

## Preliminary Notes

---

### Induktion der $\beta$ -Hydroxy- $\beta$ -methylglutaryl-reduktase durch Schilddrüsenhormone

Aus Isotopenversuchen an Ganztieren und Gewebsschnitten ist bekannt, dass bei Überfunktion der Schilddrüse die Synthese des Cholesterins gesteigert, bei Unterfunktion dagegen vermindert ist<sup>1,2</sup>. Als Ursachen dafür kommen vor allem Veränderungen der an der Cholesterinsynthese beteiligten Enzyme in Betracht. Experimente von FLETCHER UND MYANT<sup>3</sup> weisen darauf hin, dass die Bildung von Mevalonat aus Acetat durch Schilddrüsenhormon gesteuert wird. Von den Enzymen dieser Synthesekette erweist sich die  $\beta$ -Hydroxy- $\beta$ -methylglutaryl-reduktase in ihrer Aktivität als besonders leicht beeinflussbar<sup>4,5</sup>. Es wurde deshalb geprüft, ob die Hydroxymethylglutaryl-reduktase der Leber auch durch Einwirkung von Schilddrüsenhormon verändert wird. Zusätzlich wurde das Verhalten der Acetat-thiokinase und des  $\beta$ -Hydroxy- $\beta$ -methylglutaryl-kondensierenden Enzyms beobachtet. Um eine direkte Hormonwirkung auf die Leber nachzuweisen, wurden Versuche am isolierten durchströmten Organ durchgeführt.

Die Versuchstiere waren männliche Sprague-Dawley Ratten des gleichen Inzuchttamms, die mit einer Standard-Diät (Altromin R, Altrogge, Lage, Westfalen) und Wasser *ad libitum* bis zum Versuch gefüttert wurden. Die Hypothyreose wurde durch Thyreoidektomie, die Hyperthyreose durch Thyroxinbehandlung ausgelöst. Der Stoffwechsel wurde durch Bestimmung des Grundumsatzes kontrolliert. Acetatthiokinase<sup>6</sup>, Hydroxymethylglutaryl-kondensierendes Enzym<sup>7</sup> und Hydroxymethylglutaryl-reduktase<sup>5</sup> wurden in löslichen Extrakten gemessen und gleichzeitig in Schnitten der gleichen Leberproben der Einbau von [ $1-^{14}\text{C}$ ]Acetat in das Cholesterin ermittelt<sup>8</sup>. Für die Perfusionsexperimente<sup>9</sup> dienten Lebern hypothyreoter Ratten. Aus diesen Präparaten wurden wiederholt Gewebsproben entnommen und teils zu Schnitten für die Cholesterinsynthese, teils zu löslichen Extrakten für die genannten Enzymbestimmungen verarbeitet. Zusätzlich wurden ATP und ADP sowie durch kontinuierliche A-V-Differenzmessung mit der KRAMERSchen Sauerstofffuhr<sup>11</sup> der Sauerstoffverbrauch des Organs bestimmt<sup>10</sup>.

Aus dem Verhalten des Grundumsatzes und der Cholesterinsynthese ist zu erkennen (Fig. 1), dass die Zufuhr von DL-Thyroxin und die chirurgische Entfernung der Schilddrüse zu den entsprechenden Veränderungen des Stoffwechsels führen. Die Enzymbestimmungen ergaben eine deutliche Abhängigkeit vom Hormonspiegel: Alle drei Enzyme steigen bei der Hyperthyreose parallel zur Cholesterinsynthese an. Dem steht ein Absinken der Enzymaktivitäten bei der Hypothyreose gegenüber. Das Hydroxymethylglutaryl-kondensierende Enzym scheint sich an diesem Verhalten nicht zu beteiligen, doch ist bei der geringen Zahl der in dieser Gruppe vorliegenden Messungen keine sichere Aussage möglich. Am auffälligsten erscheint der Schwund der Hydroxymethylglutaryl-reduktase, welche die untere Grenze der Nachweisbarkeit

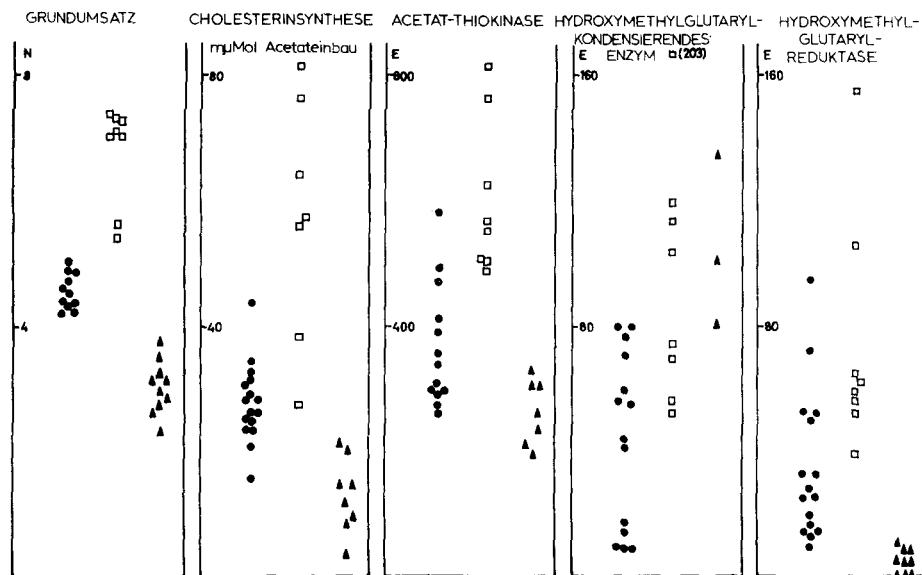


Fig. 1. Das Verhalten von Grundumsatz, Cholesterinsynthese, Acetat-thiokinase, Hydroxymethylglutaryl-kondensierendem Enzym und Hydroxymethylglutaryl-reduktase in der Rattenleber bei verschiedenen Schilddrüsenhormonspiegeln. ●, Normaltiere; □, hyperthyreote Tiere; ▲, hypothyreote Tiere. Beim Grundumsatz ist die Wärmeleistung  $N$  (kcal/h), bezogen auf 1 kg Körpergewicht, angegeben. Die Cholesterinsynthese ist durch den Einbau von [ $1\text{-}^{14}\text{C}$ ]Acetat in die Cholesterinfraktion pro 100 mg Leberschnitten (eine Stunde bei  $37^\circ$ ) gemessen. Die Enzymaktivitäten sind als Einheiten pro mg Protein ausgedrückt. Eine Einheit entspricht einem Substratumsatz von 1  $\mu\text{Mol}$  in 30 Min bei  $37^\circ$ .

TABELLE I

INDUKTION DER HYDROXYMETHYLGLUTARYL-REDUKTASE AN DER ISOLIERTEN,  
PERFUNDIERTEN RATTELENLEBER DURCH TRIOJODTYRONIN

Nach Entnahme der ersten Leberprobe (nach 30 Min) wurde das Hormon in einer Anfangsdosis von 100  $\mu\text{g}$  und weiterhin in Einzeldosen von 50  $\mu\text{g}$  pro Stunde zugegeben. Die Enzymaktivitäten sind als Einheiten pro mg Protein angeführt. (s. Legende zu Fig. 1).

Versuch	Perfusionsdauer (Min)			
	30	120	180	360
<b>Kontrollen</b>				
I	6	—	9	5
II	9	—	7	9
<b>+ Trijodtyronin</b>				
I	10	27	—	67
II	12	45	—	104
III	7.6	—	43.5	73
IV	6.5	—	36	45

erreicht. Die Aktivität dieses Enzyms ist im Zustand der Hypothyreose so gering, dass der Abfall der Cholesterinsynthese hieraus — ähnlich wie beim Hunger<sup>4,5</sup> — verständlich wird.

Um zu klären, ob die am Ganztier beobachteten Veränderungen Ausdruck eines direkten Hormoneffektes sind, wurde die Wirkung von Trijodtyronin an der isolierten

Rattenleber geprüft. Dabei führte die Infusion von insgesamt 350 µg Trijodtyronin im Verlauf von 5.5 Stunden in der hypothyreoten Leber einen kontinuierlichen Wiederanstieg der stark reduzierten Hydroxymethylglutaryl-reduktase auf Werte herbei, die im Bereich der Norm lagen (vgl. Tabelle I). Die Acetat-thiokinase blieb konstant.

Durch diese Versuche wird an einem isolierten und damit den Körperregulationen entzogenen Organ erstmals die Induktion eines Enzyms durch Schilddrüsenhormon nachgewiesen. Ob dieser Effekt mit der von SOKOLOFF UND KAUFMAN<sup>12</sup> beobachteten Stimulierung der Proteinsynthese durch Thyroxin in Zusammenhang steht, muss offen bleiben.

Im Gegensatz zu den Beobachtungen am Ganztier lässt sich in den Perfusionsversuchen eine Stimulierung der Cholesterinsynthese nicht nachweisen. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass Gewebsschnitte aus einer über mehrere Stunden durchströmten Leber in ihrer Struktur nicht mehr vollwertig sind und deshalb bei der Schüttelinkubation des Syntheseversuches stärker als normale Leberschnitte geschädigt werden. Kontrollversuche mit normalen Lebern zeigten einen Rückgang der Cholesterinsynthese nach mehrstündiger Durchströmung bis zu 30 %. Ausserdem könnte auch die Verminderung des ATP in der Leber hypothyreoter Tiere auf etwa 70 % (1.84 µMol/g Frischgewicht) des Normalwertes für die mangelnde Steigerung der Cholesterinsynthese eine Rolle spielen. In diesem Zusammenhang sei erwähnt, dass in keinem Fall am perfundierten Organ eine Steigerung der Atmung durch Trijodtyronin zu beobachten war. Dies könnte ebenfalls mit der Herabsetzung des Leber-ATP in Beziehung gebracht werden.

Die vorliegenden Versuche bieten eine Erklärungsmöglichkeit für den Einfluss der Schilddrüse auf die Cholesterinsynthese. Sie lassen neue Gesichtspunkte für die physiologische Wirkung der Schilddrüsenhormone erkennen.

Die Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Bad Godesberg, unterstützt im Rahmen des Schwerpunkt-programmes Biochemie.

*Laboratorium für klinische Chemie der II.  
Medizinischen Klinik der Universität München (Deutschland)*

F. ARNOLD GRIES\*  
FRANZ MATSCHINSKY  
OTTO WIELAND

- <sup>1</sup> R. H. ROSENMAN, S. O. BYERS UND M. FRIEDMAN, *J. Clin. Endocrinol. and Metabolism*, 12 (1952) 1287.
- <sup>2</sup> W. MARX, S. T. GUSTIN UND C. LEWI, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 83 (1953) 143.
- <sup>3</sup> K. FLETCHER UND N. B. MYANT, *J. Physiol.*, 144 (1958) 361.
- <sup>4</sup> N. L. R. BUCHER, P. OVERATH UND F. LYNNEN, *Biochim. Biophys. Acta*, 40 (1960) 491.
- <sup>5</sup> O. WIELAND, G. LÖFFLER, L. WEISS UND I. NEUFELDT, *Biochem. Z.*, 333 (1960) 10.
- <sup>6</sup> M. A. EISENBERG, *Biochim. Biophys. Acta*, 16 (1955) 58.
- <sup>7</sup> F. LYNNEN, U. HENNING, C. BUBLITZ, B. SÖRBO UND L. KRÖPLIN-RUEFF, *Biochem. Z.*, 330 (1958) 269.
- <sup>8</sup> O. WIELAND UND I. NEUFELDT, *Z. physiol. Chem. Hoppe-Seyler's*, 324 (1961) 101.
- <sup>9</sup> F. MATSCHINSKY, U. MEYER UND O. WIELAND, *Biochem. Z.*, 333 (1960) 48.
- <sup>10</sup> F. MATSCHINSKY UND O. WIELAND, unveröffentlicht.
- <sup>11</sup> K. KRAMER, *Z. Biol.*, 96 (1935) 61.
- <sup>12</sup> L. SOKOLOFF UND S. KAUFMAN, *J. Biol. Chem.*, 236 (1961) 795.

Eingegangen den 1. Dezember, 1961

\* Stipendiat der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Bad Godesberg.