

Хельги КУУС, Ило СИБУЛЬ, Анна ТАММ

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ТРИЙОДИТРОНИНА НА ЭКТОАПИРАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

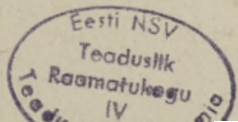
Тиреоидные гормоны тироксин (T_4) и трийодтиронин (T_3) участвуют в регуляции основных функций организма и влияют на степень активности тканевых ферментов (Pitot, Yatvin, 1973). Отмечены также случаи стимуляции синтеза ферментных белков на уровне транскрипции и трансляции (Кандрор, 1973).

В опытах, проведенных нами ранее (Куус и др., 1977), выяснилось, что эктоапиразная активность эритроцитов изменяется в зависимости от возраста цыплят. При этом максимальный уровень ферментативной активности, отмеченный в первые 8 дней жизни птиц, был нами принят за биохимическое адаптационное явление, связанное с глубокими внутренними перестройками функций и химического состава эритроцитов в наблюдаемый период. Так как непосредственно после вылупления содержание T_4 и T_3 в плазме крови цыплят увеличивается (Davison, 1976; Thommes, Hylka, 1977), то можно предположить, что названные гормоны участвуют и в регуляции активности изучаемого фермента.

Основные механизмы действия тиреоидных гормонов в организме, отдельных органах и субклеточных структурах млекопитающих сравнительно хорошо изучены (Klein, 1964; Рачев, Ещенко, 1975), но данные о путях их транспорта и влиянии на метаболические процессы у домашних птиц весьма малочислены. Известно, однако, что у млекопитающих секреция T_4 и T_3 значительно ниже, чем у птиц (Slebodzinski, 1975). Кроме того, белковые фракции плазмы крови у птиц слабо связывают T_3 , в связи с чем период его полураспада в несколько раз короче отмеченного у млекопитающих (Dubowitz и др., 1962; Heninger, Newcomer, 1964). Исходя из сказанного необходимо выяснить, в какой мере активность эктоапиразы подопытных цыплят подвергается воздействию T_3 в разные сроки после введения им гормона.

Материал и методика

Экспериментальные исследования проводили на 179 одномесечных цыплятах бройлеров, поскольку, по приведенным нами данным (Куус и др., 1977), к этому времени активность эктоапиразы эритроцитов в большей или меньшей мере стабилизировалась. Для достижения у цыплят гипертиреоидного состояния им однократно вводили подкожно соответственно 0,05, 0,1 и 0,2 мг T_3 на 1 кг живого веса. При этом использовали 3,5,3'-трийод-Л-тиронин («Реанал»), который сначала растворяли в небольшом количестве теплого изотонического раствора NaCl, содержа-



щего несколько капель 0,02 н. NaOH, а затем доводили физиологическим раствором до необходимой конечной концентрации. Во избежание ошибок, вызванных инъекцией растворителя гормона, 50 контрольным птицам вводили соответствующий объем (0,5 мл) физиологического раствора с добавлением 0,02 н. NaOH. Пробы крови для анализа брали через 6, 16, 24, 48 и 72 ч после введения препарата. Количественное определение эктоапиразной активности красных кровяных клеток цыплят проводили по методике, описанной нами ранее (Куус и др., 1977). Число опытов в каждом отдельном случае было 6—8.

Во избежание расхождений из-за индивидуальных различий у подопытных птиц изменения эктоапиразной активности вычисляли в процентах от соответствующих контрольных величин. Полученный материал обрабатывали статистически, причем различия считались значимыми при $P \leq 0,05$.

Результаты

Эксперименты показали, что T_3 уже через 6 ч после введения в организм вызывает изменения активности эктоапиразы красных кровяных клеток подопытных птиц, которые зависят от вводимой *in vivo* дозы препарата (рисунок). Так, дозы 0,05 и 0,1 мг/кг обусловили уменьшение изучаемой активности на 34 ($P < 0,01$) и 25% ($P < 0,02$) по сравнению с активностью контрольной группы, а доза 0,2 мг/кг вызвала повышение ее на 42% ($P < 0,01$).

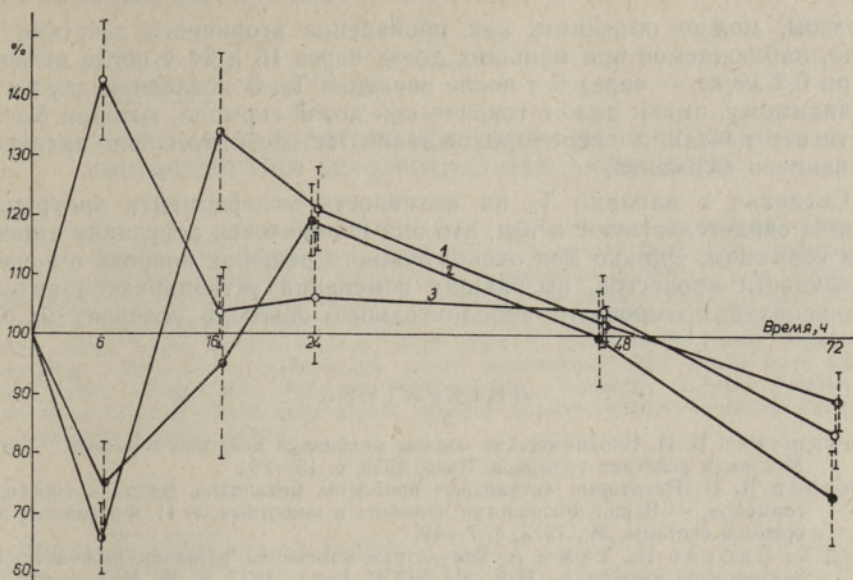
Далее, через 16 ч после инъекции гормона при меньших дозах наблюдалось повышение эктоапиразной активности на 68 ($P < 0,05$) и 20% ($P > 0,05$) по сравнению с соответствующими значениями через 6 ч. При дозе 0,2 мг/кг активность эктоапиразы понижалась в это время практически до исходного уровня (104%, $P > 0,05$).

Через 24 ч от начала опыта активность изучаемого фермента оставалась повышенной (по сравнению с контрольным уровнем) — при дозе 0,05 мг/кг на 21% ($P < 0,05$), при 0,1 мг/кг на 19% ($P < 0,02$) и при 0,2 мг/кг на 6% ($P > 0,05$).

На второй день опытов при всех изучаемых дозах наблюдалось понижение ферментативной активности до начального уровня. Общее понижение ее продолжалось и на третий день, до 27% ниже исходного уровня при среднем количестве гормона ($P < 0,01$). При наименьшей дозе активность эктоапиразы понижалась в этот день на 12% ($P > 0,05$), а при наибольшей дозе — на 16% ($P > 0,05$) по сравнению с соответствующим уровнем у контрольных птиц.

Обсуждение

Полученные результаты выявили зависимость активности эктоапиразы эритроцитов цыплят от применяемой дозы T_3 . Таким образом, для реализации действия вводимых гормонов щитовидной железы немаловажное значение имеет их количество, в связи с чем необходимо различать два типа реакций: физиологические и фармакологические. Большие (токсические) дозы могут вызывать последствия, противоположные последствиям, вызванным физиологическими количествами T_4 и T_3 (Tata и др., 1963; Туракулов, 1969). Дневная секреция щитовидной железы цыплят составляет в среднем 0,02 мг T_3 на 1 кг их веса (Singh и др., 1968). Примененные в наших опытах дозы T_3 превышают этот уровень приблизительно в 2,5, 5 и 10 раз.



Динамика активности эктоапиразы эритроцитов цыплят-бройлеров после однократного подкожного введения трийодтиронина в дозах 0,05 (1), 0,1 (2) и 0,2 мг/кг (3).

Сказанным можно, по-видимому, объяснить и различия в изменениях эктоапиразной активности, вызванных T_3 , через 6 и 16 ч после введения этого препарата в организм цыплят. В более поздние сроки (через 24, 48 и 72 ч после введения) наблюдались в основном однонаправленные сдвиги названной активности.

Б. И. Гольдштейн (1959) и Р. Р. Рачев (1969) стимуляцию и торможение ферментативной активности гормонами щитовидной железы мотивируют изменениями количества и реактивности сульфогидрильных групп в ферментных белках. Так как поверхностно-локализованная апираза является энзимом тиоловой природы (Herbert, 1956), то можно предположить, что T_3 , соприкасаясь с эритроцитом, в первую очередь воздействует на эктоапиразу, находящуюся на внешней стороне клетки. В связи с этим можно уменьшения эктоапиразной активности, выявившиеся при двух меньших дозах через 6 ч после подкожного введения T_3 цыплятам, считать результатом первичных процессов, вызванных гормоном. Более поздние сдвиги активности данного фермента (начиная с 16 ч после инъекции) могут быть обусловлены возбуждением других регулирующих систем, оказавшихся под действием T_3 .

Известно (Albert, Keating, 1952; Klein, 1964), что вводимые в организм меченые T_4 и T_3 в течение нескольких часов переходят из крови в печень. Оттуда данные гормоны и их производные через некоторое время движутся в другие ткани и органы. Имеются также сведения о том, что ядерные эритроциты птиц усиленно накапливают T_3 из-за его слабого связывания белковыми фракциями плазмы крови (Slebo-dzinski, 1975). На основе приведенных фактов можно предположить, что выявленное нами подавление эктоапиразной активности эритроцитов под влиянием двух меньших доз T_3 через 6 ч после инъекции служит эффектом непосредственного действия гормона. Действие же прошедшего через печень и связанного с белком T_3 , очевидно, отличается от его первичного влияния. Стимуляцию эктоапиразной активности, таким

образом, можно объяснить как проявление вторичного действия гормона, наблюдаемое при меньших дозах через 16 и 24 ч после инъекции и при 0,2 мг/кг — через 6 ч после введения Т₃. В последнем случае мы, по-видимому, имеем дело с токсической дозой гормона, которая быстрее достигает печени и после прохождения ее действует на активность названного фермента.

Сведения о влиянии Т₃ на активность эктофермента эритроцитов цыплят свидетельствуют о том, что она подчиняется регуляции тиреоидным гормоном. Однако для окончательного решения вопроса о последовательности процессов, вызвавших изменения эктоапиразной активности, необходимо провести дополнительные опыты в условиях *in vitro*.

ЛИТЕРАТУРА

- Гольдштейн Б. И. Биохимические основы механизма действия гормонов. — В кн.: Механизм действия гормонов. Киев, 1959, с. 15—26.
- Кандрор В. И. Некоторые актуальные проблемы механизма действия тиреоидных гормонов. — В кн.: Физиология человека и животных, т. II. Физиология эндокринной системы. М., 1973, с. 7—48.
- Куус Х., Сибуль И., Тамм А. Возрастные изменения эктоапиразной активности эритроцитов цыплят. — Изв. АН ЭССР, Биол., 1977, т. 26, № 4, с. 274—278.
- Рачев Р. Р., Ещенко Н. Д. Тиреоидные гормоны и субклеточные структуры. М., 1975.
- Туракулов Я. Х. Биосинтез и механизм действия гормонов щитовидной железы. — Вестн. Акад. мед. наук СССР, 1969, т. 8, с. 28—40.
- Albert, A., Keating, F. R., Lorenz, N., Ford, E. Role of the gastrointestinal tract, including the liver, in the metabolism of radiothyroxine. — *Endocrinology*, 1952, v. 51, p. 427—443.
- Davison, T. F. The binding of serum thyroxine in *Gallus domesticus* before and after hatching. — *Gen. and Comp. Endocrinol.*, 1976, v. 30, N 2, p. 171—174.
- Dubowitz, L. M. S., Myant, N. B., Osorio, C. A comparison of the binding of thyroid hormones by rat, chicken and human serum. — *J. Physiol.*, 1962, v. 162, N 2, p. 358—366.
- Heninger, R. W., Newcomer, W. S. Plasma protein binding, half-life, and erythrocyte uptake of thyroxine and triiodothyronine in chickens. — *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 1964, v. 116, N 3, p. 624—628.
- Herbert, E. A. A study of the liberation of orthophosphate from adenosine triphosphate by the stromata of human erythrocytes. — *J. Cell. Comp. Physiol.*, 1956, v. 47, N 1, p. 11—36.
- Klein, E. Umsatz und Stoffwechsel der Schilddrüsenhormone. — In: Schilddrüsenhormone und Körperperipherie. Regulation der Schilddrüsenfunktion. Zehntes Symposium der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie in Wien. Berlin—Göttingen—Heidelberg, 1964, S. 14—36.
- Pitot, H. C., Yatvin, M. B. Mammalian hormones and enzymes. — *Physiol. Rev.*, 1973, v. 53, p. 220—325.
- Singh, A., Reineke, E. P., Ringer, R. K. Comparison of thyroid secretion rates in chickens as determined by (1) goiter prevention, (2) thyroid hormone substitution, (3) direct output and (4) thyroxine degradation methods. — *Poultry Sci.*, 1968, v. 47, N 1, p. 205—211.
- Slebodzinski, A. Schilddrüse. — In: Veterinärmedizinische Endokrinologie. Jena, 1975, S. 197—232.
- Tata, J. R., Ernster, L., Lindberg, O., Arrhenius, E., Pedersen, S., Hedman, R. The action of thyroid hormones at the cell level. — *Biochem. J.*, 1963, v. 86, N 3, p. 408—428.
- Thommes, R. C., Hylka, V. W. Plasma iodothyronines in the embryonic and immediate post-hatch chick. — *Gen. and Comp. Endocrinol.*, 1977, v. 32, N 4, p. 417—422.

Helgi KUUS, Ilo SIBUL, Anna TAMM

EKSOGEESE TRIJODTÜRONIINI TOIME BROILERTIBUDE ERÜTROTSÜÜTIDE EKTOAPÜRAASSELE AKTIIVSUSELE

Artiklis on käsitletud trijoodtüroniini (T_3) toimet broilertibude erütrotsüütide ektoapüraassele aktiivsusele 6, 16, 24, 48 ja 72 tundi pärast hormooni ühekordset manustamist (0,05, 0,1 ja 0,2 mg kehakaalu 1 kg kohta). Tulemustest ilmneb T_3 osa nimetatud ensüümi aktiivsuse reguleerijana, kusjuures aktiivsuse languses 6 tundi pärast väiksemate annuste manustamist (kontrollrühmaga võrreldes vastavalt 34 ja 25%) avaldub hormooni vahetu toime, kuna aktiivsuse suurenemist 16 ja 24 tundi pärast väiksemate annuste ning 6 tundi pärast maksimaalse annuse manustamist võib pidada tema sekundaarseks, teiste ektoapüraasi aktiivsust reguleerivate süsteemide kaudu edastatavaks efektiliks. 48 ja 72 tundi pärast katse algust täheldati uuritava ensüümi aktiivsuse langust kõigi kasutatud annuste korral.

Helgi KUUS, Ilo SIBUL, Anna TAMM

INFLUENCE OF TRIIODOTHYRONINE ON THE EKTOAPYRASE ACTIVITY OF BROILER CHICK ERYTHROCYTES

The action of triiodothyronine (T_3) on the ectoapyrase activity of chick erythrocytes was studied 6, 16, 24, 48 and 72 hours after a subcutaneous injection of the hormone in doses 0.05, 0.1 and 0.2 mg per kg body weight. Results show that T_3 takes part in the regulation of the enzymatic activity under discussion. It was concluded that the fall in the activity of ectoapyrase of chick erythrocytes (34 and 25%, respectively, in comparison with the control values) observed 6 hours after injection of the smaller doses of triiodothyronine is the result of a direct influence of the thyroid hormone. Stimulation of the enzymatic activity, produced by the same doses 16 and 24 hours and by the maximal dose 6 hours from the beginning of the experiment, may be explained as a secondary effect of T_3 . 48 and 72 hours after injection there was determined a fall in the activity of ectoapyrase at all doses of triiodothyronine used in the experiment.