

RESPOSTA DA GLÂNDULA TIREÓIDE DO RATO MACHO FRENTE AO EXCESSO DE COLESTEROL DIETÉTICO. INFLUÊNCIA DA CASTRAÇÃO

Roberto Andrés Douglas *
Ilione Roesner *
Rossana Campos Pereira *
Octacílio Martins Jr. *
Carlos Roberto Douglas **

RESUMO: Ratos machos alimentados com dieta enriquecida em colesterol (1g.) apresentam aumento da captação e do conteúdo de ^{131}I , na glândula tireoide. Há, ao mesmo tempo, incremento na taxa plasmática de TSH, indicativo de hiperatividade secretória tireo-estimulante da adenohipofise. Apresenta-se também aumento da taxa plasmática de PBI_{131} devido à maior secreção tireoideana, porém a taxa de T_4 livre diminui e a de T_3 aumenta, fenômenos decorrentes de exagerada interconversão de T_4 a T_3 .

Em ausência total das gônadas, o colesterol dietético falha como agente tireo-estimulante, dado que a captação de I_{131} pela tireoide não se altera. A falta de gônadas aparentemente também interfere na interconversão T_4 — T_3 , não havendo mudanças na taxa plasmática de T_4 enquanto que a de T_3 diminui. Poder-se-ia concluir que o colesterol dietético, estimula a função tireoideana através de um mecanismo tipo feed-back negativo gatilhado pela diminuição de T_4 livre que determina aumento do TSH. Este mecanismo não se apresentaria em ausência de testículos, pelo qual pode-se deduzir que a gônada masculina é fundamental para os efeitos tireo-estimulantes provocados pelo colesterol.

UNITERMOS: Tireóide — testículos — colesterol.

1. Introdução e antecedentes

As interações existentes entre o colesterol plasmático e a função tireoideana têm sido objeto de muitas investigações. Sabe-se que os hormônios tireoideanos atuam no processo de síntese de colesterol, por promover aumento da atividade da enzima hidroximetil glutamil coenzima A redutase, assim como no processo de eliminação do colesterol pela bile, através do incremento da atividade da enzima 7-alfa-hidroxilase que atua no processo de conversão do colesterol a sais biliares pelo fígado. Este último efeito predomina em relação ao anterior, já que nos estados de hiperfunção da glândula tireoide ocorre diminuição dos níveis plasmáticos de colesterol, enquanto que uma elevação dos mesmos é encontrada no hipotireoidismo ⁽¹⁾.

Por outro lado, recentes estudos realizados por nosso grupo de trabalho têm evidenciado que ratos machos alimentados com excesso de colesterol (5%) por 30 dias, apresentam hiperatividade da glândula tireoide ⁽²⁾ caracterizada por aumento da captação e aumento da velocidade de liberação de hormônios (aumento da liberação de radioatividade pela tireoide).

Essa hiperatividade também foi evidenciada por modificações histológicas, (observadas tanto à micros-

grafia óptica como à microscopia eletrônica da glândula tireoide ⁽³⁻⁴⁻⁵⁾.

Em outras pesquisas, observou-se que a gônada masculina influe na colesterolemia, como também na função da glândula tireoide que se apresentam diminuídas na resecção do testículo ⁽⁶⁾.

Assim, no presente estudo, pretendemos estudar funcionalmente a glândula tireoide de ratos machos quando se alimentam com excesso de colesterol e estudar a influência da gônada nestes efeitos.

2. Materiais e métodos

A pesquisa foi realizada em ratos machos, jovens, provenientes do biotério da Faculdade de Medicina da Santa Casa de São Paulo.

Os animais foram agrupados da seguinte maneira:

1. Ratos controle, alimentados por 30 dias com dieta normal.
2. Ratos controle, alimentados por 30 dias com dieta rica em colesterol (1%).
3. Ratos castrados, alimentados por 30 dias com dieta normal.
4. Ratos castrados, alimentados por 30 dias com dieta rica em colesterol (5%).

O número de ratos de cada grupo foi 10.

A castração dos animais foi realizada logo após o desmame destes (aproximadamente 21 dias de vida). Após prévia anestesia com éter dietílico fez-se incisão abdominal baixa e remoção de ambos os testículos.

* Acadêmicos do 3.º Ano da Faculdade de Medicina da FUABC Disciplina de Fisiologia da Fac. Med. FUABC e Departamento de Ciências Fisiológicas da Faculdade de Medicina da Santa Casa de São Paulo.

** Orientador Científico. Professor Titular da Disciplina de Fisiologia da Faculdade de Medicina da FUABC e da Faculdade de Medicina da Santa Casa de São Paulo.

As dietas foram mantidas durante 30 dias, iniciando-se após o desmame (21 dias de vida). Os animais puderam comer "Ad-libitum" e permaneceram em biotério aquecido a 26°C e 60% de umidade.

A dieta normal teve a seguinte composição:

Maizena	29 g
Sacarose	10 g
Farinha de trigo integral	10 g
Óleo de soja	12 g
Leite em pó	10 g
Caseína	21 g
Fermento	3 g
Mistura Salina de Mendel-Osborne	1 g

A dieta enriquecida com colesterol apresentou 1% de colesterol e 0,1% de bile dissecada sobre a dieta normal. O papel da bile é o de facilitar a absorção intestinal do colesterol.

Após os 30 dias de manutenção das dietas, sacrificaram-se os animais e foram estudados os seguintes parâmetros da função tireoideana:

- a) *Captação de ¹³¹I*: Após o período experimental, os animais receberam uma dose de 10 mg de propiltiouracil (PTU) i.p. em solução alcoólica 7%. Depois de 1,0 hora, receberam injeção de 5,0 uCi (i.p.) de ¹³¹I. Após mais 1 hora retirou-se a glândula tireoide e fez-se contagem da sua radiação em cpm em contador gama ⁽⁸⁾.
- b) *Conteúdo de ¹³¹I em 24 horas*: Os animais receberam injeção de 5,0 uCi de ¹³¹I e após 24 horas a tireoide era retirada e sua radiação contada em cpm ⁽²⁾.
- c) *PB¹³¹I*: Pegando 1 ml de soro dos animais do parâmetro anterior, acrescentava-se 0,5 ml de ácido tricloro acético (TCA) a 10%, centrifugava-se durante 15 min. a 3.000 rpm. Decantavam-se os tubos e o precipitado era ressuspendido com mais 0,5 ml. de TCA 10% e centrifugava-se novamente. O novo precipitado foi então contado em cpm ⁽⁸⁾.
- d) *Níveis plasmáticos de T₃, T₄ e TSH por radioimunoensaio* ⁽⁸⁾.
- e) *Colesterolemia*: Pelo método de Rosenthal ⁽⁹⁾.
- f) *Peso corporal*: A partir do momento em que se iniciou a dieta fizeram-se pesagens a cada 5 dias. Expressou-se o delta peso (diferença de peso corporal entre o início da experiência até o sacrifício).

3. Resultados

Os resultados obtidos podem ser avaliados nas Tabelas I e II e gráficos correspondentes.

4. Discussão

Observa-se um aumento da função tireoideana muito evidente, quando os animais normais (com gônadas) são submetidos a dieta enriquecida com colesterol, evidenciado por aumento no conteúdo de ¹³¹I em 24 horas, da captação ¹³¹I após 1 hora, do TSH, do PB¹³¹I e do T₃ plasmáticos, inalteração de T₄ e diminuição do peso corporal dos animais.

Aparentemente o aumento da função tireoideana provocado pelo colesterol, deve-se ao aumento do TSH, o que indica um possível mecanismo de ação do colesterol a nível de receptores hipotalâmicos ou hipofisários.

TABELA I

Função tireoideana de ratos submetidos a excesso de colesterol dietético por 30 dias

Determinação	Normal	Colesterol
Colesterolemia (mg/100 ml)	71,0 ± 6,0 n = 12	102,0 ± 14,0 * n = 8
Conteúdo ¹³¹ I (%)	22,5 ± 1,5 n = 11	36,0 ± 2,5 *** n = 12
Captação ¹³¹ I (%)	26,0 ± 3,0 n = 11	40,0 ± 5,0 * n = 12
TSH (UU/ml)	3,7 ± 0,2 n = 11	4,3 ± 0,25 * n = 7
PB ¹³¹ I (%) 10 ⁻²	15,0 ± 1,9 n = 10	25,0 ± 1,0 **** n = 10
T ₄ (ug/100 ml)	13,0 ± 2,0 n = 11	12,0 ± 1,0 n = 7
T ₃ (ng/100 ml)	102,0 ± 8,0 n = 9	140,0 ± 12,0 ** n = 9
T ₃ livre (ug/100 ml)	90,0 ± 9,0 n = 11	55,0 ± 5,0 *** n = 9
Δ Peso (g)	146,5 ± 10,0 n = 8	118,0 ± 8,0 * n = 8

Obs: Considerou-se como índice de significância p < 0,05. Aplicou-se o teste "T" de Student.

- * p < 0,05
- ** p < 0,02
- *** p < 0,01
- **** p < 0,001

TABELA II

Função tireoideana de ratos submetidos à excesso de colesterol dietético por 30 dias. Efeito da castração.

Determinação	Normal ♂	Colesterol ♂
Captação (¹³¹ I (%))	32,0 ± 2,0 n = 9	34,0 ± 5,0 n = 9
T ₄ (ug/100 ml)	14,0 ± 2,4 n = 8	10,5 ± 1,2 n = 8
T ₃ (ng/100 ml)	84,0 ± 7,5 n = 9	54,0 ± 2,0 ** n = 10

Obs.: Considerou-se como índice de significância p<0,05. Aplicou-se o teste "T" de Student.

- * p<0,05
- ** p<0,02
- *** p<0,01
- **** p<0,001

O TSH está possibilitado de aumentar, devido a que ocorre uma diminuição do T₄ livre pelo Feed-Back negativo. Por sua vez o T₄ livre diminui, provavelmente por um aumento da conversão periférica de T₄ a T₃, e é talvez por este motivo que os níveis plasmáticos de T₃ estão aumentados.

A diminuição do peso dos animais submetidos a dieta enriquecida com colesterol, deve-se provavelmente a um aumento da utilização periférica de T₃, cujos níveis encontravam-se aumentados. Quando se castra o animal, observa-se diminuição da captação tireoideana de ¹³¹I e esta não aumenta, mesmo sob os efeitos do colesterol.

Embora a taxa de TSH plasmático não foi mensurada nesta fase do estudo, esta não se modificaria, pois não há modificação do T₄ livre (os níveis de T₄ sérico permanecem inalterados).

Este fato que ocorre quando se castra o animal, deve-se provavelmente a que algum hormônio ou fator testicular, talvez a testosterona, seja necessário para que o colesterol provoque seu efeito de aumentar a função tireoideana. Por outra parte o efeito da castração em ratos fêmeas sobre o efeito estimulador do colesterol sobre a glândula tireoide é indiferente⁽¹⁰⁾, ao contrário do que ocorre no macho, ou seja o colesterol induz aumento da captação tireoideana de iodo em presença ou ausência de ovários.

Comparando-se o efeito da castração em ratos submetidos a dieta rica em colesterol nota-se um nítida diminuição dos níveis de T₃ plasmático, o que indica que a interconversão periférica de T₄ em T₃

esteja diminuída, o que sugere que de alguma maneira os hormônios testiculares interfiram na deiodinação do T₄, além de que, pelo fato do animal estar sob efeitos do colesterol, a utilização do T₃ pelos tecidos esteja aumentada, favorecendo ainda mais a diminuir a taxa de T₃ sérico.

5. Conclusões

Efeitos do colesterol sobre a função tireoideana

1. A colesterolemia encontra-se elevada devido ao aumento da ingestão de colesterol na dieta.
2. O conteúdo de ¹³¹I na glândula tireoide após 24 horas está aumentado, evidenciando um efeito estimulador do colesterol sobre a glândula, agindo direta ou indiretamente (a nível central).
3. A captação de ¹³¹I pela tireoide esta aumentada, devido ao mesmo fato do item anterior. Talvez o colesterol atue preferencialmente a nível central já que os níveis de TSH encontram-se elevados.
4. As taxas de TSH estão elevadas sugerindo ação do colesterol a nível de receptores hipotalâmicos ou hipofisários.
5. A concentração plasmática de PB¹³¹I está aumentada, indicando aumento da função tireoideana através do aumento da secreção do hormônio total PBI pela glândula.
6. Os níveis T₄ total no plasma estão inalterados devido a que a maior taxa de secreção pela tireoide de T₄ é contra restada pela veloz deiodinização do T₄ a nível periférico induzida pelo colesterol.
7. Os níveis de T₃ séricos estão elevados talvez devido a que o colesterol atua também a nível de deiodinação periférica de T₄ ou então, simplesmente seja devido ao fato de que os hormônios testiculares estejam presentes e sejam estes então, que elevem as taxas de T₃.
8. O índice de T₄ livre no plasma encontram-se diminuídos pela maior conversão a T₃.
9. O peso dos animais encontra-se diminuído, o que fala a favor de que o colesterol aumente a utilização periférica de T₃, assim aumentando o metabolismo celular.

Efeitos da Castração

1. A captação de ¹³¹I pela glândula tireoide está diminuída tanto nos animais com dieta normal como nos animais com dieta rica em colesterol, Este fato é favorável à idéia de que o colesterol precise de uma maneira ou outra, de algum hormônio ou fator do testículo, sendo muito provavelmente a testos-

terona, para provocar estimulação da glândula tireoide.

2. Os níveis de T₄ total no plasma, permaneceu inalterados talvez devido aos fatores discutidos anteriormente.
3. Ao castrar os animais, submetidos a dieta normal os níveis de T₃ no plasma tendem a diminuir, porém não significativamente, mostrando que os hormô-

nios gonadais aparentemente mantêm um nível basal dos hormônios tireoideanos.

Quando se castra os animais que estejam sob dieta rica em colesterol, a taxa de T₃ plasmático diminui significativamente, pois faltando os testículos, a conversão periférica de T₄ para T₃ diminui, além de existir colesterol, o qual aumentaria a utilização pelos tecidos do pouco T₃ existente.

SUMMARY: When male rats are fed with enriched cholesterol diet (1g%), there is an increased uptake and ¹³¹I content in the thyroid gland. TSH plasma level is increased showing a higher secretory activity of the pituitary gland stimulating the thyroid gland.

Plasma PB¹³¹I concentration is increased although total plasma T₄ level is not modified, the free plasma T₄ level is decreased and plasma T₃ levels are increased. These findings are due to thyroid gland hyperactivity and elevated peripheral interconversion of T₄ to T₃.

When the gonads are absent, dietetic cholesterol excess fails as thyroid-estimulant agent. In these conditions the uptake of ¹³¹I by the thyroid-gland is not modified. Absence of gonads apparently also interferes in T₄-T₃ interconversion, because there are not changes in T₄ plasma level and T₃ levels are decreased. It would be concluded that dietetic cholesterol could excite thyroid gland function through a negative feed-back mechanism triggered by a decreased free T₄ in plasma determining a rise of TSH. This mechanism is not present in the absence of the testis, concluding that male gonad is fundamental for the thyroid gland-stimulating effect promoted by cholesterol diet.

KEY WORDS: Thyroid — testis — cholesterol.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bernick, S. & Patek, P. R. — Effect of cholesterol feeding on morphology of selected endocrine glands. *Arch. Path.*, 77:321-330, 1961.
2. Bianco, A. C. et al — Incapacidade do estradiol em inibir o efeito tireo-estimulante do colesterol em ratas castradas. In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência 32a.* Rio de Janeiro, 1980. Resumos. Rio de Janeiro, 1980, p. 631.
3. Chopra, J. J. et al — An improved radioimmunoassay of triiodothyronine in serum: its application to clinical and physiological studies. *J. Lab. Clin. Med.*, 80:729, 1972.
4. Douglas, C. R. et al — Estimulación de la glândula tireoide de la rata por dieta rica en colesterol. *Arch. Biol. Med. Exper.*, 5:12-19, 1968.
5. Goldberg, R. C. et al — The mechanism of depression of plasma protein bound iodine by 2,4 dinitrophenol. *Endocrinology*, 56:560, 1955.
6. Nunes, M. T. et al — Influência do tempo de administração de colesterol na função e ultraestrutura da glândula tireoide de ratos. In: *Congresso da Sociedade Brasileira de Fisiologia*, 10a. São Paulo, 1979.
7. Nunes, M. T. et al — Estimulação da glândula tireoide de ratos por dieta enriquecida com colesterol. *Ciência e Cultura* 30:495, 1978.
8. Roesner, I. et al — Papel da gônada masculina no efeito tireo-estimulante do colesterol em ratos. In: *Congresso da Sociedade Brasileira de Fisiologia*. 12.º Ribeirão Preto, S. P. 1980.
9. Rosenthal, H. L. et al — A stable iron reagent for determination of cholesterol. *J. Lab. Clin. Med.* 50(2):313-322, 1957.
10. Strisower, B. N., in: *Hormones and atherosclerosis*. ed. G. Pincus, Ac. Press — Inc, New York, 1959, p. 315.