REVISTA ESPAÑOLA DE FISIOLOGIA
R. esp. Fisiol., 22, n.º 4, págs. 153-158, 1966

Laboratorio de Biología
Facultad de Ciencias
Universidad de Valladolid
(Prof. J. Planas)

Datos sobre el transporte de tiroxina-I^{131} por las proteínas plasmáticas en diversas especies animales *

por
Angel Cantera, Sisinio de Castro y José Planas

(Recibido para publicar el 8 de julio de 1966)

Utilizando tiroxina marcada con I^{131} y electroforesis en papel, diversos autores (2, 4, 6) demostraron en 1952 que la tiroxina circula unida a dos fracciones proteicas, una situada entre las globulinas α_1 y α_2 (TBP = thyrosin-binding protein o interalfa-globulina) y la albúmina; parece que la primera es la fundamental. Posteriormente, en 1958, INGBAR (3), cambiando el tampón corriente de veronal por otro de tris-maleato, comprobó una fracción prealbúmina, capaz también de fijar y transportar la tiroxina. La razón por la que no aparece esta fracción cuando se lleva a cabo la electroforesis con tampón de veronal es que este compuesto inhibe la interacción entre tiroxina y prealbúmina.

Posteriormente se han conseguido notables progresos en el conocimiento de la fisiología y fisiopatología de la unión proteínas-tiroxina. También se ha tratado de establecer qué fracciones proteicas son las que actúan como portadoras de tiroxina en el suero de diversas especies animales (ver versión de ROBBINS y RALL (7). El comportamiento del mono (Macacus Rhesus) es similar al del hombre, si bien en él se observan variaciones intraespecie respecto a la movilidad de la fracción prealbúmina. En varias especies de ungulados (vaca, caballo, cerdo, mulo, ovejas y cabras) se ha observado con tampón de veronal que la radiotiroxina añadida al suero se disponía sobre las globulinas α y, en menor proporción, sobre la albúmina. En los animales de laboratorio (rata, ratón, cobayo, conejo, gato y perro) la fracción más importante capaz de fijar la tiroxina ha resultado ser la albúmina, aunque otras fracciones, concretamente en la rata y en el cobayo la globulina α, fijaban también la hormona. En las aves sólo actúa como transportadora de tiroxina la albúmina, si bien ha sido observada pre-

* Trabajo realizado con ayuda al «Fomento de la Investigación a la Universidad» (Ministerio de Educación y Ciencia).

albúmina en el pato (1) y en el palomo (5).

Como la mayoría de estos trabajos han sido realizados con tampón de veronal, y como ya hemos señalado anteriormente, con él no se representa la fracción prealbúmina, hemos estudiado con tampón de trismaleato los sueros de una serie de animales domésticos. Nuestro propósito ha sido confirmar las observaciones expuestas y, sobre todo, establecer si existe o no prealbúmina en estas especies.

Material y métodos

Hemos estudiado 22 sueros pertenecientes a animales de siete especies (toro, cerdo, cordero, cabra, caballo, conejo y pollo). La técnica seguida es, a grandes rasgos, la siguiente:

1. *Adición de la radiotiroxina:* A 0,45 cc de suero se añade 0,05 cc de tiroxina-I^{131} («Radiochemical Center», Amersham, Inglaterra, solución conteniendo 25 microgramos de tiroxina en 7,5 cc y una radiactividad total de 1,5 mc). La mezcla se mantiene doce horas en nevera a 4° C, a fin de facilitar la fijación de la tiroxina sobre las proteínas.

2. *Electroforesis en papel:* Se ha utilizado un tampón de trismaleato de pH 8,6. El papel ha sido el Whatman n.° 1 y la electroforesis se ha llevado a cabo a 110 V durante doce horas. Desecación de las tiras a 90° durante media hora.

3. *Medida de la radiactividad y autorradiografía:* Las tiras de papel, después de la electroforesis y secado, han sido analizadas, para controlar su radiactividad, con un dispositivo de contaje Philips. De este modo, obtenemos una curva que expresa la radiactividad presente sobre la tira.

Asimismo las mismas tiras son puestas en contacto con la película «Ilfo», manteniendo éste un tiempo suficiente para que se impresione la película (3-20 días, según el momento en que se hizo la experiencia).

4. *Tinción de las fracciones proteicas y medida de las mismas con el densitómetro:* Una vez realizadas las operaciones que anteceden, las tiras de papel son teñidas con «negro amido» y medidas con el densitómetro en la forma habitual.

Resultados

En la tabla I y figura 1 están expuestos los resultados obtenidos. En ella indicamos las fracciones que en cada uno de los sueros examinados han fijado la tiroxina radiactiva.

Discusión

Hemos de advertir que los electroforetogramas obtenidos con el tampón de tris-maleato muestran las fracciones proteicas defectuosamente individualizadas, sobre todo si se compara con los resultados obtenidos con el tampón usual de veronal. No obstante, hemos empleado el primero para obtener la evidencia de si existe o no fracción prealbúmina en estos sueros de animales.

La observación de la tabla I permite comprobar cómo en general actúan como fracciones proteicas fijadoras de tiroxina la albúmina y la globulina α. Estas observaciones concuerdan con las comunicadas por otros autores (7). Vemos cómo, pese a haber utilizado el tampón de tris-maleato, tampoco hemos observado en estos sueros fracción prealbúmina. Parece ser que en el mono sí que existe dicha fracción (7).

En uno de los sueros de cabra, en que fue utilizado también el tampón de veronal, se ha comprobado que es la globulina α_1 la que fija tiroxina. Y en otro ejemplar de la misma especie apareció radiactividad, además, sobre la beta-globulina.

La separación electroforética de las proteínas con tampón de tris-maleato es especialmente imperfecta en el suero del cerdo, puesto que en dos de los tres

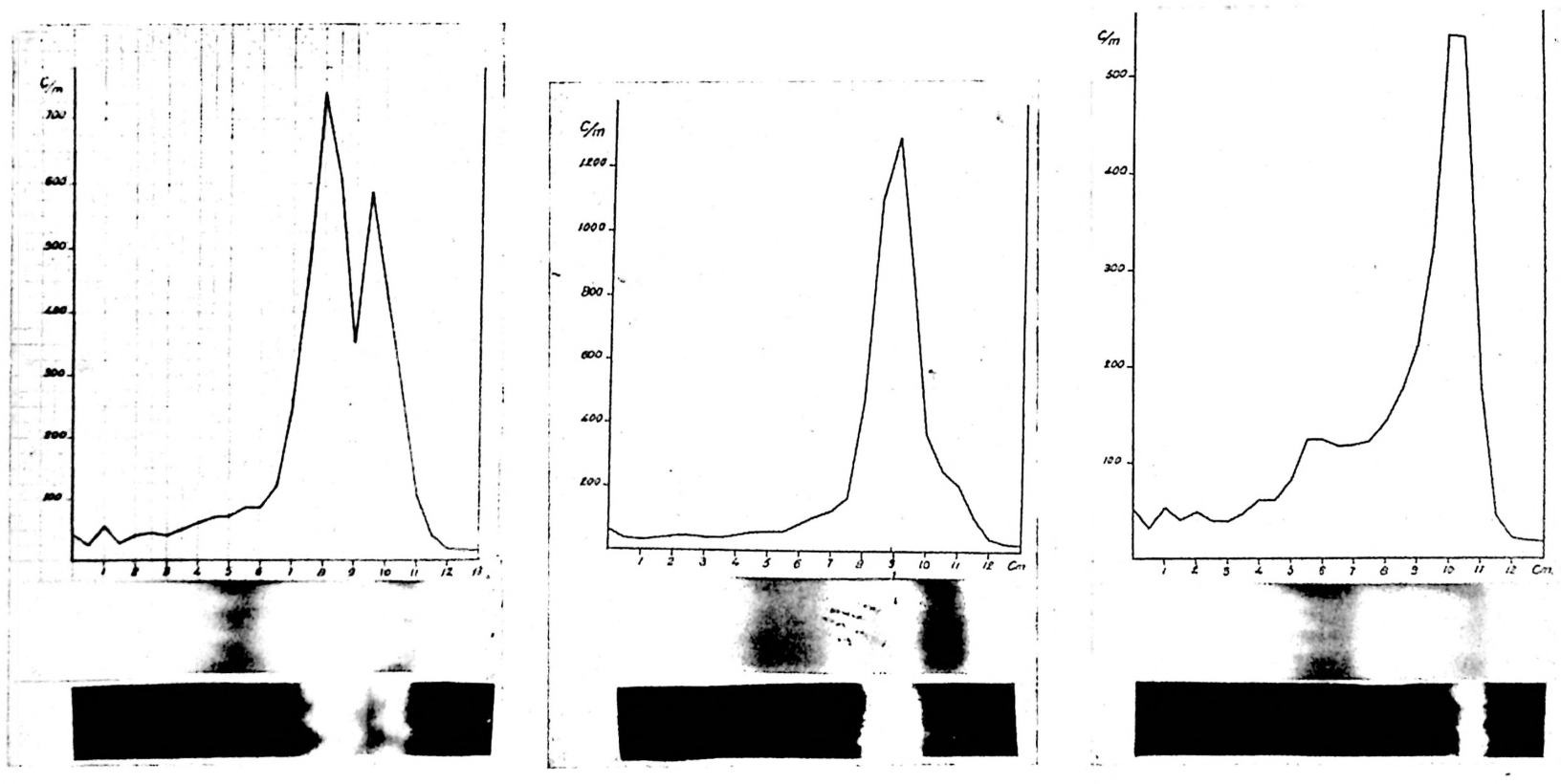

FIG. 1. Distribución de la tiroxina-I^{131} en sueros de animales separado por electroforesis en papel, con inclusión de la correspondiente autorradiografía. A) Oveja: separación clara de dos fracciones (alfa-globulina y albúmina). B) Toro: existencia de las dos fracciones, quedando la fracción albúmina enmascarada por la predominancia de la fracción alfa-globulina. C) Pollo: existencia de una sola fracción transportadora (albúmina).

TABLA I

Fijación de la tiroxina-I^{131} sobre las diversas fracciones proteicas en las especies estudiadas.

Especies	FRACCIONES PROTEICAS			
	albúmina	α-globulina	β-globulina	γ-globulina
Toro 1	+	+	—	—
Toro 2	+	+	—	—
Vaca 3	+	+	—	—
Vaca 4	+	+	—	—
Vaca 5	+	+	—	—
Vaca 6	+	+	—	—
*Vaca 6	+	+	—	—
Cerdo 1	?	?	—	—
Cerdo 2	?	?	—	—
Cerdo 3	+	+	—	—
Oveja 1	+	+	—	—
Oveja 2	+	+	—	—
Cabra 1	+	+	+	—
Cabra 2	+	+	—	—
*Cabra 2	+	+ (α_1)	—	—
Caballo 1	+	+	—	—
Conejo 1	+	+	—	—
Conejo 2	+	+	—	—
Conejo 3	+	+	—	—
Conejo 4	+	+	—	—
Pollo 1	+	—	—	—
Pollo 2	+	—	—	—

* Electroforesis realizadas con tampón de veronal *p*H 8,6.

ejemplares estudiados sólo se obtuvieron dos bandas, de escasa emigración, y ambas con radiactividad.

En dos sueros de pollo actuó como única fracción portadora de radiotiroxina la albúmina, comportamiento análogo al observado por TATA y SCHELLABARGER (8) con tampón de veronal. No hemos podido confirmar, pues, con tampón de tris-maleato la existencia de prealbúmina, observada en estas condiciones en otras aves (pato y paloma) por BALFOUR y TUNNICLIFFE (1) y ROBBINS, APTER y RALL (5).

Respecto a la trascendencia fisiológica de los datos que acabamos de exponer, es poco lo que podemos precisar. Por analogía con lo que acontece en el hombre, es de suponer que la fijación de la tiroxina sobre las proteínas plasmáticas sirva para regular la cantidad de hormona circulante en estado libre, que es la accesible a los tejidos y, por tanto, la activa. De este modo la unión proteínas-tiroxina juega un papel importante en el control de la actividad tiroidea. Probablemente la fracción α-globulínica próxima a la albúmina sobre la cual se deposita la radiotiroxina sea la equivalente a la fracción interalfaglobulina humana. En cuanto a la ausencia de prealbúmina, hemos de tener en cuenta que no es completamente segura, pues cabe que aparezca en otras condiciones experimentales. En todo caso, aunque no exista, no podemos precisar la transcendencia del hecho, desde el momento en que no sabemos qué papel juega esta fracción en

la fisiología humana que nos viene sirviendo de punto de referencia.

La existencia en las aves de una sola fracción capaz de fijar tiroxina debe tener su repercusión fisiológica, puesto que esta única fracción es la albúmina, que tiene distinta afinidad por la tiroxina que la fracción interalfaglobulina. Por de pronto, TATA y SCHELLABARGER (8), estudiando en aves la acción de la tiroxina y de la triyodotironina, han comprobado que, a diferencia de lo que ocurre en el hombre, en el que la triyodotironina es mucho más activa, la actividad de ambas es semejante. Esta diferencia es atribuible, precisamente, a la presencia exclusiva de albúmina en el suero de las aves, pues al fijar esta proteína ambas hormonas con la misma intensidad, las aporta a los tejidos con el mismo ritmo. En el hombre la interalfaglobulina, que fija la tiroxina mucho más firmemente que la triyodotironina, libera a ésta con más facilidad y de aquí la falsa impresión de que sea más activa.

Resumen

Han sido identificadas las fracciones proteicas capaces de fijar tiroxina en el suero de veintidós animales de siete especies. El estudio se ha hecho con radiotiroxina y electroforesis en papel.

En general, actúan como portadoras de tiroxina las fracciones globulina α y albúmina. En las gallinas exclusivamente la albúmina. Pese a haber utilizado tampón de tris-maleato no se ha hecho patente una fracción equivalente a la prealbúmina humana.

Se discute la repercusión fisiológica de estos mecanismos de transporte.

Summary

Data on the transport of thyroxin-I^{131} by the plasma proteins in various animal species

The thyroxin circulates in conjunction with the albumin fraction and a fraction situated between the alpha-1 and alpha-2 globulins (interalphaglobulin fraction, or Thyroxin binding protein, TBP), as has been observed by several authors (2, 4, 6) with electrophoresis on paper with a veronal tampon and radioactive thyroxin. INGBAR (3) showed how it is possible to perceive a third fraction which transports thyroxin, the prealbumin fraction, using a tampon of tris-maleate pH 8.6, for the veronal tampon inhibits the fixing of the thyroxin to the said protein.

In the present work we have analysed 22 serums of animals belonging to 7 species (bull, pig, sheep, goat, horse, rabbit and chicken) with the addition *in vitro* of thyroxin-I^{131}, and, after an incubation period, electrophoresis on paper was carried out with a tris-maleate tampon. The radioactivity of the strips of electrophoresis was determined by a Philips countage unit, and the corresponding autoradiographies were also obtained in this way. The strips are finally dyed by the usual technique and are read on a densimeter.

In table I and figure 1 it will be seen how, in general, the alphaglobulin and albumin fractions act as transporters, and we have not been able to observe the presence of the prealbumin fraction, as has been pointed out in the monkey (7), and also in the duck and the pigeon (1, 5). In the chicken only an albumin fraction has shown itself, and in the pig it cannot be determined to which protein fraction the radioactivity corresponds. In general it may be indicated that the tris maleate tampon produces results noticeably inferior to those obtained with the veronal tampon as far as the differentiation between the plasmatic proteins is concerned.

The absence of the prealbumin fraction is discussed and an evaluation is made of the results in view of the few data obtained.

Bibliografía

(1) BALFOUR, W. E., y TUNNICLIFFE, H. E.: *J. Physiol.*, **153**, 179, 1960.
(2) GORDON, A. H., GROSS, J., O'CONNOR, D., y PITT-RIVERS, R.: *Nature*, **169**, 19, 1952.
(3) INGBAR, S. H.: *Endocrinology*, **63**, 256, 1958.
(4) LARSON, F. C., DEISS, W. P., y ALBRIGHT, E. C.: *Science*, **115**, 626, 1952.
(5) ROBBINS, J., APTER, R. A., y RALL, J. E.: Program of the Endocrine Soc., 29th Meting, 1957, pp. 50.
(6) ROBBINS, J., y RALL, J. E.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **81**, 530, 1952.
(7) ROBBINS, J., y RALL, J. E.: *Physiol. Rev.*, **40**, 415, 1960.
(8) TATA, J. R., y SCHELLABARGER, J. C.: *Biochem. J.*, **72**, 608, 1959.