

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

Captación de Triiodo - Tironina marcada  
con iodo radioactivo (I-131) por las proteínas  
del suero en individuos normales

TESIS

presentada por

ALBA ESTELLA POLANCO

En el Acto Público de su Doctoramiento



SAN SALVADOR

EL SALVADOR

CENTRO AMERICA

AGOSTO DE 1965

+  
12.44  
762e  
1965  
L. ee. 99  
2j. 3

UES BIBLIOTECA CENTRAL



INVENTARIO: 10123655

048940

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

Rector

Dr. FABIO CASTILLO FIGUEROA

Secretario General

Lic. MARIO FLORES MACALL

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

Decano

Dr. VICTOR ALEJANDRO VERDUGO

Secretario

Dra. LETICIA CALLES DE ROMERO A.

## **JURADOS:**

### **PRIMER EXAMEN GENERAL PRIVADO DE DOCTORAMIENTO**

|            |                            |
|------------|----------------------------|
| Presidente | Dr. Raúl Montoya Parada    |
| Vocal      | Dr. Oscar Aragón Valdez    |
| Secretario | Dra. Ana Medrano de Soundy |

### **SEGUNDO EXAMEN GENERAL PRIVADO DE DOCTORAMIENTO**

|            |                         |
|------------|-------------------------|
| Presidente | Dr. Carlos Mata Gavidia |
| Vocal      | Dr. Miguel Angel Amaya  |
| Secretario | Dr. Félix León Suncín   |

### **TERCER EXAMEN GENERAL PRIVADO DE DOCTORAMIENTO**

|            |                            |
|------------|----------------------------|
| Presidente | Dr. Jacinto Colocho Bosque |
| Vocal      | Dr. Oswaldo Ramírez        |
| Secretario | Dr. José María Ticas       |

## **JURADO DE TESIS**

|            |                                 |
|------------|---------------------------------|
| Presidente | Dr. Mario A. Santos             |
| Vocal      | Dra. Stella Monterrosa de Marín |
| Secretario | Dr. Carlos Elorriaga            |

## DEDICATORIA

### AL TODOPODEROSO

*cuya Misericordia siempre me acompaña.*

### A MIS PADRES

*Marcos Polanco C. y Ernestina P. de Polanco, por cuyo esfuerzo y para cuya satisfacción  
llegué a la meta.*

### A MIS HERMANOS

*Bertha Polanco de Amaya y Guillermo Polanco P.*

### A MIS SOBRINITAS

*Bertha Guadalupe y Ana Estrella Amaya P.*

### A MIS AMIGOS

*que tan generosamente colaboraron conmigo para la elaboración de este trabajo.*

### A MIS PROFESORES Y COMPAÑEROS

### A MIS PARIENTES

CAPTACION DE TRIYODO-TIRONINA MARCADA CON IODO RADIOACTIVO (I-131)

POR LAS PROTEINAS DEL SUERO EN INDIVIDUOS NORMALES

T E N A R I O:

- I - INTRODUCCION.
- II - DESCRIPCION DE METODOS PARA EVALUAR LA  
FUNCION TIROIDEA.
- III - MATERIALES Y METODOS.
- IV - RESULTADOS.
- V - DISCUSION.
- VI - SUMARIO.
- VII - B I B L I O G R A F I A.

## INTRODUCCION

En el laboratorio clínico la determinación del estado funcional de la glándula tiroides es de suma importancia. Por otra parte, los niveles de Iodo orgánico del suero presentan relación directa con la actividad de la glándula tiroides. La fracción de Iodo ligado a las proteínas está constituida principalmente por la tiroxina y por fracción de menor contenido en Iodo, tales como la T-3, que se encuentra ligado por las proteínas séricas. Por otra parte, la otra forma del Iodo sérico, el Iodo inorgánico, no refleja directamente el estado funcional de la glándula tiroides, aunque sí podría reflejar el equilibrio en el organismo entre la ingesta, el metabolismo y la excreción del I.

Se ha encontrado que la tiroxina liga y se transporta principalmente en la fracción de proteínas que migra electroforéticamente a pH 8.6 entre globulinas alfa prima y alfa segunda (1). También la triiodo-tironina se liga a esta fracción pero con menos intensidad o poder de ligación que la tiroxina. Algunos estudios de competición con suero humano (2) entre la hormona tiroides y DL-tironina, demuestran que la última desplaza a la L-triiodo-tironina con mayor intensi.

dad que a la L-tiroxina de sus sitios de unión en las proteínas. La albúmina liga y transporta la tiroxina en menor grado y actúa principalmente cuando el nivel de tiroxina aumenta.

La glándula tiroides tiene una gran avidez por el Iodo. La glándula tiroides normal concentra aproximadamente el 20% del Iodo total del cuerpo. El Iodo ingerido es absorbido rápidamente y puede ser detectado en la glándula tiroides y en la saliva unos pocos minutos después de la administración -- oral. El Iodo es absorbido del tracto intestinal como yoduro y éste es sustraído del sistema sanguíneo por el epitelio de la tiroides. En la glándula tiroides el Iodo es convertido en Iodo naciente por una enzima y combinado luego -- con la tirosina (3).

La capacidad de la glándula tiroides para concentrar Iodo del sistema sanguíneo y convertirlo en sus formas orgánicas (tiroxina) es la que se aprovecha para las valoraciones de la función tiroidea. En años recientes la administración del Iodo radioactivo ( $I-131$ ), para medir esta capacidad ha sido un procedimiento clínico standard, y es probablemente ahora, la aplicación más común de radioisótopos, en medicina clínica.

La captación del Iodo radioactivo por la glándula tiroidea, puede en muchas situaciones, servir como una segura indicación del estado metabólico del paciente. En complemento a la evaluación de la función tiroidea por medición del Iodo tomado por la glándula, se han aplicado otros procedimientos que dependen de la distribución de Iodo radioactivo en los constituyentes de la sangre.

En los últimos años se han puesto en práctica métodos para la valoración del Iodo ligado a las proteínas, utilizando Iodo radioactivo.

Estos métodos se realizan *in vitro* y tienen la ventaja sobre la captación directa de radioactividad, de que no se administran sustancias radioactivas al paciente, permitiendo, con técnicas cuidadosas la obtención de datos de valor en la evaluación de la función tiroidea.



## II - DESCRIPCION DE METODOS PARA EVALUAR LA FUNCION TIROIDEA.

1) La determinación del Iodo ligado a las proteínas séricas (P.B.I.); es una medida de la función tiroidea y sus valores bajos se asocian con hipotiroidismo, mientras que los valores altos, por arriba de lo normal (3.1- a 7.1 microgramos por litro de suero es lo normal), se observan en los casos de hiperfuncionamiento de la glándula tiroidea.

La determinación del P.B.I. en suero sin el uso del radio-iodo se popularizó grandemente en el pasado. Su procedimiento es tedioso y requiere gran experiencia y cuidado en su ejecución. Este método se ha desplazado grandemente por la técnica que utiliza radio-iodo.

2) Un método de los más antiguamente conocidos es el del Metabolismo Basal ( $\lambda$ ), para evaluar la función tiroidea, que consiste en medir el gasto mínimo de energía que es necesario para mantener las funciones vegetativas, o sea, el grado de calor expresado en calorías por hora y por metro cuadrado de la superficie del cuerpo de un individuo en estado de reposo completo en una atmósfera de  $16^{\circ}$ , y sometido al ayuno desde 16 horas antes. La medición se efectúa por medio de un calorímetro.

3) Otro método para evaluar la función tiroidea es el de Hamolsky (5), quien en 1957 describió el valor de la captación *in vitro* de la L-triiodo-tironina por eritrocitos. Este mide la cantidad de L-triiodo-tironina I-131 que se liga a los glóbulos rojos después de un período de incubación. Para efectuar esta medida se determina la radioactividad que queda en los glóbulos rojos después de separarlos del plasma por lavados sucesivos.

4) El método del Triosorb (6) es otro sistema que se usa para la evaluación de la función tiroidea, que es parecida al anterior, con la diferencia que, en vez de usar glóbulos rojos se trabaja con una resina esponjosa.

El triosorb es una combinación de resina esponjosa y L-triiodo-tironina (I-131). Los que proponen este método señalan muchas ventajas de éste, comparado con el de Hamolsky. Indican que como la resina hace las veces de glóbulos rojos, se descartan las inconveniencias que éstos presentan en el método de Hamolsky, por otra parte, se reduce el tiempo de la prueba.

En resumen, la ligación o captación por resina de Triosorb es aumentada en hipertiroidismo y disminuída en hipotiroidismo.

5) Y por último mencionaremos el método del Sephadex (7), que es el que hemos usado en el presente trabajo y que se basa en la separación de las proteínas séricas ligadas al I-131 por

una técnica de filtración a través de un gel de Sephadex y en una columna cromatográfica. Esta columna de Sephadex (8) puede ser usada para la separación de:

- a) T-3-I-131 (triiodo-tirenina libre marcada con Iodo radioactivo).
- b) I-131-NaI (iodo radioactivo contenido en el yoduro de sodio).
- c) Proteína sérica ligada a T-3-I-131.

Se ha demostrado que cuando se añade suero humano incubado con T-3-I-131 a la columna de Sephadex, T-3 es retenida por la columna. El I-131 en forma de NaI puede ser eluido con tampón de fosfato y saldrá de la columna entre las fracciones sexta, séptima y octava, en las condiciones señaladas en la parte experimental. Las proteínas salen de la columna entre la segunda, tercera y cuarta fracciones, en las mismas condiciones.

Estos resultados indican que es posible determinar el porcentaje de T-3 ligada a las proteínas, midiendo las primeras fracciones activas, eliminadas por elución, (fracciones dos, tres y cuatro) y comparando este valor con la actividad total añadida al suero. T-3 no ligada a las proteínas permanecerá en la columna. El I-131 inorgánico contenido en el Triomet aparecerá en una fracción aparte, entre fracciones seis y ocho.

III. MATERIALES Y METODOS .

*M A T E R I A L E S:*

- 1.- *Suero humano normal*
- 2.- *Triomet (Triiodo-tironina marcada con I-131)*
- 3.- *Sephadex G-25.*

*La triiodo-tironina marcada con I-131 (Triomet) fue suministrada por Laboratorios Abbott, en forma de disolución acuosa con una actividad específica de 28.5 millicurios por miligramo de soluto. De esta solución se tomo 0.1 ml. y fue diluido en 50 ml. de tampón de fosfato M/15. Esta es la solución de trabajo empleada en los experimentos. El material de la columna de filtración lo constituye el Gel Sephadex G-25, suministrado por Pharmacia Corp.*

METODO DEL SEPHADEX G-25

- 1) *Diluir 0.1 ml. de solución patrón de Triomet en 50 - ml. tampón de fosfats M/15.*
- 2) *Añadir 0.1 ml. de la dilución en (1) e 3 ml. de suero Tapar el tubo.*
- 3) *Incubar en baño de agua durante 15 minutos a 37° C., agitando mecánicamente durante ese tiempo.*

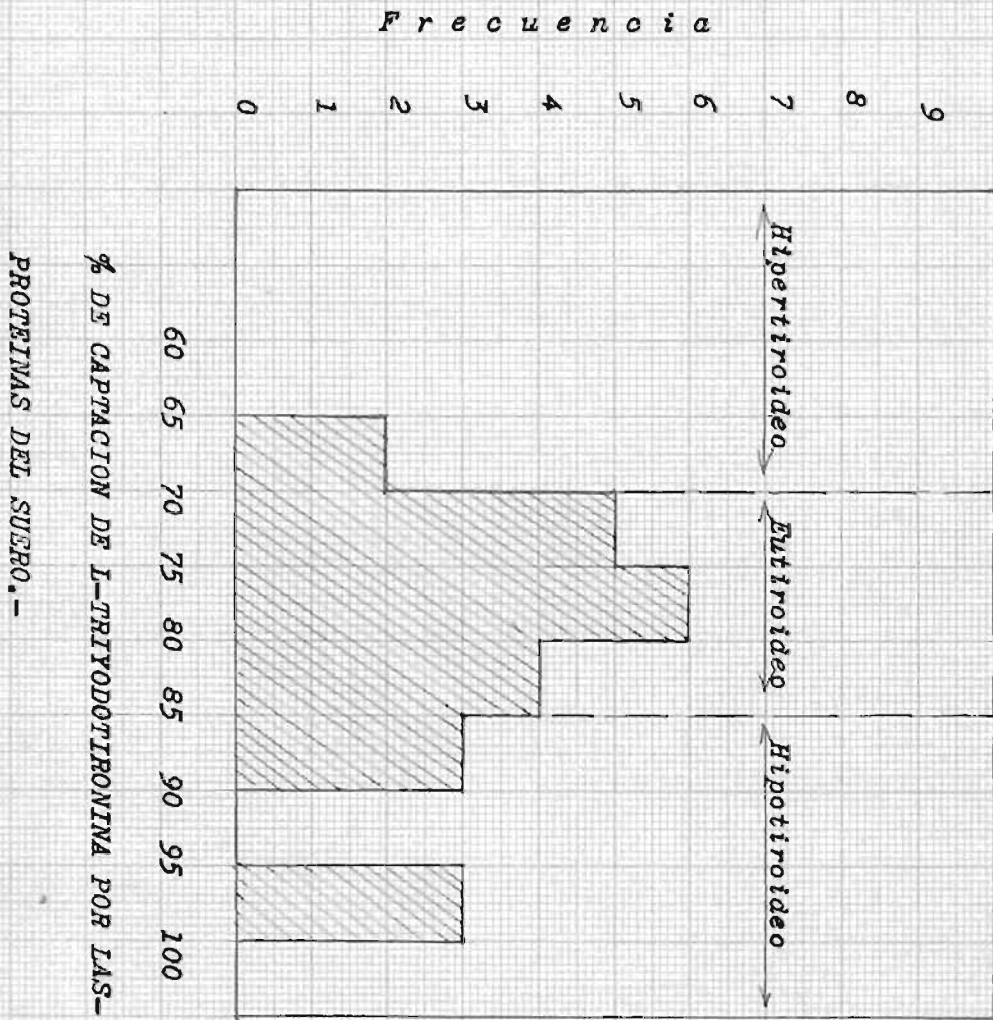
- 4) Pesar 2 gramos de Sephadex G-25 en un vaso de precipitado, añadir 10 ml. de tampón de fosfato; mezclar cuidadosa e inmediatamente; verter el contenido en una columna cromatográfica de 1 cm. de diámetro por 25 cm. de longitud.
- 5) Dejar asentar la columna del Sephadex ayudándola -- con pequeños golpes con un martillo de hule y, colocar un pequeño disco de papel filtro por la boca de la columna de vidrio cuando aún tiene algo de solución tampón. . El disco se deposita sobre la columna de Sephadex. .
- 6) Pipetear 1 ml. del suero incubado y apartarlo como control de actividad, que se cuenta al final con -- las demás colecciones (11 y 12).
- 7) Pipetear y colocar 1 ml. del suero incubado en la columna cromatográfica en el momento en que se agota la solución tampón fosfato.
- 8) Tan pronto como el suero pasa el disco de papel -- filtro se añade 1 ml. de tampón fosfato con objeto de lavar.

- 9) Tan pronto como la solución tampón fosfato (8) atraviesa el disco de papel filtro se le añade a la columna tampón fosfato, hasta llenarla.
- 10) Cuando el suero ha descendido dos tercios de la columna de Sephadex (unos 16 cm. aproximadamente) se empieza a coleccionar fracciones de 1 ml. en cada uno de cuatro tubos. Luego se coleccionan fracciones de 3 ml. cada una en dos tubos.
- 11) Contar la actividad de las cuatro fracciones de 1 ml.
- 12) Tomar 1 ml. de cada una de las dos fracciones de 3 ml. y contar su actividad.
- 13) Contar la actividad del suero control separado (en 6).
- 14) Cálculo:
  - a- restar el conteo de fondo de todas las muestras.
  - b- Sumar el conteo de las fracciones de 1 ml. (en 11) - que representan conteo neto de triodo-tironina marcada con I-131, ligada a las proteínas séricas (P.B.I. -T-3-I-131).
  - c- Sumar el conteo de las dos porciones de 1 ml. que representan I-131 libre (en 12).
  - d- Sustraer (c) de la actividad del suero control (13). La diferencia representa conteo neto de suero control (T-3-I-131).

e)  $\frac{\text{Conteo neto de triiodo-tironina marcada con I-131 ligada a las proteínas séricas (14 b)} \times 100}{\text{Conteo neto de suero control (14 d)}} = \% \text{ de captación de T-3-131 en suero.}$

Las proteínas que salen de la columna de la segunda, tercera a cuarta fracciones son las que tienen mayor cantidad de triiodo-tironina. La triiodo-tironina retenida por la columna permanecerá en la misma, pero podría ser eluida hasta en un 90%.

FIGURA # 1





CUADRO No. 1

| ATRIBUTO | PUNTOS HEELS. | FRECUENCIA | $X_i \times Y_i$ | $X_i - M_x$ | $(X_i - 77.28)^2$ | $(X_i - 77.28)2xY_i$ |
|----------|---------------|------------|------------------|-------------|-------------------|----------------------|
| 65-70    | 67.5          | 2          | 135.0            | -9.78       | 95.65             | 191.30               |
| 70-75    | 72.5          | 5          | 362.5            | -4.78       | 22.86             | 114.30               |
| 75-80    | 77.5          | 6          | 465.0            | 0.22        | 0.48              | 000.29               |
| 80-85    | 82.5          | 4          | 330.0            | 5.22        | 27.25             | 109.00               |
| 85-90    | 87.5          | 3          | 262.5            | 10.22       | 14.45             | 043.35               |
| 90-95    | 92.5          | 0          | 000.0            | 15.22       | 79.45             | 000.00               |
| 95-100   | 97.5          | 3          | 292.5            | 20.22       | 448.85            | 1347.55              |
|          |               | $N = 23$   | 1847.5           |             |                   | 1805.79              |

$N =$  Número de Casos = 23

$X_i =$  Atributo = Puntos Medios.

$Y_i =$  Frecuencia

$$M_x = \text{Media Aritmética} = \frac{1847.5}{23} = 77.28$$

$$V_x = \text{Variación} = \frac{1805.69}{23} = 78.51$$

$$D_s = \text{Desviación estándar} = \sqrt{V_x} = \sqrt{78.51} = \pm 8.86$$

CUADRO No. 2

| CONDICION  | No. DE CASOS | CAPTACION<br>% | PROMEDIO<br>% | ± D. S. # |
|------------|--------------|----------------|---------------|-----------|
| EUTIROIDEO | 23           | 67.5-97.5      | ± 77.28       | ± 8.86    |

± D. S. = DESVIACION ESTANDAR

#### IV. RESULTADOS

En la figura # 1 se presenta la frecuencia de distribución de los casos estudiados.

En la tabla No. 1 se presenta el cálculo estadístico de los resultados. En la tabla No. 2, de 23 casos estudiados se indican valores de captación entre 67.5 y 97.5 %, deducidos de la tabla No. 1, con una desviación estandar de 8.86.

Rabinowitz y colaboradores (9) han reportado valores entre 74 y 86 %, para la zona de normalidad, en el estudio -- realizado en 274 pacientes. Si tomamos sus valores para comparar nuestros resultados encontramos que, aparentemente, para individuos de nuestro medio, los valores son más bajos del lado hipertiroideo, tomando un 70% como valor representativo, según la figura # 1. Para Rabinowitz este valor llega hasta el 74%.

Por otra parte, en nuestro estudio únicamente dos casos presentan valores de captación menores al 70%, pero del lado hipotiroideo 6 casos presentan valores mayores al 85%.

En la figura # 1 se puede observar la regularidad en la frecuencia de distribución entre 70 y 85%.

V D I S C U S I O N .

*Del estudio de la frecuencia de distribución de la figura # 1 se acepta como valor extremo del lado hipertiroideo un valor de captación de 70%. Aunque se puede considerar una zona limítrofe que se extiende al 65%. Unicamente dos casos caen en esta zona limítrofe.*

*Del lado hipotiroideo podemos considerar como valor extremo el de 85% con una zona limítrofe que se puede extender hasta el 90%. Seis casos son mayores al 85% y 3 de ellos estarán en esa zona limítrofe si descartamos los valores comprendidos entre 95 y 100% .*

*Estos resultados muestran una concordancia muy marcada -- con los valores de captación de triiodo-tironina (I-131) por eritrocitos, (reportados por Santos 9) en el mismo grupo de sujetos que son objeto del presente estudio. En el trabajo de Santos, se reporta una extensión del lado hipotiroideo a valores más bajos que los reportados en individuos norteamericanos. Seis de sus casos van más allá de los valores límites de los reportados en estos sujetos. Por otra parte, del lado hipertiroideo, este autor reporta una extensión mínima, con respecto a los valores extremos de los reportados en individuos nortea-*

americanos; únicamente tres de sus casos sobrepasan los valores límites reportados para estos sujetos.

Conviene mencionar que una extensión hacia el lado hipotiroideo podría ser el resultado de condiciones propias de nuestro medio. En todo caso este estudio preliminar debe extenderse a mayor número de sujetos normales y a sujetos en condiciones de hipo e hipertiroidismo con objeto de establecer los valores límites y zonas limítrofes para individuos de nuestro medio.

La técnica descrita parece ser adecuada para la determinación de la función tiroidea. Como vemos parece ser mucho más simple y más fácil de llevarse a cabo que otras técnicas, aunque pudiera dar un margen de error, a veces bastante grande, si no es realizada cuidadosamente. La presencia del Iodo libre en el reactivo es fácil de corregir. No ocurre la dificultad de la hemólisis, como cuando se trabaja con glóbulos rojos, puesto que en este trabajo se ha usado suero humano.

El procedimiento completo se puede verificar en dos horas y puede fácilmente ser llevado a cabo en serie por un técnico de laboratorio debidamente entrenado. No es necesaria ninguna corrección para hematócrito como se hace en la prueba de Hammsky, con la que guarda alguna relación.

*El Sephadex elimina la T-3 no ligada, pero aparentemente no puede competir con la fuerte ligadura de T-3 ligada al plasma.*

*Esta técnica es muy útil en el estudio de la función de la glándula tiroides y es de valor cuando se tiene un buen conocimiento de la fisiología y bioquímica de esta glándula.*

#### VI RESUMEN

*Se ha realizado el estudio de la captación de triiodo-tironina (marcada con I-131) por las proteínas del suero en 23 sujetos aparentemente normales, siguiendo la técnica de filtración a través del Sephadex, propuesta por Rabinowitz y colaboradores.*

*Los valores normales de captación aceptados por el autor oscilan entre 70 y 85% de los valores propuestos. Se consideran como zonas limítrofes para cada uno de los valores propuestos hasta el 60 y 90%, respectivamente.*

*Se recomienda el método por su técnica de fácil aplicación y como ayuda adicional en el diagnóstico de la función tiroidea.*

*Este test ha aportado mucho en el estudio de trastornos de la glándula tiroides y en su control terapéutico. Debido a que la prueba es realizada in vitro se evita la administración de elementos radioactivos al paciente, y no requiere su cooperación ni su presencia para la determinación de la radioactividad. Su valor diagnóstico debe evaluarse de un estudio comparativo que se realice con otras pruebas recomendadas para el control de la función tiroidea.*

VII B I B L I O G R A F I A

- 1.- Albright, E.C., Larsen, F. C., and Deiss, W. P.  
"Thyroxine-Binding Capacity of Serum Alpha Globulin  
in Hypothyroid, Euthyroid and Hyperthyroid Subjects"  
*J. Clin Invest.*, 34 : 44 (1955).
- 2.- Santos, M. A. and Rabinowitz, J. L., "L-triiodothyronine  
Binding to Serum Protein I. Competition by Thyronine"  
*Proceeding of the Society for Experimental Biology and --  
Medicine.*, 115: 901-903, (1963)
- 3.- Squibb Technical Data Sheet. Iodotope, Squibb Sodium  
Radio-Iodide (I-131). Medotopes.
- 4.- Salvat Editors. S. A. "Diccionario Terminológico de Cien-  
cias Médicas". 5 : 798, (1954).
- 5.- Hamolsky, M. W., Golodetz, A., and Freedberg, A. S.,  
"Further Studies on Use of RBC Uptake of L-Triiodothyro-  
nine I-131 as a Diagnostic Test of Thyroid Function",  
*J. Clin. Endocrinol.*, 19 : 103, (1959).
- 6.- Abbott's T-3 Diagnostic Kit. Triosorb. Radio-Pharmaceuti-  
cals By Abbott. 13-0152/R1-50- Rev. abril, (1963).



- 7.- Bernard Shapiro, M. D., and Josephy L. Rabinowitz, Ph.D.  
"A Chromatographic Method Utilizing Sephadex for the Separation of Free Iodide, Protein-Bound and Unbound Triiodothyronine in Sera". *Journal of Nuclear Medicine* 3: 417-421, (1962)
- 8.- Joseph L. Rabinowitz Ph.D. Bernard Shapiro M.D. and Philip Johnson M.D. "Sephadex Chromatograph Test in the Evaluation of Thyroid Function". *Journal of Nuclear Medicine* 4 : 139-142, (1963)
- 9.- Santos M. A. "Captación de Triiodo-tironina marcada con Iodo-131 por Eritrocitos en individuos Normales", por publicarse. 1964.

