

УДК 612.444—053:612.014.21

Г. В. Валуева

РОЛЬ ВНЕ- И ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ФАКТОРОВ В ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЯХ ОБМЕНА ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ

Проведенными нами ранее исследованиями установлено, что при старении организма происходят значительные изменения не только функциональной активности щитовидной железы, уровня тиреоидных гормонов в крови, но и периферического обмена тироксина (T_4) и трийодтиронина (T_3) [1, 2]. Так, у старых крыс снижается йоднакопительная способность щитовидной железы, уровень T_4 и T_3 в крови, тироксинсвязывающая способность специфического T_4 -связывающего глобулина крови, но увеличивается пространство распределения T_4 в организме. Согласно современным взглядам, на кинетику T_4 в организме оказывают влияние как внеклеточные факторы (концентрация T_4 , T_3 в крови, T_4 и T_3 связывающая способность белков крови), так и внутриклеточные (способность клеточных рецепторов связывать T_4 , T_3 , активность внутриклеточных экскреторных механизмов, интенсивность метаболизма T_4 , T_3 [8, 3]). Изменения экстраклеточного обмена T_4 неразрывно связаны с периферическим обменом T_3 , так как известны данные о влиянии T_4 на кинетику распределения T_3 в организме [13]. Исследований, посвященных выяснению причин изменений экстраклеточного обмена T_4 и показателей кинетики T_3 при старении организма, практически нет.

Мы изучали роль вне- и внутриклеточных факторов в изменениях периферического обмена T_4 и состоянии периферического обмена T_3 в процессе старения организма.

Методика исследований

Опыты проведены на крысах-самках трех возрастных групп: 1,5—2; 8—12 и 28—32 месяца. Анализ кинетики T_4 —методом изотопного равновесия гормона [5] и методом кругооборота T_4 [7, 9]. Кинетику T_3 определяли методом кругооборота гормона [7, 9]. Аналогичным методом после внутривенного введения альбумина— I^{131} (2 мкк/100 г) определяли пространство распределения плазменных белков (ПРА или V_a), являющееся общим для T_4 и T_3 . Исходя из данных, полученных с помощью указанных методов, рассчитывали пространство распределения T_4 или T_3 (ПРТ $_4$ или ПРТ $_3$) в мл/100 г; фракционную скорость удаления гормона из крови— k_0 (за 24 ч); $t \frac{1}{2}$ для T_4 и T_3 (в часах), клиренс T_4 или T_3 с мочой и калом—(мл/100 г/сут). Располагая этими данными, рассчитывали V_k —клеточный объем распределения: $V_k = V_0 - V_a$, где V_0 —общий объем (пространство) распределения T_4 или T_3 . C_k —клеточное связывание T_4 или T_3 : $C_k = C_n \cdot V_k$, где C_n —связывание гормонов (T_4 или T_3) белками плазмы (условные единицы), определяемое по формуле $\frac{1-DF}{DF}$, где DF —диализабельная фракция. DF определяли методом равновесного диализа [10]. k_r —фракционная скорость удаления гормона или продуктов его распада из клеточного отдела $k_r = \frac{k_0 \cdot V_0}{V_k}$ (час $^{-1}$), где k_0 —общая фракционная скорость удаления гормона из крови за сутки. Клеточный метаболический клиренс— $C_k k_r$, мл/(100 г·ч). В каждой серии опытов с T_4 — I^{125} проводили следующий эксперимент. После последней инъекции T_4 — I^{125} животных умертвляли, из кишечника

извлекали кал, спускали мочу из мочевого пузыря. Тушку со всеми органами (после тщательного вымакивания крови), включая содержимое черепной коробки, измельчали на электромясорубке, гомогенизировали 3—5 раз в дистиллированной воде с добавлением 5 мг/1 мл 6-МТУ. Экстракцию проводили 96% этанолом, четырьмя объемами, четыре раза. Объединенные этанольные экстракты высушивали в вакууме при 30°С, растворяли в смеси метанол: аммоний концентрированный (99:1) и проводили тонкослойную хроматографию на пластинках *Silufol* (Чехословакия) по [11].

Тиоксинсвязывающую способность белков плазмы (T_4 СС) определяли с помощью радиоизотопных наборов *Thyopac-3*. Общее содержание T_4 в крови — набором *Thyopac-4* (*Amersham*, Англия). Содержание T_3 в плазме — радиоиммунологическим методом, наборами фирмы *Amersham* (Англия).

Результаты исследований и их обсуждение

Как видно из представленных в табл. 1 данных, у крыс 1,5—2 и 28—32 месяцев, по сравнению со взрослыми животными, значительно увеличивается ПРТ₄, то есть объем жидкости, необходимый, чтобы вместить весь способный к обмену T_4 в такой же концентрации, как в плазме. Наряду с однонаправленностью изменения ПРТ₄ у крыс 1,5—2 и 28—32 месяцев, k_0 и $t \frac{1}{2}$ у них различны: у молодых оно ускорено, а у старых — не отличается от аналогичных данных у взрослых. Многочисленные экспериментальные (*in vivo*, *in vitro*) и клинические данные (гипо-, гипертиреоз, фармакологические воздействия — эстрогены) позволили установить прямую коррелятивную зависимость между концентрацией T_4 , T_3 и k_0 для T_4 , T_3 ; $t \frac{1}{2} T_4$; T_3 ; ПРТ₄, T_3 и обратной — между T_4 , T_3 -связывающей способностью белков плазмы и данными величинами [9, 12]. Учитывая это, мы попытались проанализировать полученные данные по кинетике T_4 в различных возрастных группах, исходя из указанной закономерности. У животных 1,5—2 месяцев отмечается значительное увеличение концентрации T_4 в крови и неизменность T_4 СС по сравнению со взрослыми (табл. 1). Это позволяет, исходя из указанной зависи-

Таблица 1

Показатели кинетики T_4 у крыс разного возраста

Группа, возраст животных (месяцы)	n	Вес, г	ПРТ ₄ мл/100 г	F, за 24 ч	$t \frac{1}{2}$, в ч	Клиренс T_4 с мочой, мл/(100 г·24 ч)
I (1,5—2)	20	107±17,8	23±4,3	1,3±0,01	13,2±0,5	11,7±0,7
II (8—12)	12	390±5,6	17,4±2	1,1±0,01	15,1±0,7	10,0±0,5
p_{II-I}		<0,001	<0,05	<0,001	<0,05	<0,05
III (28—32)	20	407±10,3	29,1±1,7	1,03±0,1	15,9±0,5	7±0,5
p_{III-II}		>0,2	<0,001	>0,5	>0,5	<0,001

Группа, возраст животных (месяцы)	Клиренс T_4 с калом, мл/(100 г·24 ч)	C_K мл/100 г	k_K ч ⁻¹	$C_K k_K$ мл/100 г·ч	Thyopac-3, %	T_4 мкг/100 мл
I (1,5—2)	14,3±1,5	144±7,3	0,08±0,004	11,5±1,3	79,1±6,9	8,6±0,2
II (8—12)	8,3±1,0	114±8,1	0,07±0,003	7,9±0,8	67,5±2,1	5,4±0,5
p_{II-I}	<0,001	<0,02	<0,05	<0,05	>0,1	<0,001
III (28—32)	5,1±0,3	198±10,1	0,05±0,004	9,9±0,5	53±1,4	4,1±0,4
p_{III-II}	<0,001	<0,001	<0,001	<0,05	<0,001	<0,05

мости, связать увеличение ПРТ_4 , k_0 и $t_{\frac{1}{2}}$, прежде всего, с внеклеточными факторами: уровнем T_4 в крови. Вышедший из крови T_4 интенсивно связывается клетками тканей животных 1,5—2 месяцев. S_K у них достоверно больше, чем у взрослых крыс. Проводимая хроматография экстрактов тушек животных данного возраста показала, что радиоактивность на 80% состоит из T_4 — I^{125} . Это подтверждает положение о том, что увеличение ПРТ_4 у крыс 1,5—2 месяцев обусловлено наличием неизменного гормона, проникающего в клетки из крови (табл. 2). Повышение внутриклеточного метаболического клиренса ($S_K k_K$) у неполовозрелых животных свидетельствует о том, что поступивший из крови в клетки T_4 интенсивно метаболизируется или экскретируется из них. Образовавшиеся продукты метаболизма или неизменный гормон с большей скоростью (k_K) удаляется из клеток у животных 1,5—2 месяцев, чем у взрослых крыс. Хроматографическое исследование экстрактов тушек крыс 1,5—2 месяцев показало также, что в процессе деградации T_4 в тканях образуется преимущественно йодид, а другие продукты метаболизма представлены в мизерном количестве (место старта), как и у взрослых крыс (табл. 2).

Таблица 2

Хроматографическое исследование экстрактов тушек крыс разного возраста после введения T_4 — I^{125} (в % от суммарной активности)

Группа, возраст животных (месяцы)	n	T_4 — I^{125} , в %	I^{125} , в %	I^{125} в % на месте старта
I (1,5—2)	15	$80 \pm 1,9$	$16,5 \pm 2$	$3 \pm 0,5$
II (8—12)	10	$81 \pm 3,1$	$15 \pm 1,5$	$2,5 \pm 0,7$
P_{II-I}		$>0,2$	$>0,5$	$>0,5$
III (28—32)	10	$30 \pm 3,7$	$7 \pm 1,1$	$52 \pm 3,9$
P_{III-II}		$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$

Определение у крыс 1,5—2 месяцев клиренсов T_4 с мочой и калом позволило установить, что увеличение внутриклеточного метаболического клиренса происходит преимущественно за счет экскреции T_4 с калом, хотя дейодинационный клиренс также достоверно больше, чем у животных 8—12 месяцев. Таким образом, у крыс 1,5—2 месяцев изменения в кинетике T_4 можно связать в основном с внеклеточными факторами.

Анализируя аналогичным образом данные, полученные у старых животных, следует отметить, что концентрация T_4 в крови у них меньше, чем у взрослых, но снижается и T_3 СС белков крови. Если исходить из указанной выше закономерности, то уменьшение T_4 СС может привести к увеличению ПРТ_4 . Однако при этом предполагается повышение фракционной скорости выведения T_4 из крови и уменьшение $t_{\frac{1}{2}} T_4$. Однако,

эти показатели у крыс 28—32 месяцев такие же, как у взрослых. То есть, связать увеличение ПРТ_4 у старых животных с внеклеточными факторами вряд ли представляется возможным, хотя нельзя полностью исключить роль снижения T_4 СС в данных изменениях кинетики T_4 .

При определении связывания T_4 клетками тканей старых крыс отмечается достоверное увеличение S_K по сравнению со взрослыми животными. Величина $S_K k_K$ у крыс 28—32 месяцев значительно больше, чем у взрослых, что свидетельствует об интенсивном метаболизме T_4 , попав-

шего в клетки. Наряду с этим, фракционная скорость удаления продуктов метаболизма T_4 из клеток у старых животных заметно уменьшается — k_k (табл. 1). Хроматографическое определение экстрактов тушек крыс 28—32 месяцев показало, что в них содержится только $30 \pm 3,7\%$ T_4 , в то время как у взрослых животных и 1,5—2 месяца почти вся (80—81%) радиоактивность представлена в виде T_4 — I^{125} (табл. 2). Наряду с этим у старых крыс достоверно уменьшается по сравнению с 8—12 месячными количество I^{125} и резко увеличивается радиоактивность метаболитов, остающихся на месте нанесения пробы при хроматографии экстрактов тушек (табл. 3). Учитывая, что у старых крыс отмечается увеличение C_k и $C_k k_k$, естественно было бы ожидать повышение клиренса T_4 с мочой и калом по сравнению со взрослыми. Полученные данные не подтвердили этого: у старых крыс клиренс T_4 с мочой и калом значительно снижены (табл. 1). Причем, ПРА, то есть пространство распределения плазменных белков у старых крыс остается таким же, как и у взрослых ($7 \pm 0,5$ мл/100 г — 8—12 мес; $7,3 \pm 0,8$ мл/100 г — 28—32 мес), что исключает возможность объяснить увеличение общего ПРТ $_4$ за счет расширения интерстициального пространства, где мог бы удерживаться T_4 . Таким образом можно полагать, что увеличение ПРТ $_4$ у старых животных обусловлено не повышенным связыванием неизменного T_4 , а наличием продуктов метаболизма T_4 , которые медленнее выводятся из клеток, о чем свидетельствует уменьшение фракционной скорости их удаления из клеток (k_k), снижение клиренса T_4 с мочой и увеличение на хроматограмме экстрактов тушек крыс 28—32 месяцев процента I^{125} , остающегося на месте старта (табл. 1, 2).

Таблица 3

Показатели кинетики T_3 у крыс разного возраста

Группа, возраст животных (месяцы)	n	Вес, г	ПРТ $_3$, мл/100 г	F, за 24 ч	$t \frac{1}{2}$ в ч	Клиренс T_3 с мочой мл/(100 г·24 ч)
I (1,5—2)	20	110 $\pm$ 11,5	165 $\pm$ 10,3	1,85 $\pm$ 0,02	9 $\pm$ 0,3	172 $\pm$ 12,7
II (8—12)	12	399 $\pm$ 4,2	74,3 $\pm$ 5,1	1,6 $\pm$ 0,04	10,3 $\pm$ 0,2	70,1 $\pm$ 4,3
		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
III 28—32	10	412 $\pm$ 13,9	75,2 $\pm$ 3,4	1,55 $\pm$ 0,02	10,9 $\pm$ 1,2	62 $\pm$ 5,9
P_{III-II}		>0,2	>0,2	>0,5	>0,2	>0,2

Группа, возраст животных (месяцы)	Клиренс T_3 с калом мл/(100 г·24 ч)	C_k , мл/100 г	k_k , ч $^{-1}$	$C_k k_k$ мл/(100 г·ч)	T_3 мкг/100 мл
I (1,5—2)	133 $\pm$ 9,5	316 $\pm$ 12,7	0,08 $\pm$ 0,001	20,2 $\pm$ 2,5	250 $\pm$ 35
II (8—12)	49,5 $\pm$ 3,8	161,5 $\pm$ 7,7	0,07 $\pm$ 0,002	11,3 $\pm$ 1,0	195 $\pm$ 2,1
	<0,001	<0,01	<0,01	<0,001	>0,2
III 28—32	51,2 $\pm$ 7,7	163,68 $\pm$ 8	0,07 $\pm$ 0,001	11,46 $\pm$ 1,7	93 $\pm$ 23
P_{III-II}	>0,5	>0,2	—	>0,5	<0,02

Таким образом можно полагать, что у старых животных изменения в кинетике T_4 обусловлены преимущественно внутриклеточными факторами: образованием в клетках метаболитов, имеющих более длительный период полувыведения, и образующихся в результате усиленного мета-

болизма связанного с T_4 . С другой стороны, уменьшение выведения T_4 с калом у старых крыс способствует поддержанию определенного, хотя и сниженного уровня T_4 в крови, так как с калом выводится только неизменный T_4 в виде конъюгатов, поскольку в ткани нечечки (составляющей 40% от общего ПРТ₄), благодаря гистоструктуре сосудистой сети, наблюдается свободный обмен T_4 между кровью и гепатоцитами. И, естественно, что уменьшение образования конъюгатов T_4 способствует выходу гормона в кровь.

Следовательно, изменения в кинетике T_4 у неполовозрелых и старых животных связаны с различными факторами; если у крыс 1,5—2 месяцев это преимущественно внеклеточные, то у старых — преобладают внутриклеточные, хотя и в том, и в другом случае определенная роль принадлежит и противоположным факторам. Подтверждением данного положения являются дальнейшие исследования по кинетике T_3 у животных различного возраста. У крыс 1,5—2 месяцев наблюдается аналогичная ситуация, как и при исследовании кинетики T_4 . Увеличивается концентрация T_3 в крови и, учитывая прямо пропорциональную зависимость и менее прочную связь T_3 , чем T_4 с белками плазмы, растет ПРТ₃, фракционная скорость удаления T_3 из крови. В клетки проникает повышенное количество T_3 — увеличивается C_K и $C_K k_K$ и клиренс T_3 с мочой и калом (табл. 3). То есть так же, как и при исследовании периферического обмена T_4 , наблюдающиеся изменения в кинетике T_3 можно связать прежде всего с внеклеточными факторами.

У старых животных концентрация T_3 в крови значительно снижена по сравнению со взрослыми. Однако, ПРТ₃, C_K , $C_K k_K$, клиренс T_3 с мочой и калом у старых крыс остаются такими же, как у взрослых, у которых уровень T_3 в крови достоверно выше. Но это происходит не за счет увеличения фракционной скорости удаления гормона из крови (k_0) или из клеток у старых крыс. И k_0 и k_K у животных 28—32 месяцев остаются в таких же пределах, как и у взрослых (табл. 3). То есть, это позволяет полагать, что у старых крыс, несмотря на снижение концентрации T_3 в крови, обусловленное уменьшением синтеза T_3 в тиреоидной ткани, неизменность показателей кинетики T_3 связана, по-видимому, с наличием такого же уровня T_3 в клетках организма, как у взрослых крыс. Поддержание количества T_3 в клетках у старых крыс в тех же пределах, что и у взрослых, происходит, по-видимому, за счет экстратиреоидального превращения T_4 в T_3 , что в настоящее время является общепризнанным и доказанным фактом [4, 5]. В данном случае этот факт подтверждается рядом показателей: у старых животных значительно увеличивается внутриклеточный метаболический клиренс T_4 и уменьшается клиренс T_4 с мочой, что свидетельствует о наличии неполного дейодирования, а, по-видимому, монодейодирования (табл. 1).

Таким образом можно заключить, что в процессе старения происходят значительные изменения в периферическом обмене тиреоидных гормонов, обусловленные преимущественно внутриклеточными факторами. Следует отметить, что наличие у старых крыс неизменности содержания T_3 в тканях за счет экстратиреоидального превращения его из T_4 , а также образование в процессе деградации T_4 в клетках медленно экскретируемых метаболитов, можно рассматривать как положительные феномены, направленные на поддержание определенного уровня тиреоидных гормонов в условиях снижения активности щитовидной железы.

Литература

1. Валуева Г. В. Функциональные особенности щитовидной железы и обмен тиреоидных гормонов при старении.— Механизм действия гормонов. Киев, 1975, с. 25—27.
2. Фролькис В. В., Вержиковская Н. В., Валуева Г. В. Возрастные особенности обмена тиреоидных гормонов и чувствительности к ним ткани.— Пробл. эндокринолог., 1974, 4, с. 98—104.
3. Busnardo B. *et al.* Computer analysis of early thyroxine distribution in thyrotoxicosis and hypothyroidism.— *Horm. Metab. Res.*, 1974, 6, с. 202—207.
4. Chirasevenuprapund P., Buerger G. *et al.* Formation of triiodothyronine from L-thyroxine in rat kidney homogenate.— *Thyroid Research. Proceedings of Seventh International Thyroid Conference*, Boston, Massachusetts, June 9—13, 1975. *Excerpta Medica*, 1976, p. 244—247.
5. Cullen M., Doherty G. *et al.* The effect of hypothyroidism and thyrotoxicosis on thyroxine metabolism in the rat.— *Endocrinology*, 1973, 92, p. 1028—1033.
6. Green W. Thyroxine metabolism by rat liver slices: evidence for a specific T_3 forming pathway.— *Thyroid Research. Proceedings of Seventh International Thyroid Conference*. Boston, Massachusetts, June 9—13, 1975. *Excerpta Medica*, 1976, p. 239—243.
7. Gregerman R., Crowdes S. Estimation of thyroxine secretion rate in the rat by the radioactive thyroxine turnover technique: influences of age, sex and exposure to cold.— *Endocrinology*, 1963, 72, p. 382—392.
8. Nicoloff J. *et al.* Simultaneous measurement of thyroxine peripheral turnover kinetics in man.— *J. Clin. Invest.*, 1972, 51, p. 473—485.
9. Oppenheimer J. *et al.* Differences in primary cellular factors influencing the metabolism and distribution of 3,5,3-L-triiodothyronine and thyroxine.— *J. Clin. Invest.*, 1970, 49, p. 1016—1024.
10. Oppenheimer J., Squef R. *et al.* Binding of thyroxine by serum proteins evaluated by equilibration dialysis and electrophoretic technique. Alterations in nonthyroid illness.— *J. Clin. Invest.*, 1963, 42, p. 1769—1782.
11. Shapiro O., Gordon A. An improved method for separation of radioactive thyroid hormone metabolites by thin-layer chromatography.— *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 1966, 121, p. 577—579.
12. Shapiro O., Surcs M. *et al.* Cellular and plasma protein determination in the differential distribution and metabolism of D- and L-thyroxine in rat.— *Endocrinology*, 1971, 88, p. 93—101.
13. Zaninovich A. *et al.* Changes in triiodothyronine kinetics produced by variations of serum thyroxine-binding globulin capacity in subjects without thyroxine.— *J. Clin. Endocr.*, 1971, 32, p. 509—514.

Киевский институт эндокринологии
и обмена веществ

Поступила в редакцию
14.XII 1977 г.

G. V. Valueva

ROLE OF EXTRA- AND INTRACELLULAR FACTORS IN AGE CHANGES OF THYROID HORMONES METABOLISM

Summary

In the process of ageing there occur significant changes in peripheral metabolism of thyroid hormones primarily due to intracellular factors. The constancy of T_3 content in old animals owing to its extrathyroid transformation from T_4 as well as the production of slowly excreted metabolites in cells in the process of T_4 degradation may be considered as positive phenomena providing the maintenance of certain thyroid hormone levels when the thyroid gland activity is reduced.

Research Institute of Endocrinology
and Metabolism, Kiev