ХАРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

ГРОМАКОВА Ірина Андріївна

РЕГУЛЯТОРНІ ЕФЕКТИ ТИРОКСИНУ В ПЕЧІНЦІ БІЛИХ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ПРИ ГІПОКАЛОРІЙНОМУ ХАРЧУВАННІ

03.00.13.- Фізіологія людини та тварин

А в т о р е ф е р а т
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Харків - 1994

Дисертація є рукопис.
Робота виконана в науково-дослідному інституті біології Харківського державного університету.

Наукові керівники: академік АН України, доктор біологічних наук, професор Нікітін Володимир Миколайович

кандидат біологічних наук Нестеренко Галина Олексіївна

Офіційні опоненти: доктор медичних наук Ром-Бугославська Олена Семенівна

кандидат біологічних наук, доцент Буланкіна Наталія Іванівна

Провідна організація - Український НДІ охорони здоров'я дітей та підлітків

Захист відбудеться "7" жовтня 1994 р. о 16-45 год. на засіданні спеціалізованої ради К 053.06.07. в Харківському державному університеті (310077, Харків, пл.Свободи, 4, ауд.111-15)

З дисертацією можна ознайомитися в Центральній науковій бібліотеці ХДУ.

Автореферат розіслано "6" вересня 1994 р.

Вчений секретар
спеціалізованої ради
кандидат біологічних наук Некрасова А.В.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. Для встановлення механізмів онтогенетичного розвитку і розробки шляхів подовження життя необхідно вивчити вікові аспекти нейро-гуморальної регуляції, яка забезпечує підтримку гомеостазу в організмі і визначає напрямок фізіологічних і метаболічних процесів.

Важливе місце в системі нейро-гуморальної регуляції посідає щитовидна залоза, адже тиреоїдні гормони виявляють поліморфну дію на численні метаболічні ланки майже на кожному структурному рівні. Чи не найважливішим аспектом дії тиреоїдних гормонів є контроль за синтезом білків. Поряд з індукцією генетичної активності тиреоїдні гормони чинять пряму дію на швидкість елонгації білкових молекул (Mathews et al, 1973; Carter et al, 1975), зниження якої з віком, як вважають (Makrides, 1983; Blazejowski, Webster, 1984), є основною причиною зменшення синтезу білків в онтогенезі.

Дослідження щодо вікових особливостей тиреоїдної регуляції білкового синтезу малочисельні і стосуються, головним чином, етапу пренатального онтогенезу.

Для розуміння ролі гормональної регуляції білкового синтезу в процесах онтогенезу особливе значення має його вивчення в експериментах, що змінюють хід природного старіння, прискорюючи чи уповільнюючи його. Адекватною моделлю збільшення тривалості життя теплокровних в наш час є застосування калорійно обмеженої повноцінної за якісним складом дієти (Mc Cay, Crowell, 1934; Никитин, 1961; Masoro et. al, 1981, 1989). Згідно з сучасним уявленням позитивна дія редукованої дієти в значній мірі обумовлена формуванням у піддослідних тварин особливої ендокринної ситуації (Никитин и др., 1984, 1986; Нестеренко, Ставицкая, 1979; Merritt, 1980; Merry, Holehan, 1985; Коноваленко, 1986). Однак особливості гормональної регуляції у щурів з подовженим життям досліджені недостатньо. Цей факт, а також важлива роль гормонів щитовидної залози в регуляції білкового синтезу і обмежена кількість відомостей про вікові особливості регуляторних ефектів тироксину в нормі і в умовах подовження життя визначають актуальність проведення цього дослідження.

Мета і завдання дослідження. Враховуючи викладене, метою цієї роботи було дослідження вікових особливостей тиреоїдної регуляції білкового синтезу у інтактних тварин і тих, що утримувалися на гіпокалорійній дієті.

Відповідно до поставленої мети в ході роботи вирішувалися такі завдання:

1. Визначити тиреоїдну забезпеченість печінки інтактних і утримуваних на гіпокалорійній дієті тварин різного віку.

2. Вивчити вікові особливості тиреоїдної регуляції білкового синтезу у інтактних і утримуваних на гіпокалорійній дієті тварин.

3. Дослідити вікові особливості синтезу альбуміну у інтактних і утримуваних на гіпокалорійній дієті тварин при введенні тироксину.

4. Зіставити інтенсивність синтезу альбуміну у інтактних і утримуваних на гіпокалорійній дієті тварин з його вмістом в печінці і сироватці крові.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше у щурів різного віку, утримуваних на експериментальній дієті, що сприяє подовженню життя, проведено дослідження стану тиреоїдної ланки регуляції білкового синтезу, а також визначено залежність від тиреоїдного статусу вікових і пов'язаних з дієтою змін тиреоїдної забезпеченості печінки. Встановлено послаблення регуляторної ролі тироксину по відношенню до білкового синтезу при старінні та обмеженні живлення. Виявлено відміни регуляторного впливу тироксину на синтез власних та секреторних білків печінки. Показано, що наслідком адаптації до калорійно обмеженої дієти є зниження синтезу основного секреторного білка печінки - альбуміну.

Теоретичне і практичне значення роботи. Одержані дані про особливості впливу тироксину на інтенсивність синтезу білків на різних етапах онтогенезу поширюють уявлення про роль гормонів в регуляції цих процесів і можуть послужити теоретичним обгрунтуванням для створення методів корекції в залежності від віку процесів синтезу білків за допомогою гормональних стимуляторів. Дані про тиреоїдну забезпеченість тканин в умовах експериментального подовження життя факторами живлення придатні для поглиблення уявлень про характер дії калорійно обмеженої дієти на ендокринний статус піддослідних тварин і сприяють визначенню механізмів, через які реалізується дія цієї дієти.

Основні положення, які виносяться на захист:

- застосування гіпокалорійної дієти, що сприяє подовженню життя, приводить до спаду вмісту тиреоїдних гормонів (T_4 і T_3) в печінці;

- тироксин в залежності від віку стимулює синтез білків печін-

ки на протязі постнатального онтогенезу. Застосування гіпокалорійної дієти змінює характер дії тироксину на синтез білків у печінці;

- під час старіння і дії дієти знижується інтенсивність синтезу альбуміну і змінюється характер дії тироксину на його вміст в печінці і сироватці крові.

Апробація роботи. Матеріали дисертації були представлені на школі молодих вчених по проблемах старіння і довголіття (Тернопіль, 1989), на X Всесоюзній нараді по еволюційній фізіології (Ленінград, 1990), на XIII з'їзді Українського фізіологічного товариства ім. І.П.Павлова (Харків, 1991), на Всесоюзній конференції "Тривалість життя: механізми, прогнози, шляхи збільшення" (Київ, 1991), на конференції молодих вчених біологічного факультету і НДІ біології ХДУ (Харків, 1993), на симпозіумі "Біологічні механізми старіння" (Харків, 1994).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 7 робіт.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 146 сторінках друкарського тексту, включає 5 таблиць, 11 малюнків і складається із вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, викладення одержаних даних і їх обговорення, висновків і списка цитованої літератури (352 джерела).

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводилися на самцях щурів лінії Вістар 1-, 3-, 12- і 24-місячного віку, утримуваних на стандартному лабораторному раціоні (інтактні тварини) і 3-, 12- і 24-місячних, утримуваних на калорійно недостатній (32-38 % від контролю), затримуючій ріст і сприяючій подовженню життя дієті (експериментальні тварини).

Особливість стосованої дієти - зниження калорійності за рахунок обмеження вуглеводно-жирових компонентів в поєднанні з повноцінним вмістом білків, мінеральних речовин і вітамінів (Mc Cay, Growell, 1934; Никитин, 1961).

На калорійно обмежену дієту тварин переводили в одномісячному віці при масі їх тіла 60-65 г. На наступних етапах онтогенезу середня маса тіла інтактних і експериментальних тварин відповідно дорівнювала: в 3 місяці - 190±5 г і 72±1 г ; в 12 місяців - 430±6 г і 90±1 г ; в 24 місяці - 411±7 г і 123±1 г.

В дослідах використовували L-тироксин фірми "Reanal" (Угорщи-

на). Гормон вводили одноразово у дозі 200 мкг на 100 г маси тіла за 24 години до декапітації.

Вміст тиреоїдних гормонів в печінці оцінювали, визначаючи рівні радіоімунних тироксину і трийодтироніну в постмітохондріальному супернатанті за допомогою радіоімунологічних наборів РІО-T_3-ПГ і РІО-T_4-ПГ (Беларусь).

Інтенсивність синтезу білків в печінці оцінювали за сумою відносних питомих активностей (СВПА) білків печінки і білків плазми крові, що визначалась як відношення питомої радіоактивності білків до концентрації мічених амінокислот у тканині печінки. Визначення включення мітки у білки і концентрацію мічених амінокислот проводили за методом Szijan (1971) з деякими модифікаціями. Кількісне виділення альбуміну проводили ТХУ-етанольним методом (Korner, 1962).

Одержані результати обробляли методами варіаційної статистики, імовірність різниць оцінювали за критерієм Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ І ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Зараз доведено, що реакції органів-цілей на тиреоїдні гормони значною мірою пов'язані з локальним перетворенням тироксину в трийодтиронін, а не лише з рівнем гормонів, які циркулюють в крові (Visser, 1986). У зв'язку з цим, а також для оцінки детермінованості ефектів тиреоїдних гормонів їх вмістом в тканині-цілі, визначався вміст тироксину (T_4) і трийодтироніну (T_3) в печінці інтактних і експериментальних тварин.

У інтактних щурів концентрація тиреоїдних гормонів в печінці максимальна в одномісячному віці, що узгоджується з даними про високу продукцію тиреоїдних гормонів та активне надходження їх в тканини на ранніх етапах постнатального онтогенезу (Валуева, 1973; Gayo et al, 1986; Adigamov et al, 1988). В цьому віці відмічається також найбільша тироксин-конвертуюча активність печінки (Suzuki, 1982), що забезпечує основну масу активної форми гормону - трийодтироніну в організмі. З віком відбувається поступовий спад рівня тиреоїдних гормонів, мінімальне значення зареєстроване у старих 24-місячних щурів (табл.1).

Введення тироксину інтактним тваринам приводило до значного збільшення вмісту T_4 і T_3 в печінці. При цьому найвищий їх рівень знайдено в печінці одномісячних щурів, де вміст T_4 майже в 5 ра-

зів, а T_3 в 1 рази вищий, ніж у інтактних тварин. У щурів інших вікових груп вміст тиреоїдних гормонів був ближчим і вірогідно не відрізнявся.

Таблиця I.

Вміст тироксину і трийодтироніну в печінці щурів різного віку при введенні тироксину (пмоль/г тканини).

Вік: міс.	Інтактні T_4	Інтактні T_3	Введення тироксину T_4	Введення тироксину T_3
I	277,0 ± 44,2	I5,3 ± 0,8	II48,6 ± 84,2	67,0 ± 5,3
3	I29,0 ± I0,3	8,3 ± 0,4	346,5 ± 46,3	23,6 ± 2,9
I2	95,5 ± 8,7	7,4 ± 0,5	362,2 ± 35,9	25,8 ± 3,I
24	79,5 ± 8,9	6,5 ± 0,4	329,5 ± 3I,8	24,8 ± I,9
P_{1-3}	< 0,00I	< 0,00I	< 0,00I	< 0,00I
P_{3-I2}	< 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05
P_{I2-24}	< 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05

Як виходить з наведених даних, рівень T_3 у старих тварин після введення їм тироксину мало відрізнявся від того, що реєструвався у більш молодих. Це не узгоджується з уявленням про порушення в старості процесів перетворення T_4 в T_3 (Ocka, I979; Jong, Distefano, I985; Dorda, Lemarchand-Beraud I989). Наші дані дозволяють припустити, що основною причиною зниження утворення T_3 у старих щурів є зменшення надходження T_4 до печінки.

При обмеженні харчування відмічається зниження вмісту тиреоїдних гормонів у печінці щурів 3- і I2-місячного віку (табл.2).

Таблиця 2

Вміст тироксину і трийодтироніну в печінці щурів різного віку, утримуваних на гіпокалорійній дієті, при введенні тироксину (пмоль/г тканини).

Вік міс.:	Контроль T_4	Контроль T_3	Введення тироксину T_4	Введення тироксину T_3
3	64,6 ± 7,I	5,9 ± 0,5	3I4,0 ± 25,4	2I,6 ± I,9
I2	74,3 ± 8,2	5,7 ± 0,3	297,5 ± 3I,9	22,9 ± 2,4
24	7I,2 ± 4,9	6,3 ± 0,6	323,I ± 44,6	22,6 ± 2,8

Контроль - тварини, утримувані на гіпокалорійній дієті.
P>0,05 для всіх міжвікових відмінностей у контрольних і тироксин-інтоксикованих тварин.

Найістотніший спад рівня T_4 і T_3 виявлено у 3-місячних тварин,

що узгоджується з даними Стаицької (1968) про значне пригнічення функціональної активності щитовидної залози в цьому віці. У 24-місячних інтактних і експериментальних щурів рівні гормонів вірогідно не відрізнялись.

Введення тироксину експериментальним тваринам приводило до значного підвищення вмісту тиреоїдних гормонів у печінці. При цьому рівні гормонів у тироксинізованих експериментальних і інтактних тварин були подібними (табл.1.,2.).Слід зазначити, що підвищення вмісту T_4 в печінці щурів, які отримували тироксин, визначається надходженням екзогенного гормону, а збільшення вмісту T_3 є наслідком підсилення периферичного перетворення T_4 в T_3. Одержані нами дані дають підстави вважати, що і у експериментальних, і у старих інтактних тварин не наступає значних змін реакції периферичної ланки метаболізму тиреоїдних гормонів - дейодування на підвищення рівня тироксину в організмі, а зниження утворення T_3, що відзначається при гіпокалорійному живленні, в значній мірі визначається зменшенням надходження T_4 в тканини-цілі.

Враховуючи важливу роль тиреоїдних гормонів в регуляції білкового метаболізму, а також обмеженість відомостей про вікові особливості реакції ефекторних тканин на дію цих гормонів, ми досліджували вплив тироксину на інтенсивність білкового синтезу у контрольних і утримуваних на гіпокалорійній дієті тварин різного віку.

Дослідження інтенсивності білкового синтезу в печінці виконувалося з урахуванням пулу новосинтезованих білків, секретованих печінкою в русло крові, що дозволило дати оцінку віковим особливостям синтезу власних і секреторних білків печінки. При доборі експозиції мітки керувалися даними про лінійний характер включення мічеського попередника в білки печінки від 15 до 60 хвилин експозиції (Бару,1988). Аналіз включення мітки проводили на 45 і 60 хвилинах експозиції. При менших експозиціях спостерігається значне коливання досліджуваного показника, що пов'язане, імовірно, з білгодинним ритмом синтезу білків в печінці (Бродский,1983,1988).

Досліди показали, що найшвидше синтезуються білки в печінці одномісячних тварин, а з віком наступає поступовий спад цього процесу(табл.3). Вікова динаміка включення міченого попередника в білки, синтезовані печінкою, була ідентичною в досліджені інтервали часу (45 і 60 хвилин).

Порівняльний аналіз включення мітки у білки печінки і білки плазми крові показав, що при старінні наступає більш різкий спад

синтезу секреторних білків печінки, ніж власних. Переважне включення міченого попередника в білки, виділені з печінки старих тварин, пов'язане, можливо, як з затримкою виходу новосинтезованих білків у кровотік (Popper, 1985), так і зі зниженням синтезу секреторних білків внаслідок зменшення в старості частки зв'язаних полісом (Хасигов, 1983), на яких синтезується основна маса білків"на експорт".

Введення тироксину посилювало синтез білків в печінці щурів усіх досліджуваних вікових груп. При цьому приріст СВПА і характер зміни з часом відносних питомих активностей (ВПА) білків печінки і білків плазми крові залежали від віку тварин.

При 45-хвилинній експозиції мітки стимуляція білкового синтезу була високою у молодих (1 і 3 міс.) тварин, а мінімальною - у старих. Приріст СВПА в цей інтервал часу складав 61,9 % ($p<0,01$), 54,4 % ($p<0,01$), 46,7 % ($p<0,01$) і 20,8 % ($p<0,05$) у 1-,3-,12- і 24-місячних тварин відповідно (табл.3). На 60-й хвилині зріст білкового синтезу у старих щурів був близький до того що реєструвався на 45 хвилині. У 3- і 12-місячних тварин посилювальний вплив гормону був меншим. У одномісячних інтактних і тироксин-ін'єкованих тварин рівні синтезу білків майже не відрізнялись. Відсутність стимуляції білкового синтезу у місячних тварин і менш чіткий ефект у 3- і 12-місячних тварин при тривалішій експозиції мітки відбиває, очевидно, прискорену утилізацію новосинтезованих білків у тварин, яким вводили тироксин.

Характер включення мітки в білки печінки і плазми крові теж несе на собі відбиток віку. У тварин 1-,3- і 12-місячного віку на 45 хвилині експозиції міченого попередника переважно збільшувалася ВПА білків плазми, тоді як у старих щурів збільшення включення мітки в білки печінки і плазми крові було еквівалентним. При тривалішій експозиції переважне включення мітки в білки плазми зберігалося у 12-місячних тварин і нівелювалося у 1- і 3-місячних. У 24-місячних щурів, як і в більш ранній термін експозиції, відмічалось пропорційне збільшення ВПА білків печінки і плазми крові.

Отже, у молодих щурів, яким вводили тироксин, уповільнення включення мітки в синтезовані печінкою білки при 60-хвилинній експозиції обумовлене, очевидно, більш швидкою утилізацією білків з кровотоку під впливом T_4 (Айнсон и др., 1976, 1977). Внаслідок цього прояв ефекту стимуляції інтенсивності білкового синтезу маскується.

Таблиця 3.

Сумарні і відносні питомі активності білків печінки і плазми крові у інтактних щурів різного віку при введенні тироксину

Вік міс.	ВПА білків печінки: інтактні	ВПА білків печінки: введення T_4	ВПА білків печінки: P	ВПА білків плазми: інтактні	ВПА білків плазми: введення T_4	ВПА білків плазми: P	СВПА: інтактні	СВПА: введення T_4	СВПА: P
				45-а хвилина експозиції мітки					
I	31,7 ± 2,1	49,7 ± 4,0	<0,05	15,5 ± 1,1	26,7 ± 2,0	<0,01	47,2 ± 3,0	76,4 ± 5,2	<0,01
3	28,7 ± 1,9	41,5 ± 2,8*	<0,01	12,1 ± 0,8*	21,5 ± 1,4*	<0,01	40,8 ± 2,6*	63,0 ± 4,4*	<0,01
12	27,2 ± 1,7	39,9 ± 2,6	<0,05	8,5 ± 0,7*	13,0 ± 1,0*	<0,01	35,6 ± 2,1*	52,9 ± 4,2*	<0,01
24	21,2 ± 1,9*	25,6 ± 1,9*	<0,05	7,1 ± 0,4*	8,7 ± 0,5*	<0,05	28,3 ± 1,7*	34,[illegible] ± 2,5*	<0,05
				60-а хвилина експозиції мітки					
I	35,5 ± 2,6	38,4 ± 2,9	>0,05	36,6 ± 2,2	39,4 ± 2,5	>0,05	72,1 ± 5,4	77,4 ± 5,2	>0,05
3	36,8 ± 3,7	53,7 ± 4,6	<0,05	28,1 ± 1,9*	40,4 ± 2,8*	<0,05	64,9 ± 5,1	92,7 ± 7,3*	<0,05
12	34,2 ± 2,6	43,6 ± 2,9*	<0,05	18,1 ± 1,3*	26,4 ± 1,8*	<0,05	52,3 ± 3,4*	69,9 ± 5,2*	<0,05
24	24,6 ± 1,2*	30,6 ± 1,9*	<0,05	11,3 ± 0,9*	13,9 ± 1,0*	<0,05	35,9 ± 2,1*	44,5 ± 3,2*	<0,05

P – вірогідність різниць по відношенню до інтактних тварин;

*. P<0,05 – вірогідність різниць у порівнянні з попередньою віковою групою.

Відзначена нами переважна стимуляція синтезу секреторних білків у I-, 3- і I2-місячних тварин узгоджується з даними про збільшення частки зв'язаних рибосом в загальному пулі під впливом T_4 (Лишневская, 1977). У старих тварин введення T_4, очевидно, не приводить до збільшення зв'язуючої здатності мембран печінки і не змінює властиве старим тваринам співвідношення синтезу власних білків і тих, що синтезуються "на експорт".

Слід зазначити, що слабкіший ефект T_4 відносно білкового синтезу в старості реєструвався при близькому значенні вмісту T_4 і T_3 в печінці старих і більш молодих оброблених T_4 тварин. Це свідчить про зниження здатності гормонкомпетентних структур клітин печінки старих тварин реагувати пропорційно отриманому сигналу. Істотну роль в послабленні ефекту T_4 при старінні відіграють, очевидно, ядерні рецептори, зв'язувальна ємкість яких знижується з віком (Валуева, 1984). Як відомо, число ядерних рецепторів тиреоїдних гормонів мало залежить від тиреоїдного статусу організму (Bito et al, 1983; Klopp et al, 1980; Moronet et al 1990), що узгоджується з встановленим нами фактом вікового зменшення ефекту гормону при близьких концентраціях його в печінці молодих і старих тварин, яким вводили тироксин.

Утримання тварин на гіпокалорійній дієті істотно відбивалося на вікових характеристиках синтезу білків. Інтенсивність білкового синтезу у експериментальних тварин була значно знижена в 3-місячному віці і характеризувалась відсутністю змін в подальшому онтогенезі (табл.4).

Порівняльний аналіз вікових змін ВПА білків печінки і плазми крові у експериментальних тварин показав дещо збільшене ВПА білків печінки на тлі спаду ВПА білків плазми старих щурів у порівнянні з 3- і I2-місячними. Аналогічні зміни включення міченого попередника у власні і секреторні білки печінки відмічались по мірі старіння інтактних тварин, що свідчить про однонаправленість вікових змін якісних ознак тотального протеосинтезу у відношенні синтезу власних білків печінки і синтезу "на експорт" у інтактних і експериментальних тварин.

Введення тироксину, що супроводжувалось значним збільшенням рівнів тиреоїдних гормонів у печінці експериментальних тварин, не викликало, однак, змін показників інтенсивності білкового синтезу в жодній з досліджених вікових груп, що свідчить про зниження реакційної здатності білоксинтезуючого апарату клітин печінки

Таблиця 4.

Сумарні і відносні питомі активності білків печінки і плазми крові у експериментальних щурів різного віку при введенні тироксину

Вік :	ВПА білків печінки			ВПА білків плазми			СВПА		
міс.:	інтактні :	введення T_4:	P :	інтактні :	введення T_4:	P :	інтактні :	введення T_4:	P
				45-а хвилина експозиції мітки					
3 :	I4,0 ± 0,6	I4,6 ± 0,8	>0,05	6,5 ± 0,4	6,8 ± 0,2	>0,05	20,5 ± I,9	21,0 ± I,8	>0,05
I2 :	I5,0 ± 0,7	I4,5 ± 0,8	>0,05	7,0 ± 0,6	6,4 ± 0,4	>0,05	22,0 ± I,4	20,9 ± I,5	>0,05
24 :	I6,5 ± 0,9	I6,3 ± 0,8*	>0,05	5,6 ± 0,4*	5,9 ± 0,4	>0,05	22,I ± I,3	22,2 ± I,7	>0,05
				60-а хвилина експозиції мітки					
3 :	I5,6 ± 0,8	I4,8 ± 0,9	>0,05	I2,5 ± 0,6	I2,7 ± 0,8	>0,05	28,[illegible] ± 2,I	27,4 ± 2,3	>0,05
I2 :	I4,7 ± 0,8	I5,I ± 0,9	>0,05	I2,3 ± 0,7	II,3 ± 0,8	>0,05	29,8 ± I,7	27,6 ± I,9	>0,05
24 :	I8,0 ± I,0*	I9,0 ± I,0*	>0,05	I0,5 ± 0,6*	I0,6 ± 0,6	>0,05	28,5 ± 2,0	29,6 ± I,9	>0,05

P – вірогідність різниць по відношенню до інтактних тварин;

* – P<0,05 – вірогідність різниць у порівнянні з попередньою віковою групою.

щурів, що утримувались на дієті.

Як і у старих інтактних тварин, в процес гашення гормонального сигналу при гіпокалорійній дієті, очевидно, втягуються ядерні рецептори тиреоїдних гормонів - важлива ланка реалізації гормонального ефекту. За даними Moore (1982), введення T_3 при аліментарній депривації супроводжується захисною реакцією, яка полягає в подальшому зменшенні кількості ядерних рецепторів.

При вивченні вікових закономірностей білкового синтезу особливий інтерес викликає дослідження онтогенетичних змін інтенсивності синтезу індивідуальних білків, вивчених до цього часу в меншій мірі. В зв'язку з цим було виконане дослідження інтенсивності синтезу основного секреторного білка печінки - альбуміну у інтактних і експериментальних щурів різного віку.

Інтенсивність синтезу альбуміну оцінювали по сумарній відносній питомій активності альбуміну, синтезованого у печінці на 45-й хвилині експозиції міченого попередника. До цього терміну включення мітки в синтезовані печінкою білки має лінійний характер у щурів всіх досліджуваних груп.

Дослідження включення мітки в альбумін, синтезований печінкою, показало спад інтенсивності синтезу цього білка у старих 24-місячних тварин у порівнянні з 3-місячними. Рівні СВПА альбуміну складали 65,8±4,8 і 52,0±3,0 у 3-х і 24-х місячних щурів відповідно. При цьому ВПА альбуміну печінки різнилися незначно (різниця складала 16,3 %, $p<0,05$), в той час, як ВПА білка сироватки знижувалася у старих тварин на 30 % ($p<0,01$) відносно рівня молодих. Менш виражені вікові відміни включення міченого попередника в альбумін печінки, у порівнянні з секреторним, обумовлені, імовірно, уповільненням виходу білка у кровотік старих щурів. Оскільки в печінці старих тварин не помічено зменшення синтезу і вмісту мРНК альбуміну (Richardson et al., 1987; Horbach et al. 1988), можна припустити, що основні події, які визначають віковий спад синтезу альбуміну, відбуваються на посттранскрипційному рівні.

Вікове зниження синтезу альбуміну супроводжувалося значним зменшенням його вмісту в сироватці крові інтактних тварин (27,1±1,2 мг/мл і 17,1±0,8 мг/мл у 3- і 24-місячних щурів відповідно) і менш вираженим спадом рівня білка у печінці (46,5±2,2 і 41,8±2,9 мг/г сухої ваги печінки відповідно). Можливо, що зниження деградації і затримка виходу альбуміну в кровотік призводять до його накопичення в печінці старих щурів. Незважаючи на спад ін-

тенсивності синтезу альбуміну в старості, це приводить до зменшення вікових відмін рівня білка в печінці.

Введення тироксину приводило до стимуляції синтезу альбуміну і у молодих, і у старих тварин. Приріст СВПА альбуміну у молодих 3-місячних тварин складав 4I,3 % ($p<0,0I$), а у старих лише I8,0% ($p<0,05$). При цьому активація білкового синтезу у молодих тварин супроводжувалася збільшенням його вмісту в печінці і сироватці крові, а у старих тварин рівні білка під впливом гормону вірогідно не змінювалися.

Як відомо, окрім регуляції білкового синтезу, тиреоїдні гормони впливають на швидкість деградації білкових молекул, що є наслідком активації гормоном лізосомальних ферментів і підвищення частки модифікованих молекул, які з більшою швидкістю атакуються протеолітичними ферментами (Троицкий, I979, I990).

Оскільки вміст білків є результуючою їх синтезу і розпаду, а дія тиреоїдних гормонів зачіпає обидві сторони білкового обміну, можна припустити, що у молодих тварин підвищення вмісту альбуміну в печінці і сироватці крові наступає внаслідок більш вираженої активації гормоном синтезу білка. У старих тварин підвищення інтенсивності білкового синтезу компенсується активацією білкового розпаду, що проявляється у відсутності вірогідних змін його рівня.

Отже, старіння супроводжується послабленням регуляторного впливу тироксину на синтез альбуміну і менш вираженими змінами ефектів тироксину щодо процесів деградації альбуміну. Це проявляється в неоднозначності викликаних тироксином змін вмісту альбуміну в печінці і сироватці крові молодих і старих тварин.

Характер зміни синтезу альбуміну під впливом гіпокалорійної дієти істотно не відрізнявся від того, що спостерігалося для тотальних білків. Рівні СВПА альбуміну були знижені і складали 45,3±3,0; 43,2±2,8; 38,5±2,0 у 3-, I2- і 24-місячних тварин відповідно. Зниження інтенсивності синтезу альбуміну при обмеженні живлення, однак, не супроводжувалося спадом його вмісту у печінці і сироватці крові. Вміст альбуміну у сироватці крові 3-місячних експериментальних і інтактних тварин майже не відрізнявся, а у 24-місячних експериментальних на 29,9 % ($p<0,05$) був вищий, ніж у інтактних. У печінці експериментальних тварин відмічено більш високий вміст альбуміну, ніж у інтактних. При цьому вірогідних міжвікових відмін вмісту білка в печінці не виявлено. Відсутність зниження рівня альбуміну в печінці і сироватці крові експериментальних

тальних тварин на тлі зниження його синтезу свідчить, очевидно, про пригнічення у цих умовах процесів розпаду білків.

Введення тироксину експериментальним тваринам не справляло значного впливу на швидкість синтезу альбуміну. Вірогідне збільшення СВПА альбуміну у цих тварин помічено лише в 3-місячному віці. У 12- і 24-місячних щурів не було реакції цього показника на введення гормону.

На тлі відсутності значних змін показників інтенсивності синтезу альбуміну під впливом тироксину відзначалось вірогідне зниження вмісту білка в печінці і сироватці крові експериментальних тварин всіх досліджених вікових груп. Зниження рівня білка не було пов'язане з віком і складало 13-15 % ($p<0,05$) для сироватки крові і 17-20 % ($p<0,05$) для печінки.

Отже, викликані застосуванням калорійно недостатньої дієти зміни регуляторних ефектів тироксину на синтез і розпад альбуміну мають різну міру вияву: послаблення стимулюючого впливу тироксину відбувається на тлі менш виражених змін чутливості до протеолітичної дії гормону.

Базуючись на викладеному, можна зазначити, що механізми забезпечення тканин тиреоїдними гормонами не зазнають істотних змін при старінні і обмеженні живлення. В той же час спостерігається значне послаблення регуляторного впливу тироксину на інтенсивність процесів синтезу білків, що обумовлене, очевидно, структурними і метаболічними перебудовами в тканинах, внаслідок яких чутливість білоксинтезуючого апарату клітин печінки до гормонального стимулу знижується.

ВИСНОВКИ

1. Старіння та гіпокалорійне харчування, що затримує ріст і подовжує життя, приводять до зниження вмісту тироксину і трийодтироніну в печінці щурів.

2. Зменшення вмісту трийодтироніну в печінці щурів при старінні та обмеженні харчування обумовлене, головним чином, зниженням надходження тироксину в орган, а не порушенням периферичної конверсії тироксину в трийодтиронін.

3. Здатність тироксину стимулювати синтез білків у печінці максимальна у молодих тварин (1-3 місяці) і знижується при старінні.

4. Використання гіпокалорійної дієти зменшує інтенсивність біл-

кового синтезу і нівелює вікові відміни цього процесу. Стимулюючий ефект тироксину на інтенсивність синтезу білків в цих умовах не проявляється.

5. При старінні та обмеженні харчування знижується інтенсивність синтезу альбуміну і послаблюється стимулюючий ефект тироксину на його синтез.

6. Вплив тироксину на вміст альбуміну в печінці і сироватці крові залежить від віку і особливостей харчування: введення гормону підвищує вміст альбуміну у молодих, не змінює у старих і зменшує у тварин, що утримувались на гіпокалорійній дієті.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ПО ТЕМІ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Громакова И.А. Тиреоидная регуляция белкового синтеза в печени крыс в онтогенезе.//Тез.докл.X Всесоюзного совещания по эволюционной физиологии.- Ленинград:"Наука",1990.-С.286.

2. Бару В.А., Громакова И.А. Гормональная регуляция синтеза белка в печени крыс при экспериментальном продлении жизни. //Тез.докл.Всесоюзной конференции.- Киев,1991.-С.364-365.

3. Никитин В.Н., Бару В.А., Громакова И.А., Деревянко Г.И., Зильберман С.Ц., Коноваленко О.А., Нестеренко Г.А. Возрастная специфичность взаиморегуляции гормональных систем организма.//Тез. докл.XIII съезда Укр.физиол.об-ва.- Киев:Наук.думка,1991.-Т.2.-С.45.

4. Громакова И.А. Возрастные особенности тиреоидной регуляции белкового синтеза в печени крыс. //Биохимия и физиология возрастного развития организма. - Киев:Наук.думка,1992.-С.213-218.

5. Громакова И.А. Тиреоидная регуляция белкового синтеза в печени крыс разного возраста при гипокалорийном питании.//Сборник научных работ аспирантов ХГУ. - Харьков:"Основа",1992.-С.12-15.

6.Громакова И.А. Тиреоидная регуляция белкового синтеза в печени крыс разного возраста в норме и при ограничении питания. //Материалы научной конференции молодых ученых биол. ф-та и н-и института биологии. - Харьков,ХГУ,1993.-С.8.

7. Громакова И.А. Влияние гипокалорийной диеты на синтез и содержание альбумина в печени и сыворотке крови белых крыс разного возраста.//Тез.докл. симпозиума "Биологические механизмы старения".- Харьков,1994.-С.17.

Підп. до друку 28.07.1994 Формат 60×84 1/16
Папір тип. Умовн. друк. арк. 1,0 Тираж 100 Зам. № 496

Ротапринт НДІ "Електроважмаш"
310055, Харків, пр. Московський, 299