



EFFECTOS DE LA CIPROHEPTADINA SOBRE LA SECRECIÓN Y CONTENIDO PITUITARIO DE LA TIROTROFINA EN LA RATA

E. R. ULLOA *, R. J. BOADO *, R. E. BERETERVIDE, A. A. ZANINOVICH **

Laboratorio de Investigaciones Endocrinológicas, CONICET, Centro de Medicina Nuclear y 4ª Cátedra de Medicina, Hospital de Clínicas José de San Martín, Universidad de Buenos Aires y Comisión Nacional de Energía Atómica, Buenos Aires

Estudios previos han demostrado en animales de experimentación cantidades significativas de serotonina en el hipotálamo y la glándula hipófisis ^{1, 2}. También se observó en experimentos realizados *in vitro*, que la serotonina disminuyó la secreción de hormona liberadora de tirotrofina (TRH) por el hipotálamo de ratón ³, y que la inyección de 5-hidroxi-triptofano, un precursor de la serotonina, aumentó los valores de tirotrofina (TSH) sérica en la rata, mientras que la administración de paracloroanfetamina, compuesto que disminuye la concentración de serotonina en los tejidos hizo descender el nivel sérico de esta hormona ⁴. Trabajos recientes de este laboratorio demostraron que la ciproheptadina, un antagonista de la serotonina, no produjo modificaciones en el metabolismo periférico de la tiroxina (T₄) en la rata. En el presente trabajo se determinó si la ciproheptadina modifica la secreción de TSH hipofisaria o su respuesta al estímulo

con TRH. También se determinó su efecto sobre el contenido pituitario de TSH.

Material y métodos

Se utilizaron ratas Wistar hembra de aproximadamente 200 g de peso. Durante el estudio los animales fueron mantenidos a temperatura constante, con dieta normal y agua *ad libitum*.

Prueba de estímulo con TRH: El día anterior al estudio se inyectó ciproheptadina, 100 µg/100 g de peso vía ip, administrándose a tiempo 0, 100 µg/100 g de peso de esta droga por vía intravenosa. El grupo control recibió solamente el vehículo de la inyección. Para la prueba de estímulo con TRH se extrajo una muestra basal de sangre heparinizada, inyectándose luego 1 µg/100 g de peso de TRH por vía iv. Se repuso el volumen de sangre extraído con igual cantidad de solución fisiológica, obteniéndose otra muestra de sangre a los 10 minutos de la inyección de la TRH. Nuestra experiencia y la de otros autores indican que esta dosis de TRH produce una respuesta máxima en la secreción de TSH en el tiempo indicado ⁵.

Contenido pituitario de TSH: Para estudiar el efecto sobre el contenido pituitario de TSH se administró durante 10 días ciproheptadina, 4 mg/100 ml en el agua de beber. La dosis promedio de ciproheptadina ingerida por cada animal fue de 400 µg/día a través del estudio. El grupo control bebió agua sin ciproheptadina. Los animales fueron sangrados por punción cardíaca e inmediatamente les fue extraída la hipófisis, manteniéndolas congeladas a -20° C junto con los sueros, para su posterior procesamiento. Las hipófisis se homogeneizaron en baño de hielo a 4° C,

Recibido: 24-II-1981. Aceptado: 8-IV-1981.

* Becario del CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas).

** Miembro de la Carrera de Investigador, CONICET.

Dirección postal: Hospital de Clínicas, C.C. 29, Suc. 53, 1453 Buenos Aires, Argentina.

con 200 μ l de buffer PBS (10 mM de fosfato pH 7.6, 0.15 M de ClNa, 0.1 % de NaN₃)². El nivel de TSH sérica y en tejido hipofisario se midió por radioinmunoanálisis utilizando un método de segundo anticuerpo^{1, 2}. La TSH para marcar, el standard y el antisuero fueron cedidos por el Programa de Distribución de Hormonas de Pituitaria de Rata (NIAMDD). El límite de sensibilidad del ensayo fue 10-20 ng utilizando el protocolo del NIAMDD modificado. Los resultados se expresan como media $\pm$ desviación standard. La evaluación estadística de los resultados se hizo por el test "t" de Student.

Resultados

En la Tabla 1 se resumen los resultados obtenidos en las pruebas de estímulo con TRH. En el grupo control la TSH plasmática a tiempo 0 tuvo un valor promedio de 230 ± 47 ng/ml mientras que a los 10 minutos post-TRH aumentó a 1790 ± 604 ng/ml, lo que representa un incremento de 7.7 ± 1.5 veces. Cuando se inyectó ciproheptadina la TSH basal fue de 260 ± 110 ng/ml alcanzando a los 10 minutos de la inyección de TRH un valor de 1170 ± 524 ng/ml, es decir, 4.6 ± 1.8 veces el nivel basal. Este incremento fue significativamente menor que el obtenido en el grupo control ($p < 0.005$).

TABLA 1. — Acción de la ciproheptadina sobre la respuesta de la TSH al estímulo con 1 μ g/100 g de peso de TRH

	TSH ng/ml		Incremento *
	Basal	10 min post-TRH	
Control (7):			
Media	230	1790	7.7
D. S.	± 47	± 604	± 1.5
Ciproheptadina (100 μ g/100 g de peso) (7):			
Media	260	1170	4.6
D. S.	± 110	± 524	± 1.8
p:	NS **		< 0.005 ***

* Nº de veces el valor basal; ** Compara los valores basales entre sí; *** Compara el incremento producido por la TRH respecto al observado en el grupo control.

La Tabla 2 muestra los valores de TSH en la hipófisis. En el grupo control el contenido pituitario de TSH fue de 1730 ± 186 μ g/glándula mientras que la concentración sérica de esta hormona fue de 620

TABLA 2. — Acción de la ciproheptadina sobre la TSH sérica e hipofisaria

	TSH	
	Concentración sérica ng/ml	Contenido pituitario μ g/glándula
Control (6):		
Media	620	1730
D. S.	± 223	± 186
Ciproheptadina (5)*:		
Media	610	1360
D. S.	± 43	± 93
p:	NS	< 0.005

* Los animales recibieron ciproheptadina en el agua de beber, en cantidad aproximada a 400 μ g por día.

± 223 ng/ml. En los animales que recibieron ciproheptadina no hubo cambios en la concentración sérica de TSH cuyo valor fue de 610 ± 43 ng/ml. En cambio con el tratamiento crónico con ciproheptadina se observó una disminución significativa del contenido pituitario de TSH a 1360 ± 93 μ g/glándula ($p < 0.005$).

Discusión

Estos resultados muestran que la administración de ciproheptadina no produjo variaciones apreciables en la concentración sérica basal de TSH, ya sea administrada en forma aguda o en forma crónica durante 10 días. En cambio, el tratamiento con esta sustancia disminuyó significativamente la respuesta hipofisaria a la TRH, y también el contenido pituitario de TSH, hallazgos que indicarían una menor producción de TSH por la hipófisis. Estudios preliminares de este laboratorio indican, asimismo, que la ciproheptadina puede disminuir la respuesta a la TRH en el hombre aunque los niveles basales de TSH sean normales.

El mecanismo por el cual la ciproheptadina produjo una disminución del contenido pituitario y una menor respuesta a la TRH, podría deberse a la acción específica de la ciproheptadina como bloqueador de la serotonina a nivel de los terminales nerviosos serotoninérgicos en la hipófisis^{4, 7}, los que de alguna manera

regularían el contenido pituitario de TSH. Otra posibilidad es que su acción se ejerza sobre los receptores hipotalámicos de serotonina. En el hombre la ciproheptadina produjo alivio del cuadro clínico de la tirotoxicosis, no obstante que la degradación de la T4 no se alteró⁹. Aunque el efecto que esta droga produce sobre la hipófisis, como se ve en este trabajo, concuerda con la mejoría de los síntomas de hipertiroidismo en el hombre, ambos hallazgos no pueden estar relacionados entre sí desde que en el hipertiroidismo la secreción de TSH está suprimida y la tiroidea funciona en forma autónoma.

Este efecto de la ciproheptadina en pacientes con hipertiroidismo no tiene explicación aparente. Pero la evidencia experimental indica que en la rata esta sustancia tiene una acción de tipo inhibitorio sobre la producción normal de TSH o sobre la respuesta secretora al estímulo del hipotálamo.

Resumen

Se estudió la acción de la ciproheptadina sobre el contenido pituitario de TSH en la rata y sobre los niveles plasmáticos de TSH y su respuesta a la TRH. Se utilizaron ratas Wistar hembras de 200 g de peso. Para la prueba de estímulo con TRH se inyectó el día anterior ciproheptadina, 200 µg/100 g de peso ip administrándose a tiempo 0, 100 µg/100 g de peso de esta droga por vía iv. El grupo control recibió el vehículo solamente. Se extrajo una muestra de sangre basal y se inyectó 1 µg/100 g de peso de TRH iv obteniéndose otra muestra de sangre a los 10 min. Para estudiar el efecto sobre el contenido pituitario de TSH se administró a un grupo de ratas ciproheptadina en el agua de beber en una dosis promedio de 400 µg/día. Los animales fueron sangrados, luego se les extrajo la hipófisis, que fue homogeneizada a 4° C en 200 µl de buffer PBS. La TSH se midió por radioinmunoanálisis. En el grupo control la TSH basal fue de 230 ng/ml elevándose a los 10 min post-TRH a 1790 ng/ml, lo cual representa un incremento de 7.7 veces el valor basal. Los animales que recibieron ciproheptadina tuvieron una TSH plasmática basal de 260 ng/ml y a

los 10 min post-TRH se elevó a 1170 ng/ml siendo el incremento sobre el valor basal de 4.6 veces ($p < 0.005$ vs control). En cuanto al contenido pituitario de TSH, en el grupo control fue 1730 µg/glándula, mientras que en los animales tratados con ciproheptadina fue de 1360 µg/glándula ($p < 0.005$ vs control). Se concluye que la ciproheptadina disminuyó significativamente la respuesta de la TSH a la TRH. Además, esta droga administrada en forma crónica produjo una disminución del contenido pituitario de TSH en la rata, por un mecanismo aún desconocido.

Summary

EFFECTS OF CIPROHEPTADINE ON THE SECRETION AND PITUITARY CONTENT OF THYROTROPHIN IN THE RAT.

The effects of a serotonin antagonist drug, ciproheptadine, on the secretion of thyrotrophin (TSH) and its response to thyrotrophin releasing hormone (TRH), and on the pituitary content of TSH in the rat were studied. Female Wistar rats weighing approximately 200 g were used. TRH test: Seven animals were injected with 200 µg/100 g body weight of ciproheptadine the day before the study. At time 0, 100 µg/100 g/B.W. of this drug were injected iv. The control group received the vehicle alone. Basal blood samples were drawn by cardiac puncture, and immediately 1 µg/100 g/B.W. of TRH was injected iv. Another blood sample was drawn 10 minutes after the TRH injection. To study the effects of chronic administration of ciproheptadine on the pituitary content of TSH, 400 µg of this drug were administered daily in the drinking water during 10 days, to another group of rats. The animals were exsanguinated by cardiac puncture, the hypophyses removed immediately and individually homogenized at 4° C in 200 µl of PBS buffer (10 mM phosphate pH = 7.6, 0.154 M ClNa, 0.1 % NaN₃) using a teflon-glass homogenizer. Pituitary and plasmatic TSH concentrations were measured by double-antibody radioimmunoassay (NIAM DD). In the control group, basal TSH

was 230 ng/ml while 10 minutes post-TRH this value increased to 1790 ng/ml, thus representing a 7.7 fold increase over the basal TSH level. In the ciproheptadine-treated rats the basal TSH was 260 ng/ml, and the 10 minute post-TRH value rose to 1170 ng/ml; the increment was 4.6 fold the basal level ($p < 0.005$ vs control). The pituitary content of TSH was measured in another group of rats and it was 1730 $\mu\text{g/gland}$ in the control group whereas in the ciproheptadine-treated group this value decreased to 1360 $\mu\text{g/gland}$ ($p < 0.005$ vs control). It is concluded that ciproheptadine decreased significantly the TSH response to TRH in the rat. Furthermore when ciproheptadine was administered chronically for 10 days there occurred a significant reduction in the pituitary content of TSH. The mechanism of this phenomenon is unknown.

Bibliografía

1. Boado RJ, Ulloa ER, Zaninovich AA: Degradación competitiva de la tiroxina en ratas adaptadas al frío. *Acta Physiol Latinoam* 28: 77, 1978.
2. Boado RJ, Ulloa ER, Zaninovich AA: Effect of estrogen on pituitary and serum thyrotropin and on thyroid gland secretion in the rat. Sixth International Congress of Endocrinology. Australia, 1980. Abs. Nº 316, p 367.
3. Chen HJ, Meites E: Effects of biogenic amines and TRH on release of prolactin and TSH in the rat. *Endocrinology* 96: 10, 1975.
4. Fuxe K, Hokfelt T, Johnson G, Ungersted J: Fluorescence microscopy in neuroanatomy. In: Contemporary research in neuroanatomy. Nauta WJ, Ebesson SE (eds), Springer-Verlag, New York, 1970, 275 p.
5. Grimm Y, Reichlin S: Thyrotropin-Releasing Hormone (TRH): neurotransmitter regulation of secretion by mouse hypothalamic tissue in vitro. *Endocrinology* 93: 626, 1973.
6. Lifschitz BM, Defesi CR, Surks MI: TSH response to TRH in euthyroid rat. Dose response, time course and demonstration of partial refractoriness to a second dose of TRH. *Endocrinology* 102: 1775, 1978.
7. Piezzi RS, Larin F, Wurtman RJ: Serotonin, 5-hydroxy-indole acetic acid and monoamine oxidase in the bovine median eminence and pituitary gland. *Endocrinology* 86: 1460, 1970.
8. Ulloa ER, Boado RJ, Bosco S, Zaninovich AA: Efectos de la adrenalina y la ciproheptadina sobre el metabolismo periférico de la tiroxina en la rata. *Medicina (Bs Aires)* 140: 40, 1980.
9. Zaninovich AA, Degrossi O, Gotta H: Effects of ciproheptadine upon the peripheral metabolism of thyroxine in patients with thyrotoxicosis. *Proc Am Thyroid Ass*, Chicago, 1969.

Les défauts de l'âme sont comme les blessures du corps: quelque soin qu'on prenne de les guérir, la cicatrice paraît toujours et elles sont à tout moment en danger de se rouvrir.

Los defectos del alma son como las heridas del cuerpo: cualquiera sea el cuidado que uno se tome para curarlos, la cicatriz aparece siempre y en cualquier momento está en peligro de reabrirse.

LA ROCHEFOUCAULD (1613-1680)

Maximes