

## TRANSPORTE DE TIROXINA POR LAS PROTEINAS SERICAS EN TIREOPATIAS

Dcs. MARIO PAREDES S., JOSE VAREA TERAN Y GUSTAVO GARCES,

*Servicio de Endocrinología del Seguro Social, Quito.*

La primera información acerca del transporte proteico de la tiroxina fue reportado en 1952 por Gordon, Gross, O'Connor y colaboradores<sup>1</sup>. Ellos estudiaron el transporte de la tiroxina por las proteínas, sometiéndola a electroforesis y luego a autoradiografía, sueros de pacientes que habían recibido yodo como tratamiento por cáncer de tiroides. Posteriormente, muchos autores realizaron estudios orientados en este sentido hasta definir lo que ahora conocemos como TBG y TBPA<sup>2</sup>.

Ingbar, Kennet, Sterling, Guerin, Tanaka, Tata y otros<sup>3,4</sup>, realizaron investigaciones al respecto. Por otro lado, Asenjo y colaboradores<sup>5,7</sup> estudiaron el transporte de la tiroxina en sujetos normales y en disproteinémicos, obteniendo resultados más o menos concluyentes.

Orientados por estos estudios, hemos creído de interés realizar un trabajo sobre el transporte proteico de la tiro-

xina en tireopatías, tomando en consideración que nuestro país, como muchos en Latinoamérica, está localizado dentro de las zonas consideradas como endémicas en enfermedades de tiroides, especialmente el Bocio Endémico. El presente trabajo ha sido realizado con el objeto de observar el comportamiento de las diferentes fracciones transportadoras de tiroxina en varias entidades patológicas de tiroides.

### MATERIALES Y METODOS.

**Material.** Hemos estudiado 44 sueros pertenecientes a sujetos normales y portadores de alguna alteración tiroidea; repartidos en 10 controles normales y 34 patológicos. Los sueros han sido estudiados dentro de un plazo prudencial luego de su obtención, conservados en la nevera. Todos los pacientes pertenecen a la consulta del Servicio

de Endocrinología del Seguro Social de Quito.

**Métodos.** La metódica seguida por nosotros ha sido la recomendada por Ingbar<sup>2</sup> y que detallamos a continuación:

a) Adición de radiotiroxina. Hemos usado L-tiroxina marcada con I-131 de la casa Abbott, en solución al 50% con propilglicol. Esta solución contiene 0,0065  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . La actividad al momento de la recepción fue de 201  $\mu\text{eg}/\text{ml}$ .

Siguiendo la metódica de Albright<sup>3</sup> hemos hecho la adición de radiotiroxina directamente a una pequeña muestra de suero. En nuestro caso hemos añadido a 0,5 ml de suero 0,2 ml de la solución de tiroxina que nos da una adición de 46,23  $\mu\text{C}$  en actividad de I-131 por muestra. De esta manera hemos obtenido también una concentración de 300 gamas de tiroxina por ciento.

Por otro lado hemos duplicado esta cantidad hasta alcanzar una concentración de 9246  $\mu\text{C}$  equivalente a 600% de radiotiroxina. Hemos realizado esta adición elevada de tiroxina en base a los estudios de Ingbar en relación con la afinidad proporcional de captar tiroxina que tienen las diferentes fracciones proteicas de acuerdo a la concentración de radiohormona. Esta mezcla, suero-radiotiroxina la agitamos y conservamos en nevera 12 horas.

Como la concentración de tiroxina varía con cada lote enviado, podemos emplear también la siguiente fórmula para calcular el volumen de suero necesario, partiendo de la base constante

de 50 lambdas como cantidad constante de radiotiroxina y que nos dará una concentración de 0,4  $\mu\text{eg}/\text{ml}$  de suero.

C1: V1 = C2V2

C1 = concentración presente de tiroxina en  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

V1 = volumen de tiroxina añadido (50 lambdas)

C2 = concentración deseada de tiroxina (0,4  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ).

V2 = volumen desconocido de suero empleado para dar concentración deseada de tiroxina<sup>4</sup>.

b) **Electroforesis.** Hemos realizado corridas sobre papel Schleicher-Schuell 2043A (Watman N° 1) con equipos modelo R serie D de la casa Beckman. El tiempo de la prueba ha durado 16 horas con una corriente de 5 mA. Se ha usado Buffer de Trisnalcato con un pH 8,6. Luego de este tiempo retiramos las tiras del aparato y las secamos en estufa.

c) **Lectura de la radioactividad de las bandas.** Hemos usado un contador de pozo y un analizador de la casa Bair-Atomic. Al mismo tiempo hemos empleado un actígrafo modelo 11,C-100 b de la casa Nuclear Chicago. En este último se utilizó una escala de 300.000 cuentas con una velocidad de 0,75 pulgadas por minuto. Para el contador de pozo hemos medido toda la longitud de la tira en fracciones parciales de 2 m.m. c/u, por el tiempo de un minuto. Con esto hemos obtenido los valores relativos de cada una de las fracciones proteicas cargadas con tiroxina radioactiva.

Simultáneamente al sombreado del suero en las tiras sometidas a electroforesis hemos hecho una aplicación de igual cantidad del suero correspondiente (0,01 ml) en otra tira que ha sido sometida a las mismas manipulaciones que las primeras, a excepción del campo eléctrico. Los valores de la radioactividad obtenidos en estas últimas tiras nos indicarán la cantidad total de hormona añadida a cada muestra; que si la consideramos como el 100% los valores planimétricos de las curvas parciales de radioactividad obtenidas en las diferentes fracciones proteicas— nos permitirá establecer el porcentaje relativo de hormona transportada por cada fracción.

d) **Autoradiografía.** Hemos puesto en contacto las tiras de papel sometidas a electroforesis sobre un pedazo de película fotográfica. Nosotros hemos usado película Kodak Plus X manteniendo este contacto por el tiempo variable de 4 a 20 días. La radioactividad existente en cada una de las fracciones proteicas velará los sitios correspondientes de la placa fotográfica que una vez revelada en la oscuridad nos indicará los sitios correspondientes a las proteínas cargadas con tiroxina-yodo 131.

e) **Tinción de las tiras.** Hemos usado la técnica de Grassmann, Hannig y Kuedel modificada, empleando el negro de amido 12 b en solución al 1% sobre una mezcla de metanol etanólico y agua. En esta forma evidenciamos las diferentes fracciones proteicas de cada muestra.

La figura 1 es una comparación entre la autoradiografía, las curvas correspondientes a la radioactividad, las curvas de proteinograma normal y las tiras coloreadas en las cuales podemos observar las diferentes fracciones y su localización en cuanto se refiere a proteínas transportadoras de tiroxina.

## RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Hemos estudiado sobre 44 casos el transporte de tiroxina por las proteínas séricas. Estos 44 casos están divididos en la siguiente forma:

Normales . . . . .	10
Hipertiroidismo . . . . .	12
(hipertiroidismo simple sin presencia de bocio)	
Bocio difuso hiperfuncional . . . .	4
Bocio nodular hiperfuncional . . . .	3
Bocio nodular normofuncional . . . .	3
Tiroiditis subaguda . . . . .	4
Hipometabolismo . . . . .	8

Los resultados porcentuales relativos a la capacidad fijadora de tiroxina marcada se expresan en la Tabla I.

Los resultados expresados en porcentaje de radioactividad, han sido referidos exclusivamente a la fracción interalfa globulina, que en la mayoría de nuestros casos estudiados, es la que fija T4 en mayor proporción. Por otro lado, las fracciones prealbúmina y albúmina han demostrado poseer una capacidad muy baja para fijar radio-tiroxina.

Se ha demostrado que el poder de fijación de T4 en los hipertiroides se

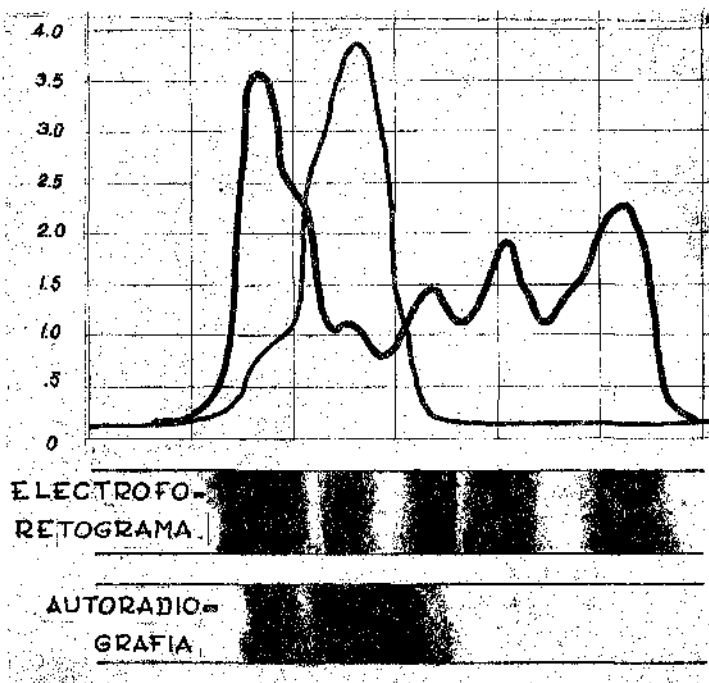


Fig. 1.—Transporte de Tiroxina por las proteínas séricas. 1.—Tiroxina, I-131, 600  $\mu$ gms/100 ml. Relación entre curva de radiactividad y electroforegrama.

halla disminuído con un valor de 24% en relación a 35% que hemos hallado en casos normales.

Por otro lado, los casos de hipometabolismo se comportan como hipotiroidismo con una capacidad fijadora aumentada, hasta el 46,8%. Los casos portadores de bocios nodulares o difu-

sos hiperfuncionales, se han demostrado, aunque en menor grado, como hipertiroidismo.

Las tiroditis parecen no sufrir mayores alteraciones, pues si bien los valores intermedios son relativamente bajos, hemos observado, en los casos estudiados afectados de tiroditis, valores

sobre la cifra normal y otros, inferiores a este valor normal, dando una cifra media de 29,0%.

Los resultados que acabamos de comentar pueden ser utilizados en la clínica, como un índice para la valoración de las alteraciones de la glándula tiroidea.

Sin embargo, en nuestro medio, aun no es una prueba de fácil elección por varios factores tales como el precio de la radio hormona.

Cabe anotar que, al hacer la medida de radioactividad en contador de pozo, hemos obtenido valores muy bajos, por no decir insignificantes, en las fracciones de pre-albúmina y albúmina. En el registro por actígrafo hemos observado un pico con ligeras variaciones en su iniciación (sitio de pre-albúmina-albúmina) y que corresponde exclusivamente a lateral-faglobulina.

Se puede creer en una unión de las diferentes fracciones que demuestran un solo pico, pero que al relacionar con las tiras correspondientes y coloreadas del electrofoctograma, excluyen la posibilidad de un error de técnica por la clara separación de las diferentes fracciones proteicas en estas tiras teñidas.

Creemos que la metódica seguida es útil para identificar fracciones proteicas transportadoras de tiroxina.

Sin embargo, es de interés capital indicar que las variaciones encontradas en las diferentes tiropatías, no son muy amplias en relación con los valores normales encontrados.

Las variaciones encontradas entre los valores de los sueros de concentración de 300 gammas % y los de 600 gammas %, no son significativas.

TABLA I  
CAPACIDAD FIJADORA DE TIROXINA MARCADA EN SUJETOS  
NORMALES Y EN VARIAS CONDICIONES PATOLÓGICAS  
DE TIROIDES

Enfermedad	Nº de casos	% de radioactividad recogido sobre la fracción lateral-faglobulina
Normales	10	35%
Hipertiroidismo	12	24%
Bocio dif. hiperf.	4	30%
Bocio nod. hiperf.	3	31,5%
Bocio nod. normofunc.	3	38,7
Tiroiditis subaguda	4	29
Hipometabolismo	8	46,8

## RESUMEN

La capacidad de fijación de L-tiroxina marcada, con I-131 se estudió en 34 pacientes con diversas tiropatías, y en 10 normales, para comparación.

Las fracciones prealbúmina y albúmina demostraron poseer una capacidad muy baja para fijar radiotiroxina, a diferencia de lo que se observó con la fracción interalfa globulina. En los sujetos normales se obtuvo un promedio de fijación del 35%; en los hipertiroideos, del 24% y en la hipotiroideos, así como en los casos de hiponatabolismo, del 46,8%. Los casos de bocios difusos o nodulares hiperfuncionales se comportaron también como hipertiroidismo con valores de 30 y 31,5%, respectivamente.

## SUMMARY

Capacity of captation of I-<sup>131</sup>-thyroxine labelled with I-131 was studied on 34 patients suffering of various thyroid disease and for comparison, in 10 normal subjects.

Pre-albumin and albumin fraction demonstrated a very low capacity of captation of radio-tyroxine which was in contrast of the results observed with the inter-alpha globulin fraction.

In normal patients the captation averaged was 35%, in the hyperthyroidous patients 24% and the hypothyroidous as well as in cases of hypometabolism it was 46.8%. Patients with diffuse goiter or nodular hyper-

ractive behave also as cases of hyperthyroidism, with values of 30 and 31.5% respectively.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1) GORDON, A. H., O'CONNOR, J., and PITT RIVERS, R.: Nature of the circulating thyroid hormone-plasma protein complex. *Nature*, **169**: 19, 1952.
- 2) INGBAR, S. H.: Pre-albumin: a thyroxine-binding protein of human plasma. *Endocrinology*, **63**: 256, 1958.
- 3) FATA, J. R., WIDNELL, C. C., and GRATZER, W. B.: A systematic study of factors affecting the binding of thyroxine and related substances to serum proteins. *Clin. Chim. Acta*, **6**: 597, 1961.
- 4) TANAKA, S., and STARR, P.: Clinical observations on serum globulin thyroxine binding capacity using a simplified technique. *J. Clin. Endocr.*, **19**: 84, 1959.
- 5) LARSON, F. C., and ALBRIGHT, F. C.: The specificity of thyroxine binding by serum alpha globulin. *Endocrinology*, **56**: 737, 1955.
- 6) ASENJO-SEBASTIAN, M. A. y colab.: Transporte plasmático de la tiroxina en las disproteinemias (Estudio cuantitativo de la fracción interalfaglobulina). *Rev. Clin. Esp.*, **162**: 278, 1966.
- 7) ASENJO-SEBASTIAN, M. A. y colab.: Transporte plasmático de la tiroxina en las disproteinemias (Estudio cualitativo). *Rev. Clin. Esp.*, **162**: 274, 1966.
- 8) NÖRREMBERG, S. T.: *Electroforesis*. Ed. Jines, Bahaus, 266, Barcelona, 1968.
- 9) LARSON, F. DEISS, W. P., and ALBRIGHT, F. C.: Localization of protein-bound radioactive iodine by filter paper electrophoresis. *Science*, **115**: 625, 1952.