

RECEPTORS D'HORMONES SEXUALS EN HIPOFISI I HIPOTALEM DE RATA

Comunicació presentada el dia 1 de febrer de 1978
a les I Jornades d'Endocrinologia de la S.C.B.

per

M. CALVET, J. M.ª GAYA i F. RIVERA FILLAT

Laboratori d'Hormonologia. Departament de Bioquímica. Hospital Clínic i Provincial
i Facultat de Medicina. Barcelona

INTRODUCCIÓ

Aquesta comunicació és el començament d'un estudi sobre la naturalesa, propietats i mecanismes d'acció dels receptors de les hormones sexuals a l'eix hipòfisi-hipotàlem.

Aquest treball comprèn dos tipus d'experiments. L'un té com a objectiu veure si hi ha captació de testosterona, dihidrotestosterona i 17 B estradiol a la hipòfisi i a l'hipotàlem, ja sigui en la seva forma pròpia o bé en forma de metabòlits; l'altre té com a objectiu iniciar un estudi sobre la competitivitat i interacció que pugui haver entre les hormones androgèniques i el 17 B estradiol.

MATERIAL I MÈTODES

En totes les proves s'utilitzaren rates mascles de 21-24 dies, raça de Sprague-Dawley, criades al nostre laboratori. Els animals foren morts per decapitació en tots els casos.

Les hormones radiactives utilitzades eren d'activitats específiques molt altes (93 Ci/mmol per a la testosterona, 127 Ci/mmol per a la dihidrotestosterona i 91 Ci/mmol per al 17 B estradiol) procedents d'Amersham.

Totes les dosis d'aquestes hormones s'injectaren subcutàniament, disoltes en 0,250 ml de sèrum fisiològic amb un 5 % d'etanol.

Prèviament a la realització d'aquestes proves, es féu un assaig tipus «Time course» per al 17 B estradiol en diversos teixits de la rata. Foren

utilitzats lots de cinc animals als quals se'ls injectava, a intervals d'una hora, 0,1 g de 17 B estradiol H-3 entre zero i set hores. Les mostres de teixits eren pesades i després eren digerides en un solubilitzador de teixits. Els resultats es donaven en cpm/mg de teixit (fig. 1). Com es veu a la figura, la captació òptima té lloc entre la primera i tercera hora després de l'administració del 17 B estradiol, tant en hipòfisi com en hipotàlem. S'obtingueren resultats concordants amb els de la bibliografia. Aquesta prova serví per a fixar els paràmetres de temps d'incubació òptim respecte a una quantitat donada de 17 B estradiol per a animals d'aquesta edat.

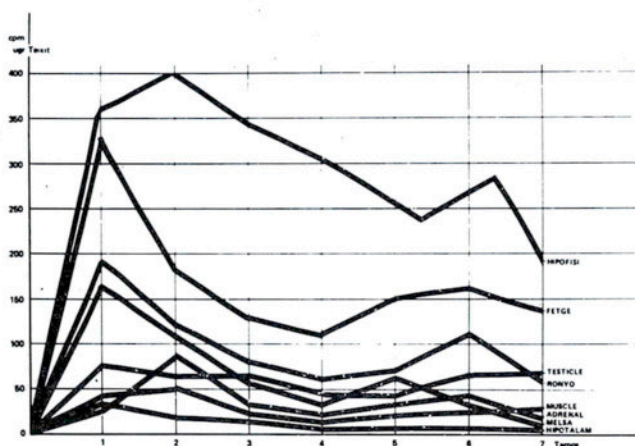


FIG. 1.

En l'experiment tipus 1 s'injectava, en dosis iguals, testosterona, dihidrotestosterona i 17 B estradiol a diferents grups de tres animals, els quals eren sacrificats una hora després. Se'ls extreia la hipòfisi i l'hipotàlem a continuació i els seus òrgans eren pesats. Després es realitzava un homogeneïtzat total resuspenent-lo en *buffer* TRIS 0,01 M, 1 mM EDTA i pH 7,4. D'aquest homogeneïtzat, així com de totes les fraccions que s'obtingueren després es prengueren alíquotes per a la determinació de proteïnes i de radioactivitat. L'homogeneïtzat se centrifugà a $700 \text{ g} \times 10 \text{ min.}$ i se separà el sobrenedant i el pellet. Aquest darrer fou resuspès en 1,2 ml de *buffer* i de 0,5 ml d'aquest es féu una extracció amb KCl

(2 ml). En l'experiment del tipus n.º 2 s'injectaven diferents lots de tres animals diverses dosis (0,1, 1,0 i 5,0 μg) de cada una de les tres hormones a estudiar. Una hora després se sacrificaven i es comptava la radioactivitat en homogeneïtzat total d'hipòfisi i hipotàlem.

Tots els valors representats són les mitjanes de *pools* de tres animals.

RESULTATS I CONCLUSIONS

A la figura 2 es veuen els resultats corresponents a la captació de testosterona, dihidrotestosterona i 17 B estradiol per la hipòfisi en les diferents fraccions processades.

En la figura 3 es veuen els resultats de les mateixes proves referides a l'hipotàlem.

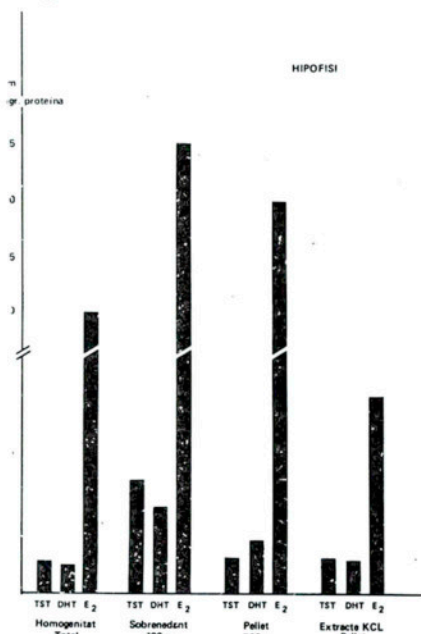


FIG. 2.

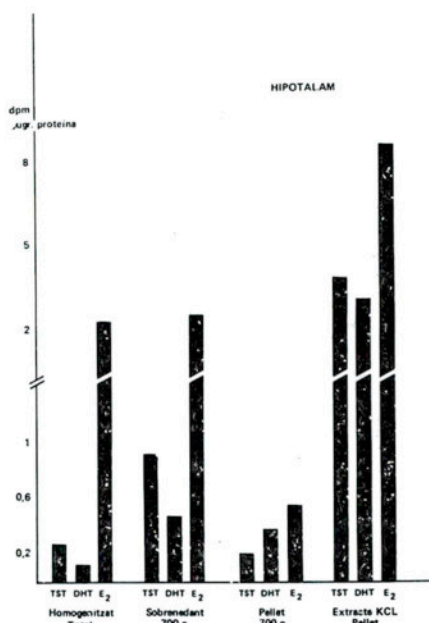


FIG. 3.

A la vista d'aquests resultats podem dir que, efectivament, hi ha una captació de radioactivitat procedent de la testosterona, la dihidrotestosterona i el 17 B estradiol, tant en la hipòfisi com en l'hipotàlem. També s'observa que la captació és molt més gran per al 17 B estradiol que per a la testosterona i la dihidrotestosterona en la hipòfisi, i que per a aquestes dues els nivells de captació són similars.

En l'hipotàlem s'esdevé el mateix, llevat que la relació entre el 17 B estradiol respecte als andrògens no és tan elevada i que en la fase nuclear la dihidrotestosterona sembla que és captada de manera més significativament elevada que la testosterona. Aquests resultats concorden amb els punts de vista sostinguts per molts investigadors sobre aquest tema, segons el qual el 17 B estradiol i la dihidrotestosterona són els agents actius, a nivell nuclear, en aquests teixits.

En la figura 4 s'observen els resultats de l'experiment del tipus n.º 2 respecte a la hipòfisi, mentre que en la figura 5 estan representats els resultats d'aquest mateix experiment en relació a l'hipotàlem.

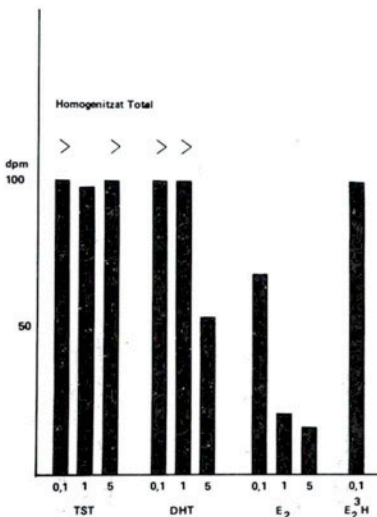


FIG. 4.

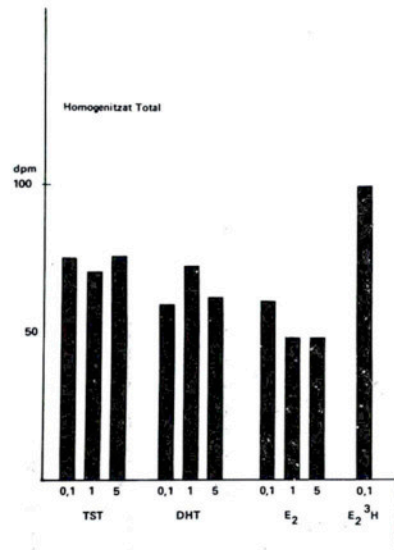


FIG. 5.

Tots aquests resultats semblen indicar que no hi ha una competència per a l'entrada en les cèl·lules hipofisàries, entre les hormones androgèniques i el 17 B estradiol, i que només la dihidrotestosterona a altes dosis sembla inhibir significativament la captació de 17 B estradiol per la hipòfisi. Això no obstant, en l'hipotàlem la captació de 17 B estradiol sembla estar modificada (disminuïda entre un 20-30 %) tant per la testosterona com per la dihidrotestosterona, independentment de la dosi. Aquests resultats, per ara, no ens permeten afirmar si els receptors hipotalàmics actuen a causa d'una alta especificitat, o bé si hi ha mecanismes de permissibilitat respecte a la captació d'aquestes hormones.

BIBLIOGRAFIA

- BOGDANOVE, E. M. — «Endocrinology», 73: 696 (1963).
DENEFF, C., MAGNUS, C. i McEWEN, B. S. — «J. Endocrin.», 59: 605 (1973).
DÖCKE, F. i DÖRNER, G. — «J. Endocrin.», 33: 491 (1965).
EISENFELD, A. J. i AXELROD, J. — «Endocrin.», 79: 38 (1966).
GREEN, R., LUTTGE, W. G. i WHALEN, R. — «Endocrin.», 85: 373 (1969).
HAMILTON, P. H. — «Science», 161: 649 (1968).
JAFFE, R. B. — «Steroids», 14: 483 (1969).
JENSEN, E. V. i JACOBSON, H. I. — «Recent Prog. Horm. Reser.», 18: 387 (1962).
KATO, J. i WILLEE, C. A. — «Endocrin.», 80: 567 (1967).
KING, R. J. B., GORDON, J. i INMAN, D. R. — «J. Endocrin.», 32: 9 (1965).
KING, R. J. B. i MAINWARING, W. I. P. — «Steroid. Cell Interactions». University Park Press Baltimore (1974).
KORACH, K. S. i MULDOON, T. G. — «Endocrinology», 92: 322 (1973).
LEAVITT, W. W., FRIEND, J. P. i ROBINSON, J. A. — «Science», 165: 496 (1969).
LIEBERBURG, I. i McEWEN, B. S. — «Endocrinology», 100: 588 (1977).
LIEBERBURG, I., MACLUSKY, N. J. i McEWEN, B. S. — «Endocrinology», 100: 598 (1977).
LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L. i RANDALL, R. J. — «J. Biol. Chem.», 193: 265 (1951).
NAESS, O., ATTRAMADAL, A. i AAKWAAG, A. — «Endocrin.», 96: 1 (1975).
NAESS, O. i ATTRAMADAL, A. — «Acta Endocrin. (Kbh)», 76: 417 (1974).
SAMPÉREZ, S., THIEULANT, M. L. i JOUAN, P. — «C. R. Acad. Sci. (D) Paris», 268: 2965 (1969).
STERN, J. M. i EISENFELD, A. J. — «Endocrin.», 88: 1117 (1971).
STUMPF, W. E. i ROTH, L. J. — «Endocrin.», 83: 777 (1968).
VERTES, M. i KING, R. J. B. — «J. Endocrin.», 51: 271 (1971).
WEISZ, J. i GIBBS, C. — «Endocrin.», 94: 616 (1974).
WHALEN, R. E. i REZEK, D. L. — «Steroids», 20: n.º 6 717, dec. (1972).