

Universidad de Buenos Aires, Argentina

NIVELES DE TBARS PLASMÁTICAS Y URINARIOS EN PACIENTES HIPERTIROIDEOS, PRETRATAMIENTO Y POSTRATAMIENTO CON ANTIOXIDANTES

Dra. Liliana Guerra, Dra. Silvia Moiguer, Dra. Mirta Karner, Dra. Claudia Sreder, Dr. José Burdman y Dra. María del Carmen Ríos de Molina

RESUMEN

Se realizó un estudio para dilucidar los mecanismos involucrados en el efecto beneficioso de una mezcla antioxidante en el tratamiento del hipertiroidismo; se determinaron: TBARS plasmáticas y urinarias, niveles de hormonas circulantes y especies reactivas de larga vida en orina, aplicando un método novel de detección. En los pacientes hipertiroides, el estrés oxidativo estaría relacionado con los síntomas, pero no con el nivel de hormonas circulante.

Palabras clave: Hipertiroidismo, TBARS plasmáticas y urinarias, hormonas circulantes, estrés oxidativo.

Uno de los principales efectos de las hormonas tiroideas (T3, T4) es incrementar la respiración mitocondrial con un concomitante aumento en la producción de radicales libres.¹ Este estado de estrés oxidativo se ha postulado que está estrechamente relacionado con los síntomas del hipertiroidismo.²

En un trabajo previo de este grupo se ha comprobado el efecto benéfico de una mezcla antioxidante en el tratamiento de la enfermedad de Graves (caracterizada por elevados valores de T3 y de T4) y se realizaron ensayos tendientes a dilucidar los mecanismos involucrados.³

En este trabajo se determinan los niveles séricos y urinarios de sustancias

reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y se analizaron las correlaciones con los niveles de hormonas circulantes. Por otra parte se aplicó un método nuevo de detección de especies reactivas de larga vida en orina, relacionadas con estrés oxidativo.

MÉTODOS

Se seleccionaron al azar 6 pacientes hipertiroides, 3 de los cuales fueron tratados con MMI y 3 con antioxidantes (AO). El Comité de Ética del Hospital ha aprobado estos estudios.

La dosis diaria de MMI fue de 50 mg y de la mezcla de antioxidante 2 comprimidos

diarios (cada comprimido contenía: vitamina E 200 mg, Beta-caroteno 3 mg, vitamina C 250 mg, Cu 1 mg, Zn 7,5 mg, Mn 1,5 mg y Se 15 mg). Las determinaciones hormonales (T3 y T4) fueron realizadas previo al tratamiento, a las 4 y 8 semanas de iniciado este. La concentración de MDA (en plasma y orina), se determinó previo al tratamiento y luego de 1 mes del tratamiento con antioxidante o 2 meses del tratamiento con MMI. Los tiempos indicados para la determinación de estos parámetros coincidió con la mejoría clínica de los pacientes.

La concentración de hormonas se determinó por radioinmunoensayo (RIA), mediante un medio diagnóstico comercial (*Diagnostic Products Corporation*).

Las TBARS se cuantificaron por el método de Buege y Aust,⁴ usando un coeficiente de extinción molar de $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Las proteínas se determinaron por el método de Bradford,⁵ usando albúmina sérica bovina como estándar.

RESULTADOS

Antes del tratamiento todos los pacientes tenían niveles séricos altos de T3 y T4. El tratamiento con MMI normalizó el nivel hormonal a los 2 meses de comenzado y mejoró la clínica del paciente. El tratamiento con antioxidante produjo mejoramiento clínico al mes de su inicio, permaneciendo el nivel de T3 y T4 elevado. El tratamiento conjunto produjo mejoría clínica al mes y disminución del nivel de hormonas tiroideas 1 mes antes que el tratamiento con MMI solo.

Los niveles de TBARS fueron significativamente más altos en hipertiroideos comparados con los controles y disminuyeron a valores no significativamente diferentes de los controles luego de 8 semanas de tratamiento con MMI.

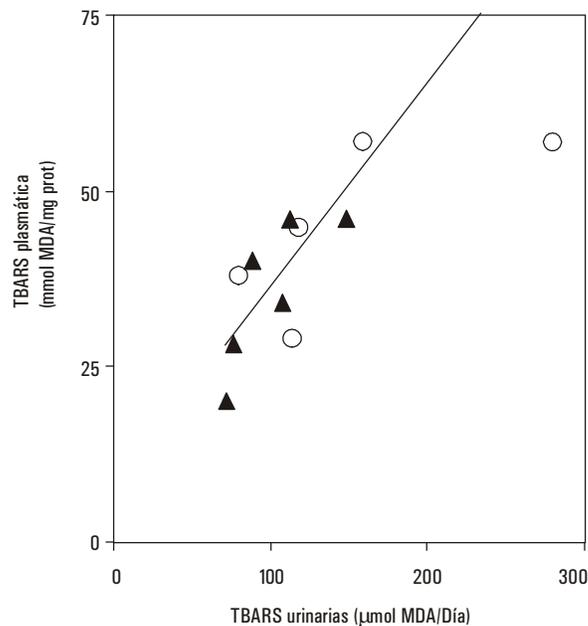
Resultados similares fueron obtenidos con la mezcla antioxidante.

Cuando los pacientes hipertiroideos fueron tratados con MMI hubo mejoría clínica y normalización hormonal luego de 8 semanas, como era de esperar. Cuando el tratamiento fue con antioxidantes la mejoría clínica se produjo a las 4 semanas, pero las concentraciones hormonales permanecieron altas. En ambas situaciones (luego de tratamiento) los niveles de TBARS tendieron a normalizarse. Cuando se combinó el tratamiento (MMI y antioxidante) el período de mejoría clínica y normalización hormonal disminuyó de 8 a 4 semanas.

En el trabajo anterior se comprobó que el nivel de TBARS es significativamente mayor en los hipertiroideos que en los controles (hipertiroidismo $58,5 \pm 6,1$ mmol MDA/mg *protein vs. control* $40,4 \pm 2,6$ mmol MDA/mg *protein*, $p < 0,05$) y alcanzó el nivel normal después de 8 semanas de tratamiento con MMI. Estos datos están de acuerdo con la mayor existencia de especies reactivas de oxígeno en los pacientes hipertiroideos.

En este trabajo se miden, en orina de 3 pacientes tratados con Larotabe y de 3 tratados con MMI, pretratamiento y postratamiento, el contenido de TBARS y la posible existencia de especies reactivas de oxígeno de larga vida. Se encontró que existe también una correlación entre el nivel de las TBARS plasmáticas y las TBARS urinarias y ambas decrecen en el tratamiento con antioxidantes (fig. 1).

Con ambos tratamientos desaparecieron la mayor parte de los síntomas del hipertiroidismo: nerviosismo, insomnio, angustia, calor, sudoración, diarrea, pérdida de peso o taquicardia. Solo algunos pacientes presentaban aún temblores. Los niveles de hormonas tiroideas en los controles fueron T3: 1,2-3,3 nmol/L y T4: 64,3-167,3 nmol/L, en tanto que en los pacien-



La línea transversal representa la tendencia de los valores postratamiento ($R^2 = 0,4625$ y $0,6349$, para pretratamiento y postratamiento respectivamente). (○) datos pretratamiento, (▲) datos postratamiento.

Fig. 1. TBARS urinarias vs. TBARS plasmáticas.

tes alcanzaron valores de $5,72 \pm 2,9$ y $236,0 \pm 56,7$ nmol/L, respectivamente. Hubo una correlación positiva entre los niveles de TBARS urinarias y los niveles de T3 y T4 plasmáticas, siendo más notable con este último parámetro (figs. 2 a y b). La figura 3 muestra los datos correspondientes a uno de los pacientes tratado solo con el antioxidante, donde se ve claramente la evolución de las TBARS urinarias, en función del tiempo de tratamiento.

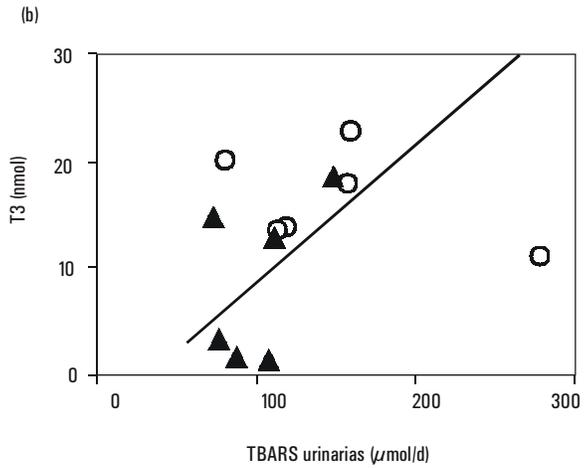
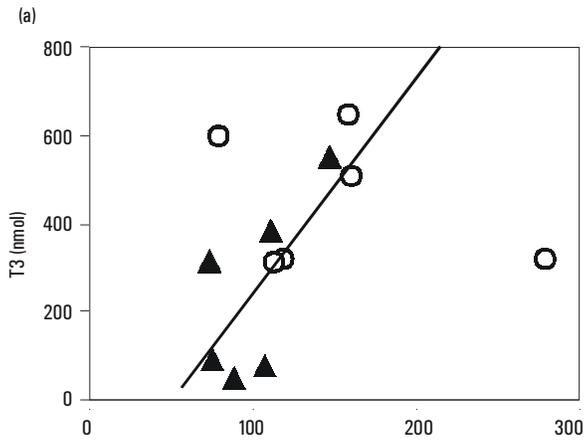
Se midió la bioluminiscencia espontánea urinaria, que es un parámetro asociado a especies bioluminiscentes de larga vida, que se generan bajo distintas condiciones de estrés oxidativo. Si bien en los pacientes postratamiento hubo una disminución de este valor cuando se normalizó por creatinina (fig. 4), los valores absolutos no presentaron diferencias significativas. Estos resultados sugieren que en el hipertiroidismo no se estaría produciendo un nivel detectable de especies bioluminiscentes de larga vida, involucradas en otros mecanismos oxidativos.

Por último fue interesante encontrar que todos los parámetros analizados no presentaron correlaciones lineales entre sí en los individuos control, lo que estaba indicando que estarían relacionados al hipertiroidismo y a su vez interrelacionados entre sí.

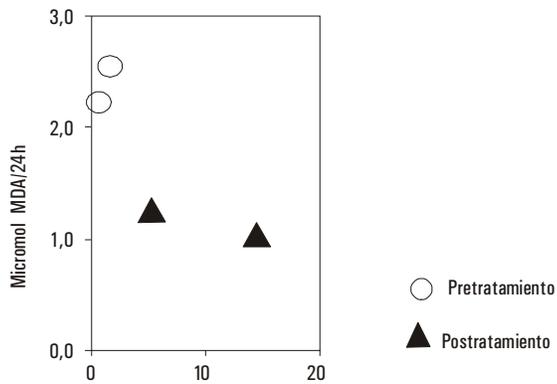
Existen antecedentes sobre la participación de radicales libres en la enfermedad de Graves.⁶ También, en ratas, se encontró que el tratamiento crónico con un antioxidante (dibunol) provoca disminución en la actividad de las hormonas tiroideas.⁷

En este estudio el tratamiento con antioxidante no afectó la producción de hormonas por parte de la glándula tiroidea. Los resultados aquí presentados junto con los anteriormente publicados, permiten postular que el hipertiroidismo estaría ligado a un estado de estrés oxidativo, estrechamente ligado a los síntomas de esta enfermedad.

Aún no queda clara la relación causa-efecto entre los niveles hormonales y los disturbios oxidativos encontrados, por lo que los autores han iniciado estudios con cultivos de células para examinar este aspecto.



a) T3; b) T4. La línea transversal representa la tendencia de los valores postratamiento ($R^2 = 0,4409$ y $0,2308$, respectivamente). (o) datos pretratamiento, (\blacktriangle) datos postratamiento. Fig. 2. Relación entre los niveles plasmáticos de hormonas tiroideas y la excreción urinaria de TBARS.

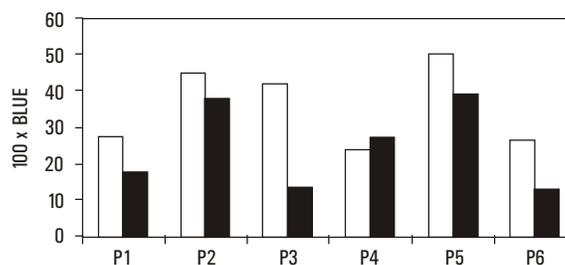


(o) datos pretratamiento, (\blacktriangle) datos postratamiento. La flecha indica el tiempo de inicio del tratamiento con Larotabe.

Fig. 3. Excreción urinaria de TBARS en función del tiempo y tratamiento ensayados.

Las barras vacías corresponden a los datos pretratamiento y las barras llenas a los datos postratamiento. Las 3 barras de la derecha corresponden a los pacientes tratados con MMI y las 3 de la izquierda a los pacientes tratados con AO.

Fig. 4. Excreción urinaria de especies bioluminiscentes de larga vida.



AGRADECIMIENTOS

Estos estudios están subvencionados por el CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas), la Agencia Nacional de Promoción Científica

y Tecnológica PICT N° 05-03406, la Universidad de Buenos Aires y por Roche S.A. José A. Burdman, Liliana N. Guerra y M.C. Ríos de Molina; Investigadores Científicos en el CONICET.

SUMMARY

A study was made to determine the mechanisms involved in the beneficial effect of an antioxidant mixture on the treatment of hyperthyroidism. Plasmic and urinary TBARS, levels of long-life circulating hormones and reactive species in urine were determined by applying a novel detecting method. Oxidative stress may be related to symptoms rather than to level of circulating hormones in hyperthyroid patients.

Key words: Hyperthyroidism, plasmic and urinary TBARS, circulating hormones, oxidative stress.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mano T, Shinohara R, Sawai Y, Oda N, Nishida T, Mokuno T, et al. Effects of thyroid hormone on coenzyme Q and other free radical scavengers in rat heart muscle. *J Endocrinol* 1995;145:131-6.
2. Venditti P, Balestrieri M, Di Meo S, De Leo T. Effect of thyroid state on lipid peroxidation, antioxidant defences, and susceptibility to oxidative stress in rat tissues. *J Endocrinol* 1997;155:151-7.
3. Guerra LN, Moiguer S, Karner M, Ríos de Molina MC, Sreider C, Burdman JA. Antioxidants in the treatment of Graves disease. *J Int Union Biochem Mol Biol Life Manuscript* N° 543-C. 2001. (en prensa).
4. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978;52:302-10.
5. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976;72:248-54.
6. Mano T, Shinohara R, Iwase K, Kotake M, Kamada M, Uchimuro K, et al. Changes in free radical scavengers and lipid peroxide in thyroid glands of various thyroid disorders. *Horm Metab Res* 1997;29(7):351-4.
7. Gorban EN. Effect of the antioxidant dibunol on the hormonal status of adults and old rats. *Probl Endokrinol* 1991;37:54-7.

Recibido: 14 de octubre de 2003. Aprobado: 22 de marzo de 2004.

Dra. *María del Carmen Ríos*. Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina. Correo electrónico: mcrios@qb.fcen.uba.ar