

3. Дьяконова И. Н., Тихомиров А. М., Фитенко Л. Н. Корковые вызванные потенциалы на электрическое раздражение слухового нерва у животных с поврежденной улиткой // Физиол. журн.— 1989.— 35, № 3.— С. 8—11.
4. Эрдей-Груз Т. Явления переноса в водных растворах.— М.: Мир, 1976.— С. 378—379.
5. А. С. 1050703 СССР А 61 11/04. Слуховой аппарат / В. И. Коновалов, А. М. Тихомиров, Л. Н. Фитенко. Опубл. 30.10.83. Бюл. № 40, С. 23.
6. Walsh S. M., Leake Yones P. A. Chronic electrical stimulation of auditory nerve in cats. Physiological and histophysiological results // Hearing Res.— 1982.— 7.— P. 281—304.

Росс. Гос. мед. ун-т,
М-ва здравоохранения Российской Федерации

Материал поступил
в редакцию 15.10.91

УДК 612.444.018.1:612.398.12:546.15

М. Д. Тронько, И. П. Пастер, И. М. Шостак

Деякі механізми негативного впливу сироватки крові на поглинання йоду-131 культурою тиреоцитів

В опытах на первичной культуре клеток щитовидной железы новорожденных поросят проведено изучение влияния эмбриональной (телячьей) и обычной (крупного рогатого скота) сывороток крови на базальное и стимулированное тиреотропным гормоном (ТТГ) поглощение йода-131 тиреоцитами. Показано, что значения этого показателя обратно пропорциональны значениям относительного (%) содержания сыворотки крови в среде культивирования. При одинаковой концентрации обычная сыворотка крови оказывает более выраженный эффект, чем эмбриональная. Инкубация тиреоцитов в среде, содержащей 1 % сыворотки крови и 0,1—10,0 мЕ/мл ТТГ стимулирует поглощение йода-131 клетками, тогда как 15 %-ная концентрация сыворотки крови блокирует влияние этого гормона. Ингибирующий эффект на выраженность базального и ТТГ-стимулированного поглощения йода оказывают также оуабаин (0,1 ммоль/л) и циклогексамид (10 мкг/мл). Предполагается, что в сыворотке крови содержатся биологически активные вещества, угнетающие трансмембранный перенос йодидов в тиреоциты. Этот процесс контролируется Na^+ , K^+ -АТФазой, а его ТТГ-стимуляция опосредуется синтезом белков de novo.

Вступ

Поглинання йоду — одна з основних специфічних функцій тканини щитовидної залози, яка забезпечує адекватний синтез тиреоїдних гормонів [6]. Головним біологічним стимулятором цього процесу в цілісному організмі є тиреотропний гормон (ТТГ), який також здійснює регулюючий вплив на експресію генів, синтез тиреоглобуліну, ріст та диференціацію тиреоїдної тканини [6, 11].

В той же час не менш різноманітний вплив на функціональний стан щитовидної залози, в тому числі і на поглинання йоду, чинять біологічно активні речовини сироватки крові [2]. Зокрема, специфічні імуноглобуліни сироватки крові хворих з аутоімунною тиреоїдною патологією можуть як стимулювати (при хворобі Грейвса) [14], так і пригнічувати (при тиреоїдиті Хашимото) [8] поглинання ізотопів йоду тканиною щитовидної залози.

В ряді робіт показано, що і нормальна сироватка крові здатна впливати на поглинання йоду тиреоцитами [10, 15]. Це відкриття ста-

ло можливим завдяки застосуванню в дослідженнях як тест-системи культури клітин щитовидної залози, що дозволяє використовувати інтактну тканину, виключати регулюючий вплив ряду фізіологічних факторів цілісного організму та спрямовано змінювати склад середовища культивування.

Мета нашої роботи полягала у вивченні впливу сироватки крові (ембріональної та звичайної) на базальне та ТТГ-стимульоване поглинання йоду-131 первинною культурою клітин щитовидної залози новонароджених поросят.

Методика

Досліди проведені на первинній культурі тиреоцитів новонароджених поросят, метод отримання якої описаний нами раніше [1]. В першій серії дослідів вивчали вплив ембріональної сироватки крові на базальне та ТТГ-стимульоване поглинання йоду-131 тиреоцитами. Для цього клітини інкубували протягом 72 год в середовищі 199, яке містило ембріональну сироватку крові теляти (фірма «Sigma», США; 1; 5; 10 і 15 % від об'єму середовища) та ТТГ (Каунаський завод ендокринних препаратів, Литва; 0,1; 1,0 і 10,0 мОд/мл). В другій серії дослідів вивчали вплив звичайної сироватки крові на ті ж самі показники поглинання йоду-131 тиреоцитами. Для цього клітини інкубували протягом 72 год в середовищі 199, яке містило звичайну сироватку крові (сироватку крові великої рогатої худоби Київського заводу медпрепаратів, Україна; 1; 5; 10 і 15 %) та ТТГ (0,1; 1,0 і 10,0 мОд/мл). В третій серії дослідів вивчали вплив оуабаїну на базальне та ТТГ-стимульоване поглинання йоду-131 тиреоцитами. Для цього клітини інкубували в середовищі з ТТГ (1,0 мОд/мл), або без нього протягом 48 год, а потім — в середовищі з оуабаїном (фірма «Sigma», США; 0,1 ммоль/л) або без нього протягом 30 хв. В четвертій серії дослідів вивчали вплив циклогексамиду на ті ж самі показники поглинання йоду-131 тиреоцитами. Для цього клітини інкубували протягом 48 год в середовищах з різними сполученнями ТТГ (1,0 мОд/мл) і циклогексамиду (фірма «Sigma», США; 10 мкг/мл).

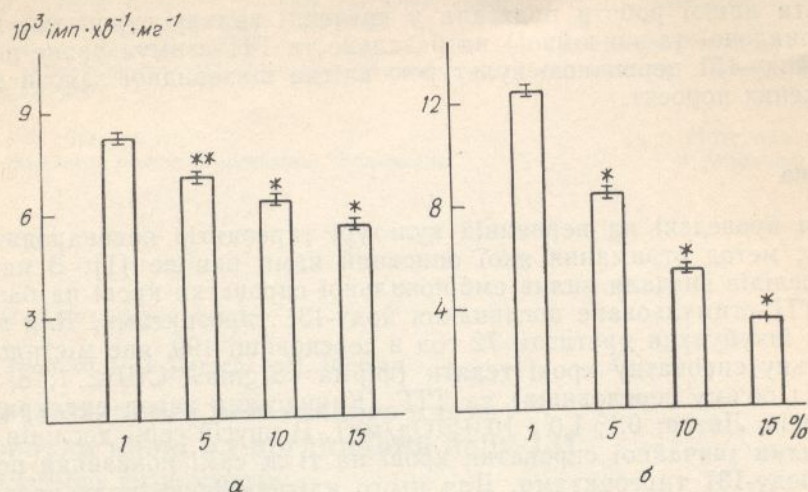
Через 90 хв після додаткового внесення в середовище культивування йоду-131 (37 кБк/мл) визначали поглинання ізотопу тиреоцитами радіометричним методом [9] на гамалічильнику «Gammacord II» (фірма «Miles Laboratories Inc.», США), а кількість клітинного білка — за методом Lowry із співавт. [5], використовуючи як стандарт альбумін людини (фірма «Reanal», Угорщина). Результати досліджень обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію *t* Стюдента.

Результати та їх обговорення

Проведені дослідження показали, що значення базального поглинання йоду-131 первинною культурою клітин щитовидної залози новонароджених поросят обернено пропорційні значенням відносного (%) вмісту ембріональної і звичайної сироваток крові в середовищі культивування (мал. 1). При однаковій концентрації звичайна сироватка крові чинить більш виразний негативний вплив на цей показник, ніж ембріональна. При цьому відносно пригнічення поглинання ізотопу складає від 29,79 до 70,27 та від 11,10 до 36,39 % відповідно.

Інкубація тиреоцитів в середовищі 199, яке містить 1 % ембріональної сироватки крові та різні дози ТТГ, призводить до достовірного зростання поглинання йоду-131 клітинами, тоді як 15 %-ва концентрація цієї сироватки крові блокує ефект гормону (таблиця). При цьому важливо відзначити, що підвищення концентрації ембріональної сироватки крові чинить більш виразну дію на ТТГ-стимульоване поглинання ізотопу, ніж на базальне.

Подібний результат поглинання йоду-131 клітинами щитовидної залози характерний і для звичайної сироватки крові, однак стимулюючий вплив ТТГ при її 1 %-вій концентрації на поглинання ізотопу менш виразний, ніж в експерименті з ембріональною сироваткою крові. В цьо-



Мал. 1. Вплив ембріональної (а) та звичайної (б) сироваток крові на поглинання йоду-131 культурою тиреоцитів. За вертикаллю — поглинання йоду-131, $10^3 \text{ імп} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг} \text{ білка}^{-1}$; за горизонталлю — концентрація сироватки крові у середовищі культивування, %. Зірочками позначена вірогідна (* $P < 0,001$ і ** $P < 0,01$) різниця порівняно з 1 %-вою концентрацією сироватки крові.

му випадку відносно зменшення базального та ТТГ-стимульованого поглинання йоду-131 культурою клітин щитовидної залози при зростанні концентрації ембріональної та звичайної сироваток крові в середовищі культивування від 1 до 15 % складало:

Ембріональна сироватка крові	
Базальне поглинання	36,39 %
ТТГ-стимульоване поглинання:	
0,1 мОд/мл	90,13 %
1,0 мОд/мл	86,37 %
10,0 мОд/мл	73,88 %
Звичайна сироватка крові	
Базальне поглинання	70,27 %
ТТГ-стимульоване поглинання:	
0,1 мОд/мл	84,55 %
1,0 мОд/мл	87,66 %
10,0 мОд/мл	85,80 %

Поглинання йоду-131 культурою клітин, щитовидної залози новонароджених поросят

Концентрація сироватки крові в середовищі культивування	Поглинання		
	базальне, імп·хв ⁻¹ ·мг ⁻¹	стимульоване різними дозами	
		0,1 мОд/мл	
		Абсолютне значення, імп·хв ⁻¹ ·мг ⁻¹	Відносне значення, %
Ембріональна			
1 %-ва	8628±113	44430±3330*	514,95
15 %-ва	5488±175	4387±58*	79,94
Звичайна			
1 %-ва	12479±180	30250±1560*	242,41
15 %-ва	3710±89	4674±178*	125,98

Примітки: Відносні значення базального поглинання прийняті за 100 %; * $P < 0,001$.

Різниц
ватки кров
ване погли
нальною с
зумовлені
центрація
більш висс

Цікави
ли вплив
тів FRTL5
нання йод
кількість
концентра
0 до 5 %,
вмісту сир
вій концен
то вказан
вування п
і позитивн
Додатков
(10 мкг/м
20 і 50 н
стимулюв
процес, а
ня йоду-1
гресуючи
вування, «
висновок,
ефекти ін
джуються
ня стиму
гається і
ми цих ін

Пока
не та ТТ
ми ново
Врахову
Na+K+-А
ченні тра
зована в
контролі
необхідн

в залежності від
йоду-131

тиреотропного го

Абсолютне значення
 $\text{імп} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$

сироватка крові
39190±303
5343±16

сироватка крові
28480±25
3515±14

Різниця у дії відносного зростання концентрації звичайної сироватки крові у середовищі культивування на базальне та ТТГ-стимульоване поглинання йоду-131 менш виразна, ніж в експерименті з ембріональною сироваткою крові. Представлені нами результати можуть бути зумовлені досі ще невідомими біологічно активними речовинами, концентрація яких (а отже, і їх вплив на поглинання ізотопу), можливо, більш висока у сироватці крові статевозрілих тварин.

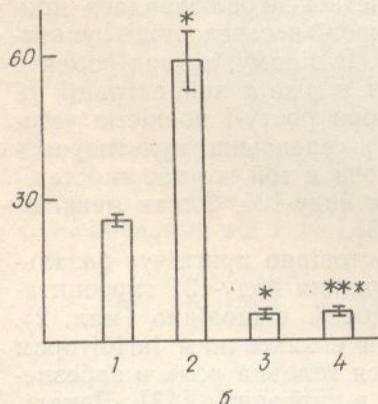
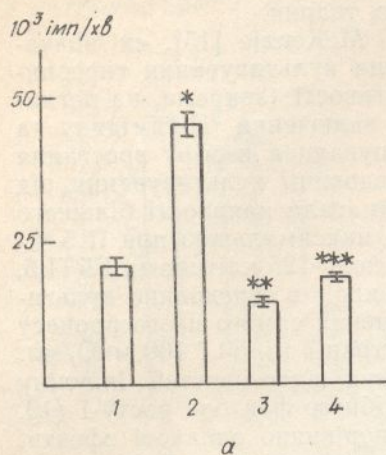
Цікаві дані наведені в роботі Zakarija i McKenzie [15], які вивчали вплив різноманітних факторів середовища культивування тиреоцитів FRTL5 на їх ріст та функціональні властивості (зокрема, на поглинання йоду-125). Показано, що базальне включення ^3H -тимідину та кількість ДНК в пробі прогресуючи збільшувалися в міру зростання концентрації сироватки крові теляти в середовищі культивування від 0 до 5 %, а ТТГ-стимуляція росту клітин вимагала наявності більшого вмісту сироватки крові в середовищі і була максимальною при її 5 %-вій концентрації. Що стосується поглинання йоду-125 клітинами FRTL5, то вказаний приріст концентрації сироватки крові в середовищі культивування призводив до прогресуючого пригнічення самого цього процесу і позитивного впливу на нього ТТГ в концентрації 10, 50 і 100 мкО/мл. Додаткове вивчення аналогічних біологічних властивостей інсуліну (10 мкг/мл) та рекомбінантного інсуліноподібного фактора росту-1 (10, 20 і 50 нг/мл) показало, що вони, чинячи порівняно однакові ефекти, стимулювали ріст тиреоцитів FRTL5 і підсилювали вплив ТТГ на цей процес, а також пригнічували базальне та ТТГ-стимульоване поглинання йоду-125 тиреоцитами. Однак їх активність нейтралізувалася прогресуючим підвищенням вмісту сироватки крові в середовищі культивування, особливо її 5 %-вою концентрацією. В цілому, автори роблять висновок, що вплив сироватки крові теляти в різній концентрації та ефекти інсуліну або інсуліноподібного фактора росту-1 повністю узгоджуються між собою: підвищення їх вмісту в середовищі культивування стимулює ріст культури клітин FRTL5, хоча в той же час спостерігається і пригнічення дії ТТГ на поглинання йоду-125. Однак механізми цих процесів залишаються невідомими [15].

Показано, що оуабаїн (0,1 ммоль/л) достовірно пригнічує базальне та ТТГ (0,1 мОд/мл)-стимульоване поглинання йоду-131 тиреоцитами новонароджених поросят на 82,01 і 92,08 % відповідно (мал. 2). Враховуючи, що серцевий глікозид оуабаїн є класичним інгібітором Na^+K^+ -АТФази, цьому ферментові відводиться головна роль в забезпеченні трансмембранного транспорту йодидів в тиреоцити [13]. Локалізована в базолатеральній частині клітинної мембрани Na^+K^+ -АТФаза контролює натрієвий градієнт і надходження в тиреоцити натрію, що необхідно для цього транспорту [4].

в залежності від концентрації сироватки крові в середовищі культивування ($M \pm m$, $n=5$)

йоду-131			
тиреотропного гормону			
1,0 мОд/мл		10,0 мОд/мл	
Абсолютне значення, Імп·хв ⁻¹ ·мг ⁻¹	Відносне значення, %	Абсолютне значення, Імп·хв ⁻¹ ·мг ⁻¹	Відносне значення, %
сироватка крові			
39190±3050*	454,22	23090±2310*	267,62
5343±160	97,36	6030±200	109,88
сироватка крові			
28480±2520*	228,22	36560±1700*	292,97
3515±145	94,74	5190±290*	139,89

В той же час відомо, що зростання поглинання йоду у відповідь на дію ТТГ виявляється тільки через 12—24 год латентного періоду [12], тоді як у більш ранні строки спостерігається підвищена швидкість його виходу з тиреоцитів без будь-яких змін швидкості поглинання [7]. В ізольованих клітинах та клітинних культурах, які попередньо погли-



нули йод, стимульований вихід останнього виявлявся відразу ж після внесення ТТГ в середовище культивування [7].

Однак в деяких роботах показано, що ТТГ стимулює поглинання йоду-125 клітинами FRTL5 через 12—24 год латентного періоду, тоді як оубаїнчутливе поглинання ⁸⁶Rb, яке відображає дійсну активність Na⁺,K⁺-АТФази, — тільки через 24—27 год [3]. Припускається можливість попереднього стимулювання активності ряду інших натрієвих насосів (зокрема, Na⁺,H⁺-переносника), які змінюють трансмембранний натрієвий градієнт і транспорт йоду з наступним компенсаторним підвищенням активності Na⁺,K⁺-АТФази [3].

Аналогічний оубаїну вплив на базальне та ТТГ-стимульоване поглинання йоду-131 тиреоцитами чинить і циклогексамід (10 мкг/мл) за попередньою 48-годинною інкубацією (див. мал. 2), що свідчить про залежність цього процесу

Мал. 2. Вплив циклогексамиду (а; 10 мкг/мл та оубаїну (б; 0,1 ммоль/л) на базальне та стимульоване тиреотропним гормоном (ТТГ; 1,0 мОд/мл) поглинання йоду-131 культурою тиреоцитів: 1 — контроль, 2 — ТТГ, 3 (а) — циклогексамід, 3 (б) — оубаїн, 4 (а) — ТТГ і циклогексамід, 4 (б) — ТТГ і оубаїн. За вертикаллю — поглинання йоду-131, 10³ імп/хв. Зірочками позначена вірогідна різниця порівняно із контролем (*P < 0,001, **P < 0,05), з ТТГ-стимуляцією (*** < 0,001).

від синтезу білка *de novo* [12]. Відомо, що за цих же строків інкубації циклогексамід (5 мкг/мл) здатен також блокувати стимулюючий вплив ТТГ (500 мкг/мл) на оубаїнчутливе поглинання ⁸⁶Rb (Na⁺,K⁺-АТФаза) клітинами FRTL5 [3]. Таким чином, циклогексамідчутливий синтез протеїнів є обов'язковою передумовою ТТГ-стимульованого поглинання йоду та підвищення активності Na⁺,K⁺-АТФази [3].

Результати проведених нами досліджень показали, що сироватка крові (ембріональна та звичайна) пригнічує базальне та ТТГ-стимульоване поглинання йоду-131 первинною культурою клітин щитовидної залози новонароджених поросят. Такий же вплив на цей процес чинять оубаїн та циклогексамід.

N. D. Tronko, I. P. Pasteur, T. N. Shostak

SOME MECHANISMS OF NEGATIVE INFLUENCE OF THE BLOOD SERUM ON ¹³¹I UPTAKE BY THE THYROCYTE CULTURE

Embryonal (calf) and ordinary (cattle) blood sera have been studied experimentally on a primary culture of thyroid cells from newborn pigs for their effect on basal and thyrotropin (TSH)-stimulated ¹³¹I uptake by thyrocytes. It is shown that the value of this index is inversely proportional to the relative percentage of the blood serum in the

cultivation me
more pronoun
blood serum
concentration

Ouabain
on exposure
the blood ser
transfer of
its TSH-stimu

Ukrainian Re
and Substanc
Health of Uk

СПИСОК ЛІ

1. Тронько
нання та
журнал.
2. Corvillain
national
Ruf J.—
3. Fowler K
lating h
thyroid c
4. Gerard C
amiloride
1985.—3
5. Lowry C
the Foli
1985.—3
6. Magner
vity // E
7. Nilsson
cultured
efflux se
Biol.—1
8. Noh J.
thyroid
moto's
9. Rani C.
repineph
and cult
10. Reader
concentr
thyrocyte
11. Vassart
function
12. Weiss S
mulated
dent on
13. Wolff J
sium //
14. Yoshika
antibod
into FR
15. Zakari
effects
P. 1253

Укр. наук.
та обміну
М-ва охор

cultivation medium. The concentrations being equal, the ordinary blood serum effect is more pronounced than the embryonic one. Thyrocyte incubation in a medium with 1 % blood serum and 0.1-10.0 mU/ml TSH stimulates ^{131}I uptake by the cells, whereas 15 % concentration of the blood serum blocks the influence of this hormone.

Ouabain (0.1 mM) and cyclohexamide (10 $\mu\text{g/ml}$) have also an inhibiting effect on exposure of the basal and TSH-stimulated uptake of the isotope. It is suggested that the blood serum contains biologically active substances inhibiting the transmembranous transfer of iodides into thyrocytes. This process is controlled by Na^+ , K^+ -ATPase, and its TSH-stimulation is mediated by protein synthesis de novo.

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

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Тронько М. Д., Пастер І. П. Двохфазний ефект тиреотропного гормону на поглинання та органіфікацію йоду- ^{131}I культурою клітин щитовидної залози // Физиол. журнал.— 1992.— 38, № 3.— С. 75—81.
2. Corvillain 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, 199.— P. 33—41.
3. Fowler K. L., Collins P., Brown C. G., Atterwill C. K. Studies on the thyroid stimulating hormone-activated Na^+K^+ -ATPase and iodide transporter in cultured rat thyroid cell and the effects of drugs // Toxic. in Vitro.— 1990.— 4, N 1.— P. 31—36.
4. Gerard C., Gabrion J., Verrier B. et al. Localisation of the Na^+K^+ -ATPase and of an amiloride sensitive Na^+ uptake on thyroid epithelial cells // Eur. J. Cell Biol.— 1985.— 38, N 1.— P. 134—141.
5. 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.
6. Magner J. A. Thyroid-stimulating hormone: biosynthesis, cell biology, and bioactivity // Endocrine Rev.— 1990.— 11, N 2.— P. 354—385.
7. 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.
8. Noh J., Hamada N., Saito H. et al. Inhibition by immunoglobulin G of synthesis of thyroid hormone in thyroid cultures from hypothyroid patients with goitrous Hashimoto's thyroiditis // Acta endocrinol. (Copenh.)— 1990.— 123, N 5.— P. 511—518.
9. Rani C. S. S., Field J. B. Comparison of effects of thyrotropin, phorbol esters, norepinephrine, and carbachol on iodide organification in dog thyroid slices, follicles, and cultured cells // Endocrinology.— 1988.— 122, N 5.— P. 1915—1922.
10. Reader S. C. J., Davison B., Ratcliffe J. G., Robertson W. R. Measurement of low concentrations of bovine thyrotrophin by iodide uptake and organification in porcine thyrocytes // J. Endocrinol.— 1985.— 106, N 1.— P. 13—20.
11. Vassart G., Dumont J. E. The thyrotropin receptor and the regulation of thyrocyte function and growth // Endocrine Rew.— 1992.— 13, N 3.— P. 596—611.
12. Weiss S. J., Philp N. J., Ambesi-Impiombato F. S., Grollman E. F. Thyrotropin-stimulated iodide transport mediated by adenosine 3',5'-monophosphate and dependent on protein synthesis // Endocrinology.— 1984.— 114, N 4.— P. 1099—1107.
13. Wolff J. Thyroidal iodide transport. 1. Cardiac glycosides and the role of potassium // Biochim. et Biophys. Acta.— 1960.— 38, N 2.— P. 316—324.
14. Yoshikawa N., Nishikawa M., Horimoto M. et al. Activity of thyroid stimulating antibody and thyroid stimulation blocking antibody determined by radioiodine uptake into FRTL-5 cells // Endocrinol. Japon.— 1989.— 36, N 1.— P. 55—63.
15. Zakarija M., McKenzie J. M. Variations in the culture medium for FRTL5 cells: effects on growth and iodide uptake // Endocrinology.— 1989.— 125, N 3.— P. 1253—1259.

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

Матеріал надійшов
до редакції 18.02.93