

Alteraciones de la glutamato deshidrogenasa en áreas cerebrales de rata por deficiencia de hormonas tiroideas

J. M. Fernández-Pastor *, P. Morata, M. C. Escobar, V. J. Fernández-Pastor y M. Morell

Departamento de Fisiología y Bioquímica
Facultad de Medicina
Universidad de Málaga
29080 Málaga (España)

(Recibido el 26 de abril de 1985)

J. M. FERNANDEZ-PASTOR, P. MORATA, M. C. ESCOBAR, V. J. FERNANDEZ-PASTOR y M. MORELL. *Alterations in Glutamate Dehydrogenase by Thyroid Hormone Deficit in Brain Areas of Rat*. Rev. esp. Fisiol., 42 (2), 251-256. 1986.

The dependent GDH-NADPH activity in adenohypophysis and other cerebral areas, has been studied in hypothyroid rats, in which hypothyroidism has been induced surgically. After thyroidectomy a decrease of GDH activity in limbic system (amygdala, septum and hippocampus), and an increase of this enzyme in cortex and hypothalamus have been found, with no changes in adenohypophysis. The alterations of GDH activity, induced by thyroidectomy, have been corrected, although not uniformly in the different brain areas after L-T₃ treatment.

Key words: Brain areas, Glutamate dehydrogenase, Thyroid hormones.

Las hormonas tiroideas juegan un papel fundamental en el desarrollo del Sistema Nervioso Central (SNC) en las primeras semanas de vida (19-21, 23), pudiendo ocasionar su falta lesiones irreversibles desde el punto de vista estructural y bioquímico. Sin embargo, este papel modulador parece ser menos relevante en fases más avanzadas de la vida. No obstante, publicaciones recientes abogan por la clara influencia de las hormonas tiroideas también sobre el SNC adulto (8, 17) que, aunque no determinan lesiones estructurales irreversibles, dan lugar a netas alteraciones bioquímicas.

Los efectos metabólicos del hipotiroidismo, han sido puestos de manifiesto en una amplia gama de tejidos, siendo las consecuencias principales un descenso en el consumo de oxígeno, una depresión de carbohidratos y lípidos (4, 13), una reducción en la síntesis proteica y en los niveles de RNA (9). Aunque estos efectos han sido estudiados en el SNC, no existen trabajos que traten de delimitar el comportamiento bioquímico de las diferentes áreas cerebrales ante el descenso de hormonas tiroideas.

El objetivo del presente trabajo es determinar la actividad del enzima glutamato deshidrogenasa, por su ubicación clave como enzima de síntesis de glutamato, en corteza anterior, hipotálamo,

* A quien debe dirigirse la correspondencia.

adenohipófisis, complejo amigdalino, septum e hipocampo, relacionándolos con estados deficitarios de hormonas tiroideas en animales adultos, analizando asimismo la reversibilidad de las alteraciones bioquímicas inducidas quirúrgicamente, mediante el tratamiento sustitutivo.

Material y Métodos

Animales y tratamientos. Se han utilizado en cada grupo experimental 8 ratas Wistar macho, sometidas a condiciones controladas de iluminación (14 h luz/10 h oscuridad), y de temperatura ($20 \pm 2^\circ\text{C}$), alimentadas con dieta estándar de laboratorio (Panlab, A.03) con un contenido en iodo de $490 \mu\text{g/kg}$ para los controles e igual dieta, pero con un contenido en iodo de $25 \mu\text{g/kg}$, para los tiroidectomizados y agua de bebida *ad libitum*. Se han diseñado cuatro grupos experimentales diferentes: Tiroidectomizados (Tx): estos animales se destetan a los 21 días de vida y se alimentan con dieta pobre en iodo hasta el sacrificio a los 70 días, siendo tiroidectomizados quirúrgicamente a los 28 días, suministrándoles posteriormente a las 48 h $100 \mu\text{Ci}$ de I^{131} en una sola dosis, vía i.p. Tiroidectomizados, tratados con triiodo-L-tironina ($\text{Tx} + \text{T}_3$): a los cuales se les administra durante los siete días previos al sacrificio, $2,2 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ vía s.c. de hormona L-T_3 (Sigma). Tiroidectomizados, tratados con yoduro potásico ($\text{Tx} + \text{IK}$): a los cuales se les administra durante los siete días previos al sacrificio $3 \text{ mg}/100 \text{ g}$ de peso vía s.c. de IK. Controles: a los que se les administra diariamente $0,3 \text{ ml}$ de suero fisiológico s.c. durante los siete días previos al sacrificio.

Preparación de los homogenados. Todas las ratas se sacrificaron por decapitación sin anestesia, extrayendo las siguientes áreas cerebrales según el atlas estereotáxico de ALBE (1): Corteza anterior

(CT); Complejo amigdalino (AMG); Hipotálamo (HPT); Adenohipófisis (HPF); Septum (SP) e Hipocampo (HPC). Las diferentes áreas fueron homogenizadas manualmente con 5 ml de solución salina al $0,9 \%$ a 4°C . Los extractos se obtuvieron por centrifugación a 2.000 g durante 15 min , siguiendo otros detalles previamente publicados (8).

Análisis enzimático. La actividad de la glutamato deshidrogenasa se ensayó espectrofotométricamente por el método de SCHMITT (22). La determinación de proteínas se realizó por el método de LOWRY *et al.* (15), con albúmina bovina como patrón.

El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante el test de Student.

Determinación de hormonas tiroideas. Las hormonas tiroideas séricas totales (L-tiroxina y triiodo-L-tironina) se han determinado mediante el método de STRINGER y WYNFORD-THOMAS (27), específico para este tipo de animal de experimentación.

Resultados

El peso corporal desciende significativamente en animales tiroidectomizados (Tx), y en los Tx a los que se les administra hormona tiroidea (L-T_3), se aprecia un incremento ponderal estadísticamente significativo, con respecto a los Tx no tratados. En el grupo de animales Tx a los que se les ha administrado IK, se encuentran pesos similares a los del grupo Tx no tratado (tabla I).

En la tabla II se muestra la actividad enzimática de la GDH en los animales tiroidectomizados Tx, así como los resultados obtenidos al administrar triiodo-L-tironina y IK. Se observa un descenso significativo en los Tx con respecto a los controles en complejo amigdalino, septum e hipocampo (sistema límbico), mien-

Tabla I. *Peso corporal (g) en diferentes situaciones experimentales de hipotiroidismo en rata.*

Número de experimentos entre paréntesis. Tx+T₃: tiroidectomizados tratados con triiodo-L-tironina. Tx: tiroidectomizados. Tx+IK: tiroidectomizados tratados con yoduro potásico.

Grupo	Media $\pm$ S.E.
Controles	258,75 $\pm$ 22,82 (8)
Tx	73,37 $\pm$ 14,37 (8)*
Tx + T ₃	114,29 $\pm$ 4,23 (7) ^{a,b}
Tx + IK	69,25 $\pm$ 7,90 (8)*

* $p < 0,001$ con respecto a los controles.
^a $p < 0,001$ con respecto a los tiroidectomizados.

tras que en hipotálamo y corteza anterior aumentan significativamente, manteniéndose inalterable la actividad GDH en el área adenohipofisaria. Al administrar L-T₃, a los animales Tx, se produce un aumento de la actividad GDH en la mayoría de las áreas estudiadas, a excepción del complejo amigdalino, que desciende significativamente con respecto a los controles. Al administrar IK se produce un incremento significativo en corteza, amígdala, hipotálamo y septum, descendiendo en adenohipófisis e hipocampo.

Tabla II. *Actividad enzimática (mU/min/mg de proteína) de la glutamato deshidrogenasa, en distintas áreas cerebrales e hipófisis de ratas macho, sometidas a alteraciones de la función tiroidea.*

Los resultados se expresan como media $\pm$ el error estándar de la media, de ocho experimentos. Abreviaturas como en tabla I.

Tejidos	Control	Tx	Tr + T ₃	Tx + IK
Hipófisis	19,05 $\pm$ 1,54	19,86 $\pm$ 1,75	40,97 $\pm$ 3,80 ^{a,b}	1,83 $\pm$ 1,05 ^{a,b}
Corteza anterior	5,95 $\pm$ 0,88	14,88 $\pm$ 1,50*	12,71 $\pm$ 1,50*	10,32 $\pm$ 1,24*
Complejo amigdalino	15,33 $\pm$ 0,90	8,71 $\pm$ 1,20*	5,06 $\pm$ 0,30 ^{a,b}	24,15 $\pm$ 1,34 ^{a,b}
Hipotálamo	4,95 $\pm$ 0,91	13,95 $\pm$ 2,02*	8,83 $\pm$ 0,99 ^{a,b}	18,27 $\pm$ 1,01*
Área septal	19,84 $\pm$ 2,65	9,71 $\pm$ 1,77*	27,18 $\pm$ 0,87 ^{a,b}	25,61 $\pm$ 1,30 ^{a,b}
Hipocampo	11,45 $\pm$ 1,40	5,72 $\pm$ 0,90*	21,01 $\pm$ 1,11 ^{a,b}	4,57 $\pm$ 0,39*

* $p < 0,001$ con respecto a los controles. ^a $p < 0,01$ y ^b $p < 0,001$ con respecto a los tiroidectomizados.

Tabla III. *Concentración (ng/ml) de hormonas tiroideas totales séricas.*

Los resultados se expresan como media $\pm$ el error estándar de la media, de ocho experimentos. Abreviaturas como en tabla I.

Grupo	L-tiroxina	Trilodo-L-tironina
Control	23,40 $\pm$ 0,4	0,40 $\pm$ 0,04
Tx	0,90 $\pm$ 0,2*	0,03 $\pm$ 0,005*
Tx + T ₃	1,04 $\pm$ 0,2*	1,35 $\pm$ 0,05 ^{a,b}
Tx + IK	2,06 $\pm$ 0,2 ^{a,b}	0,09 $\pm$ 0,02 ^{a,b}

* $p < 0,001$ con respecto a los controles.
^a $p < 0,01$ y ^b $p < 0,001$ con respecto a los tiroidectomizados.

Los resultados obtenidos en la concentración de hormonas tiroideas séricas totales, muestra que en los animales Tx, aparece un descenso significativo en los niveles de T₄ y T₃ con respecto a los controles. Cuando se les administra T₃, los niveles de T₄ apenas se modifican, elevándose de forma significativa los niveles séricos de T₃. El tratamiento con IK produce discretas, pero significativas elevaciones, tanto de T₃ como de T₄ (tabla III), tal como ha sido descrito en trabajos previamente publicados (12).

Discusión

Los cambios de peso corporal encontrados están de acuerdo con los resultados obtenidos por otros autores (2, 3, 6), en animales hipotiroides. En los animales Tx + T₃ es evidente una ganancia ponderal que posiblemente no sea aún mayor, y por tanto más cerca de los controles, debido a la dosis de T₃ en el tratamiento sustitutivo. Por el contrario, el grupo tratado con IK se comporta en relación con el peso, como el no tratado, al no alcanzar la normofunción tiroidea.

La actividad enzimática GDH, estudiada en las distintas áreas cerebrales de animales control, confirma los resultados obtenidos por FERNÁNDEZ-PASTOR *et al.* (8), en el sentido de que cada área cerebral responde metabólicamente de distinta manera, dependiendo de la riqueza neuronal, de la vascularización, de la energía almacenada (24) y del número de receptores específicos (10).

Al inducir la tiroprivación se observa un marcado descenso de la actividad enzimática GDH en tres áreas cerebrales de vital importancia, que están estrechamente unidas integrando los circuitos neuronales descritos por MCLEAN (16): el complejo amigdalino, el área septal y el hipocampo. Este hecho implica presumiblemente una reducción en la síntesis de la cadena bioquímica que comparten el ácido glutámico y el 4-aminobutírico, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por DE-GUGLIELMONE y GÓMEZ (5), quienes observan entre los 20 y 40 días de vida, un descenso significativo tanto de ácido glutámico como de 4-aminobutírico, en ratas tiroidectomizadas al nacer.

El ascenso de la actividad enzimática en la corteza anterior e hipotálamo, quizá refleje un intento de compensación bioquímica, para mantener unos mínimos metabólicos cerebrales por regiones menos afectadas ante este déficit de hormonas tiroideas.

Se ha puesto de manifiesto la importancia de la edad, para determinar el grado de reversibilidad de las alteraciones que se producen a nivel cerebral, como consecuencia de la hipofunción tiroidea (5, 7, 11, 14). En las condiciones experimentales ensayadas, la extirpación quirúrgica de la glándula, se realiza fuera del período crítico descrito por dichos autores, donde parece ser que las hormonas tiroideas juegan un papel ya menos importante en la maduración del SNC. Los resultados obtenidos al administrar IK y T₃ muestran que, cuando a los animales tiroidectomizados se les administra L-T₃, en comparación con los Tx, se produce un incremento significativo de actividad enzimática en casi todas las regiones estudiadas como son las integrantes del sistema límbico y adenohipófisis, lo que está de acuerdo con los trabajos de MYANT (18) y SOKOLOFF (25), que describen un aumento de la síntesis proteica cerebral, motivado por la administración de hormonas tiroideas. Estos resultados ponen de manifiesto una recuperación bioquímica, favoreciendo la formación de ácido glutámico y demostrando, por tanto, la reversibilidad de los cambios bioquímicos producidos como consecuencia del hipotiroidismo en la época adulta.

El hecho de que el área septal incrementa la actividad GDH, al administrar T₃, podría justificarse por la mayor cantidad de receptores específicos de L-T₃ encontrados en esta región por STUMPF *et al.* (28).

En los animales Tx tratados con IK, la actividad enzimática sufre variaciones similares a las producidas con la administración de L-T₃, aunque sólo significativas respecto de los animales tiroidectomizados no tratados en el caso del complejo amigdalino y área septal.

Así, puede concluirse que respecto a la actividad de la GDH, parece existen unas regiones cerebrales más sensibles al déficit de hormonas tiroideas y una posible compensación bioquímica ante el des-

censo por parte de otras. De igual modo, los tratamientos que emplean IK, relacionados con la síntesis extratiroidea de hormonas (29), no han dado los resultados esperados, quizá por su corta duración. Sin embargo, el tratamiento con hormona tiroidea, sí parece producir en las áreas más afectadas una recuperación bioquímica que pudiese restablecer la normalidad funcional cerebral, tratándose de una reversibilidad del deterioro bioquímico cerebral producido por la falta de hormonas tiroideas en animales adultos. Por el momento se desconoce el significado del diferente comportamiento de las distintas áreas cerebrales a idéntica situación funcional tiroidea, aunque similares respuestas heterogéneas han sido encontradas en enzimas clave de la vía glucolítica en animales con diabetes inducidas por aloxan (26) y en animales tiroidectomizados (17). Por todo ello son precisos posteriores estudios dirigidos a clarificar este particular comportamiento metabólico en las distintas áreas cerebrales.

Resumen

Se estudia la actividad enzimática GDH-NADPH dependiente en adenohipófisis y en distintas áreas cerebrales de rata adulta, en situación de hipotiroidismo quirúrgico. La tiroprivación quirúrgica produce un descenso significativo en la actividad enzimática glutamato deshidrogenasa (GDH) en complejo amigdalino, septum e hipocampo (sistema límbico), mientras que en corteza e hipotálamo se incrementa significativamente con respecto a los animales controles. La adenohipófisis no modifica su actividad. Las alteraciones enzimáticas producidas por la tiroidectomía son corregidas, aunque de forma no uniforme en las distintas áreas cerebrales al tratar a los animales con L-T₄.

Bibliografía

1. Albe, D.: En «Atlas stereotaxique du diencéphale du rat blanche». Editions du CNRS, París, 1966.
2. Balázs, R., Kovács, S., Teichgraber, P., Cocks, W. A. y Eayrs, J. T.: *J. Neurochem.*, **15**, 1335-1349, 1968.
3. Balázs, R., Machiyama, Y., Hammond, B. D., Julian, T. y Richter, D.: *Biochem. J.*, **116**, 445-467, 1970.
4. Barker, S. B. y Klitgaard, H. M.: *Am. J. Physiol.*, **170**, 81-86, 1952.
5. De-Guglielmone, A. E., Gómez, C. J.: *J. Neurochem.*, **13**, 1017-1025, 1966.
6. Díez-Guerra, J., Aragón, M. C., Giménez, C. y Valdivieso, F.: *Enzyme*, **25**, 106-110, 1980.
7. Eayrs, J. T.: *J. Endocrinol.*, **22**, 409-415, 1961.
8. Fernández-Pastor, J. M., Morell, M., Menéndez-Patterson, A. y Escobar, M. C.: *Rev. esp. Fisiol.*, **39**, 317-320, 1983.
9. Geel, S. E. y Timiras, P. S.: *Brain Res.*, **22**, 63-72, 1970.
10. Groot, L. J. De- y Rue, P. A.: *J. Endocrinol. Invest.*, **2**, 183-189, 1975.
11. Hamburgh, M. y Flexner, L. B.: *J. Neurochem.*, **1**, 279-288, 1957.
12. Jiménez, E., Montiel, M., Narváez, J. A. y Morell, M.: *Acta Endocrinol. (Copenh.)*, **105**, 505-510, 1984.
13. Lee, Y. P. y Lardy, H. A.: *J. Biol. Chem.*, **240**, 1427-1436, 1965.
14. Legrand, J.: *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **56**, 205-244, 1967.
15. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. y Randal, R. J.: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275, 1951.
16. McLean, P. D.: En «Handbook of Physiology». Sec. Neurophysiol. Am. Physiol. Society, Washington, D.C., 1960. Vol. 3, pp. 1723-1743.
17. Murthy, A. S. N. y Baquer, N. Z.: *Enzyme*, **28**, 48-53, 1982.
18. Myant, N. B.: *Biol. Neonat.*, **9**, 148-153, 1966.
19. Naidoo, S., Valcana, T. y Timiras, P. S.: *Am. Zool.*, **18**, 545-552, 1978.
20. Ruiz-Marcos, A., Sánchez-Toscano, F., Escobar del Rey, F. y Morreale, G.: *Brain Res.*, **162**, 315-329, 1979.
21. Ruiz-Marcos, A., Sánchez-Toscano, F., Escobar del Rey, F. y Morreale, G.: *Brain Res.*, **185**, 91-102, 1980.

22. Schmitt, Ll.: En «Methods in Enzymatic Analysis» (Bergmeyer, H. U., ed.) (2.^a ed.). Academic Press, Nueva York, 1974. Volumen II, pp. 650-656.
23. Shapiro, S., Vukovich, K. y Globus, A.: *Exp. Neurology.*, 40, 286-296, 1973.
24. Siesjo, K. B.: Brain Energy Metabolism. J. Wiley and Sons, Nueva York, 1978, pp. 86-96.
25. Sokoloff, L.: *Ann. Rev. Med.*, 24, 271-279, 1973.
26. Srivastaba, L. K. y Baquer, N. C.: *Enzyme*, 32, 84-88, 1984.
27. Stringer, B. M. J. y Wynford-Thomas, D.: *Horm. Res.*, 16, 392-397, 1982.
28. Stumpf, W. E. y Sar, M.: *Endocrinology*, 36, 136-156, 1975.
29. Taurog, A. y Evans, S. E.: *Endocrinology*, 80, 915-925, 1967.