

Efecto bociógeno de la leche. III. Modificaciones del peso tiroideo. Estudio de la función tiroidea con I^{131}

M. Muñoz-Rodríguez

Departamento de Medicina Interna. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplona (España)

(Recibido el 24 de octubre de 1969)

M. MUÑOZ-RODRIGUEZ. *Goiter-inducing Effect of Milk. III. Modifications in Thyroid Weight. Study of Thyroidic Function with I^{131}* . R. esp. Fisiol., 26, 203-208, 1970.

For one year two groups of female Wistar rats were fed on milk. The experimental group (group A) was fed on milk from a goitrous area and the control group (group B) on milk from a farm in the South of Pamplona, Spain.

In eight different phases of the experiment throughout one year thyroid weight, thyroid I^{131} uptake of I^{131} and PBI 131 , I^{131} elimination in urine and faeces and hormonal biosynthesis were studied.

In a phase of the experiment the subjects (fed on milk) were bred with males (kept on a regular diet). The rats born (groups A₁ and B₁, born of rats the groups A and B, respectively) were also fed on milk (rats of group A₁ on goiterous milk and rats of group B₁ on regular farm milk), when the rats of groups A₁ and B₁ were one year old thyroid weight and thyroid uptake of I^{131} and PBI 131 were studied in them.

Goiter was not found in rats of the first generation (groups A and B); however, the animals of the second generation (groups A₁ and B₁) showed a noticeable increase in thyroid size, this increase being significantly higher in rats of group A₁ (P 0.01-0.001) than in those of group B₁ (P 0.05-0.02).

The study of radioactivity distribution (I^{131}) by means of chromatography of thyroid hydrolised showed an inversion of the ratio MIT/DIT, by an increase in the amount of MIT.

It is concluded that the increase in thyroid size in rats of group A₁ is probably due to the goiterous milk they were fed on. Among the possible goiter-inducing factors of this milk the one of highest influence is probably thiocyanate; nevertheless, other possible factors not yet investigated cannot be discarded, these hypothetical factors perhaps accounting for the weak effect found in rats fed on regular farm milk.

El posible efecto bociógeno de la leche en la rata ha sido estudiado por PELTOLA (13) y recientemente por BROADHEAD *et al.* (2), siguiendo ambos autores una diferente sistemática.

En trabajos previos (11, 12) se han analizado el balance del yodo y análisis de tio-

cianato en sueros y orinas de ratas alimentadas con distintos tipos de leche, durante un año consecutivo. El presente trabajo tiene por objeto estudiar el posible efecto de la leche sobre el tamaño tiroideo y sobre otros aspectos del metabolismo de las hormonas tiroideas.

Material y métodos

Durante un año, de abril de 1967 a marzo de 1968, se han alimentado a dos lotes de ratas hembras, Wistar, con leche y dieta base sólida pobre en yodo. A un grupo de ratas, lote A, se administró leche de una zona bociosa previamente estudiada (7) y a otro grupo de animales, lote B, se le dio leche de una granja del sur de Navarra. En un trabajo anterior (11) se analizan detalles de la experiencia y división en periodos de la misma. Como controles para ambos lotes se mantuvieron 12 ratas hembras, Wistar, tomando pienso pobre en yodo y agua destilada desde mayo de 1968 a abril de 1969. Este lote se suplementó periódicamente con 3 gammas de yodo por rata y día para simular la ingesta de yodo que recibían los lotes A y B.

A lo largo del año de experiencia se establecieron ocho periodos distintos de duración al final de cada uno de los cua-

les, a seis ratas de cada lote mantenidas en jaulas metabólicas, se inyectaron de 4 a 6 μc de I^{131} i.p. y 24 horas más tarde se sacrificaron, llevándose a cabo los siguientes estudios: pesos tiroideos recién extraídos, captación tiroidea de I^{131} llevada a cabo en un contador de centelleo *well type*, PBI^{131} según método de PENA FRANCA (15), eliminación de I^{131} por heces y orina y estudios cromatográficos de los hidrolizados tiroideos usando Tris ClH a pH 8,6 para homogeneizar, pancreatina para digerir y como solventes n-butanol:metanol:amoníaco 2 N (8:2:2) y n-butanol:ácido acético:agua (4:1:5), con desarrollo ascendente.

Resultados

Pesos tiroideos. En ambos lotes el peso del tiroides se refiere en mg por 100 g de animal vivo e igual se procedió con las ratas controles.

Tabla I. Promedio y desviación standard de los pesos tiroideos, PBI^{131} y captación tiroidea de I^{131} .

Entre paréntesis se recoge la probabilidad obtenida al comparar con promedios controles (peso tiroideo $\bar{x} = 5,47 \pm 1,17$; PBI^{131} $\bar{x} = 4,37 \pm 0,37$; captación tiroidea de I^{131} $\bar{x} = 15,56 \pm 7,74$).

Días de experiencia	Pesos tiroideos		PBI^{131}		Captación tiroidea de I^{131}	
	Lote A	Lote B	Lote A	Lote B	Lote A	Lote B
26			4,72 \pm 1,9 (0,4-0,3)	5,20 \pm 2,75 (0,4-0,3)	20,66 \pm 9,0 (0,2-0,3)	25,33 \pm 2,4 (0,01-0,001)
64	5,96 \pm 0,78 (0,4-0,3)	5,28 \pm 0,86 (0,8-0,7)	2,28 \pm 0,89 (0,001)	8,16 \pm 3,4 (0,001)	12,95 \pm 1,86 (0,5-0,4)	33,10 \pm 1,80 (0,001)
106	6,60 \pm 0,48 (0,05-0,02)	5,58 \pm 0,57 (0,9-0,8)	3,20 \pm 1,4 (0,02)	5,30 \pm 1,9 (0,1-0,34)	19,16 \pm 2,60 (0,2-0,3)	26,00 \pm 1,20 (0,02-0,01)
149	5,40 \pm 1,42 (0,3-0,2)	5,83 \pm 0,57 (0,7-0,6)	1,53 \pm 0,66 (0,001)	2,38 \pm 0,34 (0,001)	11,33 \pm 2,10 (0,3-0,2)	13,00 \pm 1,20 (0,5-0,4)
190	6,48 \pm 0,80 (0,1-0,05)	6,16 \pm 1,06 (0,3-0,2)	3,86 \pm 1,40 (0,4-0,3)	4,88 \pm 1,00 (0,3-0,2)	23,50 \pm 7,30 (0,1-0,05)	22,86 \pm 2,3 (0,05-0,02)
233	6,52 \pm 2,06 (0,2-0,1)	6,58 \pm 1,68 (0,2-0,1)	2,90 \pm 0,95 (0,01-0,001)	1,58 \pm 0,75 (0,001)	17,00 \pm 2,10 (0,8-0,7)	14,83 \pm 4,0 (0,9-0,8)
274	5,80 \pm 0,30 (0,6-0,5)	7,60 \pm 1,07 (0,001)	4,58 \pm 2,10 (0,9-0,8)	9,81 \pm 2,50 (0,001)	25,00 \pm 4,47 (0,05-0,02)	47,83 \pm 8,5 (0,001)
323	5,04 \pm 1,14 (0,6-0,5)	5,85 \pm 0,86 (0,5-0,4)	3,50 \pm 1,45 (0,3-0,2)	6,44 \pm 1,43 (0,01-0,001)	19,66 \pm 8,0 (0,4-0,3)	25,83 \pm 6,3 (0,02-0,01)

Tabla II. Captación tiroidea de I^{131} expresada en tanto por ciento de la dosis inyectada 24 horas antes intraperitonealmente, en cada uno de los periodos de experiencia. Igualmente se expresan las eliminaciones de I^{131} por orina y heces. Los valores se refieren a la media \pm la desviación standard. La recuperación recoge los valores medios.

Período de exper.	Captación tiroidea I^{131} 24 h %		I^{131} orina % 24 h		I^{131} heces % 24 h		Recuperación %	
	Lote A	Lote B	Lote A	Lote B	Lote A	Lote B	Lote A	Lote B
1.º	20,66 \pm 9	23,33 \pm 2,4	65 \pm 6	55,5 \pm 2	2,1 \pm 0,5	2,52 \pm 1,1	87,76	81,35
2.º	12,95 \pm 1,86	33,1 \pm 2,1	74,6 \pm 3,6	59,3 \pm 3,1	4,1 \pm 1,24	4,5 \pm 1,8	91,65	96,9
3.º	19,96 \pm 2,6	26 \pm 6,1	72 \pm 13,8	66,3 \pm 6,7	2,96 \pm 1,96	2,96 \pm 1,3	94,12	85,26
4.º	11,33 \pm 2,1	13 \pm 1,2	69,1 \pm 11,1	62,25 \pm 8,1	1,5 \pm 0,95	2,4 \pm 1,1	81,93	77,65
5.º	23,5 \pm 7,3	22,1 \pm 2,3	59,16 \pm 9,5	57,3 \pm 9	2,33 \pm 1,5	3,5 \pm 1,8	85,99	82,9
6.º	17 \pm 2,1	14,83 \pm 4	67,6 \pm 8,5	64 \pm 5,7	3,8 \pm 1,2	4,5 \pm 1,3	88,4	83,33
7.º	25 \pm 4,47	47,83 \pm 8,5	69,8 \pm 4,3	42,3 \pm 6	3,4 \pm 0,89	2,33 \pm 0,58	98,2	92,46
8.º	19,66 \pm 8	25,83 \pm 6,2	62 \pm 10,7	54,66 \pm 9,4	—	2,83 \pm 1,4	82,66	83,42
Control	15,56 \pm 7,74		52,49 \pm 11,6		4,47 \pm 0,88		72,51	

En la tabla I se recogen los promedios de los pesos tiroideos de ambos lotes de ratas (lotes A y B) durante los distintos periodos de experiencia. Puede verse que sólo durante el tercer período el peso tiroideo de las ratas del lote A presentó un promedio algo significativo del control e igualmente sucedió durante el período séptimo en el lote B.

Las ratas de la segunda generación con un año de edad (lotes A₁ y B₁) presentaban un aumento significativo del peso tiroideo, más evidente en el lote A₁ (tabla III).

Captación tiroidea de I^{131} , PBI^{131} y eliminación urinaria y fecal de I^{131} . Las captaciones tiroideas de I^{131} a las 24 horas, expresadas en tanto por ciento de la dosis administrada intraperitonealmente, variaron a lo largo de la experiencia en cada uno de los lotes A y B; sin embargo, las ratas del lote B presentaron una captación tiroidea significativamente mayor durante el séptimo período de experiencia (tabla I).

La eliminación de I^{131} por la orina varió paralelamente a las captaciones tiroideas, mientras que la eliminación de I^{131}

por heces se mantuvo bastante constante y los valores fueron similares para ambos lotes aun cuando se comprueba una mayor eliminación en las ratas del lote B. La recuperación de la radiactividad inyectada osciló entre el 81,93 y 98,2 % para el lote A y del 77,65 al 96,90 % en el lote B (tabla II).

En la tabla I se recogen los valores de PBI^{131} expresados en tanto por ciento de la

Tabla III. Valores medios y desviación tipo de los pesos tiroideos, PBI^{131} y captaciones tiroideas de I^{131} en los lotes A y B.

Entre paréntesis se recoge la probabilidad al comparar dichos promedios con los controles.

	Lote A,	Lote B,	Control
Peso tiroideo mg %	7,46 \pm 1,5 (0,01-0,001)	6,75 \pm 0,8 (0,05-0,02)	5,47 \pm 1,17
% PBI^{131} 24 h \times 100	6,04 \pm 1,51 (0,02-0,01)	5,20 \pm 0,89 (0,1-0,05)	4,37 \pm 0,37
% captación Tir. 24 h	21,35 \pm 3,0 (0,02-0,01)	17,93 \pm 3,51 (0,3-0,2)	15,56 \pm 7,74
n	24	24	12

Tabla IV. Distribución de la radioactividad como I^{131} entre los componentes tiroideos de ratas controles y pertenecientes a los lotes A y B.

Los valores se expresan en tanto por ciento del total de la radioactividad de la tira cromatográfica de papel. No se reseñan la radioactividad del origen, por no sobrepasar nunca el valor de 0,4 %. Entre paréntesis se expresa la probabilidad que resulta al comparar con los promedios controles.

	Control	Lote A	Lote B
I ⁻	3,06 ± 0,99	3,25 ± 0,5 (NS)	2,58 ± 1,33 (NS)
MIT	27,68 ± 1,96	32,00 ± 2,8 (0,01-0,001)	36,50 ± 5,0 (0,001)
DIT	34,76 ± 1,50	25,05 ± 4,04 (0,001)	23,75 ± 5,1 (0,001)
T ₄	31,71 ± 2,00	34,50 ± 4,40 (NS)	33,30 ± 5,0 (NS)
T ₃	2,94 ± 0,92	3,96 ± 0,61 (0,1-0,05)	3,66 ± 1,23 (NS)
MIT/DIT	0,76 ± 0,048	1,32 ± 0,60 (0,05-0,02)	1,60 ± 0,43 (0,001)
T ₃ /T ₄	0,094 ± 0,032	0,11 ± 0,01 (NS)	0,107 ± 0,036 (NS)

dosis administrada 24 horas antes por vía i.p., por 100 ml de suero. Puede verse que mientras las ratas del lote A tienen unos valores similares o más bajos que los controles, las del lote B ostentan en general unos valores de PBI¹³¹ significativamente más elevados, excepto en los períodos cuarto y sexto, cuando fueron más bajos, y durante el primero y quinto, que no ofrecían diferencias con los controles.

El PBI¹³¹ de las ratas del lote A₁, fue significativamente más elevado que los controles, pero no el correspondiente al lote B₁. Igualmente puede corresponderse para los valores de captación tiroidea de I¹³¹ (tabla III).

Cromatografía de hidrolizados tiroideos. Sólo se refieren los realizados en las ratas de los lotes A y B durante el octavo período de experiencia. La comparación de los valores obtenidos (tabla IV, fig. 1)

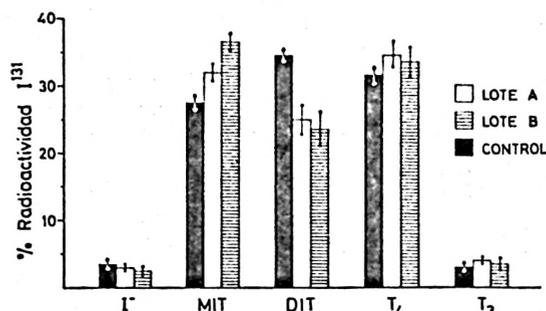


Fig. 1. Distribución de la radioactividad como I^{131} entre los componentes tiroideos de ratas controles y pertenecientes a los lotes A y B. Los valores se expresan en tanto por ciento del total de la radioactividad de la tira cromatográfica de papel. No se reseñan la radioactividad del origen, por no sobrepasar nunca el valor de 0,4 %. Entre paréntesis se expresa la probabilidad que resulta al comparar con los promedios controles.

permiten apreciar que existen diferencias significativas entre los porcentajes de RIT, más elevados en los controles, y los de MIT, que aparecen más altos en las ratas que toman ambos tipos de leche. Este dato lo confirma el cociente MIT/DIT, de mayor valor en los lotes en experiencia que en los controles. Sin embargo, los porcentajes de I¹³¹, T₃¹³¹ y T₄¹³¹ no ofrecieron diferencias apreciables.

Discusión

El posible efecto bociógeno de la leche ha sido sostenido por algunos autores (4, 5, 14). En trabajos anteriores (8, 10) se ha demostrado bocio endémico en escolares en la zona donde procedía la leche que se utilizó en la presente experiencia. En esta zona endémica las vacas se alimentan de nabo durante los meses de noviembre-diciembre hasta abril-mayo y a lo largo de esta época la frecuencia de bocio aumenta significativamente ($P < 0,001$). Además, los habitantes de esta zona toman leche en abundancia (10). Por todo ello se pensó que la leche de esta área vehicularía sustancias bociógenas responsables en gran

parte de la endemia y en consecuencia se utilizó esta leche para alimentar a un lote de ratas durante un año, tratando de comprobar su posible efecto bocioso estudiando al mismo tiempo distintos aspectos con él relacionados y que ya han sido referidos en trabajos anteriores (11, 12).

Otro lote de ratas tomó leche procedente de una granja del sur de Navarra cuyas vacas no tomaban nabos en su alimentación; este grupo de animales se usó como comparativo del anterior.

Al cabo del año de experiencia pudo comprobarse que los tiroides de ambos lotes de ratas no habían aumentado significativamente de tamaño según puede verse en los resultados.

No obstante, la experiencia se prolongó cruzando ratas en experiencia con machos haciendo alimentación normal sin leche y las ratas nacidas de un año de edad pertenecientes al lote A presentaban bocio ($P = 0,01-0,001$) pero también las mismas del lote B, aunque menos evidente ($P = 0,05-0,02$).

Los hallazgos encontrados sugieren que ambos tipos de leche poseen una débil acción bociógena, más evidente para la leche que procede de la zona bociosa. Para la objetivación de este efecto bocioso se requiere de un prolongado tiempo de experiencia, así como una ingesta elevada de leche, no siendo suficiente el período de un año y habiendo sido preciso obtener una segunda generación de animales para conseguir evidenciar un aumento del tamaño tiroideo.

Se ha dado la circunstancia de un mayor contenido de iodo en la leche de la zona bociosa, mientras por el contrario la leche de granja usada como control contenía poco iodo, acaso insuficiente para satisfacer las necesidades por rata y día. Este hecho puede explicar que se haya precisado de tanto tiempo para obtener bocio en las ratas que tomaban leche de la zona bociosa, porque su acción antitiroidea — que puede relacionarse en parte con su mayor contenido en tiocianato —

podría contrarrestarse con el mayor contenido de iodo.

En las ratas de la primera generación (lotes A y B) las captaciones tiroideas son diferentes, pues mientras que en el lote A el tiroides tiene una captación muy similar a la de las ratas controles, en el lote B se aprecia un aumento de la captación que en cierto modo puede explicarse por el menor aporte de iodo a través de la leche de granja.

Los valores de PBI^{131} en el lote A fueron iguales a los controles e incluso menores en cuatro de los ocho períodos de experiencia, lo que acaso traduzca una situación de bloqueo de la síntesis hormonal por efecto de los antitiroideos contenido en la leche principalmente a través del tiocianato. Sin embargo, las ratas del lote B muestran valores más irregulares, así en los períodos 2.º, 7.º y 8.º fueron significativamente mayores, mientras que en los períodos 4.º y 6.º fueron significativamente menores, lo que iría de acuerdo con la irregularidad del aporte de iodo a través de la leche de granja, cuya concentración siempre escasa varió de 0,607 a 2,1 y como ingesta diaria de iodo.

Los hallazgos de la cromatografía de los hidrolizados tiroideos discrepan algo del patrón que se observa en los animales sometidos a dietas pobres en iodo (16), pues sólo se ha evidenciado una inversión del cociente MIT/DIT por aumento del porcentaje de MIT y disminución del correspondiente a DIT, pero no se ha observado incremento de T_3 ni disminución de T_4 , permaneciendo el cociente T_3/T_4 con valores similares en los controles y en los lotes A y B. Este hallazgo podría suponer que el efecto bociógeno encontrado en los lotes A_1 y B_2 no estaría en dependencia directa con un déficit de iodo, sino con otros factores presentes en ambos tipos de leche. En la leche de origen bocioso que tomaron las ratas del lote A y A_1 se ha podido demostrar un contenido elevado de tiocianatos significativamente superior al de la leche de granja (8). Ade-

más es posible que también vehiculice goitrina, dado que las vacas de la zona bociosa toman nabo en abundancia, en las semillas de cuyas crucíferas se ha podido determinar goitrina (11), así como allí isotiocianato demostrado también en las hojas y raíz (6).

Recientemente ARSTILA *et al.* (1) refieren haber encontrado valores de goitrina en distintas muestras de leches procedentes de zonas endémicas de Finlandia, en cantidad suficiente para explicar el bocio que aparece en ratas que toman la leche, e incluso como para considerar importante su participación en la bociogénesis humana.

En la leche de granja, sin embargo, el contenido de tiocianato fue más bajo y se presupone que no contenga goitrina, puesto que las vacas no toman nabo ni otra alimentación que en teoría pueda aportar sustancias bociógenas. En este caso es posible pensar en la presencia de otras sustancias bociógenas, todavía no conocidas, salvo acaso el calcio, las que junto a un menor contenido de yodo pudieran explicar su débil efecto bocioso.

Resumen

Durante un año se han alimentado con leche dos lotes de ratas hembras Wistar. Un lote de ratas ha tomado leche de zona bociosa (lote A) y otro leche de una granja del sur de Navarra (lote B).

A lo largo del año, en ocho períodos distintos de experiencia, se ha estudiado el peso tiroideo, captación tiroidea de I^{131} , PBI^{131} , eliminación urinaria y fecal de I^{131} y la biosíntesis hormonal por medio de la cromatografía de los hidrolizados tiroideos.

En un momento de la experiencia se cruzaron las ratas que venían tomando leche con machos haciendo alimentación normal. Las ratas nacidas en este entrecruzamiento (lote A₁ y B₁) siguieron tomando leche y al año se estudió en ellas peso tiroideo, captación tiroidea de I^{131} y PBI^{131} .

Las ratas de la primera generación no presentaban bocio en ninguno de los dos lotes

A y B; pero en cambio los animales de la segunda generación (lotes A₁ y B₁) presentaron aumento de tamaño tiroideo, más evidente en las ratas del lote A₁ (P 0,01-0,001) que en las ratas del lote B₁ (P 0,05-0,02).

El estudio de la distribución de la radiactividad como I^{131} mediante la cromatografía de hidrolizados tiroideos evidenció una inversión del cociente MIT/DIT por incremento de MIT.

Se concluye que el aumento de tamaño tiroideo en las ratas del lote A₁ puede relacionarse con la leche de zona bociosa que tomaban. Entre los posibles agentes bociógenos de esta leche se piensa que es el tiocianato el de mayor importancia, aunque no se descartan otros factores todavía no estudiados y que podrían explicar el débil efecto bociógeno encontrado en las ratas que tomaban leche de granja.

Bibliografía

1. ARSTILA, A., F. E. KRASIUS y P. PELTOLA: *Acta Endocrin.*, **60**, 712, 1969.
2. BROADHEAD, G. B., L. B. PEARSON y G. M. WILLSON: *J. Endocrin.*, **32**, 341, 1965.
3. BROADHEAD, G. B., L. B. PEARSON y G. M. WILLSON: *Brit. Med. J.*, **1**, 341, 1965.
4. CLEMENTS, F. W.: *Med. J. Australia*, **2**, 369, 1965.
5. CLEMENTS, F. W.: *Brit. Med. Bull.*, **16**, 133, 1960.
6. GARCÍA DE JALÓN, J. y M. MUÑOZ R.: *R. esp. Fisiol.*, **25**, 53, 1970.
7. MUÑOZ R., M.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, **8**, 149, 1964.
8. MUÑOZ R., M.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, **8**, 159, 1964.
9. MUÑOZ R., M.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, **10**, 27, 1966.
10. MUÑOZ R., M.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, **11**, 149, 1967.
11. MUÑOZ R., M.: *R. esp. Fisiol.*, **26**, 189, 1970.
12. MUÑOZ R., M.: *R. esp. Fisiol.*, **26**, 197, 1970.
13. PELTOLA, P.: *Acta Endocrin.*, **34**, 121, 1960.
14. PELTOLA, P. y F. E. KRASIUS: *Acta Endocrin.*, **34**, 603, 1960.
15. PENA FRANCA, E.: «Coloquio sobre la tiroide», p. 225. Río de Janeiro, 1961.
16. PITT-RIVES, R. y R. R. CAVALIERI: «The thyroid gland». Edits. Pitt-Rives y Trotter, W. R. Butterworths, p. 87, London, 1964.