maia A. L., da Silva W. S., Christoffolete M. A. Adaptive activation of thyroid hormone and energy expenditure // *Biosci. Rep.* 2005. N 3-4. P. 191-208.
107. Blomen V. A., Boonstra J. Stable transmission of reversible modifications: maintenance of epigenetic information through the cell. *Cellular and molecular life sciences* // *Cell Mol. Life Sci.* 2011. N 68(1). P. 27-44.
108. Boas M., Rasmussen U., Skakkebaek N. E., Main K. M. Environmental chemicals and thyroid function // *Eur. J. Endocrinol.* 2006. N 154(5). P. 599-611.
109. Bozhkov A. I., Dlubovskaia V. L., Dmitriev Iu. V., Meshaikina N. I., Maleev V. A., Klimova E. M. Supposed role of “Metabolic Memory” in formation of response reaction to stress factors in young and adult organisms // *Advances in Gerontology.* 2009. Vol .22. N 2. P. 259–268.
110. Bozhkov A. I., Klimova O. M., Nikitchenko Y. V. Kurguzova N. I., Linkevych O. S., Lebid K. M., Protsenko O. S., Remneva N. A., Al-Bahadly A. M. M., Al-Begai M. A. Y. Ontogenetic Approach to the Study of Mechanisms of Copper-Induced Liver Fibrosis // *Advances in Aging Research.* 2017. Vol. 6, N 3. P. 39-54.
111. Bozhkov A. I., Kurguzova N. I., Krivoruchko T. V., Lebed E. N., Mikhailets A. O., Danladi S. D., Bozhkov A. A., Girich M. S. A Cyclic feeding regime: A new model in experimental gerontology // *Advances in Gerontology.* 2014. N 27(2). P. 328-335.

112. Bozhkov A. I., Nikitchenko Yu. V. Caloric Restriction Diet Induces Specific Epigenotypes Associated with Life Span Extension // *Journal of Nutritional Therapeutics*. 2013. N 2. P 30-39.
113. Bozhkov A. I., Nikitchenko Yu. V., Al-Bahadly A. M. Overeating in Early Postnatal Ontogenesis Forms Metabolic Memory and Reduces Lifespan // *Journal of Gerontology & Geriatric Research*. 2016. Vol. 5, N 3. P. 1-9.
114. Bozhkov A. I., Nikitchenko Yu. V., Klimova E. M., Linkevych O. S., Lebid K. M., Al-Bahadli A. M. M., Alsardia M. M. A. Young and old rats have different strategies of metabolic adaptation to Cu-induced liver fibrosis // *Advances in Gerontology*. 2017. Vol. 7, N. 1. P. 41–50.
115. Bozhkov A. I., Nikitchenko Yu. V., Lebed' K. N., Linkevych O. S., Kurguzova N. I., Klimova O. M., Al Begai M. A. Y., Al-Bahadly A. M. M., Alsardia M. M. A. The Cyclic Feeding Regime Induces Decaying Age-Dependent Oxidative Stress and Regulates the Cell Chain of the Immunity // *Advances in Aging Research*. 2016. Vol. 5, N 6. P. 151-165.
116. Bozhkov A. I., Nikitchenko Yu. V. Thermogenesis and longevity in mammals. Thyroxin model of accelerated aging // *Experimental Gerontology*. 2014. N 60. P. 173–182.
117. Braverman L. E. Effects of iodine on thyroid function in man / *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 1991. N 102. P. 143–152.
118. Brazaluk A. Z. Possible mechanism of metabolic disturbance in gastrocnemius muscle after denervation // *Ukr. Biokhim. Zh.* 1997. Vol. 69, N 3. P. 91-103.
119. Brouwer A., Morse D., Lans M. C., Schuur A. G., Murk A.J., Klasson-Wehler E., Bergman A., Visser T.J. Interactions of Persistent Environmental Organohalogenes With the Thyroid Hormone System: Mechanisms and Possible Consequences for Animal and Human Health // *Toxicol. Ind. Health*. 1998. N. 14(1-2). P. 59-84.

120. Brunova J., Bruna J., Joubert G., Koning M. Weight gain in patients after therapy for hyperthyroidism // South African Medical Journal. 2003. N 93(7). P. 529-31.
121. Buchwalow I., Schnekenburger J., Atiakshin D., Samoilova V., Wolf E., Boecker W., Tiemann K. Oxidative stress and NO generation in the rat pancreatitis induced by pancreatic duct ligation /Acta Histochem, 2017. Vol.119, N 3. P. 252-256.
122. Cao S. X., Dhabhi J. M., Mote P. L. Genomic profiling of short -and long-term calorie restriction effects in the liver of aging mice // Proc. Natl. Acad. Sci. 2001. N 98(19). P. 10630 -10635.
123. Carlberg I., Mannerviek B. Glutathione reductase levels in rat brain // J. Biol. Chem. 1975. N 250. P. 5475-5480.
124. Ciurdaru V. Biochimia proceselor metabolice in organisme animale. Editura Albastra : Cluj-Napoca, 1997. 181 p.
125. Clanton T. L., Zuo L., Klawitter P. Oxidants and skeletal muscle function: physiologic and pathophysiologic implications // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1999. Vol. 222. N 3. P. 253 - 262.
126. Clarke R., Frost C. Dietary fat, blood lipids and coronary disease risk. Nutritional health; strategies for disease prevention. London : Humana Press, 2001. 284 p.
127. Council Directive on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes // Official Journal. 1986. N 358. P. 0001 - 0028.
128. Crisp T. M., Clegg E. D., Cooper R. L., Wood W .P., Anderson D. G., Baetcke K. P., Hoffmann J. L., Morrow M. S., Rodier D. J., Schaeffer J. E., Touart L. W., Zeeman M. G., Patel Y. M. Environmental endocrine disruption:

- an effects assessment and analysis // *Environ. Health Perspect.* 1998. N 106. P. 11–56.
129. Dale J., Daykin J., Holder R., Sheppard M. C., Franklyn J. A. Weight gain following treatment of hyperthyroidism // *Clin. Endocrinol.* 2001. N 55. P. 233–239.
130. Dawson C. A., Horvath S. M. Swimming in small laboratory animals // *Medicine and Science in Sports.* 1970. Vol. 2, N 2. P. 51–78.
131. Fernández V., Barrientos X., Kipreos K., Valenzuela A., Videla L. A. Superoxide radical generation, NADPH oxidase activity, and cytochrome P-450 content of rat liver microsomal fractions in an experimental hyperthyroid state: relation to lipid peroxidation // *Endocrinology.* 1985. N 117. P. 496–501.
132. Françoise B. D. Effects of environmental synthetic chemicals on thyroid function *Thyroid* // *Thyroid.* 2009. Vol. 8, N 9. P. 827–856.
133. Freeman B. A., Crapo J. D. Biology of disease, free radicals and tissue injury // *Lab. Invest.* 1982. N 47. P. 412–426.
134. Golden S. H, Robinson K. A, Saldanha I., Anton B., Ladenson P. W. Clinical review: Prevalence and incidence of endocrine and metabolic disorders in the United States: a comprehensive review // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2009. N 94. P. 1853–1878.
135. Gredilla R., López Torres M., Portero-Otín M., Pamplona R., Barja G. Influence of hyper and hypothyroidism on lipid peroxidation, unsaturation of phospholipids, glutathione system and oxidative damage to nuclear and mitochondrial DNA in mice skeletal muscle // *Mol. Cell. Biochem.* 2001. Vol. 221. N 1–2. P. 41–48.
136. Guerrero A., Pamplona R., Portero-Otín M., Barja G., López-Torres M. Effect of thyroid status on lipid composition and peroxidation in the mouse liver // *Free Rad. Biol. Med.* 1999. N 26. P. 73–80.

137. Gus'kova R. A., Vilenchik M. M., Koltover V. K. Role of free superoxide radicals in biological aging // *Biophysics XXV*. 1980. N 1. P. 102-105.
138. Gutteridge J. M. Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence // *Free Radic. Res. Commun.* 1993. N 19(3). P. 141-58.
139. Halliwell B. Free radicals and other reactive species in disease. // *eLS*. 2005. P. 1-7.
140. Halliwell B., Gutteridge J. M. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed. London : Oxford University Press, 1997. 758 p.
141. Harman D. Aging: A theory based on free radicals and radiation chemistry. // *J. Gerontol.* 1956. Vol. 11. P. 298-300.
142. Harman D. The aging process. *Proc // Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1981. Vol. 78, N 11. P. 7124-7128.
143. Herwig A., Ross A. W., Nilaweera K. N., Morgan P. J., Barrett P. Hypothalamic Thyroid Hormone in Energy Balance / *Obes Facts*, 2008. N1(2). P.71-79.
144. Hicks M., Wong L. S., Day R. O. Antioxidant activity of propylthiouracil // *Biochem Pharmacol.* 1992. N 43(3). P. 439-444.
145. Ito K., Kagaya Y., Shimokawa H. Thyroid hormone and chronically unloaded hearts // *Vascular Pharmacol.* 2010. N 52(3-4). P. 138-141.
146. Kamatch S. A., Narayan K. A. Interaction of Ca<sup>2+</sup> with endoplasmatic reticulum of rat liver: a standart procedure for the isolation of microsomes // *Anal. Biochem.* 1972. N 48. P. 53-61.
147. Kelly G. Peripheral Metabolism of Thyroid Hormones // *A. Review. Altern. Med. Rev.* 2000. Vol. 5(4). P. 306-333.
148. Klimova E. M., Merezhko O. S., Al-Bahadly Ali M. M., Kurguzova N. I., Bozhkov A. I. Age determines the intensity of thyrotropic hormone production in response to copper sulphate intoxication // *Advances in Biology & Earth Sciences*. 2018. Vol. 3, N 3. P. 234-240.

149. Klingenspor M. Cold induced recruitment of brown adipose tissue thermogenesis // *Experimental Physiology*. 2003. Vol. 88. N 1. P. 141-148.
150. Krotkiewski M. Thyroid hormones in the pathogenesis and treatment of obesity // *Eur. J. Pharmacol.* 2002. Vol. 440, N 2-3. P. 85-98.
151. Lanni A., Moreno M., Lombardi A., Goglia F. Thyroid hormone and uncoupling proteins // *FEBS PRESS*. 2003. Vol. 543, N 1-3. P. 5-10.
152. Lean M. E., James W. P., Jennings G., Trayhurn P. Brown adipose tissue uncoupling protein in adult humans // *Biochem. Soc. Trans*, 1986. Vol.114, N 2. P. 289-296.
153. Lechan R. M., Fekete C. Central mechanisms for thyroid hormone regulation // *Am. J. Psychiatry*. 2006 Vol. 163. N 9. P.1492-1493.
154. Levine R. L., Williams J. A., Stadtman E. R., Shacter E. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins // *Methods Enzymol*. 1994. Vol. 233. P. 346-357.
155. Loevner L. A. Imaging of the thyroid gland // *Semin Ultrasound CT MR*. 1996. N 17. P. 539-562.
156. Maggi-Capeyron M. F., Cases J., Badia E., Cristol J. P., Rouanet J. M., Besançon P., Leger C. L., Descomps B. A diet high in cholesterol and deficient in vitamin E induces lipid peroxidation but does not enhance antioxidant enzyme expression in rat liver // *J. Nutr. Biochem*; 2002. N 13. P. 296-301.
157. Mano T., Sinohara R., Sawai Y. Effects of thyroid hormone on coenzyme Q and other free radical scavengers in rat heart muscle // *J. Endocrinol*. 1995. N 145. P. 131-136.
158. Massie H. R., Aiello V. R., Banziger V. Iron accumulation and lipid peroxidation in aging C57BL/6J mice // *Exp. Gerontol*. 1983. N 18. P. 277-285.
159. McCay C. M., Pope F., Lunsford W. Experimental Prolongation of Life Span // *Bull. N. Y. Acad. Med*. 1956. Vol.32, N 2. P. 91-101.

160. Marina A. Michalaki, Margarita I. Gkotsina., Irene Mamali., Georgios K. Markantes, Amalia Faltaka, Fotios Kalfarentzos, Apostolos G. Vagenakis, Kostas B. Markou . Does extreme obesity affect thyroid hormone metabolism / Impaired pharmacokinetics of levothyroxine in severely obese volunteers // *Thyroid*. 2011. N 21(5). P. 477-481.
161. Miller S. I. Protein determination for large numbers of samples // *Anal. Chem.* 1959. Vol. 31, N 5. P. 964–966.
162. Misra H. P., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase // *J. Biol. Chem.* 1972. Vol. 274. P. 3170–3175.
163. Monaco F. Classification of thyroid diseases: suggestions for a revision // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003. N 88(4). P. 1428-1432.
164. Mullur R., Liu Y. Y., Brent G. A. Thyroid hormone regulation of metabolism // *Physiological reviews*. 2014. Vol. 94(2). P. 355-382.
165. Nanda N., Bobby Z., Hamide A., Koner B. C., Sridhar M. G. Association between oxidative stress and coronary lipid risk factors in hypothyroid women is independent of body mass index // *Metabolism*. 2007. Vol. 56. P. 1350-1355.
166. Nathan C., Xie Q. W. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls // *Cell*. 1994. N 23. Vol. 78, N 6. P. 915-918.
167. Niki E., Noguchi N., Tsuchihashi H., Gotoh N. Interaction among vitamin C, vitamin E, and beta-carotene /*Am. J. Clin. Nutr.* 1995. N 62. P. 1322-1326.
168. Oden J., Bourgeois M. Neonatal endocrinology // *Indian J. Pediatr*, 2000. Vol. 67,N 3. P. 217- 223.
169. Ohkawa H., Ohahi H. N., Jadi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // *Anal Biochem.* 1979. Vol. 95. P. 351-358.
170. Ooka H., Shinkai T. Effect of chronic hyperthyroidism on the lifespan of the rat // *Mech. Ageing Dev.* 1986. Vol. 33. P. 275-282.

171. Paglia D. E., Valentine W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase // *J. Lab. Clin. Med.* 1967. Vol. 70. P. 158-169.
172. Paller M. S. Hypothyroidism protects against free radical damage in ischemic acute renal failure // *Kidney Int.* 1986. Vol. 29. P. 1162–1166.
173. Papanas N., Papatheodorou K., Papazoglou D., Gioka T., Antonoglou C., Kotsiou S., Maltezos E. Post-thyroidectomy thyroxine replacement dose in patients with or without compensated heart failure: the role of cytokines // *Cytokine.* 2008. Vol. 41. P.121-126.
174. Pengelley E. T., Kelly K. N. A "circannian" rhythm in hibernating species of the genus *Citellus* with observations on their physiological evolution // *Comp. Biochem. Physiol.* 1966. Vol. 19(3). P. 603-617.
175. Pereira B., Rosa L. F., Safi D. A., Bechara E. J., Curi R. Control of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in rat lymphoid organs by thyroid hormones // *J. Endocrinol.* 1994. N 140. P. 73-77.
176. Persky E. E., Nikitina N. A., Naglov A. V., Kot J. G. Age features of induction and synthesis of intensity of certain processing steps of collagen in the connective tissue under the influence of mechanical loading // *Biologicheskii Vestnik.* 2006. Vol. 10. P. 126-129.
177. Jhh Petrulea M., Muresan A., Duncea I. Oxidative stress and antioxidant status in hypo - and hyperthyroidism: Additional information is available at the end of the chapter // *Antioxidant Enzyme.* 2012. Vol. 8. N 12. P. 197-236.
178. Ravin H. A. Rapid test for hepatolenticular degeneration // *Lancet.* 1956. Vol. 1. P. 7267 – 7271.
179. Roth G. S., Lane M. A., Ingram D. K. Biomarkers of caloric restriction may predict longevity in humans // *Science.* 2002. Vol. 297. P. 811.
180. Roth G. S., Ingram D., Lane M. A. Caloric restriction in primates and relevance to humans // *Ann. NY Acad. Sci.* 2001. N 928. P. 305-315.

181. Rotondi M., Magri F., Chiovato L. Thyroid and obesity: not a one-way interaction // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2011. Vol. 96. P. 344-346.
182. Santos G. M., Pantoja C. J., Costa E., Silva A. Thyroid hormone receptor binding to DNA and T3-dependent transcriptional activation are inhibited by uremic toxins // *Nucl. Recept.* 2005. Vol. 3. P. 1-3.
183. Sapronov N. S., Fedotova Yu. O. Gormony gipotalamo–gipofizarno–tireoidnoi sistemy i mozg. The hormones of the hypothalamic-pituitary-thyroid system and the brain. St. Petersburg: Lan, 2002. 184 p.
184. Scheller K., Sekeris C. E. The effects of steroid hormones on the transcription of genes encoding enzymes of oxidative phosphorylation // *Exp. Physiol.* 2003. Vol. 88. P. 129–140.
185. Silva J. E. The thermogenic effect of thyroid hormone and its clinical implications // *Ann. Intern. Med.* 2003. Vol. 139(3), N 5. P. 205-213.
186. Soare A., Cangemi R., Omodei D., Holloszy J. O., Fontana L. Long-term calorie restriction, but not endurance exercise, lowers core body temperature in humans // *Aging (Albany NY)*. 2011. N 3(4). P. 374-379.
187. Spindler S. T. Calorie restriction enhances the expression of key metabolic enzymes associated with protein renewal during aging // *Ann. NY Acad. Sci.* 2001. Vol. 928. P. 296-304.
188. Sukkar M. Y., Ardawi S. M., El-Munshid H. A. Concise Human Physiology. second edition. London : Blackwell Science Ltd , 2000. 450 p.
189. Swaroop A., Ramasarma T. Heat exposure and hypothyroid conditions decrease hydrogen peroxide generation in liver mitochondria // *Biochem. J.* 1985. Vol. 226. P. 403-408.
190. Usatenko M. S., Tsoncheva A. B. Effect of insulin deficit and hydrocortisone on the activity of NADP and NAD-dependent malate dehydrogenase in the liver and kidney cortex of rats // *Voprosy meditsinskoy himii*. 1974. N 20. P. 401-406.

191. Vasiliadi G. K. Use of Special Diagnostic Devices of Noncontact Measurement of Temperature of Organization of Telemedical Monitoring of Thyroid Gland Diseases in Edemic Geographis zones // Exhibition and Conference Guide Luxexpo Luxembourg , 6-8 Apr 2004. Luxembourg. 2004. P. 72-73.
192. Vitale M., Di Matola T., D'Ascoli F., Salzano S., Bogazzi F., Fenzi G., Martino E., Rossi G. Iodide excess induces apoptosis in thyroid cells trough a p53-independent mechanism involving oxidative stress // Endocrinology Soc. 2000. N 141(2). P. 598-605.
193. Wajner S. M., Goemann I. M., Bueno A. L., Larsen P.R., Maia A. L. IL-6 promotes nonthyroidal illness syndrome by blocking thyroxine activation while promoting thyroid hormone inactivation in human cells // J. Clin. Invest. 2011. N 121. P. 1834-1845.
194. Wang W., Inoue N., Nakayama T., Ishii M., Kato T. An assay method for nitric oxide synthase in crude samples by determining product NADP / Anal. Biochem. 1995. Vol. 227. P. 274-280.
195. Warner A., Rahman A., Solsjö P., Gottschling K., Davis B., Vennström B., Arner A., Mittag J. Inappropriate heat dissipation ignites brown fat thermogenesis in mice with a mutant thyroid hormone receptor  $\alpha 1$  // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2013. N 110(40). P. 16241–16246.
196. Weber G., Vigone M., Rapa A., Bona G., Chiumello G. Neonatal transient hypothyroidism: actiological study. Italian Collaborative study on transient hypothyroidism / Arch. Dis. Child Fetal Neonatal Ed. 1998. Vol. 79, N 1. P. 70-72.
197. Whiteman H. How body temperature is affected by thyroid hormone // Medicalnewstoday.2013  
.URL:<https://www.medicalnewstoday.com/articles/266255.php>.

198. Wilson D. The Critical Role of Iodothyronine Deiodinase Enzymes in the Regulation of the Thyroid System // *Anti-Aging Therapeutics*. 2015. Vol. XVII. N 17. P. 225-229.
199. Wolf G. Nitric oxide and nitric oxide synthase: biology, pathology, localization // *Histol. Histopathol.* 1997. Vol. 12, N 1. P.251-261.
200. Younes M., Schlichting R., Siegers C. P. Glutathione-S-transferase activities in rat liver: effect of some factors influencing the metabolism of xenobiotics // *Pharmacol. Res. Commun.*1980. N 12 (2). P.115-128.
201. Zaheer N., Tewary K. K., Krishnan P. S. Mitochondrial forms of glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconic dehydrogenase in rat liver // *Arch. Biochem. Biophys.* 1967. Vol. 120. P. 22-34.
202. Zoeller R. T., Tan S. W., Tyl R. W. General background on the hypothalamicpituitary -thyroid (HPT) axis // *Crit. Rev. Toxicol.* 2007. Vol. 37. P. 11-53.

## ДОДАТОК 1

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*Наукові праці у зарубіжних наукових фахових виданнях:*

1. Klimova E. M., Merezhko O.S., **Al-Bahadly Ali M. M.**, Kurguzova N. I., Bozhkov A. I. Age determines the intensity of thyrotropic hormone production in response to copper sulphate intoxication // *Advances in Biology & Earth Sciences*. 2018. Vol. 3, N 3. P. 234-240. (*Особистий внесок здобувача: визначення концентрації гормонів щитоподібної залози, участь в обговоренні результатів та їх інтерпретації*).
2. Божков А. И., Никитченко Ю. В., Климова Е. М., Ленькевич Е. С., Лебедь Е. Н., **Аль-Бахадли А. М. М.**, Алсардиа М. М. А. Молодые и старые животные используют различные метаболические стратегии адаптации к су-индуцированному фиброзу печени // *Успехи геронтологии*. 2016. Т. 29. № 4. С. 555–566. (Pubmed). (Перевидана в: Bozhkov A. I., Nikitchenko Yu. V., Klimova E. M., Linkevych O. S., Lebid K. M., **Al-Bahadli A. M. M.** and Alsardia M. M. A. Young and old rats have different strategies of metabolic adaptation to Cu-induced liver fibrosis // *Advances in Gerontology*. 2017. Vol. 7, N 1. P. 41–50. (SCOPUS)). (*Особистий внесок здобувача: визначення NO-синтетази, про- та антиоксидантних показників, виконано статистичну обробку отриманих даних, участь у обговоренні результатів*).
3. Bozhkov Anatoliy I., Klimova Olena M., Nikitchenko Yuriy V., Kurguzova Natalia I., Linkevych Olena S., Lebid Katherine M., Protsenko Olena S., Remneva Natalya A., **Al-Bahadly Ali M. M.**, Al-Begai Mohammad A. Y. Ontogenetic approach to the study of mechanisms of copper-induced liver fibrosis // *Advances in Aging Research*. 2017. Vol. 6. P. 39-54. (GoogleScholar, CrossRef). (*Особистий внесок*

здобувача: вимірювання концентрації тироксину та трийодтироніну, вимірювання фізіологічних показників, участь у обговоренні отриманих результатів).

4. Bozhkov Anatoly I., Nikitchenko Yuriy V., Lebed' Katerina N, Linkevych Olena S., Kurguzova Natalia I., Klimova Olena M., Al Begai Mohammad A. Y., **Al-Bahadly Ali M. M.**, Alsardia Mohammad M. A. The cyclic feeding regime induces decaying age-dependent oxidative stress and regulates the cell chain of the immunity // *Advances in Aging Research*. 2016. Vol. 5. P. 151-165. (Google Scholar, CrossRef).  
(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні експерименту, вимірювання імунних показників, вмісту гідроперекисів ліпідів, участь у обговоренні отриманих результатів).

5. Bozhkov A. I., Nikitchenko Yu. V. and **Al-Bahadly Ali M. M.** Overeating in early postnatal ontogenesis forms metabolic memory and reduces lifespan // *Journal of Gerontology & Geriatric Research*. 2016. Vol. 5, N 3. P. 1-9. (Google Scholar).  
(Особистий внесок здобувача: вимірювання гормонів щитоподібної залози, вмісту гідроперекисів ліпідів, активності глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази, активності NO-синтетази, активності ізоцитратдегідрогенази, вимірювання фізіологічних показників, обговорення та інтерпретація результатів, участь у написанні статті).

*Наукові праці апробаційного характеру (тези доповідей на наукових конференціях) за темою дисертації:*

6. **Al-Bahadly Ali M. M.**, Bozhkov A. I. Investigation of the influence of cu-induced liver therapy on body temperature and thyroid level in the experimental animals of various age // *Paragraphs in medicine : міжнародна конференція, 9 березня 2017 р.* : тези доп. Люблін, Польща, 2017. С.174-175. (Особистий внесок здобувача: вимірювання фізіологічних параметрів тварин, визначення концентрації гормонів щитоподібної залози, участь у обговоренні результатів та їх інтерпретації).

7. **Ал-Бахадлі Алі Мохаммед М.** Взаємозв'язок тиреоїдного статусу з тривалістю життя в експерименті // Молодь і поступ біології : XIII Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів, 25-27 квітня 2017 р. : тези доп. Львів, 2017. С. 22.

8. Климова Е. М. Калашникова Ю. В., Дроздова Л. А., **Аль-Бахадли Али М. М.** Маркеры аутоиммунного полигландулярного синдрома у больных миастенией // Пріоритети сучасної медицини: теорія і практика : матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 5-6 лютого 2016 р. Одеса, 2016. С. 148-152. *(Особистий внесок здобувача: визначення концентрації гормонів тироксину, трийотироніну, тиреотропного гормону, участь в обговоренні результатів).*

9. Божков А. И., Никитченко Ю. В., **Аль-Бахадли Али М. М.** Передание в раннем постнатальном онтогенезе формирует метаболическую память и влияет на продолжительность жизни» // Проблемы старения и долголетия : матеріали науково-практичної конференції «Здоров'я, харчування, довголіття» пам'яті проф. Ю. Г. Григорова (до 85-річчя від дня народження), 16-17 травня 2016 р., Київ, 2016. Т. 25, № 2. С. 335. *(Особистий внесок здобувача: визначення концентрації тироксину, активності NO-синтетази, обговорення результатів).*

10. Лінкевич О. С., **Аль-Бахадлі Алі**, Агаркова А. Н. Особливості реактивності та первинної резистентності у молодих та старих тварин // Механізми функціонування фізіологічних систем : матеріали міжнародної наукової конференції, приурочена до 70-ліття біологічного факультету та 230-ліття фізіології у Львівському університеті, 15-17 жовтня 2014 р. Львів, 2014. С. 58-59. *(Особистий внесок здобувача: вимірювання фізіологічних параметрів тварин, виконання методики визначення показників фагоцитозу, участь у обговоренні результатів та їх інтерпретації).*

*Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:*

11. Коваленко Т. И., Минухин В. В., Климова Е. М., Быченко А. А., **А. М. Мушли А-Б.** Изучение ферментативной активности гранулоцитарных нейтрофилов у животных с экспериментальной инфекцией разного возраста // Актуальные вопросы современной медицины. Сб. науч. тр. по итогам межвузовской ежегодной заочной научно-практической конференции с международным участием. 2014. С. 86–89. (РИНЦ). *(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні експерименту, участь у обговоренні та інтерпретації отриманих результатів).*

### Апробація результатів дисертації

1. Міжнародна конференція «Paragraphs in medicine». Люблін, Польща, 9 березня 2017. Заочна форма участі.
2. XIII Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології». Львів, 25-27 квітня 2017. Заочна форма участі.
3. Міжнародна науково-практична конференція «Пріоритети сучасної медицини». Одеса, 5-6 лютого 2016. Заочна форма участі.
4. Науково-практична конференція «Проблемы старения и долголетия». «Здоров'я, харчування, довголіття» пам'яті проф. Ю. Г. Григорова (до 85-річчя від дня народження). Київ, 16-17 травня 2016. Очна форма участі.
5. Міжнародна наукова конференція «Механізми функціонування фізіологічних систем», приурочена до 70-ліття біологічного факультету та 230-ліття фізіології у Львівському університеті. Львів, 15-17 жовтня 2014. Заочна форма участі.

ЗАТВЕРДЖУЮ  
Проректор з навчальної та інноваційної  
роботи Харківського національного  
університету імені В. Н. Каразіна

  
М. О. Азаренков

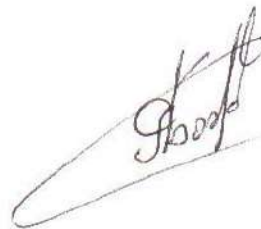
### АКТ

про впровадження результатів кандидатської дисертаційної роботи АЛІ МОХАММЕД МООШЛІ АЛ-БАХАДЛІ за результатами дисертаційної роботи «Дослідження механізмів терморегуляції та тривалості життя в експерименті»

у навчальні курси на біологічному факультеті Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна.

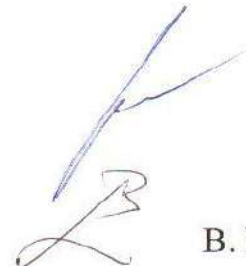
Комісія у складі: завідувача кафедри молекулярної біології та біотехнології, професора, доктора біологічних наук Божкова А. І., заступника декана з навчальної роботи, кандидата біологічних наук, доцента Наглова О. В. та голови методичної комісії біологічного факультету, кандидата біологічних наук, доцента Мартиненко В. В. встановила, що результати кандидатської дисертації АЛІ МОХАММЕД МООШЛІ АЛ-БАХАДЛІ, а саме: взаємозв'язок тривалості життя, термогенезу та показників активності про- та антиоксидантної систем впроваджені в навчальний процес на біологічному факультеті при розробці лабораторних робіт з дисциплін «Біохімія» та «Біотехнологія» для студентів біологічного факультету, які навчаються за освітньо-професійною програмою «Біологія» на першому (бакалаврському) рівні освіти, а також при розробці програм нормативних дисциплін, які викладаються на біологічному факультеті Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, «Молекулярна біологія» та «Біотехнологія».

Завідувач кафедри  
молекулярної біології та  
біотехнології,  
д.б.н., професор



А. І. Божков

Заступник декана з навчальної  
роботи, кандидат біологічних  
наук, доцент



О. В. Наглов

Голова методичної комісії  
біологічного факультету,  
к.б.н., доцент

В. В. Мартиненко