

Hormonas Tiroideas y Hormona Tiroestimulante

Cambios Circadianos Fisiológicos

Dr. Pablo Liendo-Chapellín*

Vivian Chan**

Prof. Gordon Michael Besser***

RESUMEN

En seis sujetos normales se demostraron cambios circadianos significativos en los niveles séricos de Tiroxina (T_4), Hormona Tiroestimulante (TSH), Prolactina y en la Captación de Triiodotironina (In Vitro) por la Resina (RT_3U) y en la eliminación urinaria de T_4 . El patrón de la TSH mostró ser recíproco al de la T_4 sérica, con niveles elevados durante la noche y no coincidiendo con el patrón de la Prolactina. Ni la postura, ni la administración de corticosteroides o de T_4 exógena mostraron un efecto significativo sobre las variaciones circadianas de TSH. Estas últimas probablemente están determinadas por un mecanismo que opera a nivel central. Los niveles de Triiodotironina circulantes posiblemente se regulan periféricamente.

INTRODUCCION

A pesar de que patrones circadianos de las hormonas del eje Hipotálamo-Hipófiso-Tiroideo han sido sugeridos, todavía existe cierta controversia en relación a la existencia de dichos patrones. Varios investigadores no han podido evidenciar patrón rítmico alguno en los niveles de la Hormona Tiroestimulante (TSH) en el hombre,^{1,4} a la vez que otros grupos quienes han reportado patrones circadianos no están uniformemente de acuerdo acerca del período durante el cual los niveles de TSH están en su máximo.^{5,8} Resultados contradictorios también han sido reportados en

* Coordinador de la Unidad de Endocrinología del Centro Médico Docente La Trinidad, Caracas, Venezuela.

** Patólogo Químico del Queen Mary Hospital, Hong Kong.

*** Professor of Endocrinology, St. Bartholomew's Hospital, Londres, Inglaterra.

Departamento de Patología Química y Unidad Médica del St. Bartolomew's Hospital, Londres, Inglaterra.

Agradecimientos: Deseamos agradecer al doctor W. J. Irvine, por la determinación de los Anticuerpos Antitiroideos; a la señorita A. Jones, por las determinaciones de Prolactina, y a los doctores J. S. Glover y G. Smith, del Radiochemical Centre, Amersham, por el generoso aporte de materiales.

relación a los ritmos circadianos del Protein-Bound Iodine (PBI), Tiroxina Total sérica (TT_4) y de la Tiroxina Libre (FT_4).^{9,10}

La falta de sensibilidad en los métodos analíticos empleados, bien podría explicar estas discrepancias. Con el desarrollo de Radioinmunoanálisis altamente sensibles y precisos se llevó a cabo este estudio, con la intención de documentar o descartar variaciones circadianas en los niveles séricos de TSH, TT_4 , Triiodotironina Total (TT_3) y Prolactina, los patrones de Excreción urinaria de T_4 y T_3 , y el efecto de la postura, administración de corticosteroides y de Tiroxina sintética sobre dichas variaciones circadianas.

MATERIAL Y METODOS

Sujetos

Seis varones voluntarios, aparentemente sanos, con edades comprendidas entre los 25 y 35 años, conformaron el grupo estudiado. Ninguno estaba recibiendo medicación alguna. Durante un período de 24 horas continuas se colectaron muestras de sangre (5 ml), cada media hora, a través de una cánula insertada en una vena antecubital la cual fue retirada sólo al final del estudio. Asimismo, se colectaron muestras de orina al finalizar cada lapso de 2 horas durante el día y cada lapso de 4 horas durante la noche. Los sujetos llevaron a cabo su actividad diurna normal, se durmieron, espontáneamente, sólo a partir de las 24:00 hr. y en general no fueron perturbados por la toma de las muestras (excepto la emisión de las muestras de orina durante la noche). Dos de los mismos sujetos y durante otro período de 24 horas continuas fueron estudiados siguiendo un protocolo idéntico, pero incluyendo un lapso de seis horas, desde las 12:00 hasta las 18:00 horas, en posición de decúbito supino y sin dormir durante estas 6 horas. A otro sujeto, del grupo original, se le administró dexametasona en dosis de 0,5 mg, vía oral, cada 6 horas, comenzando a las 09:00 horas del día anterior. En él, las muestras se colectaron desde las 09:00 hasta las 18:00 horas del siguiente día. Por último, a un sujeto diferente se le administró Tiroxina sintética en dosis de 200 mg, vía oral, cada 24 horas, durante dos días, y luego fue sometido al mismo protocolo original.

Determinaciones

En todas las muestras de sangre, el suero fue separado en las siguientes 2 horas de su colección y congelado hasta el día de ser analizado. Para evitar el factor "Error inter-análisis", todas las muestras de un mismo sujeto fueron determinadas en un mismo día.

La concentración de la Tiroxina Total sérica fue determinada por Radioinmunoanálisis en 20 μ l de suero, usando el Acido sulfónico del 8-anilino-1-naftaleno (200 μ g) para inhibir la afinidad de la Globulina transportadora de Tiroxina (TBG), y el carbón para separar las fracciones libres y ligadas al anticuerpo. El suero anti- T_4 fue obtenido mediante la inmunización de conejos con múltiples inyecciones intradérmicas utilizando un conjugado de T_4 bovina-albúmina sérica. La concentración de Triiodotironina Total (TT_3) fue medida en 50 μ l de suero, por un método de Radioinmunoanálisis similar.¹¹ usando un suero anti- T_3 obtenido en cabras, el cual mostró una reactividad cruzada con la T_4 de 0.0125%. La captación in vitro de la T_3 por la Resina fue determinada utilizando un Kit comercial (Thyopac-3, Radiochemical Centre, Amersham). Los niveles circulantes de TSH fueron determinados por Radioinmunoanálisis utilizando el método del Doble Anticuerpo descrito por Hall y sus colegas.¹² El suero anti-TSH fue obtenido en conejos inmunizados con

TSH porcina y, debido a que no mostró reactividad cruzada con la Gonadotrofina Coriónica Humana, no se añadió esta última a la mezcla de incubación. Los niveles de Prolactina circulante fueron determinados por Radioinmunoanálisis.¹³ La excreción urinaria de T₄ y T₃ fueron determinadas según método descrito anteriormente^{14,16} y los resultados expresados como μg de hormona excretados por minuto.

RESULTADOS

La Tabla I muestra la sensibilidad y precisión de los métodos analíticos utilizados.

T A B L A I

PARAMETRO	VOLUMEN DE LA MUESTRA (l)	LIMITE DE DETECCION	COEFICIENTE DE VARIACION (%)
Suero			
TSH (RIA)	100	0.1 U/ml	5
T ₄ (RIA)	20	0.5 g/100 ml	7
T ₃ (RIA)	50	2.5 μg /100 ml	2.5
Prolactina (RIA)	50	0.5 μg /ml	7
RT ₃ U	100	—	2
Orina			
T ₄ (CPBA)	1000	25 μg /100 ml	4.6
T ₃ (RIA)	100	25 μg /100 ml	3.5

RIA = Radioinmunoanálisis

CPBA = Análisis por Enlace Poteico Competitivo

Tabla I—Detalles de la Sensibilidad y Precisión de los métodos analíticos, obtenidos de 10 determinaciones de cada muestra con concentraciones baja, normal y alta.

La Tabla II muestra los promedios absolutos de las concentraciones hormonales correspondientes al día y la noche.

Los resultados están calculados según el método utilizado por Orth e Island,¹⁷ expresando cada valor como la desviación porcentual del promedio de concentraciones de esa determinada hormona, en ese mismo día, y en ese mismo sujeto en particular. La Figura 1 muestra las variaciones promedias para el grupo en los niveles séricos de TSH, T₄ y T₃ y la Captación in vitro de T₃ por la Resina (THUT).

TABLA II

Sujeto	TSH (μ U/ml)		RT ₃ U (%)		T ₄ (μ g/100 ml)		T ₃ (μ g/100 ml)	
	Día	Noche	Día	Noche	Día	Noche	Día	Noche
1	1.55 \pm 0.07	1.73 \pm 0.10 =	106 \pm 0.31	99 \pm 0.70 o	9.05 \pm 0.19	7.49 \pm 0.13 #	165.5 \pm 2.09	136.1 ? # ?i
2	1.79 \pm 0.09	2.78 \pm 0.22 #	103 \pm 0.41	97 \pm 0.58 #	8.08 \pm 0.13	6.53 \pm 0.09 #	126.0 \pm 1.91	incompleto o
3	1.29 \pm 0.05	1.30 \pm 0.08 NS	88 \pm 0.41	81 \pm 0.47 #	6.35 \pm 0.14	5.34 \pm 0.23 =	130.5 \pm 1.64	incompleto #
4	5.47 \pm 0.40	8.84 \pm 1.10 =	103 \pm 0.46	96 \pm 0.54 #	7.55 \pm 0.15	6.60 \pm 0.15 #	131.1 \pm 1.70	incompleto NS
5	2.65 \pm 0.17	3.39 \pm 0.22 o	100 \pm 0.43	96 \pm 0.82 #	7.13 \pm 0.12	6.59 \pm 0.13 =	90.66 \pm 2.03	incompleto NS
6	2.27 \pm 0.13	2.92 \pm 0.16 =	105 \pm 0.32	101 \pm 0.45 #	8.25 \pm 0.15	6.89 \pm 0.18 #	158.8 \pm 1.70	incompleto =

Comparación de los niveles hormonales promedio durante el día y la noche, utilizando la Prueba de Student's (Ambos extremos de la curva).

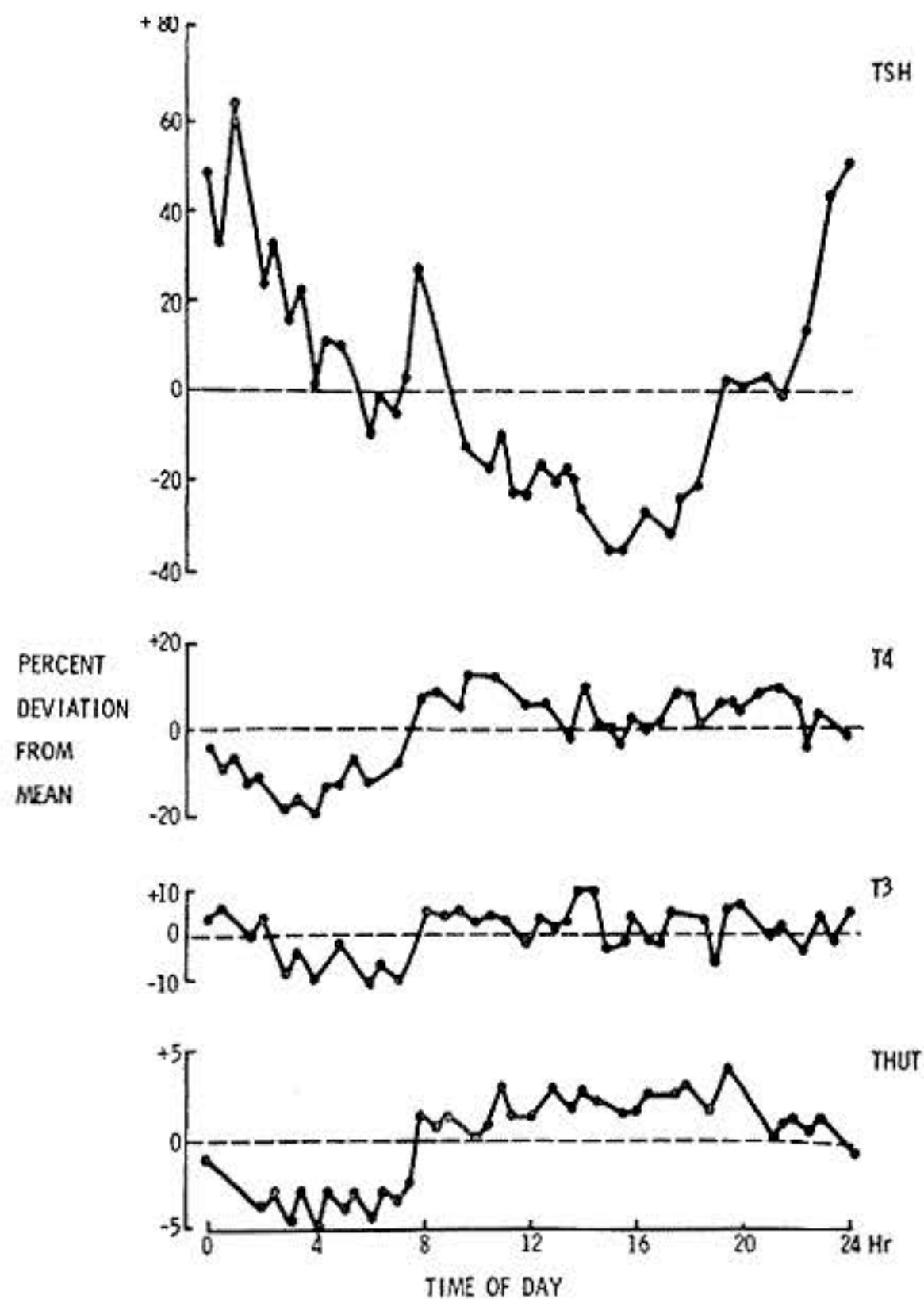
(#) = p 0.001

(o) = p. 0.05

(=) = p. 0.01

NS = No significativo

Tabla II—Concentraciones absolutas promedio durante el día y la noche \pm s.e.m. en todos los sujetos. Día = entre las 07:30 y las 24:00 horas. Noche = entre las 00:00 y las 07:30 horas.



(---) = Niveles hormonales individuales promedios
 (+) = Variaciones por encima del promedio
 (—) = Variaciones por debajo del promedio

Figura 1—Variaciones Circadianas en la TSH, T_4 y T_3 séricas y la Captación de T_3 por la Resina (THUT) en todos los sujetos, representadas como la desviación porcentual del propio promedio de valores.

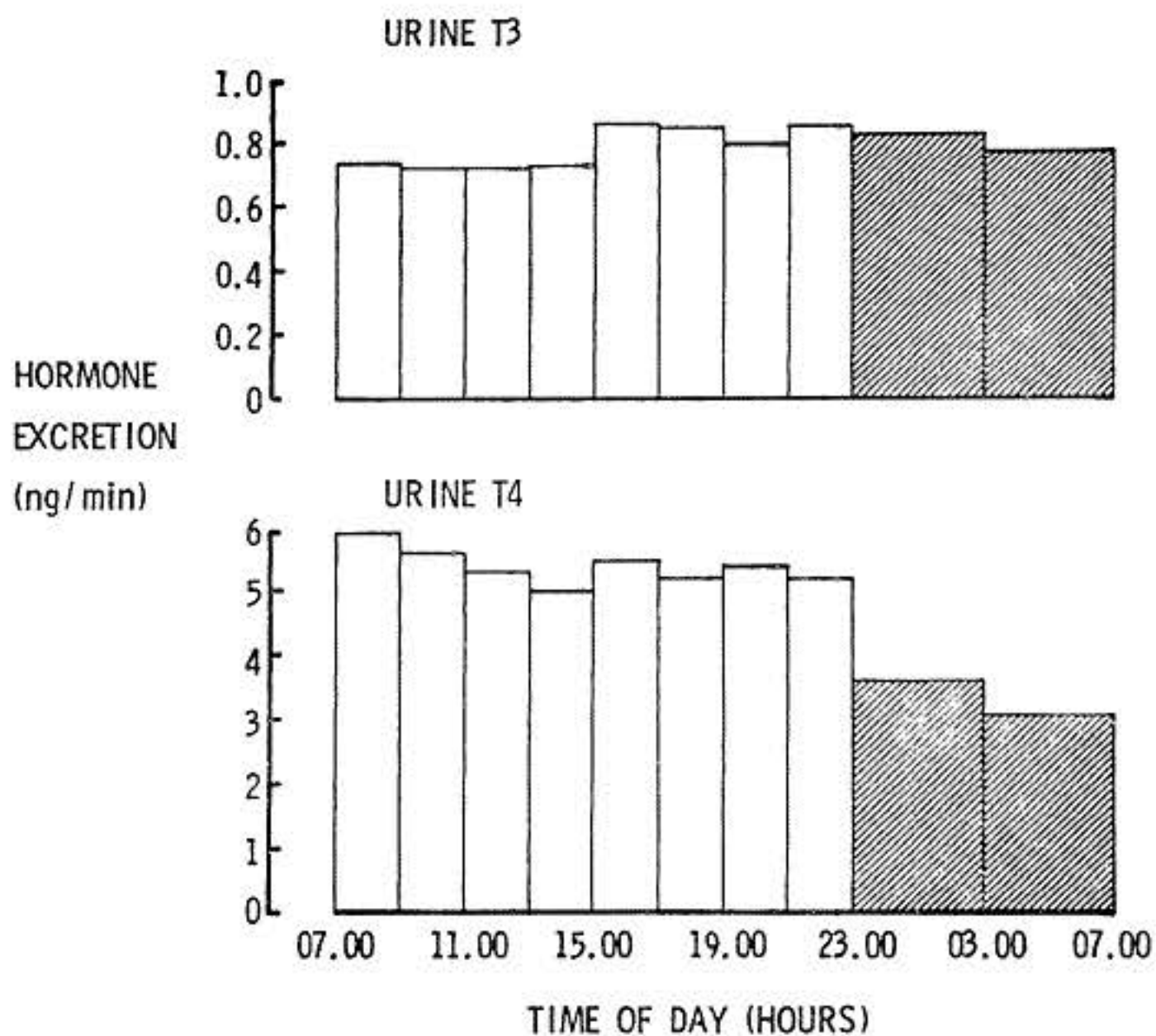
Cambios en los niveles de TSH circulante: Un patrón circadiano definido en la TSH de todos los sujetos fue evidenciado, con niveles más bajos durante el día, pero valores significativamente incrementados durante la noche. Este incremento comenzó a ocurrir 4 horas antes del sueño, lo cual en nuestro estudio se permitió alrededor de la medianoche. Asimismo se observaron fluctuaciones episódicas de la TSH durante las 24 horas. Un sujeto, en particular, mostró fluctuaciones exageradas y una variación de tipo circadiana más marcada; él mostró un nivel promedio de TSH durante ese día de $5 \mu\text{U/ml}$, con niveles máximos y mínimos de 20 y $3.4 \mu\text{U/ml}$ respectivamente. Exámenes posteriores demostraron que este voluntario, clínicamente eutiroides tenía niveles normales de T_4 Total sérica, T_3 Total sérica y no tenía títulos detectables de anticuerpos antitiroglobulina ni antimicrosomales mediante técnicas de inmunofluorescencia.

Cambios en los niveles de hormonas tiroideas circulantes: Los niveles de T_4 Total sérica, también mostraron un patrón circadiano definido, con niveles mínimos entre la medianoche y las 08:00 horas. La Tabla II muestra la diferencia estadísticamente significativa en todos los sujetos entre estos niveles y aquellos registrados durante el día.

Los niveles de T_3 Total sérica no mostraron un patrón circadiano definido, a pesar de que se observaron concentraciones algo menores entre las 02:00 y las 08:00 horas.

Cambios en la excreción urinaria de T_4 y T_3 : Los valores promedio en todos los sujetos están presentados en la Figura 2. Se puede apreciar que la excreción urinaria de T_4 está caracterizada por una elevación rápida en la mañana y una disminución durante la noche, pero permaneciendo constante durante las horas de vigilia. El momento varió ligeramente en los distintos sujetos, con valores máximos entre las 08:00 y 12:00 horas y mínimos en la segunda mitad de la noche (entre las 04:00 y las 08:00 horas).

En contraste, la excreción urinaria de T_3 permaneció constante durante todo el período de 24 horas (dentro de $\pm 0.1 \mu\text{g}/\text{min}$ del promedio).



El área sombreada indica el período nocturno de excreción urinaria hormonal.

Figura 2—Variaciones Circadianas promedio en la excreción urinaria de T_4 y T_3 en todos los sujetos.

Cambios en la Captación de T_3 por la Resina: La Figura 1 muestra que, el grado de insaturación de las proteínas transportadoras de hormonas tiroideas (evaluado mediante la captación in vitro de T_3 por la Resina), muestra un patrón circadiano perfectamente definido, el cual es casi idéntico al observado en relación con los niveles de T_4 Total sérica.

Cambios en los niveles de Prolactina circulante: La Figura 3 muestra los patrones circadianos de los niveles de TSH y Prolactina circulante, en un sujeto el cual puede ser considerado como un representante típico del grupo estudiado. El patrón de la Prolactina se vio caracterizado por fluctuaciones episódicas con incrementos marcados durante la noche. El período de máxima secreción varió en los diferentes individuos, bien desde la medianoche hasta las 04:00 horas o desde las 04:00 a las 07:00 horas, pero siempre ocurrió antes del incremento máximo de la TSH.

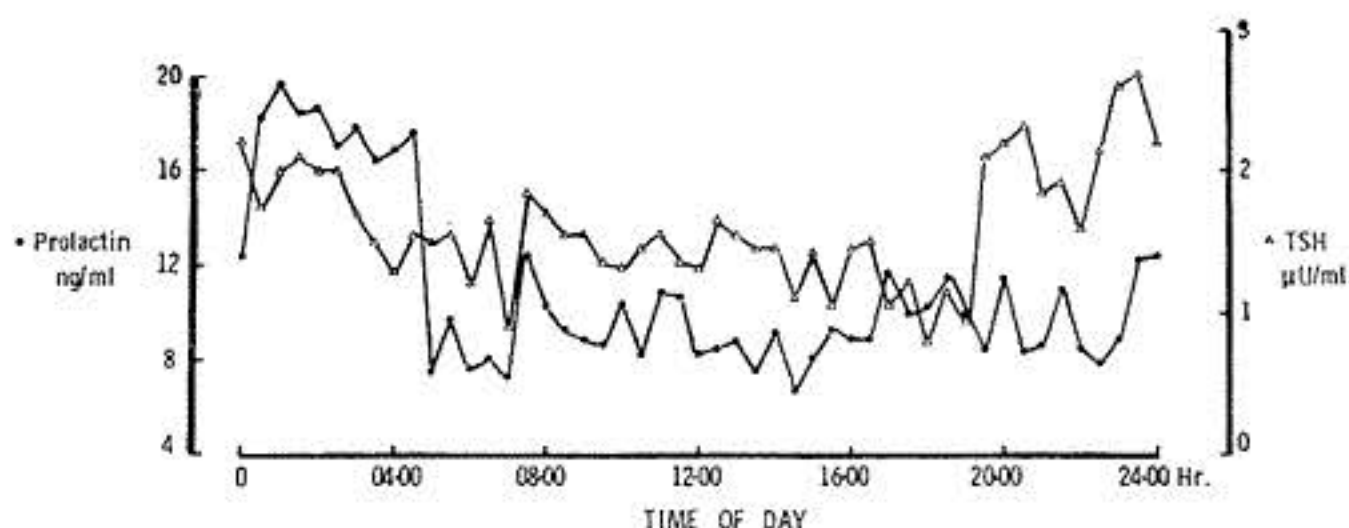
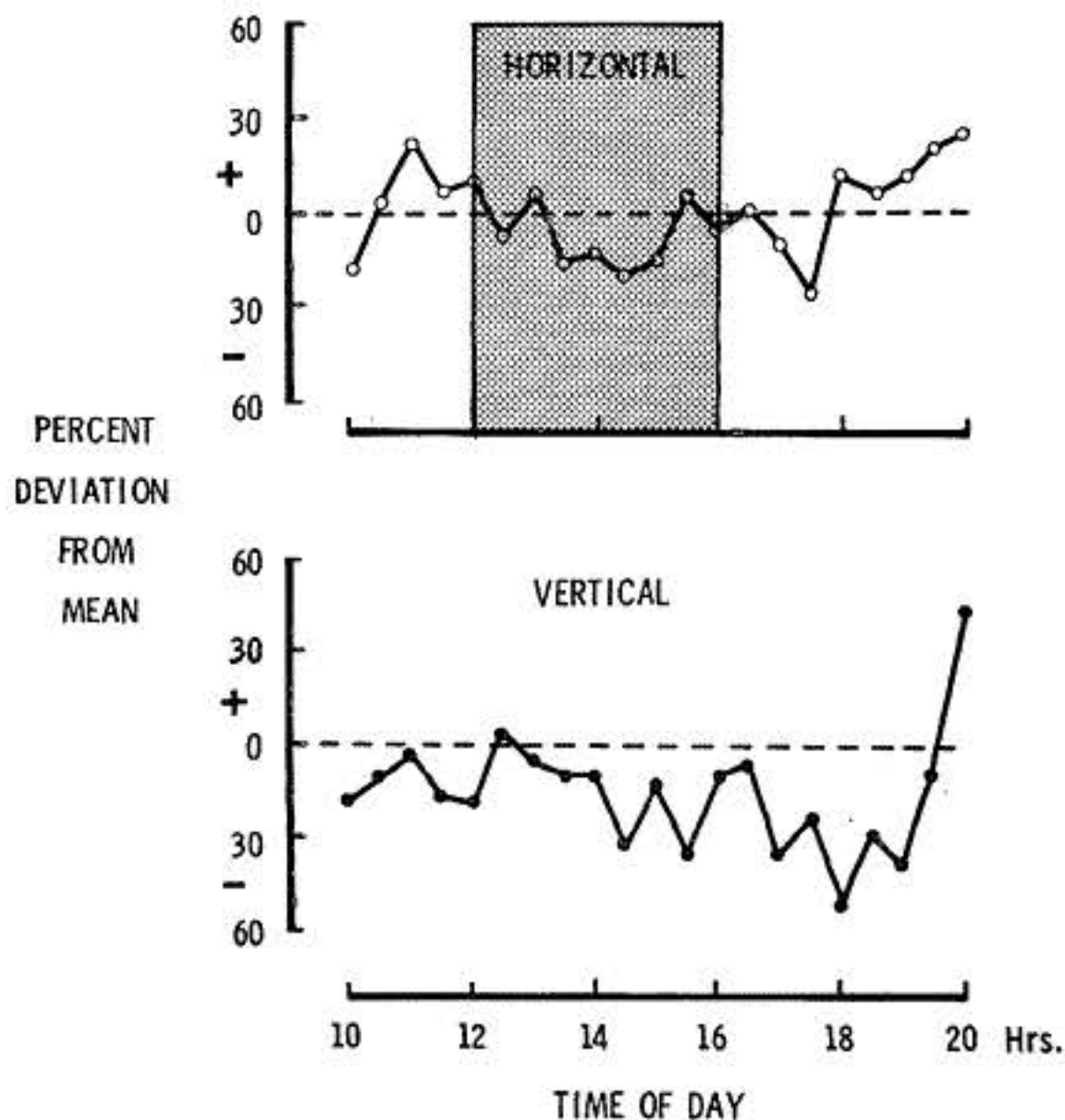


Figura 3—Variaciones Circadianas en los niveles séricos de TSH y Prolactina en un sujeto.

Efecto de la postura: La Figura 4 muestra el patrón circadiano de la TSH en un sujeto. No hubo una variación significativa en dicho patrón en relación a la posición vertical u horizontal del sujeto. Los patrones circadianos de la T_4 Total sérica y de la Captación de T_3 por la Resina, tampoco mostraron influencia postural alguna.



El área sombreada indica el período cuando el sujeto estaba en posición de decúbito supino. La parte inferior muestra el patrón circadiano de la TSH, en el mismo sujeto, durante un día normal.

Figura 4—Efecto de la Postura sobre las Variaciones Circadianas en los niveles séricos de TSH en un sujeto.

Efecto de la administración de corticosteroides: El ritmo circadiano fisiológico de los corticosteroides fluorogénicos circulantes fue abolido (niveles entre 1 y 2 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$). A pesar de que los valores promedio de los niveles de TSH, T_4 Total sérica, Prolactina y la Captación de T_3 por la Resina, fueron significativamente más bajos, sus patrones circadianos permanecieron sensiblemente iguales.

Efecto de la administración de Tiroxina: La Figura 5 muestra el patrón circadiano de la TSH en un mismo sujeto, tanto basal como después de la administración de tiroxina exógena. No se observó una modificación significativa otra que una supresión de los niveles desde un promedio basal de 2.9 $\mu\text{U}/\text{ml}$ a un valor promedio post T_4 de 0.9 $\mu\text{U}/\text{ml}$.

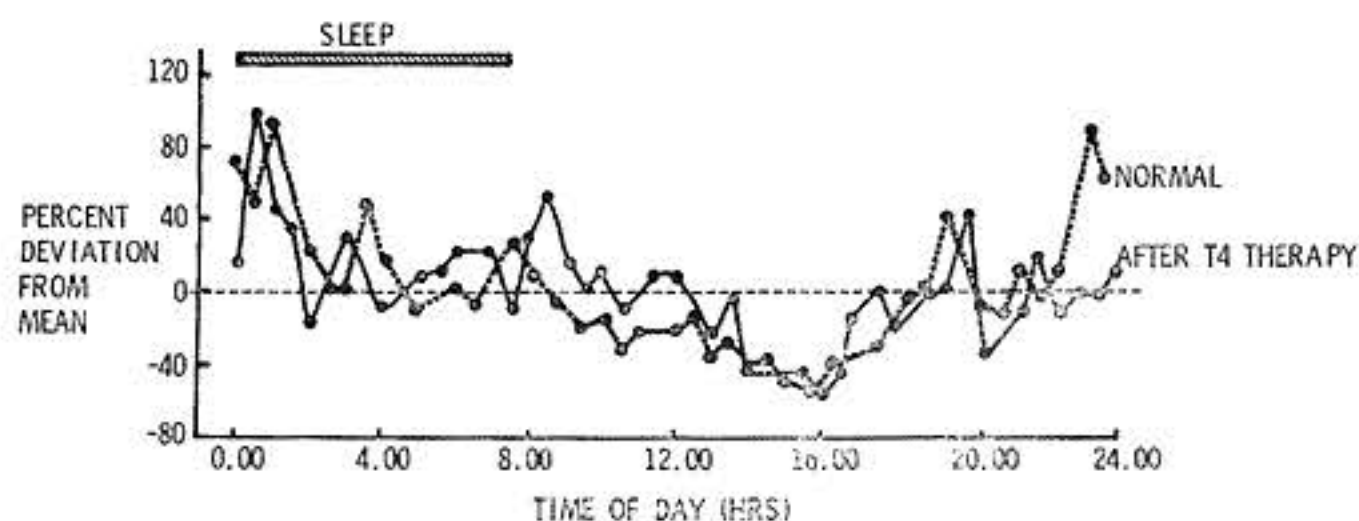


Figura 5—Variaciones Circadianas en los niveles séricos de TSH, antes y después de la administración de 200 mcg de Tiroxina sintética, durante 48 horas, en un sujeto.

DISCUSION

Usando métodos de Radioinmunoanálisis (RIA) altamente específicos; sensibles y precisos, ha sido posible medir con confianza aún pequeños cambios en la concentración real de hormonas circulantes. Es así como nosotros hemos podido medir, durante un período continuo de 24 horas, las variaciones simultáneas en la concentración sérica de TSH, T_4 y T_3 , permitiendo, en esta forma, interpretar el posible papel que cada una de estas hormonas desempeña en los mecanismos de "Feedback" que rige el eje Hipotálamo-Hipófiso-Tiroideo. Por otra parte, dado que los volúmenes de suero requerido para las distintas determinaciones eran del orden de los microlitros, nosotros pudimos medir tal cantidad de parámetros simultáneamente, manteniendo la cantidad total de sangre perdida reducida a un mínimo razonable de aproximadamente 240 ml en cada sujeto durante un período de 24 horas, lo cual representa acerca del $4.9 \pm 0.5\%$ del volumen sanguíneo total estimado de 4.99 ± 0.55 litros.¹⁸ Esta pérdida sanguínea sería insuficiente para explicar las variaciones circadianas encontradas, dado que las diferencias entre las concentraciones máximas y mínimas observadas fueron de hasta un 17%.

Este estudio confirma claramente la existencia de patrones circadianos en los niveles de TSH, T_4 sérica y prolactina, así como los valores de la captación de T_3 por la resina. No hubo evidencia de un verdadero ritmo circadiano en relación a la T_3 sérica o urinaria. El patrón circadiano de la TSH observado por nosotros es similar al observado por Patel y sus colegas⁶ y Weeke⁸ quienes reportaron niveles elevados de TSH durante la noche en todos sus sujetos, mientras que Vanhalest y colaboradores⁷ encontraron niveles elevados durante la noche sólo en mujeres y no en hombres. Nuestros resultados muestran que el incremento en los niveles de TSH

ocurrió aproximadamente 4 horas antes del comienzo del período de sueño y los niveles máximos se alcanzaron entre las 23:00 y las 02:00 horas. Weeke⁸ encontró los niveles más elevados de TSH entre las 20:00 y las 08:00 horas.

Todos nuestros sujetos mostraron un patrón circadiano bien definido de la T₄ Total sérica y de la Captación de T₃ por la Resina, siendo dichos patrones similares entre sí, pero recíprocos al de la TSH. Lemarchand-Beraud y Vanotti⁹ observaron la misma correlación inversa entre la TSH y la Tiroxina Libre.

Nosotros hemos confirmado los hallazgos de Robyn y colaboradores¹⁹ en el sentido de que la liberación de TSH y de Prolactina no ocurre concomitantemente y probablemente no están interrelacionadas.

Cambios posturales durante el día, de la posición vertical a la horizontal, no tuvieron ningún efecto aparente sobre las variaciones circadianas de las hormonas tiroideas, TSH o Prolactina. Nos parece interesante el hallazgo de DeCosta y sus colegas¹⁰ quienes lograron invertir el ritmo circadiano de la T₄ Total sérica al invertir el ciclo Sueño-Vigilia.

Es improbable que alteraciones en el Clearance hepático o hemoconcentración, per se, puedan explicar las variaciones circadianas observadas en relación a la TSH, ya que mediante estos factores los cambios en las proteínas plasmáticas, hemoglobina y hematocrito son tales, que los valores más bajos ocurren durante la noche,²⁰ mientras que la TSH está más elevada es durante dicho período.

Nicoloff et al⁵ demostraron un patrón circadiano en la liberación de Iodo Tiroideo con niveles máximos alrededor de las 04:00 horas, y postularon la presencia de un efecto de Feedback negativo de los corticosteroides plasmáticos ejercido sobre la TSH. Nuestros hallazgos no permiten sostener dicho postulado, ya que la supresión del ritmo circadiano de los corticosteroides endógenos no alteró el patrón circadiano de la TSH.

Nos parece de sumo interés el hecho de que la administración de Tiroxina sintética en forma aguda, suficiente para reducir el promedio de la TSH basal a 0.9 μ U/ml, no alteró el patrón circadiano de la TSH. Nos parece probable que el ritmo de la TSH está determinado por un mecanismo que opera a nivel central y que los niveles de T₃ libre son mantenidos más o menos constantes debido a variaciones en la conversión periférica a partir de T₄ o T₃ "Invertida".

La aplicación clínica práctica de estos estudios circadianos es que la colección de sangre para la determinación de la TSH o de la T₄ debería ser hecha en un momento particular del día e.g mediodía, cuando la concentración de estas hormonas ha alcanzado su valor basal promedio. Sugerimos, asimismo, que estas variaciones (de hasta un 17%) deben ser tomadas en cuenta al momento de interpretar resultados de algún estudio IN VIVO realizado durante un período que se extienda durante varias horas.

La ausencia de variaciones circadianas en la excreción urinaria de T₃ representa una ventaja práctica, ya se pueden indicar colecciones urinarias que recojan la orina de la noche en vez de las imprácticas colecciones de 24 horas.

Es posible que la interpretación fisiológica de estos ritmos circadianos no sea la de causar cambio alguno sobre otros sistemas, sino que meramente representen

una consecuencia de la imperfección de los mecanismos de regulación biológica tipo "Feedback" (Efecto de Oscilación).

REFERENCIAS

- 1 UTIGER, R. D.: J. Clin. Invest., 44: 1.277, 1965.
- 2 ODELL, W. D., UTIGER, R. D. and WILBER, J. F.: Recent Progress Horm Res., 23: 47, 1967.
- 3 HERSHMAN, J. M. and PITTMAN, J. A.: New England J. Med., 285: 997, 1971.
- 4 WEBSTER, B. R., GUASING, A. R. and PAICE, J. C.: J. Clin. Endocr. Metab., 34: 899, 1972.
- 5 NICOLOFF, J. T., FISHER, D. A. and APPLEMAN, M. D. Jr.: J. Clin. Invest., 49: 1.922, 1970.
- 6 PATEL, Y. C., ALFORD, F. P. and BURGER, H. G.: Clin. Sci. 43: 71, 1972.
- 7 VANHAELST, L., VAN CAUTER, E., DEGAUTE, J. P. and GOLDSTEIN, J.: J. Clin. Endocr. Metab., 35: 479, 1972.
- 8 WEEKE, J. SCAN: J. Clin. Invest., 31: 337, 1973.
- 9 LEMARCHAND-BERAUD, T. H. and VANOTTI, A.: Acta Endocr., 60: 315, 1969.
- 10 DE COSTA, P., BUHLER, U., DEGROOT, L. J. and REFETTOFF, S.: Metabolism, 20: 782, 1971.
- 11 DESOUZA, V. R., CHAN V., PANTIN, C. and MERRETT, T.: Clin. Chim. Acta, enviada para publicar, 1974.
- 12 HALL, R., AMOS, J. and ORMSTON, B. J.: Brit. Med. J., 1: 582, 1971.
- 13 MCNEILLY, A. S. and HAGEN, C.: Clin. Endocr. 3: 427, 1974.
- 14 CHAN, V. and LANDON J.: Lancet, I: 4, 1972.
- 15 CHAN, V., BESSER, G. B., LANDON, J. and EKINS, R. P.: Lancet, II: 253, 1972.
- 16 CHAN, V.: Annals. Clin. Biochem., 2, 1974.
- 17 ORTH, D. and ISLAND, D. P.: J. Clin. Endocr. Metab., 29: 479, 1969.
- 18 GRAY and FRANIC: J. Clin. Invest., 32: 1.000, 1953.
- 19 ROBYN, C., DELVOYE, P., NOKIN, J. et al.: International Symposium on Human Prolactin, Excerpta Medica, p. 98, 1973.
- 20 RENBOURN, E. T.: J. Hyg (Camb), 45: 455, 1947.