

Efecto de la triyodotironina sobre el glucógeno hepático en *Gallus domesticus*

M. José Sancho, J. M. Macarulla y Josefa L. Segovia *

Departamento de Bioquímica
Facultad de Ciencias
Bilbao (Spain)

(Recibido el 12 de diciembre de 1975)

M. J. SANCHO, J. M. MACARULLA and J. L. SEGOVIA. *Effect of Triiodotyronine on Liver Glycogen in Gallus domesticus*. Rev. esp. Fisiol., 33, 159-162. 1977.

The effect of single injections of triiodotyronine (T_3) on liver glycogen levels of *Gallus domesticus* has been studied at the embryony and postnatal stages. In starved newborn chickens, after the administration of 4 μg of T_3 , an important decrease in liver glucogen is observed between 4 and 10 hours after the injection.

In a series of experiments following the chicken development, a gradual increase in glycogen can be seen, until the sixth day after eclosion, with the only exception of newborn chickens. T_3 has a gradual and significant effect from the 17 th. incubation day onwards producing a decrease in liver glycogen to values lightly inferior to 50 % of the control.

En 1952, GROSS y PITT-RIVERS (7) al mismo tiempo que ROCHE *et al.* (28) aislaron triyodotironina (T_3) de plasma humano y la identificaron como segunda hormona tiroidea. Poco después, se demostró que la T_3 era aproximadamente de 3 a 4 veces más efectiva biológicamente que la tiroxina (T_4) en el tratamiento, por ejemplo, de mixedema humano.

Debido a las bajas concentraciones en que se encuentra esta hormona en el plasma humano, resultó difícil durante mucho

tiempo dilucidar el papel que representaba la segunda hormona tiroidea en sujetos normales y en pacientes con patología tiroidea. Posteriormente, con las técnicas de radioinmunoensayo (3, 5, 16, 19) se ha demostrado que, a pesar de la pequeña cantidad en que se encuentra, la T_3 juega un importante papel en el mantenimiento del estado eutiroideo (14). Existe también evidencia de la conversión extratiroidea de T_4 en T_3 *in vivo* (2, 9, 25, 27, 30) y se está considerando de nuevo (20) la posibilidad de que la T_4 se convierta por desiodación en T_3 antes de ejercer su acción metabólica (9). Sin embargo, PRIMACK *et al.* (26) observan, en mitocondrias aisladas, que los efectos de T_4 y T_3

* Dirección actual: Departamento de Bioquímica. Facultad de Farmacia. Granada (España).

sobre el incremento de síntesis proteica y del consumo de oxígeno, son similares.

La mayoría de los autores que han trabajado sobre los efectos metabólicos, provocados por la administración de hormonas tiroideas, utilizan la rata como animal de experimentación. Estos efectos son bifásicos, dependiendo de la dosis utilizada. A dosis bajas predomina el efecto glucogenolítico, y se estimula la glicolisis, al tiempo que aumenta la síntesis de proteínas (11, 31, 33, 35), mientras que si utilizan dosis elevadas se produce un desacoplamiento de la fosforilación oxidativa (11, 12, 17, 18, 21, 24, 32, 36, 37) y una disminución de la síntesis de proteínas, llegando a registrarse una pérdida de peso corporal (8, 13).

Respecto al mecanismo de acción de la T_3 a nivel celular no hay unanimidad de opiniones. Sus efectos se han atribuido a mecanismos de oxidorreducción (35), efecto directo sobre enzimas, fundamentalmente mitocondriales (32), acción sobre la membrana mitocondrial (32) o a producción o liberación de un segundo mensajero (22).

Como el metabolismo del glucógeno presenta diferencias notables en las aves respecto a los mamíferos (1, 6, 29, 34), en el presente trabajo se estudia el efecto de dosis moderadas de T_3 sobre el nivel de glucógeno hepático en embriones y pollos en diferentes condiciones individuales y ambientales. Con esto se pretende precisar el tiempo de efecto máximo, como punto de partida para el conocimiento más profundo de los mecanismos del proceso.

Material y métodos

Se utilizaron embriones y pollos de raza Leghorn blanca en distintos estadios de desarrollo.

Para cada estadio se trabajó con dos lotes idénticos de animales. Un lote se inyectó con suero fisiológico y el otro con una disolución de igual volumen conte-

niendo 2, 4 u 8 μg de T_3 , dependiendo del estadio de desarrollo (embriones, pollos de menos de 14 días, pollos con más de 14 días, respectivamente).

La dosis elegida responde, a partir de experimentos previos, a la mínima cantidad de hormona que es capaz de provocar respuesta sobre el parámetro a medir, en este caso sobre el nivel de glucógeno hepático.

Para la inyección se preparó, momentos antes y en condiciones estériles, una disolución de T_3 (1 mg/ml) en NaOH 0,02 N fría, la cual se diluyó adecuadamente en suero fisiológico hasta contener los μg necesarios para cada caso en un volumen total de 0,2 ml.

Para el proceso de la inyección y extracción de hígado se siguió el método descrito por GÓMEZ-CAPILLA y MACARULLA (6). El glucógeno se determinó por el método de PAYNE-LATOUR (23) modificado por DE ROOS (4).

Resultados y Discusión

En experimentos preliminares se había determinado que la T_3 produce disminución significativa del nivel de glucógeno hepático, tanto en embriones como en pollos. Algunos autores (33) atribuyen este efecto a influencia de la hormona sobre los mecanismos que regulan el apetito. Para descartar esta posible causa, se eligieron pollos recién nacidos y se mantuvieron en ayunas durante todo el experimento.

Para determinar el tiempo de efecto máximo de la hormona se inyectó una dosis de 4 μg de T_3 a pollos recién nacidos mantenidos en ayunas; se sacrificaron a intervalos de 2 horas después de la inyección, determinando en cada caso el nivel de glucógeno hepático. En todos los casos los resultados se contrastaron con los correspondientes a los controles, inyectados únicamente con suero fisiológico, y sacrificados a los mismos intervalos de tiempo (fig. 1).

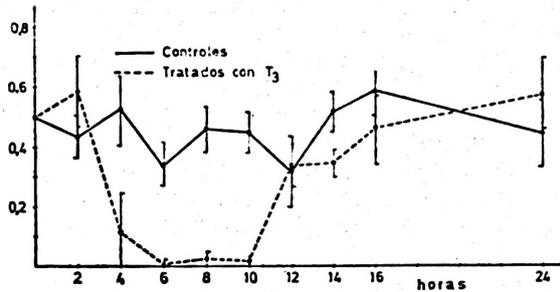


Fig. 1. Tiempo de efecto máximo de una inyección única de 4 μ g de T₃ sobre glucógeno hepático en pollos recién nacidos.

Cada punto corresponde a la concentración media \pm ES de glucógeno en cuatro pollitos en condiciones idénticas. En abscisas se representan los tiempos transcurridos desde la inyección de T₃ o de suero fisiológico (controles) y el momento del sacrificio. En ordenadas, el contenido de glucógeno hepático expresado en mg de glucógeno en 100 mg de hígado fresco.

Siendo el glucógeno material de reserva, las fluctuaciones individuales son considerables, por lo que cada punto de la figura 1 representa la media aritmética de cuatro valores correspondientes a pollos en condiciones idénticas.

En nuestros resultados se observa poca variación de los niveles de glucógeno en los controles a lo largo de las primeras 24 horas de vida; y un descenso hasta depleción casi total del glucógeno a partir de las 4 horas de la inyección de T₃.

Entre pollos tratados y controles se observan diferencias significativas ($P < 0,05$) desde las 4 hasta las 10 horas de la inyección.

Una vez determinado el tiempo de efecto máximo como de 6 horas después de la inyección de T₃, se realizó otra serie de experimentos variando las edades de los embriones y de los pollos. El nivel de glucógeno durante el desarrollo del pollo va ascendiendo con regularidad hasta un máximo en el sexto día después de la eclosión, con un único descenso en el

nacimiento motivado por el consumo energético especial que supone el esfuerzo de la eclosión y el cambio de temperatura ambiental (fig. 2).

A partir del día 17 de incubación, la T₃ produce un efecto glucogenolítico significativo ($P < 0,05$) en todos los estadios del desarrollo embrionario y postnatal del pollo. Por otra parte, es notable el paralelismo existente entre la curva control y la de los tratados a lo largo de todos los estadios estudiados, incluido el momento de la eclosión.

El pollo, material biológico menos utilizado en la bibliografía que la rata, posee una mayor sensibilidad a la T₃. Comparando sus respuestas (33) se llega a la conclusión de que dosis menores de hormonas producen una disminución mayor de glucógeno y en menos tiempo en el pollo que en la rata. Investigaciones ulteriores de nuestro laboratorio evidencian que esta disminución de glucógeno es ocasionada por activación de determinados enzimas glucogenolíticos.

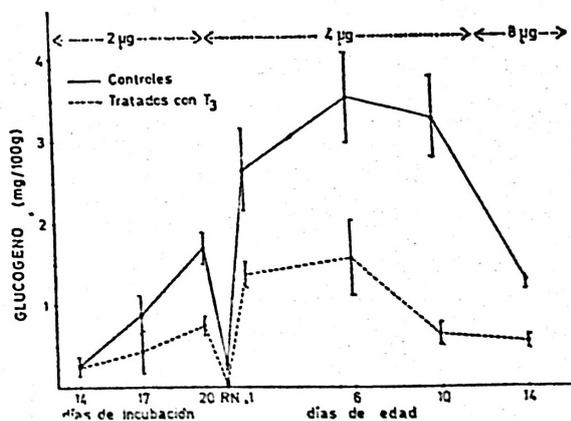


Fig. 2. Variación de los niveles de glucógeno hepático a lo largo del desarrollo del *Gallus domesticus* por efecto de la inyección de T₃. Cada punto corresponde a la concentración media (\pm ES) de glucógeno hepático en 7 embriones o pollitos en condiciones idénticas. En ordenadas se representa el nivel de glucógeno hepático en mg/100 mg de tejido fresco.

Resumen

Se estudia el efecto de la inyección única de triiodotironina (T₃) sobre la concentración de glucógeno hepático en el período embrionario y postnatal de *Gallus domesticus*. Con pollitos recién nacidos, en ayunas, la administración de 4 µg de T₃ produce una fuerte disminución del glucógeno hepático entre las 4 y 10 horas después de la inyección.

En experimentos con embriones y pollitos se observa, a lo largo del desarrollo, aumento del glucógeno hepático hasta el sexto día después de la eclosión, con la sola excepción de los pollitos recién nacidos, y un descenso significativo del glucógeno a partir del día 17 de incubación, producido por la administración de T₃.

Bibliografía

1. BALLARD, F. J. y OLIVER, I. T.: *Biochim. Biophys. Acta*, **71**, 578-588, 1963.
2. BRAVERMAN, L. E., INGBAR, S. H. y STERLING, K.: *J. Clin. Invest.*, **49**, 855-864, 1970.
3. CHOPRA, I. J., SOLOMON, D. H. y BEALL, G. N.: *J. Clin. Invest.*, **50**, 2033-2041, 1972.
4. DE ROOS, R.: *Gen Comp. Endocrinol.*, **13**, 455-459, 1969.
5. GHARIB, H., MAYBERRY, W. E. y RYAN, F. J.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **31**, 709-712, 1970.
6. GÓMEZ-CAPILLA, J. A., MACARULLA, J. M., MARTÍN ANDRÉS, A., y OSORIO, C.: *Rev. esp. Fisiol.*, **31**, 173-176, 1975.
7. GROSS, J. y PITT-RIVERS, R.: *Lancet*, **1**, 439-441, 1952.
8. GROSS, J. y PITT-RIVERS, R.: *Biochem. J.*, **53**, 652-657, 1953.
9. GROSS, J. y PITT-RIVERS, R.: *Recent Progr. Hormone Res.*, **10**, 109-128, 1954.
10. GROSS, J., PITT-RIVERS, R. y TROTTER, W. R.: *Lancet*, **1**, 1044-1045, 1952.
11. HOCH, F. L.: *Physiol. Rev.*, **42**, 605-673, 1962.
12. HOCH, F. y LIPMANN, F.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, **40**, 909-921, 1954.
13. KESSLER, F. J. y KRIISKEMPER, H. C.: *Acta Endocrinol.*, **40**, 459-471, 1962.
14. LARSEN, P. R.: *Metabolism.*, **21**, 1073-1092, 1972.
15. LERMAN, J.: *J. Clin. Endocr.*, **13**, 1341-1346, 1953.
16. LIEBLICH, J. M. y UTIGER, R. D.: *J. Clin. Invest.*, **51**, 157-166, 1972.
17. MARTIUS, C. y HESS, B.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **33**, 486-487, 1951.
18. MARTIUS, C. y HESS, B.: *Biochem. Z.*, **326**, 191-203, 1955.
19. MITSUMA, T., NIHEI, N., GERSHERGON, M. C.: *J. Clin. Invest.*, **50**, 2679-2688, 1971.
20. MORREALE, G.: *I Congreso de la FESBE*. Actas, Madrid, 1976, p. 10.
21. NIEMEYER, M., CRANE, R. K., KENNEDY, E. P. y LIPMANN, F.: *Fed. Proc.*, **10**, 229, 1951.
22. OPPENHEIMER, J. M., SCHWATZ, H. L. y SURKS, M. I.: *J. Clin. Invest.*, **51**, 2493-2497, 1972.
23. PAYNE, H. W. y LATOUR, J. P.: *J. Endocr. Metab.*, **15**, 1106-1115, 1955.
24. PITT-RIVERS, R. y TATA, J. R.: *The Thyroid Hormones*, Pergamon Press, Londres, 1959.
25. PITTMAN, C. S., CHAMBERS, J. B. Jr. y READ, V. H.: *J. Clin. Invest.*, **50**, 1187-1196, 1971.
26. PRIMACK, M. P., TAPLEY, D. F., y BUCHANAN, J.: *Biochim. Biophys. Acta*, **244**, 349-352, 1971.
27. REFETOFF, S., MALATON, R. y BIGAZZI, M.: *Endocrinology*, **91**, 934-947, 1972.
28. ROCHE, J., LISSITZKY, S. y MICHEL, C. R.: *C. R. Acad. Sci.*, **234**, 1228-1230, 1952.
29. SHELLABARGER, C. J. y TATA, J. R.: *J. Biochem.*, **68**, 1056-1058, 1961.
30. SCHWARTZ, H. L., SURKS, M. I. y OPPENHEIMER, J. H.: *J. Clin. Invest.*, **50**, 1124-1130, 1971.
31. SOKOLOF, L., KAUFMAN, S., CAMPBELL, P. K. FRANCIS, C. M. y GELBOIN, H. V.: *J. Biol. Chem.*, **238**, 1432-1437, 1963.
32. TAPLEY, D. F. y HATTFIELD, W. B.: *Vitamins Hormones*, **20**, 251-283, 1962.
33. TATA, J. R.: *Molecular Processes*, **2**, 58-131, 1964.
34. TATA, J. R. y SHELLABARGER, C. J.: *Endocrinology*, **72**, 608-613, 1961.
35. TATA, J. R., ERNSTER, L., LINDBERG, O., ARRHENIUS, E., PEDERSEN, S. y HEDMAN, R.: *Biochem. J.*, **86**, 408-428, 1963.
36. TEPPERMAN, J. y TEPPERMAN, H. M.: *Pharmacol. Rev.*, **12**, 301-321, 1960.
37. WOLFF, E. C. y WOLFF, J.: *The Thyroid Gland*. Academic Press, Londres, 1964, pág. 237.