

УДК 612.67:612.441 :014.423.018.2:612.433.441

Е. Н. Горбань

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ТИРОТРОПНОГО ГОРМОНА НА МЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КЛЕТОК ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Возрастные изменения функциональной активности щитовидной железы играют важную роль в механизмах старения организма [3, 6, 21]. В настоящее время накоплен значительный фактический материал о возрастных изменениях регуляции функции щитовидной железы тиротропным гормоном (ТТГ) [1, 4], о возрастных изменениях содержания тиреоидных гормонов в крови и тканях, уровнях их синтеза, секреции и распада [15, 18], о некоторых возрастных особенностях транспортных форм гормонов щитовидной железы [18], об изменении чувствительности тканей к их воздействию [11], хорошо изучены структурные изменения ткани железы при старении [9].

Наряду с этим до настоящего времени мало изучены в общефизиологическом плане и совершенно не изучены в геронтологическом аспекте биофизические свойства мембран клеток секреторной ткани щитовидной железы. В литературе нет данных о возрастных особенностях величины мембранного потенциала (МП) клеток фолликулярного эпителия щитовидной железы, а также о возрастных особенностях его регуляции. В то же время работами последних лет показано, что биофизические свойства клеточной мембраны, в частности трансмембранная разность потенциалов и механизмы ее поддержания, определяют не только возбудимость и аккомодационные свойства клеток, но и играют важную роль в регуляции метаболизма клеток, в трансмембранном транспорте различных веществ, в регуляции биосинтеза белка и энергетики клетки [2, 7, 10, 12, 13, 17].

Мы изучали возрастную динамику трансмембранной разности потенциалов клеток фолликулярного эпителия щитовидной железы и особенности ее регуляции ТТГ при старении организма.

Методика исследований

Исследования проведены на изолированных щитовидных железах крыс-самцов двух возрастных групп: молодых (7—8 мес) и старых (27—32 мес.). Определяли мембранный потенциал (МП) клеток фолликулярного эпителия.

После торакотомии извлекали щитовидную железу, отпрепаровывали ее, фиксировали на пластмассовой подложке и помещали в перфузионную камеру. Для перфузии использовали раствор Кребс — Хенселейта ($t=37^{\circ}\text{C}$) с бикарбонатным буфером для стабилизации pH в пределах 7,2—7,4 на протяжении опыта. Аэрацию раствора осуществляли постоянным пропусканием через него газовой смеси, содержащей 95% O_2 и 5% CO_2 .

Регистрацию МП осуществляли с помощью стандартной микроэлектродной техники. Величину МП контролировали визуально по показаниям стрелочного прибора (микроамперметра типа «М-265М» с добавочным сопротивлением), подключенного к выходу усилителя постоянного тока типа «УПТ-2». Использовали стеклянные микроэлектроды (стекло пирекс), заполненные 2,5 М раствором KCl, имеющие диаметр кон-

Влияние внутривенного введения ТТГ на мембранный потенциал (мВ) клеток фолликулярного эпителия щитовидной железы крыс разного возраста в различные сроки после введения ТТГ

Группа животных	Статистические показатели	Исходная величина МП клеток фолликулярного эпителия	МП клеток фолликулярного эпителия в различные сроки после введения ТТГ					
			1 ч	2 ч	3 ч	1 сут	2 сут	3 сут
5 ед/100 г								
Молодые (7-8 мес)	n_1	8	6	7	6	8	8	6
	n_2	214	179	184	170	311	236	183
	$M \pm m$	$44,7 \pm 0,58$	$40,3 \pm 0,78$	$38,5 \pm 0,74$	$37,7 \pm 0,79$	$47,7 \pm 0,56$	$48,0 \pm 0,59$	$45,0 \pm 0,35$
	Δ		-4,4	-6,2	-7,0	+3,0	+3,3	+0,3
	p		>0,001	<0,001	<0,001	<0,01	<0,01	>0,05
Старые (27-29 мес)	n_1	9	6	6	6	7	6	6
	n_2	261	201	179	187	225	178	199
	$M \pm m$	$40,3 \pm 0,43$	$40,4 \pm 0,35$	$39,6 \pm 0,58$	$37,9 \pm 0,42$	$41,6 \pm 0,62$	$42,5 \pm 0,84$	$43,8 \pm 0,84$
	Δ		+0,1	-0,7	-2,4	+1,3	+2,2	+3,5
	p		>0,05	>0,05	<0,01	>0,05	<0,05	<0,01
0,5 ед/100 г								
Молодые (7-8 мес)	n_1	8	6	6	6	7	6	6
	n_2	214	121	146	124	165	165	178
	$M \pm m$	$44,7 \pm 0,58$	$44,2 \pm 0,78$	$43,9 \pm 0,74$	$44,0 \pm 0,56$	$44,0 \pm 0,96$	$44,4 \pm 0,77$	$44,6 \pm 1,53$
	Δ		-0,5	-0,8	-0,7	-0,7	-0,3	-0,1
	p		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Старые (27-32 мес)	n_1	9	6	6	7	6	6	6
	n_2	261	128	120	164	121	137	140
	$M \pm m$	$40,3 \pm 0,43$	$40,1 \pm 0,57$	$39,9 \pm 0,46$	$39,7 \pm 1,97$	$41,2 \pm 0,98$	$42,0 \pm 1,69$	$43,3 \pm 0,37$
	Δ		-0,2	-0,4	-0,6	+0,9	+1,7	+3,0
	p		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,001

Примечания. n_1 —количество животных; n_2 —количество исследованных клеток; Δ —градиент изменений по сравнению с исходным уровнем; p —достоверность различий с исходной величиной МП.

влиянием ТТГ по сравнению с наблюдаемым в первые 3 ч у молодых крыс. Можно предположить, что возрастные различия динамики МП под влиянием ТТГ в первые часы после введения, отмеченные в наших опытах, являются отражением особенностей функциональной активности щитовидной железы при старении. Так показано [4], что под влиянием однократного введения ТТГ крысам разного возраста выраженное повышение уровня тироксина в крови молодых животных наблюдается уже в первый час после введения ТТГ, у старых животных — лишь на третий час. Возможно, выявленное нами у старых животных более медленное снижение уровня МП щитовидной железы и меньший градиент его изменения под влиянием ТТГ в совокупности с данными об отставленном к третьему часу после введения ТТГ повышении уровня тироксина у старых животных [4], свидетельствуют о каких-то возрастных изменениях свойств мембран клеток фолликулярного эпителия, возможно, модификации ионной проницаемости или иных биофизических свойств мембраны.

По современным представлениям, уровень поляризации клеточной мембраны играет важную роль в регуляции клеточного метаболизма, энергетики клетки и осуществлении ее важнейших функций. Показано [8, 12—14] существование тесной причинно-следственной связи между уровнем поляризации клеточной мембраны и процессами биосинтеза белков в клетке: активация биосинтеза белка в клетке сопровождается изменением электрических свойств мембраны, ее гиперполяризацией, которая, в свою очередь, по типу обратной связи приводит к торможению биосинтеза белка.

По этой причине мы сочли возможным проанализировать динамику МП клеток щитовидной железы в отставленные сроки (через 1—3 сут) после введения ТТГ с позиций механизма отставленного действия ТТГ на белоксинтезирующую функцию клеток фолликулярного эпителия. Весьма возможно, что отсроченная гиперполяризация мембраны клеток фолликулярного эпителия является следствием первичных сдвигов белоксинтетической функции этих клеток, возникающих под влиянием ТТГ.

Как было показано впервые Халми и соавт. [20], единичная инъекция крысе ТТГ приводит по истечении лаг-периода, длящегося около 8 ч, к увеличению поглощения йода щитовидной железой на 50—100%. Предполагается, что этот инкубационный период имеет отношение к синтезу новых энзимов и переносчиков йода. Поглощение радиоiodа доходит до максимума через 18—24 ч и падает до первоначального уровня лишь через 5—6 дней [16].

Работами Тонг и соавт. [24, 26] показано, что активация транспорта йодида изолированными клетками щитовидной железы быка, наблюдаемая под влиянием ТТГ, блокируется ингибиторами синтеза белка — актиномицином Д, пурамицином, циклогексимином — подтверждается мысль об участии в этом процессе синтеза РНК и белка.

Согласно общей концепции о механизме действия гормонов путем активирования генетического аппарата клетки, предполагается, что в основе всех эффектов, наступающих в железе после введения ТТГ, лежит усиление синтеза специфических белков [5]. Получены многочисленные данные, свидетельствующие, что ТТГ усиливает включение меченных аминокислот во вновь синтезируемые белки щитовидной железы как *in vivo*, так и *in vitro* в срезах и изолированных клетках.

Исходя из изложенного, можно предположить, что наблюдаемая в наших опытах через 24 и 48 ч после введения ТТГ гиперполяриза-

ция мембраны клеток фолликулярного эпителия у взрослых крыс является отражением усиления белоксинтетической функции. Отставленная во времени гиперполяризация у старых животных, которая по абсолютным величинам не отличается значительно от показателей, характерных для молодых, развивается медленнее. Возможно, это связано с уменьшением скорости включения метаболитов в белоксинтезирующий аппарат клеток фолликулярного эпителия, поскольку максимальный уровень гиперполяризации у старых животных на третьи сутки после введения ТТГ достигает таких же величин, как и у молодых животных через 2 сут. Наряду с этим можно высказать предположение, что в динамике отставленной и «растянутой» во времени гиперполяризации определенную роль играет ослабление механизма обратной связи гиперполяризации с белоксинтетической функцией клетки.

При изучении возрастных изменений реакции различных тканей на действие гормонов щитовидной железы по сдвигам величины газообмена, интенсивности гликолиза в миокарде и печени было показано, что если на большие дозы сдвиги более выражены у взрослых животных, то на малые дозы — у старых [15]. В связи с этим следует сослаться на приведенные нами результаты исследований (см. таблицу), в которых при введении 0,5 ед/100 г ТТГ сдвиги величины МП клеток фолликулярного эпителия щитовидной железы у старых животных возникают при введении меньших доз ТТГ; однако при использовании больших дозировок ТТГ (5 ед/100 г) у них менее выражена двухфазная реакция изменений величины МП, чем у молодых. Можно полагать, что это свидетельствует о возрастном уменьшении диапазона реакции клеток щитовидной железы на действие ТТГ.

Выводы

1. Установлено возрастное снижение уровня МП клеток фолликулярного эпителия щитовидной железы у крыс.
2. Уровень МП эпителиальных клеток фолликулов щитовидной железы отражает функциональную активность железы.
3. Наблюдаемая в отставленные сроки после введения ТТГ гиперполяризация мембран клеток фолликулов, по-видимому, отражает активацию белоксинтетических процессов в ткани щитовидной железы под влиянием тропного гормона.

Литература

1. Валуева Г. В., Вержиковская Н. В. Тиреотропная активность гипофиза у крыс в различные возрастные периоды. — Пробл. эндокринолог., 1977, 23, № 5, с. 99—103.
2. Вепринцев Б. Н. О связи электрической активности нервной клетки с синтезом в ней РНК и роли клеточной мембраны в регулировании биосинтеза РНК в клетке. — Автореф. докт. дис., Пушкино, 1971. 38 стр.
3. Вержиковская Н. В. Щитовидная железа и возраст. — Автореф. докт. дис., Киев, 1971. 46 стр.
4. Вержиковская Н. В., Валуева Г. В. Возрастные особенности влияния тиротропного гормона (ТТГ) на функцию щитовидной железы. — В кн.: III Всес. съезд геронтологов и геронтологов. Тез. и реф. докл. 1—4 июня 1976 г. Киев, 1976, с. 65.
5. Гагелганс А. И. и др. Тиреоидные гормоны. Биосинтез, физиологические эффекты и механизм действия. — Ташкент: Фан, 1972. — 332 с.
6. Гацко Г. Г. Эндокринная система при старении. Минск: 1969. — 145 с.
7. Коротконожкин В. Г. Возрастные особенности регулирования уровня мембранного потенциала клеток (на примере мышечных волокон и клеток печени). Автореф. дисс. ... канд. мед. наук, Киев, 1972. — 16 с.

8. Парамонова Г. И. Индуция возраста под влиянием генетических механизмов. — Физiol. ж. С. 1951. — 231 с.
9. Разумович А. Н. Биогенез и техника. 1972. — 230 с.
10. Фролькис В. В. О возрастных гормонах. — Физiol. ж. С. 1951. — 231 с.
11. Фролькис В. В. Новое у белки. — Физiol. ж. АН УССР. 1974, 20, № 4, с. 98—103.
12. Фролькис В. В. Влияние потенциала клеток. — Биогенез и техника. 1972. — 230 с.
13. Фролькис В. В. Генетический механизм. — Физiol. ж. АН УССР. 1974, 20, № 4, с. 98—103.
14. Einhorn J., Larson L. C. function. — J. Clin. Endocrinol., 1978, 24, N 2, p. 1492—1494.
15. Frolkis V. V., Valueva G. V. Protein biosynthesis. — Endocrinology, 1978, 24, N 2, p. 1492—1494.
16. Gorbman A., Ueda K. Eltropin-injected frogs and Endocrinol., 1963, 3, N 2, p. 1492—1494.
17. Halmi N. S., Granner D. P. effect of TSH on thyroid p. 70—81.
18. Pittman J. A., Jr. The effect of TSH on thyroid p. 10—21.
19. Seljelid R. — Цит. по [25]
20. Solomon D. H. Effect of TSH on thyroid p. 1492—1494.
21. Tong W. The actions of TSH. Proc. of the third Int. Conf. on Thyroid, 1968, Excerpta Med., Four, p. 1154—1158.
22. Williams J. A. Effect of TSH on thyroid p. 1154—1158.
23. Wilson B., Raghupathy P. on isolated bovine thyroid p. 553—567.
24. Woodbury D. M., Woodbury D. M. with histology of rat thyroid p. 553—567.

Институт геронтологии АМН
Киев

AGE PECULIARITIES OF THYROID GLAND MEMBRANE

The age dynamics of the peculiarities of its membrane on isolated thyroid glands by electrode technique. With age the membrane potential decreased. Stimulation of the membrane by biphasic changes in the first 3 hours after thyrotropin administration. In old animals the polarization phase was determined. The relationship between the membrane potential and the stimulation by means of thyrotropin.

Institute of Gerontology, Academy of Medical Sciences, USSR

5 — Физиологический журнал.

8. Парамонова Г. И. Индуктивный синтез некоторых ферментов печени крыс разного возраста под влиянием анодной поляризации.— В кн.: Геронтология и гериатрия. Генетические механизмы старения и долголетия. Киев, 1977, с. 93—97.
9. Пузик В. И. Возрастная морфология желез внутренней секреции у человека.— М., 1951.— 231 с.
10. Разумович А. Н. Биоэнергетические процессы и старение организма.— Минск: Наука и техника, 1972.— 230 с.
11. Фролькис В. В. О возрастных особенностях чувствительности тканей к действию гормонов.— Физиол. ж. СССР, 1965, 60, № 7, с. 857—862.
12. Фролькис В. В. Новые уявления про взаємозв'язок функцій клітини та біосинтезу білка.— Физиол. ж. АН УРСР, 1970, 16, № 2, с. 221—227.
13. Фролькис В. В. Влияние активации биосинтеза белка на величину мембранного потенциала клеток.— Биофизика, 1974, 19, вып. 3, с. 470—473.
14. Фролькис В. В. Гено-регуляторная гипотеза старения.— В кн.: Геронтология и гериатрия. Генетические механизмы старения и долголетия, Киев, 1977, с. 7—18.
15. Фролькис В. В., Вержиковская Н. В., Валуева Г. В. Возрастные особенности обмена тиреоидных гормонов и чувствительности к ним тканей.— Пробл. эндокринолог., 1974, 20, № 4, с. 98—103.
16. Einhorn J., Larson L. G. Studies on the effect of thyrotropin on human thyroid function.— J. Clin. Endocrinol. and Metabol., 1959, 19, N 1, p. 28—34.
17. Frolkis V. V. Protein biosynthesis and hyperpolarization of cells.— Experientia, 1973, 29, N 12, p. 1492—1494.
18. Frolkis V. V., Valueva G. V. Metabolism of thyroid hormones during aging.— Gerontology, 1978, 24, N 2, p. 81—94.
19. Gorbman A., Ueda K. Electrical properties of thyroid follicles in normal and thyrotropin-injected frogs and in premetamorphic and metamorphic tadpoles.— Gen. Comp. Endocrinol., 1963, 3, N 2, p. 308—311.
20. Halmi N. S., Granner D. K., Doughmann D. J., Peters B. N., Müller G. Biphasic effect of TSH on thyroidal iodide collection in rats.— Endocrinology, 1960, 67, N 1, p. 70—81.
21. Pittman J. A., Jr. The thyroid and aging.— J. Am. Geriatrics Soc., 1962, 10, N 1, p. 10—21.
22. Seljelid R.— Цит. по [25].
23. Solomon D. H. Effect of thyrotropin on thyroidal water and electrolytes in the chick.— Endocrinology, 1961, 69, N 5, p. 939—957.
24. Tong W. The actions of TSH on isolated thyroid cells.— In: Progress in endocrinology. Proc. of the third intern. congress of endocrinology, Mexico, June 30—July 5, 1968. Excerpta Med. Found. Amsterdam, 1969, p. 669—674.
25. Williams J. A. Effect of TSH on thyroid membrane properties.— Endocrinology, 1970, 86, N 5, p. 1154—1158.
26. Wilson B., Raghupathy E., Tonoue T., Tong W. TSH-like actions of dibutyryl-c-AMP on isolated bovine thyroid cells.— Endocrinology, 1968, 83, N 4, p. 877—884.
27. Woodbury D. M., Woodbury J. M. Correlation of microelectrode potential recordings with histology of rat and guinea pig thyroid glands.— J. Physiol. (London), 1963, 169, N 3, p. 553—567.

Институт геронтологии АМН СССР,
Киев

Поступила в редакцию
27.III 1978 г.

E. N. Gorban'

AGE PECULIARITIES OF THYROTROPIN EFFECTS ON THE MEMBRANE POTENTIAL OF THE THYROID CELLS

The age dynamics of the membrane potential (MP) of follicular epithelium cells and the peculiarities of its regulation with thyrotropin were studied in the experiments on isolated thyroid glands from male rats aged 7-8 and 27-32 months, using the microelectrode technique. With aging the value of MP of the follicular epithelium cells decreased. Stimulation of the thyroid gland with thyrotropin (5 U/100 g) was accompanied by biphasic changes in MP: depolarization of the cellular membrane within the first 3 hours after thyrotropin administration and hyperpolarization during the following 24-72 hours. In old animals the depolarization phase was less expressed and the hyperpolarization phase was delayed, as compared with the young rats. The possible relationship between the MP dynamics and the peculiarities of the thyroid gland activation by means of thyrotropin is discussed.

Institute of Gerontology, Academy
of Medical Sciences, USSR, Kiev

5 — Физиологический журнал, № 4.