

евого струму і за метаболіч-  
ідмінності можуть бути пов'я-  
таких клітин, про які в літе-  
що в слинній залозі личинки  
долі відрізняються від інших  
політенних хромосомах і за  
результатів електрофізіологіч-  
клітинах нижньої долі залози  
них посередників в активації  
і залози цАМФ може викону-  
функція цАМФ встановлена  
не підстав вважати, що блоку-  
ї долі залози пов'язане з фос-  
кіназою. Найбільш ймовірно,  
ання пов'язане з взаємодією

сліджуваних нами клітин за  
зв'язки до каналів Т-типу нерво-  
порогових кальцієвих каналів  
долі гіпофіза, в яких, правда,  
и [14]. Високотривалими є і  
залози [11].

ються від каналів Т-типу дуже  
и кальцієвих каналів  $\beta$ -клітин  
кальцієвих каналів пресинап-  
кальмара, які беруть участь  
м каналам  $\beta$ -клітин підшлун-  
ми кальцієвим каналам влас-  
ізми потребують додаткового  
на залежність інактивації не  
ніні процеси.

алози личинки хірономуса по-  
нами, нітренидіном і закис-  
ів слабо залежить від темпе-  
ї від  $+20^\circ$  до  $+10^\circ\text{C}$  складає  
24 кДж·моль $^{-1}$ .  $Q_{10}$  для ам-  
тів становить 2,96 [7]. Одер-  
кий енергетичний бар'єр каль-  
ичинки хірономуса. В цілому,  
гься від кальцієвих каналів  
властивостями до кальцієвих  
ського синапсу кальмара [8].

## T CALCIUM MEMBRANE

ndent calcium channels in cells of the  
ironomus larvae have been studied. The  
are near  $-60\text{ mV}$ , but in cells of the  
es at  $-20\text{ mV}$ , while in cells of the  
s of the upper lobe is approximately  
is 1.62 less than in cells of the lower  
lower lobes of glands also differ in  
and  $\text{Mg}^{2+}$  into cells of the lower  
rent amplitude, while the same action  
nt amplitude in the cells of the lower  
and La, Co, Ni, Cd, Zn cations as  
ternal solution.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Клевес М. Ю., Гураль З. В. Идентификация активируемого деполяризацией кальциевого тока мембраны секреторных клеток // Физиол. журн.—1990.—36, № 2.— С. 102—104.
2. Крышаль О. А., Пидопличко В. И. Внутриклеточная перфузия гигантских нейронов улитки // Нейрофизиология.—1975.—7, № 3.— С. 327—329.
3. Несен К. И., Магура И. С. Сравнительная характеристика ионных каналов клеток гипофиза и надпочечников // Ионные каналы в биологических мембранах: Тез. докл. Всесоюз. симп. 24—27 апреля 1990 г., Кара-даг.—М., 1990.— С. 64.
4. Себелева Т. Е., Кукнадзе И. И. Цитохимический анализ мукополисахаридного состава секрета в слюнных железах личинки *Chironomus thummi* // Цитология.—1977.—19, № 2.— С. 147—153.
5. Солнцева Е. Н. Механизмы ингибирующего действия циклического аденозинмонофосфата на кальциевый ток интактных нейронов моллюска // Нейрофизиология.—1990.—22, № 1.— С. 54—61.
6. Artalejo C. R., Dahmer M. R., Perlman R. L., Fox A. P. Two types of  $\text{Ca}^{2+}$ -currents are found in bovine chromaffin cells: — facilitation of one type // J. Physiol.—1991.—432.— P. 681—707.
7. Cavalie A., McDonald T. F., Pelzer D., Trautwein W. Temperature induced transitory and steady-state changes in the calcium current of guinea-pig ventricular myocytes // Ibid.—1985.—405, N 3.— P. 294—296.
8. Charlton M. P., Augustine J. Classification of presynaptic calcium channels of the squid giant synapse: Neither T-, L- nor N-type // Brain Res.—1990.—525, N 1.— P. 133—139.
9. Foreman J. C., Garland L. G., Mongar J. L. The role of calcium in secretory processes: model studies in mast cells // Calcium in biological systems. Symposia of the society for experimental biology.—Cambridge: Univ. press, 1976.— P. 193—218.
10. Neher E., Marty A. Discrete changes of cell membrane capacitance observed under conditions of enhanced secretion in bovine adrenal chromaffin cells // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1982.—79.— P. 6712—6716.
11. Petersen O. H. Regulation von Kalium-Kanalen in Insulinsezernierenden Zellen // Arzneim.-Forsch.—1989.—39, N 1.— P. 181—185.
12. Plant T. D. Calcium current inactivation in cultured mouse pancreatic islet is calcium-dependent // J. Physiol. (Gr. Brit.).—1987.—390.— P. 86.
13. Plant T. D. Properties and calcium-dependent inactivation of calcium currents in cultured mouse pancreatic  $\beta$ -cells // J. Physiol. (Gr. Brit.).—1988.— P. 731—747.
14. Williams P. J., MacVicar B. A., Pittman Q. J. Electrophysiological properties of neuroendocrine cells of the intact rat part intermedia: multiple calcium currents // J. Neurosci.—1990.—10, N 3.— P. 748—756.

Львів. ун-т ім. І. Франка  
М-ва вищ. і серед. спец. освіти України

Матеріал надійшов  
до редакції 04.01.91

УДК 612.433.441:612.44—093.3:546.15

М. Д. Тронько, І. П. Пастер

## Двохфазний ефект тиреотропного гормону на поглинання та органіфікацію йоду- $^{131}\text{I}$ культурою клітин щитовидної залози

В опытах на первичной культуре клеток щитовидной железы новорожденных поросят проведено изучение ранних и поздних эффектов тиреотропного гормона (ТТГ) на метаболизм йода- $^{131}\text{I}$  ( $^{131}\text{I}$ ) в тиреоцитах. Показано, что ТТГ в первые 12 ч своего действия угнетает поглощение и органификацию изотопа. Отрицательное влияние ТТГ на поглощение  $^{131}\text{I}$  сохранялось как при одновременном внесении их в культуральную среду, так и с интервалом 30 мин, а также при проведении опытов в 1-е, 3-и, 5-е и 7-е сутки культивирования. Предварительная 72-часовая инкубация с ТТГ приводит к увеличению поглощения и органификации  $^{131}\text{I}$ .

© М. Д. ТРОНЬКО, І. П. ПАСТЕР, 1992

Фізіологічні регулятори, в тому числі гормони, після зв'язування з рецепторами стимулюють утворення чи вивільнення з внутрішньоклітинних пулів вторинних посередників (цАМФ, цГМФ,  $\text{Ca}^{2+}$ , інозитол-1,4,5-трифосфату, диацилглицеролу та ін.), які через активацію відповідних протеїніназ А і С каталізують фосфорилування великої кількості клітинних білків [3]. Зараз цей каскад процесів вважається одним з головних, якщо не самим головним, механізмом контролю багатьох функцій клітин [3]. Зокрема, тиреотропний гормон (ТТГ) здійснює регулюючий вплив на експресію генів, синтез тиреоглобуліну, ріст і диференціацію тиреоїдної тканини, а також поглинання та органіфікацію йоду, які становлять специфічну функцію тиреоцитів і забезпечують синтез тиреоїдних гормонів [10].

Збільшення поглинання йоду у відповідь на дію ТТГ виявляється тільки через 12—24 год латентного періоду, необхідного для синтезу носіїв або ензимів, які відіграють важливу роль в енергозалежному транспорті йоду [21], тоді як в більш ранні строки помічена підвищена швидкість виходу йоду із тиреоцитів без будь-яких змін швидкості поглинання [14]. В ізольованих клітинах та клітинних культурах, які попередньо поглинули йод, стимульований вихід виявлявся відразу ж після внесення ТТГ в середовище культивування і зберігався протягом щонайменше 15—20 хв [14]. Однак досі не вивчена можливість органіфікації йоду тиреоцитами в перші години дії ТТГ, тому що більшість робіт виконувалася на фоні блокування тиреопероксидазозалежного йодування білків 1-метил-2-меркаптоїмідазолом [14].

Певний інтерес становить порівняльне вивчення раннього ефекту ТТГ на поглинання йоду тиреоцитами як при одночасному їх внесенні в середовище культивування, так і при інтервалі 30 хв, достатньому для досягнення сталого рівня клітинної радіоактивності [14].

В той же час однією з головних проблем культивування спеціалізованих тканин, в тому числі тиреоїдної, є проблема підтримання диференціації клітин, так як їх ріст супроводжується втратою генетично детермінованих морфологічних і функціональних властивостей. Зокрема, при відсутності специфічних регуляторів морфологія тиреоцитів змінюється вже через 2 доби культивування і характеризується втратою клітинної полярності, екзо- і ендодитозних пухирців, мембран зернистої ендоплазматичної сітки, а також збільшенням кількості лізосом, псевдомієлінових структур, ліпідних включень та вільних рибосом [4]. В більшості систем культур тиреоцитів поглинання та органіфікація йоду швидко знижуються навіть в присутності ТТГ, тоді як синтез і секреція тиреоглобуліна зберігаються більш тривалий час [18].

Для вивчення цих питань нами були досліджені ранні (від 15 хв до 12 год дії) та пізні (72 год дії) ефекти ТТГ на поглинання та органіфікацію  $^{131}\text{I}$  культурою тиреоцитів новонароджених поросят, а також його вплив на поглинання ізотопу в перші 7 діб культивування, які характеризуються найвищою функціональною активністю тиреоцитів і завершенням формування в залежності від умов культивування одношарових або фолікулярних (істинних чи удаваних) структур [13].

### Методика

Досліди проведені на первинній культурі тиреоцитів новонароджених поросят. Свіжевидалені щитовидні залози очищали від жирової та сполучної тканин, після чого промивали охолодженим середовищем 199, яке містило антибіотики (100 ОД пеніциліну та 100 мкг стрептоміцину із рахунку на 1 мл середовища). Потім залози розрізали на шматочки розміром 1—2 мм<sup>3</sup> і піддавали послідовному впливу по 30 хв на водяній бані при 37 °С при постійному перемішуванні: спочатку 0,125 %-ним розчином трипсину, а потім 0,1 %-ним розчином колагенази (фірма «Merck», Німеччина). Надосадову суспензію клітин збирали у флакон

з охолодженим серед великої рогаатої худо давали дії колагеназ після чого отриману фільтровані тиреоцити вища культивування антибіотики). Життє становила при забар менш як 92 %. Кул СО<sub>2</sub> в термостаті пр залежності від задач

В першій серії ганіфікацію  $^{131}\text{I}$  тиреоцитами в 1-у доб їх внесенням в середовище культивування  $^{131}\text{I}$ , або через 30 хв інкубували протягом

В другій серії д тиреоцитами в 1-у доб їх внесенням в середовище культивування  $^{131}\text{I}$ , або через 30 хв інкубували протягом

В третій серії д тиреоцитами в 1-у нед линну інкубацію кліт і 10<sup>-1</sup> ОД/мл) в 1-у,

В четвертій серії ганіфікацію  $^{131}\text{I}$  (37 ної інкубації з ТТГ добу культивування. 0,15 моль/л розчин N

Поглинання та метричним методом «Miles Laboratories I урі із співавт. [9], ви ма «Reanal», Угорщ варіаційної статисти

### Результати та їх обго

Проведені дослідже своєї дії гальмувати (табл. 1). Це зв'яз з виходу йоду виключ тиреоцитів [14]. В ТТГ поглинанню йод

Таблиця 1. Вплив тиреоцитів на поглинання йоду (10<sup>3</sup> імпульсів·хв<sup>-1</sup>·мг бі.

| Тривалість інкубації | Контр  |
|----------------------|--------|
| 15 хв                | 54,1±  |
| 3 год                | 271,8± |
| 6 год                | 449,2± |
| 9 год                | 741,7± |
| 12 год               | 999,8± |

Примітка. Тут і в т

ISSN 0201—8489. Физиол.

ивчення раннього ефекту одночасному їх внесенні в період 30 хв, достатньому активності [14].

и культивування спеціалі- проблема підтримання ди- ується втратою генетично- нних властивостей. Зокре- в морфології тиреоцитів і характеризується втра- х пухирців, мембран зер- щенням кількості лізосом, та вільних рибосом [4].

инання та органіфікація ості ТТГ, тоді як синтез і тривалий час [18].

іджені ранні (від 15 хв Г на поглинання та орга- джених поросят, а також- іб культивування, які ха- активністю тиреоцитів і мов культивування одно- (аних) структур [13].

пол. журн. 1992. Т. 38, № 3.

з охолодженням середовищем 199, яке містило 15 % сироватки крові великої рогатої худоби та антибіотики, а залишок тканини знову піддавали дії колагенази. Вказану процедуру повторювали 2—3 рази, після чого отриману суспензію клітин промивали декілька разів. Профільтровані тиреоцити засівали в пробірки по  $10^6$  клітин в 1 мл середовища культивування (середовище 199, яке містило 1 % сироватки та антибіотики). Життєздатність диспергованих клітин перед посівом становила при забарвленні 0,1 %-ним розчином трипанового синього не менш як 92 %. Культивування провадили в атмосфері повітря з 5 %  $\text{CO}_2$  в термостаті при  $37^\circ\text{C}$ . Середовище культивування змінювали в залежності від задач експерименту або на 1-у, або на 2-у та 5-у доби.

В першій серії дослідів вивчали вплив ТТГ на поглинання та органіфікацію  $^{131}\text{I}$  тиреоцитами в 1-у добу культивування в залежності від часу дії. Для цього клітини інкубували з  $^{131}\text{I}$  (37 кБк/мл середовища) і тиреотропіном Каунаського заводу ендокринних препаратів ( $10^{-2}$  ОД/мл середовища) протягом 15 хв, 3, 6, 9 та 12 год.

В другій серії дослідів вивчали вплив ТТГ на поглинання  $^{131}\text{I}$  тиреоцитами в 1-у добу культивування в залежності від інтервалу між їх внесенням в середовище та часом наступної інкубації. Для цього в середовище культивування вносили ТТГ ( $10^{-2}$  ОД/мл) одночасно з  $^{131}\text{I}$ , або через 30 хв після внесення  $^{131}\text{I}$  (37 Бк/мл), після чого клітини інкубували протягом 15 хв, 3, 6, 9 та 12 год.

В третій серії дослідів вивчали вплив ТТГ на поглинання  $^{131}\text{I}$  тиреоцитів в 1-у неділю культивування. Для цього проводили 90-хвилинну інкубацію клітин з  $^{131}\text{I}$  (37 кБк/мл) і ТТГ ( $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-2}$  і  $10^{-1}$  ОД/мл) в 1-у, 3-ю, 5-у та 7-у доби.

В четвертій серії дослідів вивчали 90-хвилинне поглинання та органіфікацію  $^{131}\text{I}$  (37 кБк/мл) тиреоцитами після попередньої 72-годинної інкубації з ТТГ ( $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-2}$  і  $10^{-1}$  ОД/мл), який вносили в 1-у добу культивування. Як контроль та розчинник використовували 0,15 моль/л розчин NaCl.

Поглинання та органіфікацію  $^{131}\text{I}$  тиреоцитами визначали радіометричним методом [17] на гамалічильнику «Gammacord II» (фірма «Miles Laboratories Inc.», США), а кількість клітинного білку — по Лорі із спіавт. [9], використовуючи як стандарт альбумін людини (фірма «Reanal», Угорщина). Результати досліджень обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію  $t$  Ст'юдента.

## Результати та їх обговорення

Проведені дослідження свідчать про здатність ТТГ в перші 12 год своєї дії гальмувати швидкість та зменшувати рівень поглинання <sup>131</sup>I (табл. 1). Це зв'язано зі стимулюванням, в першу чергу, активного виходу йоду виключно через апікальну частину клітинної мембрани тиреоцитів [14]. В протилежність цАМФ-опосередкованому при дії ТТГ поглинанню йоду його вихід із тиреоцитів пов'язаний із швидким

Таблиця 1. Вплив тиреотропіну на поглинання та органіфікацію  $^{131}\text{I}$  ( $10^3$  імпульсів  $\cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг білка}^{-1}$ ) тиреоцитами ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )

| Тривалість інку-<br>бації | Поглинання <sup>131</sup> I |              | Органіфікація <sup>131</sup> I |             |
|---------------------------|-----------------------------|--------------|--------------------------------|-------------|
|                           | Контроль                    | Тиреотропін  | Контроль                       | Тиреотропін |
| 15 хв                     | 54,1±3,1                    | 48,0±1,6     | 10,7±2,9                       | 8,8±2,3     |
| 3 год                     | 271,8±10,2                  | 214,4±11,1*  | 69,5±3,9                       | 40,6±7,9**  |
| 6 год                     | 449,2±32,0                  | 341,0±11,6** | 108,0±9,2                      | 75,7±8,3**  |
| 9 год                     | 741,7±49,2                  | 396,7±38,3*  | 186,3±7,8                      | 98,8±14,8*  |
| 12 год                    | 999,8±65,5                  | 795,6±45,7** | 214,7±48,7                     | 217,2±10,8  |

Примітка. Тут і в табл. 2 \*  $P < 0,01$ ; \*\* $P < 0,05$  порівняно з контролем.

підвищенням внутрішньоклітинної концентрації вільного  $\text{Ca}^{2+}$  і припусає залучення до цього  $\text{Ca}^{2+}$ -фосфатиділінозитолового каскаду [5, 22]. Ці дані становлять безперечний інтерес, тому що в апікальній частині мембран вказаних клітин локалізується тиреопероксидаза, і  $\text{H}_2\text{O}$ -продукуюча ферментна система залучається до позациелюлярного йодування тирозинових залишків тиреоглобуліну, як одного з центральних етапів синтезу тиреоїдних гормонів [14]. При цьому помічене повне узгодження цих процесів у часі, тому що ТТГ в межах декількох хвилин своєї дії прискорює вихід йоду [14], екзоцитоз тиреоглобуліну в просвіт фолікула [1], підвищує активність тиреопероксидази [16] і  $\text{H}_2\text{O}_2$ -продукуючої системи [1].

Аналогічна динаміка характерна і для органіфікованої фракції  $^{131}\text{I}$ , яка становила приблизно 20–25 % всього внутрішньоклітинного пулу (див. табл. 1). Крім пригнічення швидкості та зменшення рівня органіфікації  $^{131}\text{I}$  ТТГ здатен також прискорювати темп вивільнення ізотопу з органіфікованої фракції культивованих тиреоцитів [2]. Незважаючи на те, що основним місцем йодування тиреоглобуліну є периферійна зона фолікулярної порожнини, показана можливість внутрішньоклітинного зв'язування йоду з деякою часткою тиреоглобуліну і з деякими іншими білками, які можуть грати певну роль в транспорті йоду, регуляції йодування і, навіть, клітинному рості [15].

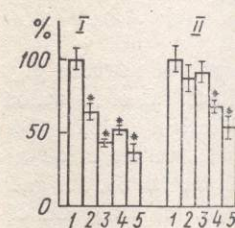
Що стосується поглинання йоду тиреоцитами, то воно зв'язано з надходженням в клітину натрію і залежить від натрієвого градієнту, який контролюється локалізованою в базолатеральній частині клітинної мембрани  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазою [8]. ТТГ-залежне поглинання йоду опосередковується цАМФ з наступною експресією мРНК і синтезом білків *de novo* [11]. Показано, що ТТГ стимулює поглинання  $^{125}\text{I}$  через 12–24 год латентного періоду, тоді як оубаїнчутливе поглинання  $^{86}\text{Rb}$ , яке відображає дійсну активність  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази, — тільки через 24–27 год [6]. Очевидно, ТТГ стимулює спочатку активність ряду інших натрієвих насосів (зокрема,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{H}^+$ -переносника), які змінюють трансмембранний натрієвий градієнт і транспорт йоду з наступним компенсаторним підвищенням активності  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази. Остання відіграє вирішальну роль в підтриманні поглинання йоду [6]. В той же час можливе більш раннє (вже через 10 хв інкубації) зниження активності тиреоїдної  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази при інкубації з  $\text{H}_2\text{O}_2$ , котрий до того ж здатен підвищувати концентрацію вільного цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  і, як наслідок, стимулювати вихід йоду з клітин [20].

Негативний вплив ТТГ в перші години дії на поглинання  $^{131}\text{I}$  тиреоцитами мав місце як при одночасному внесенні їх в середовище культивування, так і через інтервал 30 хв (табл. 2). Цілком природним є більш високе поглинання в пробах з попереднім внесенням  $^{131}\text{I}$ . В той же час, використана нами культура тиреоцитів при інкубації з  $^{131}\text{I}$  не досягала усталеного рівня клітинної радіоактивності, що можна пояснити або природньою гетерогенністю тиреоцитів [19], або їх різною функціональною активністю в залежності від умов культивування і застосованих клітинних систем [7, 13].

Таблиця 2. Вплив тиреотропіну на поглинання  $^{131}\text{I}$  ( $10^3$  імпульсів  $\cdot$  хв $^{-1}$   $\cdot$  мг білка $^{-1}$ ) тиреоцитами в залежності від інтервалу між їх внесенням в середовище культивування ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )

| Тривалість інкубації | Інтервал між внесенням $^{131}\text{I}$ та тиреотропіну |                     |                    |                   |
|----------------------|---------------------------------------------------------|---------------------|--------------------|-------------------|
|                      | 0 хв                                                    |                     | 30 хв              |                   |
|                      | Контроль                                                | Тиреотропін         | Контроль           | Тиреотропін       |
| 15 хв                | 183,7 $\pm$ 16,6                                        | 243,5 $\pm$ 26,0    | 97,3 $\pm$ 5,2     | 91,6 $\pm$ 5,0    |
| 3 год                | 717,4 $\pm$ 124,3                                       | 655,2 $\pm$ 78,9    | 386,9 $\pm$ 15,9   | 395,3 $\pm$ 38,4  |
| 6 год                | 1519,6 $\pm$ 104,2                                      | 1210,2 $\pm$ 61,6** | 1509,2 $\pm$ 147,6 | 800,8 $\pm$ 16,2* |
| 9 год                | 2235,4 $\pm$ 130,4                                      | 1509,8 $\pm$ 160,3* | 1424,0 $\pm$ 115,7 | 783,2 $\pm$ 53,1* |
| 12 год               | 1814,4 $\pm$ 67,5                                       | 1297,4 $\pm$ 79,1*  | 1122,7 $\pm$ 17,0  | 777,9 $\pm$ 27,7* |

Проведені дослідження активно поглинати  $^{131}\text{I}$ . Спільна 90-хвилинна ослаблення поглинання цього більш виразних лідних пробах становить ТТГ. Ці результати



Мал. 1. Вплив тиреотропіну на поглинання йоду тиреоцитами в 5-у (I) та 7-у (II) доби культивування. Значення виражені в % до контролю (0 ОД/мл), при цьому 100% — це контроль.

Мал. 2. Вплив попереднього введення тиреоцитів на поглинання йоду тиреоцитами. По вертикалі — значення виражені в % до контролю (0 ОД/мл), при цьому 100% — це контроль.

здатності поглинати нових функціональних молекул реагувати на

Отримані результати від умов культивування тиреоцитів в середовищі з прикріплення клітин до субстрату утворювати два типи полярності (вільною) полярністю, коли апікальна частина клітини культивується на субстраті. Якщо ж тиреоцити прикріплюються та культуються на якому апікальна поверхня клітини. До того ж в цих тиреоцитах внутрішньоклітинний порожнинний тиреоглобулін, але не тиреоцити. Вказані варіанти стримування і визначають здатність тиреоцитів а також синтезувати гормони на дію ТТГ [7, 13].

Попередня 72-годинна активація всіх ланок синтезу тиреоїдних гормонів та органіфікації йоду в зв'язаній фракції тиреоцитів та  $10^{-3}$  ОД/мл середовища дає більш виразну дію на вихід  $^{125}\text{I}$  [14], вміст тироніну та тироксину.

Таким чином, результати дослідження, що ТТГ в перші 12 годин культивування тиреоцитів

рації вільного  $\text{Ca}^{2+}$  і притидилінозитолового каскаду, тому що в апікальній частині тиреопероксидази, і належить до позацелюлярного цитосолу, як одного з центральних елементів [14]. При цьому помічене, що ТТГ в межах декількох годин [14], екзоцитоз тиреоглобуліну та активність тиреопероксидази

в організованій фракції цитосолу внутрішньоклітинного простору та зменшення рівня експресії темп вивільнення організованих тиреоцитів [2]. Недостатність тиреоглобуліну є показником можливості внутрішньоклітинної частково тиреоглобуліну виконувати певну роль в транспорті йоду до клітин [15].

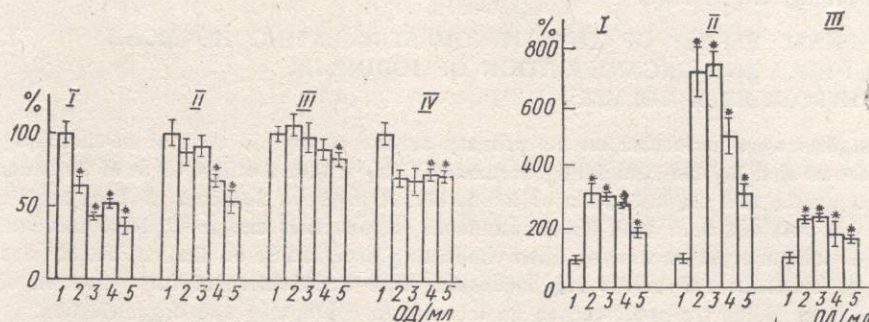
Тиреоцити, то воно зв'язано з впливом від натрієвого градієнту, апікальній частині клітин незалежне поглинання йоду за допомогою мРНК і синтезом тиреоцитів. Імунопоглинання  $^{125}\text{I}$  чутливе поглинання  $\text{K}^+$ -АТФази, — тільки через початку активності ряду інтегральних білків, які змінюють транспорт йоду з наступним використанням  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази. Остання активність йоду [6]. В той же час інкубації) зниження активності з  $\text{H}_2\text{O}_2$ , котрий до того ж збільшує цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  і, в результаті [20].

Вплив на поглинання  $^{131}\text{I}$  тиреоцитів їх в середовищі культури (мал. 2). Цілком природним є введення  $^{131}\text{I}$ . В той же час при інкубації з  $^{131}\text{I}$  неможливо, що можна пояснити тиреоцитів [19], або їх різною активністю в умовах культивування і за-

( $10^3$  імпульсів  $\cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг білка}^{-1}$ ) в середовищі культивування

| ТТГ та тиреотропін |             |
|--------------------|-------------|
| 30 хв              |             |
| Контроль           | Тиреотропін |
| 97,3±5,2           | 91,6±5,0    |
| 386,9±15,9         | 395,3±38,4  |
| 509,2±147,6        | 800,8±16,2* |
| 424,0±115,7        | 783,2±53,1* |
| 122,7±17,0         | 777,9±27,7* |

Проведені дослідження показали, що тиреоцити зберігають здатність активно поглинати  $^{131}\text{I}$  протягом перших 7 діб культивування (мал. 1). Спільна 90-хвилинна інкубація з різними дозами ТТГ призводила до ослаблення поглинання  $^{131}\text{I}$  незалежно від строків культивування. При цьому більш виразний ефект помічено в 1-у добу, коли вміст  $^{131}\text{I}$  в дослідних пробах становив 37,1—65,4 % контролю в залежності від дози ТТГ. Ці результати свідчать про збереження культуурою тиреоцитів



Мал. 1. Вплив тиреотропіну на поглинання  $^{131}\text{I}$  тиреоцитами в 1-у (I), 3-ю (II), 5-у (III) та 7-у (IV) доби культивування. По вертикалі — поглинання  $^{131}\text{I}$ , %; по горизонталі — дози тиреотропіну: 0 (I),  $10^{-4}$  (2),  $10^{-3}$  (3),  $10^{-2}$  (4) і  $10^{-1}$  (5) ОД/мл середовища культивування. Зірочкою помічена достовірна ( $P < 0,05$ ) різниця порівняно з контролем (0 ОД/мл), прийнятим у кожному строці за 100 %.

Мал. 2. Вплив попередньої 72-годинної інкубації з тиреотропіном на поглинання (I), органіфікацію (II) та відносну (%) органіфікацію (III)  $^{131}\text{I}$  культуурою тиреоцитів. По вертикалі — метаболізм  $^{131}\text{I}$ , %; інші позначення ті ж, що на мал. 1.

здатності поглинати йод протягом даного відрізка часу, як однієї з основних функціональних особливостей тиреоїдної тканини, та односпрямовано реагувати на дію ТТГ.

Отримані результати мають важливе значення, тому що в залежності від умов культивування (наявності сироватки, ТТГ та інших стимуляторів росту в середовищі культивування, а також можливості для прикріплення клітин до матриксу) свіжоізолювані тиреоцити можуть утворювати два типи фолікулів [7, 13]. Один — зі збереженою (правильною) полярністю тиреоцитів, котра за морфологічними ознаками більше всього притамана нормальній тканині, інший — з інвертованою полярністю, коли апікальна поверхня тиреоцитів повернена до середовища культивування, а базальна — в порожнину, оточену шаром клітин. Якщо ж тиреоцити культивувати на субстраті, який дозволяє їм прикріплюватися та мігрувати, вони утворюють суцільний моношар, в якому апікальна поверхня клітин також повернена до середовища [13]. До того ж в цих тиреоцитах можуть іноді утворюватися справжні внутрішньоклітинні порожнини, які оточені мікроворсинками і містять тиреоглобулін, але не сполучаються з позаклітинним простором [23]. Вказані варіанти структур формуються протягом 2—5 діб культивування і визначають здатність тиреоцитів поглинати та органіфікувати йод, а також синтезувати тиреоглобулін і утворювати цАМФ у відповідь на дію ТТГ [7, 13].

Попередня 72-годинна інкубація тиреоцитів з ТТГ, достатня для активації всіх ланок транспорту йоду, призводила до підсилення поглинання та органіфікації  $^{131}\text{I}$ , а також підвищення частки його протеїнв'язаної фракції з максимальним ефектом при дозах гормону  $10^{-4}$  та  $10^{-3}$  ОД/мл середовища (мал. 2). В цих же межах ТТГ чинить найбільш виразну дію на кінетику базального поглинання та апікального виходу  $^{125}\text{I}$  [14], вміст цАМФ, концентрацію тиреоглобуліну, трийодтироніну та тироксину [12].

Таким чином, результати проведених нами досліджень показали, що ТТГ в перші 12 год своєї дії гальмує швидкість та зменшує рівень поглинання та органіфікації  $^{131}\text{I}$  культуурою тиреоцитів новонароджених

поросят. Ця динаміка поглинання ізотопу зберігається при одночасному внесенні їх в середовище культивування і при інтервалі 30 хв. Направленість цього ефекту ТТГ на поглинання  $^{131}\text{I}$  зберігається протягом 7 діб культивування тиреоцитів. Попередня 72-годинна інкубація тиреоцитів з ТТГ стимулює поглинання та органіфікацію  $^{131}\text{I}$ .

N. D. Tronko, I. P. Pasteur

# TWO-PHASE EFFECT OF THE THYROID-STIMULATING HORMONE ON UPTAKE AND ORGANIFICATION OF IODINE-131 BY THYROID CELL CULTURE

The studies were performed on the primary culture of thyroid cells of newborn pigs. It was shown that thyroid-stimulating hormone (TSH) within the first 12 th of its action inhibited uptake and organification of iodine-131. A negative influence of TSH on  $^{131}\text{I}$  uptake was retained both with its simultaneous introduction into the culture medium and with 30 min interval as well as when conducting experiments on the 1st, 3d, 5th and 7th days of cultivation. Previous 72h incubation with TSH sufficient for activation of all the links of iodine transport caused an increase in  $^{131}\text{I}$  uptake and organification.

Research Institute of Endocrinology and Metabolism,  
Ministry of Public Health of Ukraine, Kiev

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Björkman U., Ekholm R. Accelerated exocytosis and  $\text{H}_2\text{O}_2$  generation in isolated thyroid follicles enhance protein iodination // *Endocrinology*.—1988.—122, N 2.—P. 488—494.
2. Bourke J. R., Murdoch S., Manley S. W. et al. Epidermal growth factor (EGF) inhibits the secretomotor response of the thyroid: effects of EGF on radioiodine turnover and fluid transport in cultured porcine thyroid cells // *J. Endocrinol.*—1991.—128, N 2.—P. 213—218.
3. Breton M. F., Hays B., Omri B. et al. Decrease in cAMP-dependent protein kinase activity in suspension cultures of porcine thyroid cells exposed to TSH or forskolin // *Mol. Cell. Endocrinol.*—1988.—55, N 2—3.—P. 243—251.
4. Breton M. F., Hays B., Dene J. F., Pavlovic-Hournac M. Changes in cAMP-dependent and  $\text{Ca}^{2+}$ -phospholipid-dependent protein kinase activities in suspension cultures of porcine thyroid cells // *Ibid.*—1990.—71, N 3.—P. 217—227.
5. Corvilain B., Gerard C., Raspe E. et al. Hormonal regulation of iodination // International symposium on thyroperoxidase and thyroid autoimmunity / Ed. Carayon P., Ruf J.—Paris: John Libbey Eurotext, 1990.—P. 33—41.
6. Fowler K. L., Collins P., Brown C. G., Atterwill C. K. Studies on the thyroid stimulating hormone-activated  $\text{Na}^+\text{K}^+$ -ATPase and iodide transporter in cultured rat thyroid cells and the effects of drugs // *Toxic. in Vitro.*—1990.—4, N 1.—P. 31—36.
7. Fujita H. Functional morphology of the thyroid // *Int. Rev. Cytology*.—1988.—113.—P. 145—185.
8. Gerard C., Gabrion J., Verrier B. et al. Localisation of the  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase and of an amiloride sensitive  $\text{Na}^+$  uptake on thyroid epithelial cells // *Eur. J. Cell Biol.*—1985.—38, N 1.—P. 134—141.
9. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randal R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.*—1951.—193, N 1.—P. 265—275.
10. Magner J. A. Thyroid-stimulating hormone: biosynthesis, cell biology, and bioactivity // *Endocrine Rev.*—1990.—11, N 2.—P. 354—385.
11. Marocchi C., Cohen J. L., Grollman E. F. Effect of actinomycin D on iodide transport in FRTL-5 thyroid cells // *Endocrinology*.—1984.—115, N 6.—P. 2123—2132.
12. Massart C., Hody B., Conde D. et al. Functional properties of human thyroid follicles cultured within collagen gel // *Mol. Cell. Endocrinol.*—1988.—56, N 3.—P. 227—234.
13. Mauchamp J., Chambard M., Gabrion J., Verrier B. Polarized multicellular structures designed for the in vitro study of thyroid cell function and polarization // *Methods Enzymol.*—1983.—98.—P. 477—486.
14. Nilsson M., Björkman U., Ekholm R., Ericson L. E. Iodide transport in primary cultured thyroid follicle cells: evidence of a TSH-regulated channel mediating iodide efflux selectively across the apical domain of the plasma membrane // *Eur. J. Cell Biol.*—1990.—52, N 2.—P. 270—281.
15. Ossendorp F. A., Leer L. M., Bruning P. F. et al. Iodination of newly synthesized thyroglobulin by FRTL-5 cells is selective and thyrotropin dependent // *Mol. Cell. Endocrinol.*—1989.—66, N 2.—P. 199—205.
16. Perrild H., Loveridge N., Reader S. C. J., Robertson W. R. Acute stimulation of thyroidal  $\text{NAD}^+$  kinase, NADPH reoxidation, and peroxidase activities by physiological

- concentration  
mical study /
17. Rani C. S. S. Nephrine, and cultured cells
18. Spinel-Gomez and function Cell. Endocrinol.
19. Studer H., P understanding 10, N 2.—P.
20. Sugawara M. influx and endocrinol.—1990
21. Weiss S. J. J. lated iodide protein synth
22. Weiss S. J. J. FRTL-5 cells
23. Yamashita K. tion in porci Cytol.—1989.

Наук.-дослід. ін  
та обміну речов  
М-ва охорони зд

УДК 613.163

А. Г. Карташев

## Біологічне діяння п на розвива

За методом  
50 гістоморф  
умовах дії з  
розвитку. На  
ловлено при  
цію та дифер

## Введение

В предыдущ  
различных ф  
переменного  
ного онтоген  
механизм би  
развития жи

## Методика

Опыты пров  
контролируе  
вало постоян  
ные переход  
ставляли на  
контрольной  
вали по 50 н

© А. Г. КАРТАШЕВ

ISSN 0201—8489

ігається при одночасно-  
ри інтервалі 30 хв. На-  
І зберігається протягом  
годинна інкубація тире-  
стацію  $^{131}\text{I}$ .

## NG HORMONE

roid cells of newborn pigs. It  
the first 12 th of its action in-  
influence of TSH on  $^{131}\text{I}$  up-  
into the culture medium and  
ts on the 1st, 3d, 5th and 7th  
ufficient for activation of all  
ke and organification.

generation in isolated thy-  
nology.—1988.—122, N 2,—

al growth factor (EGF) inhi-  
of EGF on radioiodine tur-  
ells // J. Endocrinol.—1991.—

-dependent protein kinase ac-  
posed to TSH or forskolin //

Changes in cAMP-dependent  
es in suspension cultures of  
27.

ulation of iodination // Inter-  
community / Ed. Carayon P.,

udies on the thyroid stimula-  
porter in cultured rat thyroid  
4, N 1.—P. 31—36.

Rev. Cytology.—1988.—113.—

the  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase and of  
cells // Eur. J. Cell Biol.—

Protein measurement with the  
—P. 265—275.

, cell biology, and bioactivi-

omycin D on iodide transport  
N 6.—P. 2123—2132.

ities of human thyroid follic-  
—1988.—56, N 3.—P. 227—

ized multicellular structures  
and polarization // Methods

de transport in primary cul-  
ed channel mediating iodide  
na membrane // Eur. J. Cell.

tion of newly synthesized thy-  
dependent // Mol. Cell. Endo-

R. Acute stimulation of thy-  
e activities by physiological

л. журн. 1992. Т. 38, № 3

- concentrations of thyroid stimulating hormone acting in vitro: a quantitative cytoche-  
mical study // Endocrinology.—1988.—123, N 5.—P. 2499—2505.
17. Rani C. S. S., Field J. B. Comparison of effects of thyrotropin, phorbol esters, norepi-  
nephrine, and carbachol on iodide organification in dog thyroid slices, follicles, and  
cultured cells // Ibid.—122, N 5.—P. 1915—1922.
  18. Spinel-Gomez C., Colin I., Van den Hove M.-F., Denej J.-F. Correlated morphological  
and functional study of isolated rat thyroid follicles in suspension culture // Mol.  
Cell. Endocrinol.—1990.—71, N 2.—P. 141—153.
  19. Studer H., Peter H. J., Gerber H. Natural heterogeneity of thyroid cells: the basic for  
understanding thyroid function and nodular goiter growth // Endocrine Rev.—1989.—  
10, N 2.—P. 125—135.
  20. Sugawara M., Yamaguchi D. T., Lee H. Y. et al. Hydrogen peroxide inhibits iodide  
influx and enhances iodide efflux in cultured FRTL-5 rat thyroid cells // Acta endo-  
crinol.—1990.—122, N 5.—P. 610—616.
  21. Weiss S. J., Philp N. J., Ambesi-Impiombato F. S., Grollman E. F. Thyrotropin-stimu-  
lated iodide transport mediated by adenosine 3', 5'-monophosphate and dependent on  
protein synthesis // Endocrinology.—1984.—114, N 4.—P. 1099—1107.
  22. Weiss S. J., Philp N. J., Grollman E. F. Effect of thyrotropin on iodide efflux in  
FRTL-5 cells mediated by  $\text{Ca}^{2+}$  // Ibid.—P. 1108—1113.
  23. Yamashita K., Fujita H., Kitajima K., Nishii Y. Inter- and intracellular luminal forma-  
tion in porcine thyroid tissues cultured in a collagen substrate // Arch. Histol. and  
Cytol.—1989.—52, N 2.—P. 109—114.

Наук.-дослід. ін-т ендокринології  
та обміну речовин  
М-ва охорони здоров'я України, Київ

Матеріал надійшов  
до редакції 02.01.91

УДК 613.163

А. Г. Карташев

## Биологический механизм хронического действия переменного электрического поля на развивающийся организм мышей

За методом головних компонент був проведений кількісний аналіз 50 гістоморфологічних показників фізіологічного стану самців мишей в умовах дії змінного електричного поля у динаміці їх постнатального розвитку. На основі теоретичного аналізу одержаних результатів висловлено припущення, що змінне електричне поле порушує проліферацію та диференціацію при хронічній його дії на організм мишей.

### Введение

В предыдущих публикациях нами были изучены ответные реакции различных физиологических систем мышей на хроническое действие переменного электрического поля (ПеЭП) в динамике их постнатального онтогенеза [3, 4]. В данной работе рассмотрен гипотетический механизм биологического действия ПеЭП в динамике постнатального развития животных.

### Методика

Опыты проводили на беспородных мышках-самцах, содержащихся в контролируемых условиях вивария. ПеЭП (50 Гц, 40 кВ/м) действовало постоянно, начиная с 15 сут абсолютного возраста, когда животные переходят на самостоятельное питание. Взятие материала осуществляли на 20, 25, 35, 55, 95, 175, 335 и 445-е сутки у 10—15 особей контрольной и опытной групп. Физиологическое состояние анализировали по 50 количественно оцениваемым гистоморфологическим показа-

© А. Г. КАРТАШЕВ, 1992