

EFFECTO DEL METIL-TIOURACILO EN EL TESTICULO DE RATAS MACHOS

(METHYLURACIL EFFECT ON THE MALE RAT TESTICLE)

A. Alonso Blanco,
J. Espinosa Alvarez,**
y J.R. González Montaña**

Palabras clave: Ratas. Célula Leydig. Metiltiouracilo.
Key words: Rat. Leydig cells. Methyluracil.

SUMMARY

It has been studied the action of the methyluracil on the Leydig cells, in male ratas of several ages and with different days of administration have been appreciated a fall in the number and structural alterations in the cells. The same fall in number and structural alterations of these cells have been seen in thyroidectomized males, wich shows that the lack of iodine in what determinates these alterations.

RESUMEN

Se estudia la acción del metil-tiouracilo en las células intersticiales de Leydig, en ratas machos, con distintas edades y con diferente número de días de aplicación, apreciándose disminución del número y alteraciones de dichas células. Estas mismas alteraciones en número y alteraciones estructurales, se manifiestan en las células de Leydig de machos tiroidectomizados, lo que demuestra que la falta de yodo es lo que determina estas alteraciones.

INTRODUCCION

El trabajo lo realizamos en ratas de forma profunda para poder extrapolar los resultados a otros mamíferos, particularmente a los bóvidos, especie en la que se empleó con cierta frecuencia como finalizador del cebo y como frenador del instinto sexual. Hoy la

* Dpto. Patología Animal Medicina Veterinaria. Universidad de León. Facultad de Veterinaria.

** Dpto. Patología Animal Medicina Animal.

An. Fac. Vet. León. 1991, 37, 19-28

legislación prohíbe el uso de estas drogas, pero ello no obsta para intentar conocer ciertos efectos en determinados órganos, como el testículo, del **metil-tiouracilo**.

El **metil-tiouracilo** actúa como moderador del instinto sexual en machos púberes, a la vez que tiene acción antitiroidea. Posiblemente altera el funcionamiento normal en las células intersticiales (Leydig) del testículo como consecuencia de deficiencia de yodo, provocando una baja del nivel de andrógenos (1,2,3,4,5,6,8,9,10,23,28).

SWANSON y BOATMAN (28) estudian los efectos del hipotiroidismo inducido en el toro por administración de tiouracilo.

DUALDE PEREZ (8) estudia los efectos de las sustancias inhibitoras de la función tiroidea sobre el círculo neuroendocrino.

Los andrógenos testiculares originarios de las células intersticiales de Leydig, influenciadas por la hormona LH hipofisaria y ésta, a su vez, por el factor de liberación GnRH hipotalámico, conjuntamente con las hormonas de tiroides y suprarrenales moldean el organismo para que se presente el macho como tal (7,8,18,23,25).

Las células intersticiales del testículo (Leydig), del macho púber, se encuentran en los espacios angulares entre los tubos seminíferos en grupos compactos sin una relación definida con los vasos sanguíneos (3,5,16,18,25,26).

MATERIAL Y METODOS

El trabajo se realizó utilizando testículos de ratas variedad alba y distribuidos en varios grupos:

Dos grupos de ratas de 90 días de vida, uno testigo y el otro que recibió metil-tiouracilo.

Dos grupos de ratas de 140 días de vida, uno testigo y el otro grupo que recibió droga.

Tres grupos de ratas de 90 y 140 días de vida tiroidectomizados en distintos días de nacimiento.

El **metil-tiouracilo** para su administración se suspendía en agua destilada en proporción de 10 mg. x 10 ml. de agua, por tanto 0'015 ml. de esta mezcla llevan 0'015 mg. de **metil-tiouracilo**, administrando 0'015 mg. por g. de peso vivo, valiéndose de sonda endovascular Braum y jeringa de aplicación de insulina, previa sujeción de la rata en tabla especial. Cada segunda fecha en el período de administración de **metil-tiouracilo** se realizaron pesadas corporales.

Para la observación microscópica de tejido testicular se siguieron las normas de MAVIS, HELLER y KOTHARI (14,16).

Una vez extraídos del macho vivo y anestesiado, los testículos se introducían en líquido fijador de CLELAND y posteriormente se procesaban por los métodos convencionales.

La tinción se realizó empleando la mezcla siguiente: Hematoxilina 10'5 g. en 10 c.c. de etanol de 95% y agua destilada 90 c.c., dejando envejecer durante un mes o más. Sulfato amónico férrico al 2'5% en agua. Eoxina al 1% en etanol al 95%.

El conteo de células de Leydig se realizó con microscopio LEITZ-WETZLANZ: objetivo 40, ocular 10, sumando las células que de una forma arbitraria aparecían hasta el borde del campo. Para observar alteraciones celulares se empleó objetivo de inmersión.

Las fotografías se hicieron empleando equipo NIKOL.

RESULTADOS

Grupo gamma 1. Ratas machos de 90 días de vida, los cuales no recibieron ninguna clase de droga:

CONTAJE DE CELULAS DE LEYDIG

Macho 1-1 --- \bar{X} 13'2 = Macho 1-2 \bar{X} 19 = Macho 1-3 \bar{X} 15'1

Macho 1-4 --- \bar{X} 13'7 = Macho 1-5 \bar{X} 16'9

Grupo gamma 2. Ratas machos de 140 días de vida a quienes no se les administró ninguna clase de droga:

Macho 2-1 --- \bar{X} 14'1 = Macho 2-2 \bar{X} 18 = 2-3 -- \bar{X} 19'8

Macho 2-4 -- \bar{X} 16'2 = Macho 2-5 \bar{X} 18'1

Grupo gamma 3. Ratas machos de 90 días de vida a quienes se les administró **metil-tiouracilo** durante los 62 días últimos:

Macho 3-1 -- \bar{X} 10'7 = Macho 3-2 -- \bar{X} 9'7 = Macho 3-3 -- \bar{X} 10'1

Macho 3-4 -- \bar{X} 9 = Macho 3-5 -- \bar{X} 9'3

Grupo gamma 4. Ratas machos de 140 días de edad a quienes se administró **metil-tiouracilo** durante 112 días últimos:

Macho 4-1 -- \bar{X} 7'7 = Macho 4-2 -- \bar{X} 7'7 = Macho 1'3 4-3 -- \bar{X} 9'4

Macho 4-4 -- \bar{X} 9'1 = Macho 4-5 -- \bar{X} 8'2

Grupo gamma 5. Ratas machos de 90 y 140 días de vida y tiroidectomizados en distintos periodos de tiempo.

Subgrupo gamma 5.1: Ratas de 90 días de edad y tiroidectomizados a partir del 60 día de vida.

Macho 5.1.2 -- \bar{X} 12'6 = Macho 5.1.2 -- \bar{X} 13 = Macho 5.1.3 - \bar{X} 14'5

Macho 5.1.4 -- \bar{X} 11'1 = Macho 5.1.5 -- \bar{X} 16'9 = Macho 5.1.6 -- \bar{X} 12'7

Macho 5.1.7 -- \bar{X} 14'5

Subgrupo gamma 5.2: Ratas machos de 90 días de edad y tiroidectomizados a los 30 días de vida.

Macho 5.2.1 -- \bar{X} 9 = Macho 5.2.2 -- \bar{X} 8'8 = Macho 5.2.3 -- \bar{X} 9'5

Macho 5.2.4 -- \bar{X} 9'2 = Macho 5.2.5 -- \bar{X} 9'8 = Macho 5.2.6 -- \bar{X} 9

Subgrupo gamma 5.3: Ratas machos de 140 días de edad y tiroidectomizados a partir del 28 día de vida (112 días):

Macho 5.3.1 - \bar{X} 8'5 = Macho 5.3.2 -- \bar{X} 7'7 = Macho 5.3.3 - \bar{X} 7'8

Macho 5.3.4 - \bar{X} 7'2 = Macho 5.3.5 - \bar{X} 7'2 = Macho 5.3.6 -- \bar{X} 7'1

Macho 5.3.7 -- \bar{X} 7'3 = Macho 5.3.8 - \bar{X} 7'2 = Macho 5.3.9 -- \bar{X} 7'1

Variable	N.º	MEDIA X	Desviación Standar
Gamma 1	50	15,3800	4,22282
Gamma 3	50	9,76000	2,73720
Gamma 2	50	17,2400	4,72320
Gamma 4	50	8,60000	2,98294
Gamma 5-1	70	13,6143	3,51516
Gamma 5-2	60	9,16667	1,41621
Gamma 5-3	90	7,44444	1,64973

ANALISIS COMPARATIVO ENTRE LAS VARIABLES

Gamma 1 frente a Gamma 3:

Computed T statistic	Nivel de significación	α
7.8968	4.18932E-12	● ● ● ≤ 0,001

Gamma 2 frente a Gamma 4:

Computed T statistic	Nivel de significación	α
10.9364	0	● ● ● $\leq 0,001$

Gamma 1 frente a Gamma 5-1:

Computed T statistic	Nivel de significación	α
2.49309	0,0140501	● $\leq 0,01$ 0,05

Gamma 1 frente a Gamma 5-2:

Computed T statistic	Nivel de significación	α
10.7058	0	● ● ● $\leq 0,001$

Gamma 2 frente a Gamma 5-3:

Computed T statistic	Nivel de significación	α
17.8531	0	● ● ● $\leq 0,001$

- ● ● Diferencia significativa a $\alpha \leq 0,001$
- ● Diferencia significativa a $0,00 \leq \alpha \leq 0,01$
- Diferencia significativa a $0,01 \leq \alpha \leq 0,05$

DISCUSION

Los valores hallados en el conteo de células de Leydig en cortes de testículos de ratas a quienes se administró metil-tiouracilo y otros tiroidectomizados, nos lleva a considerar que el metil-tiouracilo y la tiroidectomía causan alteraciones en el normal fisiologismo de dichas células de Leydig por mecanismos en los que entra en funcionamiento el yodo. Alteraciones que influyen en el desarrollo y fisiologismo normal de dichas células intersticiales disminuyendo la producción de andrógenos (5).

La baja de andrógenos es propiciada por la ausencia de protección de las células de Leydig por el factor L H hipofisario sumado este trastorno a la falta de yodo (27).

Desde la perspectiva funcional, DUALDE; GUYTON; FRANKLIN; FOZ (8,9,10,12), en las células tiroideas el yodo se une al aminoácido tirosina, dando origen a dos sustancias mono y dialogenadas monodiiodotirosina (MIT) y la diiodotirosina (DIT). Posteriormente se producirá el acoplamiento de éstas: una molécula de MIT con una de DIT constituirá la triiodotironina (T3) y si son dos de DIT las que se unen se formará la tetraiodotironina o tiroxina (T4).

Los tiouracilos y los derivados del imidazol inhiben la oxidación del yoduro y compiten por el yodo inorgánico con la tirosina contenida en la tiroglobulina que por este

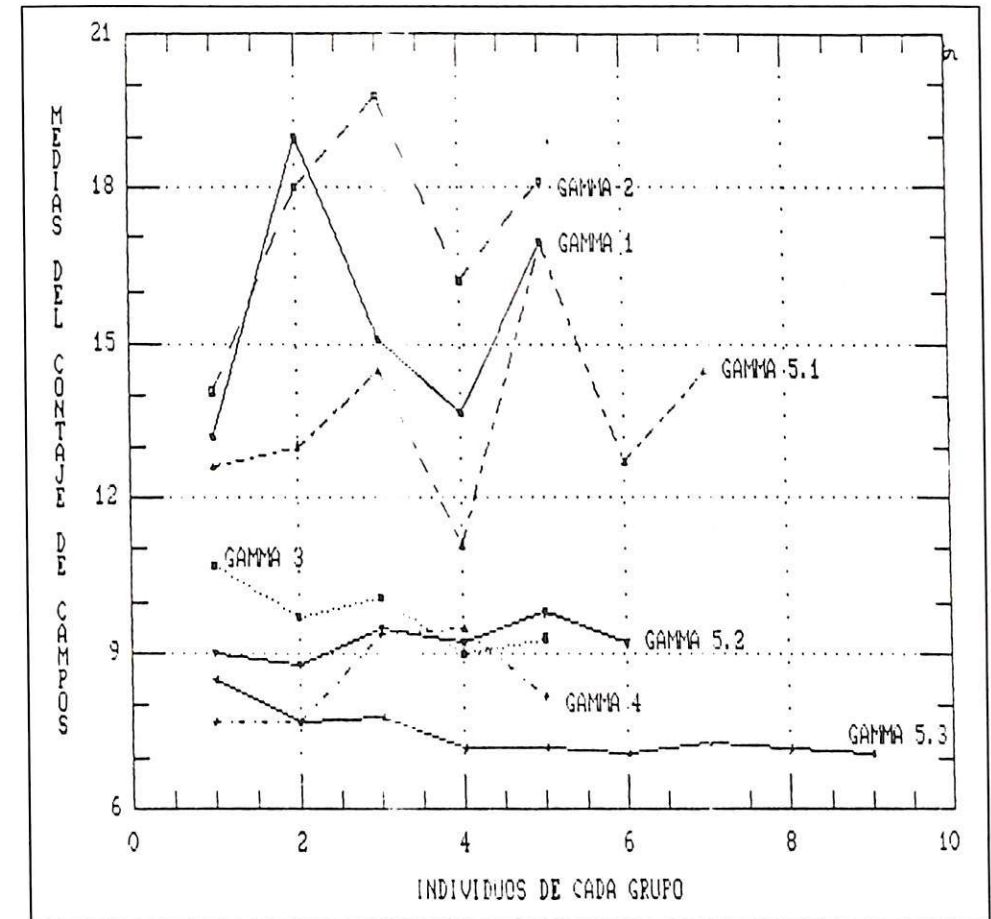
mecanismo competitivo no se puede yodar. Por tanto, no se puede formar ni mono ni diiodotirosina.

Comentaremos a continuación los valores hallados en los grupos experimentales:

El grupo gamma 3, las ratas de 90 días de edad a quienes se les administró metil-tiouracilo durante los 62 días últimos, disminuyó el número de células de Leydig un 37,4%, aunque los andrógenos han seguido actuando según se comprueba en el desarrollo ponderal de vasículas seminales y lóbulo anterior de próstata.

Como alteraciones histológicas, encontramos células degeneradas de citoplasma poco eosinófilo y núcleos semipicnóticos y arrugados; mitosis de las células intersticiales. Existe un edema entre el escaso tejido intersticial. Foto 3.

El grupo gamma 4, ratas machos de 140 días de vida, las cuales recibieron metil-tiouracilo durante 112 días últimos, se aprecia una disminución muy significativa de células de Leydig, manifestando muchas de estas células núcleo pequeño, arrugado a veces picnótico, citoplasma poco aparente, todo lo cual hace corresponder una inactivación progresiva. Al mismo tiempo aparece edema con proliferación de vasos sanguíneos y abundancia de glóbulos blancos y edema intersticial. Foto 4.



La gráfica manifiesta claramente un número alto de células de Leydig en los grupos 1, 2, (5.1) y un número bajo en 3, 4, (5.2), (5.3).

El grupo gamma 5-1, el número de células se puede considerar poco disminuido, por tanto no significativo. Los núcleos, citoplasma y tejidos limítrofes no manifiestan alteraciones aparentes.

El grupo gamma 5-2, las ratas machos de 90 días de vida y tiroidectomizados a partir del 30 día de edad; el número de células disminuyó 40'6%. Las células de Leydig presentan citoplasma poco aparente y los núcleos son pequeños y arrugados. En la mayor parte de los espacios intertubulares aparecen vasos sanguíneos. Foto 5.

El grupo gamma 5-3, ratas machos de 140 días de edad, tiroidectomizados durante 112 días (a partir del 28 de vida), el número de células de Leydig disminuyó muy significativamente 56'9%. Los núcleos pequeños y arrugados, citoplasma muy poco aparente. Se aprecia un gran edema intersticial, que deja espacios amplios entre los tubos seminíferos, en cuyo seno existe un abundante infiltrado inflamatorio que estimularía la división celular, hecho que concuerda con los trabajos de MAXIMOW y BLOOM. Foto 6.

El número reducido de células de Leydig, tanto en la administración de metiltiouracilo como en la tiroidectomía, es debida a la falta de yodo, lo mismo que las alteraciones histológicas de dichas células (12,29).

BIBLIOGRAFIA

- 1) ASTWOOD, E.B. (1943).- The chemical nature of compounds which inhibit the function of the thyroid gland. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*: 78; 79-81.
- 2) BELCHETZ, P.E.; GREDLEY; D. BIRD and R.L. HIMSWORTH (1978).- Regulation of thyrotropin secretion un negative feedback of triiodothyronine on the hypothalamus. *J. Endocrinol.* 76; 439-440.
- 3) BELL, J.M.; BENJAMIN, B.R. and GIOVANETTI, P.M. (1972).- Histopathology of thyroids and livers of rats and mice fed diets containing Brassica glucosinolates. *J. Anim. Sci.* 52: 395-406.
- 4) BRUNI, J.F.; MARSHALL, S.; DIBBET, J.A. and MEITES, J. (1975).- Effects of hyper and hypothyroidism on serum LH and FSH levels in intact and gonadectomized male and female rats. *Endocrinology.* 75: 558-562.
- 5) CHRISTENSEN, A.K. (1975).- Leydig cells.- En: *Handbook of Physiology.- Endocrinology.* 5: 57-94.
- 6) CONNELL, C.J.- Effect of LH on the ultrastructure of the Leydig cells of the chick. *Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 128: 139-151.
- 7) DERIVAUX, J. (1979).- *Reproducción de los animales domésticos.* Editorial Acribia. Zaragoza: 59-80.
- 8) DUALDE PEREZ, D. (1990).- Aportaciones al conocimiento de los Efectos de las Substancias inhibidoras de la Función Tiroidea sobre el Círculo Neuroendocrino. *Tesis Doctoral.* Universidad de Valencia: 27, 29.
- 9) FOZ, M. (1988).- Enfermedades del tiroides: En *Medicina Interna p. FARRERAS VALENTI* et al: Ediciones Doyma, S.A.: Barcelona 1836-1888.
- 10) FRANKLIN, A.L.; LERNER, S.R.; CHAICOFF, I.L. (1944).- The effects of thiouracil on the formation of thyroxine and diiodothyrosine by the thyroid gland of the rat, with radioactive iodine, indicator. *Endocrinology.* 24: 265-267.
- 11) GUPTA, P.S.P.; SAIWAL, P.C.; VARSHNEY, V.P. (1990).- Induction of hypothyroidism in goats by parenteral administration of antithyroid drugs. *Small Ruminant Research*: 3: 179-186.
- 12) GUYTON, A.C. (1988).- *TRATADO DE FISILOGIA MEDICA.* Edit. Interamericana. Madrid. 308-311.
- 13) HAM, A. y CORMACK, D.H. (1983).- *Tratado de Histología.* Edit. Interamericana; México: 882-894.

- 14) HELLER, C.G.; LALLI, MF; PEARSM, J.E.; LEACH, D.R. (1971).- Method of the quantification of Leydig cells in man: *J. Reprod Fert* 25: 177-184.
- 15) HWANG-BO, J.; MURAMATSU, T.; OKUMURA, J. (1990).- Research note: age dependency of triiodothyronine induced thermogenesis in young, chicks: inhibition by propylthiouracil. *Poultry Science.* 69: 1599-1606.
- 16) KOTARI, L.K.; GUPTA, A.S. (1974).- Effect of ageing in the volume, structure total Leydig cells content in the human testis. *J. Fert.*; 19: 140-146.
- 17) LO, M.T. y BELL, J.M. (1972).- Effects of various dietary glucosinolates on growth feed intake, and thyroid function of rats. *J. Anim. Sci.* 52: 299-302.
- 18) Mc DONALD (1978).- *Reproducción y Endocrinología Veterinarias.* Editorial Interamericana S.A.; México: 14, 30, 204.
- 19) MERCIER, C. (1983).- The problem of thyroid antagonist in animal husbandry. *These, Ecole National Veterinaria d'Alfor.*
- 20) MRUGALLA, U. (1987).- Histometric studies of the thyroid in rats afer treatment with a antagonist (methylthiouracil) whith reference to dose, fixation, staining and different methods of measurement. *Thesis, Tierärztliche Hochschule; Hannover.*
- 21) OSHIDA, H.; NANKIN, H.R.; TROEN, P.; YOSHIDA, Y.; OCHI-AKI (1976).- Leydig cell number, function in infertile men. In: *Testis in Normal Infertile Men; Troen p. Nankin H.R.:* 445-456.
- 22) PACIOS FERNANDEZ, A. (1989).- Alimentos poco frecuentes para vacas lecheras. *Medicina Veterinaria.* 6: 585-596.
- 23) PEREZ y PEREZ, F. (1960).- *Fisiopatología de la Reproducción Animal.* Editorial Científico Médica, Madrid: 23, 30, 31, 35, 36, 40, 145, 339.
- 24) PETERSEN, W.E.; SPIELMAN, A.A.; POMERANY, B.S. y BOYD, W.J. (1941).- Effect of thyroidectomy upon sexual behavior of the male bovine. *Proc. Soc. Expt. Biol. Med.*; 46: 16-17.
- 25) RUDER, H.J.; LOSTAUX, D.L.; SHERINS, R.J.; LIPSETT, M.B. (1974).- Leydig cell function in men with disorders of spermatogenesis. *J. Clin. Endocr. Metab.* 38: 244-247.
- 26) RUSSO, J.; SACERDOTE, FL.- Ultrastructural changes induced by HCG in the Leydig cells of the adult mouse testis. *Z. Zellforsch mikrosk. Anat.* 112: 363-370.
- 27) STOSIC-BOGDANOVIC, N.; BAJIC, A. (1988).- The spermatogenic epithelium of juvenile rats after administeryn propylthiouracil (PTU) to their dans during pregnancy. *Veterinarski Glasnik*; 42: 501-508.
- 28) SWANSON, E.W. y BOATMAN, J.P. (1953).- The effects of thiouracil feeding upon the seminal characteristics of dairy bulls. *J. Dairy Sci.*; 36: 246-252.
- 29) VENZIN, I.; BLUM, J.; CRAMER, F.; EHRENSPERGER, F.; LUTZ, H. (1986).- Misuse of thyroid antagonists in cattle; thyroxine assay, thyroid gland weight and methylthiouracil assay. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde.* 128: 443-458.

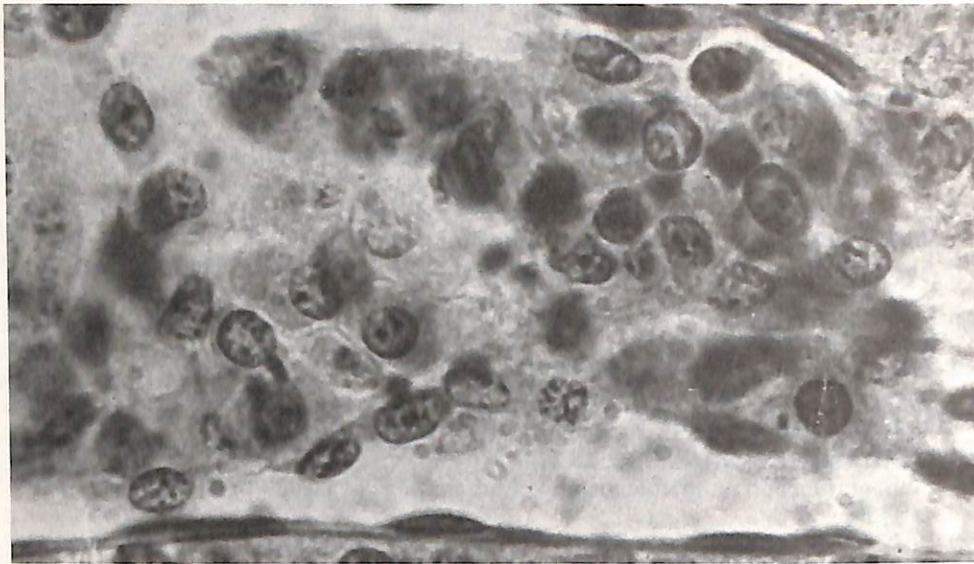


FOTO 1.- Corte de testículo de rata de 90 días de edad con alimentación normal, sin ninguna droga. Células de Leydig con núcleo normal. Citoplasma eosinófilo. Vaso con eritrocitos.

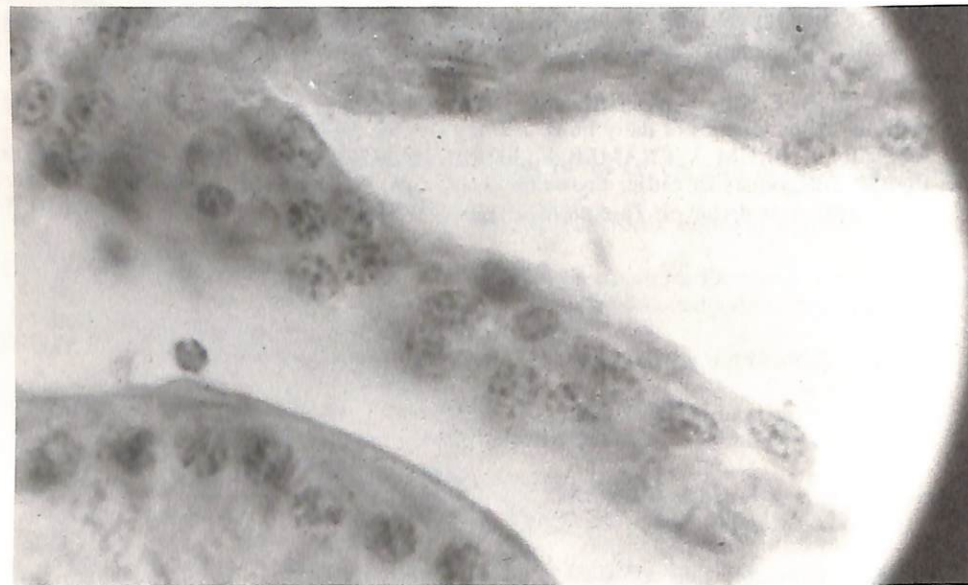


FOTO 2.- Corte de testículo de rata de 140 días de edad con alimentación normal, sin ninguna droga. Células de Leydig con apariencia normal (con grupos de cromatina y nucleolos). Citoplasma eosinófilo.



FOTO 3.- Corte de testículo de rata de 90 días de edad a quienes se administró metil-tiouracilo durante los 60 últimos días. Mitosis en célula intersticial (Leydig).

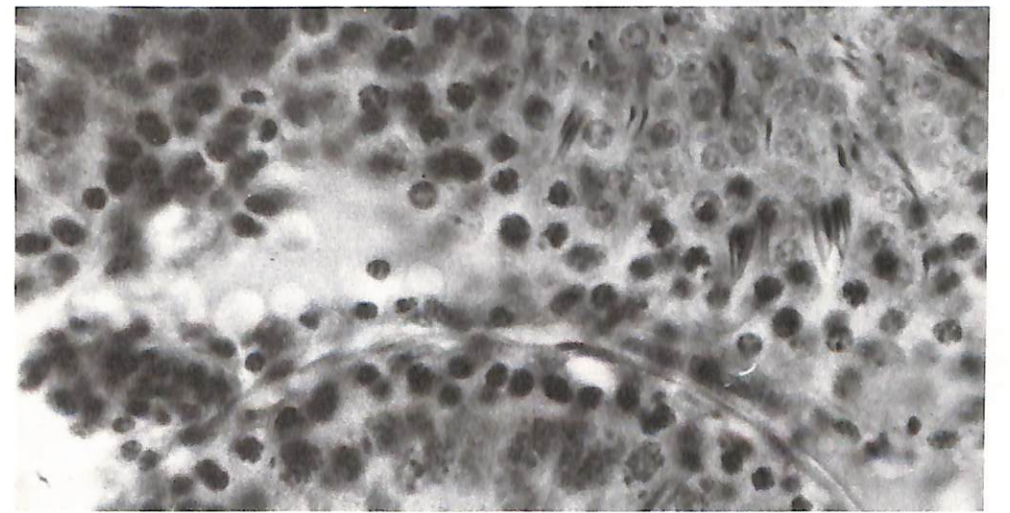


FOTO 4.- Corte de testículo de rata de 140 días de edad a quienes se administró metil-tiouracilo durante los 112 últimos días. Células intersticiales (Leydig) escasas y núcleo denso. Edema. Vaso con abundantes eritrocitos.

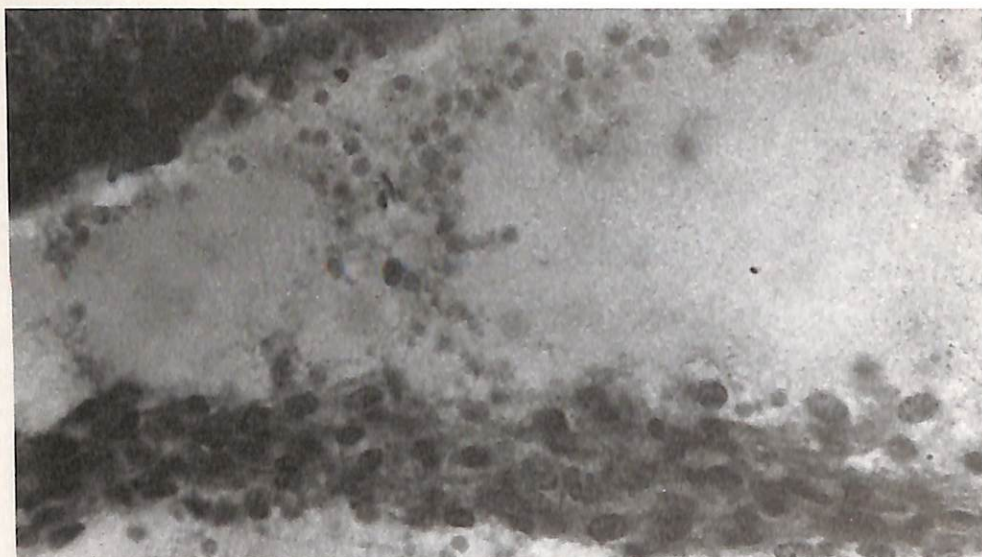


FOTO 5.- Corte de testículo de rata de 90 días de edad y tiroidectomizado a los 30 días de vida. Células de Leydig normales y otras con núcleos densos. Vasos sanguíneos.

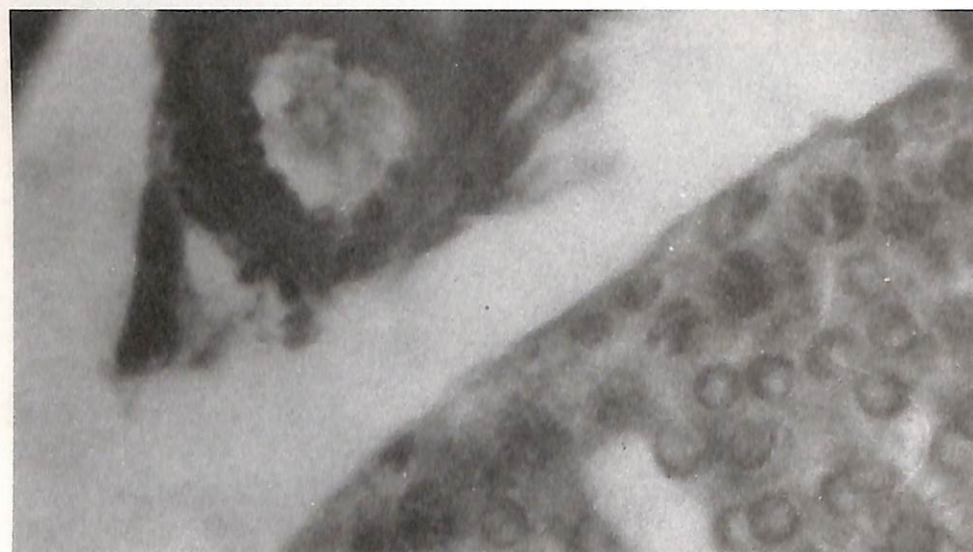


FOTO 6.- Corte de testículo de rata de 140 días tiroidectomizado a partir de los 28 días de vida. Degeneración nuclear. Citoplasma poco eosinófilo en células de Leydig. Amplio edema intersticial.

EFFECTOS DEL MEDIO DE RECUPERACION SOBRE LA RESPUESTA AL CALOR DE *Bacillus stearothermophilus*.

(EFFECTS OF RECOVERY MEDIA ON HEAT RESISTANCE OF *Bacillus stearothermophilus*).

I. González Martínez,*
M. López Fernández,*
A. Bernardo Alvarez,*
J. González Prieto,*
y R. Martín Sarmiento*

Key words: *Bacillus stearothermophilus*, heat resistance.

Palabras clave: *Bacillus stearothermophilus*, termorresistencia.

SUMMARY

The effects of various recovery media: nutrient agar (NA), dextrose tryptone agar (DTA), antibiotic assay medium (AAM) and tripticase soy agar (TSA) on survival counts and D_T and z values of heat treated spores of *B. stearothermophilus* were studied. NA, DTA and AAM provided very similar results in recoveries, D_T and z , while, when TSA was used, a few higher z values and a 50% lower counts and D_T values were obtained.

The presence of sodium chloride in the plating media decreased the levels of recovery and D_T values. Failure of different lots of nutrient agar to support the growth of *B. stearothermophilus* was due to a calcium deficiency in the medium.

RESUMEN

Se ha estudiado la influencia de varios medios de subcultivo: agar nutritivo (NA), medio de ensayo de antibióticos (AAM), agar dextrosa triptona (DTA) y agar tripticasa soja (TSA), con y sin almidón, sobre la respuesta al calor de *B. stearothermophilus*. Nuestros resultados indican que la utilización de NA, DTA ó AAM tiene poca influencia sobre la recuperación y sobre los valores D_T y z , mientras que con TSA se obtienen recuentos y valores D_T en torno a un 50% más bajos y un valor z algo más alto, lo que se debe a la presencia de cloruro sódico en este medio.

* Dpto. de Higiene y Tecnología de los Alimentos. Universidad de León.

An. Fac. Vet. León. 1991, 37, 29-40