

Efecto de las alteraciones experimentales de la función tiroidea sobre el metabolismo oxidativo y actividad de la glutamato deshidrogenasa en el sistema límbico de la rata*

J. M. Fernández-Pastor, M. Morell**, A. Menéndez-Patterson*** y M. C. Escobar-Bueno

Departamento de Bioquímica y Fisiología
Facultad de Medicina
Universidad de Málaga

(Recibido el 8 de febrero de 1982)

J. M. FERNANDEZ-PASTOR, M. MORELL, A. MENENDEZ-PATTERSON and M. C. ESCOBAR-BUENO. *Oxidative Metabolism and GDH Activity in the Limbic System of Rats with Experimental Changes in Thyroid Function*. Rev. esp. Fisiol., 39, 311-316. 1983.

The oxidative metabolism and GDH activity has been studied in the following regions of the brain: frontal cortex, as tissue control, adenohipophysis, hypothalamus and limbic system in adult male rats subjected to alterations of the thyroid function due to excess (by hyperthyroidism with L-thyroxine and thyrotoxicosis with Tri-iodotyronine) or defect (chronic hypothyroidism by thyroidectomy, ¹³¹I treatment and low iodine diet).

A different influence of the H.T. was observed in these animals according to the areas studied and the experimental situation induced. All this seems to indicate an oxidative metabolic pattern peculiar to each area of the brain following H.T. administration. On the other hand, the decrease of the QO_2 in chronic hypothyroidism in the majority of the areas studied is remarkable. In GDH results activity increased or decreased depending on the absence or presence of thyroid hormones.

La estimulación del metabolismo energético, en la mayoría de los tejidos, es una de las principales características de las hormonas tiroideas (H.T.). El cerebro de los mamíferos posee una etapa neonatal especialmente sensible y que es dependiente, en cuanto a su desarrollo funcional y estructural, de dichas hormonas.

Todos los autores parecen coincidir en una influencia de la edad sobre el binomio «cerebro-tiroides». Pasada esta etapa de crecimiento y maduración cerebral, el cerebro parece no responder a la acción de las hormonas tiroideas.

El consumo de oxígeno, en cerebro de animales de experimentación, es un parámetro que ha sido estudiado desde las primeras etapas de la vida hasta la edad adulta (3, 5, 9, 24) reflejando los resultados un período denominando «crítico», durante el cual se manifiesta la necesidad de un buen funcionamiento tiroideo para el

* Trabajo realizado con fondos del FISS.

** A quien debe dirigirse la correspondencia.

*** Dirección actual: Departamento Interfacultativo de Fisiología. (Medicina-Ciencias). Universidad de Oviedo.

desarrollo y maduración cerebral (12, 22, 31).

Este período es variable según los autores. Para unos se encuentra en los primeros 10 a 14 días de vida, basados en investigaciones sobre la capacidad de respuesta cerebral a la terapia sustitutiva hormonal, mediante mediciones de consumo de oxígeno (24, 25), y por los resultados obtenidos sobre actividades enzimáticas (13) o estudios morfológicos (27, 28). Otros autores (20) lo sitúan entre los 11 y 23 días de vida, tras los cuales no cesaría la influencia de las H.T. de una forma brusca, sino que descendería progresivamente hasta los 40 días. Los mismos autores, sobre homogeneizados de cerebro, refieren una indiferencia absoluta en animales de experimentación con más de 100 días de vida, a las variaciones de la función tiroidea y concentración de hormonas tiroideas.

Existe, pues, una discrepancia en cuanto a los límites del período crítico, así como una serie de lagunas respecto al comportamiento de las distintas regiones cerebrales ante los cambios de la función tiroidea, especialmente ante situaciones crónicas y en animales adultos.

Los cambios metabólicos y de actividad enzimática que han sido demostrados por algunos autores en la glicolisis, vía de las pentosas fosfato y del ciclo del ácido cítrico (2, 3), junto a lo anteriormente expuesto, hicieron aconsejable el diseño de este trabajo, en el que se trata de relacionar la actividad metabólica de diversas áreas cerebrales (córtex, hipotálamo adenohipófisis, septum e hipocampo, así como el complejo amigdalino), tratando de estudiarlas por separado y relacionarlas con el estado funcional de la glándula tiroidea. Para esto se eligió la rata adulta, a la que se le mantuvo en las situaciones de hipotiroidismo crónico, hipertiroidismo y tirotoxicosis. Para el estudio metabólico se eligió el consumo de oxígeno, como índice metabólico en general, y la actividad de GDH.

Material y métodos

Se han empleado ratas Wistar, machos, cuyas camadas fueron controladas desde el nacimiento, proporcionándoles a las madres una dieta estándar. El destete y la separación de las crías se realizó a los 21 días de vida y a partir de este momento se dividieron en cuatro grupos experimentales: Controles (CN), Tiroprivos (TX), Hipertiroides (T₄) y Tirotóxicos (T₃). Estos grupos experimentales fueron preparados con arreglo a los detalles publicados previamente (7, 8, 18, 19, 26).

El sacrificio se hizo siempre mediante decapitación y a los 70 días de vida, obteniéndose las siguientes áreas cerebrales, con arreglo al Atlas estereotáxico de ALBE (1): Corteza anterior laterofrontal (tejido control) «CT», Adenohipófisis «HPF», Hipotálamo «HPT», Complejo Amigdalino «AMG», Septum «SP» e Hipocampo «HPC»; las cuales fueron cuidadosamente pesadas en balanza de torsión y tratadas con suero salino y homogeneización mediante ultrasonido. Después se centrifuga a 5.000 rpm, durante 15 minutos a 4° C. Se extrae el sobrenadante y se preparan alícuotas, que se guardan en congelador (-20° C) hasta la determinación de la actividad enzimática.

La determinación del consumo de oxígeno (QO₂) se hizo por el método manométrico de WARBURG (17, 29) expresando los resultados en μ l de O₂ por mg de tejido fresco y hora. La actividad enzimática de la glutamato deshidrogenasa (EC-14124) se determinó por el método de BERMEYER (4), refiriendo los resultados a mU.I. por mg de proteínas. La cuantificación de proteínas se llevó a cabo mediante el método de LOWRY (16) en homogeneizados de cerebro.

En la determinación del consumo de oxígeno en la adenohipófisis, debido al bajo peso de dicha región cerebral, se precisaron tres muestras por cada uno de los datos expresados en las tablas. Para la

comparación de los datos obtenidos se utilizó la *t* de STUDENT.

Resultados

En la tabla I se presentan los valores del QO_2 de las áreas cerebrales de los grupos estudiados, y se señalan las diferencias estadísticamente significativas, cuando las hubo. Se observa un descenso del QO_2 en todas las regiones cerebrales del grupo de animales tiroprivos (TX) y existe igualmente un descenso en adenohipófisis e hipotálamo con respecto al QO_2 del grupo control (CN), en el grupo de animales en tirotoxicosis (T_3).

En las diversas áreas cerebrales, de animales sometidos a alteraciones de la función tiroidea, se observa un descenso muy significativo ($p < 0,001$) en el estado experimental de tiroprivación (TX), a nivel de todas ellas. El área que refleja el menor QO_2 , es la adenohipófisis, y la de mayor consumo la corteza anterior. Dentro del Sistema Límbico, el hipocampo y el área septal son, respectivamente, las de menor y mayor consumo de oxígeno. Una situación intermedia ocupan tanto el hipocampo, como la amígdala.

Por otro lado, la influencia del tiroides sobre el QO_2 cerebral, es también reflejada en las diferencias que se establecen

tras los tratamientos realizados con T_3 y T_4 , con respecto a los controles. Esta acción hormonal disminuye el QO_2 en las áreas cerebrales, siendo esta apreciación más evidente con el uso de la L-triyodotironina que con la L-tiroxina. No existe, en cambio, una afectación del cortex ante la inyección de T_3 , pero sí ante la de T_4 , lo que parece corroborar la relación de la corteza cerebral y la actividad funcional de la glándula tiroides.

El complejo amigdalino reacciona en la situación experimental de hipertiroidismo con un descenso del QO_2 cuando se administra T_4 . El mismo comportamiento se mantiene en la tirotoxicosis con la inyección de la T_3 .

El hipotálamo tiene un comportamiento similar al de la adenohipófisis ante la administración de T_3 , descendiendo muy significativamente su metabolismo oxidativo, aunque con mayor intensidad en el caso de la adenohipófisis, lo que es lógico desde el punto de vista fisiológico. Sin embargo, por lo que se refiere al tratamiento con T_4 , la situación es diferente entre hipófisis e hipotálamo, reaccionando con una disminución significativa del QO_2 el hipotálamo y no habiendo apenas variación en el caso de la hipófisis anterior.

Las otras áreas integrantes del sistema límbico, tales como la septal y la hipo-

Tabla I. *Metabolismo oxidativo de áreas cerebrales de ratas machos sometidas a alteraciones de la función tiroidea.*

Media \pm error estándar. Número de datos por grupo, 8. El análisis de los resultados se hizo mediante la *t* de Student. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. — N.S. = no significativo. Tx = Hipotiroidismo por tiroprivación. — T_4 = Hipertiroidismo por L-tiroxina. — T_3 = Tirotoxicosis con L-triyodotironina.

Tejidos estudiados	QO_2 : μl O_2 /mg de tejido fresco/hora			
	Control	Tx	T_4	T_3
Corteza anterior	1,03 \pm 0,01	0,56 \pm 0,02***	0,88 \pm 0,02***	1,01 \pm 0,02 N.S.
Amígdala	0,82 \pm 0,01	0,49 \pm 0,02***	0,73 \pm 0,03**	0,77 \pm 0,03 N.S.
Hipotálamo	0,84 \pm 0,03	0,57 \pm 0,02***	0,55 \pm 0,03**	0,63 \pm 0,02***
Hipófisis	0,72 \pm 0,02	0,26 \pm 0,02***	0,74 \pm 0,02 N.S.	0,39 \pm 0,03***
Area septal	0,77 \pm 0,04	0,40 \pm 0,02***	0,94 \pm 0,01***	0,80 \pm 0,02 N.S.
Hipocampo	0,65 \pm 0,04	0,40 \pm 0,02***	0,75 \pm 0,04 N.S.	0,75 \pm 0,01*

Tabla II. *Actividad glutamato deshidrogenasa en áreas cerebrales de ratas machos sometidas a alteraciones de la función tiroidea.*

Media \pm error estándar. Número de datos por grupo, 8. Comparación de los datos mediante la t de Student y niveles de significación. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $< 0,001$. — N.S. = no significativo. — Tx = Hipotiroidismo por tiroprivación. — T_4 = Hipertiroidismo con L-tiroxina. — T_3 = Tirotoxicosis.

Tejidos estudiados	mU./mg de proteína			
	Control	Tx	T_4	T_3
Corteza anterior	32,72 \pm 2,60	25,43 \pm 2,33*	15,30 \pm 1,95***	12,55 \pm 1,17***
Amígdala	24,25 \pm 3,60	34,76 \pm 3,58*	17,59 \pm 2,92 N.S.	21,63 \pm 2,06 N.S.
Hipotálamo	47,51 \pm 2,73	51,81 \pm 4,70 N.S.	22,03 \pm 1,67***	16,09 \pm 1,75***
Hipófisis	9,57 \pm 1,00	8,81 \pm 1,29 N.S.	7,47 \pm 0,64*	7,15 \pm 0,64*
Area septal	32,75 \pm 4,24	33,30 \pm 3,20 N.S.	19,41 \pm 0,84***	21,64 \pm 2,76*
Hipocampo	22,58 \pm 2,87	22,96 \pm 2,60 N.S.	18,11 \pm 1,65 N.S.	15,11 \pm 2,44*

cámpica, aumentan su QO_2 en el hipertiroidismo, siendo el resultado muy significativo por parte del septum en el caso del tratamiento con T_4 . Estos resultados señalan un comportamiento inverso del complejo amigdalino con respecto no sólo al hipocampo sino también al área septal.

En la tabla II se exponen los resultados de la actividad del enzima GDH obtenidos en las áreas cerebrales ya mencionadas. En el grupo control se destaca la baja actividad del enzima en la adenohipófisis, lo que contrasta con la máxima actividad obtenida en la región hipotalámica.

En las ratas tiroprivas la actividad de la GDH desciende en la corteza, sube en la amígdala y, de forma no significativa en el hipotálamo. Permanecen los mismos valores en adenohipófisis, septum e hipocampo.

El tratamiento con T_4 hace que desciendan todos los valores de actividad GDH de forma muy significativa, excepto en amígdala e hipocampo, en los que, aunque descienden, no se encuentra significación estadística. Igualmente descienden los valores de la GDH después del tratamiento con T_3 , no sólo en el cortex, sino también en el resto de las áreas cerebrales, exceptuando al complejo amigdalino donde el descenso no fue significativo.

Discusión

Se ha descrito que sólo hay un aumento de QO_2 durante el período de crecimiento y desarrollo tras la administración de T_4 (9, 22), aunque no se ha descartado de manera definitiva que también pueda haber cambio en el cerebro de animales adultos. En el presente trabajo resulta evidente no sólo el aumento significativo hallado en corteza y áreas cerebrales tras la administración de hormonas tiroideas, sino también el claro descenso del QO_2 en los animales tiroprivos, lo que está en desacuerdo con otros autores (22), aunque no existen estudios selectivos realizados en áreas cerebrales ya que están referidos a cerebro total. Sólo existen referencias a cambios ya en el QO_2 en áreas cerebrales de ratas adultas sometidas a situaciones de castración (17, 29), pero en ningún caso relacionadas con alteraciones experimentales de la función tiroidea. De este estudio se deduce un comportamiento de cierta dependencia entre determinadas áreas cerebrales y la corteza, con respecto a las hormonas tiroideas, lo que podría estar relacionado con el número de receptores hormonales o el flujo sanguíneo (14, 21).

Los datos de actividad enzimática GDH y del QO_2 , están de acuerdo con lo

expresado por SCHEIMBERG (30) y posteriormente por PASQUINI *et al* (23) entre otros. El apoyo a estos datos es solamente parcial, puesto que no hay coincidencia en el concepto de «reducción» enzimática a nivel cerebral tras la tiroidectomía, y sí en cambio, con una alteración de las enzimas tras la misma (7, 8, 10). Dichos resultados se encuentran más en línea con la tesis expuesta por VALCANA (32), postulando cambios en la síntesis de proteínas durante el estado de hipotiroidismo neonatal, que conducirían a las alteraciones de la actividad enzimática en los enzimas implicados en el metabolismo cerebral (33), y que se harían definitivos después de mantener un cierto tiempo el estado de hipotiroidismo, como es el que aquí se presenta.

A nivel de la corteza cerebral, se aprecia una disminución significativa de la actividad de la GDH, tras la administración de hormonas tiroideas, tanto la L-tiroxina, como la L-triiodotironina, como si hubiera un antagonismo por parte de las hormonas tiroideas para con el enzima GDH. En el hipotiroidismo crónico, tras la tiroprivación, este descenso de actividad no es tan marcado como en los grupos anteriores. En el área amigdalina, de modo menos acusado que en el caso del cortex, vuelve a ponerse de manifiesto un descenso de la actividad enzimática GDH, en presencia de las H.T. De forma antagónica, la ausencia de H.T. (TX) parece «liberar» la actividad de la GDH.

De acuerdo con lo expresado por LAMBERS (15), se podría pensar que las H.T. pueden actuar sobre la GDH de dos formas diferentes, según que su concentración aumente o disminuya. Por un lado podrían favorecer la «síntesis de novo» de la GDH, aumentando la cantidad de enzima disponible. Por otro lado, se podría pensar en una acción sobre la «despolimeración» del enzima, lo que equivaldría a su inactivación. Lo que resulta más difícil de explicar, por el momento, es la diferencia en la actividad GDH que se pro-

duce entre la corteza, la amígdala, el hipotálamo y la hipófisis.

Dado que existe un claro antagonismo entre la actividad enzimática y las H.T. (T_3 y T_4) y, al mismo tiempo, una elevación en cuanto a dicha actividad se refiere, si se trata de áreas cerebrales en animales sometidos a un estado experimental de hipotiroidismo crónico, se puede suponer que en este caso sería la ausencia de las H.T., lo que facilitaría de alguna forma el aumento de su actividad, dando resultados muy diferentes de los obtenidos con los tratamientos de hipertiroidismo y tirotoxicosis.

En este sentido, la influencia que las H.T. parecen ejercer sobre las distintas áreas cerebrales de ratas adultas, se manifiesta tanto en los estados experimentados por exceso (hipertiroidismo con T_4 y tirotoxicosis con T_3), como por defecto (hipotiroidismo por tiroprivación), en animales mantenidos en esta situación de forma crónica hasta la edad fijada para su sacrificio, por decapitación y sin anestesia, a los 70 días de vida. Por lo tanto, los resultados obtenidos en este trabajo apoyan las publicaciones de GARCÍA *et al.* (11), así como las de EBERHARDT *et al.* (6), lo que estimula a seguir estudiando el comportamiento bioquímico de las diversas áreas integrantes del cerebro de ratas adultas y especialmente a aquellas sometidas a situaciones experimentales de déficit crónico o de aumento de H.T. circulantes.

Resumen

Se estudia el metabolismo oxidativo y la actividad enzimática en corteza anterior (tejido control), adenohipófisis, hipotálamo, complejo amigdalino, área septal e hipocampo, en ratas macho, adultas, sometidas a alteraciones de la función tiroidea por exceso (mediante hipertiroidismo con L-tiroxina; tirotoxicosis con L-triiodotironina) y por defecto crónico (hipotiroidismo por tiroprivación).

Se observa una influencia variable de las hormonas tiroideas sobre las áreas estudiadas —que pa-

rece depender de la situación experimental, y que puede indicar un comportamiento metabólico oxidativo peculiar de cada área cerebral ante la administración de H.T.—, y un significativo descenso del QO_2 ante la cronicidad del hipotiroidismo en la mayoría de las áreas. En los resultados de actividad del enzima GDH, es destacable el aumento o la disminución de la actividad enzimática en ausencia o presencia de las hormonas tiroideas.

Bibliografía

1. ALBE, D.: Atlas stereotaxique du diencephale du rat blanche. Editions du CNRS. Paris 1966.
2. EL-HASSAN, A., ZUBAIRU, S., HOTHERSALL, J. S. y GREENBAUM, A. L.: *Enzyme*, 26, 107-112, 1981.
3. BAQUER, N., HOTHERSALL, J. S., MCLEAN, P. y GREENBAUM, A. L.: *Devl. Med. Child. Neur.*, 19, 81-104, 1977.
4. BERMEYER, H. V.: *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press. Nueva York, 1974. Vol. I, p. 85.
5. EAYRS, J.: *Arch. Biol.*, 75, 529-565, 1964.
6. EBERHARDT, N. L., VALCANA, T. y TIMIRAS, R. S.: *Psychoneuroendocrin.*, 1, 399-409, 1976.
7. ESCOBAR, M. C., FERNÁNDEZ PASTOR, J. M. y SÁNCHEZ CORADO, M. C.: *VII Intern. Biophysic Congr. and III Pan-American Biochem. Congr., México*, 1981. Abst. 169.
8. ESCOBAR, M. C. y FERNÁNDEZ PASTOR, J. M.: *XVIII Congr. S.E.C.F. Valencia*, 1979, 028.
9. FAZEKAS, J. F., GRAVES, F. B. y ALTMAN, R. W.: *Endocrinology*, 48, 169-174, 1951.
10. FERNÁNDEZ PASTOR, J. M., ESCOBAR, M. C. y SÁNCHEZ CORADO, M. C.: *XXVIII Intern. Congr. Physiol. Sc. Budapest*, 1980, 14, 1401, 409.
11. GARCÍA, M. D., ESCOBAR DEL REY, F. y MORREALE DE ESCOBAR, G.: *Endocrinology*, 98, 203-213, 1976.
12. GEEL, S. E., VALCANA, T. y TIMIRAS, P. S.: *Brain Res.*, 4, 143-149, 1967.
13. HAMBURGH, M. y FLEXNER, L. B.: *Neurochem.*, 1, 279-288, 1957.
14. ISHINGURO, K., SUZUKI, J. y TAMOTU SATO: *Acta Endocrinológica*, 95, 495-499, 1980.
15. LAMBERS, H.: *Physiol. Plant.*, 37, 117-127, 1976.
16. LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L., RANDALL, R. J.: *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275, 1951.
17. MENÉNDEZ PATTERSON, A.: Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Oviedo, 1976.
18. MORELL, M., RODRIGUEZ, E. y OSORIO, C.: *VI Meeting of the Federation of European Biochemical Societies. Madrid*, 1969, 600.
19. MORELL, M., RODRIGUEZ, E. y OSORIO, C.: *II Col. Int. Gonadotropinas Humanas. Barcelona*, 1969, 133.
20. NAIDOO, S., VALCANA, T. y TIMIRAS, P.: *Dev. Neuroscience (Suiza)*, 5, 213-234, 1979.
21. NAIDOO, S., VALCANA, T. y TIMIRAS, P.: *Amer. Zool.*, 18, 545-552, 1978.
22. OPPENHEIMER, J. M., SCHWARTZ, H. L. y SURKS, M. I.: *Endocrinology*, 95, 897-903, 1974.
23. PASQUINI, J. M., KAPLAN, L., GARCIA ARGIZ, A., y GOMEZ., G.: *Brain Res.*, 6, 621-630, 1967.
24. PATEL, M. S.: *J. Geront.*, 32, 643-646, 1977.
25. PENG, M. T., PENG, J. I. y CHEN, F. N.: *J. Geront.*, 32, 517-522, 1977.
26. RODRIGUEZ, E., MORELL, M. y OSORIO, C.: *Rev. esp. Fisiol.*, 27, 99-102, 1971.
27. RUIZ MARCOS, A., SANCHEZ TOSCANO, F. y MORREALE DE ESCOBAR, G.: *XVIII Congr. S.E.C.F. Valencia*, 1979, 081.
28. SÁNCHEZ TOSCANO, F., ESCOBAR DEL REY, F., MORREALE DE ESCOBAR, G. y RUIZ MARCOS, A.: *XVIII Congr. S.E.C.F. Valencia*, 1979, 080.
29. SCHIAFFINI, D., MENÉNDEZ-PATTERSON, A. y MARIN, B.: *Reproducción*, 1, 45-48, 1974.
30. SCHEIMBERG, P.: *J. Clin. Invest.*, 29, 1010-1013, 1950.
31. SCHWARTZ, H. L. y OPPENHEIMER, J. M.: *Endocrinology*, 103, 943-948, 1978.
32. VALCANA, T.: *Proc. Intern. Soc. Psychoneuroendocr., Brooklyn*. Karger. Basel, 1971. pp. 174-184.
33. VALCANA, T. y TIMIRAS, P. S.: *J. Neurochem.*, 16, 935-943, 1969.