CNEA 263

REPUBLICA ARGENTINA

COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA

ACTIVIDAD YODOPEROXIDASICA EN TIROIDES HUMANA

I - Estudio en Bocio Nodular no tóxico

por

H. Niepomniszcze, N. Altschuler, M. H. Korob y O. J. Degrossi

BUENOS AIRES

1970

MEDICINA NUCLEAR
61: 546.02

COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA
DEPENDIENTE DE LA PRESIDENCIA DE LA NACION

ACTIVIDAD YODOPEROXIDASICA EN TIROIDES HUMANA
I - Estudios en bocio nodular no tóxico

H. Niepomniszcze , N. Altschuler , M. H. Korob y O. J. Degrossi

RESUMEN

Fueron estudiados dieciocho nódulos de trece pacientes con bocio nodular no tóxico. Los nódulos fueron clasificados en "fríos" y "tibios" de acuerdo a la centellografía con ^{131}I. El diagnóstico histológico de todas las glándulas fue bocio multinodular coloide.

Una actividad enzimática con actividad yodoperoxidásica fue preparada a partir de tejido nodular obtenido por tiroidectomía quirúrgica. La actividad enzimática fue determinada por espectrofotometría a 287,5 mμ midiendo la formación de peryoduro.

El grupo de los nódulos "frios" mostró un promedio de 333 unidades de actividad enzimática y los nódulos "tibios" 940 unidades.

Se discute el significado de la correlación entre la capacidad de captación de yodo, la actividad yodoperoxidásica y la involución de los pasos metabólicos en el bocio nodular.

Comisión Nacional de Energía Atómica

INTRODUCCION

Dado que la oxidación intratiroidea del yoduro es una de las primeras etapas en la biosíntesis de tiroxina y triyodotironina, y puesto que la yodoperoxidasa tiroidea juega un importante papel en tal proceso, se estudió la correlación entre esta actividad enzimática y las diferentes condiciones patológicas de la tiroides. En una comunicación preliminar (Niepomniszcze y col., 1968) se desmotró una correlación entre la centellografía tiroidea y la actividad yodoperoxidásica en pacientes con bocio nodular no tóxico. Nuestros hallazgos y el trabajo de Alexander y col. (1968), sobre actividad peroxidásica en mitocondrias de cretinos bociosos, brindan mayor información sobre la fisiopatología de la glándula tiroidea.

MATERIALES Y METODOS

Fueron estudiados dieciocho nódulos de trece pacientes con bocio nodular no tóxico. De estos pacientes, once fueron mujeres y dos varones, cuyas edades oscilaron entre 21 y 63 años. De las once mujeres, ocho presentaron bocio uninodular (5 "tibios" y 3 "fríos"); los tres pacientes con bocio multinodular fueron clasificados de la siguiente forma: dos pacientes con dos nódulos "tibios" cada uno, y un paciente con dos nódulos "fríos" y uno "tibio". De los dos pacientes varones: uno tuvo un bocio uninodular "frío" mientras que el otro paciente presentó un bocio multinodular con dos nódulos "frios".

Los pacientes fueron eutiroideos de acuerdo a los datos clínicos y de laboratorio, y el diagnóstico histológico de las glándulas fue bocio multinodular coloide. Los datos clínicos llevaron a clasificar a los pacientes en bocios uni o multinodulares, respectivamente. Por medio de la centellografía con I^{131} los nódulos fueron separados en "frios" y "tibios" y este diagnóstico fue confirmado por las pruebas de inhibición con triyodotironina y estimulación con TSH. Las tiroidectomías fueron efectuadas por lo menos dos meses después de la última prueba y ninguno de los pacientes recibió tratamiento alguno. Después de la operación, el nódulo que fue palpable en el examen clínico, fue dividido en dos secciones, una para histología y la otra para los estudios enzimáticos.

Preparación de la enzima

El tejido nodular, obtenido quirúrgicamente, fue congelado inmediatamente después de la operación y mantenido a - 15° C hasta que fue homogeneizado con ClK 0,15 N (1:4 p/v) en un homogenador Potter-Elvehjem con pistón de teflón.

El sobrenadante obtenido después de la centrifugación a 600 g durante 10', fue luego centrifugado a 15.000 g, 30', obteniéndose luego un precipitado mitocondrial. Este fue lavado tres veces con la solución de ClK y homogeneizado con digitonina al 1% en buffer de fosfato sódico 0.05 M, pH 7 y mantenido de 4° C durante 30 minutos con agitación contínua.

La suspensión tratada con digitonina fue centrifugada a 40.000 g por 20 minutos. La actividad enzimática se encontró en el sobrenadante.

Determinación de proteínas y ácidos nucleicos

Las proteínas fueron determinadas por el método de Warburg y Christian y el contenido de ácidos nucleicos fue estimado por la relación de densidad óptica a 280 y 260 mμ (Layne, 1957).

Ensayo de la peroxidasa

La actividad yodoperoxidásica fue determinada por un ensayo basado en la oxidación del I^- a I_3^- por el H_2O_2, en presencia de un exceso de I^-. El cambio en la concentración de I_3^- fue seguido por espectrofotometría a 287,5 mμ de acuerdo a Alexander (1962). Fue preparada una solución madre conteniendo 2 ml de buffer de fosfato 0,05 M pH 7 y 0,5 ml de IK 0,08 M. La solución madre (2,5 ml) y la enzima (0,5 ml) fueron mezcladas en una cubeta de 1 cm de camino óptico a una temperatura de 23° C y la reacción se inició con la adición de 20 μl de una solución de H_2O_2 0,08 M y fueron efectuadas lecturas espectrofotométricas cada 15 s. Un control, sin peroxidasa, en el cual la enzima se reemplazó por buffer fue preparado para obtener el valor de la oxidación espontánea.

Graficando la densidad óptica en función del tiempo (Fig. 1) y aplicando la siguiente fórmula: $V_{15} = 3y_1 + \frac{y_3}{3} - 1{,}5\ y_2$, donde V_{15} representa la velocidad inicial de la reacción extrapolada a 15 s; y_1, y_2 e y_3 son los valores de densidad óptica a 15,30 y 45 s, respectivamente, de acuerdo a una modificación del método de Algranati (Algranati 1963), se obtienen tres curvas: a) la curva de actividad enzimática, b) la tangente a la velocidad inicial y c) la curva de oxidación espontánea del yoduro en ausencia de la enzima.

Las unidades de actividad yodoperoxidásica fueron definidas de la siguiente manera: El valor de la densidad óptica a los 15 s de la oxidación espontánea fue sustraída de V_{15} y el resultado se refiere a 1 mg de proteína de la solución enzimática y multiplicado por un factor de 1.000.

RESULTADOS

Como se observa en la Fig. 2, los valores de la actividad peroxidásica de los nódulos "fríos" oscila entre 0 y 946 unidades con un promedio de 333 mientras que los nódulos "tibios" oscilaron entre 125 y 1.384 unidades con un promedio de 940. Seis de los ocho nódulos "fríos" (75%) presentaron valores entre 0 y 433 unidades y siete de los diez nódulos "tibios" (70%) tuvieron valores entre 1.006 y 1.384 unidades.

Los datos espectrofotométricos mostraron que la concentración proteica de la preparación enzimática varía entre 0,36 y 0,71 mg/ml para los nódulos "fríos" y 0,63 y 1,70 mg/ml para los "tibios". El contenido de ácidos nucleicos varía entre 2,8 y 3,8% en el 83% del número total de casos, ninguno de ellos fue superior al 10%.

DISCUSION

Como propuso Frantz (1962) la hiperplasia, hipertrofia e involución de la tiroides son parte de un proceso cíclico representado por fases alternadas de actividad o inactividad, ilustrado por el clásico diagrama de Marine. Cuando este proceso cíclico continúa sobreviene un bocio nodular. La última etapa de estos cambios posee una patología común manifestada por una imagen de bocio coloidal.

Las modernas técnicas de centellografía con radioisótopos introdujeron una diferenciación funcional en el tejido nodular aún cuando la histología es de un mismo tipo. Mediante esta técnica sólo se observan variaciones en la captación de ^{131}I por el tejido. El llamado nódulo "frío" es el que ha perdido su capacidad de captar yoduro pero nada se sabe acerca de otros parámetros relacionados con la biosíntesis hormonal. De la misma manera, el nódulo "tibio" retiene la capacidad de captar yodo pero la centellografía no da ninguna evidencia que pueda excluir la posibilidad que otros pasos metabólicos estén afectados. La medida de la actividad yodoperoxidásica podría ser un parámetro que ayude al conocimiento sobre esta patología.

Los datos presentados en este trabajo muestran, en general, que a una pérdida en la actividad enzimática corresponde una pérdida en la capacidad de captar yodo y que un 30% de los nódulos "tibios" han perdido su actividad yodoperoxidásica. Debido a este hecho, un nódulo con una captación de radioyodo similar al tejido adyacente, comportándose como "tibio" en la centellografía, puede, posiblemente, tener alterada su actividad enzimática. Estos hechos apoyan el punto de vista clínico que los nódulos "tibios" deben ser tratados en forma similar a los nódulos "fríos".

Trunnell y Wade (1955) y Pitt-Rivers y col. (1957) observaron que el bocio nodular contiene menos tiroxina en relación a yodotirosinas y menos diyodotirosina en relación a monoyodotirosina. Ellos sugirieron que estos hechos indican una reversión a un tipo más primitivo de biosíntesis. Si esta hipótesis es correcta y teniendo en cuenta que en la secuencia de biosíntesis hormonal el proceso de captación de yoduro va sucedido por la peroxidación de este ión, es posible considerar teóricamente las siguientes alternativas: tener nódulos con ambas actividades inalteradas, tener nódulos con la actividad enzimática disminuída, tener nódulos con alteración de ambas actividades. Nuestros hallazgos muestran nódulos en las tres posibilidades citadas. Entre los dieciocho nódulos estudiados, siete corresponden a la primera posibilidad, tres a la segunda y siete a la tercera. El nódulo restante fue "frío" a juzgar por la centellografía, es decir, con disminución en la captación y con actividad peroxidásica por debajo de la frecuencia modal de los nódulos "tibios".

Todos estos datos sugieren la existencia de una línea de involución de los pasos bioquímicos relacionados al metabolismo del tejido nodular, pudiéndose considerarla como una imagen invertida del proceso ontogenético de la glándula tiroides.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a los cirujanos Dres. J. Uriburu y M. Paz, del Hospital Piñero de Buenos Aires, quienes estuvieron a cargo de las tiroidectomías.

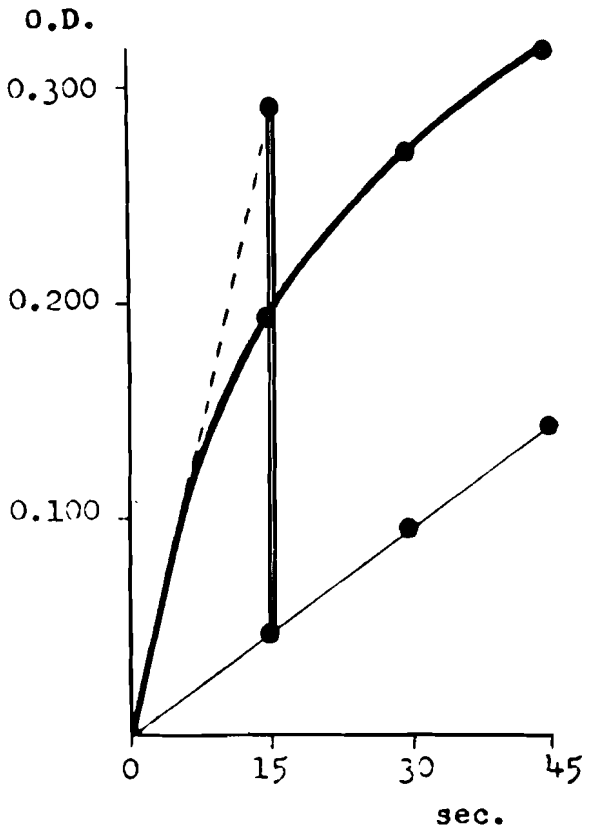


Fig. 1: Ensayo espectrofotométrico de la actividad yodoperoxidásica.

——— Actividad del sistema enzimático completo.

——— Actividad en ausencia del sistema enzimático (espontáneo).

- - - - Tangente a la velocidad inicial.

La doble línea vertical indica el valor de la diferencia entre V_{15} y la densidad óptica espontánea a 15 seg.

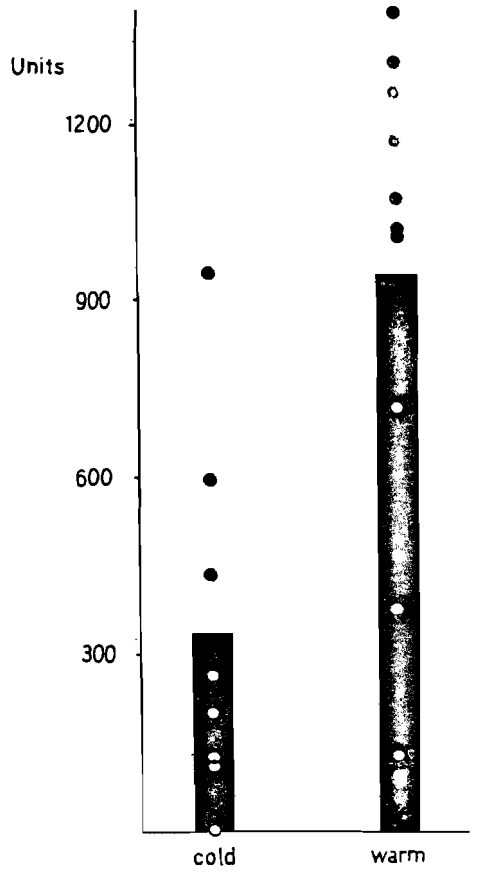


Fig. 2: Actividad yodoperoxidásica (unidades) de los nódulos "fríos" y "tibios".

BIBLIOGRAFIA

1.- ALEXANDER, N. M.: Anal. Biochem. 4 (1962) 341.-

2.- ALEXANDER, N. M., BURROW, G. N. & KNIGHT, E. L.: Third Internat. Congress of Endocrinology, México (1968).-

3.- ALGRANATI, D.: Biochem. Biophys. Acta 73 (1963) 152.-

4.- FRANTZ, V. K. In: "The Thyroid", Werner S.C., Ed., Harper & Row, N.Y. (1962) 289.-

5.- LAYNE, E. In: "Methods in Enzymology", Colowick S.P. & Kaplan N.O., Ed., Academic Press, N,Y. (1957) Vol. 3, 451.-

6.- NIEPOMNISZCZE, H., ALTSCHULER, N., KOROB, M.H. & DEGROSSI O.J.: Second Latinoamer. Congress of Biology and Nuclear Medicine, Argentina (1968).-

7.- PITT-RIVERS R., HUBBLE, D. & HOATHER W. H.: J. Clin.Endocrin. 17 (1957) 1313.-

8.- TRUNNELL J. B. & WADE M. A.: J. Clin. Endocrin. 15 (1955) 107.-