

## СПОСОБНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ ДЕПОНИРОВАТЬ ТИРЕОИДНЫЕ ГОРМОНЫ: РЕГУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ *IN VITRO*

ДОЛОМАТОВ С.И., ПИШАК В.П., СЛИПЕНЮК Т.С., МЕЩИШЕН И.Ф.,  
ОКОПНАЯ Т.В.

Буковинская государственная медицинская академия, Театральная пл. 2. Черновцы.  
274000 Украина.

Представленные результаты свидетельствуют о существовании механизма регуляции тиреоидного статуса, не требующего модификации секреторирующей функции щитовидной железы. Его реализация возможна благодаря гормондепонирующей функции эритроцитов крови, а адекватными стимулами к запуску могут быть: а) изменение регионального или системного рН и б) изменение гематокрита. Согласно полученным данным, эритроциты млекопитающих способны связывать значительные количества  $T_3$  и  $T_4$ , при этом связывание  $T_3$  является предпочтительным.

**Ключевые слова:**  $T_3$ ,  $T_4$ , эритроцит, кислотно-основное равновесие.

**ВВЕДЕНИЕ.** Экспериментально доказана способность эритроцитов транспортировать значительные количества инсулина [1] и трийодтиронина ( $T_3$ ) [2]. Однако, физиологическая роль эритроцитарного пула гормонов изучена недостаточно. Поиски факторов, способных регулировать данную функцию красных кровяных телец могут дать ценную информацию для решения рассматриваемой задачи.

**МАТОДИКА.** В эксперимент отбирали трехмесячных бычков черно-пестрой украинской породы с массой тела 80-90 кг, содержащихся в условиях товарной фермы и получавших стандартный рацион. Взятие крови осуществляли венепункцией яремной вены в утреннее время. В качестве стабилизатора использовали ЭДТА. Всего взято 23 образца крови от 16 животных. Инкубационными средами служили фосфатные буферные растворы 0,15 М, рН 7,2; 7,4 и 7,5, а также аутоплазма. Инкубацию эритроцитов после удаления лейкоцитов и отмывки [2] проводили: в аутоплазме и фосфатном буфере рН 7,2, 7,4 и 7,5, соотношение объема эритромасса: среда 1:1 на водяной бане при 25°C в течение 20 минут ( $n=7$ ); фосфатном буфере рН 7,4, соотношение объема эритромасса: среда 1:1 при 25°C в течение 1, 10, 20 и 30 минут ( $n=7$ ); фосфатном буфере рН 7,4 при соотношении эритромасса: среда 1:1 и 1:5 при 25°C в течение 20 минут ( $n=9$ ). Концентрацию  $T_3$  и  $T_4$  определяли с помощью наборов для радиоиммунного анализа производства Института биоорганической химии (Беларусь), радиометрический анализ проб производили на установке "Гамма-12" (Россия). Статистический анализ данных производили по общепринятой методике с использованием критерия Стьюдента на IBM PC 486DX.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.** В таблице 1 представлены данные о влиянии рН среды на  $T_3$ - и  $T_4$ -депонирующую функцию эритроцитов. При инкубации

эритроциты в буфере pH 7,2 наблюдалось достоверное увеличение уровня  $T_3$  на 76,2% и  $T_4$  в 4,1 раза в сравнении с серией опытов, где роль инкубационной среды выполняла аутоплазма. При pH раствора 7,4 концентрации  $T_3$  и  $T_4$  превышают аналогичные показатели для аутоплазмы соответственно на 180,9% и в 5,1 раза. Уровень  $T_3$  при pH инкубационной среды 7,4 достоверно выше на 59,5%, чем при pH 7,2. Для буферного раствора pH 7,5 найдено превышение  $T_3$  и  $T_4$  только над аналогичными показателями в аутоплазме соответственно на 138,1% и в 5,1 раза

Таблица 1. Влияние pH на гормондепонирующую функцию эритроцитов.

Животные № п/п	Инкубационная среда (время инкубации 20 мин.)							
	Аутоплазма		Буфер pH 7.2		Буфер pH 7.4		Буфер pH 7.5	
	$T_3$ нмоль/л	$T_4$ нмоль/л	$T_3$ нмоль/л	$T_4$ нмоль/л	$T_3$ нмоль/л	$T_4$ нмоль/л	$T_3$ нмоль/л	$T_4$ нмоль/л
1.	0,46	47,3	0,67	130,5	1,23	352,3	1,10	286,1
2.	0,60	55,9	0,78	118,6	1,22	214,3	0,80	346,6
3.	0,25	25,1	0,78	118,5	1,34	266,2	0,80	166,4
4.	0,60	50,7	0,74	404,1	1,37	148,2	1,04	270,2
5.	0,32	30,2	0,66	123,1	1,55	104,3	0,83	73,0
6.	0,28	29,5	0,34	59,3	0,52	102,0	0,85	91,8
7.	0,45	47,3	1,25	130,5	0,97	276,5	1,58	237,1
$\bar{x} \pm S_x$	$0,42 \pm 0,05$	$40,9 \pm 4,6$	$0,74 \pm 0,10$	$169,0 \pm 42,9$	$1,18 \pm 0,13$	$209,3 \pm 36,0$	$1,00 \pm 0,11$	$210,2 \pm 38,9$

(пояснения в тексте)

Из таблицы 2 видно, что в первые 10 минут инкубации происходят наиболее существенные изменения концентрации  $T_3$ : прирост гормона в среде через 1 минуту в 5,6 раз, а через 10 минут в 8,2 раза. Через 20 и 30 минут этот показатель превышает уровень гормона в аутоплазме соответственно в 2,8 раза и 3,4 раза. Содержание  $T_4$  в буфере в сравнении с аутоплазмой через 1 минуту инкубации возрастает в 9,5 раза, 10 минут инкубации в 8,7 раза, 20 минут в 5,1 раза а через 30 минут в 9,3 раза.

Таблица 2. Влияние времени инкубации на гормондепонирующую функцию эритроцитов

Животные № п/п	Условия инкубации									
	Аутоплазма		Буферный раствор (pH 7.4)							
	20 минут		1 минута		10 минут		20 минут		30 минут	
	$T_3$ нмоль/л	$T_4$ нмоль/л	$T_3$ нмоль/л	$T_4$ нмоль/л	$T_3$ нмоль/л	$T_4$ нмоль/л	$T_3$ нмоль/л	$T_4$ нмоль/л	$T_3$ нмоль/л	$T_4$ нмоль/л
1.	0,46	47,3	1,85	532,9	7,03	397,9	1,29	352,3	1,93	286,1
2.	0,60	55,9	3,02	412,1	4,59	395,0	1,22	214,3	1,93	346,6
3.	0,25	25,1	3,26	486,2	3,21	229,7	1,34	266,2	1,72	166,4
4.	0,60	50,7	2,18	505,4	1,55	510,7	1,37	148,2	1,16	270,2
5.	0,32	30,2	0,77	161,3	3,33	175,6	1,55	104,3	0,69	73,0
6.	0,28	29,5	3,63	161,3	1,36	412,1	0,52	102,0	1,26	91,8
7.	0,45	47,3	1,81	450,3	2,93	391,0	0,97	276,5	1,39	237,1
$\bar{x} \pm S_x$	$0,42 \pm 0,05$	$40,9 \pm 4,6$	$2,36 \pm 38$	$387,1 \pm 60,1$	$3,43 \pm 0,73$	$358,8 \pm 43,6$	$1,18 \pm 0,13$	$209,3 \pm 36,0$	$1,44 \pm 0,17$	$377,4 \pm 46,9$

(пояснения в тексте)

Концентрация  $T_3$  в среде при соотношении 1:1 (таблица 3) достоверно выше данного показателя в плазме крови (на 50,7%), содержание  $T_4$  достоверно увеличивается на 58,2%. При соотношении объемов 1:5 в пользу буферного раствора происходит резкое увеличение концентрации  $T_3$  в 6 раз и  $T_4$  в 8,3 раза.

Таблица 3. Влияние объема инкубационной среды на гормондепонирующую функцию эритроцитов

Животные № п/п	Концентрация в плазме крови		Соотношение объема буфер : эритроциты			
	$T_3$ нмоль/л	$T_4$ нмоль/л	1 : 1		5 : 1	
	$T_3$ нмоль/л	$T_4$ нмоль/л	$T_3$ нмоль/л	$T_4$ нмоль/л	$T_3$ нмоль/л	$T_4$ нмоль/л
1.	0,88	72,4	1,02	124,3	12,21	494,2
2.	1,04	94,1	1,19	192,1	2,10	487,4
3.	0,59	56,1	0,89	137,9	12,86	491,3
4.	0,85	71,8	1,16	84,4	7,87	457,7
5.	0,62	48,5	1,23	73,0	5,11	485,6
6.	0,70	50,7	0,90	136,2	2,44	435,5
7.	0,58	49,8	1,08	64,4	1,85	475,4
8.	0,56	68,8	1,12	75,6	1,78	420,1
9.	0,87	53,0	1,29	96,3	6,73	445,7
$\bar{x} \pm S_x$	$0,74 \pm 0,06$	$62,8 \pm 5,07$	$1,10 \pm 0,05$	$99,4 \pm 17,6$	$5,88 \pm 1,46$	$456,9 \pm 9,04$

(пояснения в тексте)

**ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.** Известно, что параметры кислотно-основного равновесия оказывают влияние на функцию щитовидной железы [3]. Известно также, что pH среды играет важную роль в регуляции энергетических процессов в эритроците. Полученные нами результаты характеризуют эритроцит, как эффекторное звено в цепи реакций адаптации на снижение системного pH. Ограничение выхода  $T_3$  при более низком значении pH, можно расценивать, как "блокировку"  $T_3$  в эритроцитарном депо, призванную ограничить влияние данного гормона на метаболические процессы.

Проведение серии экспериментов с различной экспозицией в буферном растворе позволяют предположить, что  $T_3$  и  $T_4$  обладают адсорбционной способностью по отношению к поверхности эритроцитарной мембраны. Адсорбционная способность  $T_3$  более высокая, что в эксперименте подтверждается снижением его концентрации с увеличением срока инкубации на фоне противоположной динамики  $T_4$ . Увеличение соотношения среда: эритроциты, вероятно, приводит к последовательному повышению десорбции сначала  $T_4$ , а затем и  $T_3$ .

Помимо конкурентных взаимоотношений между  $T_3$  и  $T_4$  важную роль в связывании гормонов выполняют белки плазмы. Во всех проведенных нами сериях экспериментов удаление плазмы и инкубация эритроцитов в буферном растворе сопровождались достоверным приростом концентрации гормонов. Сводится ли функция белков к роли экранирующего слоя, либо будучи полианионами белки влияют на электростатическое взаимодействие между молекулами тиреоидных гормонов и фосфолипидами - подлежит дальнейшему изучению. Полученные данные свидетельствуют о возможности существования механизмов региональной регуляции "притока" тиреоидных гормонов к ткани, не требующих модификации секретирующей способности щитовидной железы. Возможным стимулом к их запуску *in vivo* могут быть: физиологически существующие градиенты pH между системным кровотоком и капиллярным руслом; сдвиги кислотно-основного равновесия в организме, вызванные различными адаптивными [4] и патологическими процессами; возможный дисбаланс между содержанием в организме  $T_4$ , секретируемого щитовидной железой, и  $T_3$ , продуцируемого главным образом в тканях почек и печени [5] за счет конверсии  $T_4$ ; изменения гематокрита, возникающие при некоторых патологических состояниях. Полученные



данные указывают на актуальность подобных исследований, которые могут найти применение в эндокринологии, фармакологии, радиационной медицине.

Таким образом в настоящей работе: впервые показано, что эритроциты способны депонировать значительные количества  $T_4$ . Основная доля  $T_3$  и  $T_4$  депонируется в эритроцитах за счет неспецифического связывания гормонов, удовлетворительно описываемого физико-химической моделью сорбции вещества на границе раздела двух фаз.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Сандуляк Л.И., Ковалев В.П. (1978). Проблемы эндокринологии, 24 (5), 77-78
2. Osty J., Laurence J., Jacques F., Blondeau J.-P. (1988) Endocrinology. 123, 2303-2311
3. Гонтмахер В.М., Камбардинов С.К., Ильхамов М.Б. (1987) Структурные изменения печени и поджелудочной железы в норме и экспериментальных условиях: Сб. науч. тр. Ташкентского медицинского института. -Ташкент. 21-23
4. Клар С. (1987) Почки и гомеостаз в норме и при патологии: Пер. с англ. - М., 170-216
5. Туракулов Я.Х., Таиходжаев Т.П., Артыкбаева Г.М. (1991) Проблемы эндокринологии. 39 (4), 44

#### ERYTHROCYTE ABILITIES TO DEPOSIT THE THYROID HORMONES : REGULATORY ROLE OF PHYSICO-CHEMICAL FACTORS *IN VITRO*

DOLOMATOV S.I., PISHAK V.P., SLIPENYUK T.S., MESCHISHEN I.F., OKOPNAYA T.V.

Bucovina State Medical Academy, Chernovtsy, 274000, Ukraine

Data obtained suggest the existence of regulation mechanism controlling parameters of thyroid status, that does not require any modification of thyroid gland secretory function. The realisation of this mechanism can involve hormone-depositing function of blood erythrocytes, which is sensitive to a) change of regional or systemic pH and b) change of hematocrit. Results of the present study indicate that mammalian erythrocytes are able to bind considerable quantities of  $T_3$  and  $T_4$  and,  $T_3$  binding is preferable.

**Key words:**  $T_3$ ,  $T_4$ , erythrocyte, acid-basal equilibrium