

# 한냉에 노출된 흰쥐에서 갑상선 호르몬이 체열생산에 미치는 영향

황 애 란

인천간호보건전문대학

## 목 차

- I. 서 론
- II. 실험재료 및 방법
- III. 실험결과
- IV. 고 찰

- V. 결 론
- 참고문헌
- 영문초록

## I. 서 론

항온동물이 한냉환경에 노출되면 체내에서 열생산을 증가시키고 열손실을 감소시킴으로써 체온을 유지하게 된다. 이때 열생산 기전은 한냉환경에 노출된 초기에는 주로 shivering에 의존하지만, 한냉환경에 노출되는 기간이 길어질수록 근수축과 무관하며 갑상선 호르몬, catecholamine 및 glucocorticoid에 의해 유발되는 열생산인 nonshivering thermogenesis에 의존하게 된다(Sellers 등, 1954; Smith 및 Hoijer, 1962; Harrison, 1964; Mount, 1979).

갑상선 호르몬이 한냉환경에서의 생존에 필수적이라는 것은 갑상선이 적출된 흰쥐와 thiouracil로 갑상선 호르몬의 생성이 억제된 흰쥐를 한냉환경에 노출시키면 평균수명이 3~7일인데 반해 이 동물에 갑상선 호르몬을 투여할 경우 수주간 생존기간이 연장됨이 보고되면서 부터(Leblond 및 Gross, 1943; Ershoff, 1948) 알려졌다. 이후 갑상선 호르몬이 한냉환경에 노출

되었을 때 체열생산에 미치는 영향에 대하여 많은 연구가 시행되었다. 즉 여러 종의 동물을 한냉환경에 노출시키면 갑상선 무게가 증가하고 갑상선내 혈관신생의 증가, 선세포의 증대 및 colloid의 감소(Kenyon, 1933; Rand 등, 1952), 갑상선의 radioactive iodide 섭취율과 유리율의 증가(Cottle 및 Carlson, 1956; Gregerman 및 Crowder, 1963; Straw 및 Fregly, 1967; Galton 및 Nisula, 1969) 및 산소소모율의 증가(Sellers 및 You, 1950; Stevens 등, 1955; Guz 등, 1961) 등 여러 반응들이 초래되는데 이와같은 사실은 한냉환경에 노출될 때 갑상선 기능이 항진된다는 좋은 증거이다.

갑상선 호르몬에 의한 체열생산 기전에 관해서 1970년 Ismail-Beigi 및 Edelman은 흰쥐에서 갑상선 호르몬의 투여 시간과 골격근에서 증가된 산소소모율의 90% 이상이  $Na^+K^+$ -pump에 의한 에너지 이용에 기인한다고 하였고 그후 갑상선 호르몬의 표적기관에 속하는 간(Ismail-Beigi 및 Edelman, 1971), 골격근(Asano 등, 1976), 심근(Philipson 및 Edelman, 1977), 신장(Lo 등, 1976), 개구리의 표피(Kawada 등, 1969) 및 신생 쥐의 뇌조직(Valcana 및 Timiras,

\* 이화여자 대학원 이하카 박사학위 논문

1969)에서  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-pump}$ 가 중요하다는 것이 보고되었다.

이상과 같은 내용으로 보전대 동물이 한냉 환경에 지속적으로 노출된 경우에 체열생산의 증가는 갑상선기능 항진에 따른  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-pump}$ 의 활성화에 의한다고 생각되므로, 저자는 한냉 환경에 노출된 흰쥐에서 혈청내 갑상선 호르몬의 농도를 측정하고 간 homogenates에서  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-pump}$ 의 효소적 표현인  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-transporting adenosine triphosphatase}$  ( $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ ) 활성도(Skou, 1965)를 측정하고, 간조직절편의  $\text{Na}^+\text{-dependent}$  산소소모율 및 간 mitochondria 분획의 산소소모율을 측정하여 이들간의 상관성을 관찰함으로써 한냉적응시 체열생산 증가기전의 일부를 밝히고자 본 연구를 수행하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### A. 실험재료

#### 1. 실험동물

체중 200gm 내외의 건강한 숫흰쥐(Sprague-dawley)를 1주이상 동물실에서 사육하여 환경에

적응시킨 후 본 실험에 사용하였다. 사료는 단백질이 15% 이상이며 지방이 3% 이상 함유된 시판 혼합사료를 사용하였으며 식수는 상수를 이용하였다.

### 2. 실험군

실험군은 Table 1에 나타낸 바와 같이 대조군 및 4개 실험군으로 구분하여 실험을 수행하였다.

### B. 실험방법

#### 1. 혈청내 갑상선호르몬 농도의 측정

흰쥐를 ether로 마취시킨 후 복부 중앙선을 따라 개복하여 복부대동맥에서 채혈한 다음 이를  $3,000\times\text{g}$ 에서 10분간 원심침전하여 혈청을 분리하였으며, 분석할 때까지  $-20^\circ\text{C}$ 의 냉동실에 보관하였다. 혈청내 triiodothyronine( $\text{T}_3$ ) 및 thyroxine( $\text{T}_4$ ) 농도는 radioimmunoassay 법을 적용하여 측정하였다(Sönksen, 1974).

#### 가. Triiodothyronine( $\text{T}_3$ ) 농도의 측정

시험관에 측정하고자 하는 항원( $\text{T}_3$ )이 들어있는 혈청  $50\mu\text{l}$ 와 0.1% bovine serum albumin (B.S.A.)에 섞여있는 동위원소  $^{125}\text{I}$ 로 표지된  $^{125}\text{I}\text{-T}_3$  용액  $200\mu\text{l}$ 를 넣고 잘 혼합한 후  $\text{T}_3$  antibody coated beads를 RAB-Loader를 이용하

TABLE 1. CHARACTERISTICS OF EXPERIMENTAL ANIMALS

Group	Number of rat	Room temperature ( $^\circ\text{C}$ )	Inducing method
Control (The 1st group)	8	$24\pm 1$	.....
Hyperthyroidism (The 2nd group)	8	$24\pm 1$	*Peritoneal injection of $\text{Na}^+\text{-L-thyroxine}$ (0.5 mg/kg) daily for 7 days
Hypothyroidism (The 3rd group)	8	$24\pm 1$	*Methimazole was added to the drinking water (0.05%) for 14 days
Cold exposure (The 4th group)	32	$3\pm 1$	1, 2, 7, or 14 days of cold exposure
Cold acclimation with administration of methimazole (The 5th group)	4	$3\pm 1$	14 days of cold exposure Methimazole was added to the drinking water (0.05%) during the last 7 days

# according to the method of Tedesco et al. (1977)

여 동시에 각 시험관에 넣고서 이를 실온에서 190 r.p.m.의 shaker에서 1시간동안 흔들어 주면서 반응시켰다. 이때 표준곡선 작성을 위해서는  $T_3$  표준액(0.0~0.8ng/ml) 50 $\mu$ l를 동일한 방법으로 반응시켰다. 반응이 끝난 후 항원-항체 결합형과 유리형을 각각 분리하기 위해 RAB-screen을 시험관대 위에 씌운 후 얹어서 항원-항체가 반응된 beads만을 제외한 용액을 제거시켰다. 이것을 automatic gamma counter(PACKARD, U.S.A.)에서 1분간 방사능을 측정하여 표준곡선을 작성한 다음 실험동물에서 채취한 혈청내  $T_3$  양에 따라 측정된 방사능을 표준곡선 상에서 읽음으로써 산출하였다.

#### 나. Thyroxine( $T_4$ ) 농도의 측정

$T_4$  농도측정과 같은 방법으로 시험관에 측정하고자 하는 혈청 10 $\mu$ l와 0.1% B.S.A.에 섞여 있는  $^{125}$ I- $T_4$  용액 300 $\mu$ l를 넣어 잘 혼합한 후  $T_4$  antibody coated beads를 RAB-Loader를 이용하여 동시에 각 시험관에 넣고서 이를 실온에서 190 r.p.m.의 shaker에서 1시간동안 흔들어 주면서 반응시켰다. 이때 표준곡선 작성을 위해서는  $T_4$  표준액(0~24 $\mu$ g/100ml) 10 $\mu$ l를 사용하여 동일한 방법으로 반응시켰다.  $T_4$ 의 양은  $T_3$  농도측정과 동일한 방법으로 산출하였다.

## 2. 간조직절편 및 mitochondria에서의 산소소모율 측정

### 가. 간조직절편 제작 및 mitochondria 분리

간을 일부 절제하여 미리 2°C 내외로 냉각시킨  $Na^+$ -Ringer 용액내에 넣고 Stadie-Riggs microtome을 이용하여 약 0.4mm 두께로 간조직절편을 제작하였다. 이때 사용한  $Na^+$ -Ringer 용액의 조성은 130mM NaCl, 5mM KCl, 0.5mM  $MgCl_2$ , 1.0mM  $CaCl_2$ , 5mM  $NaH_2PO_4$ , 5mM Tris(hydroxymethyl) aminomethane, 10mM glucose이고, pH는 7.4로 조절하였다(Bernstein 등, 1973).

간 mitochondria의 분리는 Hogeboom (1955)의 방법에 따라 시행하였다. 즉 간을 일부 절제하여 미리 2°C 내외로 냉각시킨 0.32M sucrose 용액내에 넣어서 평량한 후 가위로 잘게 잘라 소절편으로 만들었다. 그후 조직 1gm당 10ml의

0.32M sucrose 용액을 가하여 Dounce homogenizer로 원형질막을 파괴시키고 이를 냉동원침기(Sorvall RC 2-B)를 이용하여 0~3°C에서 800 $\times$ g로 10분간 원심침전한 후 그 상층액을 다시 8,000 $\times$ g로 20분간 원심침전하여 mitochondria 분획을 분리하였다. 이 mitochondria 분획에 새로운 0.32M sucrose 용액을 가하여 이를 부유시킨 후 다시 8,000 $\times$ g로 20분간 원심침전하여 비교적 순수한 mitochondria 분획을 얻었다.

### 나. 산소소모율 측정

$Na^+$ -Ringer 용액이 들어있는 37°C로 조절된 test chamber 속에 제작된 간조직절편을 그 농도가 40mg/3ml 되도록 넣고 incubation 할 때 간조직의 산소소모에 의한 용액내의 산소분압( $PO_2$ )의 감소를  $PO_2$  sensitive electrode와 oxygen monitor system (Y.S.I. Model 53 SA)으로 측정하고 이를 recorder (Sargent SRL)에 기록하였다. 산소소모율은 산소분압의 변화에 용액의 산소용해도를 곱하고 용액량에 대한 보정을 한 후 이를  $\mu$ l  $O_2$ /hour·mg tissue weight로 나타내었다. 이때 수조인에 들어있는 두개의 test chamber 중 하나에는 ouabain을 1mM 되게 첨가하여 산소소모량을 측정하고 이 값과 ouabain을 첨가하지 않은 다른 chamber의 산소소모량과의 차를 구함으로써  $Na^+$ -dependent 산소소모율을 구하였다.

간 mitochondria에서의 산소소모율 측정은 상기한 바와 같은 방법으로 측정하되 3ml의 incubation 용액내에 3mg의 mitochondria 분획을 첨가하였으며 그 값을  $\mu$ l  $O_2$ /hour·mg protein으로 나타내었다. 이때 incubation 용액의 조성은 87 mM KCl, 6mM  $MgCl_2$ , 12mM  $Na_2HPO_4$ , 3mM  $NaH_2PO_4$ , 12mM NaF, 100mg% glucose이고 pH는 7.4로 조절하였다(Chance 및 Williams, 1955). 그리고 phosphate acceptor로는 adenosine diphosphate (ADP)를 0.1mM 되도록 첨가했다.

## 3. 간 homogenates의 $Na^+$ - $K^+$ -ATPase 활성도 측정

간조직 1gm을 평량하여 미리 0~2°C로 냉각시킨 10ml의 homogenizing medium (0.25M

sucrose, 1.25mM ethylene glycol-bis [ $\beta$ -amino-ethyl ether] N,N-tetraacetic acid, 10mM Tris [hydroxymethyl] aminomethane, pH7.0)에 넣고 가위로 소절편을 만든 후 teflon-glass homogenizer를 이용하여 homogenates를 만들고 이에 deoxycholate 용액(250mM mannitol, 30mM histidine, 5mM ethylene diamine tetraacetic acid, 0.25%  $\text{Na}^+$ -deoxycholate, pH 6.8) 1ml를 첨가하여 20°C에서 20분간 incubation 시킨 후 이를 냉농원집기(Sorvall RC 2-B)에서 8,000×g로 20분간 원심침전하여 그 상층액을 취하였다(Ismail-Beigi 및 Edelman, 1971).

$\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase 활성도는 간 homogenates의 8,000×g 분획의 상층액에서 측정하였다. 즉 상층액을 단백질 농도가 0.15mg/ml 되도록 incubation 용액내에 넣고 37°C에서 incubation 할 때  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase로부터 분해되어 나오는 무기인산(Pi)의 양을 측정하여 산출하였다. Incubation 용액의 조성은 총 ATPase 활성도 측정 시에는 100mM NaCl, 10mM KCl, 5mM  $\text{MgCl}_2$ , 50mM Tris (hydroxymethyl) aminomethane, 5mM adenosine triphosphate (ATP), pH7.4 이었으며  $\text{Mg}^{++}$ -ATPase 활성도 측정 시에는 이 중에서 NaCl 및 KCl을 제외시켰고 ouabain을 1 mM이 되도록 첨가하였다(Skou, 1965). 실험방법은 상층액을 preincubation 용액이 든 시험관에 넣고 10분간 preincubation 하고서 ATP를 가하여 5분간 incubation 한 후 여기에 12%  $\text{HClO}_4$ (0.2ml/ml incubation 용액)를 가하여 반응을 종료시키고 이것을 3,500×g에서 12분간 원심침전한 후 상층액을 취해 Fiske 및 Subba Row (1925)의 방법에 따라 그 속의 무기인산 농도를 측정하였다. 이때  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase 활성도는 총 ATPase 활성도( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , 및  $\text{Mg}^{++}$ 이 모두 존재하는 용액에서의 Pi 생성량)와  $\text{Mg}^{++}$ -ATPase 활성도( $\text{Na}^+$  및  $\text{K}^+$ 이 제외되고 ouabain이 첨가된 용액에서의 Pi 생성량)의 차로써 구하였다.

#### 4. 단백질농도 측정

Mitochondria 부유액과 homogenates의 8,000×g 분획의 상층액의 단백질농도는 Gornall 등

(1949)의 Biuret 비색법을 이용하여 측정하였으며, 단백질 표준액으로는 bovine serum albumin을 사용하였다.

### III. 실험결과

#### A. 갑상선기능 상태에 따른 혈청내 갑상선호르몬 농도, 간조직의 산소소모율 및 $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase 활성도의 변화

본 실험에서 유발한 갑상선기능 항진증 및 저하증시에 흰쥐의 혈청내  $\text{T}_3$  및  $\text{T}_4$  농도는 Table 2와 Fig. 1에 나타난 바와 같다. 즉  $\text{T}_3$  농도는 갑상선 기능이 정상인 대조군의  $71.7 \pm 2.73 \text{ ng/100ml}$ 에 비해 제 2군에서는  $900.7 \pm 233.80 \text{ ng/100ml}$ 로 유의있게 증가( $P < 0.01$ )하였고, 제 3군에서는  $31.8 \pm 1.63 \text{ ng/100ml}$ 로 유의있게 감소( $P < 0.001$ )하였다. 또한  $\text{T}_4$  농도도 제 2군에서는  $83.8 \pm 19.38 \mu\text{g/100ml}$ 이고 제 3군에서는  $1.21 \pm 0.14 \mu\text{g/100ml}$ 로 대조군의  $4.24 \pm 0.13 \mu\text{g/100ml}$ 에 비해 유의있게 증가( $P < 0.001$ ) 혹은 감소( $P < 0.001$ )하였다. 이러한 사실은 본실험에서 사용한 방법으로 갑상선기능 항진증 및 저하증이 효과적으로 유발되었음을 나타낸다.

갑상선 호르몬의 농도변화에 따른 간 homogenates의  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase 활성도는 대조군의  $1.04 \pm 0.03 \mu\text{moles Pi/hour} \cdot \text{mg protein}$ 에 비해 제 2군에서는  $2.18 \pm 0.15 \mu\text{moles Pi/hour} \cdot \text{mg protein}$ 으로 유의있게 증가( $P < 0.001$ )하였고, 제 3군에서는  $0.71 \pm 0.03 \mu\text{moles Pi/hour} \cdot \text{mg protein}$ 으로 유의있게 감소( $P < 0.001$ )하였다(Table 3, Fig. 2).  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase 활성도에 대한 동력학적 분석결과 ATPase의  $V_{\text{max}}$ 와  $K_m$ 치는 각각 대조군에서  $1.29 \mu\text{moles Pi/hour} \cdot \text{mg protein}$ ,  $1.14 \text{ mM}$ 이었고, 제 2군에서는  $2.97 \mu\text{moles Pi/hour} \cdot \text{mg protein}$ ,  $1.39 \text{ mM}$ , 제 3군에서는  $0.89 \mu\text{moles Pi/hour} \cdot \text{mg protein}$ ,  $1.05 \text{ mM}$ 로  $V_{\text{max}}$ 치는 제 2군에서 증가하였고 제 3군에

TABLE 2. SERUM T<sub>3</sub> AND T<sub>4</sub> LEVELS IN EUTHYROID, HYPERTHYROID, AND HYPOTHYROID RATS

Group	T <sub>3</sub> (ng/100ml serum)	T <sub>4</sub> (μg/100ml serum)
Euthyroidism	71.7±2.73	4.24±0.13
Hyperthyroidism	900.7±233.80*	83.8±19.38**
Hypothyroidism	21.8±1.63**	1.21±0.14**

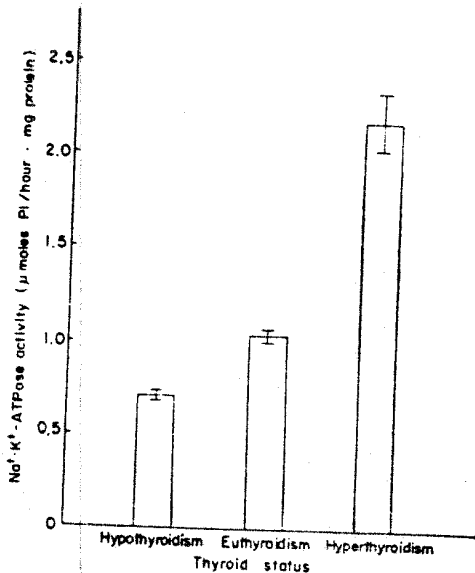
Each value represents mean±1 standard error of 8 rats.

\*P<0.01 \*\*P<0.001

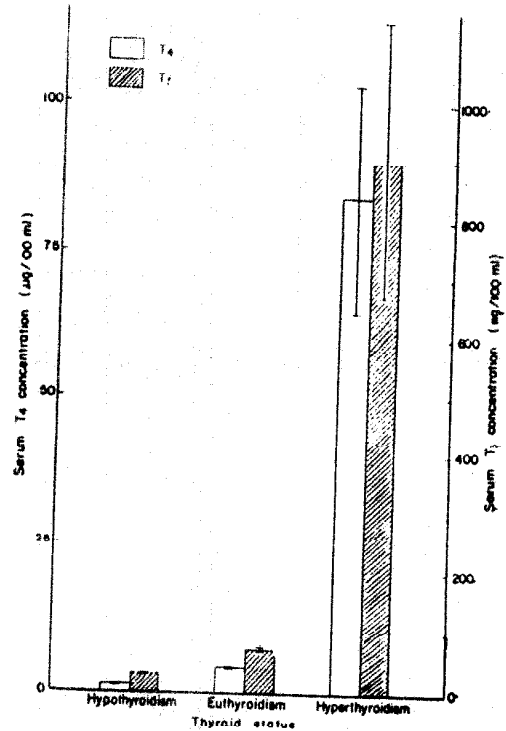
TABLE 3. Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase ACTIVITY OF LIVER HOMOGENATES IN EUTHYROID, HYPERTHYROID, AND HYPOTHYROID RATS

Group	Na <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> -ATPase activity (μ moles Pi/hour·mg protein)	P
Euthyroidism	1.04±0.03	
Hyperthyroidism	2.18±0.15	<0.001
Hypothyroidism	0.71±0.03	<0.001

Each value represents mean ±1 standard error of 8 rats.

Fig. 2. Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase activity of liver homogenates in euthyroid, hyperthyroid, and hypothyroid rats

Each point represents the mean of 8 rats.  
Vertical bars represent ±1 standard error.

Fig. 1. Serum T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> levels in euthyroid, hyperthyroid, and hypothyroid rats  
Each point represents the mean of 8 rats  
Vertical bars represent ±1 standard error

서는 감소하였으나 K<sub>M</sub>치는 어느 경우나 별로 변화하지 않았다(Table 4, Fig. 3).

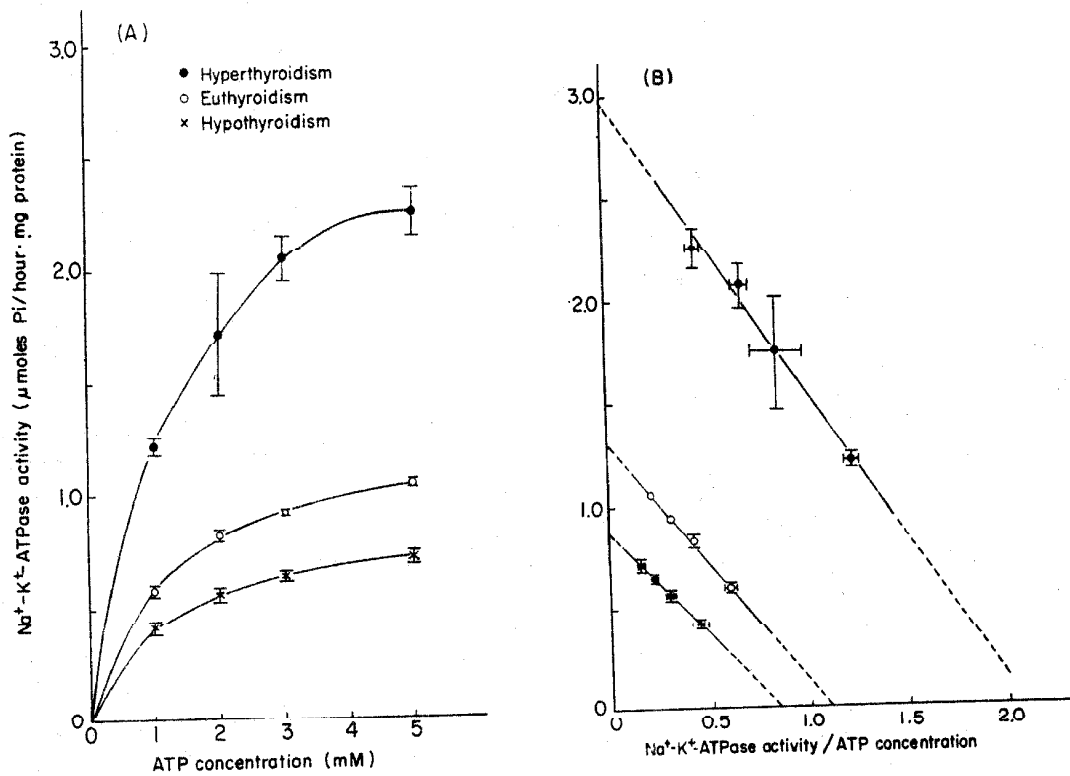
한편 간조직절편의 Na<sup>+</sup>-dependent 산소소모율 및 간 mitochondria 분획의 산소소모율의 변화는 Table 5와 Fig. 4에서 보는 바와 같다.

즉 Na<sup>+</sup>-dependent 산소소모율은 대조군의 0.14±0.008μO<sub>2</sub>/hour·mg tissue에 비해 제 2군에서는 0.19±0.021μO<sub>2</sub>/hour·mg tissue로 유의있게 증가(P<0.05)하였고, 제 3군에서는 0.08±0.010μO<sub>2</sub>/hour·mg tissue로 유의있게 감소(P<0.001)하였다. 또한 mitochondria 분획의 산소소모율은 대조군의 43.9±1.69μO<sub>2</sub>/hour·mg protein에 비해 제 2군에서는 111.0±7.95μO<sub>2</sub>/hour·mg protein으로 유의있게 증가(P<0.001)하였고, 제 3군에서는 20.8±2.02μO<sub>2</sub>/hour·mg protein으로 유의있게 감소(P<0.001)하였다.

**TABLE 4(A). INITIAL VELOCITY OF THE  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  REACTION AS A FUNCTION OF ATP CONCENTRATION IN EUTHYROID, HYPERTHYROID, AND HYPOTHYROID RATS**

ATP concentration (mM)	Euthyroidism		Hyperthyroidism		Hypothyroidism	
	$\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity ( $\mu\text{moles Pi/hr}\cdot\text{mg protein}$ )	$\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity/ATPconc.	$\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity ( $\mu\text{moles Pi/hr}\cdot\text{mg protein}$ )	$\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity/ATPconc.	$\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity ( $\mu\text{moles Pi/hr}\cdot\text{mg protein}$ )	$\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity/ATPconc.
1	$0.59 \pm 0.019$	$0.59 \pm 0.019$	$1.22 \pm 0.036$	$1.22 \pm 0.036$	$0.42 \pm 0.037$	$0.42 \pm 0.037$
2	$0.83 \pm 0.026$	$0.41 \pm 0.013$	$1.72 \pm 0.274$	$0.86 \pm 0.137$	$0.56 \pm 0.029$	$0.28 \pm 0.015$
3	$0.93 \pm 0.005$	$0.30 \pm 0.003$	$2.05 \pm 0.105$	$0.68 \pm 0.034$	$0.64 \pm 0.018$	$0.21 \pm 0.007$
5	$1.04 \pm 0.013$	$0.21 \pm 0.004$	$2.26 \pm 0.098$	$0.45 \pm 0.020$	$0.71 \pm 0.028$	$0.14 \pm 0.006$

Each value represents mean  $\pm 1$  standard error of 4 experiments.



**Fig. 3. (A)** Initial velocity of the  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  reaction as a function of ATP concentration in euthyroid, hyperthyroid, and hypothyroid rats

Each point represents the mean of 4 experiments  $\pm 1$  standard error.

**(B)** Hofstee plot of the data shown in (A)  
Lines were drawn by the least-square analysis. In this plot the intercept of the line with the Y axis represents  $V_{\text{max}}$ , and the slope represents  $-K_m$ .

TABLE 4(B). Vmax. AND  $K_M$  VALUE BY HOFSTEE PLOT OF THE DATA SHOWN IN (A)

Group	Vmax. ( $\mu$ moles Pi/hour·mg protein)	$K_M$ (mM)
Euthyroidism	1.29	1.14
Hyperthyroidism	2.97	1.39
Hypothyroidism	0.89	1.05

TABLE 5. OXYGEN CONSUMPTION RATE OF LIVER MITOCHONDRIA AND  $Na^+$ -DEPENDENT OXYGEN CONSUMPTION RATE OF LIVER SLICES IN EUTHYROID, HYPERTHYROID, AND HYPOTHYROID RATS

Group	Mitochondrial oxygen consumption rate ( $\mu$ lO <sub>2</sub> /hour·mg protein)	$Na^+$ -dependent oxygen consumption rate ( $\mu$ lO <sub>2</sub> /hour·mg tissue)
Euthyroidism	43.9 $\pm$ 1.69	0.14 $\pm$ 0.008
Hyperthyroidism	111.0 $\pm$ 7.95**	0.19 $\pm$ 0.021*
Hypothyroidism	20.8 $\pm$ 2.02**	0.08 $\pm$ 0.010**

Each value represents mean  $\pm$ 1 standard error of 8 rats.

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.001$

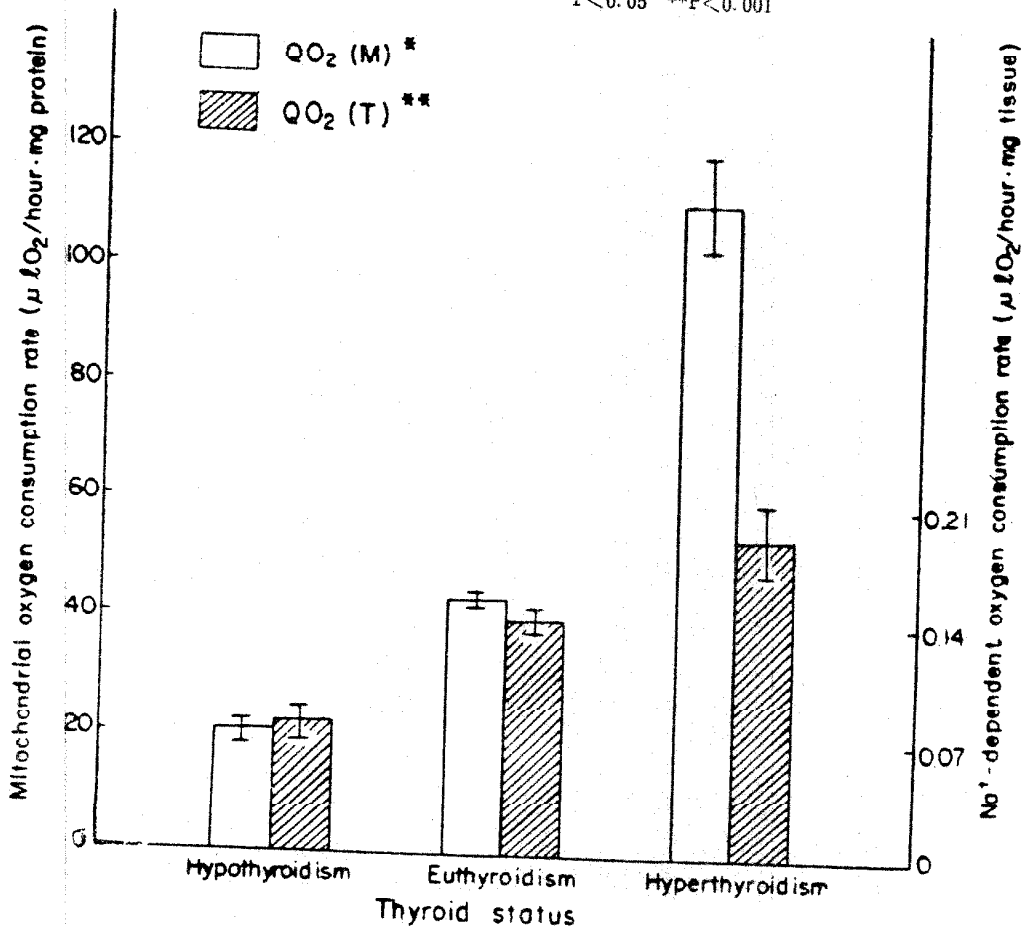


Fig. 4. Oxygen consumption rate of liver mitochondria and  $Na^+$ -dependent oxygen consumption rate of liver slices in euthyroid, hyperthyroid, and hypothyroid rats

\*QO<sub>2</sub>(M) : Oxygen consumption rate of liver mitochondria

\*\*QO<sub>2</sub>(T) :  $Na^+$ -dependent oxygen consumption rate of liver slices

Each point represents the mean of 8 rats.

Vertical bars represent  $\pm$ 1 standard error.

TABLE 6. EFFECT OF COLD EXPOSURE ON SERUM T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> LEVELS AND T<sub>3</sub>/T<sub>4</sub> RATIOS IN RATS

Duration of cold exposure (days)	T <sub>3</sub> (ng/100ml serum)	T <sub>4</sub> (μg/100ml serum)	T <sub>3</sub> /T <sub>4</sub> ratio
0	71.7±2.73	4.24±0.13	16.9±0.47
1	95.8±4.85***	4.02±0.30	24.5±1.74***
2	83.3±4.26*	3.40±0.38	27.0±3.33**
7	78.4±0.07	2.84±0.31***	28.6±1.87***
14	61.4±3.98	1.28±0.28***	53.6±8.86***

Each value represents mean ±1 standard error of 8 rats.

\*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001

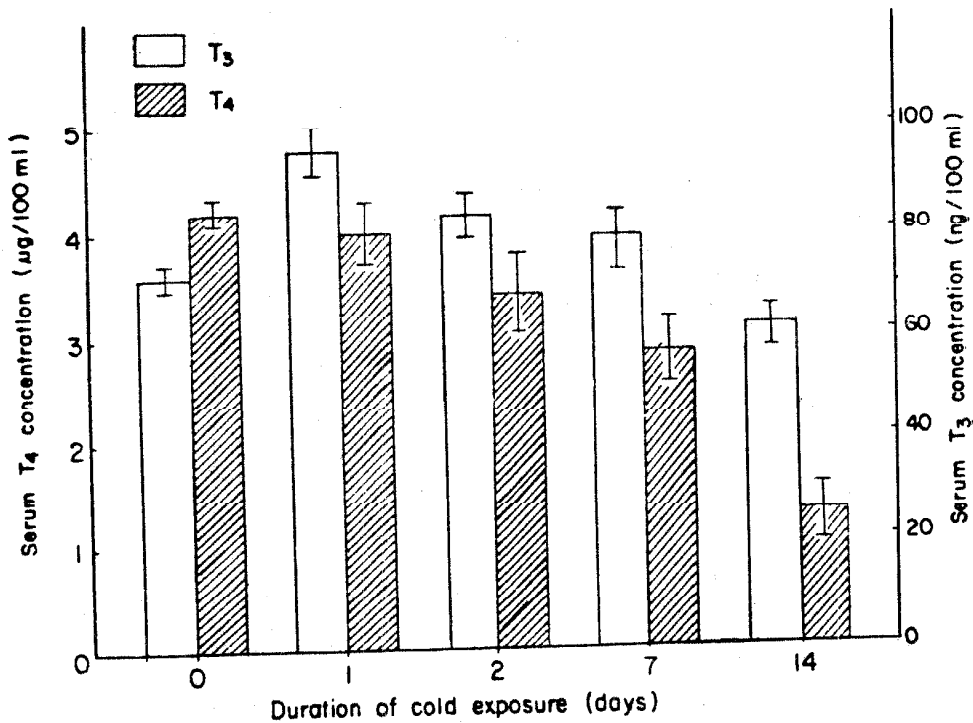


Fig. 5. Effect of cold exposure on serum T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> levels in rats

Each point represents the mean of 8 rats.

Vertical bars represent ±1 standard error.

#### B. 한냉환경에 노출된 흰쥐에서 혈청 내 갑상선호르몬 농도, 간조직의 산소소모율 및 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 활성도의 변화

혈청내 T<sub>3</sub> 농도는 한냉환경에 노출된 후 만 1 일째에 대조군의 71.7±2.73ng/100ml에서 95.8 ±4.85ng/100ml로 급격히 증가했다가(P<0.001) 만 2일째에는 83.3±4.26ng/100ml로 감소된 후

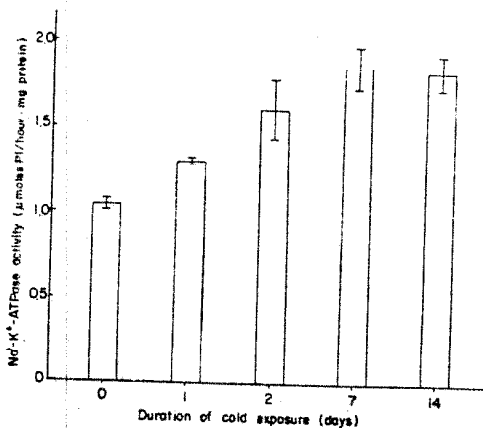
계속 서서히 감소되어 한냉환경에 노출된지 만 14일째에는 61.4±3.98ng/100ml로 대조군에 유 사한 값을 보였다. 한편 혈청내 T<sub>4</sub> 농도는 한냉 환경에 노출됨에 따라 점차 감소되어 만 14일째 에는 1.28±0.28μg/100ml로 대조군의 4.24± 0.13μg/100ml의  $\frac{1}{3}$  정도로 감소(P<0.001)하였 다. 따라서 혈청내 T<sub>3</sub>/T<sub>4</sub> 비율은 한냉환경에 노 출된 기간에 따라 대조군에 비해 유의하게 증가 (P<0.01)하였다(Table 6, Fig.5).



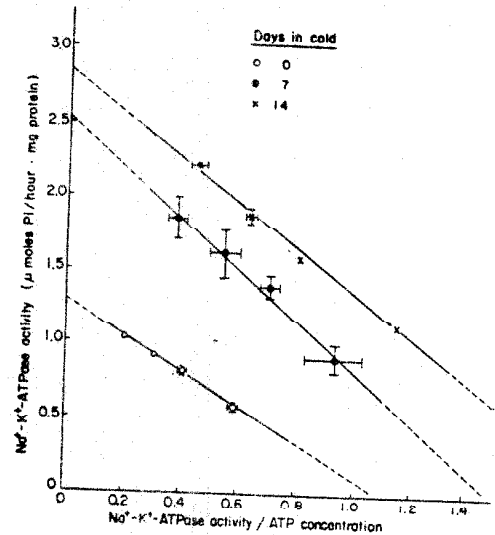
**TABLE 7. EFFECT OF COLD EXPOSURE ON THE  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase ACTIVITY OF RAT LIVER HOMOGENATES**

Duration of cold exposure(days)	$\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase activity ( $\mu\text{moles Pi/hr}\cdot\text{mg protein}$ )	P
0	$1.04\pm 0.03$	
1	$1.30\pm 0.02$	$<0.001$
2	$1.60\pm 0.17$	$<0.01$
7	$1.85\pm 0.13$	$<0.001$
14	$1.83\pm 0.10$	$<0.001$

Each value represents mean  $\pm 1$  standard error of 8 rats.



**Fig. 6.** Effect of cold exposure on the  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase activity of rat liver homogenates. Each point represents the mean of 8 rats. Vertical bars represent  $\pm 1$  standard error.



**Fig. 7.** Hofstee plot of the  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase reaction of liver homogenates in cold exposed rats. Each point represents the mean of 4 experiments  $\pm 1$  standard error. In this plot the intercept of the line with Y-axis represents  $V_{\text{max}}$  and the slope represents  $-K_M$ .

간 homogenates의  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase 활성도는 한냉환경에 노출된  $1.04\pm 0.03\mu\text{ moles Pi/hr}\cdot\text{mg protein}$ 이었던 것이 노출 만 2일째에  $1.60\pm 0.17\mu\text{ moles Pi/hr}\cdot\text{mg protein}$ 으로 급격히 증가( $P<0.01$ )된 후 노출 만 14일째까지 큰 변화를 보이지 않았다(Table 7, Fig. 6).  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase 활성도의 동력학적 분석결과  $V_{\text{max}}$ 와

**TABLE 8(A). EFFECT OF COLD EXPOSURE ON INITIAL VELOCITY OF THE  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase REACTION AS A FUNCTION OF ATP CONCENTRATION**

ATP concentration (mM)	Duration of cold exposure (days)					
	0		7		14	
	$\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase activity ( $\mu\text{moles Pi/hr}\cdot\text{mg protein}$ )	$\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase activity / ATPconc.	$\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase activity ( $\mu\text{moles Pi/hr}\cdot\text{mg protein}$ )	$\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase activity / ATPconc.	$\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase activity ( $\mu\text{moles Pi/hr}\cdot\text{mg protein}$ )	$\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase activity / ATPconc.
1	$0.59\pm 0.019$	$0.59\pm 0.019$	$0.92\pm 0.094$	$0.92\pm 0.094$	$1.15\pm 0.007$	$1.15\pm 0.007$
2	$0.83\pm 0.026$	$0.41\pm 0.013$	$1.40\pm 0.074$	$0.70\pm 0.037$	$1.60\pm 0.010$	$0.80\pm 0.006$
3	$0.93\pm 0.005$	$0.30\pm 0.003$	$1.63\pm 0.156$	$0.54\pm 0.053$	$1.89\pm 0.045$	$0.63\pm 0.017$
5	$1.04\pm 0.013$	$0.21\pm 0.004$	$1.86\pm 0.138$	$0.37\pm 0.027$	$2.20\pm 0.100$	$0.44\pm 0.019$

Each value represents mean  $\pm 1$  standard error of 4 experiments.

TABLE 8(B).  $V_{max}$ . AND  $K_m$  VALUE BY HOFSTEE PLOT OF THE DATA SHOWN IN (A)

Duration of cold exposure (days)	$V_{max}$ . ( $\mu$ moles Pi/hour·mg protein)	$K_m$ (mM)
0	1.29	1.14
7	2.52	1.67
14	2.83	1.45

$K_m$ 치는 각각 한냉환경에 노출되기 전 1.29  $\mu$ moles Pi/hour·mg protein, 1.14mM에서 노출만 7일째에 2.52  $\mu$ moles Pi/hour·mg protein, 1.67mM, 노출만 14일째에 2.83  $\mu$ moles Pi/hour·mg protein, 1.45mM로 한냉환경에 노출

TABLE 9. EFFECT OF COLD EXPOSURE ON OXYGEN CONSUMPTION RATE OF LIVER MITOCHONDRIA AND  $Na^+$ -DEPENDENT OXYGEN CONSUMPTION RATE IN RATS

Duration of cold exposure (days)	Mitochondrial oxygen consumption rate ( $\mu$ lO <sub>2</sub> /hour·mg protein)	$Na^+$ -dependent oxygen consumption rate ( $\mu$ lO <sub>2</sub> /hour·mg tissue)
0	43.9 $\pm$ 1.69	0.14 $\pm$ 0.008
1	62.4 $\pm$ 5.99**	0.15 $\pm$ 0.014
2	65.8 $\pm$ 4.54***	0.22 $\pm$ 0.020*
7	66.4 $\pm$ 7.28**	0.24 $\pm$ 0.027**
14	66.8 $\pm$ 4.03***	0.21 $\pm$ 0.030*

Each value represents mean  $\pm$ 1 standard error of 8 rats.

\* $F < 0.05$  \*\* $F < 0.01$  \*\*\* $F < 0.001$

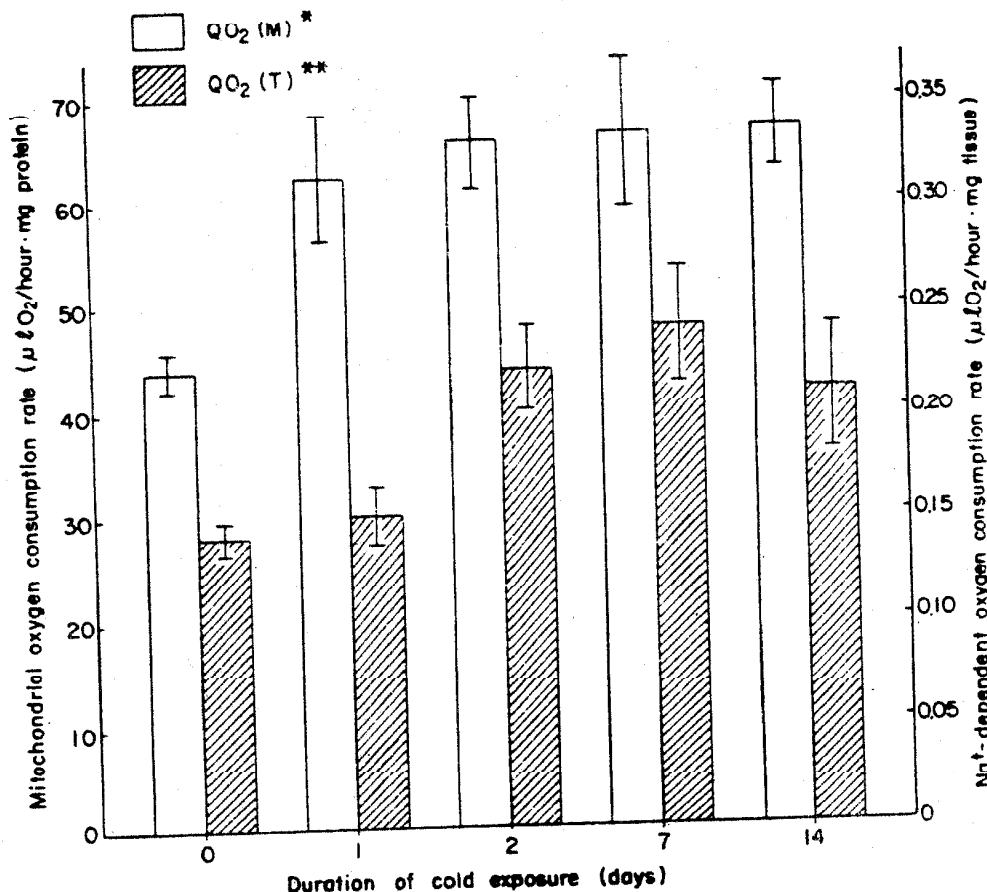


Fig. 8. Effect of cold exposure on oxygen consumption rate of liver mitochondria and  $Na^+$ -dependent oxygen consumption rate of liver slices in rats

\*QO<sub>2</sub>(M) : Oxygen consumption rate of liver mitochondria

\*\*QO<sub>2</sub>(T) :  $Na^+$ -dependent oxygen consumption rate of liver slices

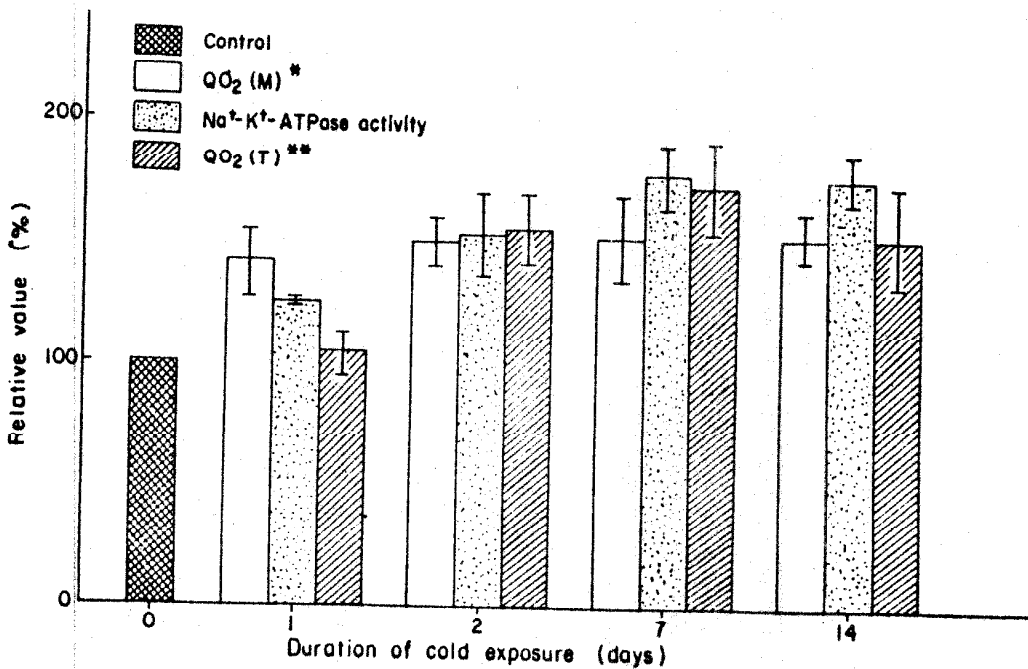
Each point represents the mean of 8 rats.

Vertical bars represent  $\pm$ 1 standard error.

**TABLE 10. RELATIVE CHANGES IN OXYGEN CONSUMPTION RATE OF LIVER MITOCHONDRIA, Na<sup>+</sup>-DEPENDENT OXYGEN CONSUMPTION RATE OF LIVER SLICES, AND Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase ACTIVITY OF LIVER HOMOGENATES DURING COLD EXPOSURE IN RATS**

Duration of cold exposure (days)	Mitochondrial oxygen consumption rate (%)	Na <sup>+</sup> -dependent oxygen consumption rate (%)	Na <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> -ATPase activity (%)
0	100.0	100.0	100.0
1	142.2±13.7	104.1±9.7	125.3±1.7
2	150.0±10.4	155.4±14.1	153.7±16.7
7	151.2±16.6	172.3±19.4	177.6±12.9
14	152.1±9.2	151.8±21.1	176.3±10.1

Each value represents mean  $\pm$  1 standard error of 8 rat.



**Fig. 9. Relative changes in oxygen consumption rate of liver mitochondria, Na<sup>+</sup>-dependent oxygen consumption rate of liver slices, and Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase activity of liver homogenates during cold exposure in rats**

\*QO<sub>2</sub>(M) : Oxygen consumption rate of liver mitochondria

\*\*QO<sub>2</sub>(T) : Na<sup>+</sup>-dependent oxygen consumption rate of liver slices

Each point represents the mean of 8 rats.

Vertical bars represent  $\pm$  1 standard error.

된 기간에 따라 Vmax 치가 현저히 증가하지만 K<sub>M</sub> 치에는 별 변화가 없었다(Table 8, Fig. 7).

간조직절편의 Na<sup>+</sup>-dependent 산소소모율은 한냉환경 노출 전 0.14±0.008μO<sub>2</sub>/hour·mg tissue 였던 것에 노출 만 2일째에 0.22±0.020μO<sub>2</sub>/

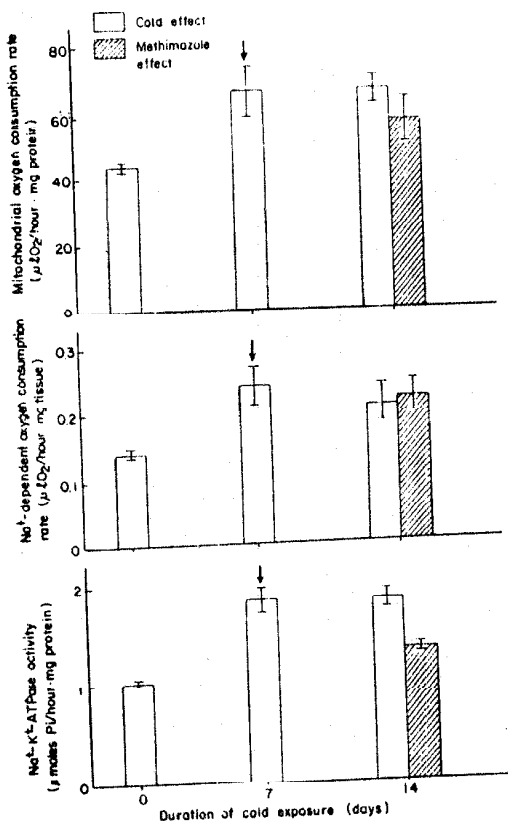
hour·mg tissue로 급격히 증가(P<0.05)된 후, 노출 만 14일째까지 별 변화를 보이지 않았다. 이와 유사하게 mitochondria 분획의 산소소모율 역시 한냉환경 노출 전 43.9±1.69μO<sub>2</sub>/hour·mg protein에서 노출 만 2일째에 65.8±4.54μO<sub>2</sub>/

**TABLE 11. EFFECT OF METHIMAZOLE ON OXYGEN CONSUMPTION RATE OF LIVER MITOCHONDRIA, Na<sup>+</sup>-DEPENDENT OXYGEN CONSUMPTION RATE OF LIVER SLICES, AND Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase ACTIVITY OF LIVER HOMOGENATES IN COLD ACCLIMATED RATS**

Group	Mitochondrial oxygen consumption rate ( $\mu\text{O}_2/\text{hour}\cdot\text{mg protein}$ )	Na <sup>+</sup> -dependent oxygen consumption rate ( $\mu\text{O}_2/\text{hour}\cdot\text{mg tissue}$ )	Na <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> -ATPase activity ( $\mu\text{moles Pi}/\text{hour}\cdot\text{mg protein}$ )
Control	43.9±1.69	0.14±0.008	1.04±0.03
Cold exposure (7 days)	66.4±7.28**	0.24±0.027**	1.85±0.13***
Cold exposure (14 days)	66.8±4.03***	0.21±0.030*	1.83±0.10***
Cold acclimation with administration of methimazole (7 days)	56.8±7.17*	0.22±0.026**	1.33±0.06***

Each value represents mean±1 standard error of 4~8 rats

\*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001



**Fig. 10. Effect of methimazole on oxygen consumption rate of liver mitochondria, Na<sup>+</sup>-dependent oxygen consumption rate of liver slices, and Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase activity of liver homogenates in cold acclimated rats.**

Each point represents the mean of 4~8 rats. Vertical bars represent ±1 standard error. Arrows indicate the date of methimazole administration.

hour·mg protein으로 급격히 증가 (P<0.01)된 후 노출 만 14일째까지 그대로 유지되었다 (Table 9, Fig. 8).

한냉환경에 노출된 기간에 따른 간 homogenates의 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 활성도, 간조직절편의 Na<sup>+</sup>-dependent 산소소모율 및 간 mitochondria 분획의 산소소모율의 상대적인 변화는 삼자가 모두 한냉환경 노출 만 2일째에 약 50%정도 증가하였고 그 이후 만 14일째까지는 별 변화없이 유지되었다 (Table 10, Fig. 9).

### C. 한냉적응이 일어난 흰쥐에서 methimazole의 효과

제 5군의 생존율은 100%였으며, 간조직의 산소소모율과 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 활성도의 변화는 Table 11과 Fig. 10에 나타난 바와 같다. 즉 간 homogenates의 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 활성도, 간조직절편의 Na<sup>+</sup>-dependent 산소소모율 및 간 mitochondria 분획의 산소소모율은 각각 1.33±0.06  $\mu\text{moles Pi}/\text{hour}\cdot\text{mg protein}$ , 0.22±0.026  $\mu\text{O}_2/\text{hour}\cdot\text{mg tissue}$  및 56.8±7.17  $\mu\text{O}_2/\text{hour}\cdot\text{mg protein}$ 으로 한냉환경에만 14일간 노출시킨 군의 1.83±0.10  $\mu\text{moles}/\text{hour}\cdot\text{mg protein}$ , 0.21±0.030  $\mu\text{O}_2/\text{hour}\cdot\text{mg tissue}$  및 66.8±4.03  $\mu\text{O}_2/\text{hour}\cdot\text{mg protein}$ 에 비해서는 다소 그 값이 낮았으나 대조군의 1.04±0.03  $\text{O}_2/\text{hour } \mu\text{moles Pi}/\text{hour}\cdot\text{mg protein}$ , 0.14±0.008  $\mu\text{O}_2/\text{hour}\cdot\text{mg}$

tissue 및  $43.9 \pm 1.69 \mu\text{O}_2/\text{hour} \cdot \text{mg protein}$ 에 비해서는 유의 있는 증가( $P < 0.05$ )를 보였다.

#### IV. 고찰

세포막의  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ -pump의 활성화가 갑상선 호르몬에 의한 체열생산의 상당부분을 매개한다는 것은 여러 연구자들에 의해 보고된 바 있다. 즉 Ismail-Beigi 및 Edelman (1974)은 흰쥐에게  $\text{T}_3$ 를 투여하였을 때 간조직에서의 산소소모율,  $\text{Na}^+$ -dependent 산소소모율 및  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ -ATPase 활성도의 증가가 유사한 경시적 변동(time course)을 보인다고 하였으며, Ismail 등 (1979)은 이와같은 결과를 간세포의 단층배양(monolayer culture)에서 관찰한 바 있고, Ismail-Beigi 및 Edelman (1973)은 흰쥐의 간조직절편에서  $\text{T}_3$  전처치시에  $\text{Na}^+$ -efflux 율의 유의한 증가를 보고하였다.

본 성적에 있어서도 간 homogenates의  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ -ATPase 활성도 (Table 3, Fig. 2), 간조직절편의  $\text{Na}^+$ -dependent 산소소모율 및 간 mitochondria 분획의 산소소모율 (Table 5, Fig. 4)이 갑상선 호르몬의 혈중 농도와 밀접한 연관성을 갖고 변화되었는데 이와같은 결과는 갑상선 호르몬의 증가에 따라 능동적  $\text{Na}^+$  이동과 유관한 조직의 산소소모율이 증가될 뿐만 아니라 mitochondria 개개의 산소소모능이 증가함을 나타낸다. 한편 본 성적에서 간 homogenates의  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ -ATPase 활성도를 동력학적으로 분석한 결과 (Table 4, Fig. 3) 혈청내 갑상선 호르몬의 증가에 의해 ATPase 활성도의  $V_{\text{max}}$ 치가 현저히 증가하였는데 이것으로 보아  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ -ATPase의 함성이 증대됨을 알 수 있었다. 이와같은 보고는 간조직으로 실시한 것은 아직 없는 것으로 알고 있으며 신장(Lo 등 1976), 심근조직(Philipsen 및 Edelman, 1977) 및 골격근(Asano 등, 1976)으로의 결과는 알려진 바 있다.

Weiss (1957)는 흰쥐를 한냉환경에 노출시켰을 때 갑상선 호르몬의 표지기관에서만 산소소

모율이 증가함을 관찰하고 한냉환경에서의 산소소모율의 증가가 갑상선기능의 항진과 밀접한 연관이 있다고 제시하였는데 이와 같은 사실은 한냉환경에 지속적으로 노출될 때 갑상선 호르몬에 의한  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ -pump의 활성화가 대사율의 변화에 직접 관여할 가능성을 나타낸다. 이러한 가능성을 관찰한 본 실험의 제4군에서 혈청내  $\text{T}_3$  농도는 한냉환경에 노출된 후 만 1일째에 가장 높았으나 그후부터는 서서히 감소되어 만 14일째에는 대조군과 유사한 값을 보였고 혈청내  $\text{T}_4$  농도는 한냉환경에 노출됨에 따라 대조군에 비해 계속 감소하는 현상을 나타내었으며 따라서 혈청내  $\text{T}_3/\text{T}_4$  비율은 한냉환경에 노출됨에 따라 증가하였다 (Table 6, Fig. 5). 이때 간 homogenates의  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ -ATPase 활성도, 간조직절편의  $\text{Na}^+$ -dependent 산소소모율 및 간 mitochondria 부획의 산소소모율 (Table 10, Fig. 9)은 삼자가 모두 유사한 경시적 변동을 보여주고 있으며,  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ -ATPase 활성도의 동력학적 분석결과에 의하면 (Table 8, Fig. 7) ATPase의  $V_{\text{max}}$ 치가 한냉노출시 증가하는 것으로 보아  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ -ATPase의 함성이 증대됨을 알 수 있었다.

이와같은 결과가 「한냉」에 의해 우연히 일치되어 나타난 것인지 아니면 한냉환경에 노출되었을 때 혈청내  $\text{T}_3$  농도의 증가에 의해 Ismail-Beigi 및 Edelman (1970) 등이 주장한 바와 같이  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ -ATPase가 활성화 되어서 그 결과 mitochondria 분획에서의 산소소모율이 증가한 것인지는 명확하지 않다. 그러나 Fig. 11에서와 같이 갑상선 기능을 변화시켰을 때나 한냉환경에 노출시켰을 때 간 homogenates의  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ -ATPase 활성도의 변화와 간조직절편의  $\text{Na}^+$ -dependent 산소소모율의 변화사이에 직선적인 상관성( $P < 0.001$ )이 높음에 비추어 아마도 한냉환경에 노출되었을 때 mitochondria 분획에서 산소소모율의 증가는 혈청내  $\text{T}_3$  농도의 증가로  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ -ATPase 함성이 증대되어 ADP의 율이 증가됨으로써 나타난 결과라고 생각된다. 그러나 갑상선 호르몬이 여러 대사기질의 mitochondria에서의 산화율을 증가시키며 (Hoch 및 Lipmann, 1953), 간 mitochondria에서 carrier-

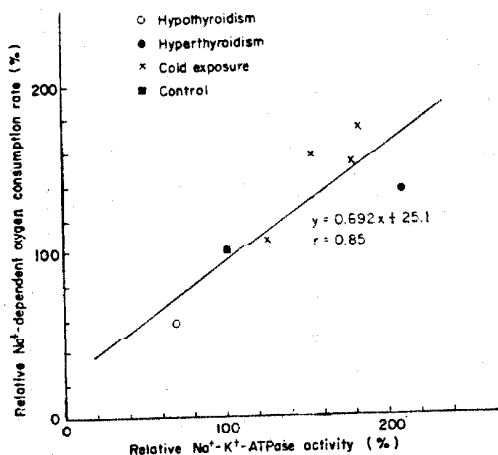


Fig. 11. Relationship between changes in  $\text{Na}^+$ -dependent oxygen consumption rate and  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase activity of liver in hypothyroid, hyperthyroid, and cold exposed rats.

mediated ADP 섭취율을 직접 증가시킨다는 (Babior 등, 1973) 보고들이 있으므로 한냉노출 시 증가된 혈청내  $\text{T}_3$  농도가 직접 mitochondria의 산화인산화능을 증가시킬 가능성도 배제할 수 는 없겠다.

한편 Seller 및 You (1950)와 Hsieh 및 Carlson (1957)에 의하면 한냉환경 적응으로 대사가 능이 항진된 흰쥐에서는 갑상선기능저하를 유발 시켜도 계속 생존이 가능하다고 하는데, 이와같은 사실은 갑상선 호르몬이 한냉적응 초기에만 필수적임을 뜻한다. 또한 본 실험의 제 4 군에서 한냉환경에 노출되었을 때 혈청내  $\text{T}_3$  농도가 노출 만 1일째에 최고치에 달한 후 계속 서서히 감소하는데 반해 (Table 6, Fig. 5) 간 homogenates의  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase 활성도, 간 조직질련의  $\text{Na}^+$ -dependent 산소소모율 및 간 mitochondria 분획의 산소소모율은 노출 만 2일째에 최고치에 달한 후 계속 높게 유지되었고 (Table 10, Fig. 9), 제 5 군에서도 위의 값이 대조군에 비해 의의있게 증가한 것 (Table 11, Fig. 10)으로 보아 한냉노출 초기에 증가된 혈청내  $\text{T}_3$  농도에 의하여 일단 조직의 산소소모율 및  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase 합성이 증가한 후에는 그대로 계속 높게 유지되는 것으로 생각된다.

한편 Hefco 등 (1975)은 한냉환경에 흰쥐를

24~48시간동안 노출시킨 경우 혈청내  $\text{T}_3$ ,  $\text{T}_4$  농도가 2시간 이내에 상승하여 계속 높게 지속되었다고 보고했고, Scammell 등 (1980)은 한냉환경에 12주간 노출된 흰쥐의 혈청내  $\text{T}_3$  농도가 대조군에 비해 상승했으나  $\text{T}_4$  농도는 변함이 없었으며, 이 등(1981)은 한냉환경에 1주~2주간 노출된 흰쥐의 혈청내  $\text{T}_3$  농도의 현저한 증가와  $\text{T}_4$  농도의 감소를 보고한 바 있다. 이러한 결과는 본 성적에서 혈청내  $\text{T}_4$  농도가 한냉환경에 노출된지 만 1일째에 대조군에 비해 34% 증가된 후 점차 감소하여 만 14일째에는 대조군의 수치에 근접한 결과와는 상이하다. 그러나 Nakashima 등 (1981)과 Roy 등 (1977)은 한냉환경에 각각 20~37일 및 8일동안 노출시킨 흰쥐에서 혈청내  $\text{T}_3$  및  $\text{T}_4$  농도가 대조군에 비해 감소하였다고 보고한 바 있는데 이는 본 성적과 같은 경향이다. 이와같은 차이는 한냉환경에의 노출기간, 노출되기 이전의 영양상태, 노출시의 연령 및 strain 등의 복합적인 조건이 호르몬 농도에 영향을 미쳐 나타난 것으로 해석된다.

전술한 여러 학자들에 의해 한냉환경에 노출되었을 때 혈청내  $\text{T}_4$  농도는 변함이 없거나 감소됨이 알려져 있는데 이와같은 결과는 본 성적과 같은 경향이다.  $\text{T}_3$ 가  $\text{T}_4$  보다 4배이상 높은 활성도를 가지며 (Mountcastle, 1980), 정상시에 매일 생성된  $\text{T}_4$ 의 약 80%가  $\text{T}_3$ 로 전환되어 그 생리적 역할을 한다는 것 (Abrams 및 Larsen, 1973; Oppenheimer 등, 1972; Oppenheimer 등 1979)과 한냉환경에 적응된 흰쥐에서  $\text{T}_4$ 에서  $\text{T}_3$ 로의 전환이 대조군에 비해 현저히 증가되며 이와같은 전환이 한냉적응시  $\text{T}_3$  생성의 주요 원천이고 (Hillier, 1968; Bernal 및 Rev. 1975; Scammell 등, 1980), 한냉환경에 적응된 흰쥐에서  $\text{T}_4$ 가 변에 소실되는 양이 증가한다는 보고 (Héroux 및 Brauer, 1965; Straw, 1969)를 고려해 볼 때, 본 성적에서 혈청내  $\text{T}_4$  농도가 한냉환경에 노출됨에 따라 감소되고 상대적으로  $\text{T}_3/\text{T}_4$  비율이 증가한 것은 한냉적응현상의 하나라고 생각된다.

이상의 실험결과는 한냉환경에 노출되었을 때 간조직의 산소소모율의 증가가 한냉환경에 노출된 초기에 증가한 혈청내  $\text{T}_3$  농도에 의해  $\text{Na}^+$ -

$K^+$ -ATPase 함성이 증가된 것과 mitochondria의 산화능이 증가 되어 나타난 현상으로 생각되며 이와같은 현상이 유발된 후에는 혈청내  $T_3$  농도가 감소하더라도 그 효과가 지속되는 것임을 추정케 한다.

## V. 결 론

한냉환경에 노출되었을 때 체열생산이 증가하는 기전을 규명하고자 흰쥐에서 갑상선기능 상태의 변화와 한냉환경에 노출되었을 때의 혈청내 갑상선호르몬 농도, 간 homogenates의  $Na^+$ - $K^+$ -ATPase 활성도, 간조직절편의  $Na^+$ -dependent 산소소모율 및 간 mitochondria 분획의 산소소모율을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 간 homogenates의  $Na^+$ - $K^+$ -ATPase 활성도, 간조직절편의  $Na^+$ -dependent 산소소모율 및 간 mitochondria 분획의 산소소모율이 갑상선기능 항진군에서는 대조군에 비해 유의하게 증가하였고 갑상선기능 저하군에서는 유의하게 감소하였다. 이때  $Na^+$ - $K^+$ -ATPase 활성도의  $V_{max}$ 치는 갑상선 호르몬농도의 증가에 따라 증가하였다.

2. 한냉환경 노출군에서 혈청내  $T_3$  농도는 한냉환경에 노출된 후 만 1일째에 대조군에 비해 급격히 증가하였다가 그후는 서서히 감소하였으며,  $T_4$  농도는 한냉환경에 노출됨에 따라 점차 감소되었다. 간 homogenates의  $Na^+$ - $K^+$ -ATPase 활성도, 간조직절편의  $Na^+$ -dependent 산소소모율 및 간 mitochondria 분획의 산소소모율은 모두 한냉환경에 노출후 만 2일째에 대조군에 비해 급격히 증가된 후 계속 높게 유지되었다. 이때  $Na^+$ - $K^+$ -ATPase 활성도의  $V_{max}$ 치는 한냉환경에 노출된 기간에 따라 증가하였다.

3. 일단 한냉환경에 적응된 이후에 갑상선기능 저하증이 유발된 경우에는 간조직의 산소소모율과  $Na^+$ - $K^+$  ATPase 활성도가 대조군에 비해 높게 유지되었다.

## 참 고 문 헌

- 이향우, 김원준, 김호석, 홍사석 (1981), 저온환경 적응에 있어서의 Hormone의 변동, 「대한약리학회지」, 17: 37~45.
- Abrams, G.M. and P.R. Larsen (1973), Triiodothyronine and thyroxine in the serum and thyroid glands of iodine-deficient rats, *J. Clin. Invest.*, 52: 2522~31.
- Asano, Y., U.A. Liberman, and I.S. Edelman (1976), Thyroid thermogenesis: Relationships between  $Na^+$ -dependent respiration and  $Na^+$ - $K^+$ -adenosine triphosphatase activity in rat skeletal muscle, *J. Clin. Invest.*, 57: 368~79.
- Babior, B.M., S. Creagan, S.H. Ingbar, and R.S. Kipnes (1973), Stimulation of mitochondrial adenosine diphosphate uptake by thyroid hormones, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 70: 98~102.
- Bernal, J. and F.E. del Rey (1975), Effect of the exposure to cold on the extrathyroidal conversion of L-thyroxine to triiodo-L-thyronine and on intramitochondrial  $\alpha$ -glycerophosphate dehydrogenase activity in thyroidectomized rats on L-thyroxine, *Acta Endocrinol.*, 78: 481~92.
- Bernstein, J., L. Videla, and Y. Israel (1973), Metabolic alterations produced in the liver by chronic ethanol administration-changes related to energetic parameters of the cell, *Biochem. J.*, 134: 515~21.
- Chance, B. and G.R. Williams (1955), Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation, *J. Biol. Chem.*, 217: 395~407.
- Cottle, W.H. (1960), Role of thyroid secretion in cold acclimation, *Fed. Proc.* 19. suppl., 5: 59~63.
- Cottle, M. and L.D. Carlson (1956), Turnover of thyroid hormone in cold-exposed rats determined by radioactive iodine studies, *Endocrinology*, 59: 1~11.
- Edelman, I.S. (1975), Thyroidal regulation of renal energy metabolism and ( $Na^+$ + $K^+$ )-activated adenosine triphosphatase activity, *Symposium on Renal Metabolism*, 59: 605~14.
- Ershoff, B.H. (1948), Effects of thiouracil feeding on resistance to low environmental temperature, *Endocrinology*, 43: 36~39.

- Fiske, C.M. and Y. SubbaRow (1925), The calorimetric determination of phosphorous, *J. Biol. Chem.*, 66 : 375~400.
- Galton, V.A. and B.C. Nisula (1969), Thyroxine metabolism and thyroid function in the cold-adapted rat, *Endocrinology*, 85 : 79~86.
- Gornall, A.G., C.J. Bardawill, and M.M. David (1949), Determination of serum proteins by means of the biuret reaction, *J. Biol. Chem.*, 177 : 751~66.
- Greggerman, R.I. and S.E. Crowder (1963), Estimation of thyroxine secretion rate in the rat by the radioactive thyroxine turnover technique: Influences of age, sex, and exposure to cold, *Endocrinology*, 72 : 382~92.
- Guz, A., G.S. Kurland, and A.S. Freedberg (1961), Heart rate and  $O_2$  consumption after triiodothyronine in the myxedematous rabbit, *Am. J. Physiol.*, 200 : 58~60.
- Harrison, T.S. (1964), Adrenal medullary and thyroid relationships, *Physiol. Rev.*, 44 : 161~85.
- Hebel, R. and M.W. Stromberg (1976), *Anatomy of the Laboratory Rat*, Baltimore: The Williams and Wilkins Co.
- Hefco, E., L. Krulich, P. Illue, and F.R. Larsen (1975), Effect of acute exposure to cold on the activity of the hypothalamic-pituitary-thyroid system, *Endocrinology*, 97 : 1185~95.
- Héroux, O. and R. Brauer (1965), Critical studies on determination of thyroid secretion rate in cold-adapted animals, *J. Appl. Physiol.*, 20 : 597~606.
- Hillier, A.P. (1968), Thyroxine deiodination during cold exposure in the rat, *J. Physiol.*, 107 : 135~47.
- Hoch, F.L. and F. Lipmann (1953), Inhibition of mitochondria phosphorylation by thyroxine, *Fed. Proc.*, 12 : 218~19.
- Hogeboom, G.H. (1955), Fractionation of cell compartments of animal tissue, *Method in Enzymology*, Vol. I, ed. S.P. Colowick and N.O. Caplan, New York: Academic press.
- Hsieh, A.C.L. and L.D. Carlson (1957), Role of the thyroid in metabolic response to low temperature, *Am. J. Physiol.*, 188 : 40~44.
- Ismail-Beigi, F., D.M. Bissell, and I.S. Edelman (1979), Thyroid thermogenesis in adult rat hepatocytes in primary monolayer culture-direct action of thyroid hormone in vitro, *J. Gen. Physiol.*, 73 : 369~83.
- Ismail-Beigi, F. and I.S. Edelman (1970), Mechanism of thyroid calorigenesis: Role of active sodium transport, *Proc. Nat. Aca. Sci.*, 67 : 1071~78.
- Ismail-Beigi, F. and I.S. Edelman (1971), The mechanism of the calorogenic action of thyroid hormone: stimulation of  $Na^+ + K^+$ -activated adenosine triphosphatase activity, *J. Gen. Physiol.*, 57 : 710~22.
- Ismail-Beigi, F. and I.S. Edelman (1973), Effects of thyroid status on electrolyte distribution in rat tissues, *Am. J. Physiol.*, 225 : 1172~77.
- Ismail-Beigi, F. and I.S. Edelman (1974), Time course of the effects of thyroid hormone on respiration and  $Na^+ + K^+$ -ATPase activity in rat liver, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 146 : 983~88.
- Kawada, J., R.E. Taylor JR, and S.B. Barker (1969), Measurement of  $Na^+ - K^+$ -ATPase in the separated epidermis of rana catesbeiana frogs and tadpoles, *Comp. Biochem. Physiol.*, 30 : 965~75.
- Kenyon, A.T. (1933), The histological changes in the thyroid gland of the white rat exposed to cold, *Am. J. Pathol.*, 9 : 347~68.
- Leblond, C.P. and J. Gross (1943), Effect of thyroidectomy on resistance to low environmental temperature, *Endocrinology*, 33 : 155~60.
- Lo, C., T.R. August, U.A. Liberman, and I.S. Edelman (1976), Dependence of renal ( $Na^+ + K^+$ )-adenosine triphosphatase activity on thyroid status, *J. Biol. Chem.*, 251 : 7826~33.
- Mount, L.E. (1979), *Adaptation to thermal environment: Man and his productive animals*, Baltimore: Univ. Park press.
- Mountcastle, V.M. (ed.) (1980), *Medical Physiology*, 14th ed., ST. Louis: C.V. Mosby Co.
- Nagata, H., T. Izumiyama, K. Kamata, S. Kono, Y. Yukimura, M. Tawata, T. Aizawa, and T. Yamada (1976), An increase of plasma triiodothyronine concentration in man in a cold environment, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 43 : 1153~56.
- Nakashima, T., A. Taurog, and L. Krulich (1981), Serum thyroxine, triiodothyronine, and TSH levels in iodine-deficient and iodine-sufficient rats before and after exposure to cold, *Proc. Soc. Exp. Biol.*



- Med.*, 167 : 45~50.
- Nazian, S.J. and B.E. Piacsek (1978), Effect of chronic exposure to cold on serum concentrations on thyroxine and prolactin during sexual maturation in the male rat, *J. Endocrinol.*, 77 : 269~70.
- Nissan, S.A., J.W. Aviram, L.U. Czaczkes, and T.D. Ullmann (1966), Increased  $O_2$  consumption of the rat diaphragm by elevated NaCl concentrations, *Am. J. Physiol.*, 210 : 1222~24.
- Oppenheimer, J.H., W.H. Dillmann, H.L. Schwartz, and H.C. Towle (1979), Nuclear receptors and thyroid hormone action: a progress report, *Fed. Proc.*, 38 : 2154~61.
- Oppenheimer, J.H., H.L. Schwartz, and M.I. Surks (1972), Propylthiouracil inhibits the conversion of L-thyroxine to L-triiodothyronine, *J. Clin. Invest.*, 51 : 2493~97.
- Philipson, K.D. and I.S. Edelman (1977), Characteristics of thyroid stimulated  $Na^+-K^+$ -ATPase of rat heart, *Am. J. Physiol.*, 232 : C202~06.
- Rand, C.G., D.S. Riggs, and N.B. Talbot (1952), The influence of environmental temperature on the metabolism of the thyroid hormone in the rat, *Endocrinology*, 51 : 562~69.
- Roy, M.L., E.M. Sellers, K.V. Flattery, and E.A. Sellers (1977), Influence of cold exposure and thyroid hormones on regulation of adrenal catecholamines, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 55 : 804~12.
- Scammell, J.G., K.T. Shiverick, and M.J. Fregly (1980), In vitro hepatic deiodination of L-thyroxine to 3,5,3-triiodothyronine in cold-acclimated rats, *J. Appl. Physiol.*, 49 : 386~89.
- Sellers, E.A., J.W. Scott, and N. Thomas (1954), Electrical activity of skeletal muscle of normal and acclimatized rats on exposure to cold, *Am. J. Physiol.*, 177 : 372~76.
- Sellers, E.A. and S.S. You (1950), Role of the thyroid in metabolic responses to a cold environment, *Am. J. Physiol.*, 163 : 81~91.
- Skou, J.O. (1965), Enzymatic basis for active transport of  $Na^+$  and  $K^+$  across cell membrane, *Physiol. Rev.*, 45 : 596~617.
- Smith, T.J. and I.S. Edelman (1979), The role of sodium transport in thyroid thermogenesis, *Fed. Proc.*, 38 : 2150~53.
- Smith, R. and D.J. Hoijer (1962), Metabolism and cellular function in cold acclimation, *Physiol. Rev.*, 42 : 60~142.
- Sönksen, P.M. (1974), Radioimmunoassay and saturation analysis, *British Medical Bulletin*, 30 : 1~99.
- Stevens, C.E., S.A. D' Angelo, K.E. Paschkis, A. Cantarow, and F.W. Sunderman (1955), The response of the pituitary-thyroid system of the guinea pig to low environmental temperature, *Endocrinology*, 56 : 143~56.
- Straw, J.A. (1969), Effects of fecal weight on thyroid function in cold-exposed rats, *J. Appl. Physiol.*, 27 : 630~33.
- Straw, J.A. and M.J. Fregly (1967), Evaluation of thyroid and adrenal-pituitary function during cold acclimation, *J. Appl. Physiol.*, 23 : 825~30.
- Tedesco, J.L., K.V. Flattery, and E.A. Sellers (1977), Effects of thyroid hormones and cold exposure on turnover of norepinephrine in cardiac and skeletal muscle, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 55 : 515~22.
- Valcana, T. and P.S. Timiras (1969), Effect of hypothyroidism on ionic metabolism and  $Na^+-K^+$ -activated ATP phosphohydrolase activity in the developing rat brain, *J. Neurochem.*, 16 : 935~43.
- Weiss, A.K. (1957), Tissue responses in the cold-exposed rat, *Am. J. Physiol.*, 188 : 430~34.
- Whittam, R. and D.M. Blond (1964), Respiratory control by an adenosine triphosphatase involved in active transport in brain cortex, *Biochem. J.*, 92 : 147~58.

## Effect of Cold Exposure on Thyroid Thermogenesis in Rats

Ae-Ran Hwang

In Chon Junior Nursing College

It has been well documented that animals exposed to cold show increased activity of thyroid gland. The calorogenic action of thyroid hormone has been demonstrated by a variety of *in vivo* and *in vitro* studies. According to Edelman et al., the thyroid thermogenesis is due to activation of energy consuming processes, especially the active sodium transport by the hormone in target tissues. If so, the increase in thyroid activity during cold exposure should induce increased capacity of sodium transport in target tissue and the change in tissue metabolism should be precisely correlated with the change in  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  activity of the tissue.

This possibility was tested in the present study: in one series, changes in oxygen consumption and  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  activity of liver preparations were measured in rats as a function of thyroid status, in order to establish the effect of thyroid hormone on the tissue respiration and enzyme system; in another series, the effect of cold stimulus on the serum thyroid hormone level, hepatic tissue oxygen consumption and  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  activity in rats.

The results obtained are as follows:

1. The  $\text{Na}^+$ -dependent oxygen consumption of liver slices, the oxygen consumption of liver mitochondria and the  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  activity of liver preparations were significantly inhibited in hypothyroidism and activated in hyperthyroidism. Kinetic analysis indicated that the  $V_{\text{max}}$  of  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  was decreased in hypothyroidism and increased in hyperthyroidism.
2. In cold exposed rats, the serum triiodothyronine ( $\text{T}_3$ ) level increased rapidly during the initial one day of cold exposure, then declined slowly to the control level after two weeks. The serum thyroxine ( $\text{T}_4$ ) level decreased gradually throughout the cold exposure. Accordingly the  $\text{T}_3/\text{T}_4$  ratio increased. The mitochondrial oxygen consumption and the  $\text{Na}^+$ -dependent oxygen consumption of liver slices increased during the first two days and then remained unchanged thereafter. The activity of the  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  in liver preparations increased during cold exposure with a time course similar to that of oxygen consumption. Kinetic analysis indicated that the  $V_{\text{max}}$  of  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  increased.
3. Once the animal was adapted to cold, induction of hypothyroidism did not significantly alter the hepatic oxygen consumption and  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  activity.

These results indicate that: 1) thyroid hormone increases capacities of mitochondrial respiration and active sodium transport in target tissues such as liver; 2) the increased  $\text{T}_3$  level during the initial period of cold exposure facilitates biosynthesis of  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  and mitochondrial enzymes for oxidative phosphorylation, leading to enhanced production and utilization of ATP, hence heat production.