



VII Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica y I Congreso de Preparaciones Virtuales por Internet

Del 1 al 31 de octubre de 2005



MODIFICACIONES ULTRAESTRUCTURALES DE LA GLÁNDULA TIROIDES IRRADIADA SOMETIDA A DIFERENTES ESTIMULOS FUNCIONALES.

Miguel Alcaraz baños^{*}, Crisitna Acevedo Alcaraz^{*}, Manuel de las Heras Gonzalez^{**}, Vicente Vicente Ortega^{***}, Isabel de la Fuente^{**}, David Armero Barranco^{****}

^{*} Área de radiología y Medicina Física. Facultad de Medicina. Universidad de Murcia. 30100-Campus de Espinardo. ESPAÑA

^{**} Unidad de Oncología Radioterápica. C.S. Virgen de la Arrixaca. Murcia ESPAÑA

^{***} Cátedra de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina. Universidad de Murcia. 30100-Campus de Espinardo. ESPAÑA

^{****} Escuela de Enfermería. Universidad de Murcia. 30100- Campus de Espinardo ESPAÑA

Resumen

Objetivo: Determinar las modificaciones ultraestructurales de las células foliculares de la glándula tiroides sometida a diferentes estímulos funcionales.

Material y método: 108 conejos neozelandeses se han distribuido en tres grupos de 36 animales: Grupo I: no reciben ninguna estimulación (control); Grupo II: se les provoca una disminución de su actividad funcional mediante 6n-propyl-2n-thiouracil v.o. (Sigma,USA) durante 4 semanas (hipofuncionante); Grupo III: se les provoca una estimulación de su actividad funcional mediante protyrelin i.v. (TRH) (Lab.Frumtost-Prem, Madrid) durante una semana previa a la irradiación (hiperfuncionante). En cada grupo, los animales se dividen en 6 lotes según la dosis de rayos X administrada (0Gy,4Gy,8Gy,12Gy,16Gy y 20Gy) con un aparato productor de rayos X MAXIMAR 200 (General Electric) a razón de 2 Gy/días alternos. A las 4 semanas de la irradiación muestras de sus glándulas son fijadas por perfusión/inmersión y posteriormente analizadas con un microscopio Zeiss EM10C.

Resultados: En el grupo control-irradiado la primera modificación estructural es la vacuolización de las células foliculares, por dilatación de las cisternas del RER y del aparato de Golgi (4Gy). Posteriormente se observa la expulsión de contenido intracitoplasmático hacia el interior de la cavidad folicular (8Gy). Con 16Gy, la altura de las células disminuye y llega a presentar aspecto endoteliforme. Con 20Gy, se observan en las zonas adyacentes a los folículos lesionados, pequeños grupos de células en el estroma intersticial, que parecen formar pequeños folículos tiroideos. En el intersticio glandular se observa un incremento progresivo de haces de fibras colágenas y de material amorfo. El grupo PTU-tratado-irradiado muestrn imágenes similares al anterior.

El grupo tratado-TRH-irradiado presenta modificaciones más intensas y precoces. Con 8Gy es evidente la vacuolización citoplasmática, la liberación de fragmentos al interior de la luz, y la infiltración del epitelio folicular por macrófagos y linfocitos. Las células foliculares presentan un aspecto endoteliforme. Con 12Gy, se forman grandes cisternas entre células contiguas. Con 20Gy, hay extensas zonas de folículos de gran tamaño y epitelio con células de aspecto involutivo. No aparecen zonas de foliculogénesis.

Conclusión: los animales tratados con TRH y considerados hiperfuncionantes presentan una mayor sensibilidad a los daños ultraestructurales inducidos por la radiación ionizante.

Introducción

Algunos estudios muestran que la función tiroidea disminuye con la irradiación externa de la glándula tiroides con las dosis empleadas en oncología radioterápica (Holten,1983) y con fraccionamientos de dosis similares que se han realizado en estudios experimentales (Alcaraz et al., 1988). Se ha sugerido que esta disminución funcional se debe a la muerte celular y a la lesión de diversos sistemas enzimáticos inducidas por la radiación sobre las células supervivientes (Holten, 1983). Sin embargo, se han realizado pocos estudios sobre el efecto de la radiación en los sistemas enzimáticos de las células foliculares.

Algunos estudios con 125-I confirman diferentes sensibilidades de los sistemas enzimáticos y sugieren que la radiación ionizante podría causar modificaciones en la actividad enzimática de las células foliculares (Gross et al., 1968; Vickery y Williams, 1971).

El test del guayacol es una técnica utilizada por numerosos autores para determinar la actividad de la peroxidasa tiroidea en la glándula tiroides normal tras la administración de diferentes sustancias o alimentos "in vivo" (Solano et al., 1981; Engler et al.,1983; Shiroozu et al., 1983; Magnusson y Rapoport, 1985; Taurog y Dorris, 1989), y es el propuesto en el presente estudio.

Material y Métodos

Se han utilizado 60 conejos New Zealand de tres meses de edad (Biocenter, Spain), y un peso aproximado de 2.700 g al comienzo del estudio, que se han mantenido a 18-22 °C, una humedad entre el 50-70% y ciclos de 12-h día/noche, siendo alimentados con pienso comercial (U.A.R. 112 Panlab.,Spain) y agua administradas "ad libitum".

Los animales se han dividido en 4 grupos diferentes: - Grupo I: Nueve animales que no han recibido ningún tipo de tratamiento antes de la irradiación (grupo normofuncionante. - Grupo II: Nueve animales a los que se les ha disminuido su actividad funcional tiroidea mediante la administración de 6n-propyl-2-thiouracil (PTU) (Sigma, USA) durante 4 semanas previas a la irradiación. El PTU se ha administrado con el agua de bebida a una concentración del 0.2% y suplementado con un 1% sacarosa. - Grupo III: Nueve animales a los que se les ha estimulado su

actividad funcional tiroidea mediante la administración de (TRH) (Lab. Frumtost-Prem, Spain) durante una semana previa a la irradiación. La TRH se ha administrado por vía intravenosa, a dosis de 200 mg/8hours, a través de un catéter de polietileno insertado en su vena yugular externa derecha. - Grupo IV. Grupo de 33 animales, denominado "grupo de post-irradiación variable", utilizado para la realización de la curva dosis respuesta de la actividad de la peroxidasa tiroidea (TPO) a las 0, 24 y 48 horas tras la irradiación.

La irradiación se ha realizado a través de un campo de 5 cm de diámetro centrado sobre el cartilago tiroides con una unidad de terapia (Securix 2612 Compact, CGR) con 120 kV, 12 mA, 1 mm Cu de HVL, filtración de 1 mm Cu y 0.5 mm Al, FSD 50 cm y un rendimiento de 1.15 Gy/min. En los tres primeros grupos, la dosis de rayos X administrada es de 0 (como control), 10 y 20 Gy, con un fraccionamiento de 2 Gy/das alternos. En el cuarto grupo, las dosis administradas han sido 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 y 20 Gy, en una única sesión. Todos los animales han permanecido inmovilizados y conscientes durante toda la irradiación.

ENSAYO DE LA ACTIVIDAD DE PEROXIDASA: La actividad de la peroxidasa en la glándula tiroides se ha realizado mediante el test del guayacol descrito por Chance y Maehly (1967) ligeramente modificado por Solano et al., (1981).

DETERMINACION DE PROTEINAS: El contenido de proteínas de los extractos enzimáticos se ha determinado mediante la técnica modificada de Lowry (Hartree, 1972) usando BSA como control. Las diferencias entre los resultados obtenidos de los valores de la actividad peroxidasa se han estudiado mediante análisis de varianza.

Muestras de las glándulas tiroides se han examinado con microscopía electrónica para el estudio ultraestructural de las mismas.

Resultados

Animales no irradiados: los valores de la actividad TPO en los animales no irradiados se muestran en la Figura 3. El incremento de la actividad TPO en los animales tratados con TRH es del 48 % comparado con los animales normofuncionantes. El descenso de la actividad TPO en los animales tratados con PTU es del 72% comparado con los animales normofuncionantes. Sin embargo, los resultados sólo muestran diferencias estadísticamente significativas en el descenso de la actividad TPO de los animales tratados con PTU respecto de los otros dos grupos, siendo éstos últimos similares entre sí. Esta relación podría expresarse de la siguiente forma: $N = TRH > PTU$ ($p < 0.01$).

Grupo normofuncionante con período postirradiación variable: los resultados de la actividad TPO se muestran en la Figura 5. Todos los animales irradiados presentan una drástica disminución de la actividad TPO, incluso a las dosis más bajas (2 Gy), en los tres periodos estudiados (0, 24 y 48 horas). El análisis estadístico pone de manifiesto diferencias significativas entre los tres periodos estudiados, que podrían expresarse de la siguiente forma: $N > N24 > N0 = N48$ ($p < 0.001$).

Grupos irradiado con dosis fraccionada y modificación experimental de la actividad funcional tiroidea: los valores de la actividad TPO de estos animales se presentan en la Figura 4. Los animales normofuncionantes irradiados con 10 y 20 Gy (2 Gy/das alternos) presentan una disminución significativa de la actividad TPO respecto de los valores determinados en los animales normofuncionantes no irradiados. Esta relación podría expresarse de la siguiente forma: $N0 > N10 = N20$ ($p < 0.05$).

Los animales tratados con PTU e irradiados con 10 y 20 Gy no muestran diferencias significativas con los valores determinados en los animales tratados con PTU y no irradiados, pudiéndose expresar esta relación de la siguiente forma: $PTU0 = PTU10 = PTU20$.

Los animales tratados con TRH e irradiados presenta una drástica disminución de la actividad TPO de sus glándulas tiroides comparadas con los valores presentados por los animales tratados con TRH y no irradiados. Esta relación podría expresarse de la siguiente forma: $TRH0 > TRH10 = TRH20$ ($p < 0.001$). En los tres grupos la irradiación con 20 Gy muestra la disminución más intensa de la actividad TPO, sin embargo, esta diferencias respecto a las dosis de 10 Gy, no muestran significación estadística.

El estudio ultraestructural de las muestras estudiadas ponen de manifiesto alteraciones más precoces e intensas en las glándulas tratadas con TRH y consideradas hiperfuncionantes que en el resto de muestras estudiadas.



MODIFICACIONES ULTRAESTRUCTURALES DE LA GLÁNDULA TIROIDES SOMETIDA A DIFERENTES ESTÍMULOS FUNCIONALES.

¹ M Alcaraz, C Acevedo, M de las Heras, V Vicente, I de la Fuente y D Armero

¹Departamento de Radiología y Medicina Física. Universidad de Murcia. 30100-Espinardo. Murcia. Spain. Tel: 34 968 363601; E-mail: mab@um.es.

INTRODUCCIÓN

Algunos estudios muestran que la función tiroidea disminuye con la irradiación externa de la glándula tiroidea con las dosis empleadas en oncología radioterápica (Holten, 1983) y con fraccionamientos de dosis similares que se han realizado en estudios experimentales (Alcaraz et al., 1988). Se ha sugerido que esta disminución funcional se debe a la muerte celular y a la lesión de diversos sistemas enzimáticos inducidas por la radiación sobre las células supervivientes (Holten, 1983). Sin embargo, se han realizado pocos estudios sobre el efecto de la radiación en los sistemas enzimáticos de las células foliculares.

Algunos estudios con ¹²⁵I confirman diferentes sensibilidades de los sistemas enzimáticos y sugieren que la radiación ionizante podría causar modificaciones en la actividad enzimática de las células foliculares (Gross et al., 1968; Vickery y Williams, 1971).

El test del guayacol es una técnica utilizada por numerosos autores para determinar la actividad de la peroxidasa tiroidea en la glándula tiroidea normal tras la administración de diferentes sustancias o alimentos "in vivo" (Solano et al., 1981; Engler et al., 1983; Shiroozu et al., 1983; Magnusson y Rapoport, 1985; Taugro y Dorris, 1989), y es el propuesto en el presente estudio.

MATERIAL Y METODO

Se han utilizado 60 conejos New Zealand de tres meses de edad (Biocenter, Spain), y un peso aproximado de 2.700 g al comienzo del estudio, que se han mantenido a 18-22 °C, una humedad entre el 50-70% y ciclos de 12-h día/noche, siendo alimentados con pienso comercial (U.A.R. 112 Panlab., Spain) y agua administradas "ad libitum".

Los animales se han dividido en 4 grupos diferentes: - Grupo I: Nueve animales que no han recibido ningún tipo de tratamiento antes de la irradiación (grupo normofuncionante. - Grupo II: Nueve animales a los que se les ha disminuido su actividad funcional tiroidea mediante la administración de 6n-propyl-2-thiouracil (PTU) (Sigma, USA) durante 4 semanas previas a la irradiación. El PTU se ha administrado con el agua de bebida a una concentración del 0.2% y suplementado con un 1% sacarosa. - Grupo III: Nueve animales a los que se les ha estimulado su actividad funcional tiroidea mediante la administración de (TRH) (Lab. Frumtost-Prem, Spain) durante una semana previa a la irradiación. La TRH se ha administrado por vía intravenosa, a dosis de 200 µg/8hours, a través de un catéter de polietileno insertado en su vena yugular externa derecha. - Grupo IV. Grupo de 33 animales, denominado "grupo de post-irradiación variable", utilizado para la realización de la curva dosis respuesta de la actividad de la peroxidasa tiroidea (TPO) a las 0, 24 y 48 horas tras la irradiación.

La irradiación se ha realizado a través de un campo de 5 cm de diámetro centrado sobre el cartilago tiroidea con una unidad de terapia (Securix 2612 Compact, CGR) con 120 kV, 12 mA, 1 mm Cu de HVL, filtración de 1 mm Cu y 0.5 mm Al, FSD 50 cm y un rendimiento de 1.15 Gy/min. En los tres primeros grupos, la dosis de rayos X administrada es de 0 (como control), 10 y 20 Gy, con un fraccionamiento de 2 Gy/días alternos. En el cuarto grupo, las dosis administradas han sido 0,2,4,6,8,10,12,14,16,18 y 20 Gy, en una única sesión. Todos los animales han permanecido inmovilizados y conscientes durante toda la irradiación.

ENSAYO DE LA ACTIVIDAD DE PEROXIDASA: La actividad de la peroxidasa en la glándula tiroidea se ha realizado mediante el test del guayacol descrito por Chance y Maehly (1967) ligeramente modificado por Solano et al., (1981).

DETERMINACION DE PROTEINAS: El contenido de proteínas de los extractos enzimáticos se ha determinado mediante la técnica modificada de Lowry (Hartree, 1972) usando BSA como control. Las diferencias entre los resultados obtenidos de los valores de la actividad peroxidasa se han estudiado mediante análisis de varianza.

Muestras de las glándulas tiroideas se han examinado con microscopía electrónica para el estudio ultraestructural de las mismas.

RESULTADOS

Animales no irradiados: los valores de la actividad TPO en los animales no irradiados se muestran en la Figura 3. El incremento de la actividad TPO en los animales tratados con TRH es del 48 % comparado con los animales normofuncionantes. El descenso de la actividad TPO en los animales tratados con PTU es del 72% comparado con los animales normofuncionantes. Sin embargo, los resultados sólo muestran diferencias estadísticamente significativas en el descenso de la actividad TPO de los animales tratados con PTU respecto de los otros dos grupos, siendo éstos últimos similares entre sí. Esta relación podría expresarse de la siguiente forma: $N = TRH > PTU$ ($p < 0.01$).

Grupo normofuncionante con período postirradiación variable: los resultados de la actividad TPO se muestran en la Figura 5. Todos los animales irradiados presentan una drástica disminución de la actividad TPO, incluso a las dosis más bajas (2 Gy), en los tres periodos estudiados (0, 24 y 48 horas). El análisis estadístico pone de manifiesto diferencias significativas entre los tres periodos estudiados, que podrían expresarse de la siguiente forma: $N > N_{24} > N_0 = N_{48}$ ($p < 0.001$).

Grupos irradiado con dosis fraccionada y modificación experimental de la actividad funcional tiroidea: los valores de la actividad TPO de estos animales se presentan en la Figura 4. Los animales normofuncionantes irradiados con 10 y 20 Gy (2 Gy/días alternos) presentan una disminución significativa de la actividad TPO respecto de los valores determinados en los animales normofuncionantes no irradiados. Esta relación podría expresarse de la siguiente forma: $N_0 > N_{10} = N_{20}$ ($p < 0.05$).

Los animales tratados con PTU e irradiados con 10 y 20 Gy no muestran diferencias significativas con los valores determinados en los animales tratados con PTU y no irradiados, pudiéndose expresar esta relación de la siguiente forma: $PTU_0 = PTU_{10} = PTU_{20}$.

Los animales tratados con TRH e irradiados presenta una drástica disminución de la actividad TPO de sus glándulas tiroides comparadas con los valores presentados por los animales tratados con TRH y no irradiados. Esta relación podría expresarse de la siguiente forma: $TRH_0 > TRH_{10} = TRH_{20}$ ($p < 0.001$). En los tres grupos la irradiación con 20 Gy muestra la disminución más intensa de la actividad TPO, sin embargo, esta diferencias respecto a las dosis de 10 Gy, no muestran significación estadística.

El estudio ultraestructural de las muestras estudiadas ponen de manifiesto alteraciones más precoces e intensas en las glándulas tratadas con TRH y consideradas hiperfuncionantes que en el resto de muestras estudiadas.

CONCLUSIÓN

Este estudio muestra que la disminución de la actividad peroxidasa tiroidea y las alteraciones ultraestructurales de las células foliculares son más intensas en las glándulas tiroides irradiadas que previamente se encuentran hiperfuncionantes.

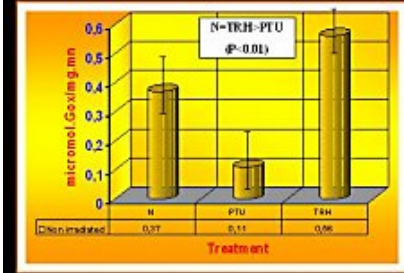


Fig. 3: Animales no irradiados: Actividad de la Peroxidasa Tiroidea (TPO) (cada punto corresponde a la media de las determinaciones de tres animales).

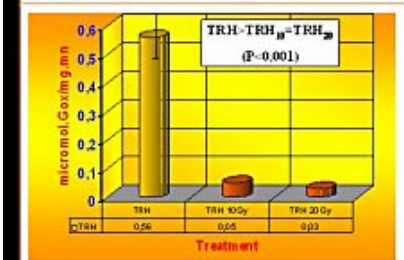
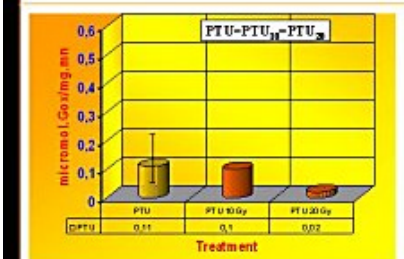
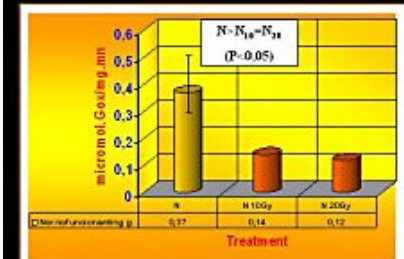


Fig. 4: Actividad de la Peroxidasa Tiroidea en tres grupo de animales: normofuncionantes, tratados con PTU y tratados con TRH (cada punto corresponde a la media de las determinaciones de tres animales).



Fig. 5: Grupo de animales Normofuncionantes con periodo de radiación controlada.

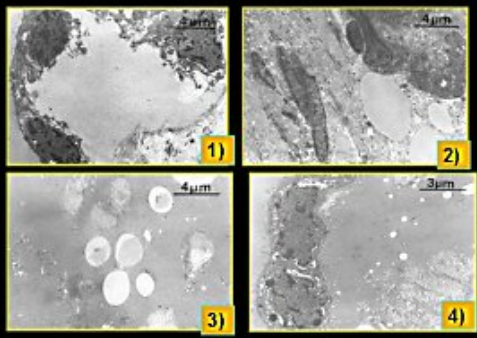
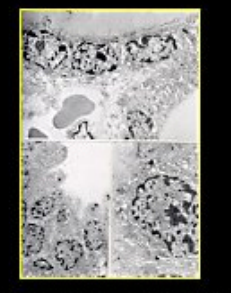
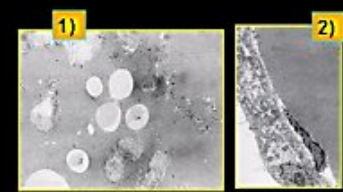
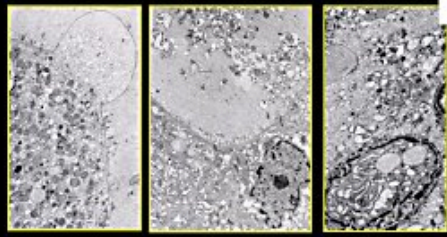
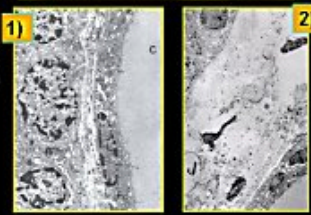


Fig. 10: Diferentes aspectos de alteraciones radiológicamente inducidas: 1) Dos células foliculares con un RER formando grandes y continuos lóculos (PTU, 18 Gy) x 5.000; 2) Intersticio glandular mostrando lóculos con material homogéneo similar al coloide (TRH, 8 Gy) x 5.000; 3) Detalle del intersticio glandular mostrando abundantes lóculos de material con baja electrondensidad (TRH, 8 Gy) x 5.000; 4) Célula folicular junto al...

Conclusiones

Este estudio muestra que la disminución de la actividad peroxidasa tiroidea y las alteraciones ultraestructurales de las células foliculares son más intensas en las glándulas tiroides irradiadas que previamente se encuentran hiperfuncionantes.

Web mantenido y actualizado por el [Servicio de informática](#) uclm. Modificado: 01/10/2005 2:04:47