



UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
Facultad de Ciencias Veterinarias
Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias

**Valores sanguíneos de Triyodotironina (T3) y Tiroxina (T4) en
vacas Normo e Hipomagnesemicas**

Tesis de grado presentada como
parte de los requisitos para optar al
Grado de LICENCIADO EN
MEDICINA VETERINARIA.

Verónica Cecilia Ruiz Nolf
Valdivia Chile 1998

PROFESOR PATROCINANTE

Nombre

Pedro A. Castiella B

Firma

PROFESOR COLABORADOR

Nombre

Firma

PROFESORES CALIFICADORES

Nombre

Firma

Nombre

Firma

FECHA DE APROBACION: _____

Dedicado a mi padre ...

" Cortaste sólo para mí,
frondosos tallos de sol maduro;
Serenos contra el viento
aspiras el rezago de mi pena "

INDICE GENERAL

MATERIA	PÁGINA
1.-RESUMEN.....	1
2.-SUMMARY.....	2
3.- INTRODUCCIÓN.....	3
4.-MATERIAL Y MÉTODO.....	12
5.-RESULTADOS.....	16
6.-DISCUSIÓN.....	27
7.-BIBLIOGRAFÍA.....	34
8.-ANEXOS	41

1. RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue establecer y comparar las concentraciones plasmáticas de Triyodotironina (T_3) y Tiroxina (T_4) en vacas lecheras al inicio de la lactancia y en gestación, normo e hipomagnesémicas. Para ello se seleccionó muestras a partir de los perfiles metabólicos solicitados al Laboratorio de Patología Clínica de la U.A.C.H.. Se seleccionaron muestras de vacas al inicio de la lactancia normo ($n=25$) e hipomagnesémicas ($n=25$), así como vacas gestantes normo ($n=25$) e hipomagnesémicas ($n=25$).

La determinación de las concentraciones de Mg plasmático se realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica, en tanto que la medición de hormonas tiroideas se llevó a cabo por radioinmunoensayo de fase sólida.

El análisis estadístico se aplicó a los 4 grupos seleccionados, al igual que a la reagrupación de vacas en lactantes ($n=50$), gestantes ($n=50$), hipomagnesémicas ($n=50$) y nonnomagnesémicas ($n=50$). La asociación entre los niveles de Mg y cada hormona tiroidea se estableció mediante análisis correlacional y de regresión lineal. La diferencia entre las medias de los grupos se determinó mediante el uso del test de Student ($P<0.05$), considerando un intervalo de confianza de 95%. Para este efecto se utilizó el programa computacional Microsoft Graph-Pad Prism, versión 2.0, 1995.

Considerando el rango de referencia para T_4 de 57-119 nmol/l (Burton, 1992), los resultados muestran concentraciones disminuidas de la hormona en todos los grupos de animales (hipomagnesémicas: 41.22 ± 12.58 nmol/l; nonnomagnesémicas: 42.20 ± 12.30 nmol/l), con valores de T_3 dentro del rango de referencia para bovinos, de 0.8-1.9 nmol/l (Burton, 1992). Se evidenció asociación entre Mg y los niveles de hormonas tiroideas en vacas normomagnesémicas, que presentaron una correlación positiva para T_3 ($r= 0.39$) y en vacas lactantes, en las cuales T_3 tuvo una correlación positiva $r= 0.32$ ($P<0.05$). El test de Student estableció que el grupo lactante tuvo una media de T_3 significativamente superior (1.65 ± 0.42 nmol/l) a la de vacas gestantes (1.37 ± 0.39 nmol/l) ($P<0.05$).

Los resultados sugieren que los animales empleados cursan un hipotiroidismo subclínico, cuya causa probable sea una deficiencia marginal de yodo, situación que dificulta determinar la influencia del Mg sobre la actividad tiroidea, ya que los reales efectos pudieran estar enmascarados por la alteración de los niveles de T_4 . Por ende, es necesario realizar más estudios en vacas lecheras, que incluyan la medición de TSH y del clearance de yodo en los animales para valorar el efecto del Mg sobre hormonas tiroideas y su impacto en los sistemas productivos.

2. SUMMARY

The influence of magneaemia on plasmatic thyroid hormones concentrations in dairy cows during early lactation and pregnancy was evaluated in this study. Samples were obtained from the pool of biochemical profiles, solicited at the Clinic Pathology Lab. In the U.A.CH., selecting 25 samples of early lactating hypomagnaesemic cows, 25 of early lactating normomagnaesemic cows, 25 samples of hypomagnaesemic pregnant cows and 25 of pregnant normomagnaesemic animals.

Serum Mg concentration was determined by atomic absorption spectrophotometry. Thyroid hormone concentration was established using a solid-phase radioimmunoassay.

Statistical analysis was applied to the 4 selected groups, and also to total early lactating cows (n=50), total pregnant cows (n=50), total hypomagnaesemic (n=50) and normomagnaesemic animals (n=50). The association between Mg values and every corresponding thyroid hormone concentration was established by correlational and linear regression analysis. Significance of differences between means of different groups was determined using the Student's t test ($P < 0.05$), with a 95% confidence interval, and using the Graph-Pad Prism Microsoft, version 2.0, 1995.

Considering the reference range for T_4 (57-119 nmol/l. Burton, 1992), results showed diminished hormone concentrations in all groups of animals (Hypomagnaesemic: 42.22 ± 12.58 nmol/l; normomagnaesemic: 42.20 ± 12.30 nmol/l) with T_3 values within the normal range (0.80 - 1.90 nmol/l, Burton, 1992). Triiodothyronine presented a positive correlation to Mg in normomagnaesemic cows ($r = 0.39$) and in total lactating animals ($r = 0.32$) ($P < 0.05$). A significant higher T_3 mean was observed in lactating cows (1.65 ± 0.42 nmol/l), in comparison to pregnant animals (1.37 ± 0.39 nmol/l) ($P < 0.05$).

Results suggest that employed animals can be suffering a subclinical hypothyroid status, probably due to a marginal deficiency of iodine, situation that difficult to establish if Mg concentrations really have any influence on thyroid metabolism. This, because low T_4 levels may be hiding the real hormonal behaviour, being necessary to measure TSH and the iodine clearance. This can make possible to evaluate the effect of Mg on thyroid metabolism, and its influence on our dairy production systems.

3. INTRODUCCION

3.1 - GENERALIDADES

El concepto de agricultura se ha modificado drásticamente en las últimas décadas. La tendencia mundial de optar por políticas económicas aperturistas someten a esta actividad a los vaivenes de mercado, junto a otras empresas y servicios transables internacionalmente. Tal como lo señala Dornbusch y Fischer (1992), la agricultura sufre en un sistema de libre mercado, si se tiene en cuenta que la mayoría de los productos del agro son bienes indiferenciados, o comodities. Por otra parte, el alto riesgo ante adversidades climáticas y bajos márgenes de utilidad, hacen que esta actividad tenga rubros alternativos más rentables para quien desee realizar una inversión. De esta forma, el amor a la tierra, irrigado por la cultura propia de cada pueblo se ha visto arrastrado a luchar por metas objetivas y económicamente sustentables. Chile no es una excepción, sobre todo si se habla del sector lechero. De los 4.131.545 animales que conforman la masa bovina total del país, 1.601.592 se encuentran en la décima región, y 599.025 en la provincia de Valdivia; la masa de vacas de la décima región asciende a 566.069 animales, correspondiendo a vacas de producción lecheras en la provincia de Valdivia, la cantidad de 139.222 hembras (I.N.E., 1997). Por otra parte, cifras de Odeppa (1997) señalan que durante 1996 se recibieron 1.900 millones de litros de leche a nivel de planta, lo cual duplica al volumen entregado en 1986. De este total, un 76% se concentró en las regiones IX y X del país, agregando que la calidad sanitaria de esta materia prima ha mejorado también en forma notable.

Desde otra perspectiva, el incremento de la eficiencia productiva ha traído consigo una serie de nuevas patologías, que Payne (1981) describe como Enfermedades de la Producción, siendo cuadros que surgen como consecuencia de cambios en la dieta, genética y/o ambiente de los animales, causando deficiencias de los procesos metabólicos establecidos entre el ingreso y egreso de un metabolito. Ahora bien, la tendencia en general es estudiar, tratar y prevenir cuadros concretos, tales como hipocalcemia o letanía hipomagnésica, por ejemplo. El presente trabajo intenta internarse un poco más profundo, apuntando al conocimiento de uno de los pilares reguladores del metabolismo general, la glándula tiroides.

3.2.- ANATOMIA FUNCIONAL DE LA GLANDULA TIROIDES

Sisson y Grossman (1995) establecen que la tráquea, a nivel de su 1er o 2º anillo, es cruzada ventral mente por un istmo glandular, uniendo dos lóbulos aplanados y triangulares: la Glándula Tiroides de la especie bovina. En el embrión, inicialmente constituye una proliferación epitelial en el suelo de la faringe, en el sitio que corresponde al agujero ciego. Desciende por delante del intestino faríngeo, unida a la lengua por el conducto tirogloso. Durante la séptima semana se observa su posición delante de la tráquea, así como la presencia de dos lóbulos y un istmo. Comienza a funcionar aproximadamente al final del tercer mes de gestación, con folículos activos (Langman, 1986). Estos poseen un lumen que almacena coloide, solución viscosa de tiroglobulina, principal fuente de hormonas tiroideas (Cunningham, 1992). La célula folicular tiene una delgada membrana basal en su región apical, y su forma varía de acuerdo a las diferentes especies, e incluso entre individuos. Sin embargo, diferentes autores coinciden en que las células tienden a ser cuboidales mientras se necesite un nivel basal de hormonas. Si aumentan los requerimientos por parte del organismo, éstas tienden a elongarse para adquirir un aspecto más columnar. (Ekholm 1989; Cunningham, 1992).

3.3.-HORMONAS TIROIDEAS: SINTESIS Y LIBERACION A LA CIRCULACION

Las hormonas que secreta la glándula Tiroides son la Tiroxina (T₄), Triyodotironina (T₃) y la Calcitonina (Hedge y col, 1987). En bovinos los niveles oscilan entre 0,8 - 1,9 nmol/l en el caso de T₃ y de 57 - 129 nmol/l para T₄ (Burton, 1992). Su síntesis se inicia con la llamada Bomba de Yoduro (Guyton, 1994), mecanismo que involucra el paso del mineral desde el plasma (en bajas concentraciones) mediante transporte activo al interior del folículo, donde es concentrado. Aquí también se sintetiza tiroglobulina (peso molecular: 670.000), glicoproteína que contiene aproximadamente 140 moléculas de tirosina (Guyton, 1994). El yoduro es oxidado a una forma orgánica por acción de peroxidasa y peróxido de hidrógeno, uniéndose a los residuos de tirosina (Silva, 1984; Lissitzky, 1989). Se forma así Monoyodotirosina (MIT) y Diyodotirosina (DIT). Dos residuos de DIT forman Tiroxina, y una molécula de MIT acoplada a una de DIT forman Triyodotironina (Guyton, 1994). Así, la diferencia estructural de T₃ y T₄ está basada en la posición y cantidad de moléculas de yodo ubicadas en los anillos tirosil externos e internos (Hedge y col, 1987).

Previo a la liberación de T₃ y T₄ al torrente sanguíneo, la molécula de tiroglobulina se desintegra. Gotas de coloide son captadas por endocitosis, actuando enzimas proteolíticas. La membrana de estos endosomas es degradada por hidrólisis. Se desconoce el mecanismo mediante el cual las hormonas abandonan el folículo (Torresani, 1989).

3.4.- HORMONAS TIROIDEAS Y SU MECANISMO DE ACCION

En la sangre, T3 y T4 se unen a diferentes proteínas plasmáticas: prealbúmina, albúminas, y especialmente a Globulina Transportadora de Tiroxina o TBG (proceso que ocurre en el hígado), siendo liberadas al alcanzar las células tisulares (Guyton, 1994). Los receptores para yodotironinas en la célula de destino son intranucleares y sitio de inicio en la acción hormonal (Kahn, 1989). El hecho que no todos los tejidos corporales reaccionen con igual intensidad frente a un estímulo tiroideo está muy relacionado al número de receptores presentes en el DNA celular. T4 se une a ellos diez a veinte veces menos que T3, y es posible decir que a nivel celular la hormona tiroidea propiamente tal es T3 (Silva, 1984). Los estudios de Oppenheimer y col. (1972) otorgan una potencia biológica a T3 tres veces superior a la de T4, y basan a investigadores como Ingbar y Braverman (1975) para sugerir un rol de prohormona para T4, en que se convierte a T3 para ejercer acción hormonal, aunque observaciones clínicas implican cierta actividad biológica intrínseca de tiroxina. Cobra importancia entonces el hecho que aproximadamente un tercio de la T3 proviene de la deiodación de T4 por la enzima 5' monodeiodinasa. Simultáneamente, 5- monodeiodinasa convierte tiroxina en rT3, indicador metabólico que modula la enzima convertidora de T4 a T3 en la célula blanco (Silva, 1984). Por otra parte, Frandson, (1995) establece que T4 puede ser activa, pero que empieza a actuar con más lentitud que T3. En bovinos se utilizó T4 como indicadora de actividad tiroidea, debido a la dificultad existente para medir T3 (Blum y col, 1979). Cabe destacar que un gran porcentaje de T4 se excreta vía fecal, en tanto que otra fracción se metaboliza a ácido tetrayodoacético, el cual tendría bajo poder biológico (Ingbar y Braverman, 1975).

El hecho que los receptores para hormonas tiroideas se encuentren muy cerca, o bien unidos a cadenas de DNA permite que al acoplarse a las hormonas, se active el proceso de transcripción, logrando formar muchos tipos de mRNA. La síntesis de cientos de proteínas nuevas son la clave de la multiplicidad de intervenciones a nivel metabólico, ya que generalmente las hormonas tiroideas manifiestan su acción a través del efecto catalítico de enzimas, o bien mediante funciones desempeñadas por las nuevas proteínas creadas (Guyton, 1994).

3.5.-EFECTO DE HORMONAS TIROIDEAS SOBRE FUNCIONES CELULARES Y ORGANICAS

3.5.1.-Metabolismo celular

Guyton (1994) sostiene que una de las pocas funciones específicas de T4 podría radicar en promover el aumento del número y actividad de mitocondrias, lo cual acelera la velocidad de síntesis de ATP con mayor intercambio iónico a nivel de membrana. Esta reacción libera gran cantidad de energía, fenómeno también conocido como efecto

calorigénico (Hedge y col, 1987). El aumento del metabolismo celular incrementa el consumo de oxígeno y la eliminación de dióxido de carbono en el organismo, activándose los mecanismos que estimulan la frecuencia y profundidad respiratoria (Cunningham, 1992).

3.5.2.- Acción sobre carbohidratos

En relación al metabolismo de los carbohidratos, las hormonas tiroideas facilitan la absorción de glucosa desde el tubo digestivo y su posterior captación a nivel celular. Conjuntamente, se observa un incremento en los procesos de glicólisis y gluconeogénesis, así como una mayor secreción insulínica (Cunningham, 1992; Guyton, 1994).

3.5.3.- Sistemas nervioso y cardiovascular

En el sistema nervioso periférico, la acción tiroidea se centra en la estimulación de los receptores B adrenérgicos, en tejidos blanco de catecolaminas, epinefrina y norepinefrina. También regulan la cantidad de receptores β -adrenérgicos cardíacos, y al estimular su síntesis se incrementa la fuerza y contractibilidad del órgano, tal como lo señalan estudios en ratas y seres humanos (Levvis y col, 1977; Cunningham, 1992; Guyton, 1994).

3.5.4.- Acción sobre lípidos

Respecto al metabolismo de los lípidos, Cunningham (1992) sostiene que la mayor influencia de las hormonas tiroideas sobre este sistema, es su capacidad de producir lipólisis, con tendencia a reducir el colesterol plasmático (Guyton, 1994).

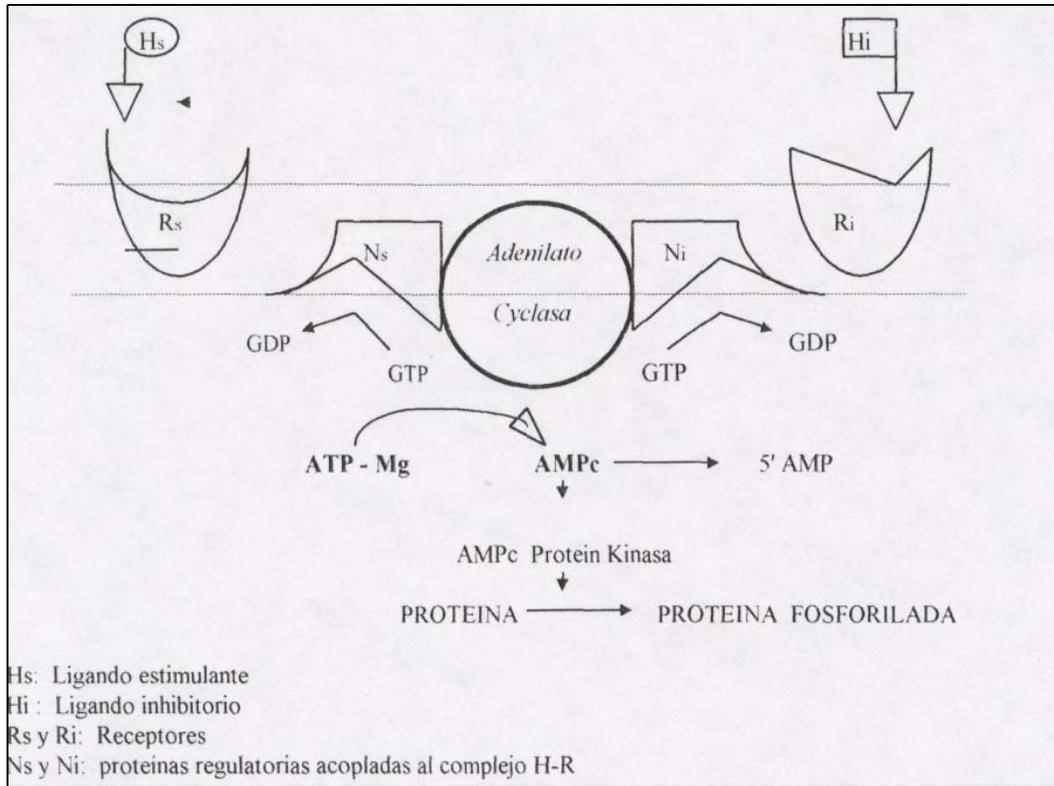
3.5.5.- Crecimiento

Las hormonas tiroideas, junto a la hormona del crecimiento, se requieren para el desarrollo normal del organismo, ya que estimulan las enzimas relacionadas con la síntesis proteica (Cunningham, 1992).

3.6.- PARTICIPACION HIPOTALAMICA E HIPOFISIARIA EN RELACION A HORMONAS TIROIDEAS

El hipotálamo secreta TRH u hormona liberadora de TSH al producirse depolarización de membranas. Su principal rol es la estimulación tónica de las células productoras de TSH u Hormona estimulante del Tiroides a nivel de la hipófisis anterior (Sarne y Degroot, 1989).

TSH promueve la secreción de T3 y T4 (Cunningham, 1992). Este proceso se inicia mediante la unión de TSH a receptores específicos ubicados en la membrana plasmática de la célula folicular, estimulando la actividad de la enzima adenilato ciclasa, mecanismo ilustrado a través del siguiente esquema:



(Modelo esquemático según Spiegel y col. 1985)

La mayor cantidad de fosfoquinasas AMPc dependientes aumenta la síntesis de RNA y proteínas. Además, tanto la captación de yodo como la reabsorción de coloide al interior del folículo se ven favorecidos (Saine y Degroot, 1989), incrementándose la proteólisis de tiroglobulina para liberar las hormonas al torrente sanguíneo (Cunningham,1992).

3.7.-MECANISMOS REGULADORES DE LA FUNCION TIROIDEA

3.7.1.- Sistemas de Autorregulación

Como contrapartida al estímulo secretorio de TRH-TSH, existe un sistema de retroalimentación negativa por parte de las mismas hormonas sobre la secreción de TSH a nivel de hipófisis anterior (Guyton, 1994). Esto concuerda con las observaciones de Friedman y col (1977), quienes además aseveran que tanto T3 como T4 actúan directamente sobre la glándula tiroides, inhibiendo el sistema adenilato ciclasa y suprimiendo respuestas mediadas por AMPc.

El yodo conforma otro sistema de autoregulación, apreciándose un gran poder de control sobre su propia acumulación dentro de la glándula (Carayon y Amr, 1989).

3.7.2.- Influencia endocrina y nerviosa en la regulación tiroidea.

Las prostaglandinas bovinas, pese a ser sustancias exógenas a la glándula, ocupan los mismos receptores que TSH (sobre todo PGE-1), ejerciendo efectos similares. Ellas intervienen en diversos pasos del metabolismo del yodo. La justificación a esta situación aún está en estudio (Wayne y col, 1973). Otras moléculas como Somatostatina y Dopamina ejercen una acción inhibitoria de liberación de TSL1 a nivel pituitario, en tanto que Vasopresina, catecolaminas y péptidos opioídeos estimulan la secreción de la hormona (Morelly y col, 1973; Same y Degroot, 1989).

De los neuropéptidos, sólo polipéptido intestinal vasoactivo (VTP) parece estimular la secreción de hormonas tiroideas en bovinos (Ahrén y col, 1983).

3.7.3.- Factores nutricionales y carenciales

Estudios realizados por Ahn y Rosenberg (1980) en tiroides caninas y de terneros concluyen que de los carbohidratos, el más importante es glucosa, dado que TSM la requiere para promover los procesos de oxidación en la tiroides. Además, los sustratos carbohidratados favorecerían una vía de autooxidación, resultando en una mayor formación de peróxido de hidrógeno. Así, tanto la unión del yodo como la formación de hormonas tiroideas se incrementan.

Shrader y col (1977) observan que las concentraciones de tiroxina y triyodotironina en la prole de ratas sometidas a dietas deficitarias en proteína están por debajo de los rangos de referencia para la especie, hecho similar a lo descrito por Oberkotter y Rasmussen (1992) para ratas sometidas a una restricción nutricional crónica.

3.7.4.-Ambiente como modulador de la actividad tiroidea

Oberkotter y Rasmussen (1992) señalan que en ratas, un estado de stress produce una inhibición en la síntesis de hormonas, dado un elevado nivel de corticoides. Ellos inhiben vía pituitaria la secreción de tirotropina, supimiendo la conversión de T3 a partir de T4.

La exposición al frío resulta ser un excelente estímulo para la secreción de TSH (Guyton,1994). En ratas se ha podido observar un aumento de la deiodinación de tiroxina en tejidos, a la vez que aumenta su excreción vía fecal (Balsam y Leppo, 1974) También se observa que las altitudes provocan una rápida conversión de T4 a T3, con una consecuente elevación de ambas hormonas a nivel plasmático (Sarne y Degroot, 1989).

3.7.5.-Estado fisiológico y hormonas tiroideas

3.7.5.1.- Preñez: En humanos, bovinos y otras especies se ha podido constatar que durante el último tercio de la gestación, las hormonas tiroideas presentan concentraciones mayores a los valores habituales (Heitzman y Mallinson, 1972; Hart y col, 1978; Weeke y Dybjaer 1983). Medeiros-Neto (1989) atribuye esta situación a un aumento de TBG, asociado al alza de estrógenos que se produce en la gestación. También se señala que los niveles de TBG bajan gradualmente después del parto, llegando a normalizarse alrededor de la octava semana (Dowling y col, 1967).

3.7.5.2.- Lactancia: Las primeras asociaciones entre niveles productivos y actividad tiroidea las describe Hertoghe (1896), cuyo efecto se traducía en un aumento de la cantidad de leche por ordeña. Blaxter (1952) indica que la respuesta productiva de vacas ante un aumento de hormonas tiroideas en la dieta es creciente hasta la 3° o 4° lactancia, para disminuir su eficiencia a partir de ese momento. Vanjonack y Johnson (1975) añaden que existe una relación inversa entre la cantidad de litros producidos por el animal y la concentración de hormonas tiroideas circulantes. Por otra parte, razas pequeñas responden mejor ante un estímulo tiroideo que vacas de razas más grandes, independientemente del peso de las mismas, no existiendo mayores diferencias entre razas de carne y de leche. Más recientemente se ha logrado establecer en ratas y humanos que la lactancia en sí produce un cierto nivel de hipotiroidismo (Lorscheider y Reineke, 1971; Strbak y col, 1978; Pukuda y col, 1980). La mayoría de los estudios en vacas lactantes se centran en la determinación de niveles plasmáticos de T4, existiendo escasa información acerca del comportamiento de T3. Al inicio de la lactancia en vacas las concentraciones plasmáticas de T4 están disminuidas (Mixner y col, 1962; Heitzman y Mallinson, 1972; Thilstead, 1985). Esta situación se podría atribuir al aporte insuficiente de energía a los tejidos no mamarios, como respuesta al elevado consumo energético que implica la síntesis de los diferentes componentes lácteos (Riis y Madsen, 1985). Las investigaciones de Mixner y col (1962) en ganado lechero, añaden que existe una mayor producción de tiroxina en la estación estival, obteniéndose los menores valores durante los meses de otoño.

3.8.-MAGNESIO Y SU RELACIÓN CON REBAÑOS LECHEROS EN EL SUR DE CHILE

En bovinos lecheros de alta producción, se produce un balance energético negativo al inicio de la lactancia, producto de una disminución fisiológica del apetito en las primeras semanas post-parto (Contreras, 1993).

En el sur del país destaca el elevado número de vacas hipomagnesémicas (Wittwer y col, 1987; Contreras y col, 1996). Es así como a partir de un estudio realizado por Wittwer y col (1993) en la zona sur del país, se observó que los casos de hipomagnesemia se producen en vacas de cualquier edad. También se pudo constatar que este estado bioquímico puede ocurrir a lo largo de todo el año, pero que se manifiesta con mayor intensidad durante los dos

primeros meses post-parto. En el norte de Irlanda se observó que la mayor incidencia de hipomagnesemia en vacas de rebaños tanto lecheras como crianceros coincidían con el momento máximo de la lactancia (Me Coy y col, 1993).

3.9.-MAGNESIO Y SU RELACION CON LA ACTIVIDAD TIROIDEA

Basados en numerosos estudios, Csehicol. (1993) establecen que a nivel bioquímico las diversas funciones del Mg se pueden clasificar en tres categorías: cofactor de enzimas; ensamblaje de subunidades proteicas; estabilizante de membranas biológicas.

Se ha visto que un aumento de la actividad tiroidea disminuye la concentración plasmática de Mg. Georgievskii (1982) señala que esta situación podría deberse a una menor producción de tironina o a un aumento de la producción de tirocalcitona.

Heaton y Humphrey (1974) indican que, en ratas, existe una correlación positiva entre la concentración sérica de Mg y su rango de yodo unido a proteínas/ yodo sérico total.

Por otra parte, la secreción tiroidea está mediada por AMPc, jugando un rol como segundo mensajero (Gilman, 1968; Tonoue y col, 1969), y se ha demostrado que el magnesio activa la unión a nivel de membrana del sistema adenilato ciclasa, in vitro (Wolff y Jones, 1971, Kahn, 1989).

3.10.- Mg SERICO Y ACTIVIDAD DE LA GLANDULA TIROIDES EN BOVINOS

Mulei y Daniel (1988) son unos de los pocos investigadores que han trabajado relacionando niveles séricos de Mg a la actividad de la glándula tiroides en bovinos. Ellos toman la información de Wolff y Jones (1977) y los estudios de Heaton y Humphrey (1974), en que atribuyen un rol al Mg en el transporte de yodo al interior de la glándula tiroides. El trabajo de Mulei y Daniel (1988) trató de establecer entonces, la relación del metabolismo y los niveles de Mg plasmático en un grupo de siete terneros machos, provenientes de rebaños lecheras, de 1-2 semanas de edad, los que se dividieron en dos grupos, sometiendo artificialmente a uno de ellos a una hipomagnesemia mediante manipulación de la dieta. Se pudo observar que el grupo de animales hipomagnesémicos presentó concentraciones de hormona tiroidea libre significativamente inferiores a los animales normomagnesémicos.

3.11.- HIPOTESIS Y OBJETIVOS

En consideración a que en el sur del país la hipomagnesemia es una alteración bioquímica de presentación frecuente en vacas, es necesario estudiar su posible relación con la concentración de hormonas tiroideas. Debido a lo expuesto se plantea como hipótesis que: vacas con hipomagnesemia presentan valores significativamente diferentes en las concentraciones de hormonas T₃ y T₄ en comparación a vacas normomagnesémicas.

Para aceptar o rechazar la hipótesis se realiza el presente estudio, de acuerdo con los objetivos señalados a continuación:

A) Medir las concentraciones plasmáticas de Triyodotironina (T₃) y Tiroxina (T₄) en vacas hipomagnesémicas y normomagnesémicas.

B) Comparar las concentraciones de hormonas tiroideas (T₃ y T₄) en vacas hipomagnesémicas y normomagnesémicas al final de la gestación y al inicio de la lactancia.

4. MATERIAL Y METODO

4.1.- MATERIAL

4.1.1.- Predios seleccionados

A partir de los predios que solicitaron el servicio de Perfil Metabólico al Laboratorio de Patología Clínica de la Universidad Austral de Chile, se seleccionaron aquellos que presentaban animales con hipomagnesemia en vacas lecheras al final de la gestación y al inicio de la lactancia.

4.1.2.- Animales seleccionados

De los predios en estudio se seleccionaron las muestras de plasma de vacas que presentaban concentraciones de magnesio (Mg) inferiores a 0.65 mmol/l, lo cual indicaba hipomagnesemia. Simultáneamente se seleccionaba un número similar de vacas con normomagnesemia (niveles de Mg superiores a 0.65 mmol/l) en los mismos grupos de animales. Finalmente se conformaron los siguientes grupos de hembras bovinas para efectuar la medición de hormonas tiroideas:

- 25 vacas en lactancia con hipomagnesemia
- 25 vacas en lactancia con normomagnesemia
- 25 vacas gestantes con hipomagnesemia
- 25 vacas gestantes con normomagnesemia

4.1.3.- Muestras

Las muestras de sangre de las vacas fueron obtenidas, para realizar el test de perfiles metabólicos, por punción yugular o coccígea en tubos que contenían anticoagulante (heparina en dosis de 10-15 U.I. por ml). Tras una centrifugación a 2500 rpm, por 5 minutos, se realizó el test de Perfil Metabólico, determinándose la concentración de magnesio por espectrofotometría de absorción atómica. Obtenidos los resultados se seleccionaron las muestras que fueron utilizadas para la medición de las hormonas Triyodotironina (T_3) y Tiroxina (T_4). Para este efecto, el plasma se almacenó a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ hasta el análisis correspondiente.

4.2. METODO.

4.2.1.- Determinación de la concentración de Triyodotironina y Tiroxina.

Las concentraciones de Triyodotironina (T_3) y Tiroxina (T_4) fueron medidas por radioinmunoensayo, utilizando un set de diagnóstico específico para cada hormona, Coat-a-Count® Total T_3 para Triyodotironina, y Coat-a-Count® Total T_4 para Tiroxina (Diagnostic Products Corporation, DPC®).

4.2.2.-Principio del procedimiento.

La medición de T_3 y T_4 fue realizada mediante radioinmunoensayo de fase sólida. En éste, hormonas marcadas con yodo radioactivo (I_{125}) compiten con la hormona presente en la muestra por sitios de unión a anticuerpos presentes en una película sólida que recubre los tubos utilizados en el ensayo. Al mismo tiempo, agentes bloqueadores liberan la tracción de hormona que se encuentre unida a proteínas transportadoras. Esto permite cuantificar prácticamente la totalidad de hormona presente en la muestra. Más tarde, al decantar la fase líquida del tubo, se mide en un contador gama la radioactividad emitida por la hormona marcada. Mientras más hormona contenga la muestra problema, existe menos radioactividad, ya que saturan rápidamente los sitios de unión.

4.2.3.- Procedimiento

Para medir ambas hormonas, las muestras controles y problema fueron llevadas previamente a temperatura ambiente, para ser luego agitadas.

En el caso de T_3 , se tomaron dos tubos del set diagnóstico (12x75mm) no recubiertos con anticuerpos y se rotularon con la letra T, para medir las cuentas totales.

De los tubos de propylen recubiertos con anticuerpos para T_3 se rotularon 12 tubos con letras A-F, en duplicado. Estos tubos correspondían a calibradores, a los cuales se les añadiría sueros humanos de concentración hormonal conocida. Los tubos A representaron la máxima unión de la hormona. También se identificaron 6 tubos como LAB, que representaban las muestras controles, y se numeraron los 120 tubos que correspondían a las muestras problema.

Se procedió a agregar 100 μ l del calibrador cero al tubo A, y 100 μ l de cada calibrador a los tubos B-F correspondientes. Los tubos rotulados LAB recibieron 100 μ l de muestra control, en tanto que 100 μ l de plasma de las muestras problema fueron pipeteados a los tubos numerados. A continuación, se agregó 1.0 ml de I_{125} Total T_3 , volteándose cada tubo cuidadosamente un par de veces para homogeneizar el contenido.

Los tubos se incubaron durante 120 minutos a 37°C en un baño temperado.

Para efectuar la medición de T_4 , se tomaron tubos contenidos en el set de medición específico para la hormona (los tubos recubiertos tenían ahora anticuerpos específicos para T_4). También se rotularon 2 tubos T, 12 tubos A-F, 6 tubos LAB y 120 tubos problema.

Luego se pipeteó 25 μ l de cada calibrador, muestra control y problema a los tubos correspondientes. Se añadió a continuación 1 ml de I_{125} Total T_4 a cada tubo, invirtiéndolos un par de veces para mezclar adecuadamente los componentes.

El período de incubación en este caso fue de 60 minutos a 37°C en baño temperado.

Pasado el período de incubación de ambas hormonas, se midió en un contador gamma los tubos T (sin vertir el contenido). Al resto de los tubos se les eliminó el contenido, decantando sobre papel absorbente para eliminar la máxima humedad posible. Luego, cada tubo fue llevado a un contador gamma, donde se midió la cantidad de cuentas de radiactividad que presentaba el tubo. El instrumento estaba calibrado para captar radioactividad en un lapso de 50 seg.

Para obtener el porcentaje de unión, el procedimiento fue simular para ambas hormonas. Se calculó el promedio de cuentas obtenidas en los tubos en duplicado. El resultado proveniente de los tubos A representó el 100% de unión, obteniéndose por equivalencia el porcentaje de los restantes tubos, tanto calibradores como aquellos en estudio.

Ej: T_3

Promedio tubos A= 9025 cuentas / min = 100% unión

Promedio tubos B= 7908 cuentas / min = X

X= 87.2 %

Dado que los seis calibradores poseían una concentración predeterminada de T_3 o T_4 , según el caso, se obtuvo directamente su equivalencia en nmol/l. De esta forma, llevando los porcentajes de unión y los nmol/l de hormona correspondientes a papel logarítmico, fue posible trazar una recta de mejor ajuste. Esta constituyó el patrón para determinar las concentraciones en nmol/l de los tubos LAB y problema a partir de los respectivos porcentajes de unión.

Cabe destacar que el kit comercial de radioinmunoensayo empleado en este estudio es un producto ampliamente probado. La exactitud de la técnica no fue determinada, dado que no se disponía de sueros controles pertenecientes al set de diagnóstico. Por otra parte, la precisión del ensayo fue de 6.8% para T_3 , y 6.12% para T_4 .

4.2.4.- Análisis estadístico

Para poder realizar un análisis estadístico acorde a los objetivos previamente establecidos, se procedió a agrupar los datos, quedando de la siguiente forma:

Lactantes hipomagnesémicas y Gestantes hipomagnesémicas : Grupo Hipomagnesémicas

Lactantes normomagnesémicas y gestantes normomagnesémicas: Grupo Normomagnesémicas

Lactantes normomagnesémicas y lactantes hipomagnesémicas : Grupo Lactantes

Gestantes hipomagnesémicas y gestantes normomagnesémicas : Grupo Gestantes

También se consideraron para efectos de análisis los grupos de vacas lactantes hipo y normomagnesémicas, así como las gestantes hipo y normomagnesémicas por separado.

Para determinar si los datos se distribuían dentro de una curva normal se aplicó el test de Kolmogorov-Smirnov. Una vez agrupados, los datos se expresaron como promedios \pm DE (desviación standart). Para establecer la homocedasticidad de las variables se hizo uso de la prueba F, y la significancia estadística de diferencias entre las medias individuales de los grupos en estudio fue establecida por el test de Student, considerándose como significativo un valor de $P < 0,05$. El grado de asociación entre los valores de cada hormona y de magnesio se determinó mediante el cálculo de valor de correlación y ecuación de regresión lineal, así como su significancia, con un intervalo de confianza de 95%. Todo el proceso se realizó mediante el uso del programa computacional Graph-Pad-Prism, versión 2.0, 1995.

5. RESULTADOS

Los valores promedios de Triyodotironina (T₃) y Tiroxina (T₄), junto a las respectivas desviaciones standart en vacas hipomagnesémicas y normomagnesémicas, se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1: Valores promedios (± D.E.) de Magnesio (Mg), Triyodotironina (T₃) y Tiroxina (T₄) en vacas normo e hipomagnesémicas.

Grupo	n	Mg (mmol/l)	T3 (nmol/l)	T4 (nmol/l)
Vacas Normomagnesémicas	49	0.85 ±0.13	1.53 ±0.42	42.20± 12.30
Vacas Hipomagnesémicas	50	0.54 ±0.11	1.49 ±0.44	41.22 ± 12.58
<i>Valores de referencia</i>		<i>0.65 - 1.14</i>	<i>0.80 - 1.90</i>	<i>57.00 - 119.00</i>

Al comparar los grupos de animales según su estado de magnesemia, se puede constatar que ambas hormonas (Triyodotironina y Tiroxina) presentan valores plasmáticos promedios mayores en el grupo de vacas normomagnesémicas que hipomagnesémicas; sin embargo, las diferencias no fueron estadísticamente significativas (P> 0.05).

El hecho que el grupo normomagnesémico contenga un animal menos que el hipomagnesémico está dado por la eliminación de la muestra correspondiente al perfil No 90696-7, el cual presenta una concentración de Mg correspondiente a una hipermagnesemia.

En el Gráfico 1 se presenta, por medio de análisis correlacional y de regresión lineal, el grado de asociación entre los valores plasmáticos de Triyodotironma (T_3) y Magnesio (Mg), en vacas con distinto estado de magnesemia.

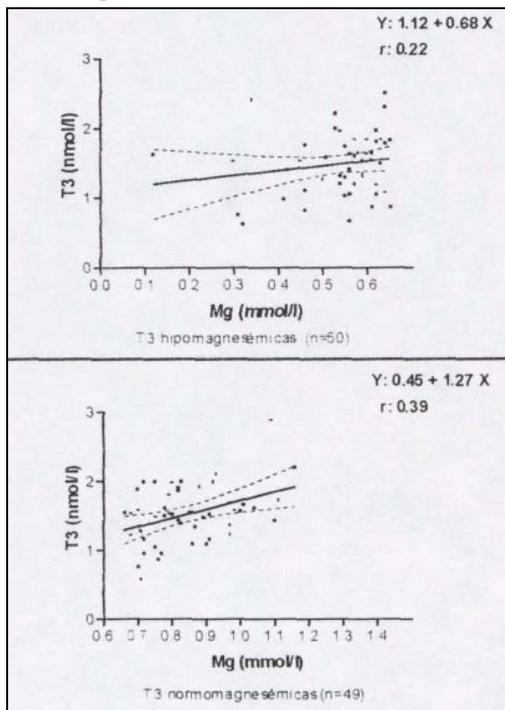


Gráfico 1: Rectas de regresión, ecuaciones de regresión y correlaciones entre los valores plasmáticos de Triyodotironina (T_3) y magnesio (Mg) en vacas hipo y normomagnesémicas. Las líneas punteadas señalan el intervalo de confianza de 95%.

En este diagrama se puede observar una gran dispersión de los valores de T_3 , tomando en ambos grupos de animales una tendencia ligeramente positiva. Los datos tienden a agruparse alrededor de los 0.5 - 0.65 mmol/l de Mg en vacas hipomagnesémicas, en tanto que en el grupo de vacas con magnesio normal, la mayor cantidad de datos se observan entre los 0.65 - 1.0 mmol/l. El valor de correlación señala que existe asociación significativamente estadística entre los valores de Mg y T_3 de vacas normomagnesémicas ($P < 0.05$).

Del mismo modo, tanto la recta como la ecuación de regresión lineal muestran una pendiente positiva y significativa en el grupo normomagnesémico ($P < 0.05$). Al desviarse la recta significativamente de cero ($P < 0.05$), constituye la regresión lineal un muy buen predictor del comportamiento de T_3 frente a un cambio en el nivel de Mg. El intervalo de confianza se estrecha a la recta de regresión en la zona cercana a la media, donde también existe mayor cantidad de valores de hormona.

En el Gráfico 2 se presenta la asociación entre los valores de Tiroxina (T_4) y magnesio en vacas con hipo y normomagnesemia.

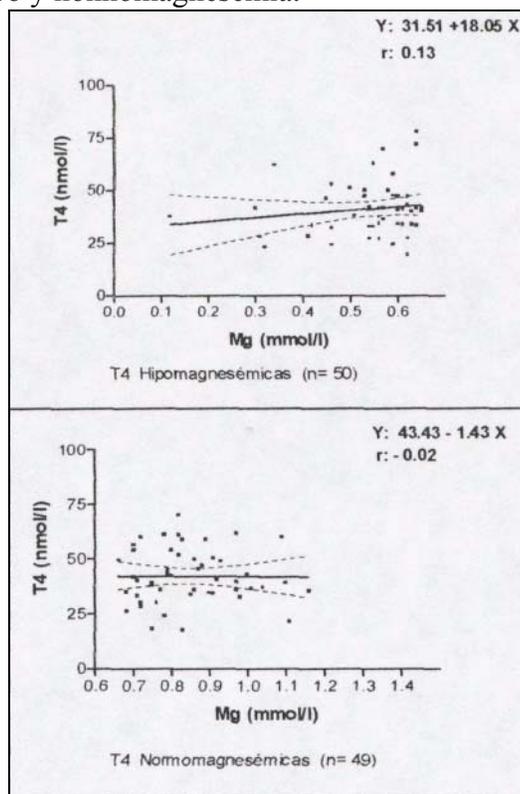


Gráfico 2: Rectas de regresión, ecuaciones de regresión y correlaciones entre los valores plasmáticos de Tiroxina (T_4) y magnesio (Mg) en vacas hipo y normomagnesémicas. Las líneas punteadas señalan un intervalo de confianza de 95%.

En este gráfico se puede observar que existe una gran dispersión de los valores de T_4 en ambos grupos de animales, siendo de mayor amplitud en el grupo normomagnesémico. La mayor cantidad de datos en el grupo hipomagnesémico se ubica a niveles de 0.5 - 0.65 mmol/l de Mg, en tanto que para el grupo normomagnesémico se encuentra entre 0.65 - 1.0 mmol/l. La recta de regresión lineal de T_4 para animales hipomagnesémicos señala una tendencia positiva. Sin embargo, en las normomagnesémicas esta tendencia es negativa, no existiendo significancia estadística en ninguno de los dos casos, situación semejante en las correlaciones observadas ($P > 0.05$).

En el Cuadro 2 se presentan los valores promedios de Triyodotironina (T₃) y Tiroxina (T₄) de vacas, en consideración a su estado fisiológico.

Cuadro 2: Valores promedios (± D.E.) de Triyodotironina (T₃) y Tiroxina (T₄) en vacas al inicio de la lactancia y en gestación.

Grupo	n	T₃ nmol/l	T₄ nmol/l
Vacas Lactantes	49	1.65 ± 0.42 ^a	42.21 ± 12.73
Vacas Gestantes	50	1.37 ± 0.39 ^b	41.23 ± 12.15
<i>Valores de referencia</i>		<i>0.80 - 1.90</i>	<i>57- 129</i>

letras distintas en la columna señalan diferencias significativas entre las medias (p<0.05)

El grupo de vacas al inicio de la lactancia muestra valores promedios mayores, tanto de T₃ como de T₄, respecto al grupo de vacas en gestación. La diferencia entre las medias de Triyodotironina (T₃) en estos grupos es estadísticamente significativa (P<0.05).

En el Gráfico 3 se presenta la asociación entre los valores de magnesio (Mg) y su correspondiente nivel de Triyodotironina (T_3), expresada como correlación, así como la capacidad predictiva de esta relación, dada por regresión lineal en vacas con distinto estado fisiológico.

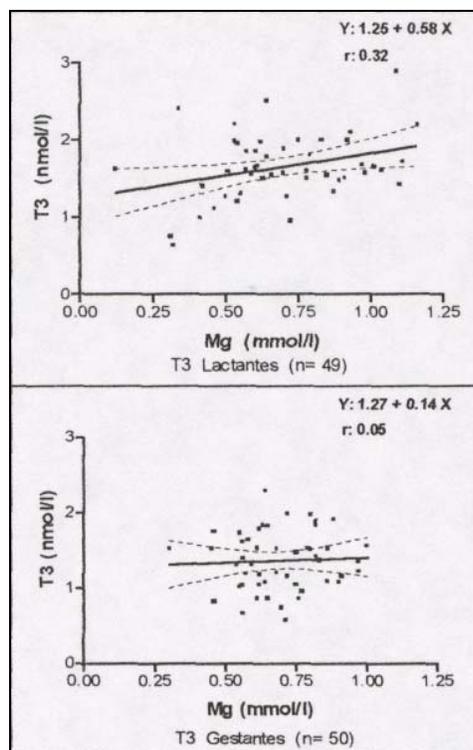


Gráfico 3: Rectas de regresión, ecuaciones de regresión y correlaciones entre los valores plasmáticos de Triyodotironina (T_3) y magnesio (Mg) en vacas al inicio de la lactancia y en gestación. Las líneas punteadas señalan un intervalo de confianza del 95%.

En este gráfico se observa que existe una asociación en dirección positiva entre los valores de T_3 y de Mg en vacas lactantes, dados por un coeficiente de correlación estadísticamente significativo ($P < 0.05$). Esto significa que al aumentar los valores de Mg, también se incrementan los de T_3 .

La ecuación de regresión lineal (Y) presenta una pendiente mayor en el grupo lactante, presentando una desviación significativa desde cero ($P < 0.05$), lo cual señala que este parámetro es un buen predictor para determinar comportamiento de T_3 al variar los valores de Mg. Por su parte, las líneas correspondientes al intervalo de confianza se separan de la recta de regresión a medida que los datos se alejan de la media, permaneciendo más cercanas a la recta de regresión en vacas lactantes.

En el Gráfico 4 se presentan las asociaciones existentes entre cada valor de magnesio (Mg) y su correspondiente valor de Tiroxina (T_4), expresadas a través de correlación, así como el grado de predicción para dicha relación, dada por regresión lineal en vacas con distinto estado fisiológico.

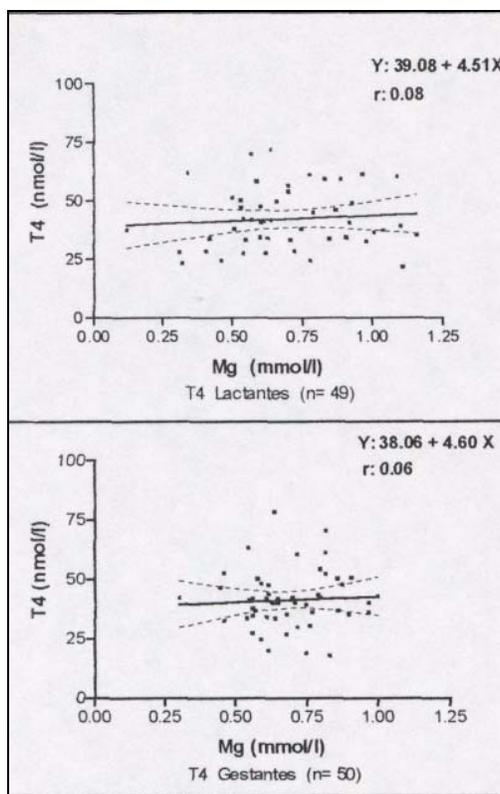
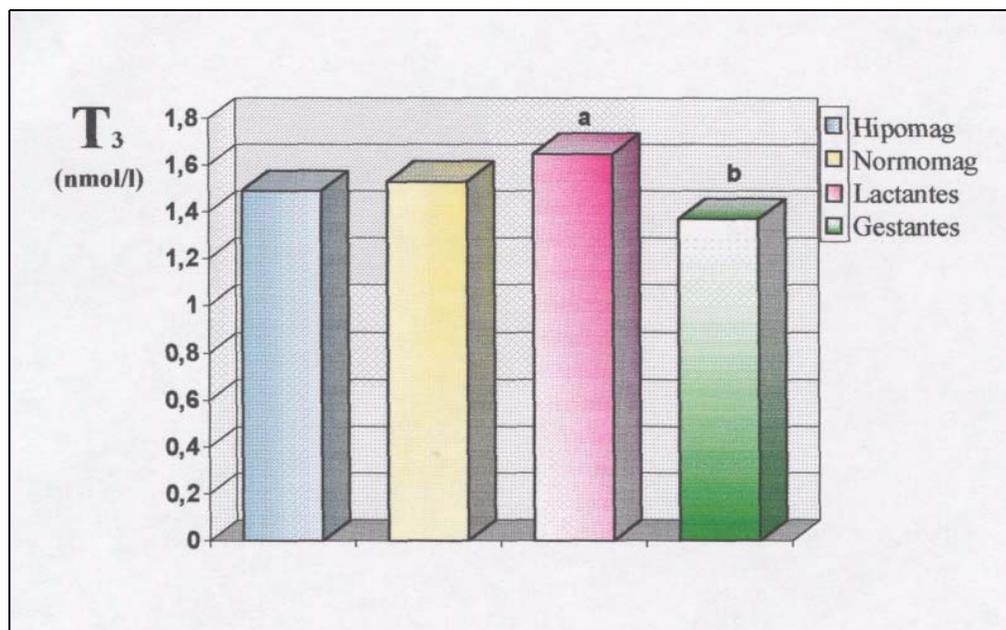


Gráfico 4: Rectas de regresión, ecuaciones de regresión y correlaciones entre los valores plasmáticos de Tiroxina (T_4) y magnesio (Mg) en vacas al inicio de la lactancia y en gestación. Las líneas punteadas señalan un intervalo de confianza de 95%.

La dispersión de puntos es amplia y elíptica en el grupo lactante, y más circular en el gestante, siendo ambas bastante aleatorias para describir una tendencia direccional. Por su parte, el coeficiente de regresión es muy bajo en ambos grupos, negativo en el grupo de vacas lactantes, y positivo en las gestantes, no existiendo correlación significativa ($P > 0.05$). Por lo tanto, la regresión lineal es un muy mal predictor de los valores que tendrá T_4 al variar los valores de Mg, ya que no hubo significación estadística ($P > 0.05$).

En el Gráfico 5 se presentan las concentraciones promedio de Triyodotironina (T_3) en vacas con distinto estado magnesémico y fisiológico.



letras distintas en las columnas señalan diferencias significativas entre las medias ($P < 0.05$)

Gráfico 5: Valores plasmáticos promedio de Triyodotironina (T_3) en vacas hipomagnesémicas (n=50), normomagnesémicas (n=49), lactantes (n=49) y gestantes (n=50).

La mayor concentración alcanzada pertenece al grupo lactante, en tanto que el grupo de vacas en gestación presenta las concentraciones de hormonas más bajas. Los animales normomagnesémicos poseen una media hormonal ligeramente superior a los hipomagnesémicos. La magnitud de la diferencia entre vacas lactantes y gestantes fue significativa ($P < 0.05$). Al comparar las medias de vacas hipo y normomagnesémicas, no se observan diferencias significativas ($P > 0.05$)

En el Gráfico 6 se presentan las concentraciones plasmáticas promedio de Tiroxina (T_4) en grupos de vacas hipomagnesémicas, normomagnesémicas, lactantes y gestantes.

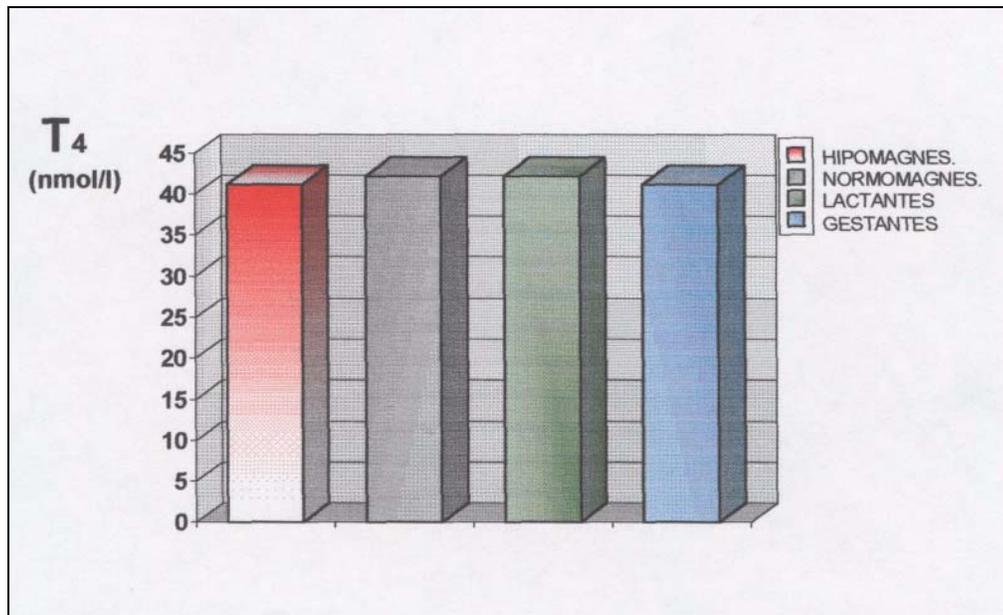


Gráfico 6: Valores promedio de Tiroxina (T_4) en grupos de vacas hipomagnesémicas (n=50), normomagnesémicas (n=49), lactantes (n=49) y gestantes (n=50).

En este histograma se puede apreciar que los promedios de las concentraciones de T_4 prácticamente no varían en los distintos grupos de vacas, siendo las magnitudes de dichas diferencias muy pequeñas como para ser consideradas estadísticamente significativas ($P > 0.05$)

En el Cuadro 3 se presentan los valores promedios de Triyodotironina (T₃) y Tiroxina (T₄) de grupos de vacas con distinta magnesemia y estado fisiológico.

Cuadro 3: Valores promedios (± D.E.) de Triyodotironina (T₃) y Tiroxina (T₄) en grupos de vacas lactantes hipo y normomagnesémicas, y gestantes hipo y normomagnesémicas.

Grupo	n	T₃ (nmol/l) X ± D.E.	T₄ (nmol/l) X ± D.E.
Lact. hipomag.	25	1.60 ±0.46	41.34 ± 13.40
Lact. normomag.	24	1.70 ±0.38	43.13 ± 12.21
Gest. hipomag.	25	1.37 ±0.39	41.11 ± 11.97
Gest. normomag.	25	1.36 ±0.38	41.35 ± 12.57
<i>Valores de referencia</i>		<i>0.8 - 1. 9 nmol/l</i>	<i>57 - 129 nmol/l</i>

El grupo lactante normomagnesémico muestra los niveles más elevados de ambas hormonas tiroideas respecto a los demás grupos en estudio. Por su parte, los animales gestantes normomagnesémicos presentan los mínimos valores promedio de T₃, en tanto que para T₄ esta situación se manifiesta en el grupo de vacas gestantes hipomagnesémicas. Sin embargo, éstas no presentan significancia estadística (P>0.05).

Las regresiones y correlaciones de estos grupos no presentaron significancia estadística (Anexo 8.2).

En el Gráfico 7 se presentan los valores promedios de Triyodotironina (T_3) para grupos de vacas lactantes hipo y normomagnesémicas, así como para las gestantes hipo y normomagnesémicas.

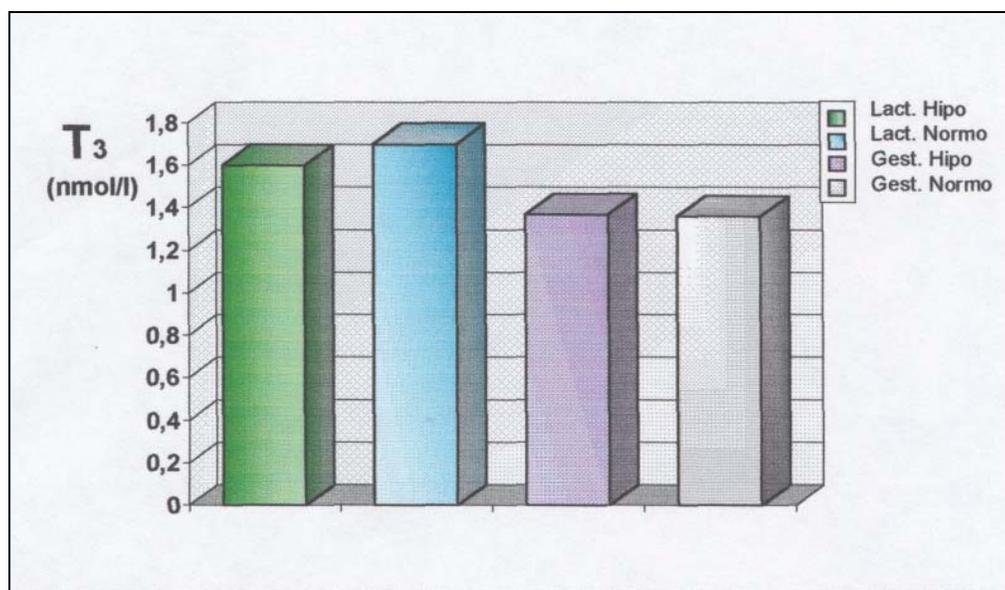


Gráfico 7: Valores promedios de las concentraciones de Triyodotironina (T_3) en vacas lactantes hipomagnesémicas (n=25), lactantes normomagnesémicas (n= 24), gestantes hipomagnesémicas (n=25) y gestantes normomagnesémicas (n=25).

En este histograma se observa que a media más alta corresponde al grupo lactante con magnesemia normal, en tanto que la mínima se observa en el grupo gestante normomagnesémico. Los grupos lactantes alcanzan niveles de hormona superiores a los gestantes. Sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas ($P>0.05$). Es importante resaltar el parecido con el Gráfico 5, pero en este último se consideró animales lactantes y gestantes en su totalidad (normo e hipomagnesémicos). El presente gráfico desglosa a cada período fisiológico en grupos hipo y normomagnesémicos, comparando luego las medias de grupos con diferente magnesemia, para cada período fisiológico.

En el Gráfico 8 se presentan los valores promedios de Tiroxina (T_4) para vacas lactantes hipo y normomagnesémicas.

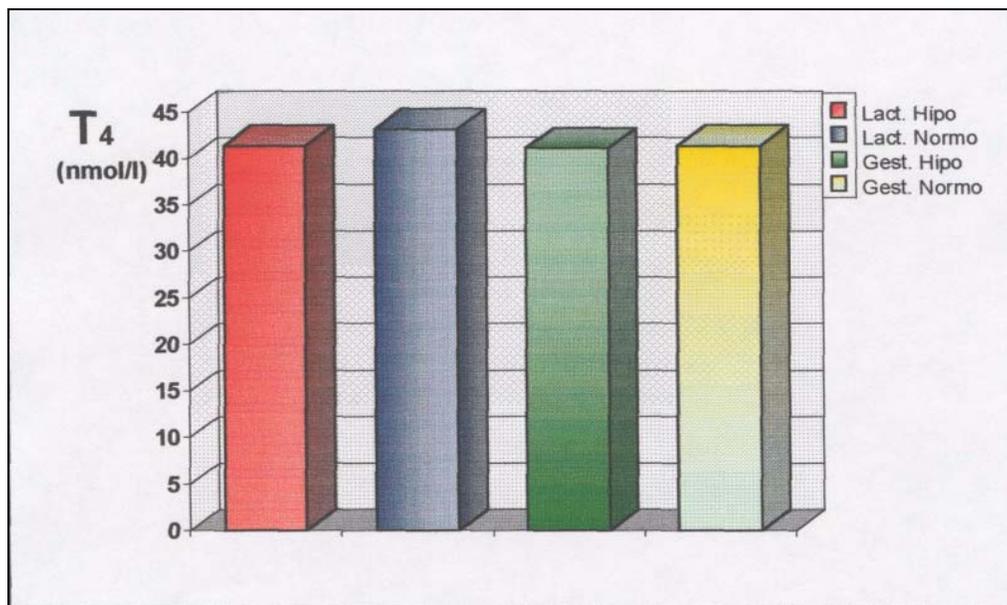


Gráfico 8: Valores promedios de Tiroxina (T_4) en grupos de vacas lactantes hipomagnesémicas (n=25), lactantes normomagnesémicas (n=24), gestantes hipomagnesémicas (n=25) y gestantes con niveles de magnesio normal (n=25).

En este gráfico se observa que todos los grupos tienen niveles promedios similares de Tiroxina, siendo las diferencias existentes no significativas desde el punto de vista estadístico ($P > 0.05$)

6. DISCUSION

6.1.- NIVELES DE HORMONAS TIROIDEAS

Los niveles de Tiroxina (T_4) promedio de 80.5 ± 26.12 nmol/l, dados por Reap y Hightower (1978) para bovinos, al igual que los entregados por Burton (1992) para la técnica de radioinmunoensayo empleado (57-119 nmol/l), son sustancialmente más elevados que los observados en este trabajo (Cuadros 1, 2 y 3). Por su parte, los promedios de Triyodotironina (T_3) se mantuvieron siempre dentro de los rangos de referencia.

Sin duda que el metabolismo tiroideo es un área de la endocrinología veterinaria poco estudiada. Nikolic y col (1997) describen concentraciones marcadamente disminuidas de T_4 y un comportamiento variable de T_3 , en vacas aparentemente eutiroideas al inicio de la lactancia, independientemente del balance energético en el animal. Los resultados obtenidos en este estudio son coincidentes con los del investigador, si se considera que los niveles plasmáticos de T_4 estuvieron deprimidos tanto en vacas gestantes como en aquellas al inicio de la lactancia. Considerando la poca información existente en bovinos del continente sudamericano, cabe la posibilidad de que los valores de T_4 pudieran ser las concentraciones adecuadas para las razas, ambiente y manejo de la zona, y que junto a nuevos estudios se llegara a determinar un rango de referencia distinto a los ya existentes. Sin embargo, para poder llegar a esta conclusión es necesario tomar mayores grupos de animales, verificando que las bajas concentraciones de T_4 no causen alteraciones del metabolismo ni en el comportamiento fisiológico normal de los individuos. Por lo tanto, en base a los rangos de referencia actualmente existentes para hormonas tiroideas bovinas, las concentraciones de T_4 estarían muy disminuidas, no así en el caso de T_3 .

Dentro de las múltiples patologías que se presentan en el tiroides, Pineda (1984) describe cuadros con concentraciones de hormonas tiroideas similares a las encontradas en este trabajo, clasificando a los individuos como hipotiroideos subclínicos, ya que la hormona T_4 se encuentra disminuida, pero no así T_3 . En este sentido, si se considera sólo la relación de hormonas tiroideas a nivel plasmático, podría plantearse que las vacas de lechería utilizadas en este estudio son animales, que al menos en promedio, presentan un hipotiroidismo subclínico. En consecuencia, al ser Triyodotironina la triayor responsable de las funciones del tiroides a nivel celular, clínicamente no existen indicios de una afección glandular (Pineda, 1984, Pineda, 1989), hecho que en este trabajo no puede aseverarse, dado que no existió un examen clínico general de los animales empleados, sino que se midieron concentraciones de hormonas tiroideas en muestras sanguíneas traídas al laboratorio. Por otra parte, se observan concentraciones sanguíneas disminuidas de T_3 libre y TSH aumentada, en individuos con un hipotiroidismo de tipo subclínico (Silva, 1985, Boyages, 1993). Estas hormonas no fueron cuantificadas en el presente trabajo, y a pesar que los datos de las

concentraciones totales de hormonas tiroideas observadas son una importante señal del hipotiroidismo subclínico, sería útil considerarlas para futuros estudios en esta línea de trabajo.

Las causas que pueden llevar a un hipotiroidismo subclínico son múltiples. Entre otras se señalan secuelas a tratamientos prolongados con radioyodo en cuadros de tirotoxicosis y deficiencias de yodo. Según Sarne y Degroot (1989), estas pueden ser primarias por bajo contenido del mineral en la ingesta, por consumo de tiocianatos e isotiocianatos que inhiben la captación de yodo (presente en las crucíferas), la ingesta de maíz o papas que contienen agentes bociógenos (glucósidos cianogénicos). Estos datos son importantes, ya que la dieta de vacas lecheras en el sur de Chile contempla el uso de raps en concentrados, y coles forrajeras, las cuales pertenecen a la familia de las crucíferas. Por su parte, el maíz es ampliamente usado, tanto el grano como ingrediente de concentrados como la planta completa (en ensilaje, por ejemplo). También se han encontrado deficiencias parciales de enzimas que participan en la síntesis y deiodinación de las yodotironinas, con un importante factor genético de por medio (Silva, 1985).

Boyages (1993) afirma que lo más común en seres humanos es la deficiencia marginal de yodo, lo cual da tiempo al tiroides para modificar su actividad. En un principio, las menores concentraciones de hormonas tiroideas estimulan TSH, y este a su vez a los folículos tiroideos. Por otra parte, se incrementa la reabsorción de yodo a nivel renal. El tiroides, en un intento por maximizar el uso del poco yodo existente, produce más MIT (Monoyodotirosina) que DIT (Diyodotirosina). Esto se traduce en una mayor formación de T_3 respecto a T_4 . Debe tenerse presente, sin embargo, que la glándula tiroides está con una gran recarga metabólica. Si se presenta algún otro desajuste, la capacidad de compensación por parte de la glándula se agota, y necesariamente se presentan cuadros clínicos de hipotiroidismo, acompañados de bocio (Silva, 1985). En este estudio, el aspecto clínico del desajuste hormonal no fue considerado, dado en parte por el hecho que el desequilibrio entre las concentraciones de T_3 y T_4 fue un hallazgo dentro del trabajo, y no el objetivo central del mismo.

Wemheuer (1993) indica que vacas de alta producción lechera los requerimientos de yodo en el organismo son mayores a medida que se incrementa la cantidad de leche producida. Sin embargo, no se puede aseverar a partir de este estudio que la causa de las bajas concentraciones de Tiroxina observadas se deban a una deficiencia de yodo. Sería necesario tener más información acerca de los niveles de TSH, clearance de yodo y T_3 .

Es importante destacar que en el sur de Chile existen deficiencias de otros minerales que interactúan en el metabolismo tiroideo junto al yodo. Tal es el caso del Selenio (Se), del cual se sabe que ayuda en el proceso de oxidación del yodo al interior del folículo (Sarne y Degroot, 1989), así como a nivel de la 3,5, 3' deiodinasa, que convierte T_4 a T_3 (Wichtel y col, 1996). Se sabe que las praderas son deficitarias en este elemento, con contenidos de 0.113 ± 0.053 ppm, con un rango de 0.061 - 0.213 ppm. Se observó además que 6 de 10 muestras presentaban valores bajo 0.100 ppm, nivel considerado como la concentración

mínima requerida en forrajes destinados a bovinos a pastoreo (Wittwer y col, 1997), y si bien este aspecto no fue abordado en este estudio, es un factor a tomar en cuenta al momento de realizar investigaciones futuras en animales de la región.

6.2.- MAGNESEMIA

El magnesio, dentro de sus funciones, participa como cofactor de diversos sistemas enzimáticos (Georgievskii, 1982). A nivel del folículo tiroideo está presente en el sistema adenilato ciclasa, y se describe un efecto estimulante de este sistema in vitro, favoreciendo la acción de TSH (Wolff y Jones, 1971). El trabajo de Mulei y Daniel (1988) se basa parcialmente en esta información, pero no logran establecer diferencias significativas entre las concentraciones de hormonas tiroideas de terneros normomagnesémicos ($n=3$) y de aquellos sometidos a una hipomagnesemia inducida por manipulación de la dieta ($n=4$). En este estudio tampoco se encontraron diferencias significativas entre vacas normo e hipomagnesémicas (Cuadro 1), debiendo considerarse que se utilizó un número mayor de animales ($n=50$ por grupo), todos adultos, y con hipomagnesemias de presentación natural. Sin embargo, Mulei y Daniel (1988) encontraron diferencias significativas entre los dos grupos de terneros al considerar el índice de tiroxina libre (FT₄ I). Lamentablemente, el set de radioinmunoensayo empleado en este trabajo mide la concentración total de hormona circulante, y por lo tanto, no permite determinar tiroxina libre como tal, o la cantidad de T₃ que se une a proteínas transportadoras (dato necesario para calcular el índice).

Resulta particularmente interesante en este ensayo que las concentraciones de T₄ estén bajo los rangos de referencia dados, y no así los de T₃ (Cuadro 1, 3). Se puede observar una correlación positiva entre T₃ y Mg en vacas lactantes normomagnesémicas ($r=0.39$, $P<0.05$) (Gráfico 1). A pesar que en el mismo grupo de vacas no existe una asociación significativa entre T₄ y Mg ($P>0.05$ Gráfico 2), se observa una débil tendencia negativa. Si bien este resultado tiene poca o nula importancia desde el punto de vista estadístico, es interesante asociar este hecho con las bajas concentraciones promedio experimentadas por T₄ (Cuadro 1), ya que se ha estudiado cuadros de hipotiroidismo humano, en los cuales se observa un franco aumento en los niveles de Mg sérico, añadiéndose que el hipotiroidismo también se acompaña de un aumento en la excreción de Mg vía renal transitorio (Ebel y Günther, 1980). Una situación similar se describe en ovejas, y se postula que este excedente mineral provendría de un bajo uso en la glándula tiroidea, pero que es captado por la glándula paratiroides, regulando así los niveles de Ca y de fosfatos alterados en este tipo de cuadros (Georgievskii, 1982). Sin embargo, hay que tener en cuenta que lo anteriormente señalado se basa en cuadros clínicos de hipotiroidismo, no habiendo información acerca del comportamiento del Mg en cuadros subclínicos de hipotiroidismo. En relación al grupo hipomagnesémico, no se determinó asociación entre los niveles de Mg y ambas hormonas tiroideas ($P>0.05$).

La teoría de Heaton y Humphrey (1974) sostiene que el Mg no tendría influencia determinante sobre la acumulación de AMPc dentro de la glándula, o de la formación y secreción de yodotironinas. En cambio, sí existiría una asociación del Mg con la acumulación de yodo dentro del folículo, así como del transporte del yodo en el organismo, aunque no se describe el mecanismo de interferencia en el metabolismo del yodo. La discrepancia entre este estudio y las observaciones de Heaton y Humphrey (1974) radica fundamentalmente en que tanto animales normo como hipomagnesémicos presentan niveles disminuidos de T_4 , lo cual indica una causal de modificación de la actividad tiroidea ajena a la magnesemia del animal.

A pesar de lo anteriormente expuesto, no se puede afirmar categóricamente que el Mg no incida sobre la actividad tiroidea en vacas, ya que T_4 entrega una base que pudiera estar distorsionando la realidad de una población eutiroides. Pudiera ser que la glándula esté tan sobreexigida fisiológicamente para mantener los niveles adecuados de T_3 , que ya no sea sensible a los cambios de Mg. También es posible que se requiera una hipomagnesemia más severa en un corto período de tiempo, de tal manera de no dejar posibilidad a una compensación metabólica, y obtener de esta forma un efecto más evidente en la respuesta tiroidea.

6.3.- ESTADO FISIOLÓGICO

Numerosos estudios en vacas y ovejas coinciden en que la gestación se acompaña de un aumento creciente en los niveles de T_3 y T_4 totales, alcanzando su máximo valor durante los dos últimos meses de preñez, para caer bruscamente al parto (Mixner y col, 1962; Hart y col, 1978; Rus y Madsen, 1985; Studzinsky y col, 1994). Por otra parte, los mismos autores indican que al inicio de la lactancia de vacas con elevados niveles productivos, las concentraciones de hormonas tiroideas se encuentran disminuidas. Esto, debido al déficit de energía y por el paso de hormonas a la glándula mamaria (Slebozinski, 1991).

Los resultados obtenidos en este estudio difieren con la información existente. En primer término, no se observan diferencias significativas entre los promedios de Tiroxina (T_4) de animales lactantes y gestantes con diversa magnesemia ($P < 0.05$, Gráfico 6). Lo mismo se observa al desglosar y comparar los promedios de T_4 para vacas con normo e hipomagnesemia en los períodos de lactancia y gestación ($p < 0.05$, Gráfico 8). Hay que tener presente, sin embargo, que T_4 manifiesta bajas concentraciones respecto al rango de referencia en todos los grupos, y pudiera alterar la sensibilidad de respuesta ante cambios de magnesemia o de estado fisiológico. En el caso de Triyodotironina (T_3), se aprecia una correlación positiva entre las

concentraciones de Mg plasmáticas y su correspondiente estado hormonal ($r=0.32$) ($P<0.05$, Gráfico 3). Si bien el grado de asociación no es máximo, sí permite establecer que el mineral influye sobre las concentraciones circulantes de T_3 en vacas al inicio de la lactancia, en la misma dirección del cambio. Por otro lado, no existen diferencias significativas entre las medias de concentración hormonal de vacas normo e hipomagnesémicas en cada estado fisiológico ($P>0.05$, Gráfico 7). Sin embargo, las concentraciones promedios de Triyodotironina (T_3) fueron significativamente mayores en vacas lactantes respecto a las gestantes ($P<0.05$ Gráfico 5), situación inversa a la esperada. A esto se suma la gran desviación estandar presente en todos los grupos, existiendo siempre promedios disminuidos de Tiroxina, respecto a los valores de referencia dados (Cuadros 2 y 3) Este hecho tiende a reafirmar la posibilidad de estar frente a un hipotiroidismo subclínico causado por deficiencias marginales de yodo, ya sean primarias o secundarias, ya que a pesar de no disponer de información al respecto para bovinos, sí es una situación ampliamente conocida en humanos (Silva, 1985; Boyages, 1993).

Considerando todos los antecedentes expuestos, la existencia de hipotiroidismo subclínico podría explicar en cierta forma las bajas concentraciones de T_4 presentes en las vacas de este estudio. Es sabido que durante la lactancia existe paso de hormonas tiroideas al interior de la glándula mamaria, sitio que dispone de una batería enzimática propia para transformar T_4 a T_3 , siendo esta última la hormona tiroidea predominante en la secreción láctea (Slebozonski, 1991). También se señala que la mayor cantidad de T_3 y T_4 en leche se presenta al inicio de la lactancia (Akasha, 1987). Si se considera el aumento de corticoides circulantes al parto (Havez, 1987) y la disminución del apetito en las primeras semanas post-parto (Contreras, 1993), puede explicarse la disminución fisiológica de las hormonas tiroideas durante el período de producción láctea en animales eutiroideos, tal como lo señalan Mixner y col (1962) y Rus y Madsen (1985). Ahora bien, se describe que vacas de alta producción requieren más yodo que animales con menores rendimientos (Wemheuer, 1993), lo cual se complementa con las observaciones de Kuznetsov y Aliev (1994), indicando que la excreción de yodo por la glándula mamaria es creciente a medida que aumenta el número de litros producidos. Tal vez este aumento de pérdidas de yodo vía mamaria, sumado las carencias marginales del mineral preexistentes, ayudan a explicar el hipotiroidismo subclínico presente en vacas lactantes.

Por otra parte, Michaud (1989) establece que durante la gestación se produce un incremento del clearance renal de yodo, reestableciéndose la normalidad alrededor de la sexta semana post-parto. Así, las deficiencias de yodo existentes previas a la gestación se acentúan. La glándula tiroides intenta aumentar la captación del mineral a nivel de foliculo, a la vez que favorece la producción de T_3 sobre T_4 . Sin embargo, a veces las pérdidas son muy grandes, generándose cuadros de bocio. A pesar que las respuestas endocrinas de una especie no son extrapolables fielmente a otras, hay que reconocer la coincidencia de que en animales subclínicamente hipotiroideos, las concentraciones de T_4 disminuyan en vez de aumentar, tal como lo describen Sarne y Degroot (1989), ante un aumento de estrógenos que lleva a mayor cantidad de TBG (Globulina transportadora de Tiroxina) circulante. Ahora bien, la

posibilidad de que los bajos niveles de T_4 se debieran a una falla en el transporte de TBG, es baja. Silva (1984) señala que TBG también transporta a T_3 , pero en menor cantidad. De tal manera que una alteración de las proteínas transportadoras debiera repercutir también en forma notoria sobre Triyodotironina, lo cual no ocurre en este trabajo, con concentraciones que a pesar de las fluctuaciones se mantienen dentro de los límites normales para la especie.

Viendo la problemática desde otro ángulo, Donoso (1989) indica que el hipotiroidismo se acompaña de un aumento en los niveles de prolactina y de problemas de infertilidad en seres humanos. Ciertamente no es el caso concreto descrito en este estudio, pero es interesante recordar que poco se sabe acerca del desempeño de T_4 como hormona activa a nivel celular. Según Frandson (1995) Tiroxina cumpliría funciones similares a Triyodotironina, pero con un inicio en su acción mucho más lento. Cabe preguntarse entonces si el bajo status de T_4 en las vacas no tiene repercusiones implícitas sobre aspectos reproductivos y productivos, que pudieran ser la base de futuras investigaciones.

Tal como se visualizan las concentraciones de hormonas en cada grupo (Anexo 8.1), los bajos promedios están dados por una disminución general de los niveles de T_4 en la gran mayoría de los animales, descartando la posibilidad que existan muchos animales dentro del rango normal inferior, y solo algunos de ellos con niveles muy bajos que provocaran promedios alterados. Atribuir estos resultados a una posible falla en el proceso de medición es poco probable, ya que se utilizó un kit comercial ampliamente probado, siguiéndose fielmente sus instrucciones al momento de realizar el proceso. Por otra parte, las muestras habían sido probadas antes de realizar el ensayo, constatándose su idoneidad para ser incluidas en el trabajo.

En consecuencia el aspecto más interesante de este trabajo para futuras investigaciones es determinar la causa de las bajas concentraciones de Tiroxina, ya que la única forma de poder dar una conclusión fehaciente sobre el impacto de las variaciones de Mg sobre la actividad tiroidea es trabajar con animales absolutamente eutiroides.

La posibilidad de que el hipotiroidismo subclínico advertido en los animales de este ensayo se deba a deficiencias marginales de yodo abre nuevas fuentes de investigación. Esto, porque las alteraciones a nivel del metabolismo pueden afectar a rebaños completos. Así es muy posible que existan subdosificaciones del mineral en la dieta; que los forrajes y concentrados contengan elementos que impidan el uso del yodo por parte del animal (tiocianatos, isotiocianatos, etc); por último, la existencia de fallas parciales de enzimas que participan en el metabolismo tiroideo junto al yodo de origen genético, no es un factor descartable, dado por la selección de animales y la poca diversidad de genotipos que se pueden producir en un rebaño. En todo caso, este trabajo es sólo un primer paso hacia el conocimiento del metabolismo tiroideo en bovinos, y futuras investigaciones podrán

establecer con más claridad los distintos factores y mecanismos que inciden sobre la actividad del tiroides de vacas lecheras en el sur de Chile.

6.4.- CONCLUSIONES

Basados en los resultados del presente trabajo, y en consideración a los objetivos previamente establecidos, se puede concluir lo siguiente:

- 1.- Las concentraciones promedios de T_3 y de T_4 en vacas normo e hipomagnesémicas no presentaron diferencias significativas ($P>0.05$).
- 2.- Las concentraciones promedios de T_4 en vacas normo e hipomagnesémicas fueron inferiores al rango de referencia para la especie.
- 3.- Las concentraciones promedios de T_3 en vacas normo e hipomagnesémicas estuvieron en el rango de referencia para la especie.
- 4.- Las concentraciones promedios de T_3 fueron significativamente mayores en vacas al inicio de la lactancia que en gestación, sin embargo en los promedios de T_4 no se observaron diferencias significativas entre estos grupos.
- 5.- En vacas normomomagnesémicas se observó mayores valores de T_3 a medida que aumentaban los valores plasmáticos de Mg ($P<0.05$), sin embargo no hubo asociación significativa entre estos niveles de Mg y los de T_4 .
- 6.- Hubo un incremento significativo en los valores de T_4 a mayores valores de Mg, en vacas al inicio de la lactancia ($P<0.05$), sin embargo no existió asociación entre las concentraciones de Mg y T_4 , en el mismo grupo de animales.

7. BIBLIOGRAFIA

- AHN, C.S. E I.N. ROSENBERG. 1980. Glucose dependence of Thyrotropin-Stimulated Thyroid Hormone, *Endocrinology*. 107: 1861 -1866.
- AHRÉN, B., T. GRUNDITZ, R. EKMAN, R. HAKANSON. 1983. Neuropeptides in the thyroid gland. Distribution of Substance P and Gastrin/Cholecystokinin and their effects on the secretion of Iodothyronines and Calcitonin, *Endocrinology* 113: 379-384.
- AKASHA, M.A. 1987. Variation of thyroid hormones in blood and milk of Holstein dairy cows, *Disserlation - Abstracts International*. 47: 3177-3178. Abstr.
- BALSAM, A., L.F. LEPPA. 1974. Augmentaron of the peripheral metabolism of O₂ triiodothyronine and L thyroxine after accimation to cold, multifocal stimulation of thebindingof iodothyroninesby tissue, *J. Clin. Invest.* 53: 980-987.
- BLAXTER, L.K. 1952. Effects of thyroxine and iodinated casein on cows, *Vitamms and Hormones*. 10: 217-259.
- BLUM, J.W., P. KUNZ, W. SCHNYDER, E.F. THOMPSON, A. BLOOM, P. VITINS, H. BICKEL. 1979. Changes of hormones and metabolites during reduced and compensatory growth, *Ann. Rech. Vet.* 10: 391-392.
- BOYAGES, S. 1993. Iodine deficiency disorders, *Journal of Clin. Endocrinol.,and Metab.* 77:587-591.
- BURTON, S. 1992. Handbook of diagnostic Endocrinology. Atlantic Vet. College, Charlottetown, P.E.I.
- CARAYON, P., S. AMR. 1989. Mechanisms of thyroid regulation. EN: Endocrinology, Ed. L. De Groot, 2a edic., voll, W.B. Saunders Co., Philadelphia, E.E.U.U.
- CONTRERAS, P.A. 1993. Riesgos en salud en vacas de altas producciones en leche. EN: Aspectos Técnicos y Perspectivas de la Producción de Leche. Ed. F. Larunza y G. Bartolameolli, serie INIA Remehue N° 33 : 97-107.

- CONTRERAS, P.A., L. VALENZUELA, F.G. WITTWER y H. BÖHMWALD. 1996. Desbalances metabólicos nutricionales mas frecuentes en rebaños de pequeños productores de leche, Valdivia-Chile, *Arch. Med. Vet.* 28, 1 : 39-50.
- CSEH, S.B., E. GUEUX, Y. RAYSSIGUIER. 1993. Efecto de la hipomagnesemia sobre la fluidez de membranas, *Arch. Mal. Vet.* 25(1): 31-36.
- CUNNINGHAM, J. 1992. Fisiología Veterinaria. Editorial Interamericana Mac. Graw -Hill. México.
- DIAGNOSTIC PRODUCTS CORPORATION. 1991.COAT-A-COUNT . 5700 West 96th Street. Los Angeles, CA 90045.
- DONOSO, J. 1989. Hipertiroidismo y embarazo. EN: Avances en las enfermedades del Tiroides. Ed. E. López-Caffarena, edit. Mediterráneo, Santiago, Chile.
- DORNBUSCH, R., S. FISCHER. 1992. Macroeconomía. 5a edic, Edit. Me Graw-Hill/Interamericana de España, S.A.
- DOWLING, J.T., W.G.APPLETON, A.C. TURNBULL, F.E. HYTTEN. 1967. The physiological changes in thyroid functions during pregnancy, *Clin. Sci.* 27: 1749 - 1750.
- EKHOLM, R. 1989. Anatomy and development of the thyroid gland. EN: Endocrinology. Ed L. De Groot. 2a edic, vol 1, W.B. Saunders Company, Phyladelphia, E.E.U.U.
- FRANDSON, R.D., T.L. SPURGEON. 1995. Anatomía y fisiología de los animales domésticos. 5a edic, Edit. Interamericana Me Graw-Hill, México.
- FRIEDMAN, Y., M. LANG, G. BURKE. 1977. Inhibitors of thyroid adenylate cyclase by thyroid hormone. A possible locus for the shortloop negative feed-back phenomenon, *Endocrinology.* 101: 858-868.
- GEORGIEVSKII, V.I., B.N. ANNENKOV, V.I. SAMOKHIN 1982. Mineral Nutrition of Animals. 1ra Edición, Editorial Butterworth y Co. Ltda, Essex, Gran Bretaña.
- GILMAN, L.1968. Factors influencing adenosine^{3'},^{5'}-phosphatase accumulation in bovine thyroid slices, *Endocrinology* 243: 5867-6871.
- GUYTON, A. 1994. Fisiología y Fisiopatología. Editorial Interamericana, 5° Edición, México.

- HAFEZ, E.S.E. 1987. Reproducción e inseminación artificial en animales, 5ª Edición, Edit. Interamericana Me - Gravy-Hill, México.
- HART, I.C., J.A. BINES, S.V. MORANT y J.L. RIDLEY. 1978. Endocrine control of the energy metabolism in the cow: Comparison of the levels of hormones (prolactin, growth hormone, insulin and thyroxine) and metabolites in the plasma of high- and low-yielding cattle at various stages of lactation, *Journal of Endocrinology*. 77 : 333-345.
- HEATON, F.E. y H.P. HUMPHREY 1974. *J. Endocrinology*. 61:63-69. Citados por MULEI C.M. y R.C.W. DANIEL. 1988. The association of plasma magnesium concentration and Thyroid gland activity in young calves, *J. Vet. Med.* 35: 516-521.
- HEDGE, G.A., H.D. COLBY y R.C. GOODMAN. 1987. *Clinical Endocrine Physiology*. W.B. Saunders Company. Philadelphia.
- HEITZMAN, R.J. y C.B. MALLINSON. 1972. A comparison of the thyroxine levels in the plasma of healthy, starved and acetonemic dairy cows, *Res. vet. Sci.* 13: 591-593.
- HERTOGHE, E. 1896. *Bull Acad. Med. (Belg)*. Citado por Blaxter, K. 1952. Effects of thyroxine and iodinated casein on cows, *Vitamins and Hormones*. 10: 217-259.
- I.N.E. (INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICA). 1997. Censo Nacional Agropecuario, Santiago, Chile.
- INGBAR, S.H. y L.E. BRAVERMAN. 1975. Active form of the thyroid hormone, *Annual Review of Medicine* 26: 443-449.
- KAHN, C. 1989. Membrane receptor for peptide hormones. EN: *Endocrinology*, Ed L. De Groot, 2a edic, vol 1, W.B. Saunders Company, Philadelphia, E.E.U.U.
- KUZNETSOV, S.G. Y A. ALIEV. 1994. Metabolic flows of iodine in dairy cows in relation to their milk yield and iodine consumption, *Sel'skokhzyaistvennaya-Biologiya* 2: 86-91.
- LANGMAN, J. 1986. *Embriología médica*. 5a. edic, Edit. médica Panamericana S.A., Bs Aires, Argentina.
- LEWIS, T. Y R. LEFKOWITZ. 1977. Thyroid Hormone Regulation of B-Adrenergic Receptor Number, *The Journal of Biological Chemistry*. 252 (8): 2787-2789.
- LISSITZKY, S. 1989. Iodine metabolism in the thyroid, EN: *Endocrinology*, Ed L. De Groot, 2a edic, voll, W.B. Saunders Company, Philadelphia, E.E.U.U.

- LORSCHIEDER, F.L. y REINEKE. E.P. 1971. The influence of lactation intensity and exogenous prolactin on serum thyroxine levels in the rat, *Prco.Soc.Exp. Bio. Med.* 188: 1116-1118.
- Mc COY, M.A., E.A. GOODALL y D.G. KENNEDY. 1993. Incidence of hypomagnesaemia in dairy and suckler cows in Northern Ireland, *The Vet. Record* 132 (21): 537.
- MEDEIROS-NETO, G. 1989. Avances en fisiología tiroidea. EN: Avances en las enfermedades del Tiroides. Ed. E. López-Caffarena. Edit. Mediterráneo, Santiago, Chile.
- MICHAUD, P. 1989. Bocio difuso eutiroideo y embarazo. EN: Avances en las enfermedades del Tiroides. Ed. E. López-Caffarena, edit. Mediterráneo, Santiago, Chile.
- MIXNER, J.P., D.H. KRAMER y T. SZABO. 1962. Effects of breed, stage of lactation and season of year on thyroid secretion rate in dairy cows as determined by the chemical thyroxine turnover method, *Journal of Dairy Science* 45: 999-1002.
- MORELLY, L., R. SHAPIRA, S. INGBAR. 1973. Effects on the iodine and intermediary metabolism of isolated calf thyroid cells, *Endocrinology* 92: 912-916.
- MULEI C.M y R.C.W. DANIEL. 1988. The association of plasma magnesium concentration and Thyroid gland activity in young calves, *J. Vet. Med.* 35: 516-521.
- NIKOLIC, J.A., H. SAMANC, J. BEGIVIC. 1997. Low peripheral serum thyroid hormone status independently affects the hormone profile of healthy and ketotic cows during the first week post partum, *Personel Admimstration* 47 (1): 3-13. Abstr.
- OBERKOTTER, L.V. y K.M. RASMUSSEN. 1992. Changes in plasma thyroid hormone concentration in chronically food restricted female rats and their offspring during suckling, *Journal of Nutntion* 122:3 435-441.
- ODEPPA. 1997. Mercados Agropecuarios. Ministerio de Agricultura 56: 3-9.
- OPPENHEIMER, J.H., L. SCHWARTZ Y M.I. SURKS. 1972. J. Clin. Invest. 51: 2493-2497. Citados por TNGBAR, S.H. y L.E. BRAYERMAN. 1975. Active form of the thyroid hormone, *Annual Review of Medicine* 26 : 443-449.
- PAYNE, J.M. Y S. PAYNE. 1981. Enfermedades metabólicas de los animales zootécnicos, Edit. Acribia, Zaragoza, España.

- PINEDA, G. 1984. Afecciones tiroideas. EN: Endocrinología y metabolismo. Ed C. Pumarino, Editorial A. Bello, 2a Edición, Santiago de Chile.
- PINEDA, G. 1989. Cómo estudiar a un paciente con patología tiroidea? N: Avances en las enfermedades del tiroides. Ed E. López-Caffarena, edit. Mediterráneo, Santiago, Chile.
- PUKUDA, H., K. OSHIMA, M. MORÍ, L. KOBAYASHI y M.A.GREER. 1980. Secuential changes in the pituitary-thyroid axis during pregnancy and lactation in the rat, *Endocrinology* 107: 1711-1716.
- REAP, M., D. HIGHTOWER 1978. D: Thyroxine and triiodothyronine levels in ten species of animal *Southwestern Vet.* 31: 31.
- RUS, P.M. y A. MADSEN. 1985. Thyroxine concentrations and secretion rates in relation to pregnancy, lactation and energy balance in goats, *Journal of Endocrinology.* 107: 421-427.
- SARNE, D. Y L. DE GROOT. 1989. Hypothalamic and neuroendocrine regulation of thyroid hormone. EN: Endocrinology, Ed L.De Groot, 2a edic, vol 1, W.B. Saunders Co., Philadelphia, E.E.U.U.
- SHRADER, R., M. FERLOTTE, M. HASTINGS, F. ZEMAN. 1977. Thyroid Function in Prenatally Protein-Deprived Rats. *Journal of Nutrition.* 107: 221-229.
- SILVA, E. 1984. Tiroides. EN: Endocrinología y metabolismo. Ed. C. Pumarino, Editorial A. Bello, 2da Edición, Santiago de Chile.
- SILVA, E. 1985. Effects of iodine and iodine containing compounds on Thyroid function, *Medical Clinics of North America.* 69: 881-898.
- SISSON, S. Y J.D. GROSSMAN. 1995. Anatomía de los animales domésticos. 5ª edición. Tomo 1. Ciencia y Cultura Latinoamericana, México.
- SLEBODZINSKI, A.B., E. BREZEZINSKA-SLEBODZINSKA. 1991. Local generation of triiodothyronine by the mammary gland as a source of measurable quantities of the hormone in milk, *Endocrine Regulations* 25: 83-89. Abstr.
- STRBAK, V., L. MACHO, D. UHERIK, V. KLIMENT. 1978. The effects of lactation on thyroid activity of woman, *Endocrinologie* 72: 183-187.

- STUDZINSKY, T., J. FILAR, A. CZRNECKI, E. MADEJ. 1994. Periparturient concentrations of insulin, thyroxine (T4) and Triiodothyronine (T3) in high producing dairy cows. En: Association of Buatrics, Bologna, Italy, pp. 505-508.
- SPIEGEL, A.M., P.GRIERSCHIK.1985. Guanine nucleotide binding proteins as receptor-effector couplers and clinical implications, *N. Engl. J. Med.* 312: 26-33.
- THILSTEAD, S.H.1985. Regulation of nutrients in the dairy cow in late pregnancy and early lactation, *Tierphysiol. Tiernähr. Futtermittelk* 53: 10-18.
- TONQUE, T., W.TONG, V. STOLC. 1969. TSH and Dibutyryl Cyclic AMP stimulating of Hormone release from rat Thyroid glands in vitro, *Endocrinology* 86: 271-277.
- TORRESANI, J. 1989. Thyroid Hormone Secretion. EN: Endocrinology, Ed L. De Groot, 2a edic, voll, W.B. Saunders Company, Phyladelphia, E.E.U.U.
- VANJONACK, W.J. Y H.D. JOHNSON. 1975. Effects of modérate heat and milk yield on plasma thyroxine in cattle, *Journal of Dairy Science* 58: 507-511.
- WAYNE, V., J. MOORE, J. WOLFF. 1973. Thyroid-stimulating Hormone Binding to Beef Thyroid Membranes, *The Journal of Biol. Chem.* 249: 6255-6263.
- WEEKE, J., DYBJAER. 1983. A longitudinal study of serum TSH and Total free thyroid hormones in normal pregnancy, *Clin. Endocrinol.* 18: 431-437.
- WEMHEUER, W. 1993. Relations between iodine requirement/thyroid metabolism and fertility problems in cows, *Reproduction in Domestic Animals* 28: (7) 385-394.
- WICHTEL, JJ., A. CRAIGIE, D. FREEMAN. 1996. Effect of Selenium and iodine supplementation on growth rate and on thyroid and somatotropic function in dairy calves at pasture, *J. of Dairy Science* 79: (10) 1865 - 1872.
- WITTWER, F.G., P.A. CONTRERAS, H. BÖHMWALDM987. Análisis de resultados de perfiles metabólicos obtenidos en rebaños lecheros en Chile, *Arch. Med. Vet.* 19, 2 : 35-45.
- WITTWER, F.G., HEUER, G, CONTRERAS, P.A., BÓHMWALD, H. 1993. Valores bioquímicos sanguíneos de vacas cursando con decúbito en el sur de Chile, *Arch. Med. Vet.* 25: 83-87.

- WITTWER, F.G.,A. CEBALLOS, P.A. CONTRERAS, H. BOHMWALD. 1997. Actividad sanguínea de la glutathion peroxidasa en bovinos a pastoreo y correlación con la concentración sanguínea y plasmática de selenio. En: XXII Reunión Anual de Sociedad Chilena de Producción Animal, Universidad Austral, Valdivia, Chile, pp. 183-184.
- WOLFF, J. y A.B. JONES. 1971. The purification of Bovine Thyroid Plasma Membranes and the Properties of Membrane - Bound Adenyl Cyclase,,*J. of Biol. Chem.* 246: 3939-3947.
- WOLFF, J. y A.B. JONES. 1977. *J. Biol. Chem.* 246: 39-47. Citados por MULEI.C.M. y R.C.W. DANIEL. 1988. The association of plasma magnesium concentration and Thyroid gland activity in young calves, *J. Vet.Med.* 35 : 516-521.

8. ANEXOS

8.1.- MEDICIÓN DE HORMONAS TIROÍDEAS

Cuadro 1: Número de perfil bioquímico, concentración de magnesio (Mg), cuentas de radioactividad por minuto (CPM), porcentaje de unión (%U) y valores de Triyodotironina (T₃) y Tiroxina (T₄), en grupo de vacas al inicio de la lactancia, hipomagnesémicas.

No	Perfil No	Mg (mmol/l)	CPM	% U	T3 (nmol/l)	CPM	% U	T4 (nmol/l)
1	30296 - 3	0.41	6173	68.40	0.98	9093	68.20	28.50
2	30296 - 5	0.51	5183	57.40	1.59	8365	62.70	38.00
3	48296 - 2	0.53	4466	49.50	2.20	7559	56.70	50.00
4	52696 - 11	0.64	4969	55.10	1.78	7987	59.90	41.50
5	52696 - 13	0.57	4920	54.50	1.84	6570	49.30	69.70
6	40697 - 4	0.62	1706	64.70	1.97	1983	67.40	27.50
7	40697 - 6	0.60	1522	57.70	1.64	1804	61.30	40.50
8	6097 - 1	0.50	1675	63.20	1.27	1662	56.50	51.40
9	69696 - 3	0.31	6657	73.80	0.75	9111	68.30	28.20
10	72596 - 5	0.57	5146	57.00	1.61	7985	59.80	41.60
11	72596 - 7	0.63	5292	58.60	1.50	8659	65.00	34.00
12	81197 - 7	0.34	4202	46.60	2.40	7016	52.60	61.00
13	88696 - 4	0.60	4921	54.50	1.84	8568	64.30	34.20
14	6097 - 4	0.59	1541	58.40	1.55	1611	54.70	58.00
15	40697 - 11	0.55	1661	63.00	1.30	1892	64.30	33.00
16	40697 - 14	0.64	1199	45.50	2.55	1471	49.90	72.00
17	47897 - 13	0.54	1703	64.60	1.20	1977	67.20	27.50
18	47897 - 9	0.61	1505	57.10	1.66	1781	60.50	41.00
19	90696 - 2	0.54	4803	53.20	1.95	7806	58.60	42.20
20	90696 - 3	0.32	6962	77.20	0.63	9580	71.10	24.10
21	90696 - 5	0.46	5959	66.00	1.11	9482	71.10	24.10
22	81196 - 6	0.53	4771	52.90	1.98	7710	57.80	47.20
23	88696 - 3	0.60	5139	56.90	1.64	9013	67.60	47.60
24	47897 - 14	0.42	1608	61.00	1.40	1890	64.20	33.50
25	56397 - 2	0.12	1513	57.40	1.63	1844	62.70	37.50

Cabe recordar que los valores de referencia para bovinos son:

T₃: 0.80-1.90 nmol/l

T₄: 57.00-119.00 nmol/l

Cuadro 2: Perfil bioquímico, concentración de magnesio (Mg), número de cuentas de radioactividad por minuto (CPM), porcentaje de unión hormonal (% U), y valores de Triyodotironina (T₃) y Tiroxina (T₄) en vacas normomagnesémicas al inicio de la lactancia.

No	Perfil No	Mg (mmol/l)	CPM	% U	T3 (nmol/l)	CPM	% U	T4 (nmol/l)
1	30296 - 2	0.75	4729	52.40	1.99	8377	62.80	38.00
2	40496 - 2	1.04	5141	57.00	1.61	8398	63.00	37.20
3	41596 - 19	0.91	5280	58.50	1.51	8624	64.70	34.30
4	41596 - 18	0.85	5253	58.20	1.54	8652	64.90	33.80
5	48296 - 5	0.93	4577	50.70	2.10	7613	57.10	49.00
6	69696 - 7	0.71	5702	63.20	1.27	8724	65.40	33.00
7	72596 - 4	1.11	5042	55.90	1.72	9789	73.40	21.60
8	81196 - 1	1.09	3807	42.20	2.88	7071	53.00	60.00
9	81196 - 2	1.01	5077	56.30	1.66	8449	63.40	36.40
10	81196 - 3	1.16	4499	49.90	2.19	8535	64.00	35.40
11	88696 - 2	0.92	4741	52.50	1.99	8164	61.20	40.60
12	90696 - 4	0.72	6271	69.50	0.95	9077	68.10	28.50
13	90696 - 7 *	1.42	7407	82.10	0.44	11223	84.20	10.30
14	90696 - 6	0.83	4695	52.00	2.00	7110	53.30	59.00
15	31895 - 6	0.98	5165	57.20	1.57	8634	64.80	32.50
16	40697 - 1	0.89	1573	59.70	1.47	1596	54.20	59.00
17	40697 - 7	0.78	1568	59.50	1.50	1583	53.80	61.00
18	6097 - 2	0.97	1492	56.60	1.68	1571	53.30	61.50
19	6097 - 3	0.87	1637	62.10	1.33	1725	58.60	45.70
20	40697 - 8	0.78	1533	58.20	1.60	2042	69.40	24.30
21	40697 - 13	0.79	1447	54.90	1.80	1735	59.00	45.00
22	47897 - 8	0.70	1547	58.70	1.57	1648	55.90	54.00
23	47897 - 10	0.70	1428	54.20	1.88	1615	54.80	56.50
24	47897 - 11	1.10	1603	60.80	1.42	1823	61.90	39.20
25	56397 - 1	0.66	1514	58.40	1.54	1682	57.20	49.50

* perfil bioquímico eliminado, por poseer una concentración de Mg muy elevada.

Cuadro No 3: Perfil bioquímico, concentración de magnesio (Mg), número de cuentas de radioactividad por minuto (CPM), porcentaje de unión de hormonas tiroideas (% U) y valores obtenidos, para cada muestra, de Triyodotironina (T₃) y Tiroxina (T₄) en vacas gestantes hipomagnesémicas.

No	Perfil No	Mg (mmol/l)	CPM	% U	T3 (nmol/l)	CPM	% U	T4 (nmol/l)
1	30296 - 13	0.59	5566	61.70	1.34	9451	70.90	24.50
2	30296 - 14	0.55	6116	67.80	1.02	8127	61.00	40.90
3	34196 - 15	0.56	5115	56.70	1.62	8628	64.70	34.30
4	34196 - 18	0.62	6052	67.10	1.05	10018	75.10	19.50
5	34196 - 20	0.63	4907	54.40	1.84	8214	61.60	40.00
6	43096 - 10	0.64	4431	49.10	2.30	6095	45.70	77.80
7	43096 - 14	0.58	5129	56.80	1.65	7327	55.00	50.10
8	49195 - 12	0.54	5582	61.90	1.31	8582	64.40	33.10
9	51996 - 5	0.57	5833	64.60	1.20	8446	63.40	36.40
10	52696 - 1	0.55	5035	55.80	1.74	6980	52.40	63.00
11	52696 - 2	0.56	6100	67.60	1.04	8385	62.90	37.50
12	52696 - 4	0.61	5251	58.20	1.54	8505	63.80	33.90
13	54496 - 2	0.56	6899	76.40	0.66	9217	69.10	27.00
14	56695 - 5	0.30	5259	58.30	1.53	8115	60.10	41.90
15	56695 - 7	0.46	4995	55.30	1.76	7419	55.70	52.70
16	59595 - 1	0.46	6530	72.40	0.83	8768	65.80	32.10
17	59595 - 2	0.56	5423	60.10	1.40	8050	60.40	41.50
18	59595 - 5	0.65	6031	66.90	1.08	8731	65.50	33.20
19	63396 - 3	0.62	5834	64.70	1.19	7887	59.20	43.50
20	63396 - 6	0.64	6409	71.00	0.87	8204	61.50	40.00
21	69096 - 10	0.59	5610	62.20	1.31	7677	57.60	47.60
22	49195 - 13	0.45	5270	58.40	1.53	7764	58.20	46.40
23	56695 - 16	0.65	4904	54.30	1.83	8733	62.50	41.80
24	51996 - 1	0.61	6445	71.40	0.87	8032	60.30	41.80
25	56695 - 1	0.62	4940	54.70	1.80	7705	57.80	47.20

Cuadro 4: Perfil bioquímico, concentración de magnesio (Mg), número de cuentas radioactivas por minuto (CPM), porcentaje de unión de cada hormona tiroidea (% U), y valores obtenidos para Triyodotironina (T3) y Tiroxina (T4) en vacas gestantes normomagnésicas.

No	Perfil No	Mg (mmol/l)	CPM	% U	T3 (nmol/l)	CPM	% U	T4 (nmol/l)
1	20495 - 2	1.00	5238	58.00	1.56	7843	58.80	42.80
2	20495 - 4	0.90	6040	66.90	1.08	8554	64.20	34.50
3	22795 - 17	0.86	5402	59.90	1.54	7554	56.70	50.00
4	30296 - 9	0.72	5882	65.20	1.16	8954	67.20	29.80
5	30296 - 10	0.91	5883	65.20	1.16	10219	76.70	17.80
6	31495 - 8	0.83	5543	61.40	1.38	7572	56.80	50.50
7	34196 - 17	0.97	5759	63.80	1.22	8522	63.90	35.80
8	34196 - 19	0.68	5267	58.40	1.53	8604	64.50	34.40
9	43096 - 12	0.82	4879	54.10	1.85	7014	52.60	61.00
10	43096 - 13	0.86	4860	53.90	1.92	7672	57.60	47.20
11	49195 - 18	0.88	4860	53.90	1.92	7672	57.60	47.20
12	51996 - 2	0.76	6448	71.50	0.86	8943	67.10	30.20
13	51996 - 4	0.77	6243	69.20	0.96	8460	63.50	36.00
14	52696 - 3	0.75	6064	67.20	1.05	10135	76.00	18.40
15	52696 - 5	0.72	4763	52.80	1.99	7186	53.90	60.10
16	52696 - 7	0.79	5273	58.40	1.53	7801	58.50	43.20
17	54496 - 6	0.71	7104	78.80	0.58	8183	61.40	40.10
18	56695 - 2	0.82	4830	53.50	1.90	6531	49.00	70.00
19	56695 - 3	0.80	5300	58.70	1.52	8001	60.00	42.10
20	59595 - 3	0.82	5401	59.80	1.43	7456	56.00	52.00
21	59595 - 6	0.68	5801	64.30	1.21	9288	69.70	26.20
22	63396 - 7	0.70	6727	74.50	0.74	8013	60.10	41.90
23	59595 - 7	0.75	5360	59.40	1.48	8279	62.10	39.00
24	69096 - 12	0.97	5562	61.60	1.35	8248	61.90	39.90
25	49195 - 8	0.80	4759	52.70	1.98	7321	54.90	54.30

8.2.- ASOCIACION ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE MAGNESIO (Mg) Y SU CORRESPONDIENTE NIVEL DE TRIYODOTIRONINA (T3) Y TIROXINA (T4) EN VACAS CON DISTINTA MAGNESEMIA Y PERIODO FISIOLÓGICO.

En el Gráfico 1 se presenta el grado de asociación entre los niveles plasmáticos de magnesio (Mg) y los valores de Triyodotironina (T₃) y Tiroxina (T₄) en vacas lactantes hipo y normomagnesémicas, a través de análisis correlacional y de regresión lineal.

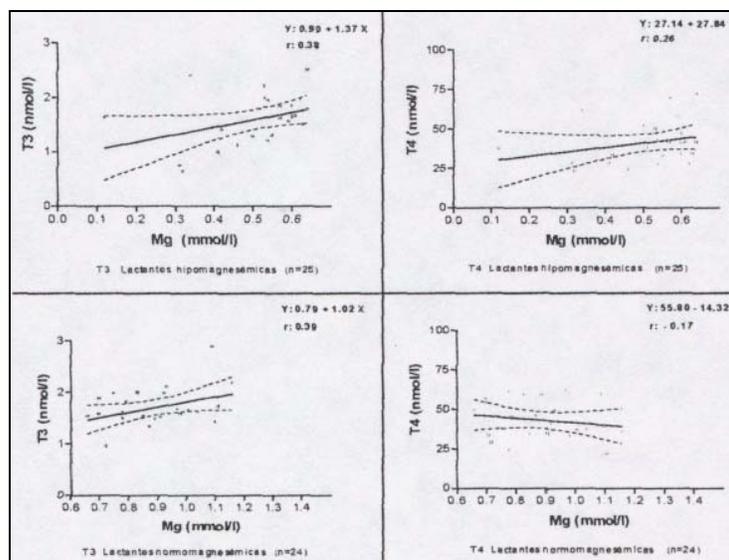


Gráfico 1: Rectas de regresión, ecuaciones de regresión y correlación entre los niveles plasmáticos de Triyodotironina (T₃), Tiroxina (T₄) y los respectivos valores de magnesio (Mg) en vacas al inicio de la lactancia con hipo y normomagnesemia. Las líneas punteadas señalan los intervalos de confianza del 95%.

Los diagramas de dispersión para T₃ y T₄ no evidencian una asociación estadística clara entre los niveles de hormona y Mg, presentando valores de correlación y coeficientes de regresión lineal sin significancia estadística ($P > 0.05$).

La asociación entre los niveles de magnesio (Mg) y sus respectivos valores de Triyodotironina (T_3), Tiroxina (T_4) en vacas gestantes hipo y normomagnesémicas, se presentan en forma gráfica a través de correlación y regresión lineal en el gráfico 2.

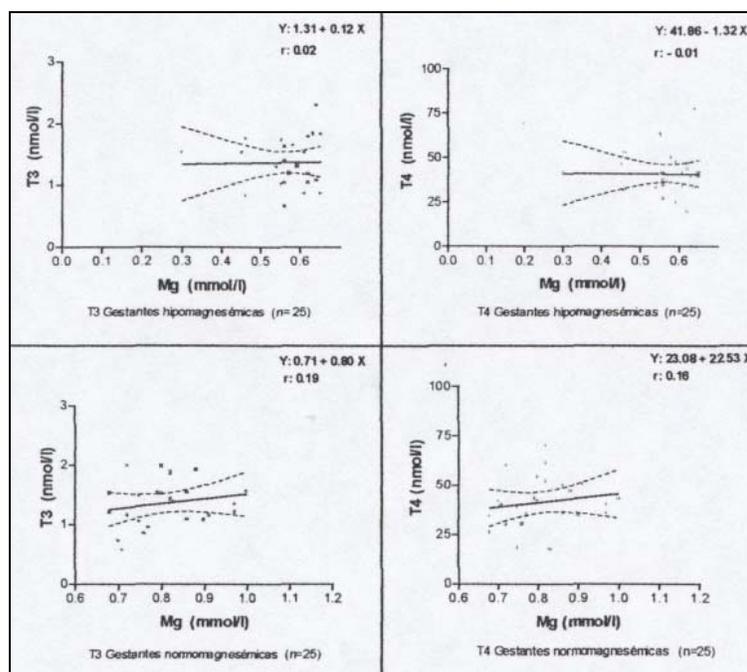


Gráfico 2: Recta de regresión, ecuación de regresión y correlación entre valores de magnesio (Mg) y los respectivos niveles de Triyodotironina (T_3) y Tiroxina (T_4) en grupos de vacas gestantes hipo y normomagnesémicas. Las líneas punteadas indican los intervalos de confianza de 95%.

A partir de los diagramas de dispersión presentados en este gráfico se puede observar que todos los grupos presentan amplia dispersión de los datos, con débiles tendencias en dirección positiva. No se observan correlaciones significativas ($P > 0.05$) ni coeficientes de regresión con significancia estadística ($P > 0.05$), por lo cual la regresión lineal constituye un muy mal predictor de los valores que adoptará cada hormona tiroidea al variar las concentraciones de Mg.

El trabajo de tesis requiere tiempo y dedicación. Sin embargo, al enfrentar por primera vez este tipo de estudios surgen dudas y complicaciones, producto del desconocimiento y la inexperiencia.

Agradezco profunda y especialmente a la sra. Helga Böhmwald, quien me asesoró y guió respecto al trabajo de laboratorio, acogiendo con amabilidad y calidez todas mis inquietudes.

Deseo expresar mis agradecimientos al Dr. Fernando Wittwer, por su dedicación, minuciosidad y franqueza al momento de opinar sobre mi trabajo.

Finalmente, deseo agradecer sinceramente la destacada labor de mi profesor patrocinante, Dr. Pedro Contreras, tanto por la preocupación y ayuda en el desarrollo del estudio, como de la paciencia y del tiempo empleados para lograr que este trabajo de tesis no sólo constituyera la aplicación de un método a un tema específico, sino que lograra transformarse en una etapa de desarrollo intelectual y personal.