

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ В. Н. КАРАЗІНА

АЛІ МОХАММЕД МООШЛІ АЛ-БАХАДЛІ

УДК 612.55 + 591.139 : 001.891.5

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

03.00.04 – біохімія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Харків - 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Науково-дослідному інституті біології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор

Божков Анатолій Іванович

Науково-дослідний інститут біології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна

Міністерства освіти і науки України,

м. Харків

директор

завідувач кафедри молекулярної біології та біотехнології

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор,

член-кореспондент НАН України

Мінченко Олександр Григорович

Інститут біохімії імені О. В. Палладіна

НАН України, м. Київ

завідувач відділу молекулярної біології

кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник

Карпенко Ніна Олексіївна

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології

ім. В. Я. Данилевського НАМН України»,

м. Харків,

завідувачка лабораторії репродуктивної ендокринології

Захист відбудеться «___»_____2019 року о ___годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 64.051.17 Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна за адресою: 61022, м. Харків, майдан Свободи, 6, ауд. 7-26

З дисертацією можна ознайомитися у Центральній науковій бібліотеці Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна за адресою: 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4.

Автореферат розісланий «___»_____2019 року

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради

М. К. Ковальов

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. 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 автоімунних 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 важливим завданням у вирішенні біохімічних механізмів старіння та патогенезу вік-залежних патологій. Одним з ефективних шляхів вирішення цього завдання 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. (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 даних, що були отримані на цій 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.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. 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 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 тироксиновій 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 CuSO_4 -індукованого фіброзу печінки.

Предмет дослідження – ферментні системи антиоксидантного захисту (глутатіонредуктаза, 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 CuSO_4 -індукованим фіброзом печінки.

Методи дослідження – біохімічні (визначення вмісту гідроперекисів ліпідів, глутатіонредуктазної, 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 мікосом); 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 одержаних 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 мікрров'язкості мембран ендоплазматичного ретикулюму, 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.

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).

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).

Публікації. За результатами досліджень, наведених у дисертаційній роботі, опубліковано 11 наукових праць, серед яких 6 статей (5 статей у зарубіжних наукових фахових виданнях та 1 стаття, яка додатково відображає наукові результати дисертації) і 5 тез доповідей на фахових вітчизняних і міжнародних наукових конференціях.

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.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми дисертаційної роботи, вказано мету і задачі дослідження, наукову новизну та практичну цінність отриманих результатів, наведено відомості про впровадження результатів роботи, наукові публікації та особистий внесок автора.

В **огляді літератури** проводиться аналіз наукових даних присвячених дослідженню 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 про- та антиоксидантну систему організму. Проаналізовані літературні дані щодо ролі гормонів щитоподібної залози в онтогенетичних процесах адаптації. Проаналізовано результати дослідження впливу токсичних факторів зовнішнього середовища на синтез гормонів щитоподібної залози.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проводили на щурах-самцях лінії Wistar різних вікових груп з дотриманням положень Європейської конвенції із захисту тварин, які використовуються для експериментальної та наукової мети (Страсбург, 1986).

Переїдання в ранньому постнатальному онтогенезі здійснювали шляхом зменшення кількості новонароджених щурят до 2-х особин на самку. Через місяць тварин контрольної групи (72 особи) та дослідної (116 особин) переводили на стандартні умови утримання та годівлі.

Для дослідження виживання контрольних тварин (22 особини) і піддослідних (16 особин) 20-ти міс. віку утримували при температурі середовища 32° С, тиску 743-750 мм рт. ст., тривалості світлового періоду 15 годин, темного - 9 годин протягом 30-ти днів, після чого визначали кількість тварин, що вижили.

Для отримання моделі калорійно обмеженої дієти (КОД) тварини з 1-місячного (міс.) віку переводили на низькокалорійний режим годування, за якого калорійність їжі була зменшена на 50% (Божков А.І., 2001). При циклічному режимі годування (Божков А.І. и др., 2014) щури отримували обмежену кількість їжі, за якої щури втрачали до 30 % маси тіла протягом 14 днів, потім режим годування змінювали на такий, який дозволяв відновити масу тіла, після чого тварини утримувалися в стандартних умовах віварію протягом 30 днів, такі цикли повторювали двічі. Біохімічні показники визначали на етапах втрати та відновлення маси тіла. Для отримання моделі індукованого гіпертиреозу (ІГ) щури-самці 17-місячного віку отримували тироксин з питною водою в концентрації 6 мг/л протягом 2 місяців.

Для створення моделі експериментального фіброзу печінки використовували 3-міс. (молодих) і 20-міс. (старих) тварини. Тварини кожного віку були розділені на три групи: контрольну – інтактні, яких утримували в стандартних умовах віварію; дослідну, яким вводили сульфат міді в концентрації 1 мг/100 г маси тіла послідовно тричі з інтервалом між введенням 48 год; групу тварин, яким почергово, кожні 24 год., вводили сульфат міді в дозі 1мг/100 г маси тварин і мікс-фактор в дозі 0,1 мл/100 г маси тварин (триразово). Через 24 години після останнього введення і через 5 діб від першого введення тварин присипляли та визначали вміст тироксину та показники про- і антиоксидантної системи.

У тварин визначали масу тіла, ректальну температуру, працездатність (тест плавання з вантажем при t води 12-14⁰С), виживання (за методом Каплана-Мейєра; Гехана з поправкою Йейтса (Dawson С.А. et al., 1970).

Проведення експериментів починали о 8 годині ранку. Щурів виводили з досліду шляхом декапітації під ефірним наркозом. Кров збирали в пробірки для отримання сироватки, видаляли серце і печінку для визначення співвідношення їхньої маси. З фрагментів печінки, фіксованих в 10 % розчині формаліну протягом 48 годин, готували гістологічні препарати, фарбували за Ван-Гізоном (Persky E. E., 2006).

Печінку гомогенізували в розчині такого складу: 0,3 М сахароза, 1 мМ ЕДТА, 10 мМ трис-НСІ, рН 7,4. З гомогенату печінки шляхом диференціального центрифугування виділяли мітохондрії і мембрани ендоплазматичного ретикулума при 100 000 g 60 хв при 4°С (Кондрашова М. Н., 1987). Після 2-кратного промивання отриману фракцію мітохондрій суспендували так, щоб в 1 мл містилося 60-80 мг білка. Субмітохондріальні частки печінки отримували шляхом соніфікації суспензії мітохондрій в ультразвуковому диспергаторі УЗДН-А (Україна). Отриману суспензію центрифугували 10 хв при 10 000 g, відбирали надосадову фракцію, яку повторно центрифугували 30 хв при 60 000 g. Отриманий в результаті осад суспендували в 100 мМ трис-НСІ-буфері, рН 7,4 і використовували для визначення швидкості генерації O_2^- . Набрякання мітохондрій

реєстрували за зміною їх оптичної щільності в кюветі, що термостатується (37°C), 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 K_2HPO_4 , 5 мкМ ротенон, 2 мМ сукцинат і 25 мкМ CaSO_4 .

Концентрацію тироксину і трийодтироніну в сироватці крові визначали радіоімунологічним методом (нмоль/л) з використанням набору "Total T4 RIA" та "Total T3 RIA" виробництва IMMUNOTECH (Чеська республіка) і методом імуоферментного аналізу (нмоль/мл). Концентрацію тиреотропного гормону у сироватці крові визначали методом імуоферментного аналізу (мМО/л). Вміст гідроперекисів ліпідів (нмоль МДА) визначали спектрофотометрично в мітохондріях і мікросомах печінки (Ohkawa H. et al., 1979) та в сироватці крові (Asakawa T. et al., 1980). Глутатіонредуктазну активність (нмоль NADPH/хв•мг білка) в цитозолі та мітохондріях печінки вимірювали спектрофотометрично (Carlberg I. et al., 1975). Малатдегідрогеназну активність (нмоль NADPH/хв•мг білка) визначали в гомогенаті і мітохондріях печінки спектрофотометрично за швидкістю відновлення NADP⁺ (Usatenko M. S. et al., 1974; Tsoncheva A. V., 1974). Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназну активність (нмоль NADPH/хв•мг білка) вимірювали в гомогенатах та мітохондріях тканин і еритроцитах крові спектрофотометрично за швидкістю відновлення NADP⁺ (Zaheer M. et al., 1967). Ізоцитратдегідрогеназну активність (нмоль NADPH/хв•мг білка) в гомогенаті і мітохондріях печінки визначали спектрофотометрично за швидкістю відновлення NADP⁺ (Bauman D. E. et al., 1970); глутатіонпероксидазну активність (нмоль NADPH/хв на мг білка або мл сироватки) визначали у фракції цитозолу, мітохондріях печінки і сироватці крові спектрофотометрично (Paglia D.E et al., 1967). NO-синтетазну активність визначали в гомогенатах, мітохондріях і постмітохондріальній фракції печінки флуориметрично за зменшенням рівня NADPH (Wang G. et al., 1995). Інтенсивність дихання і окисного фосфорилування мітохондрій визначали за допомогою закритого кисневого електроду Кларка (Скулачев В. П., 1969). За кривими споживання кисню розраховували швидкості дихання мітохондрій в метаболічних станах 2 і 3 за Чансом (V_2 і V_3), дихальний контроль (ДК, V_3/V_2). Швидкість генерації O_2 в суспензії мікросом при окисненні NADPH вимірювали за утворенням адренохрому (при 480 нм) з адреналіну. Глутатіон-S-трансферазну активність вимірювали в цитоплазмі і мітохондріях печінки спектрофотометрично (Younes M. et al., 1980). Вміст білка в досліджуваних зразках визначали за методом Lowry O.H. в модифікації Miller (Miller S. I., 1959).

Для статистичної обробки результатів застосовували методи непараметричної (критерій Вілкоксона-Манна-Уїтні) та параметричної статистики (t-критерій Стюдента) з використанням пакету програм "Statistika V.6". Достовірно різними вважали такі результати при $P < 0,05$ у порівнянні з контрольними величинами, які позначали в графіках і таблицях символом «*».

Результати досліджень та їх обговорення

1. Дослідження певних біохімічних і соматометричних характеристик у тварин в онтогенезі, що переїдали на ранньому етапі онтогенезу. У 1-місячних щурів надмірне споживання їжі від народження до 21 доби життя призводило до підвищення маси тіла на 32 % відносно контролю. У 3-х місячному віці тварини, що переїдали в РПО, перевищуючи контроль на 25 %, при цьому у них була збільшена і маса печінки. Подальше утримання тварин, що пройшли період переїдання в РПО в стандартних умовах віварію, не усувало перевагу їх за масою тіла порівняно з контролем протягом усього онтогенезу, аж до 31-місячного віку. Зі збільшенням віку відмінності за масою тіла зменшувалися, знижувався масовий коефіцієнт серця, а масовий коефіцієнт печінки до 31-місяця не відрізнявся від контролю.

При вивченні адаптаційних можливостей тварин з переїданням в РПО до екстремальних умов середовища було встановлено, що кількість 20-місячних щурів, що вижили в умовах підвищеної температури середовища, становила 86 %, а у групі аналогічного віку з переїданням в РПО – 56 %, що свідчить про зниження адаптаційних можливостей у тварин, які перебували в РПО. У той час, як відсоток тварин, що вижили, в умовах гіпертермії, які знаходились на КОД, становив 98 %. Температура тіла у щурів з переїданням в РПО була підвищена на $(0,8-1) ^\circ\text{C}$ і становила в середньому $(38,3 \pm 0,3) ^\circ\text{C}$ в порівнянні з контрольними тваринами $(37,4 \pm 0,2) ^\circ\text{C}$, а у тварин, що знаходились на КОД з 1-місячного віку – знижена $(35,6 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$, що свідчить про зворотний зв'язок між температурою тіла і тривалістю життя.

Вміст тироксину в сироватці крові тварин, які пройшли переїдання в РПО, був достовірно вищим у щурів на різних етапах онтогенезу (3-, 20- і 31-міс. віку) в порівнянні з контролем, однак, в онтогенезі він змінювався по-різному (рис. 1).

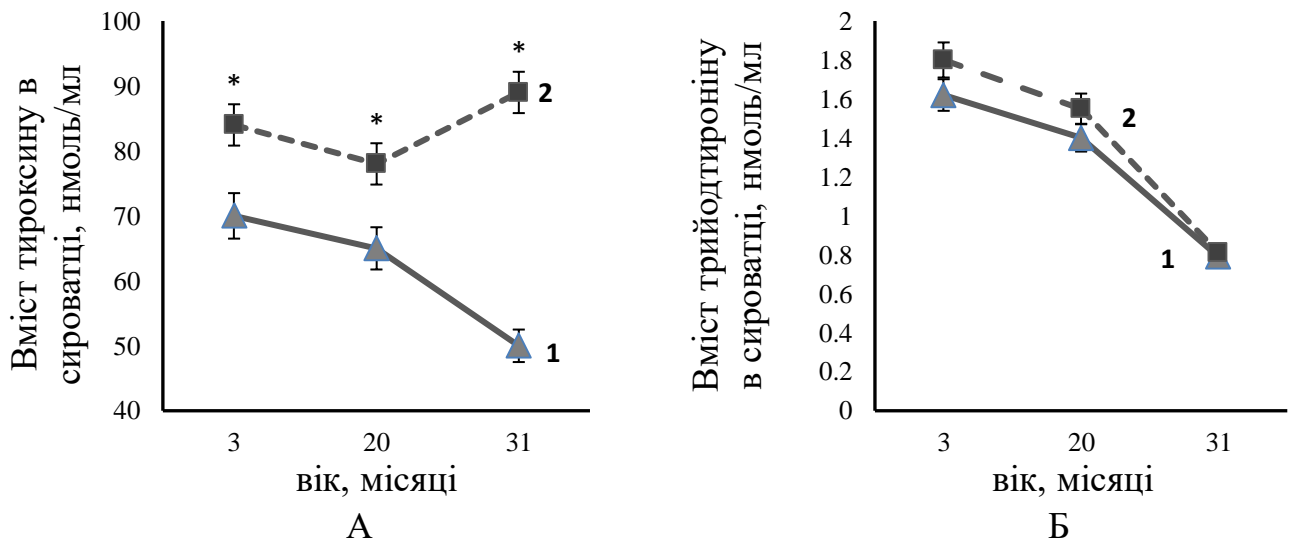


Рис. 1. Вміст тироксину (А) і трийодтироніну (Б) в сироватці крові у контрольних тварин (1) і тварин с переїданням в РПО (2) у 3-х, 20-ти і 31-місячного віку. В дослідженнях використано 5 тварин в кожній експериментальній групі

Вміст тироксину в сироватці крові контрольних тварин в онтогенезі з 3- до 31-міс. віку зменшувався на 32 %, в той час як у групі тварин з переїданням в РПО він був достовірно підвищений щодо контрольного рівня в усі терміни дослідження. Слід зазначити, що вміст тироксину у сироватці крові у 31-міс. тварин, навпаки, збільшувався (рис. 1 А).

Вміст трийодтироніну в онтогенезі контрольної групи тварин з 3- по 31-міс. вік зменшувався в 2,2 рази. Динаміка концентрації трийодтироніну в сироватці крові щурів з переїданням в РПО була аналогічною контролю (рис. 1 Б).

У групі тварин з КОД, у яких відсоток виживання був найвищим серед усіх досліджуваних груп тварин, вміст тироксину був мінімальним. І навпаки, зниження коефіцієнта виживання після гіпертермії в контрольній групі і в групі з переїданням в РПО супроводжувалося лінійним збільшенням вмісту тироксину в сироватці крові (рис.2).

Таким чином, виявили прямий взаємозв'язок температури тіла з вмістом тироксину, і зворотній взаємозв'язок - з тривалістю життя.

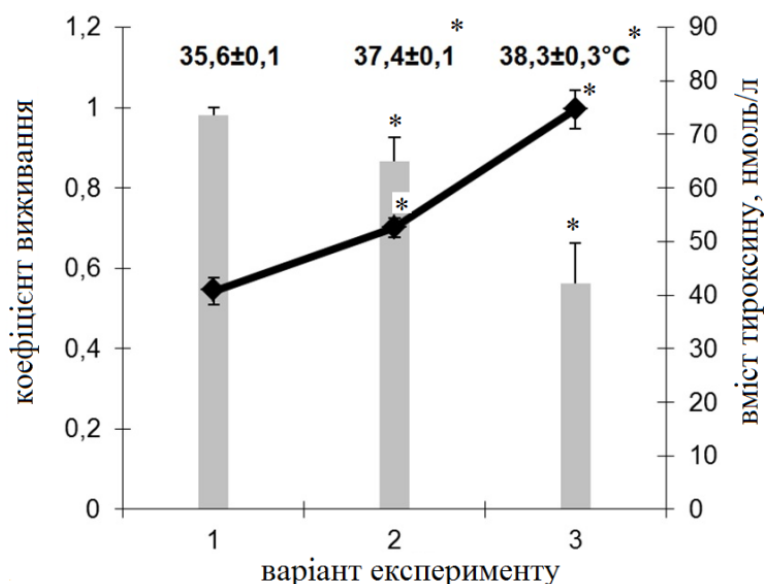


Рис. 2 Коефіцієнт виживання за Геханом (гістограми), вміст тироксину в сироватці крові (графік) і температура тіла через 30 днів утримання при температурі 32° С в різних експериментальних групах: 1 - КОД; 2 стандартна дієта; 3 - стандартна дієта з переїданням в РПО; *- позначена достовірна різниця при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

Вміст гідроперекисів ліпідів в сироватці крові 3 міс. тварин з переїданням в РПО достовірно перевищував контроль, що зберігалось до 20- і 31-міс. віку. При цьому будь-яких значущих онтогенетичних відмінностей у вмісті гідроперекисів ліпідів у сироватці крові у 3- і 31-міс. щурів не виявили, а невелике їх зниження у 20-міс. тварин добре відтворювалося і в групі з переїданням в РПО.

Вміст гідроперекисів ліпідів у фракції ендоплазматичного ретикулула печінки 3 міс. тварин був на 29 % вищим за контроль і ця різниця зберігалася, хоча і в меншій мірі, у 31 міс. тварин. Вміст гідроперекисів ліпідів в ендоплазматичному ретикулумі тварин віком 31-міс. був вищим на 49 % у порівнянні з 3-міс., а в групі тварин з переїданням в РПО – на 36%.

Активність глутатіонредуктази у фракції цитозолу печінки 3-міс. щурів з переїданням в РПО не відрізнялась від контролю - $100,4 \pm 7,4$ і $108,6 \pm 16,1$ нмоль NADPH/хв•мг білка, відповідно, а активність NO-синтезу в гомогенаті печінки 3-міс. щурів була на 27 % вищою за контроль. Достовірно не відрізнялась і активність малатдегідрогенази: $99,3 \pm 9,3$ і $111,7 \pm 7,2$ нмоль NADPH/хв•мг білка; глюкозо-6-фосфатдегідрогенази ($72,4 \pm 8,7$ і $65,7 \pm 6,7$) нмоль NADPH/хв•мг білка та ізоцитратдегідрогенази ($618,8 \pm 43,3$ і $687,8 \pm 61,2$) нмоль NADPH/хв•мг білка у дослідних і контрольних груп тварин, відповідно.

У 3-міс. тварин активність глутатіонпероксидази в сироватці тварин з переїданням була на 25 % нижче контролю, у 20-місячних щурів достовірно не відрізнялася від контролю, а у 31-місячних була достовірно нижче контрольного рівня. Більшою мірою активність глутатіонпероксидази у тварин з переїданням була знижена в порівнянні з контролем у фракції ендоплазматичного ретикулула печінки - у 3-міс. на 22 %, а у 31-міс. – на 44 %, при цьому, змінювалась структура мембран ендоплазматичної сітки за даними ступеня ексимерізації пірена (рис. 3).

Таким чином, переїдання в ранньому періоді онтогенезу супроводжувалося підвищенням температури тіла, зниженням стійкості до гіпертермії, незначним скороченням тривалості життя в стандартних умовах утримання, збільшенням вмісту гідроперекисів ліпідів у сироватці крові і мембранах ендоплазматичного ретикулула, зниженням активності глутатіонпероксидази, причому ці зміни зберігалися протягом онтогенезу (рис. 3).

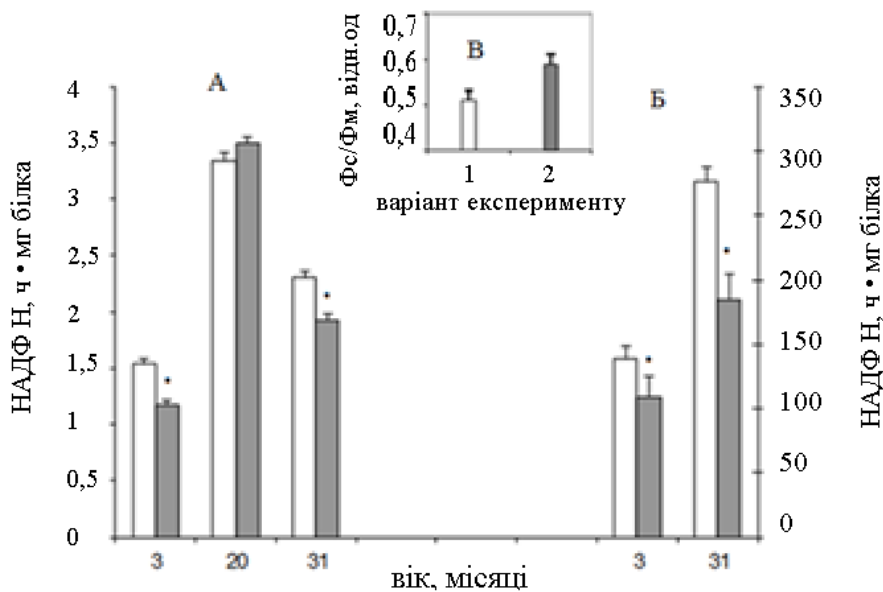


Рис. 3 Активність глутатіонпероксидази в сироватці крові (А) та мікросомах (Б) печінки в контрольних групах щурів (□) і груп з переїданням в РПО (■); ступінь ексимерізації пірена (В) у контрольних (1) та тварин з переїданням в РПО (2); * - різниця достовірна ($P < 0,05$) в групах. В дослідженнях використано 5 тварин в кожній експериментальній групі

Загальна активність NO – синтази (NOS) в мітохондріях 3 міс. щурів з переїданням в РПО була вищою за відповідний контроль на 37 %; у старих 31 міс. тварин активність NOS в мітохондріях була на 54 % вище, ніж у контрольних тварин аналогічного віку. Активність загальної NOS у фракції ендоплазматичної

сітки печінки 3 міс. тварин з переїданням була на 51 % вище відповідного контролю, а у старих тварин ці відмінності не виявлялися (рис. 4).

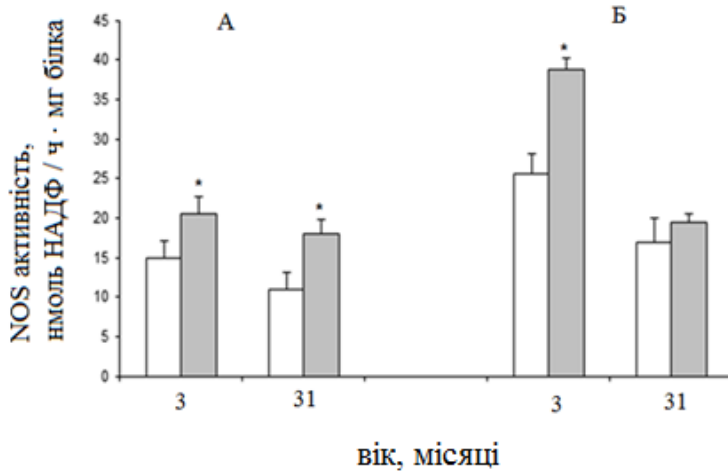


Рис. 4 Активність NOS в мітохондріях (А) та ендоплазматичної сітки (Б) печінки у 3- і 31-міс. щурів, що знаходилися на стандартному раціоні харчування (□) та на раціоні з переїданням в РПО (■);* - різниця достовірна ($P < 0,05$) в групах. В дослідженнях використано 5 тварин в групі

Активність NOS в гомогенаті печінки у 20 міс. тварин з переїданням в РПО була вищою за відповідний контроль на 67 %. Активність NOS в мозку 20 міс. щурів з переїданням була в 2 рази вище, ніж у контрольних тварин; в серці та нирках вона теж перевищувала контрольний рівень на 40 % та 75 % відповідно (рис. 5).

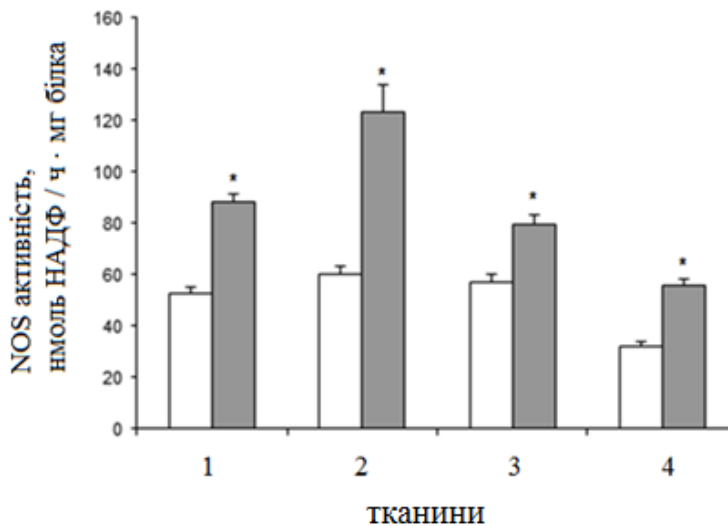


Рис. 5 Активність NOS в різних тканинах 20-міс. щурів контрольної групи (□) і груп з переїданням в РПО (■): 1 - печінка; 2 - мозок; 3 - серце; 4 - нирки. В дослідженнях використано 5 тварин в кожній групі

Отримані результати свідчать про те, що переїдання в ранньому онтогенезі супроводжувалося збільшенням вмісту тироксину і зміною показників про- та антиоксидантної системи (рис. 6). Такі метаболічні зміни зберігалися протягом онтогенезу і були асоційовані з підвищенням температури тіла, зниженням адаптивних можливостей до гіпертермії та скороченням тривалості життя.

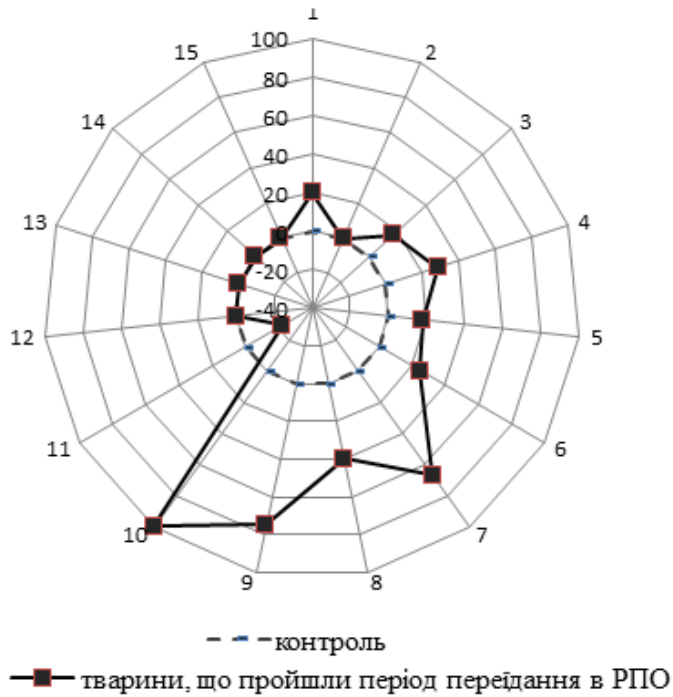


Рис. 6 Метаболічний патерн, характерний для 3-міс. щурів, що пройшли період переїдання в РПО

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

В дослідженнях використано 5 тварин в групі

2. Зв'язок тривалості життя, тиреоїдного статусу і термогенезу на моделі КОД та експериментального гіпертиреозу. Переведення одномісячних щурів на КОД супроводжувалось збільшенням тривалості життя на 43% порівняно з контрольними тваринами, що знаходились на звичайному режимі годування, при цьому ректальна температура тіла в онтогенезі щурів, які перебували на КОД, була достовірно нижчою за контроль на 2°C у 4-5 міс. і на 4°C у 30-міс. тварин (рис.7).

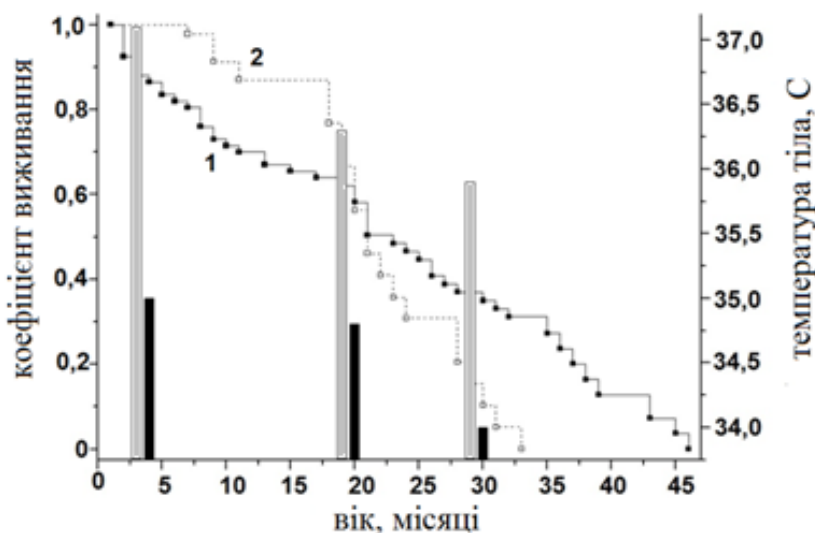


Рис. 7 Тривалість життя щурів контрольної групи (1) і групи, яка перебувала на КОД з віку 1 міс. (2), та температура тіла щурів на різних етапах онтогенезу у контрольних щурів (■) і у тварин, що утримувалися на КОД (■). В дослідженнях використано 25 тварин

Зниження температури тіла у тварин, що знаходяться на КОД, спостерігалось на тлі зниженого вмісту тироксину на 37 % і трийодтироніну на 50 %.

У групі тварин, які починаючи з 17-міс. віку протягом 2-х місяців вживали тироксин з питною водою, концентрація Т4 в сироватці крові збільшилася вдвічі, а трийодтироніну - на 48 %, що вказує на ефективну конверсію Т4 в Т3, в якій приймає участь селензалежна монодейодиназа. Температура тіла у щурів з експериментальним гіпертиреозом була в середньому на 2 °С вищою за температуру тіла контрольних щурів, що може свідчити про виражений взаємозв'язок між вмістом тироксину в сироватці крові, ректальною температурою тварин і тривалістю життя.

Визначення швидкості Са-індукованого набрякання мітохондрій, що є інтегральним показником функціонального стану мітохондрій, у 1-,3- і 24-міс. контрольних щурів показало наявність вираженої вікової залежності цього показника. Час напівнабрякання мітохондрій у 19-ти міс. щурів з індукованим гіпертиреозом був утричі меншим ($0,28 \pm 0,03$) хв, ніж у контрольних тварин - ($0,91 \pm 0,07$) хв. З цього випливає, що індукований гіпертиреоз характеризується кооперативними змінами метаболізму, які торкаються також функціональної характеристики печінки, і зокрема структурних особливостей мітохондрій.

Швидкість нефосфорилуючого окислення сукцинату (V2) в ізольованих мітохондріях печінки щурів з індукованим гіпертиреозом була збільшеною на 57,2 %, а швидкість фосфорилуючого окислення (V3) на 16 % порівняно з контрольними тваринами. Показник ступеню поєднання - дихальний контроль у дослідних щурів був знижений на 24 %, що вказує на прояв ефекту роз'єднання окислювального фосфорилування (табл. 1).

Таблиця 1

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 – α-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 – β-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

Більш виражені відмінності між щурами з індукованим гіпертиреозом і контрольними тваринами виявлялися при окисленні α - гліцерофосфату в мітохондріях. Споживання кисню мітохондріями при нефосфорилуючому окисленні (V2) збільшувалось в 3,5 рази, а фосфорилуючого - в 3,9 рази. При цьому дихальний контроль залишався незмінним. При окисленні β -оксибутирату мітохондріями печінки щурів з індукованим гіпертиреозом, навпаки, фосфорилуюче окислення зменшувалося в 3,6 рази, нефосфорилуюче окислення не змінювалось, а дихальний контроль зменшувався втричі (табл. 1).

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

На наступному етапі роботи визначали деякі показники вільнорадикальних процесів в мітохондріях і ендоплазматичній сітці, оскільки саме вони вносять основний вклад у формування показників про- та антиоксидантної системи організму. Генерація супероксидних радикалів в мітохондріях печінки щурів з індукованим гіпертиреозом була збільшена в порівнянні з контрольною групою на 50 %. Швидкість утворення супероксидних радикалів у фракції мікросом щурів з індукованим гіпертиреозом була збільшена на 55 % в порівнянні з щурами того ж віку з нормальним тиреоїдним статусом.

Вміст ТБК-активних продуктів, про який судили за кількістю МДА, у щурів з індукованим гіпертиреозом було збільшено як і в мітохондріях (на 48 %), так і в мікросомах (на 31 %). Отже, збільшення теплопродукції в мітохондріях печінки щурів з індукованим гіпертиреозом супроводжувалося збільшенням інтенсивності вільнорадикальних процесів, як в мітохондріях, так і в мікросомах.

Активність глутатіонпероксидази - інактиватора гідроперекисів та інших токсичних сполук вільнорадикального походження, локалізованих в мітохондріях тварин з індукованим гіпертиреозом, не відрізнялися від мітохондрій контрольних тварин (табл. 2).

Таблиця 2

Активність деяких ферментів антиоксидантного захисту мітохондрій печінки контрольних тварин і тварин з 2-х 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; зірочками позначені відмінності при $P < 0,05$ у порівнянні з контролем

Активність мітохондріальної глутатіонредуктази, яка приймає участь в реакції відновлення глутатіону, також не відрізнялася від такої у контрольних тварин. Активність мітохондріальної глутатіон-S-трансферази, яка використовує відновлений глутатіон у метаболізмі різноманітних гідрофобних ксенобіотиків, включаючи й альдегіди, навпаки, була знижена в 1,7 рази порівняно з контролем (табл. 2).

Визначення активності глутатіонпероксидази в гомогенаті клітин печінки показало, що у щурів з індукованим гіпертиреозом обидві досліджувані форми глутатіонпероксидази були менш активними (на 30 %) в порівнянні з контрольними тваринами (табл. 3).

При цьому глутатіонредуктаза залишалася незмінною в порівнянні з контрольним рівнем, а глутатіон-S-трансфераза була менш активною вдвічі у порівнянні з контрольним рівнем. Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, яка забезпечує утворення НАДФ-Н і підтримання рівня відновленого глутатіону, у тварин з індукованим гіпертиреозом була збільшена в 2,8 рази порівняно з контролем (табл. 3). Активність малатдегідрогенази в мітохондріях щурів з індукованим гіпертиреозом була збільшена порівняно з контролем в 1,6 рази, при цьому активність ізоцитратдегідрогенази, навпаки, була в 1,5 рази нижчою за контроль.

Таблиця 3

Активність деяких ферментів антиоксидантного захисту 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; зірочками позначені відмінності при $P < 0,05$ у порівнянні з контролем

При визначенні співвідношення активності мітохондріальної і цитоплазматичної МДГ в печінці контрольних і щурів з індукованим гіпертиреозом виявилось, що активність МДГ в цитоплазмі печінки в кілька разів вище в порівнянні з мітохондріями, а в цитоплазмі клітин печінки щурів з індукованим гіпертиреозом вона була вище в 6,8 разів порівняно з контролем. При цьому активність ізоцитратдегідрогенази в цитоплазмі клітин печінки щурів з

індукованим гіпертиреозом була, як і в мітохондріях, в 1,4 рази нижче контролю. Співвідношення активності МДГ в мітохондріях/цитоплазмі клітин печінки у контрольних тварин склало значення 4,7, а у щурів з індукованим гіпертиреозом - 19,6 (рис. 8).

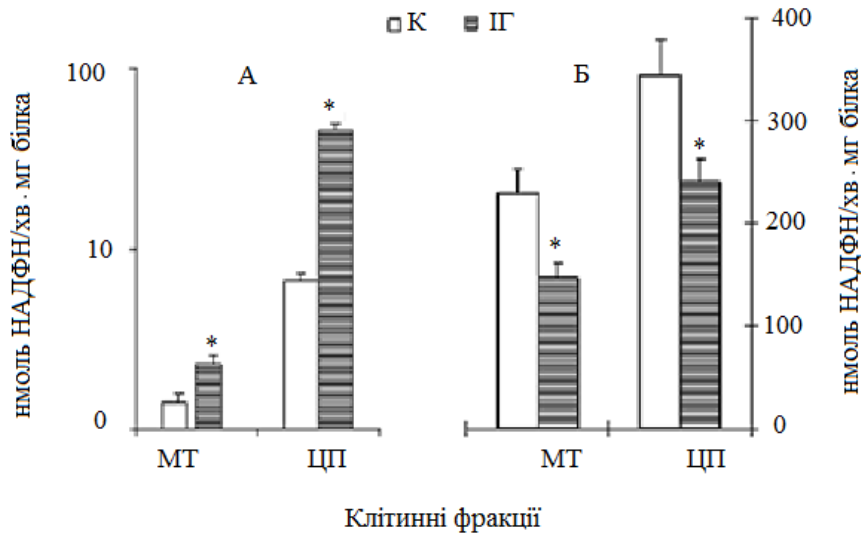


Рис. 8 Активність малатдегідрогенази (А) і ізоцитратдегідрогенази (Б) в мітохондріях (МТ) і цитозолі печінки (ЦП) контрольної групи (□) і щурів з 2-х місячним гіпертиреозом (▨) * - різниця достовірна ($P < 0,05$) порівняно з контролем. В дослідженнях використано 5 тварин в кожній групі

Вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові щурів з індукованим гіпертиреозом була збільшена на 60 % порівняно з контролем, вміст карбонільованих білків – на 30 % (табл. 4).

Активність глутатіонпероксидази в сироватці крові щурів з ІГ була знижена в порівнянні з контрольним рівнем на 37 %. Вміст церулоплазміну, що виконує різноманітні функції, в тому числі і антиоксидантну, в сироватці крові щурів з ІГ був зменшений також на 37 % (табл. 4).

Таблиця 4

Показники сироватки крові 19-ти місячних щурів

Показник	Групи тварин	
	Контроль	Гіпертиреоз
Вміст ТБК-активних продуктів (нмольМДА/мг)	1,56 ± 0,07	2,50 ± 0,09*
Вміст карбонільованих 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; зірочками позначені відмінності при $P < 0,05$ у порівнянні з контролем

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

У молодих (3-міс.) і старих (19-20 міс.) тварин, що знаходились на циклічному режимі харчування, було виявлено циклічні зміни як маси тіла, так і маси печінки. Однак, масовий коефіцієнт печінки ($\text{г/г}\cdot 10^{-2}$) після 2-х циклів ЦРГ ставав однаковим у молодих і старих тварин при досить великих його відмінностях між молодими і старими тваринами до початку експерименту, що свідчить про виражений залежний від віку характер швидкості зміни маси тіла і маси печінки.

Втрата маси тіла в першому циклі супроводжувалась збільшенням вмісту гідроперекисів ліпідів в мітохондріях печінки молодих і старих тварин на 35 % від вихідного рівня. 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. У старих тварин їхній вміст у мітохондріях печінки був на 36 % меншим порівняно з варіантами втрати маси тіла і не відрізнявся від вихідного рівня. 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 тіла. Подібний характер змін спостерігався і у старих тварин - їхній 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 %. Відновлення маси тіла в другому циклі супроводжувалось зменшенням вмісту гідроперекисів у мітохондріях печінки у молодих на 25 %, у старих на 31 % порівняно з їх вмістом при другому циклі втрати маси тіла. 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.

Активність глутатіонпероксидази в мітохондріях молодих і старих тварин, що знаходились на ЦРГ, які втратили масу тіла в першому циклі, також підвищувалась, причому у молодих тварин це підвищення було двократним порівняно з вихідним рівнем, а у старих тварин лише на 29 %. Після відновлення маси в перший цикл і у молодих, і у старих тварин активність глутатіонпероксидази поверталась до вихідного рівня. Після втрати маси тіла у другому циклі активність глутатіонпероксидази зростала лише на 35 %, у старих на 27 %, а після двох циклів втрати-відновлення маси тіла не відрізнялась від вихідного рівня як у молодих, так і у старих тварин.

При дослідженні співвідношення між активність глутатіонпероксидази і вмістом гідроперекисів ліпідів в мітохондріях печінки щурів, який ми умовно назвали «коефіцієнтом надійності» антиоксидантного захисту, виявилось, що цей критерій був значно вищим у старих тварин, 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, а у старих тварин мав помірну динаміку, не змінювався після першого циклу втрати маси і різко

збільшувався після першого циклу відновлення маси і в подальшому залишався таким же високим. Отже, активність про- і антиоксидатної системи є важливим і активно реагуючим показником змін функціонального стану організму.

3. Дослідження регуляції термогенезу на експериментальній моделі фіброзу печінки. У наступній серії експериментів визначали зміни температури тіла у тварин, що отримували сірчаноокислу мідь. Було виявлено, що введення тваринам сірчаноокислої міді в дозі 1 мг / 100 г маси тіла супроводжувалося зниженням температури тіла до 0,7 °С, і це проявлялося в більшій мірі у старих тварин. Температура тіла старих тварин, які утримувалися в стандартних умовах, була на 0,6 °С нижчою, ніж у 3-х міс. тварин.

Після хронічної інтоксикації іонами міді різниця у температурі тіла між молодими і старими тваринами становила до 1,5 °С. Отже, «відгук» системи терморегуляції на інтоксикацію організму іонами міді був виражений більшою мірою у старих тварин.

При дослідженні вмісту гормонів щитоподібної залози виявили, що між молодими і старими тваринами є достовірні відмінності. Вміст тироксину в сироватці крові контрольних 30-міс. тварин був на 32 % нижчим, ніж у молодих 3-міс. щурів. Подібну тенденцію спостерігали і щодо трийодтироніну - його вміст у сироватці крові старих тварин був в 2,2 рази нижчим, ніж у молодих (рис. 1).

При дослідженні концентрації гормонів щитоподібної залози в сироватці крові тварин на тлі інтоксикації організму іонами міді було виявлено, що достовірних відмінностей у вмісті тироксину у контрольних тварин і тварин зі зниженою температурою на тлі інтоксикації у вікових групах не виявлено. Середнє значення вмісту трийодтироніну у молодих і старих тварин на тлі інтоксикації міддю було трохи нижчим, ніж в контролі, проте ці відмінності також були статистично недостовірними. Отже, введення сульфату міді не впливало значно на метаболізм гормонів щитоподібної залози як у молодих, так у старих тварин (рис.9).

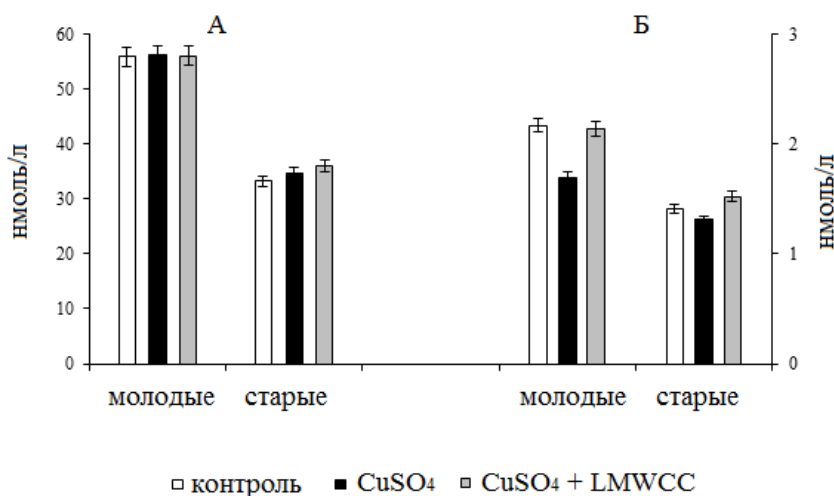


Рис. 9 Вміст тироксину (А) і трийодтироніну (Б) в сироватці крові інтактних тварин (□), групи тварин, які отримували сірчаноокислу мідь (■) і тварин, які отримували сірчаноокислу мідь, а між її введенням- мікс-фактор (▒) у випадку молодих і старих тварин

* - відзначена різниця між інтактним контролем і дослідженими варіантами при $P \leq 0,05$. В дослідженнях використано по 5 тварин в кожній експериментальній групі

Застосування мікс-фактору (низькомолекулярних компонентів дріжджових екстрактів, який мав антиоксидантну активність) у щурів з інтоксикацією іонами міді супроводжувалося нормалізацією температури і маси їх тіла, не впливаючи на функціональну активність щитоподібної залози.

Інтоксикація сірчаноокислою міддю супроводжувалась зменшенням продукції фактору регуляції активності щитоподібної залози – тиреотропного гормону гіпофіза (ТТГ), що було більшою мірою виражено у старих тварин. Введення мікс-фактору на тлі інтоксикації не впливало на продукцію ТТГ у молодих тварин і збільшувало продукцію ТТГ у старих тварин у 20 разів. Таким чином, застосування біологічно активних низькомолекулярних компонентів дріжджових екстрактів в значній мірі нівелювало токсичну дію іонів міді (рис. 10).

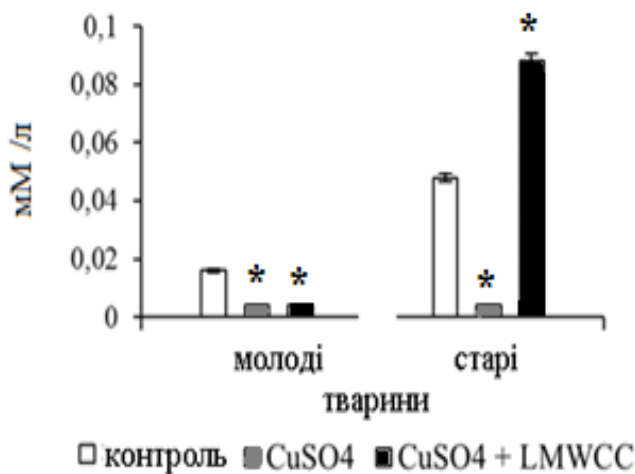


Рис. 10 Вміст тиреотропного гормону в сироватці крові інтактних тварин, групи тварин, які отримували сірчаноокислу мідь і тварин, які отримували також сірчаноокислу мідь, а між її введенням - мікс-фактор, у випадку молодих і старих тварин; * - відзначена різниця між інтактним контролем і дослідченими варіантами при $p \leq 0,05$ В дослідженнях використано по 5 тварин в кожній експериментальній групі

Отже, взаємозв'язок між температурою тіла і тривалістю життя є досить складним і він визначається особливостями механізмів термогенезу. Можна вважати, що якщо термогенез регулюється з участю гормонів щитоподібної залози і гіпо- або гіпертиреоз має місце тривалий період, то це впливає на тривалість життя.

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 мікросомах 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 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 Cu-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.** Переедание 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).*

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. - Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Харків, 2019.

Дисертація присвячена дослідженню механізмів терморегуляції, їх ролі в процесах старіння, взаємозв'язку з показниками про- та антиоксидантної системи і гормональним фоном експериментальних тварин. В роботі показано, що переїдання від народження до 21 дня постнатального онтогенезу супроводжувалося збільшенням маси тіла на 32 % порівняно з контрольною групою тварин, підвищеною смертністю в умовах утримання таких тварин при температурі 32 °С; збільшенням вмісту гідроперекисів ліпідів і тироксину в сироватці крові, а також активності NO-синтази та зниженням активності глутатіонпероксидази і скороченням тривалості життя. Досліджені сторони метаболічного статусу, що сформувалися у тварин з переїданням на ранньому етапі онтогенезу, зберігалися протягом усього онтогенезу. Виявлено взаємозв'язок між коефіцієнтом виживання за Геханом, вмістом тироксину в сироватці крові і температурою тіла експериментальних тварин, що знаходяться на калорійно-обмеженій дієті і моделі переїдання на ранньому етапі онтогенезу. Показано

наявність взаємозв'язку між збільшенням вмісту гідроперекисів ліпідів, активністю NO-синтази, зменшенням активності глутатіонпероксидази і зміною мікров'язкості мембран ендоплазматичного ретикулула в гепатоцитах на моделі переїдання в РПО. Встановлено, що збільшення температури тіла при експериментальному гіпертиреозі пов'язано з дією тироксину як роз'єднувача окисного фосфорилування в мітохондріях. Зниження температури тіла експериментальних тварин було викликано інтоксикацією великими дозами сірчаноокислої міді, та не впливало на вміст тироксину в сироватці крові.

Ключові слова: тиреоїдний статус, термогенез, прооксиданти, антиоксиданти, коефіцієнт виживання, експериментальний фіброз печінки, щурі.

АННОТАЦІЯ

АЛИ МОХАММЕД МООШЛИ АЛ-БАХАДЛИ Исследование механизмов терморегуляции и продолжительности жизни в эксперименте. - Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04 – биохимия. - Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина МОН Украины, Харьков, 2019.

Диссертация посвящена исследованию механизмов терморегуляции, их роли в процессах старения, взаимосвязи с показателями про- и антиоксидантной системы и гормональным фоном экспериментальных животных. В работе показано, что переедание от рождения до 21 дня постнатального онтогенеза сопровождалось увеличением массы тела на 32% по сравнению с контрольной группой животных; повышенной смертностью в условиях содержания таких животных при температуре 32⁰С; увеличением содержания гидроперекисей липидов и тироксина в сыворотке крови, а также активности NO-синтазы и снижением активности глутатионпероксидазы и сокращением продолжительности жизни. Метаболический статус, сформировавшийся у животных с перееданием на раннем этапе онтогенеза, сохранялся в течение всего онтогенеза. Выявлена взаимосвязь между коэффициентом выживания Гехана, содержанием тироксина в сыворотке крови и температурой тела экспериментальных животных, находящихся на калорийно-ограниченной диете и модели переедания на раннем этапе онтогенеза. Показано наличие взаимосвязи между увеличением содержания гидроперекисей липидов, активности NO-синтазы, уменьшением активности глутатионпероксидазы и изменением микровязкости мембран эндоплазматической сети в гепатоцитах на модели переедания в РПО. Установлено, что увеличение температуры тела при экспериментальном гипертиреозе связано с действием тироксина как разобщителя окислительного фосфорилирования в митохондриях. Снижение температуры тела экспериментальных животных было вызвано интоксикацией большими дозами серноокислой меди, но не влияло на содержание тироксина в сыворотке крови.

Ключевые слова: тиреоидный статус, термогенез, прооксиданты, антиоксиданты, коэффициент выживания, экспериментальный фиброз печени, крысы.

ABSTRACT

ALI MOHAMMED MOOSHLY AL-BAHADLY Research of mechanisms of thermoregulation and long-term life in experiment - Qualification scientific paper, manuscript.

Thesis for a candidate degree in biological sciences in specialty 03.00.04 - biochemistry. – V. N. Karazin Kharkiv National University, the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, 2019.

The dissertation is devoted to research of mechanisms of thermoregulation, their role in ageing processes, interrelation with indicators of pro- and antioxidant systems and the hormonal background of experimental animals. It shown that overeating from birth to 21 days postnatal ontogenesis was accompanied by an increase in body weight by 32 % compared with the control group of animals. Determination of changes in the body weight of animals in ontogenesis has shown that even with abstinence in standard conditions, as well as groups of control animals, they retained predominance by weight of the body of control animals to almost 31 months of age. Increased mortality under the conditions of such animals at a temperature of 32 °C; an increase in the content of lipid hydro peroxides, an increase in the activity of NO-synthase in the liver, brain, heart, kidneys and a decrease in the activity of glutathione peroxidase; an increase in thyroxin content in the serum, a decrease in lifespan. The metabolic status, formed in animals with overeating at an early stage of ontogenesis, persisted throughout the ontogenesis. The relationship between the survival rate of Grehan, the content of thyroxin in serum and body temperature on the calorie-restricted diet and the model of overeating at the early stage of ontogenesis has been established. The relationship between increasing the content of lipoprotein hydro peroxides, NO-synthase activity, the decrease of glutathione peroxidase activity and change in the micro plasticity of endoplasmic network membranes in hepatocytes on the model of overeating in RPO was shown.

It was found that in mitochondria of experimental hyperthyroid animals free-radical production was increased, expressed by a 50 % increase in lipid peroxide content in mitochondria. The high levels of thyroid hormone are associated with the growth of fatty hydrocarbons in liver microsomes (about 30 %), but it was less pronounced than hepatocellular mitochondria. It is shown that an increase in body temperature with experimental hyperthyroidism is associated with the action of thyroxine on dissociation of oxidative phosphorylation in mitochondria. The lowering of the body temperature of experimental animals caused intoxication with high doses of copper sulfate without affecting the serum thyroxin content.

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, prooxidants, antioxidants, survival coefficient, experimental liver fibrosis, rats.