

Efecto de la triiodotironina sobre la incorporación de P³² a fosfolípidos cerebrales de pollo y rata

T. González-Padrones, C. Rodríguez-Fernández y J. M.^a Macarulla

Departamento de Bioquímica
Facultad de Ciencias
Universidad del País Vasco
Bilbao

(Recibido el 10 de septiembre de 1979)

T. GONZALEZ-PADRONES, C. RODRIGUEZ-FERNANDEZ and J. M. MACARULLA. *The Effect of the Thyroid Hormone Triiodothyronine on the Incorporation of ³²P to Brain Phospholipids in Rat and Chicken*. Rev. esp. Fisiol., 36, 383-388. 1980.

The incorporation of ³²P to brain phospholipids has been studied, in chicken as well as in rat. Both animal species were at different stage of brain development, although degrees of psychomotive development were identical. It is observed that the effect of triiodothyronine is more pronounced when the degree of brain myelination is smaller.

The radioactive precursor is frequently incorporated to choline and ethanolamine phospholipids, and this incorporation is higher in hyperthyroid animals with a low degree of myelination.

The triiodothyronine activates, in both animal species, the salvage pathway of phospholipid biosynthesis. This activation takes place 36 h before hormone action in chicken, while in rat, the most significant differences occur 36 h after hormone action.

En el período de desarrollo de todas las especies animales se observa acumulación de lípidos en los distintos tejidos, pero preferentemente en el sistema nervioso central (6, 7, 14, 24).

El contenido en fosfolípidos, así como de colesterol y cerebrósidos, aumentan asintóticamente con la edad desde el desarrollo fetal (16). El incremento de la composición lipídica va acompañado de cambios morfológicos que ocurren durante la formación de la mielina. Los fosfolípidos son componentes esenciales de las

membranas celulares, así como de mielina (16), estando muy relacionados con la estructura del cerebro (1, 17) y, por tanto, con su desarrollo.

Las alteraciones histológicas observadas durante el hipotiroidismo conciernen principalmente al desarrollo de procesos celulares y dendritas (5, 20, 23).

Estos efectos están asociados con cambios bioquímicos: la actividad de síntesis de proteínas está reducida, habiéndose demostrado también, en ratas hipertiroideas, un aumento en la síntesis de DNA (19).

La formación de microtúbulos durante el desarrollo normal del cerebro requiere la presencia de hormonas tiroideas y se cree que la unión de microtúbulos se necesita para el establecimiento de conexiones nerviosas y crecimiento del axón (10).

El estado tiroideo neonatal afecta al curso de la mielinización. Hay una disminución en la cantidad de mielina depositada en los cerebros de ratas hipotiroideas en el nacimiento (3, 11, 18, 22, 26, 27), mientras que la administración neonatal de hormona tiroidea adelanta la deposición de mielina tanto en ratas intactas (29) como en cultivos de tejido cerebral obtenido de ratas recién nacidas (13). La tireotomía neonatal extiende el período normal de desarrollo cerebral que incluye la mielinización (9, 11, 21).

Conocida la composición lipídica del tejido cerebral (5) y las diferencias cuantitativas de los fosfolípidos en los distintos estados de mielinización (5), en el presente trabajo, mediante el empleo de P^{32} , en forma de fosfato disódico, se pretende: Estudiar las diferencias en el recambio de los distintos fosfolípidos cerebrales de dos especies animales: pollo y rata, que se encuentran en el mismo estado de desarrollo biológico, siendo su estado distinto de madurez cerebral distinto (5), y Conocer el efecto de la hormona tiroidea triiodotironina sobre el recambio de los fosfolípidos cerebrales en las dos especies animales en estudio. Las hormonas tiroideas tienen un efecto profundo en el desarrollo del cerebro; por ejemplo, el hipotiroidismo congénito produce un severo retraso mental (cretinismo) en el hombre y animales. El tratamiento con hormonas tiroideas después del nacimiento acelera el desarrollo del comportamiento organizado innatamente y de la actividad electrocortical (29).

Material y métodos

Como material biológico se emplearon pollos (*Gallus domesticus* var. Leghorn

blanca) y ratas (*Rattus rattus* var. Wister). Los pollos de 8 horas de vida, con un peso corporal de 50 g aproximadamente, tienen un desarrollo psicomotriz idéntico a las ratas de laboratorio de 18 días, cuyo peso es también de 50 g.

Tanto los pollos como las ratas se dividen en dos lotes: controles y tratados. A los controles se les inyecta, por vía intraperitoneal, 10 μ C de P^{32} disueltos en 0,5 ml de suero fisiológico y a los tratados con hormona, la inyección contiene, además, 4 μ g de T_3 .

Los animales son sacrificados, por decapitación, a las 6, 12, 24, 36, 48 y 72 horas después del tratamiento con T_3 y P^{32} .

El extracto lipídico del tejido cerebral (25) se disuelve en cloroformo; de esta disolución se toman tres alícuotas en las que se determina: Radiactividad total incorporada a la fracción lipídica; fósforo lipídico, y separación de los distintos fosfolípidos por cromatografía en capa delgada.

La radiactividad se determina empleando como líquido de centelleo la siguiente composición:

PPO, 5 g; POPOP, 0,1 g; tolueno, 100 ml, y tritón X-100, 500 ml.

Las medidas se realizan en un contador de centelleo líquido Intertechnique modelo Abac 40 L.

El contenido en fósforo se determina por el método de FISKE (8) modificado por BARLETT (4).

En la tercera alícuota se realiza una cromatografía en capa delgada para separar los distintos fosfolípidos (12). En cada fosfolípido aislado se determina la radiactividad incorporada y el contenido en fósforo (4, 8).

Resultados y discusión

En la figura 1 se representa la incorporación de P^{32} a los fosfolípidos del tejido cerebral tanto en pollo como en rata, así como el efecto de la T_3 sobre

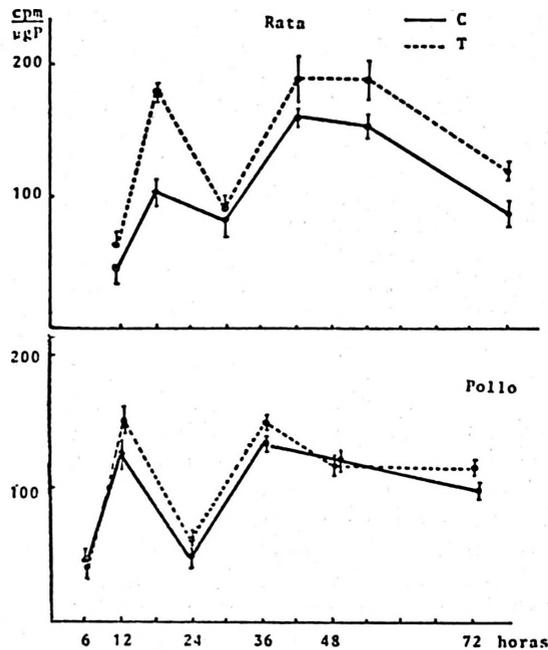


Fig. 1. Efecto de la T₃ sobre la incorporación de P³² a la fracción lipídica total del tejido cerebral, en pollo y rata. Valores expresados en c.p.m./μg P lipídico ± DS (n = 5).

esta incorporación. En pollo no se observan diferencias significativas entre animales controles y animales tratados; en cambio, en rata, a las 12 horas, después de practicada la inyección de T₃, empiezan a aparecer diferencias que permanecen casi constantes hasta las 72 horas. La hormona activa las rutas biosintéticas de los fosfolípidos (18), estando más favorecidas en el caso de rata que en el pollo. El pollo, aunque recién nacido, se encuentra en un estado de mielinización mucho más avanzado que la rata (5), por tanto la hormona tiene una acción más intensa sobre estados de mielinización más retardados.

Conocido el efecto de la hormona sobre los fosfolípidos totales, se estudia dicho efecto sobre cada uno de los distintos fos-

folípidos del extracto lipídico total, que se separan por cromatografía en capa delgada (12) y, según sus R_f ascendentes, son identificados como: lisofosfoglicéridos, esfingomielinas, fosfatidilserinas, fosfatidilcolinas, fosfatidilinositol, fosfatidiletanolaminas.

En cada uno de estos fosfolípidos se determina la radiactividad según se describe en Material y métodos.

La incorporación del precursor radiactivo a los distintos fosfolípidos cerebrales de las dos especies animales en estudio, desde un punto de vista cuantitativo, no presenta ninguna variación, excepto en el caso de los lisofosfoglicéridos y en los fosfoglicéridos de serina (figs. 2 a 7).

En los lisofosfoglicéridos de pollo (figu-

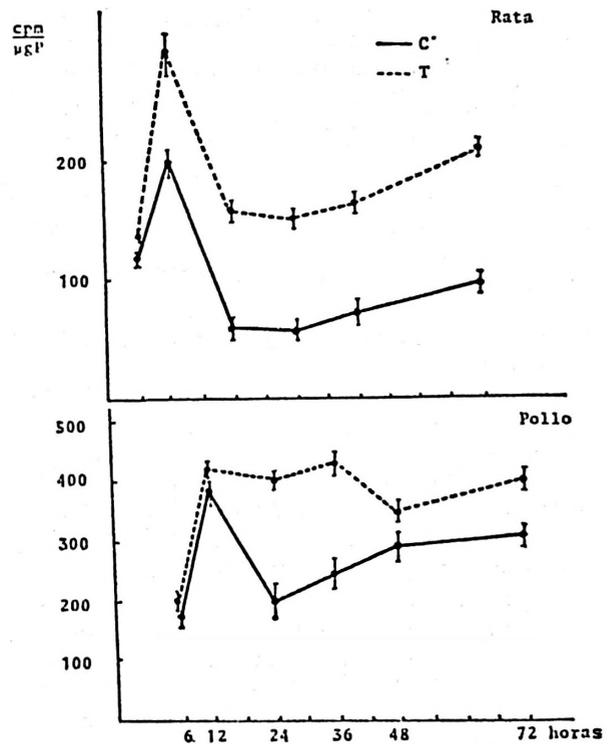


Fig. 2. Efecto de la T₃ sobre la incorporación de P³² a los lisofosfoglicéridos en pollo y en rata.

Valores expresados en c.p.m./μg P ± DS (n = 5).

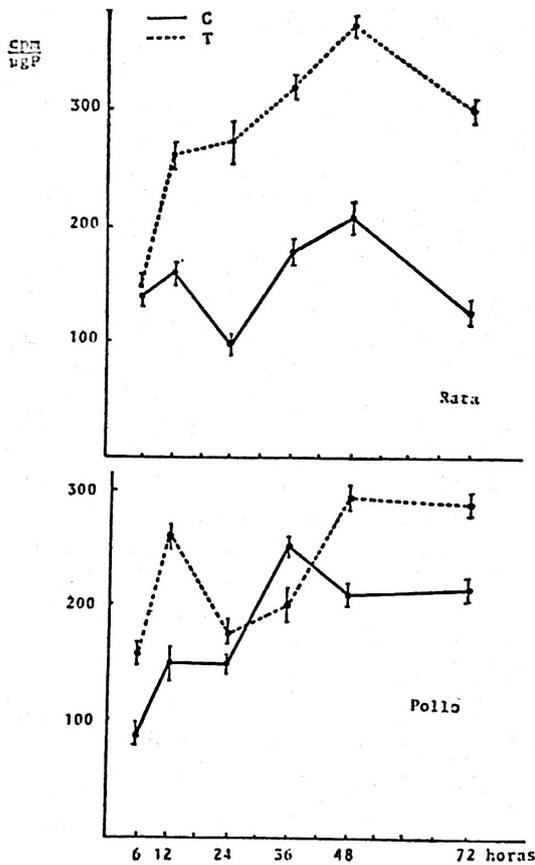


Fig. 3. Efecto de la T_3 sobre la incorporación de P^{32} a las esfingomielinas en pollo y en rata. Valores expresados en c.p.m./ μ g $P \pm DS$ ($n=5$).

ra 2) se incorpora, a las 12 horas, el doble de radiactividad que en el mismo fosfolípido de ésta. En los fosfoglicéridos de serina (fig. 5) la incorporación del precursor radiactivo es más notable en rata a las 36 horas que en pollo, pero ambas especies animales presentan un máximo de radiactividad a las 36 horas, a partir de este momento se observa un descenso brusco hasta las 72 horas.

En la misma proporción que disminuye la radiactividad en estos fosfoglicéridos aumenta en los fosfoglicéridos de etanolamina (fig. 7) y posteriormente en los de

colina (fig. 6). Por descarboxilación de la serina se biosintetizan los fosfoglicéridos de etanolamina y, a partir de éstos, por metilaciones sucesivas, se obtienen los fosfoglicéridos de colina.

La T_3 favorece la incorporación de P^{32} a los distintos fosfolípidos, pero las diferencias entre animales controles y tratados son más significativas en rata que en pollo. También se manifiesta más notablemente en los fosfoglicéridos de colina y etanolamina (figs. 6 y 7), así como en las esfingomielinas (fig. 3). El contenido de estos fosfolípidos es índice de mielinización (5), luego la hormona tiroidea activa el proceso de maduración cerebral.

La triiodotironina activa las rutas de biosíntesis de los fosfolípidos cerebrales, pero en todas las figuras se aprecia una activación anterior a las 36 horas en el caso del pollo; en la rata, la activación de la hormona se prolonga a lo largo de las 72 horas.

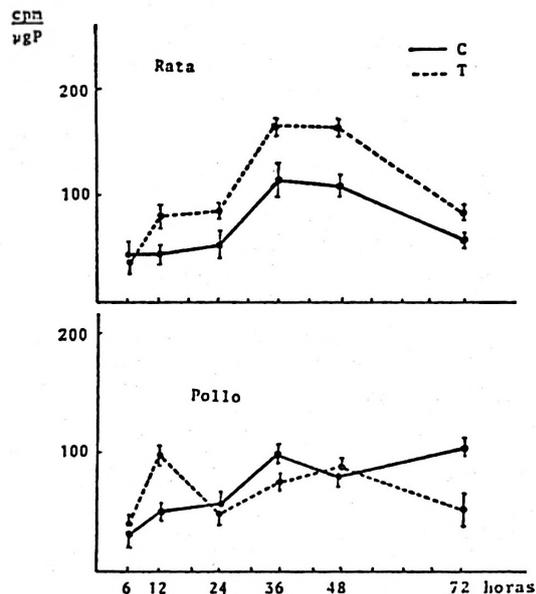


Fig. 4. Efecto de la T_3 sobre la incorporación de P^{32} a los fosfoglicéridos de inositol, en pollo y en rata.

Valores expresados en c.p.m./ μ g $P \pm DS$ ($n=5$).

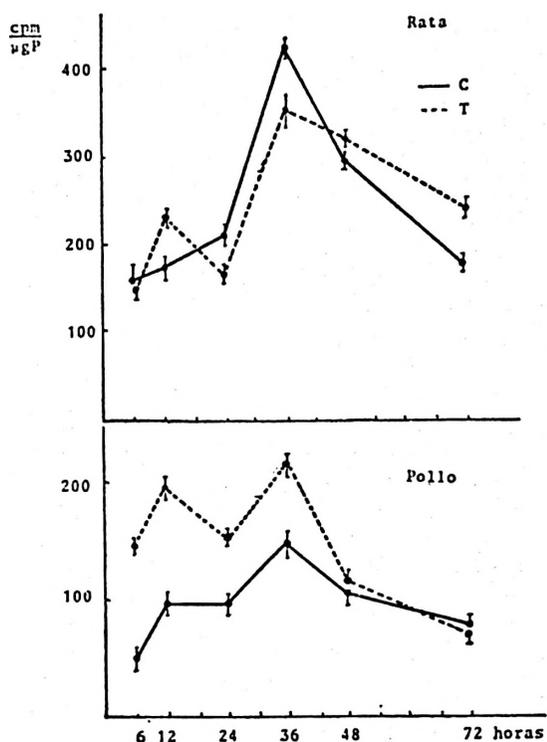


Fig. 5. Efecto de la T₃ sobre la incorporación de P³² a los fosfoglicéridos de serina, en pollo y en rata. Valores expresados en c.p.m./μg P ± DS (n=5).

Están descritas dos rutas biosintéticas para fosfolípidos: la directa, que se inicia con el ácido fosfatídico, y la ruta de ahorro o vía salvaje, cuyo primer eslabón son las bases activadas (CDP-base). La hormona tiroidea favorece la biosíntesis de los fosfolípidos por esta última, ya que la máxima radiactividad se detecta en los lisofosfoglicéridos a las 12 horas después del tratamiento con hormona, siendo los fosfoglicéridos, fosfolípidos que se obtie-

Fig. 7. Efecto de la T₃ sobre la incorporación de P³² a los fosfoglicéridos de etanolamina, en pollo y en rata. Valores expresados en c.p.m./μg P ± DS (n=5).

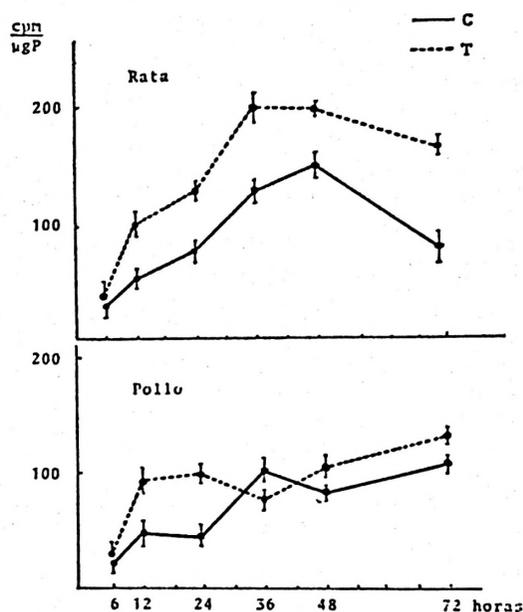
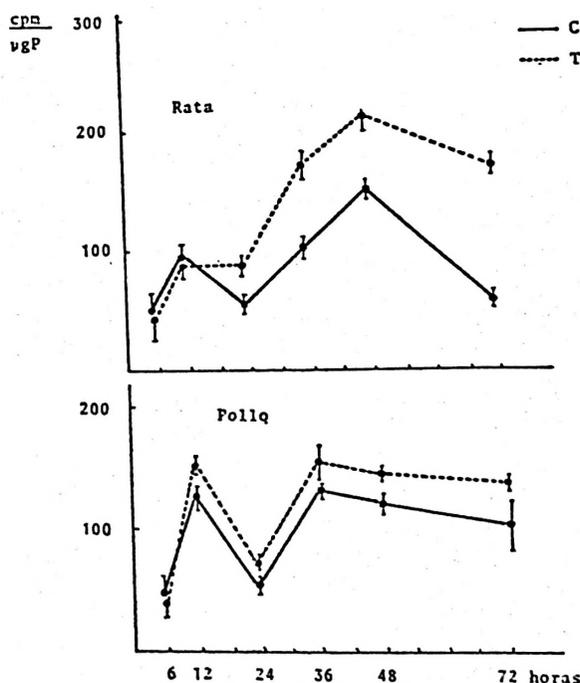


Fig. 6. Efecto de la T₃ sobre la incorporación de P³² a los fosfoglicéridos de colina, en pollo y en rata. Valores expresados en c.p.m./μg P ± DS (n=5).



nen por lisis de los otros. Si en un período tan corto del tratamiento con hormona los fosfolípidos de los animales tratados presentan la máxima radiactividad, la ruta biosintética activada por la hormona tiene que ser la ruta de biosíntesis más corta.

Resumen

Se estudia la incorporación de P³² a los diferentes fosfolípidos cerebrales tanto en pollo como en rata. Ambas especies animales se encuentran en un estado de desarrollo cerebral distinto, apreciándose un desarrollo psicomotor análogo.

Se observa: que la triiodotironina tiene mayor efecto cuanto menos mielinizado esté el cerebro.

El precursor radiactivo se incorpora frecuentemente a los fosfolípidos de colina y etanolamina y que esta incorporación es tanto mayor en animales hipertiroideos y con bajo índice de mielinización.

Que la T₃ activa, en las dos especies animales, la ruta salvaje o de ahorro de biosíntesis de fosfolípidos. Esta activación, en el caso del pollo, es anterior a las 36 horas y en el de la rata las mayores diferencias significativas, entre animales controles y tratados, aparecen después de las 36 horas del tratamiento con hormona.

Bibliografía

1. ALTMAN, J.: *J. comp. Neurol.*, **145**, 353-398, 1972.
2. BALAZS, R., BROCKSBANK, B. W. L., DAVISON, A. N., EAYRS, J. T. and WILSON, D. A.: *Brain Res.* **15**, 219-232, 1969.
3. BALAZS, R., BROCKSBANK, B. W. L., DAVISON, A. N., RICHTER, D. and WILSON, D. A.: *J. Physiol.*, **201**, 28-29, 1969.
4. BARLETT, G. R.: *J. Biol. Chem.*, **234**, 466-469, 1959.
5. COROMINAS, A.: «Los lípidos, laboratorio y clínica». Ed. Toray, S. A. Barcelona, 1973, p. 223.
6. DAVINSON, A. N. and WAJDA, M.: *J. Neurochem.*, **4**, 353-359, 1965.
7. DEKOBAN, A. S., PATTON, V. M. and CAIN, D. F.: *J. Neurochem.*, **18**, 2451-2459, 1971.
8. FISKE, G. H. and SUBBAROW, Y. L.: *J. Biol. Chem.*, **66**, 375-377, 1925.
9. GEAL, S. E. and TIMIRAS, P. S.: *Brain Res.*, **4**, 135-142, 1967.
10. FRANCON, J., ARLETTE, F., LENNON, A. M. and NÚÑEZ, J.: *Nature*, **266**, 188-189, 1977.
11. HAMBURG, M.: *Gen. Comp. Endocrinol.*, **10**, 198-213, 1969.
12. GONZÁLEZ-PADRONES, T. y RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ, C.: *Laboratorio*, **69**, 201-209, 1980.
13. HAMBURG, M.: *Rev. Biol.*, **13**, 15-30, 1966.
14. LAUDER, J. M.: *Brain Research*, **142**, 25-39, 1978.
15. LEGRAND, J.: *Archs. Anat. microsc. Morph. exp.*, **56**, 291-308, 1972.
16. LESCH, P.: *Modern Prob. Paediat.*, **13**, 130-140, 1978.
17. LEVEILLE, G. A., O'HEA, E. K. and CHAKRABARTY, K.: *Soc. Exp. Biol. Med.*, **128**, 398-399, 1968.
18. MALONE, M. J., ROSMAN, N. P., SZOKEM and DAVIS, D.: *J. Neurol. Sci.*, **26**, 1-11, 1975.
19. MORTON, E. and WEICHSEL, J. R.: *Brain Research*, **78**, 455-465, 1974.
20. NICHOLSON, J. L. and ALTMAN, J.: *Brain Res.*, **44**, 13-23, 1972.
21. PASQUINI, J. M., KAPLUN, B., GARCÍA ARGIZ, C. A. and GÓMEZ, C. J.: *Brain Res.*, **6**, 621-634, 1967.
22. PELTON, E. W. and BOSS, N. H.: *Acta Neurol.*, **39**, 145-150, 1973.
23. REBIERE, A. and LEGRAND, J.: *Archs. Anat. microsc. Morph. exp.*, **61**, 105-126, 1972.
24. ROBINS, E. and LOWE, I. P.: *J. Neurochem.*, **8**, 81-95, 1961.
25. RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ, C., MARINO, A., FEDRIANI, J. R. y MACARULLA, J. M.: *An. Quim.*, **75**, 419-421, 1979.
26. ROSMAN, N. P., MALONE, M. J., STEFFENSTEIN, M. and KRAFT, E.: *Neurology*, **22**, 99-106, 1972.
27. ROSMAN, N. P., MALONE, M. J. and SZOKE, M.: *J. Neurol. Sci.*, **26**, 159-165, 1975.
28. SANCHO, M. J.: «Tesis Doctoral». Universidad de Granada, 1975, pp. 24-35.
29. SHAPIRO, S.: *Gen. Comp. Endocr.*, **10**, 214-222, 1968.