

## **ALTERACIONES DE LA ACTIVIDAD TIROIDEA EN LA DIABETES EXPERIMENTAL \***

Comunicació presentada el dia 30 de gener de 1978 a les I Jornades  
d'Endocrinologia de la S. C. B.

per

**MIGUEL ÀNGEL LASUNCIÓN y EMILIO HERRERA**

Càtedra de Fisiologia General, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona

### **INTRODUCCIÓ**

Las relaciones hipófisis-tiroides se encuentran alteradas en diabetes, como se ha demostrado en ratas con niveles bajos de insulina, estudiadas en condiciones basales (1, 2, 3) y en situaciones de estimulación del eje TRH-TSH-tiroides (4, 5, 6). También es conocida la frecuencia del hipotiroidismo en individuos diabéticos (7). Con el propósito de ampliar estos estudios y determinar las alteraciones específicas en la función tiroidea de diabéticos, en el presente trabajo hemos analizado diferentes parámetros del metabolismo tiroideo en ratas hechas diabéticas por la administración de una dosis única de estreptozotocina. Esta droga es un derivado de la glucosamina que ejerce su efecto citotóxico sobre las células «beta» del páncreas (8, 9), mientras que las células «alfa» y el páncreas exocrino permanecen intactos (10, 11).

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se utilizaron ratas hembras de la raza Wistar que se alimentaron durante los 29 días de la experiencia con una dieta pobre en yodo

\* Treball realitzat en part, amb un ajut de la «Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica. Presidencia del Gobierno».

(0,07  $\mu\text{g}$  de yodo/g) tipo Remington (12). A un grupo de ratas se le inyectó por vía intraperitoneal una dosis única de estreptozotocina (70 mg/kilo de peso corporal) disuelta en 0,5 ml de tampón citrato pH 4,5. Otro grupo, inyectadas con el tampón, se tomó como control. Inmediatamente antes de la inyección de la droga se les extrajo sangre por la cola, que se desproteinizó (13) y se determinó la glucosa por el método de la glucosa-oxidasa (14). Para estudiar la función tiroidea, en el día 28 después del tratamiento se les inyectó por vía intraperitoneal 10  $\mu\text{Ci}$  de  $\text{I}^{131}$  en forma de yoduro. A 1, 6 y 24 horas de la inyección del trazador se determinó la radiactividad en el tiroides contando *in vivo* la zona del cuello de los animales mediante un contador de centelleo sólido provisto de sonda. Después del último conteo se sacrificaron los animales por decapitación y la sangre se recogió en vasos de precipitado previamente heparinizados. Se extrajeron inmediatamente los tiroides, que se pesaron y se digirieron con pronasa (Sigma Chemicals Co.) en tampón Tris-ClH pH 8,6 (15) que contenía metilmercapto-imidazol para evitar las desyodaciones (16). De este digerido se determinó el yodo total y mediante cromatografía sobre papel y posterior conteo de la radiactividad de las manchas se determinó la distribución de yodoaminoácidos radiactivos en el tiroides (17). El yodo plasmático ligado a proteínas (PBI) se determinó después de la precipitación de alícuotas de plasma con ácido tricloroacético. Todas las determinaciones del  $\text{I}^{127}$  se realizaron según una modificación del método de Zak (18). Las comparaciones estadísticas se hicieron aplicando la prueba de «t» de Student (19).

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La administración de una dosis única de estreptozotocina a ratas normales produce una diabetes moderada que se manifiesta por un aumento en la excreción de orina y por la hiperglucemia que presentan las ratas tratadas con estreptozotocina (tabla I). Al final del experimento, el peso corporal de las ratas diabéticas es significativamente menor que el de los controles, a pesar de que la ingesta de comida diaria es superior en las diabéticas (tabla I). Esta menor puesta en peso de las ratas tratadas con estreptozotocina no es debida, sin embargo, a una falta de crecimiento corporal, ya que en el día último de la experiencia la longitud hocico-base de la cola no difiere entre ambos grupos (tabla I).

Las ratas tratadas con estreptozotocina presentan una función tiroidea disminuida respecto a los controles. Como ya había sido descrito por otros autores (3), el peso de los tiroides es menor en los animales diabéticos que en los controles (tabla II) y esta diferencia es significativa, tanto en valores absolutos como corregidos por 100 g de peso corporal.

TABLA I. Cambios en diversos parámetros en ratas tratadas con una dosis única de estreptozotocina (70 mg/kg de peso corporal) y en controles. Media  $\pm$  E.S.M. de 4-20 ratas/grupo. «p» corresponde a la diferencia estadística entre ambos grupos

	Valores iniciales			Dia 29 de tratamiento		
	Controles	Diabéticas	p	Controles	Diabéticas	p
Peso corporal (g)	156,4 $\pm$ 5,6	150,4 $\pm$ 2,4	N.S.	185,8 $\pm$ 4,8	155,1 $\pm$ 5,0	< 0,001
Longitud corporal (cm)	—	—		18,6 $\pm$ 0,2	18,2 $\pm$ 0,2	N.S.
Ingesta (g/24 h)*	—	—		13,4 $\pm$ 0,2	16,7 $\pm$ 0,3	< 0,001
Excreción orina (ml/24 h)	13,6 $\pm$ 1,3	15,4 $\pm$ 1,4	N.S.	10,6 $\pm$ 0,8	33,9 $\pm$ 3,4	< 0,001
Glucosa en sangre (mg/100 ml)	117,7 $\pm$ 2,6	113,6 $\pm$ 2,0	N.S.	128,8 $\pm$ 2,6	457,7 $\pm$ 20	< 0,001

\* Se expresan las medias diarias de la ingesta durante la última semana de tratamiento.

TABLA II. Cambios en algunos parámetros de la función tiroidea a las 24 horas de la inyección i.p. de yoduro-I<sup>131</sup> en ratas que habían sido tratadas 29 días antes con una dosis única de estreptozotocina (70 mg/kg de peso corporal) y en controles. Media  $\pm$  E.S.M. de 15 ratas/grupo. «p» corresponde a la diferencia estadística entre ambos grupos

	Controles	Diabéticas	p
PESO TIROIDES (mg)	34,21 $\pm$ 1,05	23,93 $\pm$ 1,32	< 0,001
PESO TIROIDES (mg/100 g p.c.)	18,58 $\pm$ 0,66	15,67 $\pm$ 0,61	< 0,01
I <sup>127</sup> EN TIROIDES ( $\mu$ g I)	1,29 $\pm$ 0,18	4,67 $\pm$ 0,57	< 0,001
I <sup>127</sup> EN TIROIDES ( $\mu$ g I/100 mg tiroides)	3,99 $\pm$ 0,55	21,67 $\pm$ 3,88	< 0,001
PBI <sup>127</sup> PLASMÁTICO ( $\mu$ g I/100 ml plasma)	2,87 $\pm$ 0,39	2,80 $\pm$ 0,39	N.S.
PBI <sup>131</sup> PLASMÁTICO (% dosis/ml plasma)	0,60 $\pm$ 0,04	0,28 $\pm$ 0,04	< 0,001

La alimentación de los animales con una dieta pobre en yodo produce bocio hiperfuncional en animales normales (20). Sin embargo, las ratas diabéticas no respondieron a este estímulo a pesar de que su asequibilidad por el yodo debe ser incluso menor que en los controles, ya que su aumentada excreción de orina debe producir una mayor pérdida de yodo a través del riñón. Los animales diabéticos mantuvieron sin embargo (tabla III) unos niveles normales de yodo circulante ligado a proteínas (PBI<sup>127</sup>) e incluso una cantidad de yodo total (I<sup>127</sup>) en el tiroides superior a los controles. Este último hecho no está de acuerdo con los datos de Pericás y Jolín (3), los cuales observan un normal contenido de yodo en el tiroides de animales sometidos a unas condiciones experimentales similares. Esta diferencia pudiera ser debida a la distinta prolongación del estado diabético y/o al distinto tiempo en que los animales estuvieron alimentados con dieta pobre en yodo y a pequeñas diferencias en el contenido de yodo de la ingesta, ya que, como se había observado anteriormente, pequeñas variaciones en la toma diaria de yodo pueden producir grandes diferencias en la función tiroidea de animales normales (17). En la tabla III se muestra la radiactividad en el tiroides a diferentes tiempos tras la administración del yoduro-I<sup>131</sup>. El tratamiento con estreptozotocina produce una reducción significativa en la captación y liberación de radiactividad por el tiroides, ya que a tiempos cortos, tras la administración del trazador, las ratas diabéticas muestran una menor cantidad de radiactividad que las controles. A su vez, la liberación de la radiactividad es más lenta en el primer grupo, puesto que a las 24 horas de la inyección del yoduro-I<sup>131</sup>, no hay diferencias entre ambos grupos (tabla III). Esta reducción en la secreción por el tiroides de compuestos yodados marcados, viene demostrada también por los disminuidos niveles circulantes de yodo radiactivo ligado a proteínas

TABLA III. Variación de la radiactividad del tiroides a 1, 6 y 24 horas después de la inyección de yoduro-I<sup>131</sup> en ratas que habían sido tratadas 29 días antes con una dosis única de estreptozotocina (70 mg/kg de peso corporal) y en controles. Los resultados están expresados en % respecto a la dosis de yoduro-I<sup>131</sup> inyectada. Media  $\pm$  E.S.M. de 15 ratas/grupo. «p» corresponde a la diferencia estadística entre ambos grupos

	Horas		
	1	6	24
CONTROLES	40,5 $\pm$ 3,2	59,9 $\pm$ 2,8	40,6 $\pm$ 3,5
DIABÉTICAS	21,5 $\pm$ 3,7	36,6 $\pm$ 3,2	33,0 $\pm$ 3,3
p	< 0,001	< 0,001	N.S.

(PBI<sup>131</sup>) que se observan en las ratas tratadas con estreptozotocina a las 24 horas de la administración del trazador (tabla II). A ese tiempo, la distribución porcentual de yodoaminoácidos radiactivos en el tiroides difiere entre ambos grupos experimentales (fig. 1). Las ratas tratadas con estreptozotocina presentan las fracciones T<sub>4</sub> y T<sub>3</sub> y la relación MIT/DIT disminuidos y la fracción DIT aumentada respecto a los valores encontrados en las controles.

#### CONSIDERACIONES FINALES

La acumulación neta de yodo en el tiroides de los animales diabéticos debe ser el resultado de los efectos yuxtapuestos de una reducida utilización periférica de las hormonas tiroideas y de una disminuida función tiroidea, en donde la reducción en la velocidad de secreción de las hormonas tiroideas debe ser mayor que la reducción en la velocidad de su síntesis. Aunque se puede argumentar la diferente dilución isotópica en la glándula de los animales diabéticos debido a su mayor contenido en yodo, nuestros datos sobre captación de yoduro-I<sup>131</sup> por el tiroides concuerdan con los publicados por Serif y Sihotang en otras condiciones diabetogénicas (2). También apoya lo arriba expuesto el hecho de que la reducción en la captación del trazador a tiempos cortos tras su administración y la reducción en el contenido relativo de T<sub>4</sub> y T<sub>3</sub> en el tiroides a las 24 horas de la inyección, son más pequeños que el descenso en la concentración de yodo marcado ligado a proteínas (PBI<sup>131</sup>) que se observa en este mismo tiempo. En cualquier caso, la acumulación neta de yodo en el tiroides que presentan los animales diabéticos junto con el reducido peso de sus glándulas demuestran que la función tiroidea de estos animales está considerablemente reducida. La causa de estos efectos es probablemente múltiple: *a)* la ausencia de adecuadas cantidades de insulina y/o las alteraciones en los metabolismos glucídico, lipídico y proteico en el tiroides de estos animales puede producir una reducida respuesta al TSH en la glándula. En efecto, YONG (21) ha demostrado que la acción estimuladora del TSH sobre la síntesis de proteínas en las células tiroideas es secundaria a su efecto sobre la metabolización de la glucosa. *b)* La gran pérdida de líquidos y electrólitos por la orina, en los animales diabéticos, puede producir un cambio en la vida media del TSH plasmático, alterándose así su efectividad sobre la función tiroidea. *c)* Los animales tratados con estreptozotocina presentan una reducida concentración de GH plasmático (22) y graves alteraciones metabólicas (23) y endocrinas (24, 25) que pueden producir efectos inhibidores directos o indirectos sobre la secreción de TSH por la hipófisis, que en última instancia puede ser el responsable de la reducida función

tiroidea de estos animales. Esta reducida estimulación del tiroides, debida a la disminuida secreción de TSH por la hipófisis, está apoyada por la baja concentración de TSH, tanto en el plasma como en la hipófisis encontrada por otros autores en condiciones similares (3, 25) y, por la ligera disminución de la relación  $T_3/T_4$  en el tiroides observada en este trabajo, ya que el hecho opuesto se encuentra en tiroides estimulados por una aumentada secreción de TSH (20). Probablemente, cada uno de estos mecanismos está implicado en las alteraciones de la función tiroidea observadas en los animales diabéticos, aunque su importancia relativa queda por establecer.

#### RESUMEN

Se han estudiado las alteraciones de la función tiroidea que se presentan en ratas hechas diabéticas por la administración de estreptozotocina. Los animales se alimentaron durante los 29 días del experimento con dieta pobre en yodo. Las ratas tratadas con estreptozotocina sufrieron una diabetes moderada, puesta de manifiesto por la intensa diuresis y la hiperglucemia que mostraban. En los animales diabéticos, la captación de  $I^{131}$  por el tiroides y el PBI $^{131}$  plasmático, a las 24 horas de la administración del trazador, estaba disminuida respecto a los controles, y el PBI $^{127}$ , dentro de los valores normales. El contenido de  $I^{127}$  en el tiroides de las ratas diabéticas estaba aumentado y la distribución porcentual de los yodoaminoácidos radiactivos en la glándula a las 24 horas de la inyección del yoduro- $I^{131}$ , estaba alterada: mayor la proporción de DIT y disminuidas las de  $T_3$  y  $T_4$ . Los resultados permiten sugerir que la síntesis y secreción de las hormonas tiroideas se encuentran disminuidas en los animales diabéticos. Esta disminuida función tiroidea concuerda con la menor efectividad hormonal del TSH en el estado diabético descrita por otros autores.

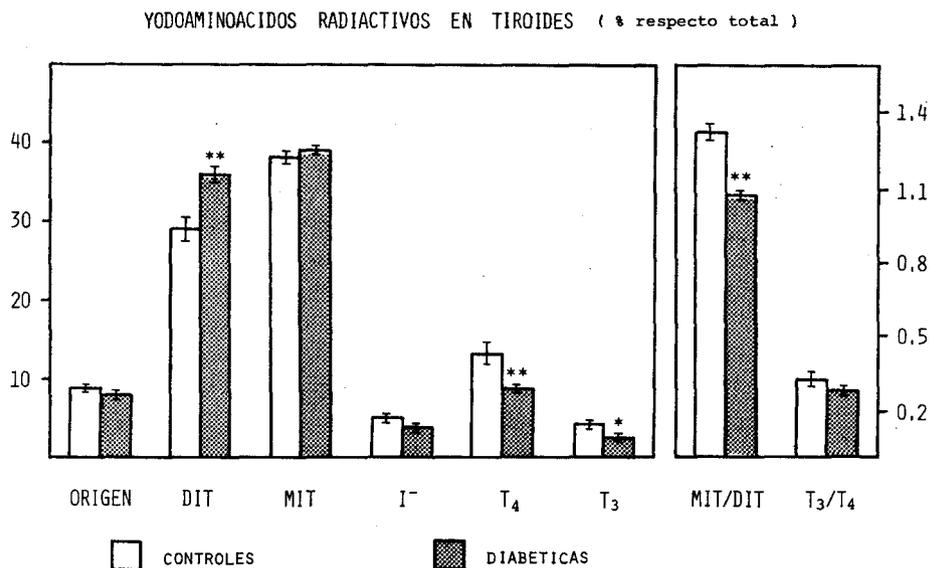


FIG. 1.— Distribución porcentual de los yodoaminoácidos radiactivos en el tiroides a las 24 horas de la inyección i.p. de yoduro- $I^{131}$  en ratas que habían sido tratadas con una dosis única de estreptozotocina (70 mg/kg de peso corporal) y en controles. Media  $\pm$  E.S.M. de 4-14 ratas/grupo. Los asteriscos corresponden a la diferencia estadística entre ambos grupos: \* =  $p < 0,05$ , \*\* =  $p < 0,01$ .

#### BIBLIOGRAFÍA

1. FOGLIA, V. G.— Características de la diabetes en la rata. *Rev. Soc. Argen. Biol.*, 21: 45 (1945).
2. SERIF, G. S., y SIHOTANG, K.— Thyroid iodine metabolism in the alloxanized rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 109: 950 (1962).
3. PERICÁS, I., y JOLÍN, T.— The effect of streptozotocin-induced diabetes on the pituitary-thyroid axis in goitrogen-treated rats. *Acta Endocrinol.*, 86: 128 (1977).
4. JOLÍN, T., MORREALE DE ESCOBAR, G., y ESCOBAR DEL REY, F.— 6-Propyl-2-thiouracil versus  $KClO_3$  induced goiters. *Endocrinology*, 83: 620 (1968).
5. JOLÍN, T., MORREALE DE ESCOBAR, G., y ESCOBAR DEL REY, F.— Differential effects in the rat of thyroidectomy, propylthiouracil and other goitrogens on plasma insulin and thyroid weight. *Endocrinology*, 87: 99 (1970).
6. JOLÍN, T., TARÍN, M. J., y GARCÍA, M. D.— Induction of goitre by PTU or  $KClO_3$  in male and female rat. Effect of gonadectomy. *Acta Endocrinol.*, 75: 734 (1974).
7. INGBAR, S. H., y WOEBER, K. A.— The thyroid gland. En «Textbook of Endocrinology» de R. H. Williams, p. 197. W. B. Saunders Co., Philadelphia (1974).

8. PITKIN, R. M., y REYNOLDS, W. A. — Diabetogenic effects of streptozotocin in rhesus monkeys. *Diabetes*, 19: 85 (1970).
9. STAUFFACHER, W., BURR, I., GUTZEIZ, A., BEAVEN, D., VELEMINSKY, J., y RENOLD, A. E. — Streptozotocin diabetes. Time course of irreversible beta-cells damage; further observation on prevention by nicotinamide. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 133: 194 (1970).
10. JUNOD, A., LAMBERT, A. E., ORCI, L., PICTET, R., GONET, A. E., y RENOLD, A. E. — Studies of the diabetogenic action of streptozotocin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 126: 201 (1967).
11. PETERSON, B., HELLERSTROM, C., y GUNNARSSON, R. — Structure and metabolism of the pancreatic islets in streptozotocin-treated guinea pigs. *Horm. Metab. Res.*, 2: 313 (1970).
12. REMINGTON, R. E. — Improved growth in rats on iodine deficient diets. *J. Nutr.*, 13: 223 (1936).
13. SOMOGYI, M. — Determination of blood sugar. *J. Biol. Chem.*, 160: 69 (1945).
14. HUGGETT, A. S. G., y NIXON, D. A. — Use of glucose oxidase, per-oxidase and o-dianisidine in determination of blood and urinary glucose. *Lancet*, 2: 368 (1957).
15. TONG, W., RAGHUPATHY, E., y CHAIKOFF, J. L. — Recovery of thyroxine from thyroid protein hydrolyzed with pancreatic and bacterial proteases. *Endocrinology*, 72: 931 (1963).
16. MORREALE DE ESCOBAR, G., LLORENTE, P., JOLÍN, T., y ESCOBAR DEL REY, F. — The transient instability of thyroxine and its biochemical application. *Biochem. J.*, 88: 526 (1963).
17. HERRERA, E., ESCOBAR DEL REY, F., y MORREALE DE ESCOBAR, G. — Mechanism of goitrogenesis by very low doses of propylthiouracil and the role of iodine intake. *Acta Endocrinol.*, 59: 529 (1968).
18. BENOTTI, J., y BENOTTI, N. — Protein-bound iodine, total iodine and butanol-extractable iodine by partial automation. *Clin. Chem.*, 9: 408 (1963).
19. SNEDECOR, G. M., y COCHRAN, W. G. — Statistical Methods. Iowa State University Press. Ames, Iowa (1971).
20. CASTRO, M., LAMAS, L., y HERRERA, E. — Thyroid function, plasma insulin, glucose and ketones and in vitro hepatic gluconeogenesis in rats under chronic low iodine intake. *Acta Endocrinol.*, 69: 1 (1972).
21. TONG, W. — The stimulation of <sup>14</sup>C-amino acid incorporation into protein by isolated bovine thyroid cells. *Endocrinology*, 80: 1101 (1967).
22. PERICÁS, I. — Efecto de la diabetes inducida por estreptozotocina sobre el eje hipófisis-tiroides en ratas tratadas con bociógenos. Tesis doctoral. Madrid (1976).
23. MONTOYA, E., y HERRERA, E. — Effects of streptozotocin on liver composition and blood glucose, ketone bodies and insulin in the fed and fasted male rat. *Hormone Res.*, 5: 29 (1974).
24. KOIVISTO, V. A., AKERBLUM, H. K., y KIVILUOTO, M. K. — Metabolic and hormonal effects of exercise in the severely streptozotocin-diabetic rat. *Diabetologia*, 10: 329 (1974).
25. GONZÁLEZ, C., MONTOYA, E., y JOLÍN, T. — Feedback regulation of TSH secretion in streptozotocin-diabetic rats. XI Acta Endocrinologica Congress, 1977. Abstract n.º 270.