

Efecto de la administración de prostaglandina $F_{2\alpha}$ y E_2 sobre la secreción de LH en la rata *

J. A. F. Tresguerres, M. C. Fernández-Galaz, M. Martínez-Guarro y A. Oriol-Bosch

Cátedra de Endocrinología Experimental
Departamento de Fisiología
Facultad de Medicina
Universidad Complutense
Madrid-3 (España)

(Recibido el 6 de diciembre de 1976)

J. A. F. TRESGUERRES, M. C. FERNANDEZ-GALAZ, M. MARTINEZ-GUARRO and A. ORIOL-BOSCH. *Effect of Administering Prostaglandine $F_{2\alpha}$ and E_2 on LH Secretion in Rat*. Rev. esp. Fisiol., 33, 205-210. 1977.

Intraperitoneal administration of 100 ng of synthetic LH-RH to castrated male rats, produces a significant elevation of plasma LH values, as determined by RIA. A greater increase is obtained, by administering 400 ng of LH-RH. Intrayugular injection of physiologic saline reduces basal values of plasma LH. This pattern is not modified by administration of 10 μ g or 100 μ g of $PGF_{2\alpha}$. On the other hand 10 μ g of PGE_2 compensates the fall and 100 μ g significantly increases plasma LH over the basal values. Intracarotidly a similar pattern is observed. Plasma LH values decreases in the control group and no modification is observed by the administration of 10 μ g of $PGF_{2\alpha}$. By injecting the same amount of PGE_2 , plasma LH values remains constant, compensating the fall observed in the controls. Our results show a stimulatory effect of PGE_2 and no effect of $PGF_{2\alpha}$ on LH secretion in the castrated male rat.

Las prostaglandinas desempeñan un importante papel en la luteolisis de roedores de laboratorio (1, 10, 12). Sin embargo, el mecanismo de esta acción no está aclarado satisfactoriamente. LABHSETWAR (8) observó un aumento en la LH hipofisa-

ria en ratas preñadas cuando eran tratadas con $PGF_{2\alpha}$ para provocar la luteolisis, sugiriendo que fuese dicha elevación la responsable. Las ideas de Labhsetwar fueron aparentemente confirmadas por una publicación posterior (17) donde aparece una disminución del período de pseudo-gravidez en la rata tras la implantación de $PGF_{2\alpha}$ en la eminencia media, sugiriéndose la posibilidad de que la LH fuese responsable de este efecto, aunque no se miden los niveles de la misma.

CHAMLEY y CHRISTIE (3) no encuen-

* Este trabajo ha sido presentado, en dos comunicaciones distintas, a los siguientes congresos: Reunión de la Asociación de Endocrinología y Nutrición, Barcelona, enero 1975, y I Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, Zaragoza, junio 1975.

tran modificaciones en la LH al administrar $\text{PGF}_{2\alpha}$ por vía intracarotídea a ovejas castradas, y CARLSON *et al.* (2), sin embargo, observan elevación tras la administración subcutánea de $\text{PGF}_{2\alpha}$. TSAFIRI *et al.* (15) observan que la PGE_2 es capaz de compensar el bloqueo de secreción de LH causado por el Nembutal; ZOR *et al.* (19), al administrar PGE_2 a hipófisis *in vitro*, detectan una elevación del AMP cíclico, pero no de LH.

La contradicción que parecen reflejar estos resultados indujo a la realización de una serie de experimentos, utilizando la rata macho castrada como modelo experimental, para observar el efecto de diferentes dosis y vías de $\text{PGF}_{2\alpha}$ y PGE_2 sobre los niveles de LH.

Material y métodos

Ratas machos Wistar de dos y medio a tres y medio meses de edad, y alojadas en el criadero en condiciones naturales de luz y con aire acondicionado, son castradas mediante una incisión en el escroto bajo anestesia con éter. Una semana después son divididas en varios grupos, que se someten a los diferentes experimentos.

Cuatro grupos, de cuatro ratas cada uno, son anestesiados ligeramente con éter, poniéndose al descubierto la vena yugular y tomándose una muestra de sangre basal. El grupo control es inyectado por vía intraperitoneal con 0,5 ml de solución salina. A los otros grupos se administran por la misma vía 25, 100 y 400 ng de LH-RH (Luforan® Pevya) disuelta en solución salina, tomándose en todos los casos nuevas muestras de sangre, a los 10, 20 y 60 minutos de la inyección.

A cinco grupos de cinco animales le son tomadas, en igual forma, muestras basales de sangre y, seguidamente, son inyectados por vía intrayugular con 10 ó 100 microgramos de $\text{PGF}_{2\alpha}$ o PGE_2 en 0,5 ml de suero fisiológico, o bien con la misma cantidad de vehículo sólo (controles). Se hacen nuevas tomas de sangre a los 5, 10

y 20 minutos. La inyección se realiza a temperatura ambiente, en dirección al encéfalo y muy lentamente.

Finalmente, a tres grupos de cinco ratas se toman muestras basales de la forma descrita y seguidamente se pone al descubierto la carótida, inyectándose 10 microgramos de $\text{PGF}_{2\alpha}$ o PGE_2 en 0,1 ml de solución salina o bien, solamente, la misma cantidad de vehículo. La inyección se realiza igualmente en dirección al cerebro, lentamente y a temperatura ambiente.

En todos los casos la sangre se recoge en jeringa heparinizada y se centrifuga inmediatamente, congelándose el plasma hasta su utilización.

La LH plasmática se determina por radioinmuno-ensayo con anticuerpo y patrones suministrados por el NIAMD*. El marcaje de la LH de rata (NIAMD Rat LH-I-4) se hace, con I-125, por el método de la cloramina T (5). Una vez marcada, la hormona se purifica en una columna de Sephadex G-75 (16). Los valores de LH se expresan en ng/ml del preparado de referencia NIAMD Rat LH-RP-1. El rango de utilización de la curva patrón oscila entre 10 y 200 ng, con un coeficiente de variación para las muestras del 8,5 %. Los niveles de LH no son detectables en ratas machos intactas, mientras que tras el aumento experimentado después de la castración, a los 7 días, son mensurables utilizando alícuotas de 200 μ l de plasma.

Resultados

En la figura 1 puede observarse la respuesta de la LH plasmática a dosis crecientes de LH-RH, en el modelo experimental elegido.

Los valores basales de alrededor de 200 ng/ml no experimentan variaciones

* National Institute of Arthritis and Metabolic Diseases (USA).

significativas en los controles, ni en los animales tratados con 25 ng de LH-RH a lo largo de toda la prueba. En los tratados con 100 ng, los niveles ascienden a 380 ± 25 ng/ml ($p < 0,02$) a los 20 minutos de la inyección, descendiendo a 330 ± 64 ng/ml ($p < 0,05$) a los 60 minutos, mientras que en los tratados con 400 nanogramos, existe ya una subida muy significativa a los 10 minutos (540 ± 56 ng/ml, $p < 0,001$), que a los 20 alcanza el máximo con 654 ± 61 y a los 60 disminuye a 480 ± 56 ng/ml.

Tras la inyección por vía intrayugular de solución salina fisiológica a las ratas empleadas como control, los niveles de LH descienden significativa y progresivamente con respecto a los niveles basales ($p < 0,01$). Asimismo disminuye tras la administración de 10 ó 100 μ g de $\text{PGF}_{2\alpha}$, siendo el descenso similar al de los controles. La administración de 10 μ g de PGE_2 es capaz de compensar esta caída, y 100 μ g de PGE_2 no sólo la compensa, sino que los aumenta significativamente

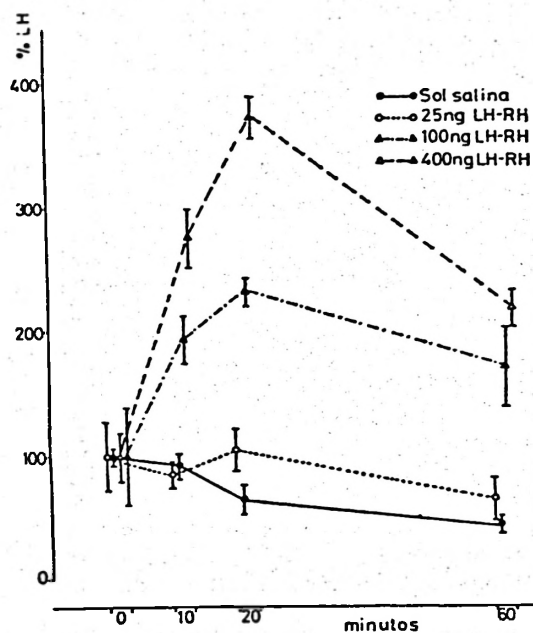


Fig. 1. Efecto de diferentes dosis de LH-RH sobre los niveles de LH plasmáticos en la rata macho castrada.

Valores ($\bar{x} \pm \text{S.E.M.}$) expresados en porcentaje sobre el valor basal.

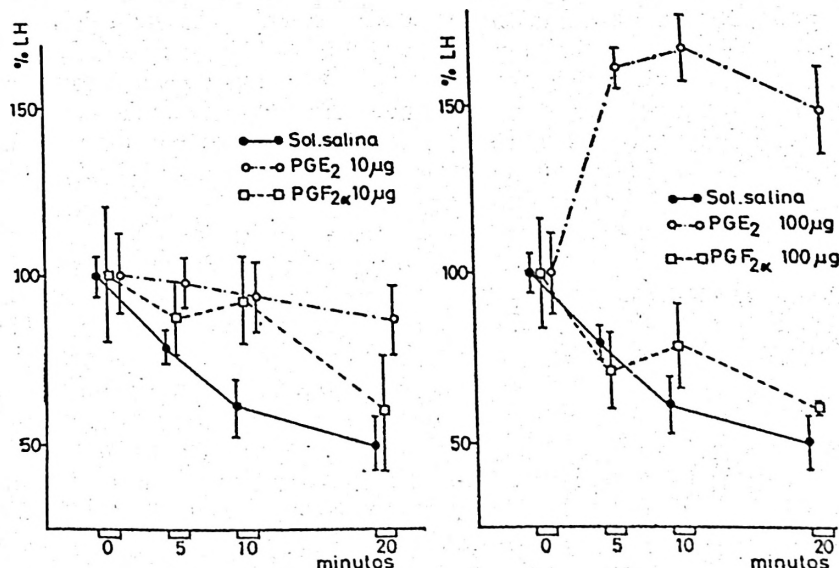


Fig. 2. Efecto de la inyección intravenosa (yugular) de $\text{PGF}_{2\alpha}$ o PGE_2 sobre los niveles plasmáticos de LH.

Valores ($\bar{x} \pm \text{S.E.M.}$) expresados en porcentaje sobre el valor basal.

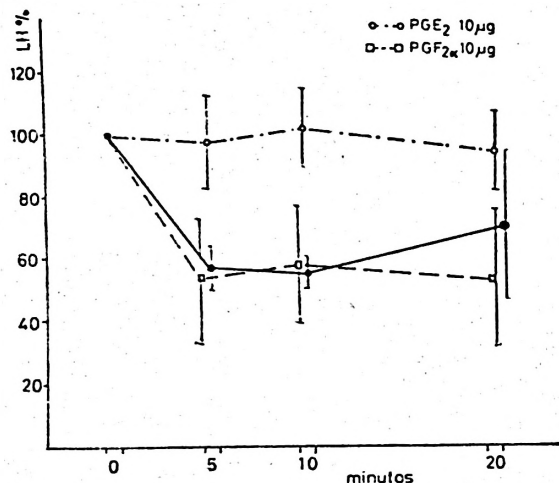


Fig. 3. Efecto de la administración por vía arterial (carótida) de $GPF_{2\alpha}$ o PGE_2 sobre los niveles de LH.

En línea continua, controles inyectados con vehículo. Valores ($\bar{x} \pm S.E.M.$) expresados en porcentaje sobre el valor basal.

por encima de los basales ($p < 0,01$) (figura 2).

Por vía intracarotídea ocurre un fenómeno similar (fig. 3). La disminución en los controles es más brusca que en los grupos inyectados por vía venosa, y la administración de $10 \mu g$ de $GPF_{2\alpha}$ no modifica dicha caída. Sin embargo, tras $10 \mu g$ de PGE_2 , los niveles de LH permanecen prácticamente constantes, compensándose significativamente el descenso que aparece en los controles ($p < 0,01$).

El análisis de las muestras se ha realizado según el método de Kruskal (7).

Discusión

La utilización de la rata macho castrada como modelo experimental debido a las limitaciones metodológicas del RIA de LH, hace necesaria su validación en lo que respecta a la secreción de gonadotropinas, antes de poder ser utilizado en nuestros experimentos. Una semana des-

pués de la castración, los niveles basales de LH, que en el animal íntegro es de alrededor de 20 ng/ml , suben a 200 ng/ml . La respuesta a diferentes dosis de LH-RH se hace muy evidente, pudiendo utilizar el modelo teniendo en cuenta que, al desaparecer el medio hormonal sexual con la castración, se está operando en condiciones no fisiológicas y los resultados pueden no ser absolutamente extrapolables a los animales intactos.

El descenso progresivo de LH en plasma, en las ratas empleadas como control de la administración intrayugular, lo encuentran también McCANN *et al.* (9), quienes lo atribuyen, bien a la anestesia por éter, bien a las tomas repetidas de sangre o a ambas cosas. La caída de LH más rápida en las ratas control de las administraciones por vía intracarotídea podría estar relacionado con el mayor *stress* producido por la manipulación de esta vía. La administración de $10 \mu g$ de PGE_2 , por ambas vías, es capaz de compensar la disminución de los niveles de LH que aparece en los controles, lo cual puede ser interpretado como una estimulación de la secreción de dicha hormona. La inyección de $100 \mu g$ de PGE_2 , no sólo compensa la caída de su grupo control, sino que, además, aumenta significativamente sobre sus niveles basales ($p < 0,01$), confirmando los resultados obtenidos con 10 microgramos.

De acuerdo con OJEDA *et al.* (11), la administración de PGE_2 a dosis relativamente altas produce una elevación estadísticamente significativa de LH. Esta respuesta puede deberse a que al realizarse una administración sistémica, se inactiva una gran parte a su paso por el pulmón (13), por lo que solamente actúa una pequeña fracción de la inyectada. En los trabajos de OJEDA *et al.* (11) administran la PGE_2 en el tercer ventrículo directamente, por lo cual les basta con dosis mucho más pequeñas para encontrar una respuesta, tanto en machos castrados como en íntegros.

Recientemente, CHOBSIENG *et al.* (4) y SATO *et al.* (14) han encontrado resultados similares, observando que la estimulación se verifica a nivel hipotalámico con liberación endógena de LH-RH. Esta liberación no es bloqueable por antagonistas colinérgicos ni monoaminérgicos, según han visto HARMS *et al.* (6).

Se puede consignar el efecto estimulador de la PGE_2 sobre la secreción de LH confirmando las observaciones de TSAFIRI (15), y, sin embargo, no se ha podido observar ninguna influencia de la $PGF_{2\alpha}$ como habían visto CARLSON *et al.* (2) en oveja y WARBERG *et al.* (18) en rata. En cualquier caso, el papel fisiológico de estos hechos continúa sin aclarar.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al NIAMD (Rat Pituitary Hormone Program), por proveer el kit de LH de rata empleado en nuestro radioinmunoensayo. También agradecen al Laboratorio PEVYA el suministro de LH-RH (Luforán) y a los Laboratorios Upjohn, de Kalamazoo, Michigan, por el suministro de las prostaglandinas.

Resumen

La administración de 100 ng de LH-RH sintético por vía intraperitoneal a ratas machos castrados, produce un aumento significativo de los niveles de LH plasmático determinados por RIA. Este aumento es mucho mayor al administrar 400 ng de LH-RH. La inyección por vía venosa yugular de solución salina fisiológica lleva aparejada una disminución de los niveles basales de LH plasmático. La inyección por la misma vía de 10 μ g o 100 μ g de $PGF_{2\alpha}$ no modifican dicha disminución. La administración de 10 μ g de PGE_2 , sin embargo, compensa la caída observada en los controles, y 100 μ g de la misma prostaglandina producen una elevación significativa sobre sus valores basales. Por vía arterial a través de la carótida los controles bajan también sus niveles de LH y 10 μ g de $PGF_{2\alpha}$ no modifican esta caída. Si se inyectan 10 μ g de PGE_2 se compensa dicha disminución, permaneciendo constantes los valores plasmáticos de LH. Los resultados indi-

can un efecto estimulador de PGE_2 sobre la secreción de LH en la rata macho castrada mientras que la $PGF_{2\alpha}$ no muestra ningún efecto.

Bibliografía

1. BLATCHLEY y DONOVAN, B. T.: *Nature*, 221, 1065-1066, 1969.
2. CARLSON, J. C., BARCIKOWSKI, B. y McCracken, J. A.: *J. Reprod. Fertility*, 34, 357-361, 1973.
3. CHAMLEY, W. A. y CHRISTIE, M.: *Prostaglandins*, 3, 405-412, 1975.
4. CHOBSIENG, P., NAOR, Z., KOCH, Y., ZOR, U. y LIDNER: *Neuroendocrinology*, 17, 12-17, 1975.
5. GREWOOD, E. C., HUNTER, W. N. y GLOVER, J. S.: *Biochem. J.*, 89, 114-123, 1963.
6. HARMS, P. C., OJEDA, S. R. y McCANN, S. A.: *Endocrinology*, 98, 318-323, 1976.
7. KRUSKALL, W. H.: *Ann. Math. Stat.*, 23, 525-540, 1952.
8. LABHSETWAR, A. P.: *J. Reprod. Fert.*, 23, 155-159, 1970.
9. LIBERTUN, C., ORIAS, R., McCANN, S. M.: *Endocrinology*, 94, 1094-1100, 1974.
10. McCracken, J. A., BAIRD, D. T. y GORDING, J. R.: *Rec. Progr. Horm. Res.*, 27, 537-582, 1971.
11. OJEDA, S. R., HARMS, P. G. y McCANN, S. M.: *Prostaglandins*, 8, 545-552, 1974.
12. PHARRIS, B. B. y WYNGARDEN, L. J.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 130, 92-94, 1969.
13. PIPER, P. J., VANE, J. y WILLIE, J. H.: *Nature*, 225, 600-604, 1970.
14. SATO, T., JYUJO, T., KAWARAI, Y. y ASAI, T.: *Amer. J. Obst. Gynecol.*, 122, 637-641, 1975.
15. TSAFIRI, A., LINDNER, H. R., ZOR, U. y LAMPRECHT, S. A.: *Prostaglandins*, 2, 1-10, 1972.
16. TRESGUERRES, J. A. E., MARTÍNEZ GUARRO, M., TEJERO, A. y ORIOL BOSCH, A.: *Rev. esp. Fisiol.*, 31, 99-104, 1975.
17. VARAVUDHI, P. y CHOBSIENG, P.: *Prostaglandins*, 2, 199-205, 1972.
18. WARBERG, J., ESKAY, R. L. y PORTER, J. C.: *Endocrinology*, 98, 1135-1141, 1976.
19. ZOR, U., LAMPRECHT, S. A., KANEKO, T., SCHNEIDER, H. P. G., McCANN, S. M., PIEL, J. B., TSAFIRI, A. y LINDNER, H. R.: *Advances in Cyclic Nucleotide Research*, vol. 1, 503-520, Raven Press, N. York, 1972.

