

EFFECTES DE L'ADMINISTRACIÓ CRÒNICA DE TRH A LA RATA *

Comunicació presentada el dia 30 de gener de 1978
a les I Jornades d'Endocrinologia de la S.C.B.

per

ROSER IGLESIAS, MIQUEL LLOBERA i ELADIO MONTOYA

Càtedra de Fisiologia General. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona

INTRODUCCIÓ

La secreció d'hormones adenohipofisàries és sotmesa a un control precís en el qual intervenen diferents factors. D'aquests sistemes de control, la tirotròpina (TSH) deu ésser un dels més ben coneguts. La secreció d'aquesta hormona és influïda, d'una banda i d'una manera positiva, per l'hormona hipotalàmica alliberadora de tirotròpina (TRH), i de l'altra per la modulació que els nivells d'hormones tiroïdals circulants — T_4 i T_3 — en la seva forma lliure, exerceixen directament sobre la síntesi i l'alliberament de TSH a nivell de la cèl·lula tirotròpica.

Tant en situacions experimentals com en la clínica humana, hom pot comprovar que nivells baixos d'hormones tiroïdals circulants comporten l'elevació del TSH plasmàtic en un intent de reestablir l'equilibri tiroïdal mentre que nivells alts de les esmentades hormones frenen la secreció de TSH hipofisari, sense que s'hagi pogut demostrar la participació del TRH hipotalàmic en aquest mecanisme de control¹.

La síntesi química de TRH ha fet possible que pugui ser administrat tant a pacients com a animals d'experimentació i que constitueixi un dels tests decisius per al diagnòstic dels diferents estats tiroïdals patològics. L'administració endovenosa d'aquesta hormona produeix en els éssers humans una ràpida i transitòria elevació dels nivells plasmàtics de TSH i de prolactina (PRL)^{2,3} i d'hormona de creixement (GH) en alguns casos patològics com l'acromegàlia i la insuficiència renal crònica⁴. No han estat posades de manifest elevacions en els nivells circulants de les hormones foliculoestimulant (FSH) i luteotropa (LH)⁵.

* Realitzat amb una ajuda de la Fundació Eugenio Rodríguez Pascual.

La rata també és sensible a l'administració aguda de TRH, puix que presenta una elevació en els nivells de TSH circulants similar a la dels humans. La PRL només augmenta en aquests animals quan prèviament han estat tractats amb estrògens⁶ o quan l'hormona és administrada en el proestre. Així mateix hom ha observat elevació en els nivells de GH circulant, però només en animals anestesiats amb uretà i després de l'administració de dosis molt altes de l'hormona⁷.

En el present treball hem volgut estudiar els efectes de l'administració crònica de TRH en rates d'ambdós sexes. Com que la degradació perifèrica d'aquesta hormona és extraordinàriament ràpida⁸, hem utilitzat dosis enormes —aproximadament deu mil vegades superiors a les necessàries per produir una resposta aguda— amb la finalitat de mantenir uns nivells alts de TRH circulant.

Els resultats que presentem aquí són els previs d'un estudi en el qual es pretén analitzar els efectes d'aquesta hormona sobre els nivells circulants i hipofisaris de TSH, GH i PRL. Creiem que aquest estudi ens permetrà aclarir alguns aspectes importants sobre el paper del TRH en la síntesi i secreció d'aquestes hormones.

MATERIAL I MÈTODES

1) *Animals*. Hem utilitzat rates Sprague-Dawley d'ambdós sexes. Quan presentaven un pes de 50-75 g foren tiroïdectomitzades quirúrgicament per la tècnica de ZARROW⁹, mentre que els controls foren falsament tiroïdectomitzats. Dos dies després de la intervenció es distribuïren en els següents grups:

- a) C: Controls. Animals falsament tiroïdectomitzats.
- b) T+0: Animals tiroïdectomitzats.
- c) T+30: Animals tiroïdectomitzats als quals els fou subministrada aigua per beure que contenia 30 µg de T₄/10 ml.

A més a més existiren els mateixos grups anteriors, però subministrant-los 2 mg de TRH/10 ml d'aigua per beure.

- d) C + TRH.
- e) T + O + TRH.
- f) T + 30 + TRH.

Els animals estigueren sotmesos a la dieta normal del nostre planter i s'utilitzà aigua destil·lada com a beguda. Les solucions anteriors de tiroxina i TRH es prepararen diàriament partint de solucions concentrades congelades. L'aigua els fou subministrada en ampolles negres a fi d'evitar la desiodació de la T₄.

Hom seguí la corba de pes d'aquests animals experimentals, mitjançant pesada cada tres dies i, finalment, als 37 dies de la tiroïdectomia foren sacrificats (10 h mati) per decapitació.

2) *Mostres.* Les hipòfisis foren pesades ràpidament, dipositades en tubs que contenien 500 ml de NaOH 0,01 N i homogeneïtzades mitjançant sonicació. Després de ser centrifugades, el sobrenedant fou guardat a -20° C.

Els hipòtals, un cop dissecats, foren introduïts en tubs prèviament posats al bany maria que contenien 1 ml de tampó fosfat (0,01 M) salí (0,15 M), pH 7,4. En aquestes condicions romangueren durant 15 minuts a fi d'inactivar totalment l'activitat TRH-degradant. Un cop refredats, foren homogeneïtzats per sonicació. Els sobrenedants, després de ser centrifugats foren guardats a -20° C.

3) *Anàlisis.* El TRH hipotalàmic fou mesurat per RIA, utilitzant un anticòs obtingut per nosaltres en conills mitjançant la injecció d'un conjugat d'albumina de sèrum bovina-TRH sintètic (Beckman).

El TSH hipofisari fou també mesurat per RIA, utilitzant els reactius fornits pel NIAMDD.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

És conegut l'efecte que sobre el creixement de la rata té la tiroïdectomia al principi del seu desenvolupament¹⁰. En la figura 1 hi ha representats els pesos dels diferents grups d'animals estudiats aquí (mascles). Pot observar-se clarament que, després de la intervenció, l'augment de pes dels animals s'alenteix en el grup T+0, i comencen a aparèixer diferències estadísticament significatives respecte als controls a partir dels 11 dies, diferències que s'accentuen extraordinàriament amb el pas del temps, ja que mentre els controls (C) segueixen una línia ascendent, els T + 0 s'estabilitzen en un plató. Els animals hipertiroïdals (T + 30) segueixen una corba molt similar a la dels controls, bé que al final de l'experiment els pesos eren lleugerament menors als dels controls a causa dels efectes catabòlics de les altes dosis d'hormona tiroïdal.

L'administració de TRH a aquests animals produí canvis interessants en la corba de creixement en el grup T + 0, però no modificà la dels altres grups (C + TRH i T + 30 + TRH).

Les femelles segueixen corbes de pes totalment similars des d'un punt de vista qualitatiu, a les dels mascles. El mateix fenomen de l'augment de pes fou observat en el grup T+0+TRH envers el T+0 (fig. 2).

Aquests canvis en el pes dels animals comporten canvis paral·lels en la seva grandària mesurada en el moment del sacrifici, per la distància mor-

ro-començament de la cua. En la figura 3 es representa aquest paràmetre, i es pot observar la mesura més petita del grup T+0, altament significativa estadísticament respecte als controls normals. El tractament amb TRH produí un augment de creixement en aquest grup (T+0), també molt significatiu, bé que no el modificà a la resta dels grups. Les femelles es comportaren d'igual forma (fig. 4).

Els pesos absoluts de les hipòfisis en les rates mascle foren menors en T+0, com correspon a la seva menor grandària corporal, i es produí un augment d'aquesta glàndula amb el tractament amb TRH (fig. 5). Els animals del grup T+30 presentaven un pes menor que el dels controls, i els valors en cap d'aquests dos grups no es modificaren amb el tractament amb TRH.

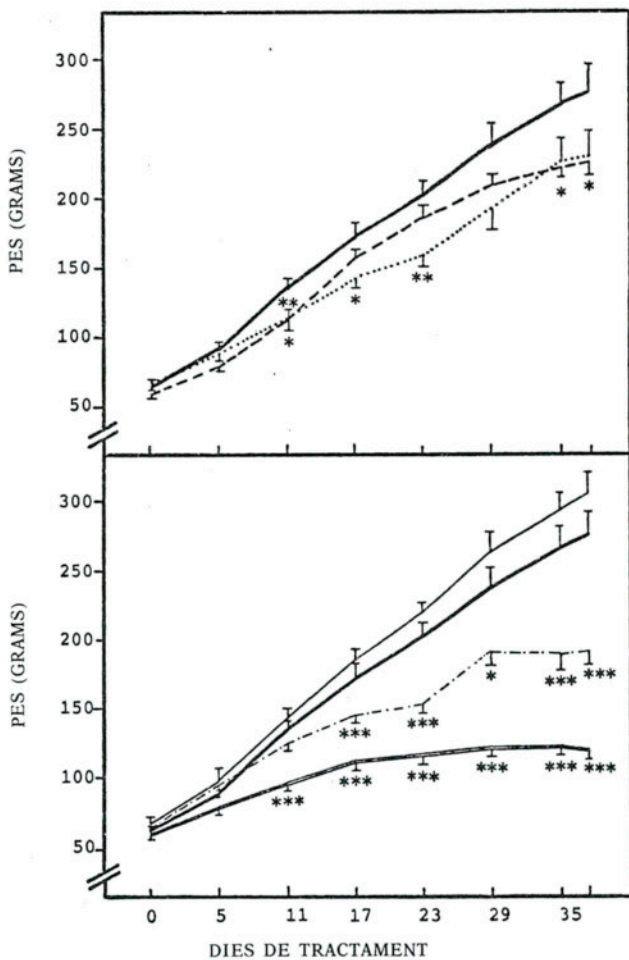
Quan es representen els pesos relatius (mg d'hipòfisi/100 g de pes corporal) (fig. 6) es pot apreciar que els animals del grup T+0 i T+0+TRH presenten valors més alts que els que correspondrien en relació al seu pes, i la seva comparació estadística amb els controls resulta molt significativa.

Els canvis que apareixen en els grups de femelles són molt similars als dels mascles, tant per als valors absoluts (fig. 7) com per als relatius (figura 8).

Aquests resultats respecte al pes i creixement de la hipòfisi ens fan pensar que el tractament amb TRH en els nostres animals hipotiroïdals pot augmentar el creixement corporal per dos mecanismes diferents, cap dels quals no ha estat descrit fins al moment present. D'una banda podria ésser degut a la contínua i primerenca activació de les cèl·lules tirotropes hipofisàries, les quals activarien la secreció de TSH més ràpidament que en els grups T+0, la qual cosa permetria una ràpida regeneració de les petites restes de tiroïdes que haguessin pogut quedar i mantenint-se d'aquesta forma una petita però important síntesi d'hormones tiroïdals. En segon lloc hi cap la possibilitat que el TRH estigui influïent d'una forma positiva la síntesi d'hormona del creixement, molt disminuïda en els animals hipotiroïdals¹⁰.

Fig. 1.

EFFECTE DE LA TIROIDECTOMIA I ADMINISTRACIÓ DE L-T₄ I TRH SOBRE EL PES CORPORAL EN RATES MASCLE



—	C	—	T+0
—	C+TRH	- - -	T+30
- - -	T+0+TRH	T+30+TRH

N = 9 - 12 ANIMALS/GRUP

p versus C : *** = p < 0,001

** = p < 0,01

* = p < 0,05

Fig. 2.

EFFECTE DE LA TIROYDECTOMIA I ADMINISTRACIÓ DEL L-T₄ I TRH SOBRE EL PES CORPORAL EN RATES FEMELLA

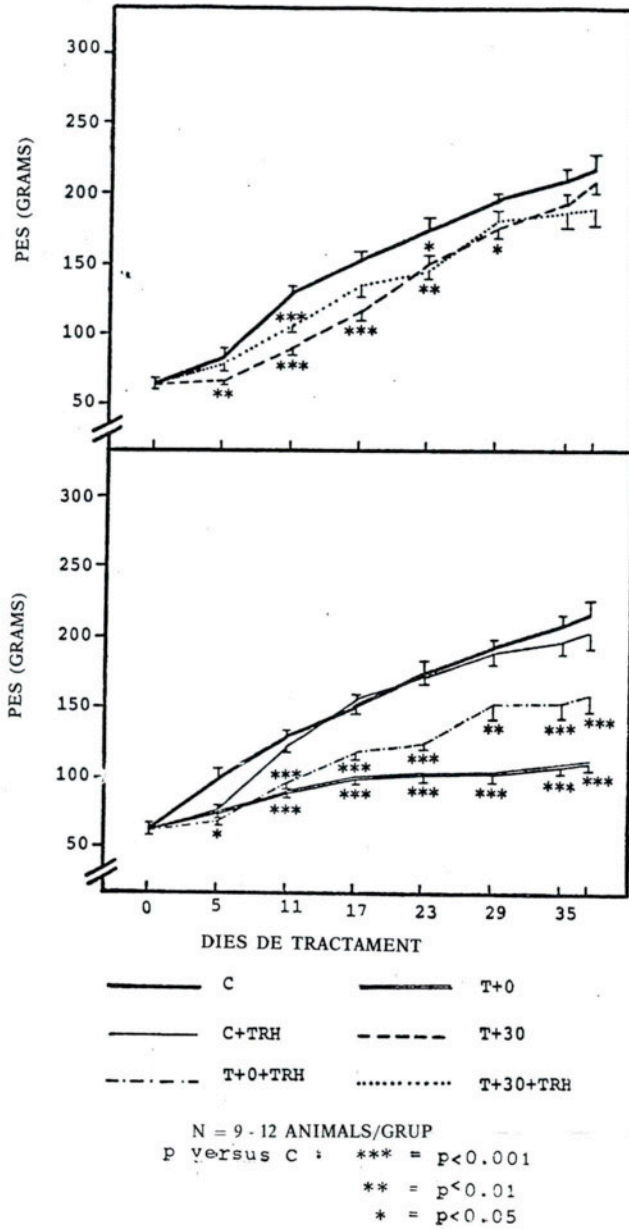
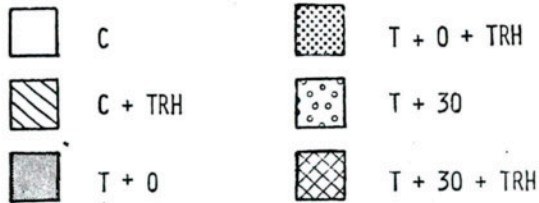
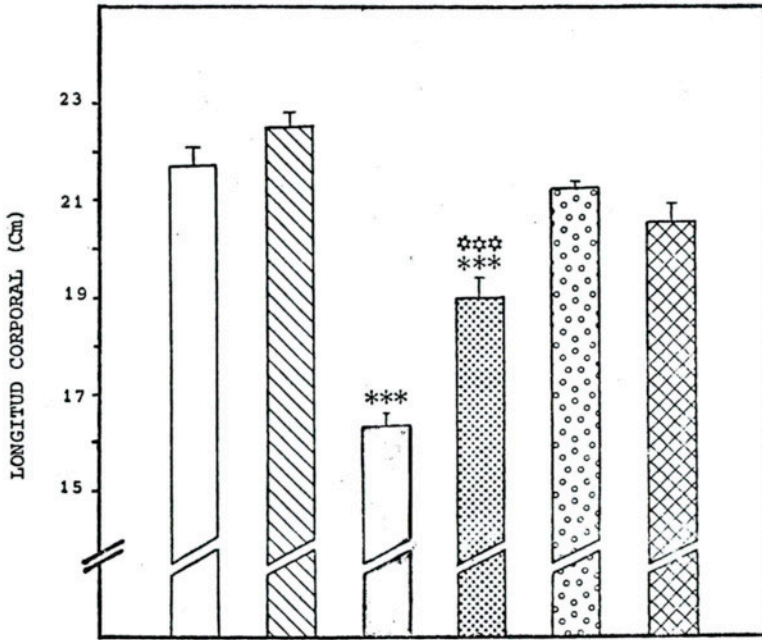


FIG. 3.

EFFECTE DE LA TIROIDECTOMIA I ADMINISTRACIÓ DE L-T₄ I TRH SOBRE LA LONGITUD CORPORAL EN RATES MASCLE



N = 9-12 ANIMALS/GRUP

p versus C :***= p<0.001

**= p<0.01

*= p<0.05

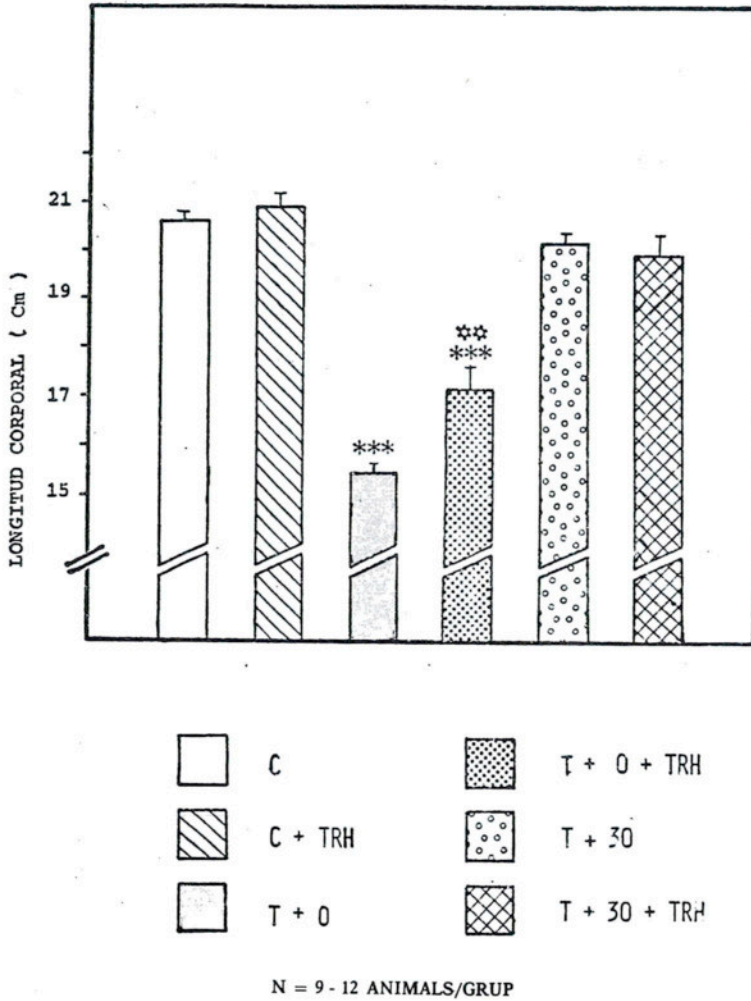
p versus +TRH:****= p<0.001

***= p<0.01

**= p<0.05

Fig. 4.

EFFECTE DE LA TIROIDECTOMIA I ADMINISTRACIÓ DE L-T, I TRH
 SOBRE LA LONGITUD CORPORAL EN RATES FEMELLA



p versus C :***= $p < 0.001$ · p versus +TRH:***= $p < 0.001$

**= $p < 0.01$

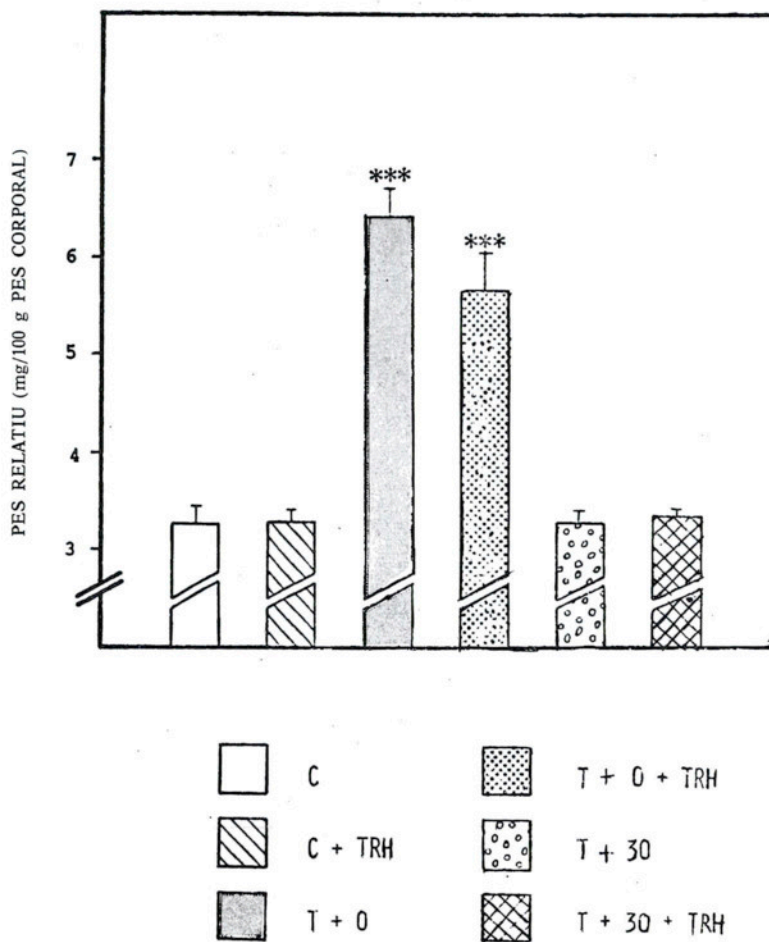
**= $p < 0.01$

*= $p < 0.05$

*= $p < 0.05$

FIG. 6.

EFFECTE DE LA TIROYDECTOMIA I ADMINISTRACIÓ DE L-T₄ I TRH
 SOBRE EL PES RELATIU DE LA HIPOFISI EN RATES MASCLE



N = 9 - 12 ANIMALS/GRUP

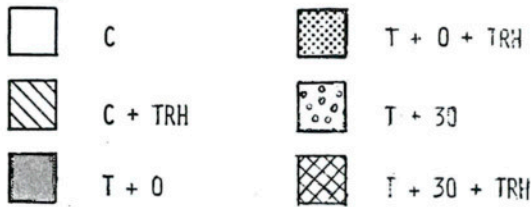
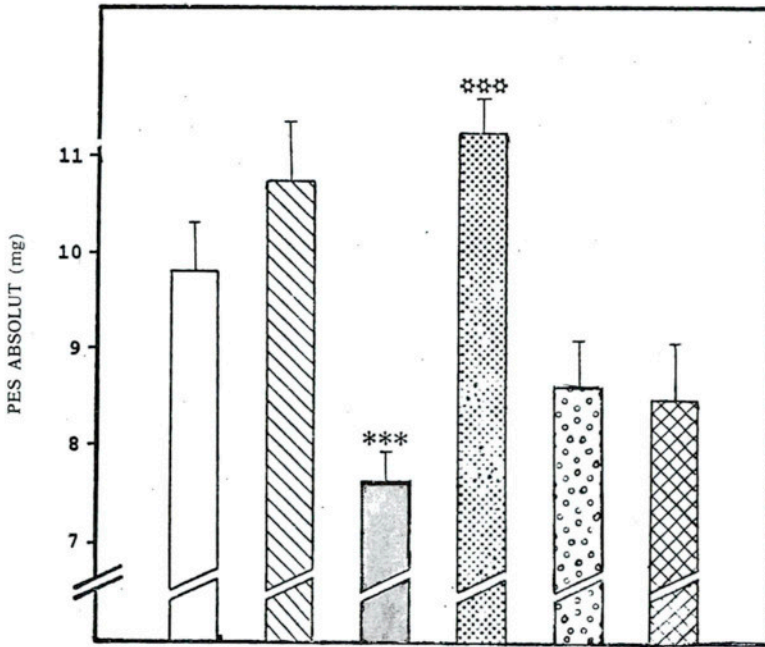
p versus C : *** = $p < 0.001$

** = $p < 0.01$

* = $p < 0.05$

FIG. 7.

EFFECTE DE LA TIROYDECTOMIA I ADMINISTRACIÓ DE L-T₄ I TRH SOBRE EL PES DE LA HIPOFISI EN RATES FEMELLA



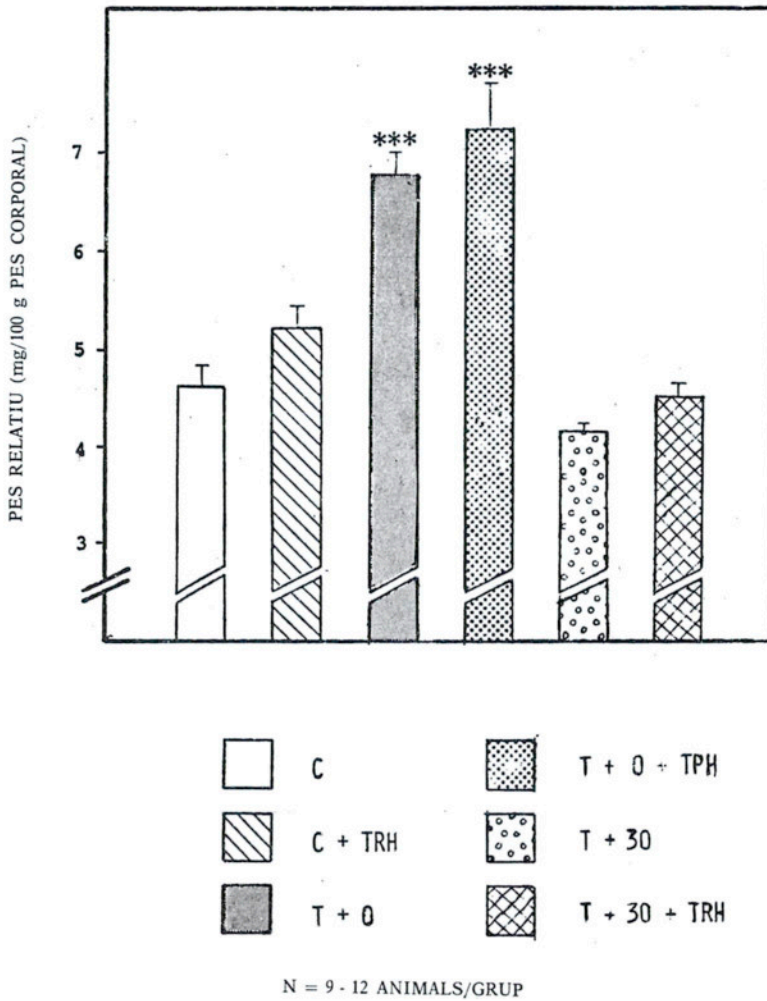
N = 9 - 12 ANIMALS/GRUP

p versus C :***= p<0.001
 **= p<0.01
 *= p<0.05

p versus +TRH:***= p<0.001
 **= p<0.01
 *= p<0.05

FIG. 8.

EFFECTE DE LA TIROIDECTOMIA I ADMINISTRACIÓ DE L-T₄ I TRH
 SOBRE EL PES RELATIU DE LA HIPOFISI EN RATES FEMELLA



p versus C :***= p<0.001

**= p<0.01

*= p<0.05

TAULA I.—Efecte de la tiroïdectomia i administració de L-T₄ i TRH sobre el contingut hipotalàmic de TRH

	Rates mascles		Rates femelles	
	ng	ng/100 g P.C.	ng	ng/100 g P.C.
C	17.73±2.66	6.55±0.87	18.22±1.57	8.59±0.85
C+TRH	18.95±1.40	6.36±0.53	21.66±1.10	10.75±0.52
p	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
T+0	18.68±1.34	16.37±1.53	15.89±0.73	14.52±0.71
p	N.S.	<0.001	N.S.	<0.001
T+0+TRH	14.66±0.73	7.83±0.46	17.54±0.95	11.30±0.71
p	N.S.	N.S.	N.S.	<0.005
p'	N.S.	<0.001	N.S.	<0.001
T+30	17.57±1.36	7.75±0.59	18.43±0.62	9.17±0.65
p	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
T+30+TRH	14.93±0.81	7.29±0.64	18.77±0.61	10.28±0.43
p	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
p'	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

p: v.s.C.

p': v.s. el mateix grup sense TRH.

Amb la finalitat d'estudiar la possible existència d'un mecanisme d'autoregulació hipotalàmic que controli els nivells de TRH en aquest òrgan, hem analitzat els nivells de TRH en hipotàlem. A la taula I hi ha expressats els valor absoluts (ng/hipotàlem) i relatius (ng/100 g de pes corporal) de TRH en els diferents grups de mascles i femelles. Els valors absoluts són similars en tots els grups, però no s'esdevé així amb els relatius, els quals són significativament més alts en els T+0 tant femelles com mascles. En aquests mateixos animals (T+0), els valors relatius són més alts que en els que estan tractats amb TRH, a causa del pes més gran d'aquests darrers. Dades similars a les nostres en animals hipotiroïdals no tractats han estat obtingudes per altres autors¹¹. Per consegüent, d'aquests resultats no podem inferir que existeixi una menor síntesi de TRH en els animals tractats amb aquesta hormona, puix que en els altres grups els nivells hipotalàmics foren similars en els animals tractats i no tractats.

Finalment, hem estudiat els nivells hipofisaris de TSH (taula II). Els nivells d'aquest paràmetre eren més baixos en els grups T+0 que en els

controls, bé que només hi hagué diferències estadísticament significatives en les femelles. Aquest fet estaria en relació amb una secreció de TSH augmentada i, encara que la síntesi també es veu augmentada, el primer procés desbordaria el segon, amb la qual cosa es va produint una depleció de la reserva hipofisària d'hormona. Ben al contrari, els baixos nivells observats en els animals T+30 són el reflex d'una inhibició en la síntesi, exercida pels alts nivells d'hormones tiroïdals circulants. En ambdues situacions, el TRH produeix un augment de la concentració de TSH en hipòfisi, la qual cosa estaria en relació amb un augment de la biosíntesi d'aquesta hormona. És difícil donar una explicació al fet que en els controls, tant mascles com femelles, aquest augment no es produeixi. Podria ser que existissin altres mecanismes postulats per altres autors, com una disminució dels receptors hipofisaris per a TRH¹², o una degradació més gran del TRH administrat¹³, la importància de la qual en aquests animals ens és desconeguda actualment.

L'estudi d'altres paràmetres —PRL, GH, T₃ i T₄— tant al plasma com a la hipòfisi ens permetrà avançar en el coneixement del panorama endocrí d'aquests animals.

TAULA II.— Efecte de la tiroïdectomia i administració de L-T₄ i TRH sobre el contingut de TSH en hipòfisis (UG)

	Rates mascle	Rates femelles
C	1160±96	1235±139.5
C+TRH	1034±101	1177±169.2
pp'	N.S.	N.S.
T+0	892±121	645±149
p	N.S.	N.S.
		<0.01
T+0+TRH	1447±115	1496±111
p	N.S.	N.S.
p'	<0.01	<0.001
T+30	22.5±3.3	28±3.3
p	<0.001	<0.001
T+30+TRH	162±28.9	238±50
p	<0.001	<0.001
p'	<0.01	<0.01
p''	<0.001	<0.001

p: v.s. C.

p': V.S. el mateix grup sense TRH.

p'': T+30+TRH v.s. C+TRH.

BIBLIOGRAFIA

1. MONTOYA, E., SEIBEL, M. J. i WILBER, J. F. — «Endocrinology», 96: 1413 (1975).
2. BOWERS, C. Y., SHALLY, A. V., KASTIN, A. J. i ARIMURA, A. — «J. Med. Chem», 14: 477 (1971).
3. TASHJIAN, A. H., BAROWSKY, N. J. i JENSEN, D. K. — «Biochem. Biophys. Res. Comm.», 43: 512 (1971).
4. MARTÍ, C., VILAPLANA, E., CALLÍS, C. i MONTOYA, E. — Enviat a publicar a «J. Clin. Endocr. Met.».
5. TORJESEN, P. A., HAUG, E. i SAND, T. — «Acta endocrinológica», 73: 455 (1973).
6. LU, K. i MEITES, J. — «Endocrinology», 91: 1540 (1972).
7. KATO, Y., CHIHARA, K., OHGO, S. i HIMURA, H. — «Endocrinology», 96: 1114 (1975).
8. BASSIRI, R. M. i UTIGER, R. D. — «J. Clin. Invest.», 52: 1616 (1973).
9. ZARROW, M. Y., JOCHIN, J. M. i MCCARTY, J. L. — «Experimental endocrinology», Ac. Press., N. Y. (1974).
10. MONTOYA, E. — Tesis Doctoral. Madrid (1972).
11. BASSIRI, R. M. i UTIGER, R. D. — «Endocrinology», 94: 188 (1974).
12. TASHJIAN, A. H. — 57 Annual Meeting of The American Endocrine Society. Nueva York (1975).
13. BAUER, K. — «Nature», 259: 591 (1976).

AGRAÏMENT

Els autors volen expressar el seu agraïment al Sr. Antoni Sànchez Herranz per la seva excel·lent col·laboració tècnica; als Laboratoris Ferrer per la donació dels animals utilitzats; als Laboratoris Prem pel TRH que fou subministrat als animals, i al NIAMDD pel kit de TSH.