

Niveles de adenin nucleótidos en el miocardio de ratas en hiper e hipotiroidismo experimental

J. L. Rey de Viñas y C. Millán

Cátedra de Fisiología Animal
Departamento de Bioquímica del C.S.I.C.
Facultad de Farmacia
Universidad Complutense
Madrid

(Recibido el 30 de octubre de 1979)

J. L. REY DE VIÑAS and C. MILLAN. *Levels of Adenin-nucleotides in the Myocardium of Rats in Experimental Hyper and Hypothyroidism*. Rev. esp. Fisiol., 36, 395-398. 1980.

The adenin-nucleotide concentrations (ATP, ADP, AMP) and orthophosphate (P_i) were studied in the ventricular myocardium of 4 groups of 10 male Wistar rats in the following conditions: 1) Controls; 2) and 3) were injected v.i.p. with thyroid hormone (T_4) 0.25 and 0.50 mg/Kg/day for 16 days, respectively; 4) thyroidectomized after 16 days.

An ATP decrease and a P_i increase, both significant, were observed in the ventricular myocardium of rats treated with 0.50 mg T_4 ; while the group treated with 0.25 mg T_4 did not show any significant parameter changes. The thyroidectomized group, however, experienced an ATP increase and a significant decrease in the concentrations of ADP, AMP and P_i with respect to the control group.

En tirotoxicosis se produce un cronotropismo e inotropismo cardíaco positivos por incremento de la actividad adenilcicla y el consiguiente aumento del 3'-5' AMP cíclico, mientras que en hipotiroidismo sucede lo contrario (6, 15, 17).

La demanda de energía por aumento del metabolismo dependerá de la cantidad de tiroxina (T_4) administrada que pase a triyodotiroxina (T_3), repercutiendo ésta en la síntesis proteica y consumo de ATP, llevando a un mayor consumo de O_2 por el miocardio (1, 11).

El contenido de ATP en el corazón de

ratas tirotóxicas ha sido una cuestión en controversia. Así, para DEGENRING *et al.* (4) se produce un descenso en la concentración de ATP y un aumento de AMP cuando son tratadas por vía i.m. con DL-tiroxina 0,2-0,3 mg durante 7 semanas, con ligero incremento de ADP. Mientras que dichos metabolitos son normales en el miocardio tirotóxico (12), dato este último que está en contra del desacoplamiento de la fosforilación oxidativa *in vivo*, en esas condiciones. También influyen mucho las dosis administradas de T_4 , el tiempo de actuación de las mismas y

las vías de administración (8, 17), así como el proceso de utilización de energía por el miocardio en la contracción (14).

Teniendo en cuenta estos datos preliminares, pareció interesante cuantificar las variaciones de ATP, ADP y AMP, así como de ortofosfato (P_i) en el miocardio ventricular de ratas tratadas con dosis diferentes de T_4 y en hipotiroidismo experimental.

Material y métodos

Se han empleado 40 ratas machos de la raza Wistar, con un peso medio de 195 g, alimentadas *ad libitum* con dieta estándar del laboratorio y mantenidas en jaulas metabólicas a $27^\circ \pm 1^\circ$ C. Fueron divididas en 4 lotes de 10 ratas: el 1.º sirvió como control; al 2.º y 3.º se las inyectó, por vía i.p., tiroxina a la dosis de 0,25 y 0,50 mg/kg/día durante 16 días respectivamente; el 4.º fue tiroidectomizado y mantenido así durante 16 días; el agua de bebida contenía Cl_2Ca al 1 %, como es habitual.

Al final de este período, las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico por vía i.p. (45 mg/kg) y después de 20 minutos de abolido el reflejo flexor de las extremidades posteriores, fueron sacrificadas por golpe en la nuca, desangradas por corte de carótidas, y los corazones extirpados a nivel de la línea auriculo-ventricular e inmediatamente introducidos, mediante unas pinzas, en solución salina bicarbonatada, ajustada a pH 7,4 (0,42 g

de CO_2NH_4 , 0,877 g de $ClNa$ en 1.000 ml de agua destilada) y a 4° C. Para eliminar la sangre del ventrículo, rápidamente fue congelado con tenacillas de aluminio previamente enfriadas con nitrógeno líquido, y pesado; a continuación se homogenizaba en 17 ml de ClO_4H , 0,6 N con un Ultra-Turrax de Janke y Kunkel KG, tipo TP 18-10. El homogenizado fue neutralizado con KOH y centrifugado a $12.000 \times g$ durante 10 min y en los supernadantes se determinaron: ATP, mediante el método de BÜCHER (3); ADP y AMP por el de JAWOREK *et al.* (9), el P_i mediante la técnica de BOGATZKI (2) y ZILVERSMIT (18).

Resultados

Al comparar los valores obtenidos después de 16 días de tratamiento con las dosis de T_4 de 0,25 y 0,50 mg/kg/día durante 16 días, únicamente resultaron significativos con respecto al control, las concentraciones de ATP y de P_i del miocardio ventricular del lote de ratas tirotóxicas tratadas con 0,50 mg de T_4 /kg/día, descendiendo la primera en $2,942 \mu\text{mol/g}$ de miocardio ventricular fresco y la segunda aumentando en $17,49 \mu\text{mol/g}$.

El lote tiroidectomizado presentó un aumento en la concentración de ATP respecto al control de $0,885 \mu\text{mol/g}$ de miocardio ventricular fresco y de descensos significativos en las de ADP, AMP y P_i de 0,286, 0,084 y $7,01 \mu\text{mol/g}$, respectivamente (tabla I).

Tabla I. Fosfatos energéticos (ATP, ADP y AMP) y ortofosfatos (P_i) en el miocardio ventricular de ratas machos a los 16 días de hiper e hipotiroidismo experimental. Cada lote consta de 10 ratas. Media $\pm$ error standard. Las ratas tirotóxicas han sido tratadas con tiroxina (T_4).

Variables ($\mu\text{mol/g mloc.}$)	Control	Tiroidec-tomizadas	Tirotóxicas (0,25 mg/kg)	Tirotóxicas (0,50 mg/kg)
ATP	$5,318 \pm 0,50$	$6,203 \pm 0,30$	$5,119 \pm 0,56$	$2,376 \pm 0,37^a$
ADP	$0,809 \pm 0,04$	$0,523 \pm 0,02^a$	$0,698 \pm 0,05$	$0,707 \pm 0,05$
AMP	$0,405 \pm 0,02$	$0,321 \pm 0,02^b$	$0,347 \pm 0,01$	$0,359 \pm 0,04$
P_i	$26,210 \pm 1,85$	$19,200 \pm 2,65^b$	$31,810 \pm 2,98$	$43,700 \pm 1,07^a$

a = $P < 0,01$; b = $P : 0,05-0,01$.

Discusión

Las ratas tirotóxicas presentan variaciones en las concentraciones de ATP, ADP y AMP, así como del P_i en el miocardio ventricular, dependiendo de la dosis administrada de T_4 .

El descenso de las concentraciones de ATP y el aumento del P_i en los ventrículos del lote tratado con 0,50 mg/kg/día de T_4 pudiera ser debido a un incremento de la demanda energética provocada por el aumento del metabolismo inducido por la hormona tiroidea con respecto a la oferta, para mantener los niveles normales de ATP, datos que están en concordancia con los obtenidos por DEGENRING *et al.* (4) y en contra de PIATNEK-LENNISSEN y OLSON (12), que indican que las concentraciones de compuestos fosforilados ricos en energía son normales en el miocardio tirotóxico, argumento que contradice el desacoplamiento de la función mitocondrial *in vivo* y el deterioro del acoplamiento químico-mecánico del músculo cardíaco de animales tirotóxicos (13).

El aumento significativo del ortofosfato pudiera explicarse como consecuencia del descenso de ATP por una más lenta esterificación del P_i con el ADP, además de una mayor reabsorción de P_i por los túbulos proximales del riñón (10).

Tanto las concentraciones de ADP como de AMP no se modifican significativamente por la administración de tiroxina; sin embargo, ambos metabolitos disminuyen significativamente en el miocardio ventricular de las ratas tiroidectomizadas. Dicha disminución, así como el aumento no significativo de ATP en ratas hipotiroideas, pudiera ser debido al incremento de la actividad creatinfosfoquinasa (resultado no publicado), lo cual generaría ATP a expensas de la fosfocreatina y el ADP; reacción que no ocurriría en los animales tirotóxicos, ya que la tiroxina vacía de creatina a las células musculares y es excretada por la orina (8).

Por otra parte, la disminución de AMP en los animales tiroidectomizados, podría ser consecuencia indirecta de la acción de la creatinfosfoquinasa sobre el ADP para mantener los niveles de ATP.

Se puede concluir indicando que en tirotoxicosis según la dosis de T_4 administrada las concentraciones de ATP y P_i varían en el miocardio ventricular; mientras que en tiroidectomía la concentración de ATP se mantiene a expensas del ADP, AMP y P_i , que disminuyen.

Resumen

Se estudia en el miocardio ventricular de ratas machos Wistar las concentraciones de ATP, ADP y AMP y la de P_i inyectadas por vía i.p. con 0,25 y 0,50 mg/kg/día, durante 16 días, con hormona tiroidea (T_4).

Los resultados muestran un descenso de ATP y un aumento de P_i significativos en el lote tratado con 0,50 mg de T_4 , mientras que no se observaron variaciones significativas en el miocardio ventricular de las ratas tratadas con 0,25 mg/kg/día. Sin embargo, en animales tiroidectomizados se observa un ligero aumento de ATP y descensos significativos en las concentraciones de ADP, AMP y P_i con respecto al control.

Bibliografía

1. BARSANO, CH., DEGROOT, L. J. y GETZ, G. S.: *Endocrinology*, **100**, 52-60, 1977.
2. BOGATZKI, G.: *Archiv Einsenhütten wesen*, **12**, 195-199, 1938.
3. BÜCHER, TH.: *Biochim. Biophys. Acta*, **1**, 292-414, 1947.
4. DEGENRING, F. H., RUBIO, R. y BERNE, R. M.: *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **7**, 105-113, 1975.
5. EPSEIN, S. E., SEVEY, G. S. y KELTON, S.: *Circulation*, **43**, 437-450, 1971.
6. FIRMAT, R. K. E., PRUNIER, J., SCHWARTZ, M. K. y RAWSON, R. W.: *Endocrinology*, **59**, 565-570, 1956.
7. HAGEN, J. H.: *J. Biol. Chem.*, **235**, 2600-2603, 1960.
8. HOCH, F. L.: *Postgrad. Med. J.*, **44**, 347-362, 1968.

9. JAWOREK, D., GRUBER, W. y BERGMAYER, H. U.: En «Methoden der enzymatischen Analyse» (3.^a ed.), Vol. 2, Verlag Chemie, Weinheim, 1974, pp. 2178-2181.
10. MALAMOS, B., FIKAKIS, S. y PANDOS, P. J.: *Endocrinol.*, 45, 269-273, 1979.
11. MASSEY, D. G., BECKLAKE, M. R., Mc KEZIE, J. M. y BATES, D. V.: *New Eng. J. Med.*, 276, 1104-1112, 1967.
12. PIATNEK-LENNISSEN, D. y OLSON, R. E.: *Cir. Res.*, 20, 242-252, 1967.
13. POOL, P. E., SKELTON, C. L., SEAGREN, S. C. y BRAUNWALD, E.: *J. Clin. Invest.*, 47, 80a, 1968.
14. SKELTON, C. L., POOL, P. E., SEAGREN, S. C. y BRAUNWALD, E.: *J. Clin. Invest.*, 50, 463-473, 1971.
15. THYRUM, P. T., KRITCHER, E. M. y LUCHI, R. J.: *Biochim. Biophys. Acta*, 197, 335-336, 1970.
16. VAN PILSUM, J. F., CARLSON, M. BOEN, TAYLOR, D. y ZAKIS, B.: *Endocrinology*, 87, 1237-1244, 1970.
17. WILDENTHAL, K.: *Am. J. Physiol.*, 221, 238-241, 1971.
18. ZILVERSMIT, D. B.: *J. Clin. Med.* 35, 155-160, 1950.