

<https://doi.org/10.3176/biol.1973.1.02>

УДК 612.111:547.857+615.357

HELGI AKKE

## TRIJOODTÜRONIINI JA METÜÜLTIOURATSIILI MÕJU KÜÜLIKU ERÜTROTSÜÜTIDE ADENIINNUKLEOTIIDIDE- SISALDUSELE

Erütrotsüütide adeniinnukleotiididesisaldus on suhteliselt stabiilne geneetiliselt determineeritud biokeemiline näitaja (Brewer, 1969; jt.). ATP\* ja 2,3-difosfoglütseriinhape tagavad erütrotsüütide põhifunktsiooni täitmise — hapniku sidumise ja transpordi (Eaton jt., 1970; Leyko, Józwiak, 1972). Nihkeid erütrotsüütide adeniinnukleotiidide-, eriti ATP-sisalduses on täheldatud nahapõletuste (Stoner, Green, 1949), raske kehalise töö (Кемень, Антал, 1966) ja hapnikuvaeguse korral (Brewer jt., 1970).

Viimase 10—15 aasta jooksul on välja selgitatud, et kilpnäärme hormoonid mõjutavad glükoosi ensümaatilist katabolismi erütrotsüütides nii *in vivo* kui ka *in vitro* (Macho, 1957; Calesnick jt., 1960; Tudhope, 1969; jt.).

Erütrotsüütide adeniinnukleotiididesisalduse muutustest türeoidhormoonide toimel on siiani vähe teada. O. Scheibe (1964) andmetel tekitas kilpnäärme osaline eemaldamine inimese veres ATP taseme ajutise languse. A. Bosia jt. (1969) leidsid, et türeoidiini manustamine rottidele põhjustas ATP hulga vähenemise erütrotsüütides. H. G. Albaum ja P. A. Zahl (1953) ei täheldanud ei türeoidiini ega tiouratsiili toimel olulisi muutusi hiirte vere adeniinnukleotiidide summaarses sisalduses. A. M. Ermans ja P. A. Bastenie (1959) ei leidnud muutusi hüper- ja hüpötüreoidsete inimeste erütrotsüütide happes lahustuvate fosfaatide kontsentratsioonides, kuid fikseerisid otsese seose kilpnäärme aktiivsuse ja P<sup>32</sup> lülitumise kiiruse vahel neisse fosfaatidesse. D. R. H. Gourley (1952) ja T. A. J. Prankerdi ning K. I. Altmanni (1954) järgi on P<sup>32</sup> *in vitro* raku sisenemise kiirus sõltuv glükolüüsi intensiivsusest.

Vastupidi suhteliselt vähestele teatele türeoidhormoonide toimest erütrotsüütide bioenergeetilisele ainevahetusele leidub kirjanduses väga palju andmeid nende mõjust rakkude hingamisele ja sellega seotud fosforüleerimisprotsessidele mitokondrites (Martius, Hess, 1951; Hoch, 1962; jt.). Nende järgi stimuleerivad türoksiini ja trijoodtüroniini väikesed annused oksüdatiivset fosforüleerumist, suured doosid aga eraldavad neid protsesse, mistõttu muutub ka adeniinnukleotiidide vahekord rakus.

Olemasolevaid andmeid arvestades uuriti, kas ja mis ulatuses mõjutavad T<sub>3</sub> erinevate dooside ning kilpnäärme talitlust pärssiva MTU manustamine küüliku erütrotsüütide adeniinnukleotiididesisaldust.

\* ATP — adeniin-5-trifosforhape; ADP — adeniin-5-difosforhape; AMP — adeniin-5-monofosforhape; GTP — guanosiin-5-trifosforhape; T<sub>3</sub> — trijoodtüroniin; MTU — metüültiouratsiil.

### Materjal ja meetodika

Katsed tehti 44 valge hiigu tõugu samasoolise aastase küülikuga. Neljale katseloomade rühmale (à 8—10 küülikut) süstiti ühekordselt naha alla 0,1—0,5%-lise lahusega 3, 5, 3'-trijood-L-türoniini («Reanal») 0,33, 0,66, 1,65 ja 3,33 mg 1 kg kehakaalu kohta. Viienda rühma (10 küülikut) igale loomale anti 3 päeva jooksul söödaga 0,1 g 6-metüülthiouratsiili 1 kg kehakaalu kohta päevas.

Verd võeti küüliku kõrvaveenist vahetult enne preparaadi manustamist ning esimesel, teisel, kolmandal, neljandal ja viiendal, MTU puhul ka seitsmendal katsepäeval. I ja V katserühmalt võetud verest ekstraheeriti nukleotiidid 5%-lise triklooräädikhappega, eraldati paberkromatograafiliselt ning määrati kvantitatiivselt vastavalt varem kirjeldatud meetodikale (Äkke, 1972). Teistesse katserühmadesse kuuluvatelt loomadelt võetud vere adeniin-nukleotiidid määrati fermentatiivselt, kasutades firma «Boehringer Mannheim GmbH» vastavaid reaktiivide komplekte.

Nukleotiidide kontsentratsioonid 1 ml erütrotsüütide kohta anti  $\mu$ moolides, nende muutused pärast preparaadi manustamist aga protsentides algtasemest.

Katsetulemuste tõepärasust hinnati Studenti *t*-testi põhjal.

### Tulemused

Tabelist 1 selgub, et kõik  $T_3$  doosid mõjutasid küüliku erütrotsüütide ATP-sisaldust. ATP kontsentratsiooni suurenemine ilmnes juba kahel esimesel päeval pärast preparaadi manustamist, kusjuures tõusude ulatused olid pöördvõrdelised annustega. Analoogiliselt ATP-ga käitus ka GTP (tab. 1). Nii ATP kui ka GTP kõige suuremad näitajad esinesid tavaliselt 2. ja 3. katsepäeval; siis järgnes langus. Hormooni 10-kordse doosi puhul ei muutunud ATP-sisaldus kahel esimesel päeval ( $P > 0,5$ ), 3. päeval järgnenud tõus (38%,  $P < 0,001$ ) aga püsis ka 4. ja 5. päeval (vastavalt 34 ja 31%,  $P < 0,001$ ).

$T_3$  kahele väiksemale annusele reageerisid nii ADP kui ka AMP ühtemoodi ATP-ga. Hormooni 5- ja 10-kordse annuse puhul aga täheldati mõlema nimetatud nukleotiidi kontsentratsiooni langust (ADP-l 4. päevaks vastavalt 17 ( $P > 0,05$ ) ja 22% ( $P < 0,05$ ), AMP-l 3. päevaks 25% ( $P < 0,05$ ). 5. katsepäevaks saavutas ADP-sisaldus uuesti esialgse taseme, AMP kontsentratsioon samal päeval oli  $T_3$  5-kordse doosi puhul algtasemest 15% kõrgem ( $P > 0,1$ ), 10-kordse koguse korral aga 39% madalam ( $P < 0,01$ ). Muutused ADP-sisalduses pärast  $T_3$  5-kordse annuse manustamist ning AMP kontsentratsioonis  $T_3$  kahekordse doosi puhul ei olnud statistiliselt olulised.

MTU põhjustas katse algul ATP-, AMP- ja GTP-sisalduse vähenemise (tab. 2). Kõige ulatuslikumat langust näitas 2. päeval GTP-sisaldus (20%,  $P < 0,02$ ), mis hiljem mõnel määral taastus, kuid jäi ikkagi lähtefoonist 8—12% madalamaks ( $P > 0,1$ ). ATP kontsentratsiooni langused kahel esimesel päeval (3—7%) olid statistiliselt väheusutavad ( $P > 0,1$ ). Pidev tõus algas 3. katsepäeval ning jõudis 7. päeval 18%-ni ( $P < 0,02$ ). MTU mõjul täheldatud ADP-sisalduse mõõdukas suurenemine (5—9%) ning AMP-sisalduse vähenemine (2—13%) püsisid katse lõpuni, kuid ei olnud statistiliselt usaldatavad.

### Arutelu

Katse tulemused näitavad, et  $T_3$  ühekordsele manustamisele järgnev erütrotsüütide ATP-sisalduse tõus sõltub hormooni doosist. Nimelt vähenes  $T_3$  suurte annuste (1,65 ja 3,33 mg/kg) puhul kahel esimesel katsepäeval nende stimuleeriv efekt, mida väikeste dooside (0,33 ja 0,66 mg/kg) korral

Tabel 1

Muutused küüliku erütrotsüütide adeninnukleotiidide- ja GTP-sisalduses T<sub>3</sub> toimet

Manustatud T <sub>3</sub> kogus 1 kg kehakaalu kohta, mg	Katsete arv	Algtase, µmooli/ml. erütrot.	% algtasemest				
			1. päeval	2. päeval	3. päeval	4. päeval	5. päeval
			<b>A TP</b>				
0,33	10	1,183±0,070	116,79±4,22*	124,19±4,22*	127,43±4,22*	121,87±4,22*	118,39±5,05*
0,66	8	1,085±0,078	106,64±4,72	115,70±4,72*	118,80±4,72*	111,85±4,72*	103,99±4,72
1,65	8	1,133±0,078	104,05±4,72	114,19±6,68	106,84±4,72	108,86±4,72	116,13±4,72*
3,33	8	1,067±0,078	101,07±4,72	103,10±4,72	138,19±4,72*	133,99±4,72*	131,29±4,72*
			<b>A DP</b>				
0,33	10	0,234±0,016	113,76±7,57	117,06±7,57*	114,14±7,57	112,81±7,57	109,09±8,46
0,66	8	0,125±0,018	104,21±8,46	121,99±8,46*	116,75±8,46	112,41±9,04	109,86±8,46
1,65	8	0,154±0,018	92,81±8,46	95,12±11,96	98,86±8,46	83,17±8,46	104,92±8,46
3,33	8	0,170±0,018	85,99±8,46	91,95±8,46	83,16±8,46	77,77±8,46*	100,38±8,46
			<b>A MP</b>				
0,33	10	0,094±0,005	104,52±7,82	103,94 ± 7,82	108,05±7,82	118,07±7,82*	113,94±8,74
0,66	8	0,057±0,007	88,97±8,74	106,35 ± 8,74	104,55±8,74	102,35±8,74	99,78±8,74
1,65	8	0,060±0,007	90,50±8,74	83,07±12,37	75,87±8,74*	83,18±8,74	115,14±8,74
3,33	8	0,066±0,007	77,66±8,74*	72,24±8,74*	74,56±8,74*	70,11±8,74*	60,87±8,74
			<b>G TP</b>				
0,33	10	0,144±0,010	107,67±7,00	112,92±7,00	119,09±7,00*	112,78±7,00	109,49±7,82

\* P ≤ 0,05

Tabel 2

Muutused küüliku erütrotsüütide adeninnukleotiidide- ja GTP-sisalduses MTU toimet

Nukleotiid	Katsete arv	Algtase, µmooli/ml. erütrot.	% algtasemest					
			1. päeval	2. päeval	3. päeval	4. päeval	5. päeval	7. päeval
ATP	10	1,325±0,070	97,09±4,22	92,87±4,22	103,28±4,22	105,79±5,45	115,01±4,22*	118,19±4,22*
ADP	10	0,306±0,016	105,43±7,57	106,58±7,57	106,36±7,57	107,17±9,77	109,47±7,57	106,90±7,57
AMP	9	0,138±0,007	98,23±8,25	96,18±8,25	94,55±8,25	—	86,89±8,25	92,34±8,25
GTP	10	0,197±0,010	92,74±7,00	79,51±7,00*	91,53±7,00	—	90,57±7,00	88,61±7,00

\* P ≤ 0,05

oli täheldatud. Alates 3. päevast aga suurenesid ATP kontsentratsioonid proportsionaalselt manustatud hormooni kogustega. See räägib kilpnäärme hormoonide kahesugusest toimest erütrotsüütide ATP-sisaldusele.

Võib oletada, et hormooni väikeste dooside puhul täheldatud ATP, ADP ja AMP kontsentratsioonide suurenemine baseerub nukleotiidide biosünteesi stimuleerimisel, mida tema 10-kordne kogus enam ei põhjusta.

$T_3$  annustega proportsionaalsed ATP-sisalduse muutused teisel etapil on ilmselt seletatavad adeniinnukleotiidide üksteiseks üleminekuga. AMP ja ADP kontsentratsioonide langused 5- ja 10-kordsete hormooni annuste puhul osutavad võimalusele, et ATP tõus sel etapil on tingitud ka mainitud adeniinnukleotiidi fosforüleerumisest ATP-ks. Sellise oletuse kasuks räägib ka ATP/ADP, eriti aga ATP/AMP väärtuse suurenemine teisel etapil. Seejuures on huvitav märkida, et MTU poolt 3., 4. ja 5. katsepäeval põhjustatud ATP-sisalduse tõusuga kaasnes ligikaudu sama suur AMP kontsentratsiooni langus protsentides.

Kirjeldataud muutuste tekkemehhanismi kohta võime teha vaid mõningaid oletusi. Adeniinnukleotiidide hulga suurenemist esimesel etapil võib nende biosünteesi elavnemise kõrval põhjustada ka adeniini kõrgeenenud omastamine erütrotsüütide poolt.  $T_3$  mõjul teisel etapil täheldatud ADP ja AMP üleminek ATP-ks on aga ilmselt tingitud glükolüütilise fosforüleerumise intensivistumisest erütrotsüütides hormooni suurte annuste toimel. See on kooskõlas seisukohaga, et malaatdehüdrogenaasi (Pitkanen, Nikkila, 1960), glükoos-6-fosfaatdehüdrogenaasi (Pitkanen, Nikkila, 1960; Tudhope, 1960; Bargoni jt., 1970) ja heksokinaasi (Кильдема, 1966; Bargoni jt., 1970) stimuleerivad erütrotsüütides kilpnäärme hormoonid.

### Järeldused

1. Ühekordne  $T_3$  (0,33 ja 0,66 mg/kg) manustamine küülikule põhjustab juba kahel esimesel katsepäeval erütrotsüütide adeniinnukleotiidide summaarse sisalduse suurenemise, mida doosi tõstmisel enam ei täheldata.

2.  $T_3$  suuremad annused (1,65 ja 3,33 mg/kg) tingivad alles kolmandast päevast alates ATP kontsentratsiooni olulise tõusu, samal ajal aga väheneb ADP- ja AMP-sisaldus.

3. MTU manustamine 3 päeva jooksul (0,1 g/kg päevas) ei põhjusta 7 päeva kestel olulisi muutusi erütrotsüütide ADP- ja AMP-sisalduses, küll aga ATP kontsentratsiooni märgatava tõusu teise etapi lõpul.

### KIRJANDUS

- Albaum H. G., Zahl P. A., 1953. Certain nucleotide relationship in normal and in tumor-bearing mice. *Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med.* **82** (2) : 337—341.
- Bargoni N., Fossa T., Rinaudo M. T., Giunta C., Bruno R., 1970. Über den Kohlenhydrat-Stoffwechsel in den Erythrozyten von mit Trijodthyronin oder mit Propylthiouracil behandelten Ratten. *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* **351** (4) : 479—482.
- Bosia A., Pescarmona G. P., Arese P., 1969. Effetto dell'ipertiroidismo sperimentale sul rapporto 2,3-difosfoglicerato/emoglobina e sui livelli di altri metaboliti nel globulo rosso di ratto. *Boll. Soc. ital. biol. sperim.* **45** (17) : 1148—1149.
- Brewer G. J., 1969. Adenosine triphosphate. *Biochemical methods in red cell genetics.* New York—London : 202—229.
- Brewer G. J., Eaton J., Weil J., Grover R., 1970. Studies of red cell glycolysis and interactions with carbon monoxide, smoking, and altitude. *Red cell metabolism and function.* New York—London : 95—114.
- Calesnick B., Altarelli V. R., Spirtes M. A., 1960. Decrease in aerobic glycolysis of erythrocytes following the continuous administration of L-triiodothyronine. *Endocrinology* **66** (4) : 517—520.

- Eaton J., Brewer G., Schultz J., Sing C., 1970. Variation in 2,3-diphosphoglycerate and ATP levels in human erythrocytes and effects on oxygen transport. Red cell metabolism and function. New York—London : 21—38.
- Ermans A. M., Bastenie P. A., 1959. Rate of exchange of phosphate in red blood cells: effect of thyroid hormones. Nature **183** (4662) : 679—680.
- Gourley D. R. H., 1952. Glycolysis and phosphate turnover in the human erythrocyte. Arch. Biochem. and Biophys. **40** (1) : 13—19.
- Hoch F. L., 1962. Biochemical actions of thyroid hormones. Physiol. Rev. **42** (4) : 605—673.
- Leyko W., Józwiak Z., 1972. Effect of ATP on the stability of the hemoglobin molecule. VI. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrocyten. Berlin : 147—153.
- Macho L., 1957. The effect of thyroid hormone on the glycolytic activity of blood. Clin. Chim. Acta **2** : 345—347.
- Martius C., Hess B., 1951. The mode of action of thyroxine. Arch. Biochem. and Biophys. **33** (3) : 468—487.
- Pitkanen E., Nikkila E. A., 1960. Erythrocyte enzymes in thyreotoxicosis. Ann. med. internae fenniae **49** (3) : 197—200.
- Pranker T. A. J., Altman K. I., 1954. A study of the metabolism of phosphorus in mammalian red cells. Biochem. J. **58** (4) : 622—633.
- Scheibe O., 1964. Das Adenylsäuresystem nach Eingriffen an der Schilddrüse. Schilddrüsenhormone und Körperperipherie. Regulation der Schilddrüsenfunktion. Berlin—Göttingen—Heidelberg : 171—174.
- Stoner H. B., Green H. N., 1949. The effect of fatal cutaneous burns on the adenosine equivalent of the blood of rabbits. J. Pathol. and Bacteriol. **61** (1) : 114—116.
- Tudhope G. R., 1969. The thyroid and the blood. London.
- Akke H., 1972. Küüliku erütrotsüütide adeninnukleotiidiidide ekstraheerimismetodite võrdlus. ENSV TA Toimet. Biol. **21** (2) : 151—160.
- Кемень Т., Антал М., 1966. Значение энергетической системы эритроцитов в адаптации организма. В кн.: Проблемы биохимической адаптации. М. : 51—55.
- Кильдема Л., 1966. О влиянии тироксина на активность гексокиназы эритроцитов. Изв. АН ЭССР. Биол. **15** (4) : 582—586.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia  
Eksperimentaalbioloogia Instituut

Toimetusse saabus  
11. IX 1972

## ХЕЛГИ ЭККЕ

### ВЛИЯНИЕ ТРИОДИТИРОНИНА И МЕТИЛТИОУРАЦИЛА НА СОДЕРЖАНИЕ АДЕНИННУКЛЕОТИДОВ В ЭРИТРОЦИТАХ КРОЛИКА

#### Резюме

На 44 годовалых кроликах-самцах в течение 5 дней изучалось влияние однократного подкожного введения *L*-триодтиронина (в дозах 0,33, 0,66, 1,65 и 3,33 мг на 1 кг веса животного) на содержание адениннуклеотидов в эритроцитах.

Исследования показали, что дозы  $T_3$  обуславливают в эритроцитах двухразрядные изменения в содержании адениннуклеотидов.

Предполагается, что небольшие дозы  $T_3$  незамедлительно стимулируют синтез всех адениннуклеотидов. Введенный же в десятикратной дозе  $T_3$  повышает количество АТФ лишь на более позднем этапе изменений за счет усиленного гликолитического фосфорилирования АДФ и АМФ в эритроцитах.

У кроликов, которым в течение 3 дней ежедневно давали с кормом метилтиоурацила по 100 мг на 1 кг веса, не наблюдалось существенных изменений в содержаниях АДФ и АМФ. Концентрация АТФ значительно возростала только к концу опыта.

Институт экспериментальной биологии  
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию  
11/IX 1972

HELGI AKKE

**THE INFLUENCE OF TRIIODOTHYRONINE AND METHYLTHIOURACIL  
ON THE CONTENT OF ADENINE NUCLEOTIDES IN RABBIT ERYTHROCYTES***Summary*

The experiments were carried out on 44 one-year-old male rabbits. The influence of L-triiodothyronine (0.33, 0.66, 1.56 and 3.33 mg/kg body weight) on the content of adenine nucleotides in erythrocytes was studied during 5 days after a subcutaneous injection of the hormone.

The results obtained showed that  $T_3$  produced a biphasic effect on the concentration of adenine nucleotides in rabbit erythrocytes depending upon the administered dose.

It was supposed that small quantities of  $T_3$  indicate at once a stimulatory action on the synthesis of all adenine nucleotides, whereas a ten-fold dose increases the content of ATP only in the later phase of changes due to increased glycolytic phosphorylation of ADP and AMP in red blood cells.

Feeding of rabbits with methylthiouracil for 3 days (100 mg/kg body weight per day) did not show any essential changes in the content of ADP and AMP. The concentration of ATP was found to be significantly heightened only at the end of the experiment.

*Academy of Sciences of the Estonian SSR,  
Institute of Experimental Biology*

Received  
Sept. 11, 1972