

Concentraciones de hormona estimulante de la tiroides y tiroxina libre en ovinos jóvenes

José Henry Osorio¹ / Dairon Correa Carvajal² / Jorge Enrique Pérez³

Resumen

El objetivo de esta investigación fue establecer valores de referencia en las concentraciones de la hormona estimulante de la tiroides (TSH, del inglés *Thyroid-Stimulating Hormone*) y tiroxina (T4) libre, para los pequeños rumiantes menores de 7 meses, analizando la influencia del sexo sobre las determinaciones. Se obtuvieron muestras de sangre de 48 ovinos en estado de ayuno (25 machos y 23 hembras menores de 7 meses de edad), las concentraciones de TSH y T4 libre se determinaron mediante inmunoensayo enzimático. Los valores de TSH para las hembras jóvenes ($\mu\text{UI/ml}$) fueron: promedio, mínimo, máximo y desviación estándar de 0,34; 0,0; 0,57; 0,15, respectivamente. Para los machos jóvenes fueron: 0,09; 0,0; 0,57; 0,15, respectivamente. El valor p del test F fue 0,147 ($p \geq 0,05$), por lo cual no hay diferencia estadísticamente significativa con una confiabilidad de 95 % para la TSH en ovinos jóvenes con respecto al género. Los valores de T4 libre para las hembras jóvenes (ng/dl) fueron: promedio, mínimo, máximo y desviación estándar de 0,44; 0,13; 0,73; 0,21, respectivamente. Para los machos jóvenes fueron: 0,66; 0,31; 1,17; 0,24, respectivamente. El valor de p del test F es 0,04 ($p < 0,05$), lo cual evidencia diferencia significativa con una confiabilidad del 95 % para los valores de T4 libre en ovinos jóvenes. Se concluye que el sexo causa variación en la secreción de T4 libre en los pequeños rumiantes jóvenes.

Palabras clave: hormonas tiroideas, metabolismo, ovinos.

- 1 MD, DVM, BSc, DEA, MSc, MMB, MPhil PhD. Laboratorio de Investigación en Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Departamento de Ciencias Básicas de la Salud. Universidad de Caldas. Laboratorio de Investigación en Metabolismo, Universidad de Manizales.
✉ jose.osorio_o@ucaldas.edu.co
- 2 DVM. Departamento de Salud Animal, Universidad de Caldas.
✉ daironcorrea@hotmail.com
- 3 BSc. MSc. Laboratorio de Microbiología. Departamento de Ciencias Básicas de la Salud. Universidad de Caldas.
✉ labmicro@ucaldas.edu.co

Cómo citar este artículo: Osorio JH, Correa Carvajal D, Pérez JE. Concentraciones de hormona estimulante de la tiroides y tiroxina libre en ovinos jóvenes. *Rev Med Vet.* 2017;(33):77-81. doi: <http://dx.doi.org/10.19052/mv.4055>

Concentrations of thyroid-stimulating hormone and free thyroxine in young sheep

Abstract

This research aimed to establish reference values of thyroid-stimulating hormone (TSH) and free thyroxine (T4) in small ruminants under seven months old, by analyzing the influence of gender on determined values. Blood samples were collected from 48 fasting sheep (25 males and 23 females under 7 months old), and TSH and free T4 levels were determined using enzyme immunoassay. Average, minimum, maximum, and standard deviation values for TSH ($\mu\text{UI/ml}$) in young females were: 0.34; 0.0; 0.57; 0.15, respectively. In young males, they were: 0.09; 0.0; 0.57; 0.15, respectively. The F-test p -value was 0.147 ($p \geq 0.05$), which indicates that there is no statistically significant difference with a reliability of 95% for TSH in young sheep with regard to gender. Average, minimum, maximum, and standard deviation values for free T4 (ng/dL) in young females were: of 0.44; 0.13; 0.73; 0.21, respectively. In young males, the values were: 0.66; 0.31; 1.17; 0.24, respectively. The F-test p -value was 0.04 ($p < 0.05$), which shows a significant difference with a reliability of 95% for free T4 values

in young sheep. The study concludes that sex causes variation in the secretion of free T4 in young small ruminants.

Keywords: thyroid hormones, metabolism, sheep.

Concentrações de hormônio estimulador da tireoide e tiroxina livre em ovinos jovens

Resumo

O objetivo de esta investigação foi estabelecer valores de referência nos níveis de hormônio estimulador da tireoide (TSH) e tiroxina (T4) livre, para os pequenos ruminantes menores de sete meses, analisando a influência do sexo sobre as determinações. Se obtiveram amostras de sangue de 48 ovinos em estado de jejum (25 machos e 23 fêmeas menores de 7 meses de idade), os níveis de TSH e T4 livre se determinaram mediante imunoensaio enzimático. Os valores de TSH para as fêmeas jovens ($\mu\text{UI/ml}$) foram: média, mínimo, máximo e desvio padrão de 0,34; 0,0; 0,57; 0,15, respectivamente. Para os machos jovens foram: 0,09; 0,0; 0,57; 0,15, respectivamente. O valor p do teste F foi 0,147 ($p \geq 0,05$), razão pela qual não há diferença estatisticamente significativa com uma confiabilidade de 95 % para a TSH em ovinos jovens com respeito ao gênero. Os valores de T4 livre para as fêmeas jovens (ng/dL) foram: em média, mínimo, máximo e desvio padrão de 0,44; 0,13; 0,73; 0,21, respectivamente. Para os machos jovens foram: 0,66; 0,31; 1,17; 0,24, respectivamente. O valor de p do teste F é 0,04 ($p < 0,05$), o que evidencia diferença significativa com uma confiabilidade do 95 % para os valores de T4 livre em ovinos jovens. Se conclui que o sexo causa variação na secreção de T4 livre nos pequenos ruminantes jovens.

Palavras chave: hormônios tireóideas, metabolismo, ovelhas.

INTRODUCCIÓN

Muchos de los procesos fisiológicos requieren la actividad normal de la glándula tiroidea y sus hormonas tiroideas (HT), por ejemplo, el crecimiento, la actividad reproductiva, el crecimiento de pelo y lana (1). Debido a lo anterior, y a que son muchas las funciones desempeñadas por estas hormonas, su síntesis es continua; se divide en tres etapas fundamentales: acumulación o fijación del yoduro del plasma, yodación de la tirosina y proteólisis de la tiroglobulina (2). Las HT principales son: la tiroxina (T4), triyodotironina (T3), sus fracciones libres (T4L, T3L), la rT3 y la calcitonina, todas bajo el control hipotalámico e hipofisario de la hormona liberadora de la tirotropina (TRH) y la hormona estimulante de la tiroidea (TSH, del inglés *Thyroid-Stimulating Hormone*) (1-3). La T4 se considera la prohormona, y es deiodada en la

periferia de los tejidos a T3, que es el metabolito más activo (1,2,4-6); más del 99 % de las HT circulan en sangre unidas a proteínas (2,7,8).

La actividad metabólica de casi todos los tejidos del cuerpo se incrementa por las HT, y su mecanismo de acción se da directamente en el núcleo (1-3). Dichas hormonas están implicadas en el metabolismo basal; el metabolismo energético (1,2,8-12); el desarrollo y maduración del cerebro (1,4,8); el aumento de la frecuencia cardíaca y la fuerza de contracción (2,5,11); la termogénesis y el desarrollo fetal; el crecimiento en asociación con la hormona del crecimiento (GH, del inglés *Growing Hormone*) (1,8), y la insulina y los factores de crecimiento similares a la insulina (IGF, del inglés *Insuline-like Growth Factors*) (2,8). El funcionamiento y mantenimiento de la inmunidad pasiva también requieren las HT (13). El metabolismo de

estas se da por inactivación y conjugación, principalmente en hígado, riñones y músculo esquelético (2,8,11,14).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron muestras de sangre en estado de ayuno de 48 ovinos menores de 7 meses de edad (25 machos y 23 hembras), de las razas rommy march, dorset y sus cruces, criadas en el municipio de Marulanda, Caldas, a una temperatura promedio de 14 °C, en un sistema pastoril de ladera y con consumo voluntario de gramíneas, principalmente kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y sal mineralizada al 6%. La toma de las muestras de sangre se realizó en las horas de la mañana mediante venopunción en la yugular, luego de un ayuno de 12 h. Se refrigeraron las muestras mientras se llevaban al laboratorio; luego se centrifugaron a 3500 r. p. m. en una centrífuga (Thermo de serie IEC CL31 Multispeed) durante 15 min; posteriormente, fue extraído el suero; este se conservó a -30 °C hasta su análisis.

Para la determinación del T4 libre se utilizó la prueba de inmunoensayo enzimático competitivo (Accubind T₄L, MonobindInc®). Los sueros fueron colocados en contacto con una fase sólida que contenía anticuerpos contra la T4 a la cual se le agregó el conjugado compuesto por T4 libre unido a peroxidasa de rábano (HRP). Luego de una hora de incubación a temperatura ambiente, se hizo un lavado para liberar aquellas moléculas no unidas y se agregó el substrato formado por una mezcla de tetrametil bencidina (TMB) y peróxido de hidrógeno disuelto en *buffer* de acetato, con una incubación de 15 min, tiempo al cabo del cual se detuvo la reacción al agregarle una solución de ácido clorhídrico 1N. La lectura se hizo en un equipo lector de micro ELISA (TitertekMultiscan™) a una absorbancia de 450 nm. Las absorbancias obtenidas de los estándares se graficaron junto con las concentraciones, y de la curva de calibración se obtuvieron las concentraciones de T4 libre de las respectivas muestras.

Para la determinación de las concentraciones de TSH, se utilizó una prueba de inmunoensayo enzimático colo-

rimétrico tipo sándwich, utilizada para la cuantificación del TSH de origen humano (Accubind TSH-MonobindInc®). A una placa de 96 pozos que tenía unidos anticuerpos monoclonales contra la TSH en una interacción estreptavidina-biotina se le agregó una alícuota de suero obtenido de ovinos jóvenes, y una alícuota de conjugado compuesta de un anticuerpo policlonal contra la TSH unido a la peroxidasa de rábano. Se incubó dos horas a temperatura ambiente, tiempo al cabo del cual se lavó la placa con una solución de fosfatos para eliminar todas aquellas moléculas no unidas, y se agregó el substrato formado por una mezcla de TMB y de peróxido de hidrógeno.

Gracias a la presencia de la enzima en el complejo inmune previamente formado, se generó oxígeno a partir de peróxido de hidrógeno, el cual, al actuar sobre la TMB, generó un cambio de color cuya intensidad es proporcional a la concentración de la hormona; para detener la reacción enzimática luego de un periodo de incubación de 15 min se agregó ácido clorhídrico 1N, y posteriormente se procedió a hacer la lectura en un fotómetro lector de micro-ELISA (TitertekMultiscan™) a una longitud de onda de 450 nm. Los resultados obtenidos de los estándares se graficaron frente a sus concentraciones, lo cual generó una curva de calibración en la que se pudieron obtener las concentraciones de cada uno de los sueros probados. Los kit para T4 y TSH fueron validados para su uso en muestras de ovinos, en el laboratorio, utilizando sueros y plasma sanguíneo, con lo cual se obtuvieron buenas curvas de paralelismo. En la validación se trabajó con 50 muestras por triplicado en mediciones intradia e interdia, con lo que se obtuvo un coeficiente de variación de 8 y 9 %, respectivamente. Los resultados fueron analizados por medio de Anova simple; se obtuvo el cálculo del promedio, la desviación estándar y el rango, el mínimo y el máximo para la cuantificación de TSH y T4 libre en cada uno de los grupos determinados (hembras jóvenes frente a machos jóvenes). Se evaluaron las diferencias sobre los distintos grupos por medio de un análisis de varianza usando el programa Statgraphics Plus 5.1; se aceptaba diferencia estadísticamente significativa cuando $p < 0,05$.

RESULTADOS

La TSH de las ovejas machos menores de 7 meses registraron valores ($\mu\text{UI/ml}$) de promedio, mínimo, máximo y desviación estándar de 0,09; 0,0; 0,57; 0,15, respectivamente, mientras que las ovejas hembras menores de 7 meses registraron valores ($\mu\text{UI/ml}$) de 0,34; 0,0; 0,57; 0,15, respectivamente. El p valor del test F fue de 0,147 ($p \geq 0,05$), por lo cual no hay diferencia estadísticamente significativa, con una confiabilidad del 95 % para la TSH en ovinos jóvenes con respecto al género. La T4L de los ovinos machos menores de 7 meses registró valores (ng/dl) de promedio, mínimo, máximo y desviación estándar de 0,66; 0,31; 1,17; 0,24, respectivamente, mientras que las ovejas hembras menores de 7 meses registran valores (ng/dl) de 0,44; 0,13; 0,73; 0,21, respectivamente. El p valor del test F fue de 0,04 ($< 0,05$), por lo cual hay diferencia estadísticamente significativa, con una confianza del 95 % para la T4L en ovinos jóvenes con respecto a la edad.

DISCUSIÓN

Experimentos realizados en animales han evidenciado que las variaciones en la secreción de HT pueden ser influenciadas por variables como género y edad, ya que hembras tanto castradas como enteras presentan mayores concentraciones de T4 si se comparan con machos enteros y castrados. Igualmente, tales estudios demuestran que los animales de menor edad presentan concentraciones más altas de T4 que los animales adultos y viejos (1,8).

La TSH es el regulador más importante de la HT, y esta a su vez es regulada por la retroalimentación negativa de las HT (2,8,11,15); es por esto por lo que los ajustes para mantener la cantidad normal de la hormona libre ocurren con rapidez mediante una disminución de la velocidad del metabolismo o con una estimulación para que se produzcan HT a través de la liberación de TSH y TRH. Sin embargo, algunos factores que ocurren en las hembras como la preñez pueden afectar estas concentraciones (2,8,11), pues hacia el final de la gestación se ve una

disminución de las concentraciones de las HT debido a una competencia por la afinidad de yodo y el metabolismo materno (2,8). Además, los estrógenos que aumentan al final de esta etapa incrementan la síntesis de TBG (del inglés *Thyroid Binding Globulin*) hepático, el cual liga más T4 y T3 del suero, lo que produce una baja transitoria de hormonas libres que a la vez acrecienta la síntesis de HT (2,8,11). En los ovinos machos adultos, la T4 influye en la síntesis de testosterona mediante el control de la hexosemonofosfatasa, que proporciona una fuente de energía para la esteroidogénesis (3,16). Por otro lado, autores han justificado que los esteroides sexuales como los estrógenos reducen el catabolismo de TBG, mientras que los andrógenos inhiben en la zona hepática la síntesis de TBG y la secreción de TSH por la pituitaria; por tal motivo, esto altera las concentraciones de T4 total en la zona del plasma (2,8).

En cuanto al desarrollo y el crecimiento, las concentraciones de T3 se relacionan con mayor crecimiento en corderos (13). No obstante, se debe tener en cuenta el papel que desempeña la GH y la insulina en estos procesos para demostrar la verdadera influencia de las HT en los procesos de crecimiento y engorde (17).

CONCLUSIÓN

El sexo es causa de variación en la secreción de T4 libre en los pequeños rumiantes jóvenes.

REFERENCIAS

1. Matamoros R, Contreras PA, Wittwer F, Mayorga MI. Hipotiroidismo en rumiantes. Arch Med Vet. 2003;35(1):1-11. <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2003000100001>
2. Morales CA, Rodríguez N. Hormonas tiroideas en la reproducción y en la producción láctea del ganado lechero: revisión de literatura. Rev Colom Cienc Pecua. 2005;18(2):136-48.
3. Souza MI, Bicudo SD, Uribe-Velásquez LF, Ramos AA. Circadian and circannual rhythms of T3 and T4

- secretions in Polwarth-Ideal rams. *Small Rum Res.* 2002;46(1):1-5. [http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488\(02\)00103-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488(02)00103-7)
4. Pascual-Leone AM. Interacción entre hormonas tiroideas y factores de crecimiento IGFs1. *Anal Real Acad Farm.* 2000;66(3):1-18.
 5. Sano H, Takebayashi A. Effects of moderate hyperthyroidism and time relative to feeding on tissue responsiveness to insulin in sheep. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 2003;136(3):515-20. [http://dx.doi.org/10.1016/S1096-4959\(03\)00257-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1096-4959(03)00257-4)
 6. Rudas P, Ronai ZS, Bartha T. Thyroid hormone metabolism in the brain of domestic animals. *Domest Anim Endocrinol.* 2005;29(1):88-96. <http://dx.doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.02.032>
 7. Villar D, Rhind SM, Dicks P, McMillen SR, Nicol F, Arthur JR. Effect of propylthiouracil-induced hypothyroidism on thyroid hormone profiles and tissue deiodinase activity in cashmere goats. *Small Rum Res.* 1998;29(3):317-24. [http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488\(97\)00130-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488(97)00130-2)
 8. Todini L. Thyroid hormones in small ruminants: effects of endogenous, environmental and nutritional factors. *Animal.* 2007;1(7):997-1008. <http://dx.doi.org/10.1017/S1751731107000262>
 9. Puchala R, Prieto I, Banskalieva V, Goetsch AL, Lachica M, Sahlu T. Effects of bovine somatotropin and thyroid hormone status on hormone levels, body weight gain, and mohair fiber growth of Angora goats. *J Anim Sci.* 2001;79(11):2913-9. <http://dx.doi.org/10.2527/2001.79112913x>
 10. Zaninovich AA. Hormonas tiroideas, obesidad y termogénesis en grasa parda. *Medicina (B Aires).* 2001;61(2):597-602.
 11. Cunningham JG. Las glándulas endocrinas y su función. En: Rodríguez Sánchez M, editor. *Fisiología veterinaria.* 3a. ed. Madrid: Elsevier; 2003. p. 342-348.
 12. Todini L, Malfatti A, Valbonesi A, Trabalza-Marinucci M, Debenedetti A. Plasma total T3 and T4 concentrations in goats at different physiological stages, as affected by the energy intake. *Small Rum Res.* 2007;68(3):285-90. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.11.018>
 13. Firat A, Özpınar A, Serpek B, Haliloğlu S. Comparisons of Serum Somatotropin, 3,5,3_-Triiodothyronine, Thyroxine, total protein and free fatty acid levels in Newborn Sakiz lambs separated from or suckling their dams. *Ann Nutr Metab.* 2005;49:88-94. <http://dx.doi.org/10.1159/000084741>
 14. Darras VM, Hume R, Visser TJ. Regulation of thyroid hormone metabolism during fetal development. *Mol Cell Endocrinol.* 1999;151(1-2):37-47. [http://dx.doi.org/10.1016/S0303-7207\(99\)00088-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0303-7207(99)00088-X)
 15. Saleh DM, Barrella GK, Bailey CI, Frampton CMA. Effects of exogenous triiodothyronine (T3) and a goitrogen, methylthiouracil (MTU), on thyroid gland function sheep. *Small Rum Res.* 1998;30(1):49-56. [http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488\(98\)00083-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488(98)00083-2)
 16. Pattanaik AK, Khana SA, Mohanty DN, Varshney VP. Nutritional performance, clinical chemistry and semen characteristics of goats fed a mustard (*Brassica juncea*) cake based supplement with or without iodine. *Small Rum Res.* 2004;54(3):173-82. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.10.014>
 17. Mandiki SNM, Mabon N, Derycke G, Bister JL, Wathélet JP, Paquay R, Marlier M. Chemical changes and influences of rapeseed antinutritional factors on lamb physiology and performance. 2. Plasma substances and activity of the thyroid. *Anim Feed Sci Tech.* 1999;81(1-2):93-103. [http://dx.doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00077-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00077-2)