

Secreción de LH y prolactina en ratas tratadas con estrógenos y sometidas a luz constante

A. Tejero, M. D. Vaticón, C. Fernández-Galaz y E. Aguilar *

Departamento de Fisiología Humana
Facultad de Medicina
Universidad Complutense
Madrid-3

(Recibido el 29 de julio de 1978)

A. TEJERO, M. D. VATICON, C. FERNANDEZ-GALAZ and E. AGUILAR. *LH and Prolactin Secretion under Constant Light in Estrogen Treated Rats*. Rev. esp. Fisiol., 35, 285-290. 1979.

Plasma LH and prolactin levels were studied in ovariectomized adult female rats submitted to light-darkness (L:D) or constant light (L:L) schedules, after the administration of estradiol benzoate (EB), 75 μ g/day for six consecutive days. Previous to the treatment with EB LH levels were lower and prolactin levels higher in the L:L females. On days 1 and 2 after treatment, L:D females showed circadian variations of LH levels, these being higher at 17 h than at 10 h. This pattern disappeared in the L:D females. Prolactin levels increased similarly in both groups. Nine days after treatment, plasma prolactin levels remained high and the circadian pattern of LH in the L:D group disappeared.

Los niveles de estrógenos circulantes influyen sobre la secreción de LH y prolactina en ratas hembra: La castración va seguida de elevación de los niveles plasmáticos de LH (13, 30) y descenso de los de prolactina (27). La administración de estrógenos disminuye la síntesis (1) y secreción de LH (22) y eleva los niveles plasmáticos de prolactina (3, 10, 11, 27). En ciertas condiciones (7) los estrógenos, en vez de inhibir la secreción de LH (*feedback* negativo), pueden estimularla (*feedback* positivo), fenómeno que juega un pa-

pel determinante en el desencadenamiento de la ovulación.

Los mecanismos que participan en el control de la secreción de LH y prolactina en ratas hembra, se afectan por modificación de la duración de los fotoperíodos: La iluminación constante produce un cuadro de estro vaginal constante, atrofia ovárica y desaparición de las ovulaciones cíclicas (12, 17), acompañado de alteración en el *feedback* negativo y desaparición del *feedback* positivo entre estrógenos y LH (23), hiperprolactinemia (16, 29) y modificación de la respuesta a la administración de estrógenos (20). Parte de estas alteraciones se han pretendido

* Becario de la Fundación March.

explicar por la disminución de la captación hipotalámica e hipofisaria de estrógenos (15).

En el presente trabajo se pretende analizar la influencia del régimen luminoso sobre la respuesta a la administración repetida de altas dosis de benzoato de estradiol, en ratas hembras adultas ovariectomizadas.

Material y métodos

Se han empleado ratas hembras Wistar. El grupo control se mantuvo en luz-oscuridad (12 horas de luz: de 7 a 19 h). Otro grupo se colocó en luz constante a partir del día 51. Por citología vaginal seriada se eliminaron los animales del grupo control que no presentaban ciclos regulares y aquellos del grupo sometido a luz constante que no presentaban estro persistente. En el día 150 se ovariectomizó a los animales. A las 10 h del día 185 se hizo una toma basal de sangre, por punción yugular bajo anestesia ligera con éter. A las 10.30 h de este mismo día, y de los cinco siguientes, se inyectaron 75 µg de benzoato de estradiol (BE)/día disueltos en 0,1 ml de aceite de oliva. En los días 1, 2 y 9 que siguieron a este tratamiento, y a las 10 y 17 h, se tomaron muestras de sangre en la forma anteriormente indicada. La sangre fue recogida en tubos heparinizados y se centrifugó a 3000 r.p.m. durante 20 minutos a 4° C. Los plásmas se congelaron a -20° C hasta su utilización.

Los valores plasmáticos de LH y prolactina se determinaron, por duplicado, mediante R.I.A. de doble anticuerpo, utilizando Kits suministrados por el NIAMD. El marcaje de LH y prolactina (NIAMD-Rat-LH-I-4 y NIAMD-Rat-Prolactin-I-4, respectivamente), se hizo con I¹²⁵ por el método de la cloramina T (14). El antisuero utilizado para LH se empleó a la dilución 1/15.000 y el empleado en la medida de la prolactina a la dilución 1/2500. Los valores de LH y prolactina se expres-

san en ng/ml de los preparados de referencia: NIAMD-Rat-LH-RP-1 y NIAMD-Rat-Prolactin-RP-1 respectivamente.

El análisis estadístico de los resultados se ha realizado por medio de la «t» de Student, el análisis de la varianza y el test de comparación múltiple (31).

Resultados

Niveles pretratamiento. Los niveles de LH previos al tratamiento con BE fueron superiores en el grupo en luz-oscuridad (L.O.) que en el grupo en luz constante (L.L.). Por el contrario los niveles de prolactina son superiores en el grupo en L.L. (tabla I).

Niveles postratamiento: LH. En el grupo en L.O. los niveles de LH presentan en los días 1 y 2 postratamiento variaciones circadianas, siendo los valores de las 17 h superiores ($p < 0,01$) a los de las 10 h. En el grupo en L.L. no hay variaciones circadianas tras el tratamiento con BE. En ambos grupos los valores obtenidos a las 10 h son inferiores ($p < 0,01$) a los valores pretratamiento. A los nueve días de finalizar el tratamiento con BE han desaparecido, en el grupo en L.O., las variaciones circadianas de niveles de L.H. A las 10 h los valores son superiores ($p < 0,01$) a los obtenidos en los días 1 y 2 postratamiento, pero inferiores ($p < 0,01$) a los valores pretratamiento.

Niveles postratamiento: prolactina. Los valores de prolactina se elevan de manera semejante, en ambos grupos, tras el tratamiento con BE, no habiendo diferencias entre los datos correspondientes a los días 1, 2 y 9.

Discusión

La iluminación constante en ratas intactas prepúberes (28) o adultas (2, 6, 24) no modifica los niveles plasmáticos de LH, sin embargo la capacidad de secre-

Tabla I. Niveles plasmáticos de LH y prolactina ($\bar{x} \pm s.e.m.$) en hembras en luz-oscuridad (L.O.) y luz constante (L.L.) antes y después del tratamiento con benzoato de estradiol (75 $\mu\text{g}/\text{día}$).

	LH		PROLACTINA	
	L.O.	L.L.	L.O.	L.L.
Pretratamiento (10,00 h)	241,2 \pm 15,6 (32)	155,6 \pm 11,5*	8,5 \pm 1,0 (33)	17,0 \pm 2,3*
Día 1 postratamiento (10,00 h)	57,1 \pm 5,3 (33)	58,3 \pm 6,4 (27)	168,8 \pm 13,3 (29)	178,8 \pm 20,6 (26)
Día 1 postratamiento (17,00 h)	107,1 \pm 20,9 (28)	43,6 \pm 3,6*	254,8 \pm 30,4 (26)	228,2 \pm 26,7 (27)
Día 2 postratamiento (10,00 h)	50,9 \pm 3,1 (26)	45,5 \pm 4,3 (25)	258,9 \pm 28,0 (22)	219,5 \pm 27,3 (21)
Día 2 postratamiento (17,00 h)	212,1 \pm 30,3 (28)	44,6 \pm 3,3*	338,3 \pm 31,1 (28)	259,6 \pm 36,1 (18)
Día 9 postratamiento (10,00 h)	81,5 \pm 7,2 (31)	84,8 \pm 7,1 (27)	252,2 \pm 40,4 (25)	204,4 \pm 31,0 (17)
Día 9 postratamiento (17,00 h)	81,9 \pm 9,6 (29)	101,5 \pm 10,1 (26)	173,6 \pm 25,6 (23)	239,9 \pm 49,0 (17)

Entre paréntesis número de casos.

* Diferencia con respecto a L.O. $p < 0,01$.

ción máxima se encuentra disminuida, porque los valores alcanzados tras la ovariectomía (tabla I) son inferiores a los alcanzados en las ratas mantenidas en luz-oscuridad. Ello indica que la respuesta a la disminución de estrógenos circulantes se ha modificado por el régimen de iluminación constante. Numerosos datos experimentales apoyan la hipótesis, previamente descrita (23), de afectación del *feedback* negativo entre estrógenos y LH por iluminación constante: Hay disminución de la captación hipotalámica e hipofisaria de estradiol (15), disminución del contenido hipofisario de LH (21) y cambios en la concentración de neurotransmisores hipotalámicos que participan en la secreción de LH (16).

En la rata hembra ovariectomizada el tratamiento con estrógenos produce secreción de LH con carácter circadiano (18), lo que conlleva que los valores plasmáticos sean altos por la tarde y bajos por la mañana. Nuestros animales mantenidos en luz-oscuridad presentan esta mis-

ma respuesta, que, en cambio, está ausente en el grupo mantenido en iluminación constante. Resultados análogos (23) han sido descritos en el cuadro anovulatorio inducido por androgenización postnatal.

En los cuadros anovulatorios espontáneos (26) por androgenización postnatal (19, 26), lesión supraquiasmática (14) o deaferentación hipotalámica frontal (5, 8) hay hiperprolactinemia, debida fundamentalmente a producción constante de estrógenos. Los datos encontrados indican que a las cinco semanas de la castración, los valores de prolactina son superiores en las hembras mantenidas en iluminación constante a los encontrados en el grupo en luz-oscuridad y, tras el tratamiento con estrógenos los niveles de prolactina se elevan, alcanzando valores semejantes en ambos grupos. Estos hechos sugieren que la respuesta a los estrógenos no se modifica, en el caso de prolactina, por el régimen luminoso. Otros factores, además de la producción constante y elevada de estrógenos, pueden estar implicados en la

alteración de los mecanismos de secreción de prolactina, y se ponen de manifiesto en animales ovariectomizados. En este sentido apuntan los datos de NEILL (25), que encuentran que hembras androgenizadas postnatalmente y ovariectomizadas tienen valores de prolactina superiores que sus controles igualmente ovariectomizados, y los de MALLAMPATTI y JOHNSON (19) que las hembras con niveles semejantes de estrógenos circulantes pueden tener diferentes niveles de prolactina.

A los nueve días de finalizar el tratamiento con estrógenos se encuentra en el grupo en luz-oscuridad la desaparición del carácter circadiano de la respuesta de LH, no habiendo diferencias entre los valores de mañana y tarde. En ambos grupos los valores de LH a las 10 h son superiores a los encontrados los días 1 y 2 postratamiento, pero no alcanzan aún los niveles pretratamiento. Los niveles de prolactina se mantienen en valores semejantes a los de los días 1 y 2 postratamiento. Esta evolución temporal concuerda con la descrita por otros autores (27), que señalan que tras 12 días de tratamiento con dosis bajas (0,1-5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) de BE, disminuyen los niveles de LH y se elevan los de prolactina, mientras que a las dos semanas de interrumpir el tratamiento, los niveles de LH se han elevado, aunque sin alcanzar los valores pretratamiento, y los de prolactina se mantienen elevados.

Los resultados obtenidos indican, por tanto, una mayor duración de la acción de BE sobre secreción de prolactina (a los nueve días sus niveles permanecen elevados) que sobre LH (a los nueve días ha desaparecido el carácter circadiano de la secreción).

Se ha postulado recientemente (9) que la prolactina se opone a la elevación de los niveles de LH tras la ovariectomía. Sin embargo, el hecho aquí descrito, de que los niveles de LH estén aumentando a los nueve días de cesar el tratamiento con BE cuando los niveles de prolactina se encuentran aún elevados, señala la com-

plejidad de la interacción entre los mecanismos que controlan la secreción de ambas hormonas.

Agradecimientos

A Lucila Kraus y a Enrique Meco por su colaboración técnica. Al NIAMD Rat Pituitary Hormone Distribution Program y al doctor A. F. Parlow por el suministro de los kits de LH y prolactina.

Resumen

Se estudian los niveles plasmáticos de LH y prolactina en ratas hembras ovariectomizadas adultas, mantenidas en luz-oscuridad o luz constante antes y después del tratamiento con benzoato de estradiol, 75 $\mu\text{g}/\text{día}$, durante seis días consecutivos. Previamente al tratamiento los niveles de LH son inferiores y los de prolactina superiores en las hembras en luz constante. Los días 1 y 2 después del tratamiento se encuentra en las hembras en luz-oscuridad variaciones circadianas de los niveles de LH, siendo éstos superiores a las 17 h que a las 10 h. Este patrón de respuesta desaparece en las hembras en luz constante. Los niveles de prolactina se elevan de forma semejante en ambos grupos de animales. A los nueve días del tratamiento los niveles de prolactina se mantienen elevados y han desaparecido en el grupo en luz-oscuridad, las variaciones circadianas de LH.

Bibliografía

1. AJIKA, K., KALRA, S. P., FAWCETT, C. P., KRULICH, L. y MCCANN, S. M.: *Endocrinology*, 90, 707-715, 1972.
2. AGUILAR, E., FERNÁNDEZ GALAZ, C., TEJERO, A. y VATICÓN, M. D.: *Rev. esp. Fisiol.*, 35, 187-192, 1979.
3. AMENORI, Y., CHEN, C. L. y MEITES, J.: *Endocrinology*, 86, 506-510, 1970.
4. BISHOP, W., KALRA, P. S., FAWCETT, C. P., KRULICH, L. y MCCANN, S. M.: *Endocrinology*, 91, 1404-1410, 1972.
5. BLAKE, C. A., WEINER, R. I. y SAWYER, C. H.: *Endocrinology*, 90, 862-866, 1972.
6. BROWN-GRANT, K., DAVIDSON, J. M. y GREIG, F.: *J. Endocr.*, 88, 810-815, 1971.

7. CALIGARIS, L., ASTRADA, J. J. y TALEISNIK, S.: *Endocrinology*, 88, 810-815, 1971.
8. CALIGARIS, L. y TALEISNIK, S.: *Neuroendocrinology*, 21, 138-145, 1976.
9. CELOTTI, F., MASSA, R. y MARTINI, L.: *Neuroendocrinology*, 26, 41-49, 1978.
10. CHEN, C. L. y MEITES, J.: *Endocrinology*, 86, 503-505, 1970.
11. ESQUIFINO, A., VATICÓN, M. D., AGUILAR, E., FERNÁNDEZ GALAZ, C. y TEJERO, A.: *Actas XVI Cong. S.E.C.F.*, 1977, n. 80.
12. FISKE, V. M.: *Endocrinology*, 29, 187-196, 1941.
13. GAY, V. L. y MIDGLEY, Jr. A. R.: *Endocrinology*, 84, 1359-1365, 1969.
14. GREENWOOD, F. C., HUNTER, W. M. y GLOVER, J. S.: *Biochem. J.*, 89, 114-123, 1963.
15. ILLEI-DONHOFFER, A., FLERKO, B. y MESS, B.: *Neuroendocrinology*, 14, 187-194, 1974.
16. KLEDZIK, G. S. y MEITES, J.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 146, 989-992, 1974.
17. LAWTON, I. y SCHWART, N. B.: *Endocrinology*, 94, 1094-1100, 1967.
18. LEGAN, S. J. y KARSCH, F. J.: *Endocrinology*, 96, 57-62, 1975.
19. MALLAMPATTI, R. S. y JOHNSON, D. C.: *Neuroendocrinology*, 15, 255-266, 1974.
20. MANN, D. R., KOROWITZ, C. D., MCFARLAND, L. A. y COST, M. G.: *Endocrinology*, 99, 1252-1262, 1976.
21. MARIC, D. K., MATSUYAMA, E. y LLOYD, CH. W.: *Endocrinology*, 77, 529-536, 1965.
22. KALRA, P. S., FAWCETT, C. P., KRULICH, L. y MCCANN, S. M.: *Endocrinology*, 92, 1256-1268, 1973.
23. MENNIN, S. P. y GORSKI, R. A.: *Endocrinology*, 96, 486-491, 1975.
24. NAFTOLIN, F., BROWN-GRANT, K. y CORKER, C. S.: *J. Endocr.*, 53, 17-30, 1972.
25. NEILL, J.: *Endocrinology*, 90, 1154-1159, 1972.
26. RATNER, A. y PEAKE, G. T.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 146, 680-683, 1974.
27. SHAAR, C. J., EUKER, J. S., RIEGLE, G. D. y MEITES, J.: *J. Endocr.*, 66, 45-51, 1975.
28. STEGER, R. W., PELUSO, J. J. y HAFEZ, E. F. E.: *Neuroendocrinology*, 21, 68-73, 1976.
29. AGUILAR, E., VATICÓN, M. D., FERNÁNDEZ GALAZ, C., TEJERO, A. y ESQUIFINO, A.: *Actas XVI Congr. S.E.C.F.*, 1977, n.º 83.
30. YAMAMOTO, M., DIEBEL, N. D. y BOGDANOV, E. M.: *Endocrinology*, 86, 1102-1111, 1970.
31. YAMANE, T.: *Statistics: An introductory analysis*. HARDEN Internat. Edition. Harper and Row (Nueva York) y J. Weatherhill (Tokio), 1970.

