

EFECTO DE LA TIROTOXICOSIS SOBRE LA ESPERMATOGENESIS

Gloria Rojas, Gabriela Arata de Bellabarba, Nelia de Moreno, Cristina Kleiss y Walter Bishop.

Laboratorio de Neuroendocrinología y Reproducción, Dpto. de Fisiopatología,

Facultad de Medicina, ULA, Mérida, Venezuela.

Dirección de los autores: Apartado 42, Mérida 5101, Venezuela.

Recibido: 19/08/92; Revisado: 29/01/93; Aceptado: 16/02/93

RESUMEN: Se estudió la relación entre concentración de testosterona, producción de espermatozoides y morfología testicular en ratas con hipertiroidismo inducido con L-Tiroxina (Testam) durante períodos de 17 y 34 días. La tirotoxicosis produjo una reducción en el peso testicular que fue proporcional a la pérdida de peso corporal. La concentración de espermatozoides y la testosterona intratesticular no se modificaron en las ratas tratadas durante 17 días pero, en las de 34 días hubo una disminución importante en ambos parámetros. En los cortes histológicos de los testículos no se observaron cambios morfológicos importantes. Estos resultados sugieren que durante la tirotoxicosis la espermatogénesis alterada puede ser consecuencia de una disminución en la síntesis de testosterona. **Palabras claves:** Tirotoxicosis-espermatogénesis.

EFFECT OF THYROTOXICOSIS ON SPERMATOGENESIS

ABSTRACT: We studied the relationship between testosterone concentration and testis morphology in rats with thyrotoxicosis, induced by L-Thyroxine for 17 or 34 days. The thyrotoxicosis induced a reduction in testis weight proportional to that seen in body weight. The concentration of testicular testosterone and spermatozoa was not altered in those rats treated for 17 days, however in those rats treated for 34 days there was a significant reduction in both parameters. There were not histological changes in any of those groups. These results suggest that during rat thyrotoxicosis, altered spermatogenesis could result as a consequence of reduction on testosterone synthesis. **Key words:** thyrotoxicosis, spermatogenesis.

INTRODUCTION

En la práctica clínica se han descrito, particularmente en mujeres, alteraciones en la función reproductiva asociadas a trastornos tiroideos^{4,6,11,12,14,17}.

En el hombre hipertiroideo la respuesta de los gonadotropos a la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) está aumentada¹⁷, los niveles basales de hormonas luteinizante (LH), folículo estimulante (FSH), testosterona (T), estradiol (E) y progesterona (P) están aumentados^{4,6,12,14} y la respuesta de las células de Leydig a la estimulación con gonadotropina coriónica humana (hCG), está disminuída¹². Estos hallazgos plantean una serie de interrogantes acerca de cuál sería el mecanismo de retroalimentación negativo del estradiol y la testosterona y cómo se podría explicar la oligozoospermia observada en pacientes con hipertiroidismo.

En animales experimentales también se ha observado que las hormonas tiroideas pueden inducir en el testículo cambios estructurales y funcionales^{1,8,10,20,21}. En animales hipertiroideos se ha observado disminución en el peso de las glándulas sexuales accesorias, en la actividad de complejos enzimáticos y en el contenido lipídico del epidídimo, lo cual refleja un nivel androgénico disminuído^{2,3,15}. Estudios histológicos que describan la morfología testicular en función del grado de tirotoxicosis son muy escasos. Cun-

ingham y col.⁸ reportaron que la administración de sustancias tiroideas disminuyó la espermatogénesis en ratas y produjo degeneración del epitelio germinal. Otros^{20,21} en cambio, no observaron alteraciones morfológicas importantes. Chandrashaker y col.⁹ observaron, en carneros hipertiroideos, disminución en la movilidad de los espermatozoides sin cambios en la producción diaria de espermatozoides, los autores lo atribuyeron a una producción androgénica disminuída.

El propósito de este trabajo fué inducir en ratas adultas, una tirotoxicosis severa y estudiar la relación entre concentración de andrógenos, producción de espermatozoides y morfología testicular.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron ratas machos Wistar de 4 meses de edad, provenientes de la colonia de animales de la ULA. Las ratas se colocaron en jaulas individuales con agua y comida a voluntad. La tirotoxicosis fué inducida con L-Tiroxina monosódica (Testam, FARMA S.A., Venezuela); disuelta en solución salina (ss). La dosis utilizada fué de 0,1 mg/100 g de peso corporal y se administró vía intraperitoneal (ip).

Un grupo de 10 ratas recibió la L-Tiroxina durante 17 días consecutivos y otro grupo durante 34 días. Al grupo control se le administró el vehículo durante 17 y 34 días

respectivamente. A los 10 días del inicio del tratamiento se obtuvo de cada rata una muestra de sangre para determinar el nivel de tiroxina libre. Antes de iniciar el tratamiento y al día siguiente de su finalización, días 18 y 35 respectivamente, las ratas se pesaron individualmente en una balanza de precisión.

Al día siguiente de finalizar el tratamiento con Tiroxina se les extrajo, a todas las ratas, una muestra de sangre para determinar los niveles de testosterona; luego se sacrificaron los animales para extraerles los testículos y los epidídimos, su peso se determinó en una balanza de precisión.

El conteo de espermatozoides se realizó utilizando el epidídimo izquierdo de cada rata. Este fue homogenizado en 8 ml de ss por cada gramo de tejido y luego se contaron los espermatozoides utilizando la cámara de Mackler. El número de espermatozoides contados se corrigió por el volumen de dilución y el resultado se expresó como número de espermatozoides por gramo de tejido.

Para la determinación de la testosterona intratesticular se usó el testículo izquierdo, el cual luego de ser pesado fue decapsulado y homogenizado en un triturador de tejidos (Arthur H. Thomas, Co., PA) usando un pistón de teflón, a razón de 4 ml de ss por gramo de tejido. El homogenizado fue centrifugado en frío (Sorval RC/5B) a 10.000 rpm durante 1 hora. El sobrenadante se almacenó a -30°C hasta que se corrió el ensayo para determinar la concentración de testosterona.

Las hormonas fueron determinadas por radioinmunoensayo utilizando estuches comerciales de Diagnostic Products Corporation (Los Angeles, CA). Para el análisis estadístico se utilizó la prueba t de Student no apareada.

La preparación del tejido para el estudio histológico se realizó de la siguiente forma: inmediatamente después de la pesada del testículo derecho, éste fue decapsulado y sumergido en el fijador frío: glutaraldehído y formaldehído al 3% en tampon cacodilato 0,1M pH: 7,1. Transcurridos 10 minutos fueron cortados transversalmente y almacenados en el fijador durante 48 horas; luego se deshidrataron en alcohol isopropílico de grados crecientes y se incluyeron en parafina; posteriormente se hicieron cortes de 7 micrómetros de espesor y los cortes se colorearon con hematoxilina-eosina. La observación se realizó en un fotomicroscopio Standard 16 (Zeiss).

RESULTADOS

La administración de L-Tiroxina a dosis de 0,1 mg/100 g de peso indujo en las ratas una franca tirotoxicosis. Como puede observarse en la Tabla I el nivel promedio de tiroxina libre (T4L) obtenido en las ratas tratadas fue significativamente más alto que en el grupo control ($p < 0,001$). Bajo estas condiciones la concentración sérica de testosterona fue significativamente menor en las ratas con tirotoxicosis ($p < 0,05$). La concentración intratesticular de testosterona en el grupo de ratas tratadas durante 17 días no fue diferente del control pero en el grupo de ratas tratadas durante 34 días la concentración de testosterona intratesticular fue sig-

Tabla I
Efecto de la tirotoxicosis sobre la concentración de testosterona.

GRUPOS DE RATAS	TRATAMIENTOS	T4L Sérica (ng/ml)	TESTOSTERONA Sérica (nmol/L)	Testicular (nmol/gr)
CONTROL	S.Salina	0,59 $\pm 0,3$	2,28 $\pm 0,28$	30,7 $\pm 3,1$
TIRO-TOXICAS	Tiroxina (17 días)	6,1* $\pm 0,8$	1,15** $\pm 0,11$	31,2 $\pm 5,2$
	Tiroxina (34 días)	7,7* $\pm 0,7$	0,95** $\pm 0,40$	23,3** $\pm 2,0$

* $p < 0,001$ ** $p < 0,05$

Para todos los valores: $\bar{X} \pm E.S.$

nificativamente menor que en el grupo control ($p < 0,001$).

El tratamiento de las ratas con L-Tiroxina disminuyó significativamente el peso corporal y testicular, pero cuando se calculó el porcentaje de disminución del peso testicular con respecto al peso corporal observamos que la reducción fue proporcional a la pérdida de peso corporal (Tabla II).

Tabla II
Efecto de la tirotoxicosis sobre el peso corporal y testicular.

TRATAMIENTO	PCI	PCF	PTF (gr)	%PT/PCF
S.Salina (17 días)	321,5 $\pm 5,5$	342,3 $\pm 6,5$	1,38 $\pm 0,05$	0,40
Tiroxina (17 días)	335,8 $\pm 6,5$	300,0* $\pm 8,1$	1,18* $\pm 0,08$	0,39
S. Salina (34 días)	318,8 $\pm 6,2$	351,5 $\pm 7,6$	1,41 $\pm 0,06$	0,40
Tiroxina (34 días)	320,2 $\pm 7,5$	280,4* $\pm 8,9$	1,13* $\pm 0,09$	0,40

PCI = peso corporal inicial

PCF = peso corporal final

PTF = peso testicular final

$p < 0,05$

Para todos los valores: $\bar{X} \pm E.S.$

El efecto de la tirotoxicosis sobre el número de espermatozoides depende de la duración del tratamiento (Tabla III). En el grupo de ratas tratadas durante 17 días la cantidad de espermatozoides no fue diferente del control pero en el grupo tratado durante 34 días el número de espermatozoides presentes en el epidídimo fue significativamente menor que en el grupo control ($p < 0,001$).

En los cortes histológicos de los testículos de las ratas tirotóxicas no se observaron cambios morfológicos importantes al comparar con las ratas control. En el compartimiento intersticial las células de Leydig, el sistema vascular y el linfático mantuvieron su organización relativa.

Tabla III
Efecto de la tirotoxicosis sobre la espermatogénesis.

GRUPOS DE RATAS	TRATAMIENTO	Nº de ESPERMATOZOIDES X106/GR. DE EPIDIDIMO
CONTROL	S.Salina	6,9 ± 0,9
TIROTOXICAS	Tiroxina 17 das	6,3 ± 1,1
	Tiroxina 34 días	2,6 ± 0,7*

* $p < 0,001$

Para todos los valores: $\bar{X} \pm E.S.$

En los segmentos tubulares no se observaron diferencias en las poblaciones de células germinales, ni en la amplitud de la luz tubular o en la estructura de la lámina basal.

DISCUSION

Los resultados de este trabajo demuestran que en animales con tirotoxicosis la reducción en el peso testicular es proporcional a la pérdida de peso corporal.

La reducción en el número de espermatozoides obtenida en las ratas tratadas durante 34 días con L-Tiroxina, sugiere que el hipertiroidismo severo afecta la espermatogénesis. Gomes¹⁰ en su revisión sobre el hipertiroidismo y la función testicular encontró resultados diferentes: estimulantes, inhibitorios o sin ningún efecto, sin embargo el autor concluye que los efectos deletéreos son los más frecuentemente observados. En hombres con trastornos tiroideos se presentan alteraciones en las características del semen: reducción en el volumen, movilidad y concentración de los espermatozoides^{5,7,12}.

El mecanismo de acción de las hormonas tiroideas sobre la espermatogénesis puede ser mediada a través de un efecto directo sobre el epitelio germinal y ó por un efecto indirecto a través de cambios en la secreción y metabolización de los esteroides sexuales, gonadotropinas^{4,7,12,17}

Rojas, de Bellabarba, de Moreno, Kleiss y Bishop.

y / ó por aumento en la temperatura corporal y en particular la testicular¹⁰. Cuál de estos mecanismos es el responsable de la alteración en la función testicular aún no se conoce, sin embargo hay evidencias experimentales que soportan cada una de estas vías de acción.

En nuestros resultados observamos una relación directa entre la concentración de testosterona intratesticular, y el número de espermatozoides en el epidídimo. Habiéndose demostrado que en ratas hipofisectomizadas o tratadas con antagonistas al GnRH se requiere de altos niveles de testosterona para mantener la espermatogénesis^{18,19} la reducción de los espermatozoides, observada en las ratas tratadas durante 34 días, asociada a una disminución en la concentración de testosterona, sugiere que la disminución de andrógenos es uno de los posibles mecanismos responsables de la espermatogénesis disminuida^{9,12,15,17}.

En las ratas con tirotoxicosis la ausencia de alteraciones morfológicas importantes, en los túbulos seminíferos y en los elementos intersticiales, demuestra que el exceso de hormonas tiroideas no induce cambios degenerativos en el epitelio germinal y sugiere que la disminución en la producción de espermatozoides puede ser consecuencia de una alteración funcional^{10,20,21}. Si hubiese habido cambios destructivos importantes como resultado de la tirotoxicosis, estos deberían ser observables ya que la duración de un ciclo del epitelio seminífero en la rata es de 12 días¹⁶. En conclusión podemos decir que: en ratas con tirotoxicosis severa, la disminución del peso testicular es proporcional a la del peso corporal; no se producen cambios histomorfológicos importantes a nivel testicular pero si hay una franca reducción en la cuenta espermática proporcional a la disminución de la testosterona intratesticular.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el consejo de Desarrollo Científico Humanístico y Tecnológico (CDCHT) de la Universidad de los Andes, Proyecto M-316-89. Agradecemos a la Sra. Aurora Prieto su colaboración técnica.

REFERENCIAS

- Amin, S. O. and El-Sheikh, A. S. Pituitary-testicular function changes in hypothyroid and hyperthyroid male rats. *Acta Anat.* 98: 121-129, 1977.
- Aruldas, M. M., Valivullhad, H. M., and Govindarajulu, P. Effect of thyroxine-induced hyperthyroidism on some testicular enzymes of the pyruvate/malate cycle. *Biochim. Biophys. Acta.* 797: 143-146, 1984.
- Ben, M. J., Pereira, K., Balasubramanian, D. and Govindarajulu, P. Thyroid epididymal relationship II. Influence of hyperthyroidism on epididymal lipids. *Biochim. Biophys. Acta.* 792: 207-213, 1984.
- Bruni, J. F., Marshall, S., Dibbet, J. A., and Meites, A. Effects of hyper and hypothyroidism on serum LH and FSH levels in intact and gonadectomized male and female rats. *Endocrinology.* 97: 121-129, 1975.
- Buitrago, J. M., and Diez, L. C. Serum hormones and seminal parameters in males with thyroid disturbance. *Andrología.* 19: 33-41, 1987.
- Clyde, H. R., Walsh, P. C., and English, R. W. Elevated plasma testosterone and gonadotropin levels in infertile males with hyperthyroidism. *Fertil. Steril.* 27: 662-668, 1976.

7. Corrales , H. J. J., García, J. M., and García, J. D. Primary hypothyroidism and human spermatogenesis. *Arch. Androl.* 25: 21-27, 1989.
8. Cunningham, B., King, J. T. and Kessell, H. R. Influence of thyroid status on testicular morphology in adult male rats. *Anat. Rec.* 81(Suppl): 31-42, 1941.
9. Chandrasekhar, Y., Holland, M. K., D'occhio, M. J., and Setchell, B. P. Spermatogenesis, seminal characteristics and reproductive hormone levels in mature rams with hypothyroidism and hyperthyroidism. *J. Endocrinol.* 105: 19-46, 1980.
10. Gomes, W. R. The Testis, Vol. IV (Eds. Johnson, A. D. Gomes, W. R., Vendemark, N.) Academic Press, New York, pp:68-75, 1970.
11. Keye, W. R., Yuen, B. H., Knopy, R. F. and Jaffe, R. B. Amenorrhea, hyperprolactinemia and pituitary enlargement secondary to primary hypothyroidism. *Obstet. Gynecol.* 697-702, 1976.
12. Kidd, G. S., Glass, A. R., and Vigersky, S. A. The hypothalamic, pituitary, testicular axis in thyrotoxicosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 48: 798-802, 1979.
13. Mauro, T., Hayashi, M., Matsuo, H., Yamamoto, T., Okada, H. and Mochizumi, M. The role of thyroid hormone as a biological amplifier of the actions of follicle-stimulating hormone in the functional differentiation of culture porcine granulosa cells. *Endocrinology.* 121: 1233-1241, 1981.
14. Nomura, K., Suzuki, H., Saji, M., Horiba, N., Tsushima, T., Demura, H. and Shizume, S. High serum progesterone in hyperthyroid men with Grave's disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 66: 230-232, 1988.
15. Pereira, B. M., Balasubramanian, K., and Govindarajulu, P. Effect of thyroxine treatment on epididymal carbohydrate metabolism in the pubertal rat. *Inter. J. Androl.* 6: 203-293, 1983.
16. Perey, B., Clemont, Y., and Leblond, C. The wave of the seminiferous epithelium in the rat. *Am. J. Anat.* 108: 47-78, 1961.
17. Rodjmark, S., Berg, A., and Kallner, G. Hypothalamic pituitary, testicular axis in patients with hyperthyroidism. *Hormone Res.* 29: 185-190, 1980.
18. Rommerts, F. F. G. How much androgen is required for maintenance of spermatogenesis? *J. Endocrinol.* 116: 7-9, 1988.
19. Sharpe, R. M. Testosterone and spermatogenesis. *J. Endocrinol.* 113: 1-2, 1987.
20. Weiss, S. R. and Burns, J. M. The effect of acute treatment with two goitrogens on plasma thyroid hormones, testosterone and testicular morphology in adult male rats. *Comp. Biochem. Physiol.* 90: 449-452, 1988.
21. Young, W. C., Rayner, B., Peterson, R. R. and Brown, M. M. The thyroid and reproductive performance in the adult male guinea pig. *Endocrinology.* 51: 12-20, 1952.

Neurohormonal response to orthostatic stress during the menstrual cycle

A.G. Bellabarba², C.Z. Molina², M.C. LeMorvan², D.F. Dávila¹, J. Donis¹, A. Torres², J. Casado¹, W. Bishop²

¹*Centro de Investigaciones Cardiovasculares*

²*Departamento de Fisiopatología, Universidad de los Andes, Mérida, 5101, Venezuela*

Correspondence to: Dr. Bellabarba Arata G, Apartado #42, Mérida 5101, Venezuela, S.A.

Fax: 58 74 634587

e-mail: arata@ing.ula.ve

Abstract

Cardiovascular morbidity and mortality are lower in menstruating and in postmenopausal women receiving estrogen. In this investigation, we have studied the sympathetic response to standing during the follicular and luteal phases of the menstrual cycle. In 16 normal women, the baseline plasma norepinephrine levels in the follicular phase were 82.3 ± 7.4 pg/ml and increased to 113.0 ± 6.3 pg/ml ($p < 0.0001$), during the luteal phase of the menstrual cycle. Estradiol levels were also higher in the luteal phase (118.1 ± 7.6 pg/ml) compared to the follicular phase (46.8 ± 5.0 pg/ml; $p < 0.0001$). In the standing position, the percentage increase in norepinephrine levels was significantly lower in the luteal phase and correlated inversely ($r = -0.7031$; $p > 0.001$) with the baseline estradiol values. Therefore, the sympathetic response to a physiological stress is attenuated, during the luteal phase of the menstrual cycle in normal women.

Introduction

Cardiovascular morbidity and mortality are significantly lower in premenopausal women than in age-matched men. This difference is no longer apparent following the onset of menopause (Colditz et al, 1987; Wolf et al, 1991). Premenopausal women appear to be protected from cardiovascular disease. Therefore, it is possible that female sex hormones may influence the pathophysiological processes leading to cardiovascular disease (Barrett-Connor, Bush 1991; Colditz et al, 1991; Lobo, Stampfer 1990). This protective effect was first believed to be mediated by changes in lipid metabolism, but direct estrogen effects on vessel wall physiology seemed to be more important (Mendoza et al, 1981; Phillips 1993; Gilligan et al, 1994; Williams et al, 1990). Recent studies suggest on the contrary, that cardiovascular protection may be mediated, in part, by estrogen influence on the autonomic nervous system function (Del Rio et al, 1993; Du et al, 1995).

The cardiovascular system is under constant control by the sympathetic and parasympathetic divisions of the autonomic nervous system. Abnormal autonomic activity