

Efecto de la iluminación constante sobre el ritmo circadiano de prolactina

E. Aguilar, A. Tejero, C. Fernández-Galaz y M. D. Vaticón

Departamento de Fisiología Humana
Facultad de Medicina
Universidad Complutense
Madrid - 3

(Recibido el 24 de abril de 1980)

E. AGUILAR, A. TEJERO, C. FERNANDEZ-GALAZ and M. D. VATICON. *Effect of Constant Light on the Circadian Rhythm of Prolactin*. Rev. esp. Fisiol., 37, 53-56. 1981.

The different effects of equal periods of constant light (from days 1-65 or 70-135) upon the circadian rhythm of prolactin in male rats have been studied. Plasmatic levels of hormone have been analyzed at 5.00, 9.00, 12.00, 17.00, 21.00 and 24 h. 65 and 135 day-old controls on a 12 h light/12 h darkness schedule show PRL surges at 17.00 h. These surges disappear in both groups when submitted to constant light. A global increase of PRL levels can be observed only in 135 day-old rats, which disappears 15 days after castration. This indicates testicular involvement in the hyperprolactinemia induced by constant light.

En ratas macho adultas se han descrito, con alguna excepción (15), variaciones cíclicas en los niveles plasmáticos de PRL (9), obteniéndose picos a las 4.00-4.30 (4, 10, 13, 14), 17.00 (2) y 23.00-24.00 h (2, 4). Parte de estas discrepancias se pueden explicar por el diferente método empleado en la obtención de muestras (decapitación, punción yugular, cánula intraauricular), el grado de stress sufrido por los animales (2) y el diferente régimen luminoso empleado. La amplitud de las oscilaciones circadianas de PRL se afecta también por los niveles circulantes de esteroides (6).

Tanto en ratas hembra (16) como en machos (1), los periodos prolongados de iluminación constante provocan, a las

10.00 h, elevación de los niveles plasmáticos de PRL. La descripción de que periodos cortos de iluminación constante provocan la inversión del ritmo circadiano de PRL, con aparición de picos por la mañana (7), plantea la posibilidad de que la elevación de los niveles de PRL observados a las 10.00 h en animales sometidos a iluminación constante sea debida a inversión del ritmo circadiano.

Con la finalidad de aclarar esta posibilidad, se han analizado las variaciones circadianas de PRL en ratas macho sometidas a diferentes periodos de iluminación constante. También se ha estudiado la participación testicular en el cuadro de hiperprolactinemia inducido por iluminación constante.

Material y métodos

Se emplean ratas macho Wistar de 135 días de edad, mantenidas en régimen de luz-oscuridad (12 horas luz/12 horas oscuridad) o en iluminación constante desde el día 70. Los animales se distribuyen en subgrupos con el fin de poder tomar muestras de sangre a las 5, 9, 12, 17, 21 y 24 horas. Los animales mantenidos en iluminación constante se castran tras la toma de sangre y 15 días después se realizan nuevas tomas a las mismas horas.

Por otro lado, se emplean machos de 65 días de edad, mantenidos en régimen de luz-oscuridad o en iluminación constante desde el nacimiento. Se distribuyen en subgrupos y se toman muestras de sangre a las mismas horas que en el grupo anterior. Posteriormente, se castran y en el día 170 se realizan nuevas tomas a las 9, 12, 17 y 21 horas.

Todas las muestras se obtuvieron por punción yugular, tras anestesia ligera con éter, y los plasmas se congelaron, hasta su empleo, a -20°C . Los valores plasmáticos de PRL se determinaron por duplicado, mediante RIA de doble anticuerpo, utilizando un kit suministrado por el NIAMD. El marcaje de PRL (NIAMD-Rat-Prolactin-1-4) se hizo con I^{125} por el método de la cloramina T (5). El anticuerpo se diluyó 1/2.500. Los valores se expresan en ng/ml del preparado de referencia: NIAMD-Rat-Prolactin-RP-1.

El análisis estadístico de los datos (5-12 animales por cada punto) se realizó con la «t» de Student y el análisis de la varianza (18).

Resultados

En los animales en luz/oscuridad, hay variaciones circadianas de los niveles plasmáticos de PRL ($F = 4,95$; $P < 0,01$), con un pico manifiesto a las 17.00 horas. En los animales en luz constante se encuentra elevación de los niveles plasmáticos de PRL a todas las horas estudiadas ($P < 0,01$) en relación a los valores obtenidos

en animales en luz-oscuridad, desapareciendo las variaciones circadianas ($F = 1,42$; $P = \text{N.S.}$), aunque hay una elevación, no significativa, a las 17.00 horas. En este grupo de animales, a los 15 días de la castración, se produce un descenso de los valores de PRL, reapareciendo las oscilaciones circadianas ($F = 6,32$; $P < 0,01$) con picos a las 9.00 y 17.00 horas (fig. 1).

Los animales de 65 días de edad, mantenidos en luz/oscuridad, presentan variaciones circadianas en los niveles de PRL ($F = 6,16$; $P < 0,01$), con picos a las 5.00 y 17.00 horas. Los mantenidos en iluminación constante no presentan ritmo circadiano (fig. 2).

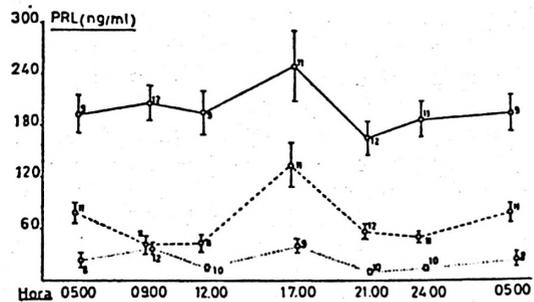


Fig. 1. Niveles plasmáticos de PRL ($\bar{x} \pm \text{s.e.m.}$) en machos intactos de 135 días de edad, mantenidos en luz-oscuridad (----), o en luz constante desde el día 70 (—), así como los de este último grupo a los 15 días de la castración (...).

En cada punto se indica el número de animales estudiados.

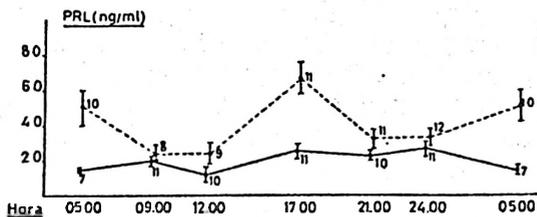


Fig. 2. Niveles plasmáticos de PRL ($\bar{x} \pm \text{s.e.m.}$) en machos intactos de 65 días mantenidos en luz-oscuridad (----) o luz constante desde el nacimiento (—).

En cada punto se indica el número de animales estudiados.

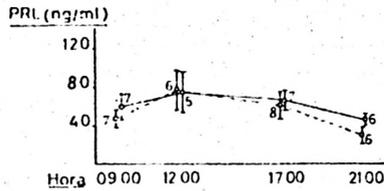


Fig. 3. Niveles plasmáticos de PRL ($\bar{x} \pm s.e.m.$) en machos de 170 días de edad, castrados en el día 65 y mantenidos en luz-oscuridad (----) o luz constante desde el nacimiento (—). En cada punto se indica el número de animales estudiados.

En animales de 170 días de edad, castrados en el día 65 y mantenidos en luz/oscuridad o luz constante desde el nacimiento, no se observa en ninguno de los dos grupos pico de PRL y los valores son semejantes con independencia del régimen luminoso (fig. 3).

Discusión

Los machos de 65 y 135 días de edad, sometidos a régimen de 12 h luz/12 h oscuridad, presentan picos de PRL a las 17 h, lo que concuerda con resultados previos (2, 9). En algunos casos, utilizando patrones de 14 h de luz, se ha señalado la presencia de picos a las 5 h (10, 13, 14). Este pico aparece en nuestros animales de 65 días, pero no en los de mayor edad.

Los niveles plasmáticos de PRL se encuentran elevados en ratas hembra con cuadro anovulatorio por iluminación constante (8, 16). En ratas macho, períodos de iluminación constante de 7-21 días se acompañan de disminución de los niveles plasmáticos, elevación del contenido hipofisario de PRL (11, 12) y modificación del ritmo circadiano (7). Por el contrario, períodos prolongados de iluminación constante de 45-85 días se acompañan de elevación de los niveles plasmáticos de PRL medidos a las 10 h (1).

En animales de 135 días y sometidos previamente durante 65 días a iluminación constante, la hiperprolactinemia observada a las 10 h no es consecuencia de un cambio en el ritmo circadiano, sino que responde a un aumento de la secreción hipofisaria de hormona, ya que los niveles elevados de PRL se encuentran a todas las horas estudiadas.

La hiperprolactinemia por iluminación constante se acompaña de desaparición del ritmo circadiano de PRL, fenómeno que se encuentra igualmente en animales de 65 días de edad y en luz constante desde el nacimiento. En este grupo no se observa elevación de los niveles plasmáticos de PRL, fenómeno encontrado a las 10 h con grupos más numerosos (1).

Las variaciones circadianas de PRL se abolen por pinealectomía (14). Los animales sometidos a iluminación constante son «fisiológicamente pinealectomizados», y es posible que ésta sea la causa de abolición del ritmo circadiano de PRL.

La disminución de los niveles de PRL tras la castración, en los animales en luz constante, indica participación testicular en la génesis de la hiperprolactinemia. En apoyo de esta hipótesis está el hecho (figura 3) de que los animales que llevan meses castrados tengan niveles semejantes de PRL, con independencia del régimen luminoso a que están sometidos. Parece necesario estudiar, en animales sometidos a diferentes regímenes luminosos, la secreción testicular y la sensibilidad del eje hipotálamo-hipofisario a los esteroides circulantes.

La iluminación constante eleva los niveles hipotalámicos de serotonina y disminuye los de catecolaminas (8), lo que podría contribuir, dado el papel que estos neurotransmisores tienen en la secreción de PRL (3), a la hiperprolactinemia observada. Por el contrario, la iluminación constante disminuye la síntesis de serotonina y melanina por la glándula pineal (17), lo que podría explicar el descenso en los niveles de PRL encontrados con

períodos cortos de iluminación constante (11). Para una mejor comprensión del efecto de períodos de iluminación constante de diferente duración sobre la secreción de PRL, parece necesario analizar temporalmente los cambios en los niveles de serotonina y otros neurotransmisores en pineal e hipotálamo.

Sorprendentemente, los niveles de PRL se encuentran altos tanto en los animales en luz-oscuridad como en luz constante, varios meses después de la castración (figura 3). Las causas de este fenómeno están siendo investigadas en la actualidad.

Agradecimientos

A Lucila Kraus y Carmen Estrada por la asistencia técnica y al NIAMDD por el suministro del kit de prolactina. A la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica, beca n.º 4.290.

Resumen

Se estudia el efecto de 65 días de iluminación constante (entre los días 1-65 ó 70-135) sobre el ritmo circadiano de prolactina (PRL) en ratas macho, analizando los niveles plasmáticos de la hormona a las 5.00; 9.00; 17.00; 21.00 y 24.00 h. Los animales control de 65 y 135 días de edad, mantenidos en régimen de 12 h luz/12 h oscuridad, presentan picos de PRL a las 17.00 h. En los dos grupos sometidos a luz constante se abole este pico observándose, además, aumento de los niveles de PRL a todas las horas estudiadas en los animales de 135 días. Esta elevación desaparece a los 15 días de la castración, postulándose una participación testicular en la hiperprolactinemia inducida por iluminación constante.

Bibliografía

1. AGUILAR, E., TEJERO, A., VATICÓN, M. D., FERNÁNDEZ GALAZ, C. y ORIOI BOSCH, A.: *J. Steroid Biochem.*, **11**, 1499-1502, 1980.
2. DUNN, J. D., ARIMURA, A. y SHEVING, L. E.: *Endocrinology*, **90**, 29-33, 1972.
3. FERNSTROM, J. D. y WURTMANN, R. J.: En «International Review of Physiology. Reproductive Physiology», vol. 13 (R. O. Greep, ed.), University Park Press. Baltimore, 1977, pp. 23-55.
4. GÓMEZ-SÁNCHEZ, C., HOLLAND, O. B., HIGGINS, J. R., KEM, D. C. y KAPLAN, N. M.: *Endocrinology*, **99**, 567-572, 1976.
5. GREENWOOD, F. C., HUNTER, W. M. y GLOVER, J. S.: *Biochem. J.*, **89**, 114-123, 1963.
6. HORROBIN, D. F.: En «Prolactin», vol. 5 (D. F. Horrobin, ed.), Churchill Livingstone. Londres, 1977, p. 49.
7. KIZER, J. S., ZIVIN, J. A., JACOBOWITZ, D. M. y KUPIN, I. J.: *Endocrinology*, **96**, 1230-1240, 1975.
8. KLEDZIK, G. S. y MEITES, J.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **146**, 989, 1974.
9. MATTHEIJ, J. A. M. y SWARTS, J. J. M.: *J. Endocr.*, **79**, 85-89, 1978.
10. MCLEAN, B. K., RUBEL, A. y NIKITOVITCH-WINER, M. B.: *Neuroendocrinology*, **23**, 23-30, 1977.
11. RELKIN, R.: *Neuroendocrinology*, **9**, 278-284, 1972.
12. RELKIN, R., ADACHI, M. y KAHAN, S. A.: *J. Endocr.*, **54**, 263-268, 1972.
13. RONNEKLEIV, O. K., KRULICH, L. y McCANN, S. M.: *Endocrinology*, **92**, 1339-1342, 1973.
14. RONNEKLEIV, O. K. y McCANN, S. M.: *Neuroendocrinology*, **17**, 340-353, 1975.
15. SEGGIE, J. y BROWN, G. M.: *Endocrinology*, **98**, 1516-1522, 1976.
16. VATICÓN, M. D., FERNÁNDEZ-GALAZ, C., ESQUIFINO, A., TEJERO, A. y AGUILAR, E.: *Hormone Res.*, **12**, 277-288, 1980.
17. WURTMANN, R. J., AXELROD, J. y PHILLIPS, L.: *Science*, **142**, 1071-1073, 1963.
18. YAMANE, T.: En «Statistics: an Introductory Analysis», Harper and Row, Nueva York, y J. Weetherhill, Tokio, 1970.