

Efectos de la administración a corto plazo de T_3 , T_4 y metiltiouracilo sobre los niveles de lípidos en hígado y plasma de rata

J. M. Macarulla, C. Abad, M. Lacort * y B. Ochoa *

Departamento de Bioquímica
Facultad de Ciencias
Universidad de Bilbao
(España)

(Recibido el 21 de diciembre de 1978)

J. M. MACARULLA, C. ABAD, M. LACORT and B. OCHOA. *Effects of T_3 , T_4 and Methyltiouracile Short-Term Treatments on Plasma and Liver Lipid Levels in Rats*. Rev. esp. Fisiol., 35, 421-426. 1979.

The effects of short-term administration of thyroid hormones (T_3 and T_4) and methyltiouracile (MTU) on liver and plasma lipid levels in female rats have been comparatively studied. T_3 increases the levels of all the studied liver lipids and decreases the plasma lipids. T_4 produces smaller and even, in some cases (liver triglycerides and cholesterol esters), opposite effects. The administration of MTU produces, in general, opposite effects to T_3 and T_4 .

Los mecanismos responsables de los cambios lipídicos observados en la disfunción tiroidea no se han definido con precisión. La bibliografía relativa a dichos cambios no es demasiado extensa, aunque sí confusa y contradictoria. Tanto en el estado hipertiroides (11), como hipotiroideo (2) se han descrito estimulaciones simultáneas de vías metabólicas opuestas. Por otra parte, se han observado que las dosis y períodos de administración son factores determinantes en el signo de la

respuesta a estas hormonas, habiéndose establecido por ello que las hormonas tiroideas poseen una acción bifásica (11, 19). En general, estudios realizados previamente han utilizado períodos largos de administración de hormonas y sustancias antitiroideas (6, 14, 28, 34).

El objeto del presente trabajo es determinar si tratamientos hormonales a corto plazo, o incluso inyecciones únicas, ejercen efectos significativos sobre los lípidos hepáticos y plasmáticos. Para tal fin, se han estudiado las acciones de dos dosis de $L-T_3$ (inyección única), de dosis continuadas de $L-T_4$ y de la administración de un antitiroideo.

* Facultad de Medicina. Departamento de Bioquímica y Fisiología.

Material y métodos

Se utilizaron ratas hembras adultas, Wistar, con un peso medio de 170 g, alimentadas con una dieta tipo, teniendo libre acceso al agua. Se dividieron en grupos atendiendo a su estado fisiológico: Normales (N), tratadas con L-T₃ (20 µg/100 g rata/día, inyección única) (N + T₃), tratadas con L-T₃ (40 µg/100 g rata/día, inyección única) (N + T₃*), tratadas con L-T₄ (20 µg/100 g rata/día, 3 días) (N + T₄), tratadas con metiltiouracilo (5 mg/100 g rata/día, 7 días) (N + MTU).

Después de la inyección intramuscular de hormona y MTU, se dejaron las ratas en ayunas durante 24 h, suministrándoles agua *ad libitum*, y se sacrificaron por desangrado. Se hizo un *pool* de los plasmas correspondientes a los animales en igual estado hormonal. Plasmas e hígados se utilizaron inmediatamente.

La extracción de lípidos totales hepáticos se realizó según el método de FOLCH *et al.* (15), y la extracción de lípidos totales plasmáticos según una modificación del mismo, por BLIGH y DYER (3). Los lípidos totales (L.T.) se determinaron por gravimetría (4). Los lípidos neutros se separaron por cromatografía en capa fina

(TLC) (23), procediéndose posteriormente a su determinación específica. Se valoraron fosfolípidos (PL) (35), ácidos grasos libres (A.G.) (20), triacilglicéridos (TG) (41), colesterol (Col.) y sus ésteres (Col. E.) (29).

L-T₃ y L-T₄ se obtuvieron de Sigma y MTU de la casa LEFA. Todos los productos empleados fueron reactivos Merck, grado para análisis.

Resultados y discusión

En las tablas I y II se resumen los niveles de lípidos hepáticos y plasmáticos en los diferentes estados hormonales estudiados. La administración de T₃ y T₄ prácticamente no altera los niveles de lípidos totales en hígado y plasma. El anti-tiroideo (MTU) provoca un aumento de los lípidos totales plasmáticos que es del orden de un 200 %. Ningún tratamiento afectó el peso total del hígado.

Los ácidos grasos libres hepáticos incrementan significativamente su concentración después de los tres tratamientos hormonales ensayados (tabla I). En cuanto a las acciones de T₃ y T₄ sobre ácidos grasos libres en general, la bibliografía muestra ampliamente la dualidad de efectos ya comentada y característica de las hormonas tiroideas. Tiroxina y triiodotironina

* Dosis doble.

Tabla I. Niveles de lípidos hepáticos en los distintos estados hormonales. Los resultados se expresan en valores medios $\pm$ error standard. Los valores de P son vs N. ^a P $\leq$ 0,005, ^b P $\leq$ 0,01, ^c P $\leq$ 0,05, ^d N.S. (n.º de animales por grupo = 10).

Grupo	Lípidos totales mg/g tejido húmedo	Ac. gr. libres µmoles/g tej. húmedo	Triacilglicéridos µmoles/g tej. húmedo	Fosfolípidos µmoles/g tej. húmedo	Colesterol mg/g tejido húmedo	Esteres del colesterol mg/g tejido húmedo
N	47,09 $\pm$ 1,10	1,37 $\pm$ 0,13	5,64 $\pm$ 0,39	36,60 $\pm$ 2,80	1,82 $\pm$ 0,02	0,60 $\pm$ 0,06
N + T ₃	51,49 $\pm$ 5,10 ^d	1,87 $\pm$ 0,06 ^a	7,98 $\pm$ 0,88 ^c	41,80 $\pm$ 2,34 ^d	1,97 $\pm$ 0,06 ^c	0,78 $\pm$ 0,07 ^a
N + T ₃ *	54,65 $\pm$ 4,30 ^d	1,91 $\pm$ 0,06 ^a	8,15 $\pm$ 0,26 ^a	41,80 $\pm$ 3,80 ^d	2,04 $\pm$ 0,03 ^a	0,96 $\pm$ 0,03 ^a
N + T ₄	44,75 $\pm$ 0,70 ^d	1,87 $\pm$ 0,07 ^a	4,21 $\pm$ 0,32 ^c	37,13 $\pm$ 1,80 ^d	1,93 $\pm$ 0,05 ^d	0,49 $\pm$ 0,03 ^d
N + MTU	44,62 $\pm$ 1,80 ^d	1,26 $\pm$ 0,09 ^d	3,85 $\pm$ 0,81 ^d	32,22 $\pm$ 0,90 ^d	1,71 $\pm$ 0,05 ^d	0,53 $\pm$ 0,09 ^d

Tabla II. Niveles de lípidos plasmáticos en los distintos estados hormonales. Los resultados se expresan en valores medios $\pm$ error standard. Los valores de P son vs N. ^a P $\leq$ 0,005, ^b P $\leq$ 0,01, ^c P $\leq$ 0,05, ^d N.S. (n.º de animales por grupo = 10).

Grupo	Lípidos totales mg/ml plasma	Ac. gr. libres μ moles/l plasma	Triacilglicéridos μ moles/l plasma	Fosfolípidos μ moles/l plasma	Colesterol mg/100 ml plasma	Esteres del colesterol mg/100 ml plasma
N	2,80	467,3 $\pm$ 12,60	187,40 $\pm$ 4,02	1330 $\pm$ 75	14,34 $\pm$ 0,21	47,77 $\pm$ 0,90
N + T ₃	2,45	331,6 $\pm$ 10,10 ^a	64,30 $\pm$ 10,0 ^a	1063 $\pm$ 24 ^a	13,00 $\pm$ 0,20 ^a	35,07 $\pm$ 1,08 ^a
N + T ₃ *	2,31	216,0 $\pm$ 4,07 ^a	117,10 $\pm$ 6,71 ^a	1051 $\pm$ 24 ^a	11,78 $\pm$ 0,10 ^a	26,93 $\pm$ 1,08 ^a
N + T ₄	2,55	434,8 $\pm$ 7,02 ^c	159,80 $\pm$ 2,35 ^a	1195 $\pm$ 18 ^b	12,80 $\pm$ 0,29 ^a	43,40 $\pm$ 1,11 ^b
N + MTU	8,71	279,1 $\pm$ 11,60 ^a	1064,30 $\pm$ 23,6 ^a	1934 $\pm$ 33 ^a	36,44 $\pm$ 0,45 ^a	61,77 $\pm$ 1,10 ^a

* Dosis doble.

aceleran la conversión de palmitato a CO₂ en tejido hepático (7, 11, 25). Por otra parte, el estado tirotóxico va acompañado de un incremento de la concentración de acetil-CoA en lípidos hepáticos tanto *in vivo* (9) como *in vitro* (30), estando igualmente descritos claros aumentos en la actividad de los enzimas implicados en la síntesis y regulación de ácidos grasos: acetil-CoA carboxilasa, ácido graso sintetasa, enzima málico y ATP-citrato liasa (8, 11, 17, 21, 34, 44). En cuanto al mecanismo por el que las hormonas tiroideas afectan la actividad de los enzimas implicados en la lipogénesis hepática, parece que sea preferentemente sobre el contenido enzimático más que sobre la eficacia catalítica de los enzimas preformados (5, 34). El bien conocido efecto de las hormonas tiroideas sobre síntesis de RNA y proteínas (37, 38) es consistente con esta hipótesis.

Observaciones adicionales, relacionan a las hormonas tiroideas con incrementos de las actividades enzimáticas que conducen a NADPH (10) y con la propia generación de nucleótidos reducidos en hígado (16, 45). Se ha sugerido que esta coexistencia de estimulaciones simultáneas en la síntesis y degradación de ácidos grasos tiene como objeto crear un ciclo metabó-

lico que contribuya al desgaste general de energía y termogénesis característicos de la tirotoxicosis. Los resultados obtenidos (tabla I) parecen estar más a favor de la tendencia lipogénica observada para estas hormonas.

La administración de T₃ (dosis sencilla o doble) eleva la concentración de triacilglicéridos hepáticos alrededor de un 40-50 %. En cambio, el tratamiento con T₄ produce una ligera disminución (tabla I). Estos efectos opuestos producidos por T₃ y T₄ pudieran estar encuadrados dentro de la acción bifásica de estas hormonas, en dependencia de sus dosis. De hecho, en la bibliografía se vuelven a encontrar discrepancias en cuanto a la relación hormonas tiroideas/niveles hepáticos de triacilglicéridos. GOODRIDGE *et al.* (18) no encuentran cambios significativos, lo que interpretan en base a lo anteriormente expuesto sobre el ciclo metabólico de los ácidos grasos: el indiscutible incremento de la lipogénesis hepática sirve preferentemente para proporcionar un mayor número de moléculas de ácidos grasos para la oxidación mitocondrial. El papel que proponen para las hormonas tiroideas en la célula hepática, es más bien la de activar el recambio de ácidos grasos libres que su esterificación. Otros autores, por el

contrario, observan un incremento en la síntesis de triacilglicéridos hepáticos, después de la administración de T_4 o T_3 (21, 34, 46).

El tratamiento efectuado con MTU no afecta significativamente los niveles hepáticos de ácidos grasos libres y triacilglicéridos (tabla I), habiéndose descrito descensos de la actividad de los enzimas lipogénicos en el estado hipotiroideo (2, 44).

El nivel plasmático de ácidos grasos libres desciende con todos los tratamientos efectuados (tabla II), resultado sorprendente para T_3 y T_4 , ya que es conocida la movilización grasa existente en el estado hipertiroideo (27, 30, 31, 36, 39, 40).

El descenso de ácidos grasos libres plasmáticos tras el tratamiento con MTU representa alrededor de un 50 %. Es importante resaltar que el hipotiroidismo disminuye la respuesta de los tejidos a hormonas de acción rápida, como adrenalina, glucagon e insulina (33, 43) y aumenta las actividades fosfodiesterásicas de AMPc y GCMPC (1, 42).

Los triacilglicéridos plasmáticos descienden claramente en los tres estados hipertiroideos, incrementando con MTU del orden de un 400 % (tabla II). En pacientes hipertiroideos se ha observado un incremento paralelo de procesos opuestos, síntesis hepática con salida de triacilglicéridos al plasma y captación de los mismos por diferentes tejidos, resultando por ello prácticamente inalterado el nivel plasmático de triacilglicéridos (31). El descenso encontrado en los TG plasmáticos (tabla II) parece estar más de acuerdo con un predominio de la eliminación de los mismos debido a una mayor actividad lipolítica postheparínica PHLA, que se sabe está incrementada en estados hipertiroideos (31).

Los cambios efectuados por el MTU en los TG plasmáticos son muy notables (tabla II), y, al menos en parte, pueden ser debidos a una reducida actividad de la PHLA, observada en mixedema (22, 32).

Los datos obtenidos para colesterol

y fosfolípidos hepáticos se muestran en la tabla I. La administración de T_3 aumenta el contenido de colesterol libre, siendo más acusado el efecto en animales tratados con la dosis doble, observándose cambios similares en el colesterol esterificado. Ni la administración de T_4 ni de MTU afectan la concentración de colesterol (libre o esterificado). Respecto al efecto de las hormonas tiroideas sobre colesterol hepático, se encuentran de nuevo discrepancias en la bibliografía. FLETCHER y MYANT (14) describen que la colesterogénesis por un lado aumenta en ratas tratadas con 20 μ g de T_4 y disminuye en ratas tratadas con dosis variables de 30-50 μ g. Las distintas respuestas que se han obtenido con T_3 y T_4 (tabla I) pudieran situarse dentro de esta misma línea conflictiva, estando los tratamientos en el límite en que la respuesta pasa de ser anabolizante a no serlo. Los fosfolípidos no se alteran con ninguno de los tratamientos utilizados.

Fosfolípidos, colesterol libre y esterificado plasmáticos están claramente disminuidos en los tres grupos de animales tratados con hormona tiroidea (tabla II). Repetidamente se ha asociado el hipertiroidismo con bajos niveles de colesterol plasmático (12-14, 24, 26). Contrariamente, el grupo tratado con antitiroideo muestra incrementos en las concentraciones de dichos lípidos, siendo muy acusados (> 50 %) para colesterol libre. Hasta el momento no son conocidos los mecanismos responsables de estas alteraciones a nivel molecular, considerando que es un campo muy atractivo para posteriores investigaciones.

Los resultados obtenidos en la presente experimentación no son concordantes, en algunos aspectos, con otros resultados anteriormente descritos en la bibliografía. Sin embargo, hemos de destacar las diferencias que existen entre los períodos de tratamiento hormonal de este trabajo en relación con los otros comentados. Comparando entre sí los efectos producidos por los tres tratamientos utilizados, se

pueden establecer ciertas generalizaciones: 1.° la dosis doble de T₃ no modifica cuantitativamente la respuesta obtenida con la dosis sencilla sobre los parámetros hepáticos, pero sí sobre ácidos grasos, triacilglicéridos y colesterol esterificado plasmático. 2.°) el tratamiento con T₄ produce efectos del mismo signo que cualquier dosis de T₃ en hígado, menos para TG. y Col. E. en donde se produce una inversión en la respuesta; en plasma, los efectos de T₄ son generalmente menos pronunciados que los de T₃ (ambas dosis). 3.° la inyección de T₃, dosis menor, origina ya efectos metabólicos acusados, percibiéndose claramente una dualidad de efectos con la administración de T₄.

Finalmente, interesa resaltar a partir de estos resultados que las hormonas tiroideas ejercen, a corto plazo, efectos detectables sobre el metabolismo lipídico, a pesar de que se ha postulado que dosis análogas no influyen sobre enzimas de este metabolismo hasta pasados diez días de tratamiento (28).

Agradecimiento

Los autores desean expresar su agradecimiento a D. Federico Castillo por su excelente asistencia técnica.

Resumen

Se han estudiado los efectos que produce la administración a corto plazo de hormonas tiroideas (L-T₃ y L-T₄) y de metiltiouracilo (MTU) sobre niveles de lípidos hepáticos y plasmáticos en ratas hembras, habiéndose comparado entre sí los diferentes tratamientos hormonales, L-T₃ (ambas dosis) produce un incremento en todos los niveles de lípidos hepáticos estudiados, mientras que disminuyen los plasmáticos. L-T₄ produce, en general, efectos menos acusados en ambos tejidos y en ocasiones (triacilglicéridos y colesterol esterificado hepáticos) contrarios a los de T₃. La administración de MTU origina efectos generalmente opuestos a los observados con T₃ y T₄.

Bibliografía

1. ARMSTRONG, K. J., STOUFFER, J. E., VAN INWEGEN, R. G., THOMPSON, W. J. y ROBSON, G. A.: *J. Biol. Chem.*, 249, 4226-4231, 1974.
2. BAQUER, N. Z., CASCALES, M., MC LEAN, P. y GREENBAUM, A. L.: *Eur. J. Biochem.*, 68, 403-413, 1976.
3. BLIGH, E. G. y DYER, W. J.: *Can J. Biochem. Physiol.*, 39, 911-917, 1959.
4. BLOOR, W. R.: *J. Biol. Chem.*, 77, 53-61, 1928.
5. BOOTH, F. W. y HOLLOSKEY, J. O.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 167, 674-677, 1975.
6. BOTTGER, I., KRIEGLER, H. y WIELAND, O.: *Eur. J. Biochem.*, 13, 253-257, 1970.
7. BRAY, C. A. y GOODMAN, M. M.: *Amer. J. Physiol.*, 210, 1053-1058, 1966.
8. CRAIG, M. C., NEPOKROEFF, C. M., LAKSHMANAN, M. R. y PORTER, J. W.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 152, 619-630, 1972.
9. DAYTON, S., DAYTON, J., DRIMMER, F. y KENDALL, F. E.: *Amer. J. Physiol.*, 199, 71-76, 1960.
10. DEBONS, A. F. y SCHWARTZ, J. L.: *Lipid Res.*, 2, 86-89, 1961.
11. DIAMANT, S., GORIN, E. y SHAFRIR, E.: *Eur. J. Biochem.*, 26, 553-559, 1972.
12. ELLEFSON, R. D. y MASON, H. L.: *Endocrinology*, 71, 425-430, 1962.
13. FELDMAN, E. B. y CARTER, A. C.: *Metabolism*, 12, 1132-1140, 1963.
14. FLETCHER, K. y MYANT, N. B.: *J. Physiol.*, 157, 542-564, 1961.
15. FOLCH, J., LEES, M. y SLOANESTANLEY, G. M.: *J. Biol. Chem.*, 226, 497-509, 1957.
16. FREEDLAND, R. A., AVERY, E. M. y TAYLOR, A. R.: *Can. J. Biochem.*, 46, 141-150, 1968.
17. GIBSON, D. M., LYON, R. T., SCOTT, D. F. y MUTO, Y.: *Advan. Enzyme Regul.*, 10, 187-204, 1972.
18. GOODRIDGE, A. G., GARAY, A. y SILPARANTA, P.: *J. Biol. Chem.*, 249, 1469-1475, 1974.
19. HOGH, F. L.: *New Engl. J. Med.*, 266, 446-454, 1962.
20. ITAYA, K. y VI. M.: *J. Lipid Res.*, 6, 16-20, 1965.
21. KAKKO, J. K. y LIN, M. S.: *FEBS Lett.*, 39, 243-246, 1974.
22. KIRKEBY, K.: *Acta Endocrinol.*, 59, 555-563, 1968.
23. KRELL, K. y HASHIM, S. A.: *J. Lipid Res.*, 4, 407-416, 1963.

24. KRITCHEVSKY, D.: *Metabolism*, 9, 984-994, 1960.
25. KRITCHEVSKY, D., COTTELL, M. C. y TEPPER, S. A.: *J. Cell. Comp. Physiol.*, 60, 105-108, 1962.
26. KRITCHEVSKY, D., MOYNISAN, J. L. y SACHS, M. L.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 108, 254-257, 1961.
27. KUROSHIMA, A., DOI, K. y KURAHASHI, M.: *Jap. J. Physiol.*, 25, 253-261, 1975.
28. LANDRISCINA, C., GNONI, G. V. y QUAGLIARELLO, E.: *Eur. J. Biochem.*, 71, 135-143, 1976.
29. LIEBERMAN-BURCHARD: En «Techniques modernes de laboratoire et explorations fonctionnelles». L. HARTMANN. L'Expansion Scientifique Française. Paris, 1971, págs. 240-243.
30. MYAN, N. B. y ILIFFE, J.: *Biochem. Soc. Symp.*, 24, p. 145, 1963.
31. NIKKILA y KEKKI, M.: *J. Clint. Invest.*, 51, 2103-2113, 1972.
32. PORTE, D. J., O'HARA, D. D., WILLIAMS, R. H.: *Metab. (Clin. Exp.)*, 15, 107-113, 1966.
33. ROBINSON, G. A., BUTCHER, R. W. y SUTHERLAND, E. W.: En «Cyclic AMP», Academic Press, Nueva York, 1971, pp. 232-283.
34. RONCARI, D. A. K. y MURPHY, V. K.: *J. Biol. Chem.*, 250, 4134-4138, 1975.
35. ROUSER, G., SIAKOTOS, A. N. y FLEISCHER, S.: *Lipids*, 1, 85-93, 1966.
36. SILVERMAN, L. H., BEZNAK, M. y KAKO, K. J.: *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 199, 68-75, 1972.
37. TATA, J. R.: En «Biochemical Actions of Hormones» (Litwack G., ed.), Academic Press, Nueva York, pp. 89-133, 1970.
38. TATA, J. R. y WIDNELL, C. C.: *Biochem. J.*, 98, 604-620, 1966.
39. TAYLOR, A. W.: *Biochem. J.*, 86, 408-428, 1972.
40. TEPPERMAN, H. M. y TEPPERMAN, J.: *Amer. J. Physiol.*, 214, 378-383, 1964.
41. VAN HANDEL, E. y ZILWERSMITH, B. B.: *J. Lab. Clin. Med.*, 50, 152-161, 1957.
42. VAN INWEGEN, R. G., ROBISON, G. A., THOMPSON, W. J., ARMSTRONG, K. J. y STOUFER, J. E.: *J. Biol. Chem.*, 250, 4452-4456, 1975.
43. WEST, T. E. T., OWENS, D., SONKESON, P. H., SRIVASTARA, M. C., TOMPKINS, C. V. y NABARO, J. D. N.: *Clin. Endocrinol.*, 4, 573-584, 1975.
44. WISE, Z. M. y BALL, E. G.: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 52, 1256-1263, 1964.
45. YOUNG, J. W.: *Amer. J. Physiol.*, 214, 378-383, 1968.
46. YOUNG, D. L. y LYNEN, F.: *J. Biol. Chem.*, 244, 377-383, 1969.