

Efecto de la hormona folículo estimulante sobre la liberación de testosterona inducida por LH en la célula de Leydig aislada

A. Aznar-M., M. Díaz-G., E. Herrera-Justiniano y A. Aznar-R.

Servicio de Endocrinología
Departamento de Medicina Interna
Hospital Universitario
Sevilla

(Recibido el 10 de octubre de 1977)

A. AZNAR-M., M. DIAZ-G., E. HERRERA-JUSTINIANO and A. AZNAR-R. *The Effect of the Follicle-stimulating Hormone on Testosterone Liberation Induced by LH in the Isolated Leydig Cell.* Rev. esp. Fisiol., 35, 9-12. 1979.

The effect of FSH on the liberation of testosterone induced by LH in the Leydig cell has been investigated. Leydig cells were obtained from adult male rats, and were incubated with LH in one group and with LH and FSH in another group. Incubation was kept at 37° C, 120 cycles/min, in oxygen-carbon dioxide (95:5) atmosphere. Liberated testosterone was measured by RIA, at different periods of incubation.

Other group of cells, in identical experimental conditions, were incubated for 120 min with LH and FSH, where the FSH had been previously incubated with anti-FSH antibody. The cells incubated with LH and FSH liberated more testosterone than those incubated with LH. However this effect disappeared when the added FSH had been previously incubated with its antibody.

The results show clearly that FSH liberates testosterone by the action of LH, which must be specific since it disappears when the hormone is incubated with its antibody.

En general, se admite que la hormona folículo estimulante (FSH) actúa en el varón favoreciendo el desarrollo y maduración de los elementos germinales, mientras que la hormona lúteo estimulante (LH) y la gonadotrofina coriónica, actuando sobre el mismo receptor de la célula de Leydig (1), inducen y activan el proceso de la esteroidogénesis. No obstante, hallazgos experimentales recientes sugieren acciones sinérgicas entre ambas

gonadotrofinas. JONHSON y EWING (5) y ODELL *et al.* (9) han presentado resultados que sugieren la existencia de un efecto potenciador de la FSH sobre la liberación de testosterona del teste inducida por LH.

En el presente trabajo se han considerado los efectos que inducen la adición de FSH a células de Leydig aisladas e incubadas en presencia de LH, sobre su liberación de testosterona.

Material y métodos

Las células intersticiales fueron obtenidas de ratas Wistar adultas de 300 g de peso, mantenidas en periodos día/noche de 10 horas y dieta *ad libitum*. Tras el sacrificio de los animales con éter, se tomaron sus testículos, y tras su decapsulación, las células de Leydig se dispersaron con collagenasa (2). Una vez separadas las células de los elementos tubulares, se contaron, siendo posteriormente suspendidas en Medium 199 B.S.A. (Difco) e incubadas en viales de polietileno según el protocolo experimental a desarrollar.

Efecto de FSH sobre la liberación de testosterona inducida por LH en la célula de Leydig aislada.—Grupos de tres viales conteniendo células intersticiales (aprox. $16 \times 10^6 \times$ vial) recibieron a tiempo 0 100 μ l de a) tampón (solución fosfosalina pH 7,4 0,15 M); b) tampón con 5 mUI de LH, y c) tampón con 5 mUI de LH y 5 mUI de FSH. Dosis de 5 mUI de LH, elegida por haberse comprobado en experiencias anteriores (datos no mostrados) que es suficiente para inducir una buena liberación de testosterona, sin quedar saturado el sistema.

Seguidamente, los viales fueron incubados a 37° C, bajo agitación 120 ciclos/min y atmósfera de oxígeno: anhídrido carbónico (95:5). La incubación se mantuvo a tiempos variables, extrayéndose viales en grupos de nueve, cada 10 min durante la primera hora y a los 180 min.

Efecto de la adición conjunta de FSH y anticuerpo anti-FSH sobre la liberación de testosterona LH inducida.—Se realizó un experimento paralelo al interior con un cuarto grupo d) compuesto por tampón con 5 mUI de LH y 5 MUI de FSH con las células previamente incubadas durante 24 h con anticuerpo anti-FSH. El anticuerpo se utilizó a dilución saturante y el tiempo de incubación fue de 120 min

(se había comprobado previamente que éste era suficiente para obtener el equilibrio).

Una vez detenida la incubación en ambos experimentos, se separaron las células y el medio se congeló a -120° C para ulterior valoración de testosterona, por análisis radioinmunológico (4).

Ambas gonadotrofinas hipofisarias, así como el anticuerpo anti-FSH hipofisario humano, se obtuvieron en Serono Immuno Chemicals. La testosterona marcada (Δ_4 -androstan-17 β -ol-3 ome) 1A, 2A (N)- 3 H de Radiochemicals Center (Amersham). La testosterona patrón, así como la seroalbúmina bovina de Sigma; y el anticuerpo anti-testosterona 3-oxima BSA, en Endocrine Sciences.

Resultados

Efecto de la adición de FSH sobre la liberación de testosterona inducida por LH en la célula de Leydig aislada.—En presencia de LH, hasta los 30 min de incubación, no se observa mayor cantidad de testosterona que las células incubadas en situación basal. A partir de ahí la diferencia entre ambos grupos se mantuvo significativa. Las células incubadas en presencia de LH y FSH liberaron a su vez más testosterona que aquellas incubadas con LH solo. A los 180 min la liberación de testosterona por ambos grupos de células fue muy similar (tabla I).

Efecto de la adición conjunta de FSH y anticuerpo anti-FSH sobre la liberación de testosterona LH inducida.—La liberación de testosterona por las células incubadas durante 120 min en presencia de LH fue estadísticamente superior ($p < 0,001$) a la obtenida en situación basal, pero inferior, a su vez, a la de las células incubadas con LH y FSH ($p < 0,001$). Las incubadas con LH, FSH y anticuerpo anti-FSH liberaron menos testosterona que las incubadas con LH y FSH ($p < 0,001$),

Tabla I. Liberación de testosterona por células de Leydig aisladas ($\text{pg}/16 \times 10^6 \text{ cel.}$) inducida por LH y LM más FSH a distintos tiempos.

Estímulo	Tiempo de incubación (min)							
	10	20	30	40	50	60	180	
Basal	6.141 $\pm$ 553	6.042 $\pm$ 428	5.325 $\pm$ 412	4.118 $\pm$ 685	4.737 $\pm$ 687	6.080 $\pm$ 624	10.100 $\pm$ 825	
5 mUI de LH	4.900 $\pm$ 453	6.109 $\pm$ 747	8.250 $\pm$ 499	6.729 $\pm$ 404	8.731 $\pm$ 283	9.321 $\pm$ 1.520	42.900 $\pm$ 2.765	
5 mUI de LH + 5 mUI de FSH	6.027 $\pm$ 543	7.700 $\pm$ 443	8.525 $\pm$ 470	12.870 $\pm$ 502	16.720 $\pm$ 1.655	12.512 $\pm$ 858	42.075 $\pm$ 2.320	

Tabla II. Liberación de testosterona por células de Leydig aisladas, sometidas a diversos estímulos.

Estímulo	Producción de testosterona $\text{pg}/16 \times 10^6 \text{ cel.}/120 \text{ min}$
(PBS)	9.875 $\pm$ 1.025
5 mUI de LH	23.466 $\pm$ 2.283
5 mUI de LH + 5 mUI de FSH	29.040 $\pm$ 1.329
5 mUI de LH + 5 mUI de FSH *	21.175 $\pm$ 1.153

* Las células fueron previamente incubadas con anticuerpo anti-FSH durante 24 h.

pero en similar cuantía y sin diferencia significativa con las células incubadas con LH (tabla II).

Discusión

La mayor liberación de testosterona obtenida en las células de Leydig, desde 40 a 60, y a los 120 min, incubadas en presencia de LH y FSH sugiere un claro efecto potenciador de esta segunda hormona sobre la esteroidogénesis inducida por LH, pero sin modificar el tiempo necesario para comenzar a observar su acción. Estos resultados difieren de los obtenidos por DUFU *et al.* (3), que no encuentran en el testículo de rata un efecto adicional de FSH sobre la liberación de testosterona, lo cual pudiera ser debido a que sometían los túbulos también en la experiencia; estos elementos tienen una gran capacidad para unir FSH (6-8).

La falta del efecto potenciador de FSH sobre LH, cuando previamente a la adición de la hormona se habían incubado con anticuerpo anti-FSH, demuestra el papel específico de la FSH sobre el efecto observado.

Resumen

Se estudia el posible sinergismo de la FSH sobre la liberación de testosterona inducida por LH en células de Leydig obtenidas de ratas machos adultos e incubadas con LH y, paralelamente, con LH y FSH. Tras su incubación a distintos tiempos se valora por RIA la testosterona presente en el medio de incubación.

Las células incubadas en presencia de LH y FSH liberaron más testosterona que las incubadas únicamente con LH. Este efecto desaparece si previamente las células han sido incubadas con anticuerpo anti-FSH.

Se observa la existencia de un efecto claro de potenciación de la FSH sobre la testosterona liberada por la LH, de naturaleza específica dada su desaparición tras la incubación de la hormona con su anticuerpo.

Bibliografía

1. CATT, K. J. y DUFU, M. L.: En «Receptors for reproductive hormones» (O'Mally, B. W. y Means, A. R., ed.). Plenum Press. Nueva York, 1973, págs. 379-418.
2. DUFU, M. L., CATT, K. J. y TSURUHARA, T.: *Endocrinology*, 90, 1032-1040, 1972.
3. DUFU, M. L., MENDELSON, C. R. y CATT, K. J.: *J. Clin. Endocr. Metab.*, 39, 610-613, 1974.

4. FURUYAMA, S., MAYES, D. M. y NUGENT, C. A.: *Steroids*, 16, 415-428, 1970.
5. JOHNSON, B. H. y EWING, L. L.: *Science*, 173, 635-637, 1971.
6. MEANS, A. R.: *Adv. Exp. Med. Biol.*, 36, 431-448, 1973.
7. MEANS, A. R. y HUCKINS, C.: En «Hormone Binding and Target Cell Activation in the Testis» (Dufau, M. L. y Means, A. R., ed.). Plenum Press, Nueva York, 1974, págs. 145-165.
8. MEANS, A. R. y VAITUKAITIS, J.: *Endocrinology*, 90, 39-46, 1972.
9. ODELL, W. D., SWERDLOFF, R. S., JACOBS, M. S. y HESCOX, M.: *Endocrinology*, 92, 160-165, 1973.