

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**Contribución al estudio farmacodinámico y bioquímico de
las hormonas hipotalámicas : T.R.H. y M.I.F.**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

María Isabel Serrano Molina

Madrid, 2015

SER

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE MEDICINA DE CADIZ

TA 1491

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA Y TERAPEUTICA



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE



5311924358

CONTRIBUCION AL ESTUDIO FARMACODINAMICO Y
BIOQUIMICO DE LAS HORMONAS HIPOTALAMICAS:
T.R.H. y M.I.F.

Tesis presentada para optar al
grado de Doctor en Medicina por
MARIA ISABEL SERRANO MOLINA, Li
cenciada en Medicina y Cirugía.

Cádiz, junio de 1977

A la memoria de mis padres, por sus sacrificios
y consejos.

A mis tíos y hermanos cuya abnegación sacrifi-
cios y desvelo no han tenido límites.

Esta Tesis Doctoral ha sido dirigida por el Profesor EDUARDO CUENCA FERNANDEZ. Sus profundos conocimientos, rectitud científica y la valiosa ayuda y amistad que me brindó des de la terminación de mi Licenciatura, ha sido para mi un estímulo constante, que ha hecho posible la realización de esta Tesis. Por todo ello deseo expresarle mi más profundo y sincero agradecimiento.

Mi agradecimiento también al Dr. GIBERT-
RAHOLA, por la decisiva ayuda, comprensión y de
sinteresada amistad que en todo momento me ha
otorgado, así como, por la enseñanza del análi
sis estadístico.

Asímismo, deseo expresar especialmen-
te mi reconocimiento al Dr. CECILIO ALAMO por
su colaboración en el estudio bioquímico y a
mis compañeros del Departamento de Farmacolo-
gía y Terapéutica Dra. M^a SOL CARRASCO y a los
Dres. JAVIER GALIANA Y LUIS LAFUENTE por la a-
yuda que siempre encontré en ellos.

Gracias, asímismo, a la Sra. DOLORES
BOU y al Dr. LEONARDO CASAIS, amigos y compa-
ñeros cuya amistad, estímulo y comprensión no
han tenido límites.

Mi gratitud a la Srta. M^a DEL CARMEN
GOMEZ, secretaria de nuestro Departamento, y
a los alumnos internos, D. JOSE ESTEBAN y
ANTONIO COLOM, porque siempre encontré en ellos

una valiosa y abnegada colaboración en los tr
bajos más arduos.

Finalmente, sería injusto no mencio-
nar en este capítulo de agradecimiento a los
Laboratorios Prem de Barcelona por haberme fa
cilitado la T.R.H. y el M.I.F. sintetizados en
su Departamento de Investigación y que han si
do utilizados en todos los experimentos.

INDICE

	<u>Página</u>
INTRODUCCION Y JUSTIFICACION	1
PARTE TEORICA	
<u>T.R.H.</u>	
Historia y origen de la T.R.H.	7
Química	10
Distribución Cerebral	13
Funciones de la T.R.H. hipotalámica sobre la esfera endocrina	16
Origen y función de la T.R.H. extrahipotalámica	24
Acciones farmacológicas	27
Acciones bioquímicas	35
Metabolismo	42
Estudios clínicos:	45
Depresión	45
Esquizofrenia	55
Psicosis cíclica	57
Parkinson	58
Migrañas	59

Posología y via de administración 62

Efectos indeseables 64

M.I.F.

Historia y origen del M.I.F. 67

Estructura química 72

Distribución 74

Metabolismo 77

Acciones farmacológicas 81

Acciones bioquímicas 90

Resultados terapéuticos: 95

 Depresión 95

 Parkinson 99

 Efectos indeseables 104

PARTE EXPERIMENTAL

Material y Metodos 106

 Conducto deferente aislado de
 rata 109

 Actividad MAO en el conducto
 deferente 116

Resultados 120

Influencia de la T.R.H. sobre la respuesta de la noradrenalina en el conducto deferente aislado de rata	123
Influencia del M.I.F. sobre la respuesta de la noradrenalina en el conducto deferente aislado de rata	129
Influencia de la T.R.H. y del M.I.F. sobre la actividad MAO en el conducto deferente aislado de rata	133
CONCLUSIONES	135
BIBLIOGRAFIA	140

INTRODUCCION Y JUSTIFICACION

INTRODUCCION Y JUSTIFICACION

La depresión constituye un proceso psicopatológico de etiología muy heterogénea, en muchos casos desconocida, y cuya frecuencia va en aumento en los países industrializados, particularmente, en los grandes núcleos urbanos. Ello se debe, por una parte, al reconocimiento precoz de los estados depresivos gracias a un diagnóstico más afinado y por otra, a que el descubrimiento de sustancias dotadas de probada actividad antidepresiva hace que el número de enfermos depresivos que acuden espontáneamente a la consulta médica haya aumentado (KIELHOLZ, 1972).

Paralelamente al incremento de los cuadros depresivos, en estos últimos 25 años se ha observado un mayor porcentaje de intentos de suicidios. Autores como RINGEL, SLENGEL, SANISBURY y PÖLDINGER (KIELHOLZ, 1972) afirman que la mitad de los suicidas sufren de depresión.

Por todo lo expuesto anteriormente, el tratamiento de los procesos depresivos constituye, pues, un aspecto de gran importancia. Con este fin, se ha introducido en Terapéutica un gran número de sustancias. Entre ellas destacaremos fundamentalmente a los antidepresivos tricíclicos o imipramínicos, sin olvidar, a los inhibidores de la monoaminoxidasa, ciertos simpaticomiméticos y algunos aminoácidos, precursores de las aminas biógenas.

Se desconoce su mecanismo de acción, pero, al parecer está relacionado con las aminas biógenas cerebrales, fundamentalmente: noradrenalina, serotonina y dopamina. De ahí, que en los últimos años se hayan realizado numerosos estudios, tanto clínicos como experimentales, con el fin de esclarecer el papel que desempeñan dichas aminas a nivel cerebral. Todas estas investigaciones han dado a luz una serie de hipótesis bioquímicas de la depresión: serotoninérgicas, dopaminérgica y noradrenérgica (SCHILDKRAUT, 1965; MATUSEK, 1972 y CUENCA, 1975). Estas

diferentes teorías justificarían, en muchos casos, la acción beneficiosa y, en otros, la ineficacia de los antidepresivos en dependencia con el tipo de depresión.

No obstante, el desconocimiento exacto del substrato bioquímico de este proceso psicopatológico, la eficacia relativa de algunos antidepresivos y la frecuencia de efectos indeseables, hace que la búsqueda de nuevas sustancias con actividad antidepresiva no haya concluido. Dia a dia, surgen nuevas moléculas adornadas con una serie de ventajas, pero, los estudios clínicos controlados demuestran que su potencial superioridad sobre los medicamentos hasta ahora disponibles no es real y, en muchos casos, su eficacia clínica es inferior. Sin embargo, la investigación en este campo prosigue una marcha ascendente.

Entre las últimas aportaciones al arsenal terapéutico merecen destacarse por su rapidez de acción, los factores hipotalámicos: la

4

hormona liberadora de tirotrofina (T.R.H.) y el factor inhibidor de la hormona melanofora estimulante (M.I.F.). En efecto, diversos autores han demostrado la rápida recuperación de los pacientes depresivos sometidos a tratamiento con T.R.H. (KASTIN y cols., 1972; PRANGE y WILSON, 1972; PRANGE y cols., 1972; OBIOLS y cols., 1974a y OBIOLS y cols., 1974b) o M.I.F. (EHERENSING y KASTIN, 1974). Estos resultados prometedores y el ser ambos factores constituyentes fisiológicos, nos indujeron a investigar su perfil farmacológico y bioquímico, quizás poco estudiado.

No obstante, antes de exponer nuestra labor experimental, consideramos pertinente realizar una revisión bibliográfica acerca de ambos factores, capítulo que englobamos en la parte teórica de nuestra Tesis. Como veremos en el apartado correspondiente, existen en la actualidad discrepancias en cuanto a su eficacia clínica (BENKERT y cols., 1974a; BENKERT y cols., 1974b; COPPEN y cols., ; DIMITRIKOUDI y cols., MOUNTJOY y cols. (1974) y HALL y cols., 1975),

pero lo que no niega ningún autor que se haya ocupado del tema, es que exhiben un perfil psicofarmacológico (SIMON y cols., 1975).

Nuestra Tesis Doctoral constituye una aportación experimental al conocimiento farmacológico y bioquímico de ambos factores, aspectos que pueden ser de gran trascendencia no sólo, desde un punto de vista fisiológico sino también, terapéutico.

En el aspecto farmacológico hemos investigado la influencia de ambas hormonas sobre los efectos de la noradrenalina en el conducto deferente aislado de rata, con el fin de evaluar su posible similitud con algunos antidepresivos tricíclicos de eficacia reconocida (imipramina, desipramina, maprotilina, etc.). Estas últimas sustancias se caracterizan por potenciar o inhibir, en dependencia con las concentraciones empleadas, los efectos de las catecolaminas exógenas y endógenas (SIGG, 1959; CUENCA y VALDECASAS, 1965 y URSILLO y JACOBSON,

1965), resultando dicha acción muy evidente en el preparado: conducto deferente aislado de rata.

Nuestro estudio, como luego veremos, lo realizamos utilizando toda una gama de concentraciones y tiempos de incubación variables, para analizar de forma exhaustiva las respuestas de ambos factores en las condiciones experimentales por nosotros escogidas. Ciertamente, el conducto deferente de rata constituye un reactivo muy apropiado para investigar el efecto de sustancias dotadas de actividad potenciadora o inhibidora de la noradrenalina (URSILLO y JACOBSON, 1965).

En el aspecto bioquímico, hemos analizados la influencia de dichos factores sobre el sistema enzimático monoaminooxidasa.

P A R T E T E O R I C A

HORMONA LIBERADORA DE LA TIROTROFINA (T.R.H.)

HISTORIA Y ORIGEN DE LA T.R.H.

Es conocido que el hipotálamo ejerce un control sobre la hipófisis a través del eje hipotálamo-hipofisario. Esta función reguladora ha sido objeto de gran interés, habiéndose demostrado que se lleva a cabo a través de la liberación de sustancias neurohormonales (HARRIS, 1955; GREER, 1957; D'ANGELO, 1963 y REICHLIN, 1963).

Sin embargo, fue a partir de los trabajos de GUILLEMIN y cols. (1962), cuando se demostró la existencia en los tejidos hipotalámicos de una sustancia que regulaba la secreción de la TSH hipofisaria. A este factor se le denominó "factor liberador de tirotrófina" (TRF), y fue el primero, de los diez actualmente reconocidos, que se aisló a partir de extractos hipotalámicos de diversas especies de animales. El conocimiento de su estructura química hizo cambiar su denominación, conociéndose en la actualidad con el anagrama de T.R.H.. Es

tudios previos realizados por SAITO y cols. (1959) y SHIBUSAWA y cols. (1959), habian ya postulado la existencia de una sustancia a nivel hipotalámico que estimularía específicamente la secreción de TSH y que denominaron T.R.H.. Trabajos posteriores de SCHALLY y cols. (1969), confirmaron, asimismo, la existencia de este factor.

La T.R.H., producida en el núcleo anterior del hipotálamo, fue obtenida de diversas especies animales e igualmente del hombre. Aparte de los tejidos hipotalámicos, localización preferente, se encuentra en la eminencia media y tallo hipofisario (BOWERS y cols., 1965; GUILLEMIN y cols., 1966; SCHALLY y cols., 1966a; SCHALLY y cols., 1966b; SCHALLY y cols., 1966c y SCHALLY y cols., 1967). No obstante, según los trabajos de SHIBUSAWA y cols. (1959), antes mencionados, la biosíntesis se lleva a cabo en el hipotálamo y su almacenamiento en la neurohipó^ufisis.

Los estudios inmunohistoquímicos y bioquímicos de tejidos hipotalámicos, han demostrado que la T.R.H. se concentra primariamente en nervios terminales y sinaptosomas (MARTIN y cols., 1975) y es sintetizado "in vitro" por tejidos hipotalámicos obtenidos de mamíferos (REICHLIN y MITNICK, 1973) y especies inferiores (McKELVY, 1974). Aunque se ha demostrado la existencia de T.R.H. en el cortex cerebral de ratas, este tejido es incapaz de sintetizarlo (REICHLIN y MITNICK, 1973). Ello sugiere que la síntesis, como antes hemos señalado se lleva a cabo únicamente en el hipotálamo.

La actividad biológica de la T.R.H. fue demostrada por numerosos autores en diferentes ensayos realizados "in vitro" (GUILLEMIN, 1965; GUILLEMIN y cols., 1965; SCHALLY y cols., 1966c; GUILLEMIN, 1967; SCHALLY y REDDING, 1967 y MITTLER y cols., 1969), e igualmente "in vivo" (GUILLEMIN y cols., 1965; SCHALLY y cols., 1966b; SCHALLY y cols., 1966c; BOWERS y cols., 1967; SCHALLY y cols., 1968 y GUILLEMIN y cols., 1969).

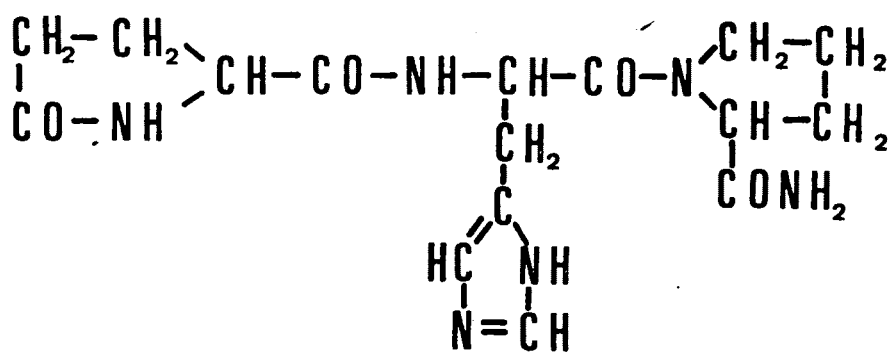
QUIMICA

La estructura de la hormona aislada, tanto en los tejidos hipotalámicos de ganado por_ucino, ovino y bovino, así como, del hombre, se conoce gracias a los trabajos de numerosos autores (BURGUS y cols., 1969a; BURGUS y cols., 1969b; FOLKERS y cols., 1969; SCHALLY y cols., 1969; BURGUS y cols., 1970; SCHALLY y cols., 1970 y ENZMANN y cols., 1971). Primeramente, SCHALLY y cols. (1966c) demostraron que el factor liberador de tirotrofina contenía tres aminoácidos: histidina, ácido glutámico y prolina. Por técnicas de degradación se demostró que la secuencia de estos aminoácidos era la siguiente: ácido glutámico, en forma ciclada, histidina y prolina, comprobándose posteriormente que el último estaba en forma de amida.

Esta estructura, relativamente sencilla, permitió rápidamente su síntesis (BOLER y cols., 1969; BURGUS y cols., 1969a y NAIR y cols., 1971a). Como puede observarse en la figu

ra 1, la T.R.H. es un tripéptido con la siguiente secuencia de aminoácidos: L-piroglutamil-L-histidil-L-prolinamida. El estudio comparativo en el factor endógeno aislado de diferentes especies animales y el obtenido por síntesis demostró que poseía la misma actividad biológica (BURGUS y cols., 1969a y GUILLESSEN y cols., 1970).

Primeramente, se consideraba que la estructura ciclada del ácido glutámico, la no sustitución del núcleo imidazólico y la presencia de prolinamida eran características críticas para la extraordinaria potencia hormonal de esta molécula. Modificaciones mínimas de esta estructura disminuían considerablemente la actividad hormonal (BOWERS y cols., 1970). No obstante, los trabajos de VALE y cols. (1971), demostraron que la introducción de un radical metílico en la posición N-3 en el núcleo imidazólico (N^{3im} metil T.R.H.) aumentaba de forma considerable su actividad biológica. Los estudios realizados "in vitro" con este derivado dieron un



T.R.H.

FIGURA I

indice de actividad ocho veces superior a la
de la T.R.H.

DISTRIBUCION CEREBRAL

A partir de los estudios de OLIVER y cols. (1974b), se demostró que la T.R.H. no se localizaba exclusivamente en el hipotálamo, si no que se encontraba ampliamente distribuido por todo el cerebro. En efecto, su presencia se ha detectado en el cerebro de rata en las siguientes partes: hipotálamo, tálamo, tronco cerebral, cerebelo y cortex cerebral. Las concentraciones obtenidas en estas especies en orden decreciente, (JACKSON y REICHLIN, 1974 y OLIVER y cols., 1974a), han sido las siguientes:

Hipotálamo	255 \pm 0,5 pg/mg
Tálamo	44,2 \pm 2,9 pg/mg
Tronco cerebral	11,6 \pm 0,5 pg/mg
Lobulo olfatorio	6 \pm 0,0 pg/mg
Cortex cerebral	4,7 \pm 0,2 pg/mg
Cerebelo	1,2 \pm 0,6 pg/mg

Estas concentraciones equivalen en cantidades totales por estructura cerebral estudia

da a las siguientes:

Hipotálamo	3,4 ± 0,2	ng
Tálamo	6,1 ± 0,3	ng
Cortex cerebral	4,8 ± 0,2	ng
Cerebelo	0,3 ± 0,02	ng
Tronco cerebral	3,4 ± 0,2	ng

Al analizar estos valores puede concluirse que las 4/5 partes de la T.R.H. están localizadas en el SNC extrahipotalámico, siendo de interés conocer la función que a este nivel desempeña, así como, su origen.

Asímismo, JACKSON y REICHLIN (1974) de mostraron la existencia de la T.R.H. a nivel ex trahipotalámico en otros vertebrados.

En la rata parece que 2/3 del contenido cerebral de T.R.H. está localizado fuera del hipotálamo, estos valores son superponibles a los descritos por OLIVER y cols. (1974b). No obstan te, difieren con este autor en la presencia de

esta sustancia en cantidades significativas en lóbulo olfatorio de diversas especies animales. Por otra parte, (WINTERS y cols., 1974), también han demostrado la existencia de T.R.H. extrahipotalámica en el cerebro humano y en el líquido cefalorraquídeo del hombre y de diversos animales (ISHIKAWA, 1973 y OLIVER y cols., 1974c).

FUNCIONES DE LA T.R.H. HIPOTALAMICA SOBRE LA
ESFERA ENDOCRINA

En la actualidad está bien establecido que la influencia del SNC sobre la adenohipó fisis se lleva a cabo por sustancias neurohormo nales transportada por el sistema hipotalámico adenohipofisario a partir de la red capilar en la región de la eminencia media. Se han descri to hasta el presente diez hormonas reguladoras, de las cuales la T.R.H. es la encargada de modu lar la síntesis y liberación de la tirotrófina. Este aspecto ha sido ampliamente estudiado por numerosos autores. Los resultados obtenidos han sido de gran interés, no solo porque han permi tido un mejor conocimiento de este factor, sino también, porque constituyen la base de su utili zación clínica. En efecto, en la actualidad se considera a la T.R.H. de gran valor para el es tudio de la función hipófiso-tiroidea y para el diagnóstico de sus alteraciones.

Tanto en el hombre como en diversas es

pecies de animales (bóvidos, óvidos, roedores, etc.), la administración de T.R.H. (ya sea por vía oral o parenteral) estimula la liberación de TSH y de prolactina, (BOWERS y cols., 1971b; BROWN y HEDGE, 1972 y FELL y cols., 1973). Así mismo, pequeñas cantidades del orden de picogramos, son suficientes para liberar tirotrófina "in vitro". Los diversos estudios realizados ponen de manifiesto que la T.R.H. posee además de su acción liberadora de la hormona tirotropía una acción favorecedora de su síntesis (PIVA y STEINER, 1972 y RETIENE y cols., 1972).

Las dosis mínimas necesarias tanto para la liberación de prolactina, como para aumentar la tasa plasmática de TSH, son de 25 mcg (BOWERS y cols., 1971b) mientras que en la rata, dosis inferiores del orden de 10 mcg, si bien son activas aumentando la TSH, no tienen efecto sobre la secreción de prolactina, al menos, "in vivo" (VALE y cols., 1973).

El aumento en el hombre de la TSH plasm

mática comienza a los dos minutos, consigue su valor máximo a los 30, para ir descendiendo de manera progresiva hasta alcanzar el valor inicial a las tres horas (BOWERS y cols., 1970 y JAQUET y cols., 1972). Estas respuestas según HALL y cols. (1970), estarían relacionadas con la cantidad de T.R.H. administrada, pero, se ha encontrado, no obstante, una gran variabilidad individual. Por otra parte, se vió una gran diferencia, en relación al sexo. En efecto, BOWERS y cols. (1971a) y ORMSTON y cols. (1971a), tras un estudio detallado, encuentran valores más altos aunque más variables en mujeres que en hombres. Una posible explicación de este efecto puede ser la tasa de estrógenos circulantes, aunque quizás fuera también necesario relacionarlo con otros factores: por ejemplo, la mayor incidencia de bocios no tóxicos aparecen en mujeres.

De forma similar, se observa un aumento neto en los niveles de triiodotironina, pero debil en los de tiroxina (HOLLANDER y cols., 1972).

Ello parece debido a un aumento de la liberación desde la hipófisis y a un incremento de su sintesis de novo (BOWERS y cols., 1967 y BOWERS y cols., 1968).

Por otra parte, HALL y cols. (1970), empleando dosis de T.R.H. superiores a 50 mcg observan un aumento de los valores de PRI, aunque esta respuesta no aparece de forma constante. En estudios realizados en el Hospital Psiquiátrico de Cádiz se ha observado un aumento evidente de T_4 y lípidos a partir de un mes de tratamiento con T.R.H. a dosis elevadas (HERRERA y cols., 1976).

En conclusión, podemos pensar que la mayor o menor liberación de TSH estaría relacionada con el grado de afectación tiroidea, sirviendo la T.R.H. como agente diagnóstico en casos de hiper o hipofuncionalismo de la glándula tiroidea y como diagnóstico diferencial entre hipotiroidismo primario o secundario (ALMQVIST y KARLBERG, 1972).

Otro de los aspectos estudiados en ratas por STEINER y cols. (1974), ha sido la posible interferencia de la T.R.H. con la ovulación. Los resultados obtenidos en este estudio preliminar y en sus condiciones experimentales demuestran que tiene un efecto inhibitor si la T.R.H. se administra en un momento apropiado del ciclo. Este efecto anovulatorio ha sido también demostrado en monos (STEVENS y cols., 1974). Aunque sería necesario proseguir este estudio para esclarecer el mecanismo de acción de la T.R.H. sobre la ovulación. Dos posibilidades han sido consideradas: 1) la adenohipófisis se vuelve refractaria a los estímulos liberadores de las gonadotrofinas cuando se estimula de forma máxima para liberar tirotrofina y prolactina. 2) La T.R.H. influye directamente en los centros nerviosos que controlan la ovulación.

Es conocido, en relación a su acción liberadora de prolactina, que el máximo efecto se consigue a los 15 minutos y sus valores son tres veces superiores en el hombre y seis en la mujer

(BOWERS y cols., 1973). Se desconoce si esta acción se debe a una función fisiológica de la T.R.H. (BOWERS y cols., 1971b y BOWERS y cols., 1973) o a una inhibición inespecífica de la hormona hipotalámica que bloquea la producción de prolactina (P.I.H.: prolactin inhibitory hormone). Estudios posteriores realizados por COLLU y cols. (1976), demuestran que la secreción de prolactina inducida por el pentobarbital es antagonizada por la T.R.H. sugiriendo que esta acción se ejerce a nivel cerebral. En efecto, ésta resulta manifiesta cuando la T.R.H. se administra en el ventriculo lateral, pero su respuesta también depende de la cantidad de droga inyectada o la via empleada.

La respuesta tirotrópica obtenida tras la administración de T.R.H. es anulada tras la administración de hormonas tiroideas, pero, para inhibir la liberación de prolactina son necesarias dosis muy elevadas de dichas hormonas. Por el contrario, en caso de hipertiroidismo disminuye la elevación de prolactina tras la administración

tración de T.R.H. mientras que en los hipotiroides aumenta (SNYDER y cols., 1973).

Igualmente, se ha demostrado que la hormona de crecimiento (ROOT y cols., 1973), la L-DOPA (SPAULDING y cols., 1972) y la dexametasona en tratamientos prolongados (FUKATSU y cols., 1973), inhiben la secreción de TSH consecuente a la administración de T.R.H..

En resumen, podemos afirmar en relación a la función hipofisaria de la T.R.H. que, aunque los valores séricos de GH, LH y FSH no se modifican y los valores plasmáticos de cortisol aumenten ligeramente, los niveles de prolactina se incrementan de forma evidente (BOWERS y cols., 1970 y BOWERS y cols., 1971b). No obstante, los sujetos con insuficiencia renal responden de forma diferente a la administración de T.R.H.. De hecho, se ha demostrado en ellos un inexplicable aumento de la GH después de la administración de T.R.H.. Ello podría explicarse porque el riñón es considerado el principal lu

gar de eliminación de esta sustancia (GONZALEZ-
BARCENA y cols., 1973). En conclusión, la T.R.H.
es capaz de liberar GH en algunos estados pato
lógicos.

Independientemente de estas acciones
hipofisarias, MURTHY y MODESTO (1974), observa
ron una disminución en la síntesis de ácidos
grasos y en la incorporación de glucosa-¹⁴C a
la fracción glicérido-glicerol, lo que indica
ría que la T.R.H. ejerce otras acciones.

ORIGEN Y FUNCION DE LA T.R.H. EXTRAHIPOTALAMICA

Conocida que la biosíntesis de la T.R.H. hipotalámica en ratas se realiza a nivel del área hipofisiotropa mediante un mecanismo enzimático (REICHLIN y MITNICK, 1973), fue necesario, a partir del conocimiento de su distribución extrahipotalámica, precisar su origen y función fisiológica a este nivel, aspecto que aun no ha sido totalmente aclarado, pero, acerca del cual se han propuesto algunas hipótesis.

En cuanto a su origen, podría pensarse que la T.R.H. es segregada por las células cerebrales o concentrarse a este nivel tras haber sido sintetizada en el hipotálamo (OLIVER y cols., 1974a). El aislamiento y distribución de la enzima T.R.H. sintetasa que interviene en su biosíntesis, podría aclararnos este concepto, pero esto no ha sido aún conseguido.

No obstante, la posibilidad de que sea secretado por las células cerebrales y transpor

tado el hipotálamo queda demostrada tras la inyección en el sistema ventricular de T.R.H. marcada. En estas condiciones se ha demostrado su presencia en la sangre porta hipofisaria y periférica (OLIVER y cols., 1974a). Por otra parte, una serie de trabajos histológicos (LÖFGREN, 1960) y fisiológicos (KNIGGE y SCOTT, 1970 y ONDON y cols., 1973), apoyan la hipótesis que la eminencia media del hipotálamo tiene una función de almacenamiento y transporte de sustancias segregadas a distancia y en el líquido cefalorraquídeo.

Es, pues, posible que la T.R.H. sea segregada por las células del SNC al líquido cefalorraquídeo antes de ser, o bien, distribuida por el sistema porta hipofisario o bien, fuera distribuida por la circulación general después de ser reabsorbida por los senos venosos subdurales.

La función de la T.R.H. extrahipotalámica es desconocida, aunque se piensa a raíz de

una serie de trabajos experimentales que desempeña algún papel, hasta ahora mal precisado. En efecto, los trabajos de OLIVER y cols. (1974d), demuestran que algunos anfibios presentan concentraciones similares de T.R.H. en el cerebro y en el hipotálamo y en estas especies la T.R.H. no segrega TSH (ETKIN y GONA, 1968). Lógicamente tiene pues que pensarse que la T.R.H. ejerce alguna otra función.

Por otra parte, se ha observado que existe una elevada concentración de T.R.H. en las ratas durante las tres primeras semanas de vida (OLIVER y cols., 1974a) periodo que justamente corresponde a la maduración cerebral de estas especies. Este aumento puede quizás tener algún significado.

ACCIONES FARMACOLOGICAS

Independientemente de los efectos endocrinos de la T.R.H. estudiados ampliamente por numerosos autores (BOWERS y cols., 1970; HALL y cols., 1970; BOWERS y cols., 1971a; ORMSTON y cols., 1971a; ORMSTON y cols., 1971b; ALMQVIST y KARLERBERG, 1972; BROWN y HEDGE, 1972; HOLLANDER y cols., 1972; JAQUET y cols., 1972; PIVA y STEINER, 1972; RETIENE y cols., 1972; SPAULDING y cols., 1972; BOWERS y cols., 1973; FELL y cols., 1973; FUKATSU y cols., 1973; GONZALEZ-BARCENA y cols., 1973; ROOT y cols., 1973; SNYDER y cols., 1973; VALE y cols., 1973; MURTHY y MODESTO, 1974; RETIENE y cols., 1974; STEINER y cols., 1974; COLLU y cols., 1976 y HERRERA y cols., 1976), se están descubriendo diversas acciones psicofarmacológicas.

En este apartado hacemos una revisión bibliográfica de los efectos psicotrópicos, habida cuenta que sus acciones endocrinas ya han sido comentadas anteriormente.

EFECTOS PSICOTROPICOS

Los primeros estudios farmacológicos realizados con la T.R.H. por PLOTNIKOFF y cols. (1972a) y PLOTNIKOFF y cols. (1973a), demostraron que este factor potenciaba de forma manifiesta el aumento de actividad motora inducida por la DOPA en el ratón pretratado con pargilina. Este test descrito por EVERET (1966), ha sido ampliamente utilizado para el estudio de sustancias con posible acción antidepresiva. Los resultados fueron positivos, tanto si la T.R.H. era administrada por vía oral o intraperitoneal. Ello excluía la acción irritante abdominal como posible factor responsable de la respuesta observada.

Por otra parte, los estudios realizados en animales hipofisectomizados o tiroidectomizados dieron una respuesta similar, lo que indicaría que dicho efecto es independiente de la liberación hipofisaria de la hormona tirotrópica (PLOTNIKOFF y cols., 1973a).

Para explicar el efecto potenciador descrito se han propuesto dos hipótesis: 1) La T.R.H. aumenta la sensibilidad de las neuronas dopaminérgicas y 2) la T.R.H. altera el metabolismo de la DOPA, dando lugar a un incremento de la concentración activa de dopamina a nivel cerebral. Sin embargo, hasta el momento no se puede afirmar ni negar ninguna de las teorías propuestas, ni deben descartarse otros posibles mecanismos. Pero independientemente de los mecanismos responsables, fueron los trabajos realizados por PLOTNIKOFF el punto de partida del empleo de la T.R.H. como antidepresivo.

De forma similar (HUIDOBRO-TORO y cols., 1974 y LONGO y cols., 1974), observaron una potenciación de los efectos producidos al asociar pargilina y 5-HTP.

También se han observado efectos psicoestimulantes tras la administración de T.R.H. únicamente a dosis elevadas, administrada por vía intraperitoneal o intravenosa a diversas especies

animales (rata, ratón y conejo), dando lugar a: aumento de la vigilancia y de la reactividad a los estímulos, movimientos estereotipados, temblor, sialorrea y aumento del ritmo respiratorio (SIMON y cols., 1975). De igual forma BORSY y cols. (1974), observan que tras la administración intraperitoneal de T.R.H. a dosis de 0,3 a 10 mcg/kg en el gato, perro, rata, etc., se presentan signos de excitación motora y síntomas vegetativos semejantes a los obtenidos con la apomorfina.

Algunos de los síntomas descritos hacen pensar en una estimulación simpática, aunque no se haya observado modificación en el tamaño pupilar, ni en la rata ni en el ratón (SIMON y cols., 1975), pero si, en el perro (HINE y cols., 1973).

De forma similar a los antidepresivos tricíclicos, la T.R.H. tiene una acción antagónica frente al sueño e hipotermia inducidos por el pentobarbital (PRANGE y cols., 1974), tio-

pental, amobarbital, secobarbital y fenobarbital (BREESE y cols., 1975), inhibe la hipotermia inducida por la reserpina, tetrabenacina y R0-4-1284, en rata, ratón y conejo (BORSY y cols., 1974), pero no, la ptosis (SIMON y cols., 1975). Igualmente, reduce la narcosis e hipotermia producida por el etanol en el ratón (BREESE y cols., 1974a). Esta acción no está relacionada con la liberación de hormona tiroidea o con los efectos de un metabolito de la T.R.H., pensando este autor que su efecto sea debido a un aumento de los niveles de AMP cíclico o por alteración del metabolismo del etanol. Los síntomas inducidos por la clorpromacina, (sedación, relajación muscular e hipotermia), pueden ser abolidos o incluso invertidos, habiendose descrito un aumento de la toxicidad de esta sustancia (10 a 40 veces) a una dosis de T.R.H. de 25 mg/kg (KRUSE y SCHACHT, 1974). Por otra parte, presenta una acción anticataleptica (GOUJET y cols., 1974), antagonizado de forma clara pero pasajera los efectos de la catalepsia inducida por la proclorperacina (SIMON y cols., 1975).

En relación a la anfetamina, BORSY y cols. (1974) y KRUSE y SCHACHT (1974), observan una potenciación del efecto psicoestimulante. No obstante, SIMON y cols. (1975), no observan modificaciones ni en intensidad, ni en duración, en la estereotípicia inducida por la anfetamina tras la administración de T.R.H..

La T.R.H. determina en la rata dos sin tomas característicos: una rápida vibración de la cola como si golpeará el suelo y un movimiento semejante al de un perro saliendo del agua (SIMON y cols., 1975).

Estas acciones descritas indicarían un efecto central, ya que ni la TSH, ni la triiodo tironina exhiben estos efectos, algunos de ellos obtenidos, incluso, tras la hipofisectomía. No obstante, la duración de los mismos es pequeña, estando en relación con su vida media corta.

En relación a la toxicidad de diversas sustancias, KRUSE y SCHACHT (1974), observaron

que la T.R.H. potenciaba de forma manifiesta la toxicidad aguda de los neurolépticos (clorpromacina, tioridacina, levopromacina, haloperidol, clozapina, etc.), de los antidepresivos (ami-triptilina, imipramina, desipramina, trimeprina, etc.) y de otras sustancias (anfetaminas, cafeina, escopolamina, fisiostigmina, cardiazol y es-tricnina). En este mismo aspecto, GOUJET y cols. (1974), también observan un aumento de la toxicidad de la yohimbina.

Como conclusión del estudio realizado acerca de las acciones farmacológicas podemos afirmar que la T.R.H. difiere de los imipraminicos y anfetamínicos en diversos aspectos, aun-que exhibe algunos efectos que lo hacen compara-ble.

En relación a los primeros y de forma similar a la imipramina, presenta una acción hipotermizante cuando se administra intraventricularmente en el gato (MATCALF, 1974), antagoni-za la hipotermia inducida por la reserpina o la

oxotremorina, pero difiere en sus efectos estimulantes, ausencia de efectos anticolinérgicos centrales y periféricos (BORSY y cols., 1974 y GOUJET y cols., 1974) y no potencia las respuestas cardiovasculares y vegetativas de la yohimbina en el perro despierto, test considerado, hasta cierto punto, específico para los antidepresivos (HINE y cols., 1973).

En comparación con la anfetamina, sus efectos excitantes son menos intensos en los animales normales. En los animales pretratados con clorpromacina se observa una excitación manifiesta, siendo esta acción negativa en la anfetamina, pero, la acción hipotermizante de la T.R.H. es más intensa que la de la anfetamina. Por otra parte, la anfetamina no antagoniza la acción del etanol, sino que más bien, aumenta el tiempo de sueño (BREESE y cols., 1974a).

ACCIONES BIOQUIMICAS

Las acciones farmacológicas y los resultados clínicos obtenidos con la T.R.H., indujeron a estudiar los efectos de esta hormona sobre el metabolismo de las catecolaminas cerebrales (noradrenalina, dopamina y serotonina) y sus metabolitos: ácido homovanílico, 5-hidroxiindolacético y 3-metoxi-4-hidroxifeniletilenglicol (MOPEG) (HORST y SPIRT, 1974 y KELLER y cols., 1974).

Los resultados obtenidos en la rata, a nivel cerebral, dos horas después de la administración intraperitoneal de la T.R.H., a una dosis de 10 mg/kg fueron los siguientes: noradrenalina ($101,0 \pm 3,5 \%$); dopamina ($99,3 \pm 2,9 \%$); serotonina ($102,0 \pm 2,5 \%$); ácido homovanílico ($104,0 \pm 3,2 \%$) y 5-hidroxiindolacético ($98,7 \pm 3,2 \%$). Estos valores porcentuales no difieren significativamente en relación a los controles, considerando su nivel real como el 100 %.

No obstante, la concentración de MOPEG, aumenta de forma significativa no solo en el cerebro total, sino en las áreas específicas estudiadas, (cortex, hipotálamo, mesencéfalo, bulbo y restos del cerebro) (KELLER y cols., 1974). De forma similar, en ratas tiroidectomizadas o tratadas con triiodotironina, este mismo autor encuentra resultados semejantes a los últimos señalados, aunque en este caso su efecto fue menos evidente.

Por otra parte, es conocido que la T.R.H. no modifica la temperatura rectal y tampoco es probable el pensar que exista una inhibición del aclaramiento de MOPEG, ya que los otros metabolitos no modificados, se eliminan por un mecanismo de transporte similar. Esto hizo pensar en la posibilidad que el aumento observado de este metabolito fuera debido a un mayor aumento de eliminación de noradrenalina con la consecuente transformación del grupo amino en glicol. Esta posibilidad ha sido demostrada por KELLER y cols. (1974), los cuales observan que

tras la administración intraventricular de L-3-C¹⁴-tirosina una hora después de la T.R.H., la acumulación de noradrenalina marcada con C¹⁴ aumentaba significativamente. Estos resultados indican un aumento de la síntesis cerebral de la amina que compensa su liberación, ya que el nivel endógeno de la misma no se modifica. No obstante, no se ha observado ningún efecto sobre el nivel cerebral de dopamina-¹⁴C, lo que indicaría que la T.R.H. no tiene efecto sobre el ácido homovanílico endógeno.

Por otra parte, REIGLE y cols. (1974), estudian el metabolismo de la noradrenalina-³H en el cerebro de ratas tras la administración aguda o crónica de la T.R.H.. Este grupo de autores tampoco encuentran cambios significativos en los niveles cerebrales de serotonina, dopamina o noradrenalina endógena tras la administración de la T.R.H.

Tras la administración aguda de T.R.H. (8 mg/kg), después de la inyección intracister-

nal de noradrenalina tritiada, no encontraron diferencia estadísticamente significativa en los niveles de noradrenalina o de sus metabolitos, en comparación con los controles a los 6 y 210 minutos. Asimismo, la administración crónica de T.R.H. a la misma dosis, tampoco parece tener ningún efecto en los niveles de noradrenalina endógena, dopamina o serotonina en animales sacrificados 6 minutos después de la administración de L-noradrenalina tritiada. No obstante, en este último grupo se observa un aumento significativo de los niveles de normetanefrina-³H. Este aumento podía ser debido a que la T.R.H. produce cambios circulatorios a nivel cerebral con la consiguiente alteración del metabolismo de la noradrenalina-³H (REIGLE y cols., 1974).

A diferencia de otras drogas (anfetamina, cocaína, IMAO y antidepresivos tricíclicos) que fueron estudiados con estas técnicas la T.R.H. no inhibe, a nivel cerebral, el "uptake" de noradrenalina-³H ni disminuye la

desaminación (REIGLE y cols., 1974). Asimismo, TUOMISTO y MANISTO (1973) también describen la ineffectividad de la T.R.H. para inhibir "in vitro" el "uptake" de noradrenalina, dopamina y serotonina, en sinaptosomas de cerebro de rata o en plaquetas de conejo.

Conocido pues que la T.R.H. no inhibe el "uptake" de las catecolaminas, ni la MAO (BREESE y cols., 1974b), es lógico el pensar que el mecanismo por el cual actúa es diferente a los antidepresivos conocidos. No obstante, los resultados bioquímicos obtenidos sugieren que la T.R.H. ejercería su acción antidepresiva aumentando las concentraciones de noradrenalina a nivel de sus receptores específicos cerebrales.

Más recientemente GUDIOL (1976), estudió la acción de la T.R.H., a diversas concentraciones, sobre los procesos de recaptación y almacenamiento de noradrenalina en el conducto deferente de rata.

La influencia sobre la recaptación de L-noradrenalina se estudió con la técnica de simple marcaje. Por el contrario, los experimentos llevados a cabo para la determinación de la recaptación y almacenamiento en un mismo deferente, los realizó con la técnica de doble marcaje.

Este autor, piensa que aunque sus datos experimentales hasta el momento no son suficientes para llegar a unas conclusiones definitivas, según los resultados obtenidos hasta el momento, parece que el efecto más notable de la T.R.H. es un ligero aumento de la recaptación de la L-noradrenalina a la dosis de 2,5 mcg/ml. Este efecto, se manifiesta a diferentes concentraciones de L-noradrenalina y tiempos variables de incubación, tanto sin o con carga previa de los depositos y a dosis fijas o bien acumulativas. Aunque la cuantía de este aumento es variable en los diversos casos, siempre es muy pequeña, de tal forma que en los experimentos aislados no es significativa, salvo en un caso. No obstante el estudio estadístico global resulta muy significativo.

Por otra parte, la cantidad de noradrenalina almacenada, exhibe en unos casos valores proximos a la significación. Sin embargo, en otros es negativa, es decir que los controles poseen una mayor cantidad de L-noradrenalina almaceenada que los tratados con T.R.H.. Asimismo, al considerar conjuntamente a todos los casos de almamacenamiento, observa que existe un incremento de la radiactividad retenida pero su valor estadístico no es significativo.

METABOLISMO

Los estudios realizados tanto en el hombre como en diversas especies animales (rata y ratón), permiten afirmar que la vida media de la T.R.H. es muy corta VIRKKUNEN y cols. (1972), en estudios realizados con T.R.H.-¹²⁵I en el ratón obtienen un valor de 3,5 minutos. BASIRI y UTIGER, (1973), tras la administración intravenosa de la T.R.H. en el hombre obtiene una vida media de $5,3 \pm 0,5$ minutos, mientras que, OLIVER y cols. (1974a), encuentran una vida media de $6,1 \pm 0,25$ minutos en el hombre y de $4,6 \pm 0,44$ minutos en la rata.

Se demostró igualmente que tras la inyección intravenosa de 400 mcg de T.R.H., $21,9 \pm 3,6$ mcg se excretan por la orina durante las primeras 3 horas (BASIRI y UTIGER, 1973), conservando sus propiedades inmunológicas y su actividad biológica (LEPPÄLUOTO y cols. 1972 y BASIRI y UTIGER, 1973). Valores similares encuentran VIRKKUNEN y cols. (1972), en el ratón tras

la administración intravenosa de T.R.H.-¹²⁵I.
Estos autores demuestran asimismo en la rata,
que el principal lugar de eliminación de la
T.R.H. o sus metabolitos es el riñon, aunque
el higado también podría intervenir como organ
no secundario (DUPONT y cols., 1972).

Tras una serie de estudios realizados
"in vitro" se puede concluir que la T.R.H. se
inactiva por el plasma humano (BASIRI y UTIGER,
1972) y de rata (OLIVER y cols., 1973). Se ha
propuesto que el suero de ratas expuesto al ca
lor contiene sustancias lábiles (acidas o alcal
linas) las cuales inactivan inmunológica o biol
ológicamente a la T.R.H. (BASIRI y UTIGER, 1973).
Sin embargo, su mecanismo de inactivación más
probable es enzimático, por desaminación de la
prolinamida terminal (NAIR y cols., 1971a). Par
a ello, no obstante, es necesario la maduración
y elaboración de los sistemas enzimáticos, los
cuales aparecen en los anfibios despues de la
metamorfosis (TAUROG y cols., 1972) y en la rat
a, después de la segunda semana de vida.

También se ha observado que el exceso de hormonas tiroideas acelera la degradación plasmática de la T.R.H. y un déficit de ellas, la enlentece. Estos resultados no han sido confirmados, ya que estudios posteriores demuestran que la degradación de la T.R.H. era similar en el plasma de pacientes hipertiroideos, hipotiroideos o hipofisectomizados (OLIVER y cols., 1974a).

ESTUDIOS CLINICOS

En este apartado recopilamos los resultados clínicos obtenidos con la T.R.H. hasta el momento presente. Su eficacia terapéutica ha sido evaluada en las siguientes manifestaciones clínicas: depresión, esquizofrenia, psicosis cíclica, parkinsonismo y migraña.

El estudio de la influencia en los estados depresivos lo inicia PRANGE y WILSON (1972), tras la observación que la T.R.H. potenciaba en el ratón los efectos consecuentes a la administración de L-DOPA más pargilina.

En un estudio preliminar realizado por estos mismos autores en mujeres con depresión unipolar, tras la administración de una sola dosis comprendida entre 100-800 mcg, observan una rápida respuesta antidepresiva de corta duración. En ensayos posteriores a doble ciego empleando un placebo y 600 mcg de sustancias activas, se obtuvo la máxima respuesta

en un plazo de dos horas y se mantuvo durante 6 a 30 horas. En dicha valoración se realizaron pruebas tanto objetivas, como subjetivas. Según estos autores, en el efecto beneficioso observado no parece influir la glandula tiroidea, ya que toman en consideración los resultados experimentales obtenidos con el test de Everet en animales hipofisectomizados. A las dosis empleadas no observan ninguna elevación en los niveles de hormonas tiroideas.

De igual forma, KASTIN y cols. (1972), ponen de manifiesto una mejoría evidente en cuatro de cinco pacientes tratados a una dosis de 500 mcg i.v. durante tres días. La duración del efecto beneficioso varió de tres horas a tres días. No obstante, en uno de los pacientes fue de varias semanas.

En algunos pacientes depresivos se observó una disminución en los niveles plasmáticos de TSH tras la administración de T.R.H., lo que hizo pensar a algunos autores en la e-

xistencia en dichos pacientes de una anomalía en el eje hipotálamo-hipofisario. A este respecto, PRANGE y cols. (1972), demostraron que, a pesar de existir una respuesta disminuída de la TSH, los enfermos no tenían historia clínica de enfermedad hipofisaria o tiroidea y las pruebas de función tiroidea eran normales.

VAN DER VIS-MELSEN y WIENER (1972), obtienen resultados similares a los descritos por estos autores, aunque su casuística sea muy limitada. Con estos resultados no sería ilógico el pensar que esta hormona ejerce su acción a través de un efecto directo en el cerebro (PLOTNIKOFF y cols., 1972a) y tanto sus efectos antidepresivos como la acción potenciadora de la DOPA estarían de acuerdo con la hipótesis catecolamínicas de los desordenes afectivos (SCHILDKRAUT, 1965 y BUNNEY y DAVIS, 1965).

OBIOLS y cols. (1974a), en un estudio llevado a cabo en 28 enfermos diagnosticados

de depresión endógena y 21 de depresión reactiva, empleando dosis comprendidas entre 600 y 1.200 mcg, por vía intravenosa, observan una remisión en 1/3 de los enfermos tratados, en otro tercio consiguen una mejoría notable y en los restantes no se observan variaciones. Los efectos beneficiosos aparecen a los diez días, periodo quizás algo más prolongado que el reseñado por otros autores. Este mismo grupo de autores en un estudio más prolongado (ocho meses) y agrupando a los enfermos según su diagnóstico previo, encuentran que el 50 % de los enfermos con enfermedad depresiva pura mejoran notablemente y si bien, la administración por vía parenteral parecía más rápida en cuanto a la mejoría de los síntomas, los resultados beneficiosos no difieren de los obtenidos tras la administración por vía oral. En ninguna de las dos vías estudiadas reseñan efectos indeseables biológicos o analíticos. Pero ha sido propuesto por ellos mismos que si el paciente no responde a la T.R.H. en el plazo de tiempo anteriormente indicado, es conveniente utili-

zar otros fármacos con actividad terapéutica an
tidepresiva comprobada (OBIOLS y cols., 1974b).

Considerando que la T.R.H. es un factor fisiológico, THOREL y ADIELSON (1973), pensaron que el efecto obtenido con el electroshock se de
bería a la estimulación de la secreción de T.R.H.. No obstante, esta hipótesis queda descartada al .
demostrarse que los niveles plasmáticos de TSH en 15 enfermos sometidos a tratamiento con electroshock no se modificaban significativamente. Por el contrario la T.R.H. a dosis de 500 mcg. por via intravenosa aumentó significativamente los niveles plasmáticos de TSH.

Estudios posteriores realizados por ZARIFIAN y cols. (1974), demostraron que esta sus
tancia inyectada repetidamente por via intraveno
sa directa o en perfusión, a dosis de 1mcg/dia, o bien, por via oral (30 mg/dia) a 17 pacientes con depresión bipolar o monopolar, solo exhibe efectos beneficiosos en los enfermos del primer grupo, mientras que su acción es negativa en el

otro.

Si bien los primeros resultados resul
taron muy alentadores con respecto al efecto
antidepresivo de la T.R.H., en la actualidad
existen discrepancias. En efecto, algunos au
tores no han obtenido con la T.R.H. en la de
presión ningún resultado positivo (BENKERT y
cols., 1974a; BENKERT y cols., 1974b; COPPEN
y cols., 1974; DIMITRIKOUDI y cols., 1974;
HOLLISTER y cols., 1974; MOUNTJOY y cols.,
1974a; MOUNTJOY y cols., 1974b y HALL y cols.,
1975).

DIMITRIKOUDI y cols. (1974), estu-
diaron los efectos de la T.R.H. en tres en-
fermos clínicamente eutiroideos, uno, de 41
años de edad diagnosticado desde hacía 5 me
ses de depresión, el segundo, de 34 años y
con una historia desde hacía 12 años de di-
ferentes episodios recurrentes depresivos
habiendo sido tratado anteriormente con elec
troshock, el tercero, una mujer de 62 años

que desde hacia tres años había tenido tres episodios de depresión endógena. A todos los pacientes se les había suspendido, desde los siete días anteriores al tratamiento con T.R.H., cualquier otra sustancia antidepresiva. En los dos primeros pacientes, a las cinco horas se les observó fluctuaciones en el humor, pero, un efecto idéntico se observó con el placebo. Esto hacía suponer que estas variaciones eran consecuentes a cambios circadianos en los pacientes y no dependientes de su efecto antidepresivo.

Por otra parte, MOUNTJOY y cols. (1974a), en un estudio cruzado a doble ciego en 29 pacientes depresivos (4 con depresión endógena y 25 con depresión reactiva) demuestran que la T.R.H. administrada por vía oral (40 mg diarios durante una semana) no era más efectiva que el placebo.

Igualmente COPPEN y cols. (1974), en un estudio a doble ciego similar al realizado por PRANGE y cols. (1972), tras la administración de

una o varias dosis de T.R.H. (600 mcg intravenosamente, tres veces por semana durante un periodo de tres semanas), asociado a amitriptilina (150 mg/día), tampoco observaron ningún efecto terapéutico, mientras que estos pacientes respondieron bien a los tratamientos con antidepresivos clásicos.

Asímismo, BENKERT y cols. (1974b), en un estudio comparativo, realizado a doble ciego, entre T.R.H., LH-RH y placebo en 12 pacientes (9 diagnosticados de depresión monopolar y 3 con depresión bipolar), no obtienen efectos beneficiosos tras la administración de una dosis única de T.R.H. (600 mcg) y LH-RH a dosis de 500 mcg. Por otra parte, HOLLISTER y cols. (1974), confirman estos resultados negativos proponiendo que una de las causas responsables podía estar en relación con el sexo o con los diferentes diagnósticos.

En un estudio posterior realizado por HALL y cols. (1975), en 10 pacientes diagnosticada

dos de enfermedad depresiva con retraso psicomotor y/o desilusión depresiva, tratados con 600 mcg diarios durante 4 días, no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes tratados con esta sustancia y a los que se les administraba solución salina.

Recientemente, PÜHRINGER y cols. (1975), en un estudio a doble ciego en 8 pacientes con depresión endógena no observan mejoría alguna después del tratamiento con T.R.H.. En otros 6 pacientes, cinco de los cuales estaban sometidos a tratamiento antidepresivo, 2 respondieron a la T.R.H.. En tres de los cuatro que responden en estas dos series se observó el ritmo diurno típico de la depresión (disminución en la intensidad de la sintomatología al atardecer) durante el periodo de estudio, mientras que en los otros pacientes no se observó esta ritmicidad. Los cuatro pacientes que respondieron favorablemente a la T.R.H. recayeron, sin embargo, al tercer día.

Estos autores piensan que aunque el número de pacientes que responden a la T.R.H. es pequeño, lo que ha llevado a una serie de resultados contradictorios, su eficacia en algunos pacientes es innegable. En teoría se podría consi-derar que los pacientes que responden a la T.R.H. pertenecen a un subgrupo, con trastornos afectivos clínicamente no diferenciables, que exhiben un defecto en sus sistemas noradrenérgicos. En efecto, los cuatro pacientes que respondieron a la T.R.H. fueron tratados con maprotilina, nuevo antidepresivo que inhibe el "uptake" de noradrenalina, pero no, el de la serotonina.

Los autores señalan que si bien algunos pacientes que mejoraron con maprotilina no respondían a la T.R.H., ello no excluye la importancia de este factor como un procedimiento de "screening" para la ulterior utilización de un inhibidor específico del "uptake" de noradrenalina.

ESQUIZOFRENIA

A raíz de los efectos beneficiosos obtenidos por PRANGE y WILSON (1972) en sujetos normales en los que se producía una discreta euforia y una claridad mental y los efectos beneficiosos producidos en un muchacho diagnosticado de gigantismo cerebral (TIWARY y cols., 1972). WILSON y cols. (1973), estudian los efectos de la T.R.H. en cuatro mujeres esquizofrénicas; sus edades estaban comprendida entre 24 y 32 años y sus respectivos diagnósticos clínicos eran los siguientes: esquizofrenia crónica indiferenciada, desórdenes psicoafectivos depresivos tipo 3, esquizofrenia catatónica y esquizofrenia paranoica. La medicación psicotrópica previa fue suspendida 7 a 15 días antes de dicho tratamiento, alcanzando todas las pacientes un nivel psicológico estable. Tras la administración de 200 mcg de T.R.H. por vía intravenosa el primer día y de 800 mcg, el día octavo, se valoraron empleando la escala B.P.R.S. (Brief Psychiatric Rate Scale) propuesta por OVERAL y HOLLISTER (1967). Estos

autores haciendo una valoración global de los resultados obtenidos proponen que la T.R.H. posee un efecto beneficioso en los trastornos del pensamiento y una disminución de la conducta alucinatoria aunque no de los trastornos totales. No obstante, a pesar de los efectos beneficiosos observados, es conveniente antes de dar unas conclusiones definitivas, proseguir su estudio con un mayor número de pacientes en todas las subcategorías diagnósticas.

PSICOSIS CICLICA

Aparte de los cuadros antes estudiados, DRAYSON (1974) evalúa los efectos de la T.R.H. en tres mujeres diagnosticadas de psicosis cíclica. El producto les fue administrado durante un periodo depresivo de la enfermedad, a una dosis de 200 mcg i.v. durante tres días consecutivos. A las dosis estudiadas no se encontró ninguna diferencia significativa entre los períodos con tratamiento y sin él.

El autor concluye que resultaría de gran interés incluir una muestra de pacientes con enfermedades cíclicas en cualquier estudio controlado sobre los efectos de la T.R.H. en la esquizofrenia o en la depresión.

PARKINSON

McCAUL y cols. (1974), basandose en que la T.R.H. era capaz de aumentar la actividad dopaminérgica, (PLOTNIKOFF y cols., 1972a) y que este efecto era independiente de la estimulación tiroidea, investigan la influencia de este factor en cinco pacientes clinicamente eutiroideos con un parkinsonismo estático. Tres de ellos estaban siendo tratados con L-DOPA desde hacia tres años. Independientemente de su tratamiento con L-DOPA, se les administró 200 mcg intravenosamente de T.R.H. una sola vez, no observandose ninguna mejoría apreciable de su actividad motora. No obstante, en dos de los tres pacientes tratados con las dos sustancias conjuntamente, se apreció una sensación manifiesta de bienestar que podría explicarse por una verdadera elevación del estado de ánimo. Los autores concluyen que sería conveniente hacer un estudio más prolongado asociando T.R.H. y L-DOPA.

MIGRAÑAS

Basandose en el posible componente de presivo de los pacientes migrañosos, HERRERO y DARGHAM (1976), realizan un estudio sobre la eficacia de la T.R.H. en 30 mujeres y 17 hombres que padecían crisis de migrañas desde hacia por lo menos cuatro años. Las edades de los enfermos estaban comprendida entre los 18 y los 60 años.

Las dosis de T.R.H. utilizadas fueron de dos capsulas de 2 mg/dia durante la primera semana, aumentando a tres capsulas al dia durante la segunda semana y así sucesivamente. La duración del tratamiento fue de 3 meses. Todos los pacientes estudiados habían tomado anteriormente otro tipo de medicación y algunos de ellos (8) de forma ocasional habían tomado drogas de tipo morfínico para controlar el dolor.

Antes de comenzar el tratamiento con T.R.H. se realizó un examen físico y neuroló-
gico de estos pacientes, así como, las siguien

tes pruebas de laboratorio: hemoglobina, velocidad de sedimentación, pruebas hepáticas, electrolitos en sangre y examen completo de orina. También se realizó un control electroencefalográfico y electrocardiográfico y se obtuvieron radiografías de craneo. En 21 pacientes se obtuvo una mejoría casi completa de los síntomas migrañosos, aunque permanecía en ellos la situación conflictiva intrafamiliar que provocaba la ansiedad-depresión.

En 9 pacientes los síntomas desaparecieron por completo, aunque en ellos permanecía la situación ansiosa latente. En 7, los resultados fueron excelentes, desapareciendo todos los síntomas e incluso la ansiedad latente. En 5, se observó una discreta mejoría en relación a la frecuencia e intensidad de las cefaleas y en el componente ansiedad-depresión. Finalmente, en 5 no se observó ningún cambio en su sintomatología clínica.

En el mayor número de pacientes el efec

to terapéutico comienza a manifestarse entre el primer y tercer día y la desaparición de sus sin tomas entre el cuarto y noveno día del tratamien to.

Los efectos indeseables observados por estos autores son en general mínimos (nauseas y mareos al inicio del tratamiento, sensación de rubor facial, ligero insomnio) y no obliga a la suspensión del tratamiento. En algunos pacientes se observó un efecto euforizante. En líneas generales puede concluirse que la medicación fue bien tolerada.

Los autores piensan que el tratamiento de las migrañas con T.R.H. debe ser prolongado ya que los pacientes migrañosos deben ser consi derados como enfermos crónicos. Asimismo, consi deraran que su estudio se debe de proseguir, habi da cuenta que, su mecanismo de acción en este aspecto aún no está elucidado, aunque es posible que esté relacionado con los sistemas monoaminér gicos cerebrales.

POSOLOGIA Y VIA DE ADMINISTRACION

Han sido descritas diversas vías de administración de este preparado siendo su efectividad comparable tanto por vía oral, como, parenteral (intramuscular o intravenosa) (GUAL y cols., 1972). Pero, lógicamente las dosis varían según la vía utilizada.

Vía oral.- Las dosis usualmente empleadas oscilan entre 2 y 6 mg al día. No obstante, otros autores, emplean dosis mucho más elevadas del orden de 30 a 40 mg al día (VAN DER VIS-MELSEN y WIENER, 1972; MOUNTJOY y cols., 1974 y ZARIFIAN y cols., 1974).

Vía parenteral.- Se utiliza generalmente por vía intravenosa en perfusión lenta o inyección directa. Las dosis oscilan entre 500 y 1.200 mcg al día. Se ha aconsejado que la administración directa se haga con cierta lentitud. De esta forma pueden evitarse efectos indeseables que aunque no revisten importancia pueden resultar desagra

dables para el enfermo.

Teniendo en cuenta la perfecta tolerancia del preparado, GOUJET y cols. (1974) consideran la posible utilización de dosis más elevadas. No obstante, por el momento las dosis arriba indicadas han sido las más ampliamente utilizadas.

EFECTOS INDESEABLES

Trás el estudio clínico de la T.R.H. realizado por numerosos autores, se puede afirmar que esta sustancia posee una perfecta tolerancia. Sin embargo, es necesario señalar una serie de síntomas que pueden aparecer tras la administración intravenosa rápida, y en menor proporción, si se administra lentamente. Las principales manifestaciones son: ligera sofocación acompañada de una manifestación angustiosa que disminuye notablemente, como indica OBIOLS y cols. (1974b), al emplear una dilución mayor o prolongando el tiempo de su administración. Por otra parte, se ha descrito la aparición de náuseas y fuertes deseos de orinar. Los síntomas aparecen rápidamente pero son muy fugaces (ANDERSON y cols., 1971). La observación de los signos vitales, no demuestra ninguna alteración en cuanto al pulso y la respiración, aunque se ha observado en algunos casos una discreta elevación tensional de aparición rápida y de corta duración al administrar T.R.H. por via intra

venosa (ANDERSON y cols., 1971).

Tras la administración por vía oral so lo se ha observado en algunos casos la aparición de náuseas y mareos al iniciar el tratamiento y que más tarde desaparecieron; sensación de rubor facial, insomnio y efecto euforizante (HERRERO y DARGHAM, 1976).

A las dosis usualmente empleadas no se han observado alteraciones del funcionalismo ti roideo (MOUNTJOY y cols., 1974a). Sin embargo, CHOPRA y SOLOMON (1973) han descrito que tras la inyección en el ratón de 10 mcg de T.R.H. ca da 12 horas durante 7 días, no se produce ningún síntoma de hipertiroidismo, pero, si se administr a esta misma dosis cada 2 horas aparecen sín-tomas de hiperactividad tiroidea.

Por otra parte, VAN DER VIS-MELSEN y WIENER (1973), durante un tratamiento prolongado con T.R.H. a dosis de 10 a 40 mg al día durante un periodo de 2 a 15 meses, observan un aumento

marcado de la cifra de colesterol. Ello no se sa
be si se debe a un efecto directo de la T.R.H.
o es secundario a la estimulación crónica de la
secreción de TSH o prolactina. Si bien estos re
sultados sobre el colesterol no han sido estadísti
ticamente confirmados por otros autores (HERRERA
y cols., 1976), resulta interesante destacar que
estos últimos obtienen un aumento muy significa-
tivo en los valores de T_4 y lípidos totales.

FACTOR INHIBIDOR DE LA HORMONA ESTIMULANTE
DE LOS MELANOCITOS (M.I.F.)

HISTORIA Y ORIGEN DEL M.I.F.

La porción intermedia de la hipófisis segrega una sustancia con propiedades hormonales conocida con diversos nombres: hormona estimulante de los melanocitos, MSH, hormona melanotropa, melanóforo dilatadora e intermedina.

Su función fundamental en los batracios, es regular la pigmentación de la piel con el fin de favorecer una mejor adaptación a su medio ambiente (KASTIN y cols., 1974a). Sin embargo, su función en los mamíferos y en el hombre no estaría, al parecer, limitada exclusivamente, al control de la pigmentación, siendo posible que ejerza otras acciones en el curso evolutivo de su desarrollo (KASTIN y cols., 1974a).

A partir de 1966, el grupo de KASTIN iniciaron el estudio de las acciones de esta hormona sobre el SNC del hombre. En 1968 describieron las modificaciones electroencefalográficas producidas por la MSH. Estos autores, observaron

la aparición de ondas de gran amplitud y baja frecuencia. Estos resultados concuerdan con los obtenidos experimentalmente en el conejo (DYSTER-AAS y KRAKAU, 1965), rata (SANDMAN y cols., 1971) y rana (DENMAN y cols., 1972). Sin embargo, es interesante señalar que la administración de ACTH produce modificaciones similares (TORDA y WOLF, 1952; WOODBURY, 1958).

Si la MSH tiene, en realidad, alguna función importante en los mamíferos superiores y en el hombre, no es ilógico el pensar que tanto su liberación como su inhibición están sometidos a un mecanismo de regulación.

Todos los datos que poseemos en la actualidad indican que la regulación de esta hormona se debería a una sustancia localizada, fundamentalmente, en el hipotálamo. En efecto, ETKIN (1962), observó que la destrucción del hipotálamo produce el ennegrecimiento de la piel en las ranas, lo que sugeriría una posible función inhibidora de esta zona cerebral.

09

Por otra parte, KASTIN y SCHALLY (1966), observaron que la administración de extractos hipotalámicos de rata producía un aclaramiento de la piel en ranas ennegrecidas por extirpación del hipotálamo. Estos autores llegaron a la conclusión de que en el hipotálamo existirían tanto factores liberadores como inhibidores, desempeñando, estos últimos, un importante papel en el control fisiológico de la liberación hipofisaria de la MSH.

La sustancia inhibidora natural de la MSH fué denominada MRIF por ETKIN (1962) y TALEISNIK y TOMATIS (1967). Asimismo, SCHALLY y cols. (1968), consideran que el control hipotalámico de esta hormona se lleva a cabo a través de una o varias sustancias neurohormonales designándolas con los anagramas de MRIH o M.I.F. que corresponden en inglés a los términos: "MSH release-inhibiting hormone" y "MSH release-inhibiting factor".

En estudios posteriores, CELIS y cols.

(1971) observaron que preparaciones microsomiales de hipotálamo de rata poseen una actividad enzimática que estaría, posiblemente, relacionada con la liberación de MRIH. Este sistema enzimático tendría las características de una exopéptidasa la cual separaría la cadena lateral de la oxitocina, siendo el tripéptido resultante el responsable de la inhibición de la liberación de la MSH hipofisaria. Por otra parte, NAIR y cols. (1971b), aislaron a partir de los extractos hipotalámicos bovinos, dos péptidos con actividad inhibidora, siendo la potencia de uno de ellos mayor que la del otro. La secuencia de aminoácidos del péptido con mayor actividad resultó ser: prolil-leucil-glicinamida. Este oligopéptido aislado demostró que poseía una actividad biológica y unas características fisicoquímicas (cromatográficas, electroforéticas, ect.) similares al producto sintético L-prolil-L-leucil-glicinamida.

Todas las observaciones hasta ahora mencionadas apoyan la existencia de un factor

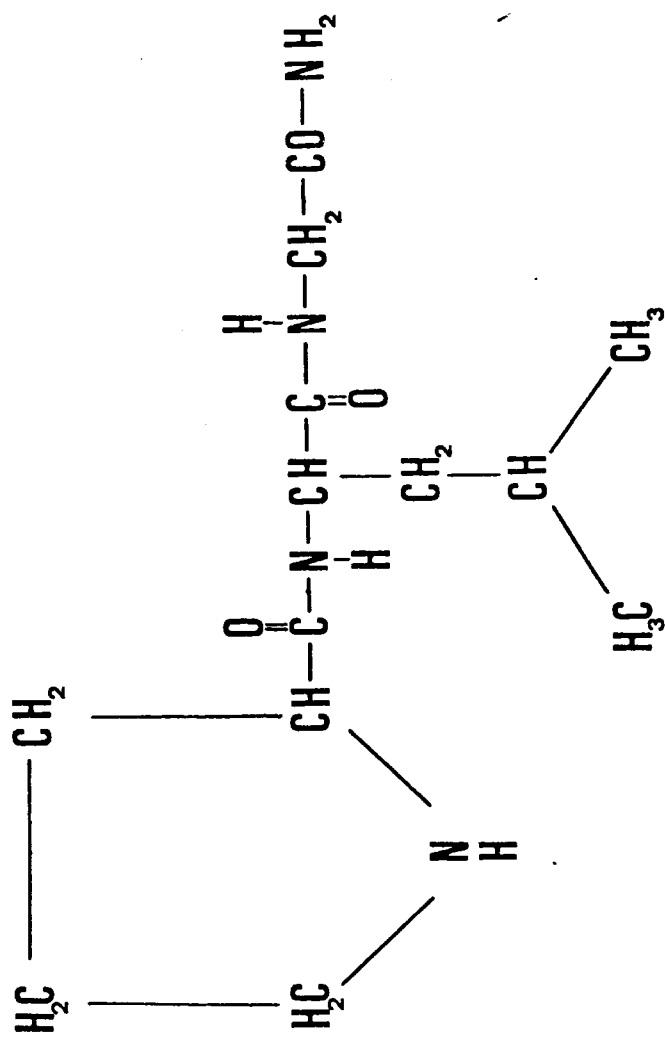
inhibidor de la liberación de la hormona melanofora estimulante, que estaría localizado a nivel del hipotálamo, tanto en diversas especies animales como en el hombre.

ESTRUCTURA QUIMICA

La estructura química del M.I.F. endógeno aceptada por la mayoría de los autores, corresponde a la descrita por NAIR y cols. (1971b). Se trata de un tripéptido con la siguiente secuencia: prolil-leucil-glicinamida, figura 2. Su peso molecular sería pués inferior a 1.000 (SCHALLY y KASTIN, 1966).

La actividad biológica del tripéptido sintético es equivalente a la del factor inhibidor natural (MRIF, MRIH) obtenido de tejidos hipotalámicos bovinos, y sus características cromatográficas y electroforéticas similares.

Sin embargo, no todos los autores están de acuerdo con la estructura tripéptidica del M.I.F.. En efecto, BOWER y cols. (1971), estudiando la posible actividad inhibidora de la liberación de MSH del anillo central de la oxitocina (ácido tocinoico), cuya secuencia de aminoácidos es: L-Cis-L-Tir-L-Ile-L-Asn-L-Cis-OH, obser



M.I.F.

FIGURA 2

varon que poseía acción inhibitora "in vitro" en la rata a dosis inferiores a un nanogramo, estando desprovisto de efecto en la rana. Sin embargo, el tripéptido prolil-leucil-glicinamida sintético, carecía de acción "in vitro" tanto en la rata como en la rana. Los autores sugieren que puede existir una variabilidad en las diferentes especies entre los factores con actividad inhibitora de la liberación de MSH.

DISTRIBUCION

Los estudios encaminados a elucidar la posible distribución del M.I.F. endógeno son, a diferencia de la T.R.H., menos concluyentes. En efecto, las experiencias realizadas por ETKIN (1962), TALEISNIK y TOMATIS (1967) y SCHALLY y cols. (1968), indican que este factor se encuentra localizado a nivel hipotalámico, como por ejemplo, en la eminencia media de la rata (CELIS y cols., 1971).

Sin embargo, es mucho mejor conocida la distribución del M.I.F. administrado exógenamente, gracias a la utilización de técnicas radiactivas. En efecto, DUPONT y cols. (1975), tras la inyección intravenosa de prolil-leucil-glicinamida-³H, observaron que esta sustancia se localizaba preferentemente en la glandula pineal, hipofisis (anterior, posterior y lóbulo intermedio), glandula interescapular y grasa epididimaria, mientras que, las concentraciones en el resto del cerebro no eran signi-

ficativas. Sin embargo, la observación de que el M.I.F. poseía ciertas acciones en el SNC, indujo a PELLETIER y cols. (1975), a estudiar más profundamente su distribución cerebral, por medio de técnica radioautográficas tras la inyección intraventricular o intracarotidea del tripéptido. Los resultados obtenidos por esta vía muestran el alto grado de radiactividad de algunas áreas cerebrales: nucleus lateralis y medialis septi, putamen, globus pallidus, hipocampus, corpus callosum y meninges, mientras que en la eminencia media y el espacio subfornix, la radiactividad era menor.

Por otra parte, tras la administración intracarotídea del tripéptido se observa un aumento de radiactividad en las meninges, plexo coroideo y eminencia media. Estos resultados sugieren que el tripéptido tritiado puede atravesar la barrera hematoencefálica y llegar al líquido cefalorraquídeo, realizandose, probablemente, este paso a nivel de los plexos coroideos.

En estudios previos realizados en el ratón, estos autores han observado una baja recaptación cerebral tras la administración intravenosa a pequeñas dosis de M.I.F. marcado, lo que podría explicarse por la pequeña cantidad de radiactividad que llega al cerebro tras su paso por la circulación general.

METABOLISMO

Los resultados obtenidos por REDDING y cols. (1973), tras la administración de M.I.F. marcado por via intravenosa en la rata, demuestran que la vida media de este tripéptido es aproximadamente de 9 minutos. Estudios posteriores de REDDING y cols. (1974), realizados en el hombre mediante la administración del tripéptido tritiado por via intravenosa, demuestran que el tiempo medio de desaparición de la radiactividad sigue una curva de característica multiexponencial, encontrando dos componentes. El primero de ellos, con una vida media de 1,9 minutos representaría un equilibrio con el sistema circulatorio.

El segundo componente de la curva tiene una vida media aproximada de 16 minutos y podría representar una lenta separación de los productos de degradación o una reentrada del marcaje en la sangre circulante después de la distribución inicial en los tejidos.

Al igual que la T.R.H., se elimina por via urinaria tanto en el hombre como en la rata. No obstante, se ha observado que su excreción en la rata se realiza de forma lenta. Otra de las diferencias encontrada en relación a la eliminación en la rata es la de no encontrarse como molécula activa en la orina (REDDING y cols., 1973). Sin embargo, en el hombre aunque también se elimina lentamente, se encuentra en forma activa en la orina, si bien, una pequeña cantidad es metabolizada en los tejidos (REDDING y cols., 1974).

Esta lenta eliminación se podría explicar en parte por su gran volumen de distribución, siendo los valores encontrados para el hombre de un 20 % del peso del tejido (REDDING y cols., 1974), y en la rata de un 32 % (REDDING y cols., 1973).

El estudio comparativo entre este factor hipotalámico y la T.R.H. nos demuestra que al menos en la rata el volumen de distribución de esta última es la mitad que la del M.I.F. (REDDING y

SCHALLY, 1972). Por otra parte, aproximadamente el 25 % de la dosis de la T.R.H. marcada se encuentra en la orina a la hora (REDDING y SCHALLY, 1972), mientras que menos de un 6 % de la dosis del M.I.F. marcado era encontrado en la orina al mismo tiempo.

No obstante, los estudios realizados por KASTIN y cols. (1971) y NAIR y cols. (1973), demuestran que al igual que la T.R.H. el M.I.F. se inactiva por el plasma humano. NAIR y cols. (1973), demuestran que esta degradación ocurre por la separación del N-terminal de la prolina, con la formación de prolina y H-Leu-Gli-NH₂. Es tos resultados han sido también confirmados por WALTER (1973) en diversas especies animales: sa po, rata, rana y suero humano, aunque la inactivación en el plasma o en el suero humano es muy lenta.

NORWING y MAYER (1973), aislaron una peptidasa en el riñón de cerdo que separaría es te N-terminal de la prolina del péptido. Por

ACCIONES FARMACOLOGICAS

Habida cuenta que el M.I.F. ejerce sus acciones preferentemente a nivel del SNC, nos referiremos a ellas en primer lugar.

Al igual que la T.R.H., el M.I.F. potencia de forma manifiesta el aumento de la actividad motora inducida por la DOPA en el ratón pretratado con pargilina (PLOTNIKOFF y cols., 1971). Esta acción se observa tanto si el M.I.F. se administra por vía intraperitoneal (0,1 a 16 mg/kg) o intracerebral. En este último caso resultó activo a dosis menores de 1 picogramo (HUIDOBRO-TORO y cols., 1975).

Asimismo, esta acción se hace patente en animales hipofisectomizados, lo que permite excluir la participación de la MSH como posible mediador de este efecto (PLOTNIKOFF y cols., 1971).

En referencia al posible mecanismo de

acción responsable de estos efectos se han prop
 puesto diversas hipótesis, que guardan un estre
 cho paralelismo con las descritas para la T.R.H..
 En efecto, se han sugerido diversas posibilida-
 des, relacionadas con la dopamina, una vez ex-
 cluida la inhibición de la MAO: aumento de la
 sensibilidad de los receptores dopaminérgicos
 centrales o modificación del "uptake" y/o
 "turnover" de dopamina en el cerebro (PLOTNIKOFF
 y cols., 1971). Sin embargo, no pueden descar-
 tarse "a priori", otros posibles mecanismos
 (HUIDOBRO-TORO y cols., 1975).

Por el contrario, el M.I.F. no modifi
 ca el aumento de la actividad motora inducida
 por la metaanfetamina, ni produce ninguna varia
 ción en este parámetro cuando se administra aso
 ciado a melatonina o MSH (PLOTNIKOFF y KASTIN,
 1974).

En contraposición a los resultados ob
 tenidos con el test de la L-DOPA, en el que tan
 to la T.R.H. como el M.I.F. ejercen una acción

potenciadora, el último no posee acción alguna sobre los efectos sobre el comportamiento inducidos por la asociación pargilina y 5-HTP (HUIDOBRO-TORO y cols., 1975).

Las acciones del M.I.F. en diversos tests basados en el temblor inducido por la harmina difieren sensiblemente de las ejercidas por la T.R.H.. En efecto, el M.I.F. es activo a dosis elevadas (200-500 mcg/kg/i.p.) frente a los temblores producidos por la harmina. Por otra parte, potencia el antagonismo de la L-DOPA y de la dopamina sobre el temblor producido por la harmina administrada por vía intravenosa en el conejo (FUENTES y LONGO, 1971; HUIDOBRO-TORO y cols., 1975). En estas condiciones la T.R.H. carece de efecto (HUIDOBRO-TORO y cols., 1975).

Por otra parte, el M.I.F. antagoniza la acción de la oxotremorina, tanto en el animal entero, como en el hipofisectomizado (PLOTNIKOFF y cols., 1972b). Esta acción también la manifiestan algunos péptidos análogos al

M.I.F., habiendose demostrado que uno de ellos, Glu-Leu-Gly-NH₂, posee una actividad dos veces mayor que el M.I.F., posiblemente, por ser su vida media superior (CASTENSSON y cols., 1974).

Las acciones neurológicas y sobre el comportamiento difieren sensiblemente de las ejercidas por la T.R.H.. En efecto, la utilización de M.I.F. a dosis que oscilan entre 0,5 y 2 g/kg por via oral producen en el ratón, disnea y disminución de la actividad motora, mientras que si se administran estas dosis por via intravenosa o dosis mayores por via oral, se observan temblores y convulsiones clónicas.

En experiencias realizadas en ratas utilizando dosis comprendidas entre 1-1.000 mg/kg, no se observan alteraciones ni del comportamiento, ni vegetativas, ni neurológicas, mientras que a dosis muy elevadas (2 g/kg p.o.) se observa disminución de la actividad motora, temblores y disnea. Sin embargo, en el perro, utilizando dosis que oscilan entre 100-1.000 mg/kg se ob-

serva un ligero aumento de la actividad motora, mientras que en el mono no se produce ninguna variación (PLOTNIKOFF y KASTIN, 1974).

Otra acción que es importante reseñar es la interacción entre el M.I.F. y la apomorfina. Los estudios realizados señalan que este factor hipotalámico produce, en relación a las dosis, un aumento creciente del número de veces que las ratas machos montan a las hembras lo que apoya la teoría de que el M.I.F. ejerza sus acciones a través de una acción estimulante sobre los receptores dopaminérgicos centrales (PLOTNIKOFF y KASTIN, 1974).

Los estudios electroencefalográficos realizados en el conejo, demuestran que el M.I.F., en un rango de dosis de 1 a 10 mg/kg i.v., no modifica el EEG. Sin embargo, a la dosis de 30 mg/kg i.v., se observan cambios en la actividad eléctrica desde ondas semejantes al sueño normal a las de estado de alerta. Dosis superiores a 100 mg/kg i.v. no producen modifica

ción alguna en el EEG.

El paralelismo observado entre algunas de las acciones del M.I.F. y de la DOPA, indujo a PLOTNIKOFF y cols., (1973b) a estudiar la posible influencia de este factor hipotalámico sobre las acciones de la deserpidina. La sedación inducida por la deserpidina en roedores y monos ha sido descrita como un modelo experimental de depresión y parkinsonismo (SULSER y BASS, 1968). Por otra parte, EVERETT y TOMAN (1959), observaron que la DOPA era un potente antagonista de la sedación inducida por reserpina. La administración de M.I.F. más DOPA antagoniza la depresión producida en el ratón por el pretratamiento con deserpidina y pargilina. Sin embargo, cuando no se administra pargilina, la asociación de M.I.F. más DOPA carece de efecto sobre la depresión inducida por la deserpidina al igual que si se administra únicamente DOPA y pargilina. Los estudios realizados por los mismos autores en monos utilizando deserpidina, pargilina y M.I.F., demuestran

que la administración de pargilina es imprescindible para que el M.I.F. ejerza un efecto antagónico sobre la depresión inducida por la deserpidina. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por otros investigadores utilizando fármacos antidepresivos como la imipramina (SCHILDKRAUT y cols., 1968). Si tenemos en cuenta que los antidepresivos inhiben el proceso de recaptación de NE a nivel sináptico, no es ilógico el pensar que el M.I.F. ejerza un efecto semejante. Por otra parte, se ha demostrado que la noradrenalina y la dopamina intervienen en los procesos de secreción hipotalámicos (WURTMAN, 1971), no siendo imposible que algunos de los factores liberadores hipotalámicos, a través de un proceso de retroalimentación, actúen directamente sobre los procesos de recaptación y turnover de las catecolaminas del sistema límbico. Consecuentemente, el M.I.F. podría actuar a través de los sistemas catecolaminérgicos cerebrales, siendo éste el mecanismo responsable de su posible utilidad como antidepresivo y antiparkinin

soniano (PLOTNIKOFF y cols., 1973a).

Otra de las acciones centrales del M.I.F. que es preciso señalar es su actividad anticonvulsivante frente al electroshock supramaximal, pero carece de efecto frente a las convulsiones inducidas por el electroshock de baja frecuencia, crisis audiógenas o fármacos como el metrazol o la estriknina (PLOTNIKOFF y KASTIN, 1974).

Una vez finalizado el estudio de las acciones farmacológicas del M.I.F. a nivel del SNC nos referiremos sucintamente a otros estudios encaminados a delimitar su perfil farmacológico. Contrariamente a la T.R.H., las acciones ejercidas por este factor a otros niveles son prácticamente nulas. En efecto, los estudios realizados por PLOTNIKOFF y KASTIN (1974), han demostrado que no afecta los parámetros hemodinámicos, no posee actividad antiinflamatoria, carece de acciones histaminérgicas, colinérgicas o adrenérgicas periféricas. Únicamente

podemos señalar una discreta actividad analgésica frente al efecto nociceptivo producido por el ácido acético (PLOTNIKOFF y KASTIN, 1974).

ACCIONES BIOQUIMICAS

A raíz de los resultados clínicos y farmacológicos obtenidos con el M.I.F., se ha investigado en ratas normales o hipofisectomizadas su posible influencia sobre la síntesis de catecolaminas (dopamina y noradrenalina) a nivel cerebral (FRIEDMAN y cols., 1973). Estas experiencias se realizaron sometiendo a las ratas a ciclos intermitentes, de 12 horas cada uno, de luz y obscuridad. Trás varios ciclos y en el periodo comprendido entre 2 y 4 horas después del inicio de un ciclo de luz, se administró M.I.F. a diferentes dosis (0,5; 1 y 5 mg/kg), sacrificandose los animales a los 90 minutos de la inyección, extrayendose el hipotálamo y el estriado a fin de determinar los niveles endógenos de dopamina, tirosina y noradrenalina, así como, la síntesis de catecolaminas en cortes de ambas estructuras.

En estas condiciones experimentales, la administración de M.I.F. a dosis única de

0,5; 1 y 5 mg/kg no modifica los niveles endógenos de dopamina y noradrenalina. Sin embargo, estas dosis aumentan la síntesis de dopamina en ratas normales pero no, en las hipofisectomizadas. La síntesis de noradrenalina hipotalámica no se modifica en ninguno de los dos grupos de animales investigados. Por otra parte, la síntesis de dopamina y de noradrenalina, eran, respectivamente, un 28 y un 18 % inferiores en los animales hipofisectomizados no tratados, en comparación con los controles. La actividad específica de la tirosina en cortes de estriado o hipotálamo no se modificó en los animales tratados con M.I.F., tanto si estaban o no hipofisectomizados.

Como antes hemos señalado, las concentraciones endógenas de dopamina (cuerpo estriado) y noradrenalina (hipotálamo) no se modifican tras la administración de una dosis única de M.I.F.. Sin embargo, la administración diaria durante cuatro días produjo un aumento de las concentraciones de dopamina a nivel del

cuerpo estriado. Finalmente, señalaremos que la temperatura rectal no se modificó de forma significativa por la administración de M.I.F. a ratas normales o hipofisectomizadas.

Estos resultados hablan en favor de que la estimulación de la síntesis de dopamina del estriado inducida por el M.I.F., parece estar mediada por la hipófisis, ya que en los animales hipofisectomizados, no se observa este efecto. Sin embargo, no es posible atribuir exclusivamente este efecto a su influencia sobre la liberación de MSH, ya que otras hormonas hipofisarias, cuya influencia queda eliminada por la hipofisectomía pueden ejercer una interacción con la dopamina cerebral y, consecuentemente, enmascarar el efecto del M.I.F. (FRIEDMAN y cols., 1973).

El hecho que la hipofisectomía reduzca la síntesis de catecolaminas cerebrales, hablan en favor de que exista una compleja interacción entre las hormonas hipofisarias y

este proceso. Por otra parte, la liberación de algunas hormonas hipofisarias (FSH, LH, GH y prolactina) parece estar controlada por mecanismos dopaminérgicos cerebrales (MULLER y cols., 1970) a través de factores liberadores o inhibidores hipotalámicos (PORTER y cols., 1970). Las neuronas dopaminérgicas cerebrales, podrían, asimismo, formar parte de un sistema de retroalimentación que controla la secreción de hormonas hipofisarias.

Se ha demostrado que la liberación de MSH se lleva a cabo a través de mecanismos catecolaminérgicos. TALEISNIK y cols. (1972), han demostrado que las catecolaminas ejercen una influencia sobre el contenido hipotalámico de M.I.F. por lo que la interferencia de la transmisión adrenérgica del hipotálamo se asocia con un aumento de la liberación de MSH, mientras que la administración intraventricular de catecolaminas en la rata inhibe la liberación de MSH.

Los estudios farmacológicos con MSH en pacientes parkinsonianos y con M.I.F. en la rata apoyan la hipótesis que la primera produce una disminución de la transmisión dopaminérgica cerebral, mientras que el M.I.F. ejerce un efecto activador, lo que habla en favor de su posible actividad antidepresiva y antiparkinsoniana.

Es posible que la estimulación de la síntesis de dopamina a partir de la tirosina inducida por el M.I.F. dependa de la integridad de la hipófisis. Sin embargo, la hipofisectomía no modifica la conversión de la L-DOPA en dopamina en los animales tratados con M.I.F., (PLOTNIKOFF y cols., 1971).

RESULTADOS TERAPEUTICOS

La posible utilidad clínica del M.I.F. se ha estudiado bajo dos aspectos: antidepresivo y antiparkinsonismo. Aunque los resultados preliminares parecen prometedores es necesario poseer un mayor número de datos antes de sentar unas conclusiones definitivas.

DEPRESION

Partiendo de que el efecto potenciador producido por el M.I.F. sobre los efectos de la DOPA, test de screening específico para los antidepresivos (EVERETT, 1966), era superior al ejercido por los antidepresivos tricíclicos (PLOTNIKOFF y cols., 1971), EHRENSING (1974) investigó su posible eficacia como antidepresivo. Estos estudios se realizaron utilizando el tripéptido de origen sintético a la dosis de 60 y 150 mg/día en 18 mujeres de edades comprendidas entre 35 y 61 años, 11 de las cuales sufrían un proceso de melancolía

involutiva y 7, una psicosis maniaco-depresiva, en fase depresiva.

Todas las enfermas eran eutiroides y no habían tomado desde dos semanas antes de iniciar este estudio ninguna otra medicación antidepressiva.

Durante los tres primeros días del tratamiento se les administró a todas las enfermas una cápsula que no contenía ninguna sustancia activa. A partir del cuarto día y durante seis días, se les siguió administrando a seis de ellas un placebo, mientras que a las seis restantes se les administraron cápsulas que contenían M.I.F. a la dosis de 60 mg y 150 mg. En estas condiciones experimentales se observó en cuatro de las pacientes que tomaban placebo una clara mejoría al final del tercer día de tratamiento. Cinco de las seis enfermas que tomaron la dosis de 60 mg de M.I.F. presentaron una mejoría evidente de sus síntomas que aparecía entre el 2º y 7º día

del tratamiento, siendo su duración aproximada de un més.

En el grupo de mujeres a las que se les administró la dosis de 150 mg, solo se observó una respuesta favorable en dos de ellas. No obstante, hay que destacar que una de las enfermas que no respondió al tratamiento presentaba discinesia y movimientos involuntarios habiendo resultado ineficaces todos los tratamientos antidepresivos clásicos a los que había estado sometida anteriormente. En esta enferma se observó, al octavo día del tratamiento con M.I.F., una disminución de los movimientos involuntarios, "sensación de ver todo muy claro" y sedación, persistiendo durante cinco días más la mejoría de la discinesia.

Sin embargo, a pesar de los efectos beneficiosos observados a la dosis de 60 mg, es difícil valorar estadísticamente su superioridad sobre el placebo, dado el reducido número de pacientes estudiados.

Por otra parte, la escasa respuesta observada con la administración de dosis más elevadas puede ser debida a que al aumentar las dosis y superar un determinado nivel, disminuya la eficacia del M.I.F. como antidepresivo. Estos resultados concuerdan con las observaciones de PLOTNIKOFF y cols. (1971), en las que señalaban la menor eficacia del M.I.F. sobre las acciones de la DOPA en el ratón cuando se administraba a dosis elevadas.

PARKINSON

KASTIN y BARBEAU (1972), estudiaron a 16 pacientes parkinsonianos, 10 hombres y 6 mujeres, cuyas edades estaban comprendidas entre 51 y 69 años. La duración media de la enfermedad era de 5,7 años.

Ocho de estos pacientes habían estado tomando anticolinérgicos o antihistamínicos durante varios años y no se suprimió esta medicación durante el estudio. Tres pacientes tomaron dosis óptimas de L-DOPA que también se mantuvieron durante este estudio. Estos últimos presentaban movimientos involuntarios anormales y se escogieron precisamente por este efecto colateral.

El M.I.F. se administró de acuerdo con estas cuatro pautas terapéuticas:

a) A ocho pacientes se les administró dos perfusiones consecutivas de suero fi

siológico con 10 mg de M.I.F. durante el segundo día del estudio, mientras que el primer día solo recibieron el disolvente. No se observaron alteraciones biológicas, manifestaciones alérgicas, ni hipertermia.

b) A estos mismos pacientes se les administraron tres capsulas al día durante dos días con 10 mg de M.I.F.. Ninguno de estos pacientes habían tomado DOPA o amantadina.

c) A tres pacientes no tratados previamente se les administró M.I.F. a dosis crecientes iniciandose el tratamiento con 10 mg al día hasta alcanzar 50 mg al día, manteniéndose esta última dosis durante dos meses.

d) Cinco pacientes que tomaban DOPA fueron escogidos por presentar "acinesia paradjica". Se controló continuamente el estado discinesia. Durante el primer día se les administró placebo junto con la L-DOPA y al se-

gundo día se substituyó el placebo por 50 mg de M.I.F..

Los resultados obtenidos en los grupos estudiados permiten afirmar que el M.I.F. posee una potente acción antiparkinsoniana siendo efectivo preferentemente sobre la rigidez y el temblor y menos sobre la acinesia. En los enfermos que presentaban discinesia paradójica inducida por la L-DOPA, se observó una mejoría de este efecto indeseable, sin que se potenciaron otras acciones de la L-DOPA aunque se hubiera administrado a la dosis máxima tolerada.

En estudios posteriores, BARBEAU (1975), observó que la administración conjunta de una dosis de 200 mg de M.I.F. por vía intravenosa y de una dosis por vía oral de L-DOPA que oscilaba entre 500 y 700 mg, produce una potenciación de los efectos de esta última sobre la motricidad global que se acompañó de una mejoría de la función intelectual

del enfermo. Sin embargo, la mejoría de la rigidez, acinesia y temblor era variable en cada caso.

El posible mecanismo responsable de la eficacia del M.I.F. como antiparkinsoniano parece residir en la actividad dopaminérgica que posee este factor (PLOTNIKOFF y cols., 1971; FRIEDMAN y cols., 1973; PLOTNIKOFF y cols., 1973a y PLOTNIKOFF y KASTIN, 1974), hipótesis sugerida por SANDLER y cols., (1973).

Por otra parte, la observación de que en los enfermos parkinsonianos era posible determinar un aumento de los niveles de MSH (SHUSTER y cols., 1973) y que la administración de MSH agravaba los síntomas de esta enfermedad (COTZIAS y cols., 1967), hizo pensar a BARBEAU (1975) que en estos enfermos existiera un déficit de M.I.F., siendo la MSH libre la responsable de las alteraciones bioquímicas a nivel de la sustancia negra y locus

ceruleo.

Aunque el mecanismo bioquímico responsable de la eficacia del M.I.F. en la enfermedad de Parkinson no está totalmente aclarado, el conocimiento de sus acciones farmacológicas y los resultados clínicos obtenidos puede ser el punto de partida para proseguir el estudio de esta sustancia en los enfermos parkinsonianos y en aquellas entidades nosológicas caracterizadas por movimientos anormales involuntarios.

EFFECTOS INDESEABLES

El M.I.F. es, en líneas generales, una sustancia poco tóxica. Para apreciar es tos signos expresivos de toxicidad se preci san dosis muy elevadas. En efecto, la admnistración de dosis de 0,5 g/kg i.v. ó 1 a 2 g/kg por via oral en ratones produce dis nea y descenso de la actividad motora, así como, sacudidas, temblores y ligeras convulsiones clónicas.

En la rata, después de una dosis de 2 g/kg p.o. se observa disnea, disminución de la actividad motora, sacudidas y temblores, no observandose ninguna letalidad en los animales estudiados (PLOTNIKOFF y cols., 1974).

En los estudios clínicos realizados y a las dosis utilizadas, no se ha podido objetivar ninguna alteración de las pruebas de laboratorio ni hipertermia.

En algunos pacientes a los que se les administró M.I.F. por vía intravenosa se observaron ligeras reacciones alérgicas y una discreta somnolencia que desaparecieron al suspender la medicación.

Asimismo, en los pacientes tratados por vía oral durante dos meses, no se observó ninguna alteración. Durante el tiempo que duró el tratamiento, los controles de hemoglobina, hematocrito, leucocitos y diferentes parámetros bioquímicos, no se modificaron.

P A R T E E X P E R I M E N T A L

MATERIAL Y METODOS

En este apartado describimos las condiciones experimentales que hemos escogido para el estudio de los factores hipotalámicos (T.R.H. y M.I.F.) en los aspectos que constituyen nuestra Tesis Doctoral:

- A) Influencia de ambos factores sobre la respuesta de la noradrenalina en el conducto deferente aislado de rata.

- B) Influencia de ambos factores sobre la actividad monoaminoxidasa (MAO) de la misma estructura biológica.

En todos los experimentos hemos empleado ratas Wistar, machos, de un peso comprendido entre 300 y 350 gramos, criadas en nuestro estabulario y procedentes originariamente de la firma francesa CHARLES-RIVER. El número de animales empleados fue de 219 habiéndose realizado, 321 y 58 experimentos, respectivamente, en los dos

aspectos estudiados.

Los animales se dispusieron en jaulas de polipropileno (serie JC 1014), suministradas por la firma PANLAB. Este tipo de jaulas (superficie basal aproximada 1.000 cm^2), permite albergar comodamente de 7 a 8 animales. dentro de lo posible se procuró que todos los animales de una misma jaula fueran de una misma camada y, en caso contrario, de un peso similar. La temperatura ambiente en el estabulario se mantuvo a $22 \pm 2^\circ\text{C}$.

La alimentación desde el destete hasta la realización de los experimentos fue a base de pienso, en forma de gránulos de 12 mm ϕ , tipo rata-ratón-cria, suministrado también por la firma PANLAB. La composición de este pienso es la siguiente:

PROTEINAS.....	21,3 %
GRASAS.....	3,5 %
FIBRAS.....	4,4 %
MINERALES.....	6,2 %
HUMEDAD.....	9,2 %

Tanto el suministro de pienso como del agua
fue "ad libitum".

A.- CONDUCTO DEFERENTE AISLADO DE RATA

Para el montaje de este preparado se guimos en líneas generales la técnica descrita por LEACH (1956) y LAPORTE y cols. (1966). El reactivo biológico se introdujo en un baño de MAGNUS siendo la capacidad de la copa de 20 ml. La temperatura se mantuvo constante a 30°C, en todos los experimentos. Como liquido nutricao se empleó la solución bicarbonatada de KREBS cuya composición es la siguiente:

Cloruro Sódico.....	6,6	g
Cloruro Potásico.....	0,35	g
Bicarbonato Sódico.....	2,1	g
Cloruro Cálcico al 10 %.....	2,8	cc
Fosfato Potásico al 10 %.....	1,62	cc
Sulfato Magnesico + 7 H ₂ O.....	2,94	cc
Agua destilada hasta	1.000	cc.

La preparación se mantuvo aireada con una mezcla de 95 % de O₂ y 5 % de CO₂ que constantemente burbujeaba en la copa.

Una vez pesado el animal, se sacrifica ba mediante un golpe seco en la cabeza, procediéndose a continuación a la disección del conducto deferente. Para ello se escinde a ambos la dos la pared abdominal en su parte inferior, de jando al descubierto el interior de la cavidad abdominal en su parte inferior, lo que permite una rápida visualización de los testiculos. Es tos se evierten hacia el exterior lo que permite seguir de forma clara el trayecto de los con ductos deferentes.

En su parte lateral izquierda, se visua liza macroscópicamente una arteria con pequeñas ramificaciones que se entrecruzan. Una vez dise cados se seccionan en sus extremos proximal y distal, para conseguir una longitud aproximada de 5 a 7 cm. El peso en seco en estas condi ciones oscilaba entre 0,12 y 0,18 g.

Realizada la disección del conducto deferente se coloca en una cápsula de Petri que contiene solución nutritiva de KREBS, para la

limpieza del mismo, a fin de eliminar los restos de tejido graso y conectivo que lo envuelven por su parte externa. Sin embargo, la arteria nutricia lateral, debe de respetarse ya que en sus inmediaciones se localiza un rico plexo nervioso. Por otra parte, sirve de guía una vez introducido en la copa. Estos dos aspectos requieren una técnica cuidadosa para no lesionar el reactivo biológico ya que nos daría una falsa respuesta por alteración de sus fibras y nos conduciría a una interpretación errónea de los resultados.

El extremo más grueso del órgano, que es el correspondiente a su unión con la vesícula seminal, se liga al tubo oxigenador. Nuestra experiencia nos ha enseñado que con este proceder se obtienen respuestas más uniformes. Una vez montado en el oxigenador, se introduce en la copa, que contiene líquido de KREBS a la temperatura antes mencionada.

El extremo testicular que ha quedado libre se fija a través de un hilo de seda a la

palanca de inscripción frontal, sometiendo ésta a una carga de 500 mg. Las respuestas consecuentes a la adicción del agonista empleado o las drogas en estudio, se registraron sobre papel a humado, montado en un quimógrafo que rotaba a una velocidad de 7 mm por minuto.

Una vez montada la preparación se deja en reposo durante un periodo de 30 a 45 minutos a fin de conseguir una mejor estabilización del preparado y, por ende, una mayor constancia en las respuestas. Una vez transcurrido este tiempo de reposo se adiciona al líquido nutricional el agonista empleado siguiendo un orden creciente de concentraciones, hasta conseguir la respuesta maximal del preparado (curva acumulativa). Obtenida la respuesta correspondiente a la concentración más pequeña empleada, se deja correr el papel aproximadamente 1 cm, antes de adicionar la concentración inmediatamente superior y así sucesivamente hasta alcanzar la respuesta maximal. Este proceder permite una mejor visualización del efecto alcanzado por las diferentes con

centraciones y por consecuencia su cuantificación.

Una vez alcanzada la respuesta maximal del preparado se lava tres o cuatro veces, con lo que se consigue nuevamente el nivel basal inicial. El organo se deja entonces en reposo durante un periodo de 15, 30 ó 60 minutos, antes de realizar las siguientes curvas acumulativas, en dependencia, como luego describiremos, del periodo de incubación escogido para la sustancia motivo de nuestro estudio. En general hemos realizado de tres a cuatro curvas acumulativas antes de adicionar la T.R.H. o el M.I.F. Este proceder permite constatar la uniformidad de las respuestas durante el periodo control ya que en el caso contrario no se prosigue el experimento. En estas condiciones investigamos la influencia de la T.R.H. a las siguientes concentraciones: 3,5; 7; 14; 27,5; 55 y 110 μ M. Para cada una de ellas realizamos 20 experimentos, 10 a 15 y 10 a 30 minutos de incubación, ya que en los estudios preliminares observamos que a

los 60 minutos la T.R.H. no producía ningún efecto. En el caso del M.I.F., empleamos, con fines comparativos, concentraciones equimoleculares a las de la T.R.H.. Es decir: 0,7; 1,4; 3,5; 7; 14; 27,5; 55 y 110 μ M. Como luego veremos el mayor número de concentraciones de M.I.F. empleadas se debe a su mayor actividad. El número de experimentos realizados para cada una de estas concentraciones fue de 10, para los tiempos de incubación de 15 y 30 minutos y 5 para los 60 minutos.

Una vez adicionados al líquido nutritivo los dos factores en estudio se obtuvieron nuevas curvas acumulativas de noradrenalina. La primera de ellas, después de la adición de T.R.H. o M.I.F. se realizó sin lavar el preparado.

Una vez finalizado cada experimento y fijadas las gráficas, se midieron las alturas correspondientes a las diferentes concentraciones de noradrenalina adicionadas antes y después del factor estudiado. Los valores obtenidos en las curvas acumulativas del periodo control se trans

formaron en porcentaje de su respuesta maximal observandose que estos no variaban de forma significativa, en la casi totalidad de los casos.

Las respuestas de la L-noradrenalina obtenida tras la adición de la T.R.H. o del M.I.F. se expresaron en porcentajes de la respuesta maximal obtenida en la última curva del periodo control, a fin de poder objetivar la posible potenciación de la respuesta maximal. Para valorar si las diferencias obtenidas entre los valores del periodo control y las obtenidas tras la adición de los factores T.R.H. y M.I.F. eran estadísticamente significativas, se aplicó el test de la "t" de STUDENT. Todos los parámetros estadísticos necesarios para este cálculo se obtuvieron con una programadora HISPANO-OLIVETTI 101.

B.- ACTIVIDAD MAO EN EL CONDUCTO DEFERENTE

Se han descrito numerosas técnicas para la determinación de la actividad monoaminooxidasa en diferentes estructuras y tejidos. Entre ellas las de utilización más frecuente vienen recogidas a continuación, señalándose entre paréntesis los substratos utilizados.

WEISSBACH y cols.	(1961a)	(Triptamina)
WEISSBACH y cols.	(1961b)	(Quinuramina)
ZELLER y cols.	(1963)	(Bencilamina)
KRAJL	(1965)	(Quinuramina)

En nuestro estudio hemos empleado el método de KRAJL (1965) que se basa en la medición fluorimétrica de la 4-hidroxiquinolina formada a partir de la ciclación del aldehído intermedio procedente de la desaminación oxidativa de la quinuramina. Para el estudio de la influencia de la T.R.H. sobre la actividad de este sistema enzimático en el

conducto deferente se mantuvieron las condiciones experimentales antes descritas, pero, sin la adición previa de noradrenalina. De cada animal uno de los deferentes sirvió de control y al otro se le adicionó T.R.H. a, practicamente, todas las concentraciones antes señaladas.

En el caso del M.I.F. su influencia sobre la actividad MAO en el conducto deferente, se valoró inmediatamente después del sacrificio del animal. La concentración de M.I.F. empleada fue de: 1×10^{-3} M. Esta concentración es la que usualmente se utiliza para el "screening" de sustancias dotadas de actividad inhibidora de la monoaminooxidasa.

En esencia, el método de KRAJL (1965) consiste en los siguientes pasos:

- 1.- Homogeneizar el tejido con agua destilada.
En nuestro caso: 100 ml de agua por gramo de tejido.
- 2.- A 1 ml de homogeneizado añadir 0,5 ml de buffer fosfato 0,5 M, pH 7,4; 0,5 ml de una solución de quinuramina de 200 μ g por ml y completar con agua destilada hasta 3 ml.
- 3.- Incubar a 37°C, durante 30 minutos.
- 4.- Añadir 2 ml de tricloroacético al 10 %.
- 5.- Centrifugar durante 10 minutos entre 2.500 a 3.000 rpm.
- 6.- Extraer 1 ml de la fracción sobrenadante y añadir, en el momento de la lectura, 2 ml de NaOH 1 N, agitandose durante unos segun dos.

En todas las determinaciones se prepararon un blanco de tejido, un blanco de reactivo y un standard externo de 4-hidroxiquinolina (4 OHQ).

La fluorescencia de la 4-hidroxiquino

lina formada la medimos en un espectrofluorímetro AMINCO BOWMAN a una longitud de onda de 315 m μ de activación y 380 m μ de emisión.

El calculo de los resultados se hizo sobre una curva de calibración de la 4-hidroxi quinolina obtenida previamente en nuestro Departamento.

RESULTADOS

RESULTADOS

En este apartado describiremos, en primer lugar, los resultados obtenidos con la T.R.H., a las diferentes concentraciones empleadas, frente a la respuesta de la noradrenalina en el conducto deferente aislado de rata y los resultados del estudio comparativo de dichas concentraciones en relación a los diferentes tiempos de incubación (15 y 30 minutos).

En la segunda parte de este capítulo, exponemos los resultados obtenidos con el M.I.F. frente a la respuesta de la noradrenalina en el mismo reactivo biológico antes señalado, a las diferentes concentraciones y tiempos de incubación empleados. En relación a este factor hipotalámico debemos de señalar que el tiempo de incubación se prolongó hasta los 60 minutos.

De forma similar al apartado anterior realizamos un estudio comparativo de los resultados obtenidos a los diferentes tiempos de in

cubación (15; 30 y 60 minutos).

En ambos casos, la prolongación del tiempo de incubación se realizó, a tenor de los resultados obtenidos. En efecto, en los experimentos preliminares una vez obtenida la primera curva dosis efecto de noradrenalina, después del periodo de incubación más corto, el efecto de ambos factores aún se mantenía tras el lavado del preparado en la segunda curva. Habida cuenta que el efecto del M.I.F. era evidente incluso después de 30 minutos de incubación, pensamos que era conveniente prolongar aún más dicho tiempo, a fin de evaluar la permanencia de su efecto. Por el contrario, en el caso de la T.R.H., aunque su efecto era también muy evidente después del primer lavado, tras 30 minutos de incubación, observamos que al prolongar dicho tiempo a 60 minutos, su efecto había desaparecido.

En la última parte de este capítulo, recogemos los resultados correspondientes al es

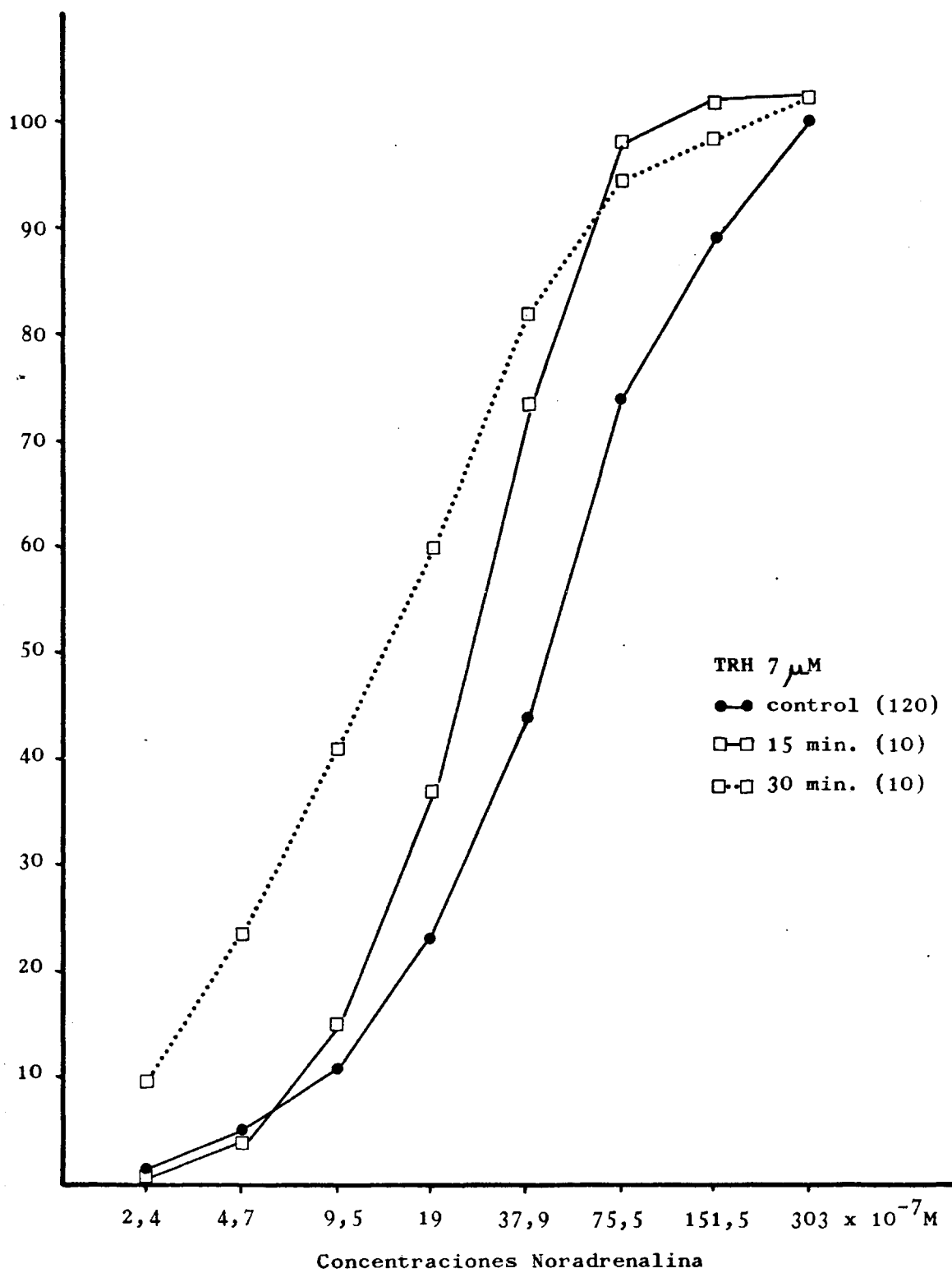
tudio de la influencia de ambos factores sobre la actividad monoaminooxidasa del conducto deferente aislado de rata.

A.- INFLUENCIA DE LA T.R.H. SOBRE LA RESPUESTA
DE LA NORADRENALINA EN EL CONDUCTO DEFEREN-
TE AISLADO DE RATA

En primer lugar describiremos los resultados obtenidos con las diferentes concentraciones de T.R.H. empleadas a los tiempos de incubación antes señalados: 15 y 30 minutos:

A la concentración de $3,5 \mu M$, no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa en relación a la curva control tras 15 minutos de incubación de la T.R.H., pero sí, después de 30 minutos (Tabla II).

A la concentración de $7 \mu M$, las curvas dosis efecto de noradrenalina (15 y 30 minutos) se desplazan hacia la izquierda, en relación a la curva control (Gráfica 1). El desplazamiento obtenido a los 15 minutos de incubación alcanza valores altamente significativos ($P < 0,001$) en los puntos correspondientes a las concentraciones de noradrenalina de 37,9; 75,5



GRAFICA 1

y $151,5 \times 10^{-7}$ M (Tabla I). A los 30 minutos de incubación se obtienen valores altamente significativos ($P < 0,001$), a todas las concentraciones de noradrenalina empleadas (Tabla II).

La concentración de $14 \mu\text{M}$, produce, al igual que la anterior, un desplazamiento hacia la izquierda de las curvas dosis efecto de noradrenalina a los dos tiempos de incubación (Gráfica 2). El desplazamiento resulta más significativo a los 30 minutos de incubación según puede observarse en las Tablas I y II ($P < 0,001$).

De forma análoga, la concentración de T.R.H. de $27,5 \mu\text{M}$, produce una potenciación del efecto del agonista, como puede observarse en la Gráfica (3). Sin embargo, el análisis estadístico demostró que esta potenciación era discretamente inferior, a las observada a concentraciones menores de T.R.H. (Tabla I y II).

Consideramos importante señalar que a las concentraciones y tiempos de incubación has

TABLA I

INFLUENCIA DE LA T.R.H. SOBRE LA RESPUESTA DE LA NORADRENALINA EN EL CONDUCTO DEFERENTE AISLADO DE RATA

CONCENTRACION DROGA μ M I. INCUBACION 15 min.	N	% CONTRACCION MAXIMAL							
		CONCENTRACIONES NORADRENALINA x 10 ⁻⁷ M							
		2,4	4,7 \	9,5	19	37,9	75,5	151,5	303
CONTROL	120	1,54±0,09	4,89±0,25	10,82±0,48	23,38±0,81	44,12±1,07	72,78±1,15	89,10±0,67	100
T.R.H. 7	10	0,62±0,31 •••	4,23±1,2	14,87±2,43	37,42±5,76 ••	73,69±7,12 ••••	97,83±0,93 ••••	100,98±3,45 ••••	101,41±3,2
T.R.H. 14	10	0,60±0,35 ••	1,92±0,49 ••••	9,42±2,15	33,39±5,64	67,78±4,7 ••••	93,18±3,95 ••••	100,57±1,84 ••••	101,34±1,9
T.R.H. 27,5	10	0,84±0,38	3,14±0,73 ••	8,90±2,05	27,72±5,10	64,64±8,07 ••	95,70±2,85 ••••	102,88±6,21 •	101,58±5,13
T.R.H. 55	10	0,69±0,2 •••	1,94±0,61 ••••	5,74±1,05 ••••	11,13±1,55 ••••	31,21±2 ••••	55,59±2,82 ••••	75,81±1,73 ••••	95,51±0,80 ••••
T.R.H. 110	10	0,53±0,26 ••••	1,63±0,5 ••••	4,40±0,70 ••••	10,88±1,6 ••••	24,22±1,77 ••••	43,47±2,44 ••••	60,21±2,29 ••••	75,88±2,03 ••••

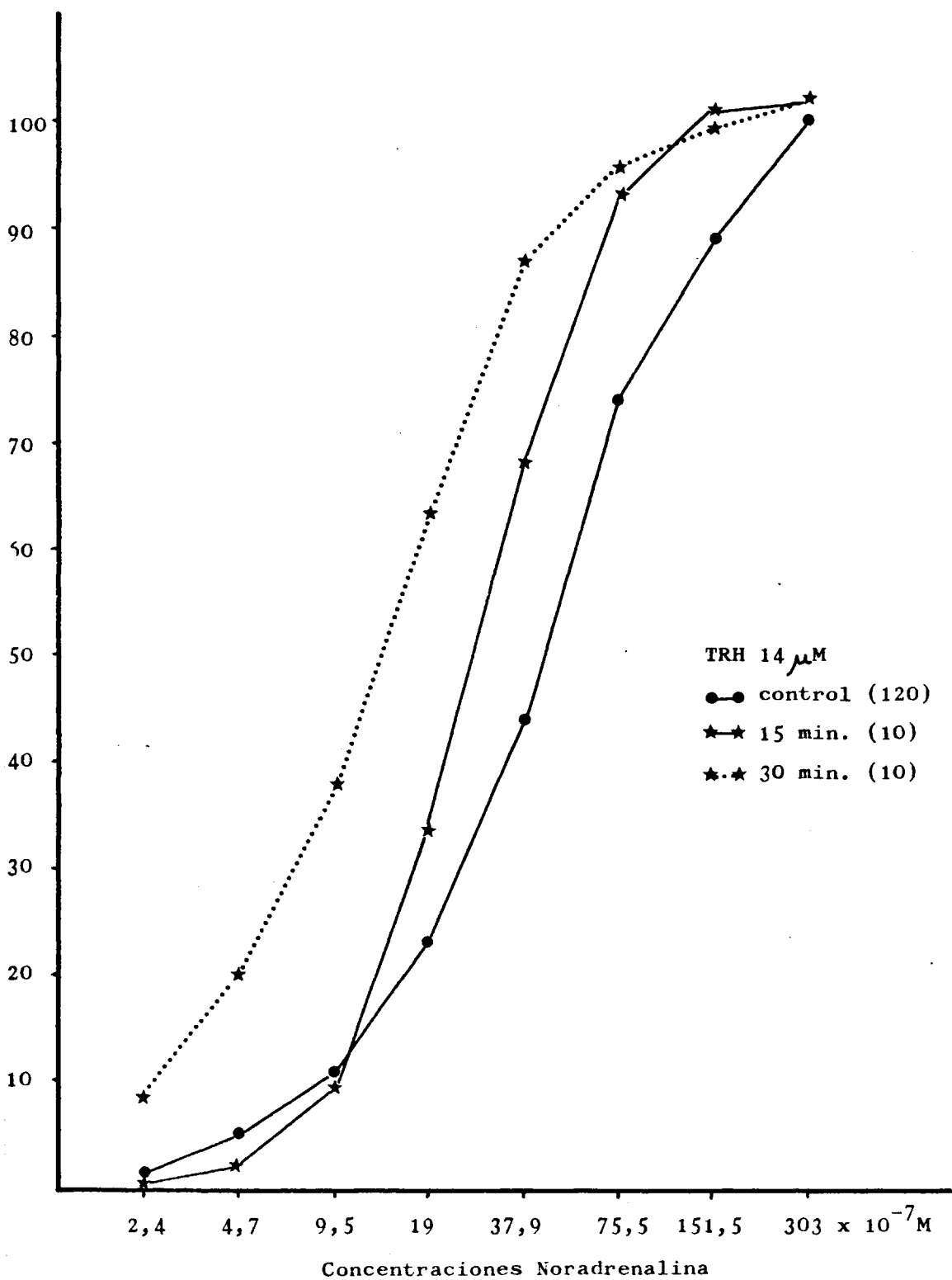
• P < 0,05 •• P < 0,025 ••• P < 0,01 •••• P < 0,001

TABLA II

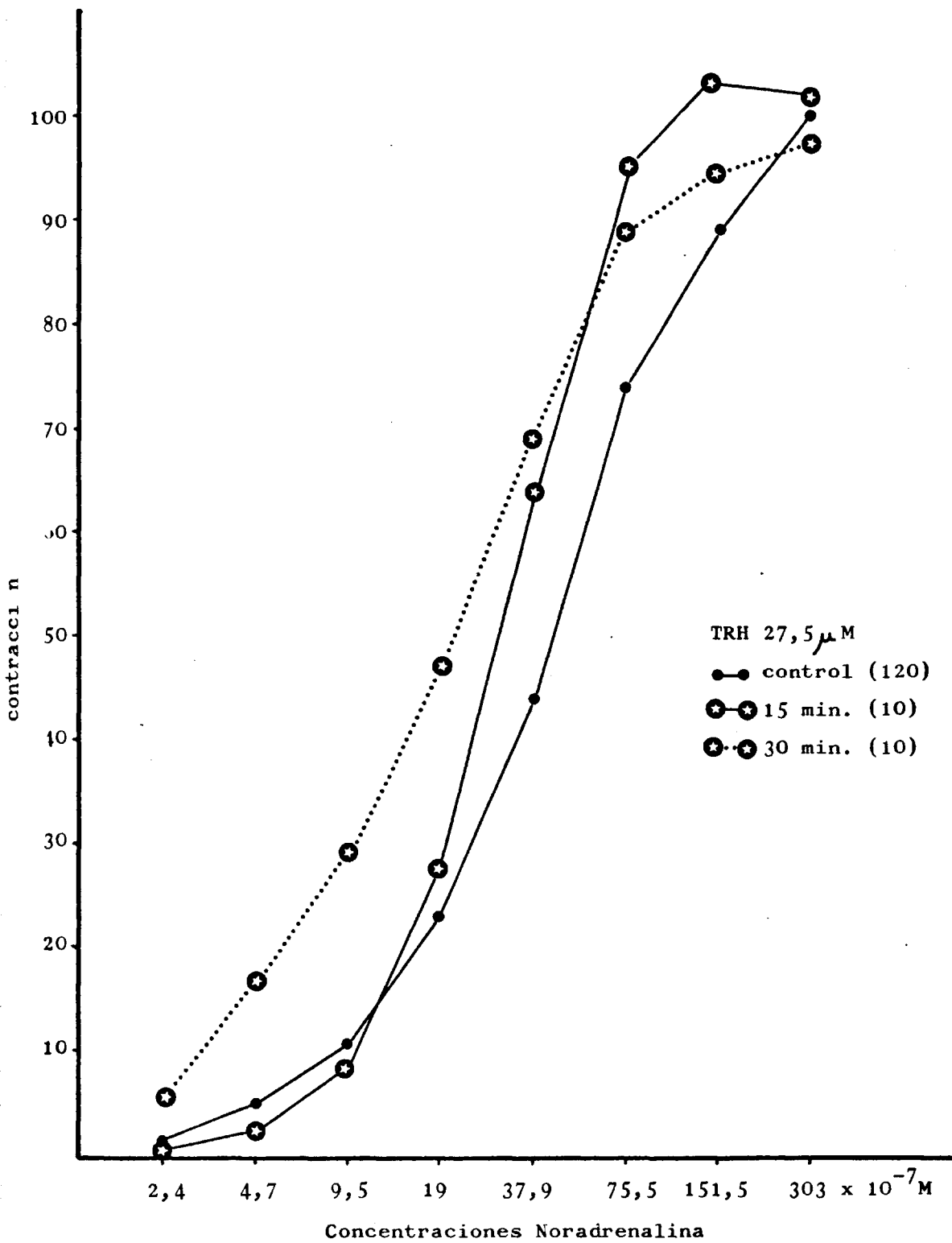
INFLUENCIA DE LA T.R.H. SOBRE LA RESPUESTA DE LA NORADRENALINA EN EL CONDUCTO DEFERENTE AISLADO DE RATA

CONCENTRACION DROGA μ M T. INCUBACION 30 min.	N	% CONTRACCION MAXIMAL							
		CONCENTRACIONES NORADRENALINA $\times 10^{-7}$ M							
		2,4	4,7	9,5	19	37,9	75,5	151,5	303
CONTROL	120	1,54 \pm 0,09	4,89 \pm 0,25	10,82 \pm 0,48	23,38 \pm 0,81	44,12 \pm 1,07	72,78 \pm 1,15	89,10 \pm 0,67	100
T.R.H. 3,5	10	2,34 \pm 0,21 ••••	6,66 \pm 0,61 ••••	13,81 \pm 1 ••••	28,44 \pm 2,19 •	49,95 \pm 3,28	74,23 \pm 3,84	88,03 \pm 1,88	97,38 \pm 1,18 •
T.R.H. 7	10	10,21 \pm 0,93 •••••	23,62 \pm 2,09 •••••	40,96 \pm 3,94 •••••	60,03 \pm 4,59 •••••	82,43 \pm 3,24 •••••	94,45 \pm 1,11 •••••	97,83 \pm 0,93 •••••	101,81 \pm 1,16
T.R.H. 14	10	8,45 \pm 0,69 •••••	19,97 \pm 2,26 •••••	37,83 \pm 4,33 •••••	63,45 \pm 4,01 •••••	87,21 \pm 1,66 •••••	95,43 \pm 1,40 •••••	98,64 \pm 1,06 •••••	101,93 \pm 1,2
T.R.H. 27,5	10	6,30 \pm 0,55 •••••	16,98 \pm 1,34 •••••	29,63 \pm 3 •••••	46,86 \pm 4,32 •••••	69,30 \pm 4,36 •••••	88,41 \pm 1,83 •••••	94,11 \pm 1,71 ••	97,70 \pm 1,36
T.R.H. 55	10	1,65 \pm 0,25	4,49 \pm 0,31	8,60 \pm 0,85 •	17,01 \pm 1,42 •••••	30,18 \pm 2,49 •••••	48,01 \pm 3,09 •••••	61,94 \pm 2,91 •••••	73,26 \pm 3,01 •••••
T.R.H. 110	10	0,92 \pm 0,14 •••••	3,79 \pm 0,42 •	7,23 \pm 0,59 •••••	12,41 \pm 1,56 •••••	21,49 \pm 1,56 •••••	31,05 \pm 2,1 •••••	39,11 \pm 2,03 •••••	46,36 \pm 2,43 •••••

• P < 0,05 •• P < 0,025 ••• P < 0,01 •••• P < 0,001



GRAFICA 2



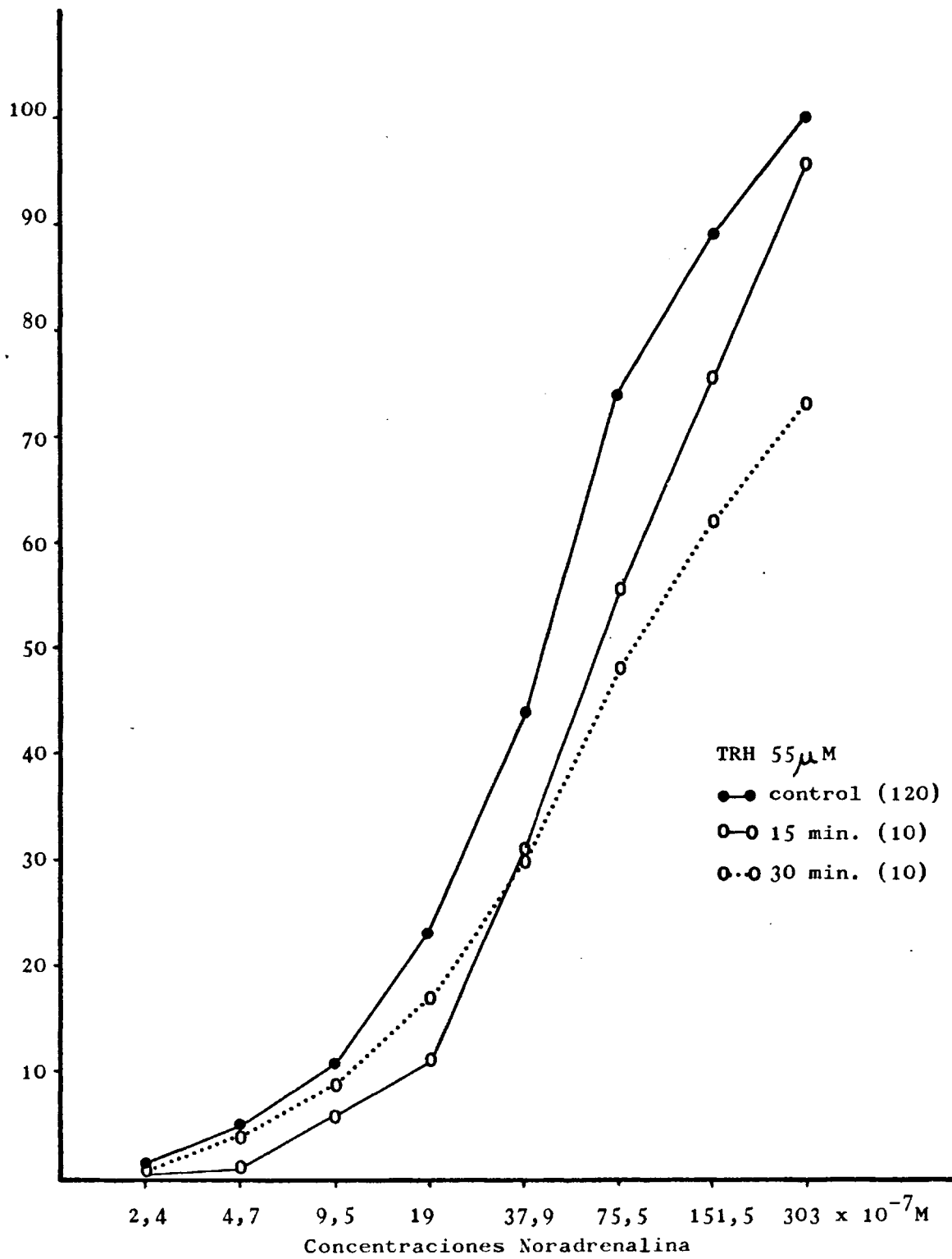
Concentraciones Noradrenalina
 GRAFICA 3

ta ahora reseñados, la respuesta maximal del agonista no se potencia de forma estadísticamente significativa cuando se compara con la obtenida en la curva control. Estos resultados vienen asimismo recogidos en las Tablas I y II.

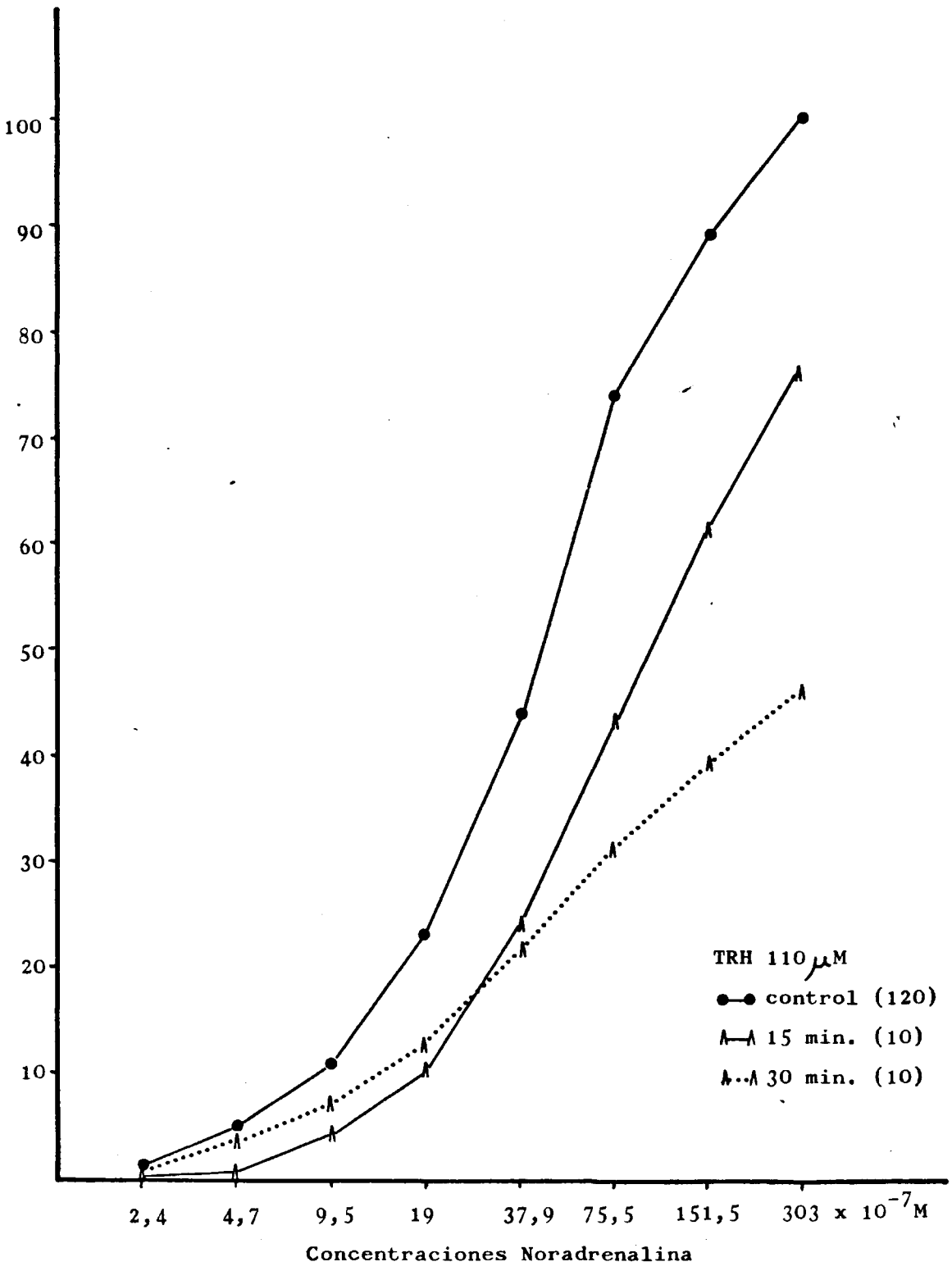
La observación de que al aumentar la concentración de este factor hipotalámico no se producía una mayor potenciación, nos indujo a estudiar concentraciones más elevadas, pensando que tuviera un efecto antagonista frente a la noradrenalina. De hecho, los imipramínicos exhiben este efecto bifásico.

A continuación describimos los resultados obtenidos a las concentraciones superiores por nosotros empleadas (55 y 110 μ M), en los dos tiempos de incubación escogidos.

Estas concentraciones producen, contrariamente, un desplazamiento a la derecha de la curva dosis efecto del agonista (Gráficas 4 y 5). A ambas concentraciones de T.R.H. se observa que



GRAFICA 4



GRAFICA 5

a los 30 minutos de incubación, el efecto sobre las concentraciones más pequeñas de noradrenalina ($2,4$ a 19×10^{-7} M) es menor, que a los 15 minutos. Lo contrario ocurre a las concentraciones más elevadas.

El análisis estadístico de los valores obtenidos viene recogido en las Tablas I y II. Como puede observarse, las diferencias en relación a la curva control son en algunos puntos altamente significativo.

En relación a la maximal, esta inhibición fue muy manifiesta, ($P < 0,001$) para ambas concentraciones.

Las medias de los valores particulares obtenidos, su error standard y su significación estadística en los experimentos hasta ahora comentados, vienen recogidos en las Tablas I y II.

Teniendo en cuenta que la mayor potenciación o inhibición del efecto de la noradre-

nalina, se obtuvo incubando la T.R.H. durante 30 minutos, nos indujo a realizar un estudio estadístico comparativo de las respuestas obtenidas en ambos tiempos: 15 y 30 minutos. Los resultados obtenidos vienen recogidos en la Tabla III. Como puede observarse a las concentraciones de T.R.H. de 7; 14 y 27,5 μ M, existen diferencias altamente significativas ($P < 0,001$) en las respuestas obtenidas con las concentraciones inferiores del agonista. Sin embargo, a las concentraciones del agonista más elevadas, las diferencias no son, en general, estadísticamente significativas (Tabla III).

Por el contrario, a las concentraciones de T.R.H. más elevadas aunque también se observa un mayor efecto a los 30 minutos, el estudio estadístico comparativo de las respuestas a estos tiempos, nos demostró que las diferencias son, en general, más significativas a las concentraciones más elevadas del agonista. La Tabla III recoge este aspecto de forma conjunta.

TABLA III

ANALISIS ESTADISTICO COMPARATIVO DEL EFECTO PRODUCIDO POR LA I.R.H. (TIEMPOS DE INCUBACION 15 y 30 minutos)
 SOBRE LA RESPUESTA DE LA NORADRENALINA EN EL CONDUCTO DEFERENTE AISLADO DE RATA

CONCENTRACION DROGA μ M	N	CONCENTRACIONES NORADRENALINA x 10^{-7} M							
		2,4	4,7	9,5	19	37,9	75,5	151,5	303
I.R.H. 7	20	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,01	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
I.R.H. 14	20	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,005	P < 0,005	N.S.	N.S.	N.S.
I.R.H. 27,5	20	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,01	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
I.R.H. 55	20	P < 0,02	P < 0,005	P < 0,05	P < 0,02	N.S.	N.S.	P < 0,001	P < 0,001
I.R.H. 110	20	N.S.	P < 0,005	P < 0,01	N.S.	N.S.	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,001

Para expresar de forma global los resultados hasta ahora expuestos, determinamos las DE_{50} de todas las curvas dosis efecto de noradrenalina obtenidas antes y después de la adición de la T.R.H.. Las medias de este parámetro farmacológico, así como, su significación estadística vienen recogidas en la Tabla IV. Como puede observarse las concentraciones más pequeñas de T.R.H. (7; 14 y 27,5 μ M) disminuyen las DE_{50} de noradrenalina. Por el contrario, a las concentraciones más elevadas, (55 y 110 μ M), la DE_{50} de noradrenalina aumenta considerablemente. En ambos casos, la variación de este parámetro alcanzó valores altamente significativos.

TABLA IV

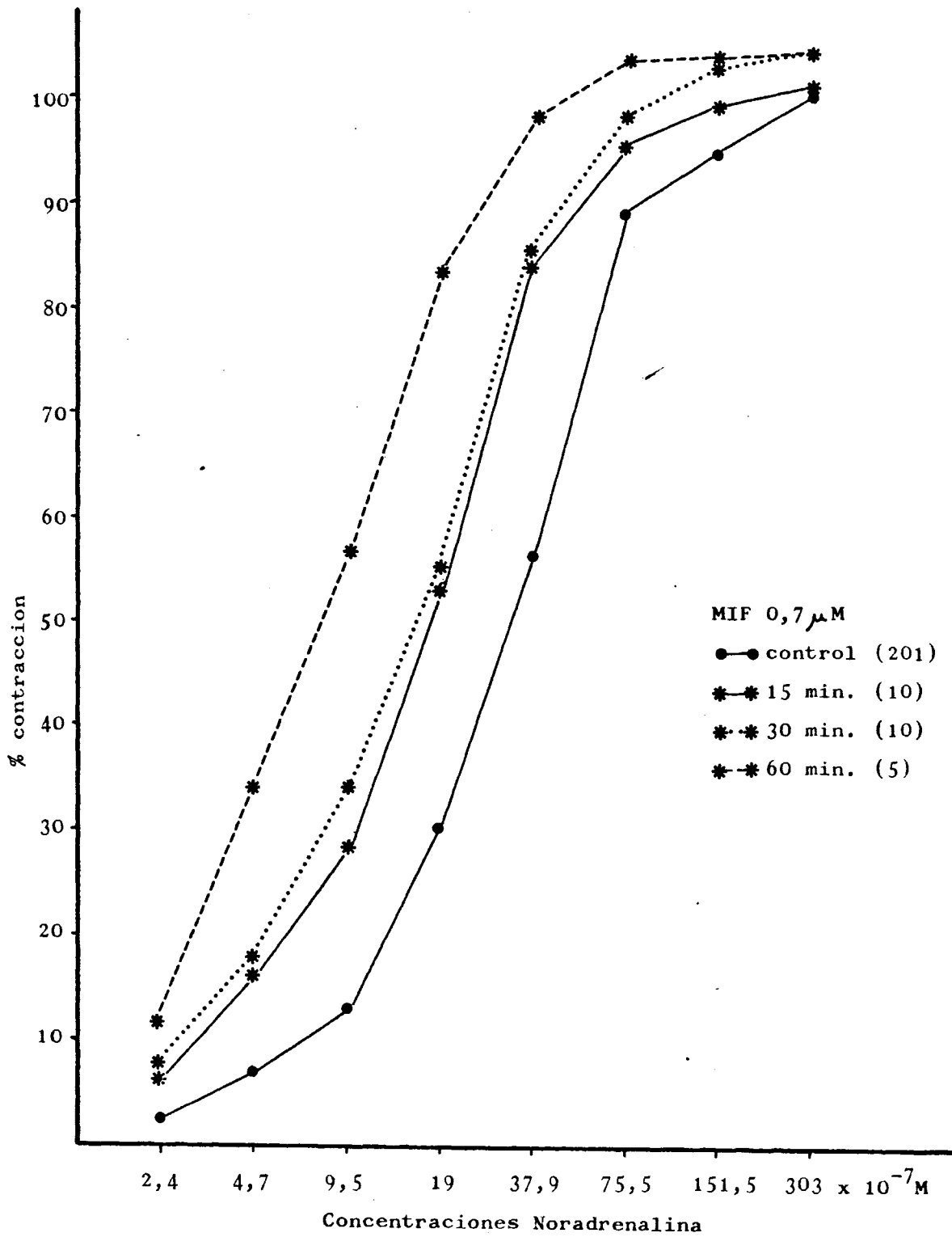
N	T.R.H. CONCENTRACION μ M	DE ₅₀ DE NORADRENALINA x 10 ⁻⁷ M $\bar{X} \pm \epsilon$			
		15 min.	P	30 min.	P
120	CONTROL	45,36 \pm 1,36			
10	3,5	51,20 \pm 4,94	N.S.	39,94 \pm 3,84	N.S.
10	7	27,92 \pm 3,28	<0,001	14,47 \pm 1,73	<0,001
10	14	29,35 \pm 4,02	<0,001	13,96 \pm 1,52	<0,001
10	27,5	32,44 \pm 3,25	<0,001	21,81 \pm 3,15	<0,001
10	55	66,21 \pm 3,69	<0,001	91,21 \pm 12,15	<0,001
10	110	109,90 \pm 10,75	<0,001	249,16 \pm 18,17	<0,001

B.- INFLUENCIA DEL M.I.F. SOBRE LA RESPUESTA DE
LA NORADRENALINA EN EL CONDUCTO DEFERENTE
AISLADO DE RATA

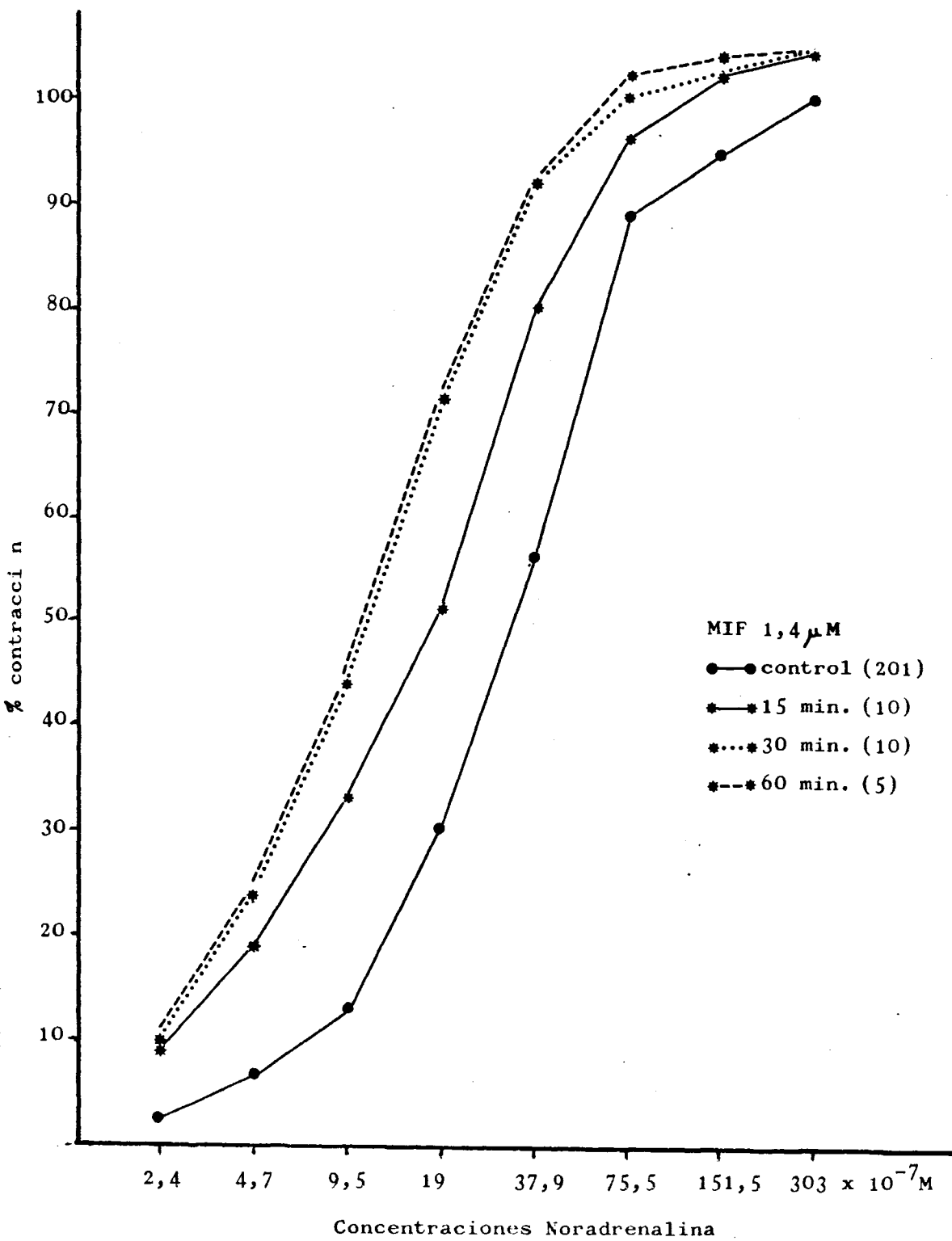
El estudio del factor hipotalámico M.I.F., se realizó de forma similar al de la T.R.H.. Los resultados vienen expresados en relación a las diferentes concentraciones y tiempos de incubación escogidos.

A las concentraciones de: 0,7; 1,4; 3,5; 7; 14 y 27,5 μ M y en todos los tiempos de incubación investigados, el M.I.F. potencia de forma manifiesta el efecto estimulante de la noradrenalina, en el reactivo biológico empleado (Gráficas 6 a 11), alcanzando valores estadísticamente significativos en relación a la curva control (Tablas V, VI y VII).

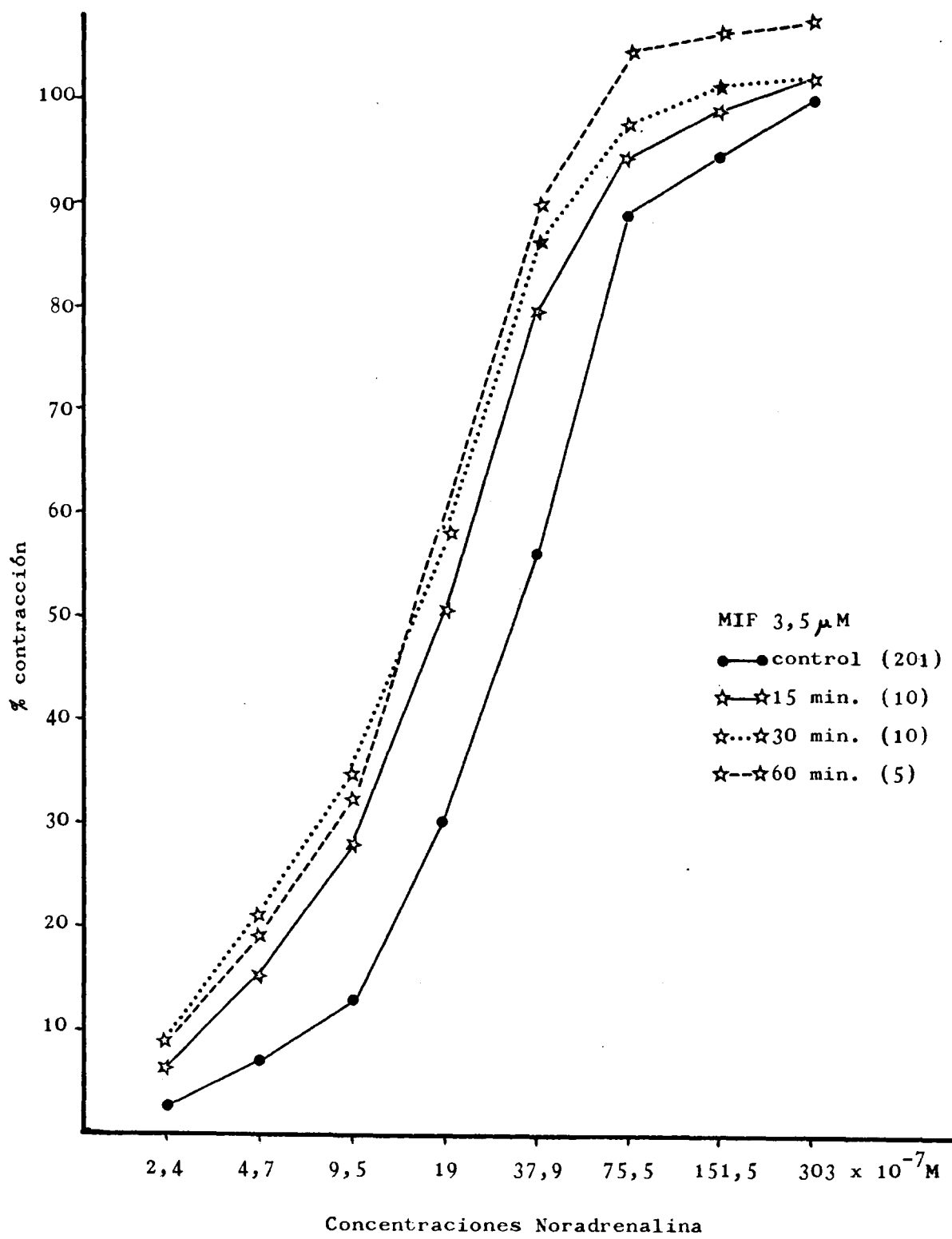
Sin embargo, a concentraciones de 55 y 110 μ M y en los mismos tiempos de incubación, el M.I.F. inhibe de forma muy manifiesta la respuesta del agonista observandose un des-



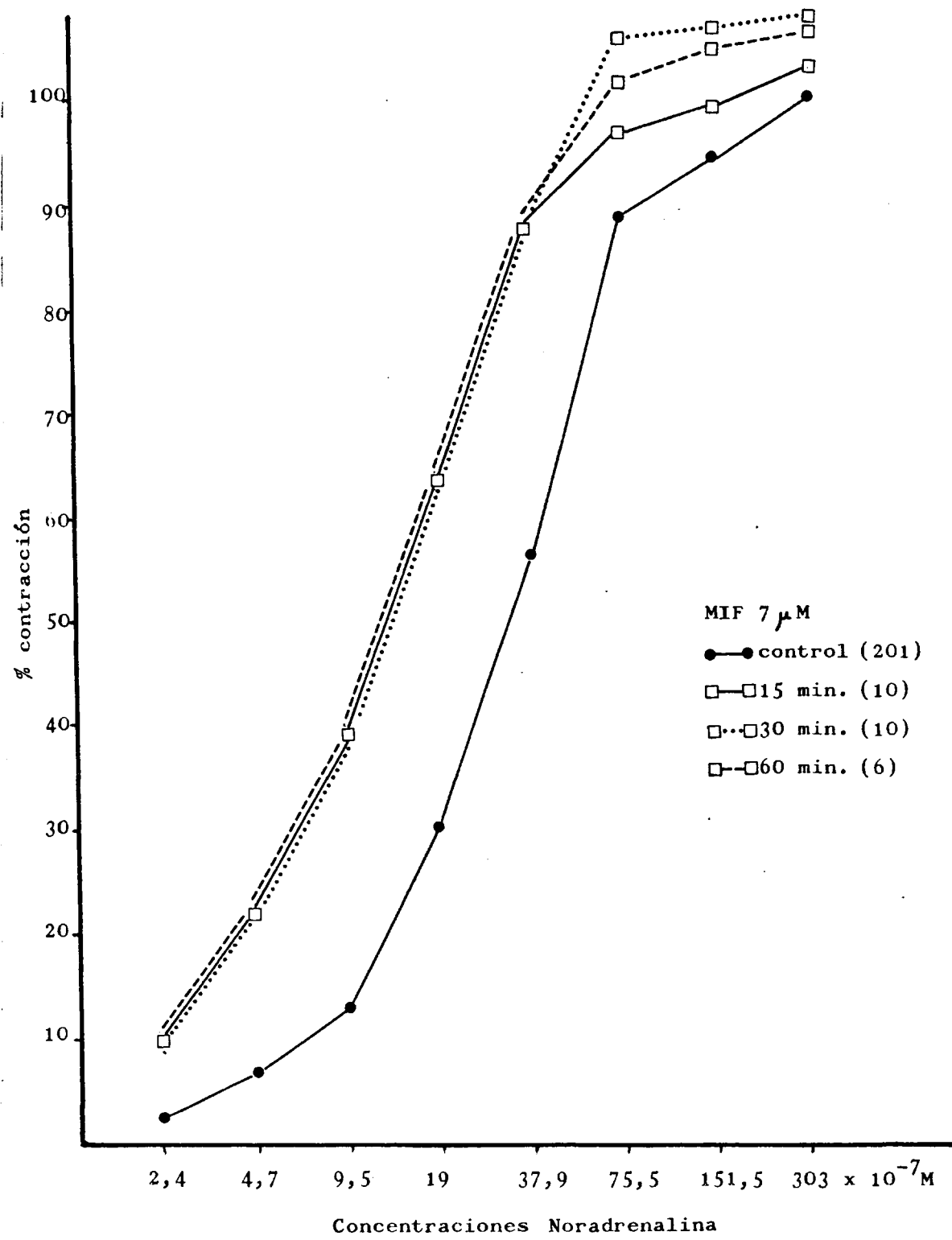
GRAFICA 6



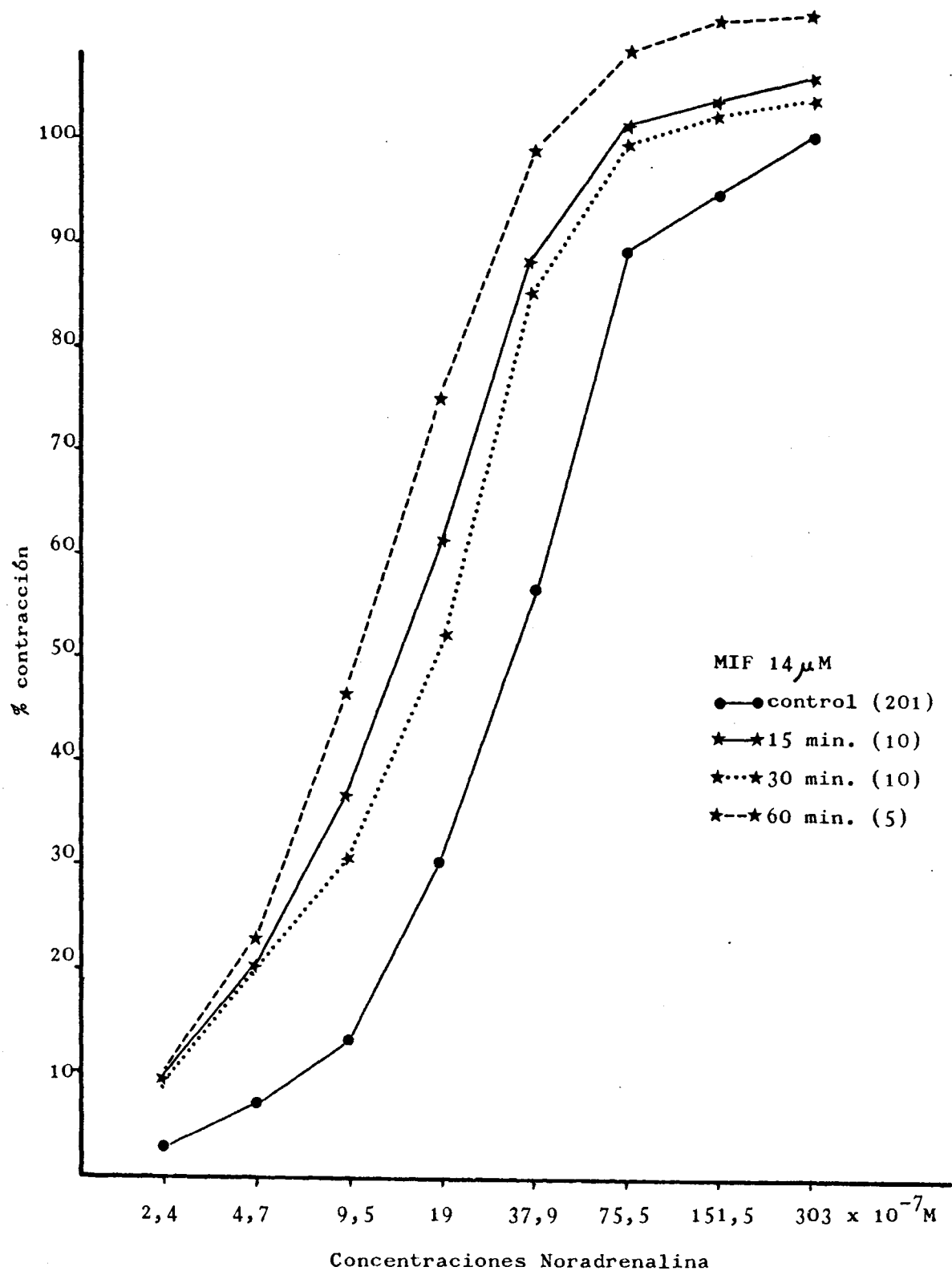
GRAFICA 7



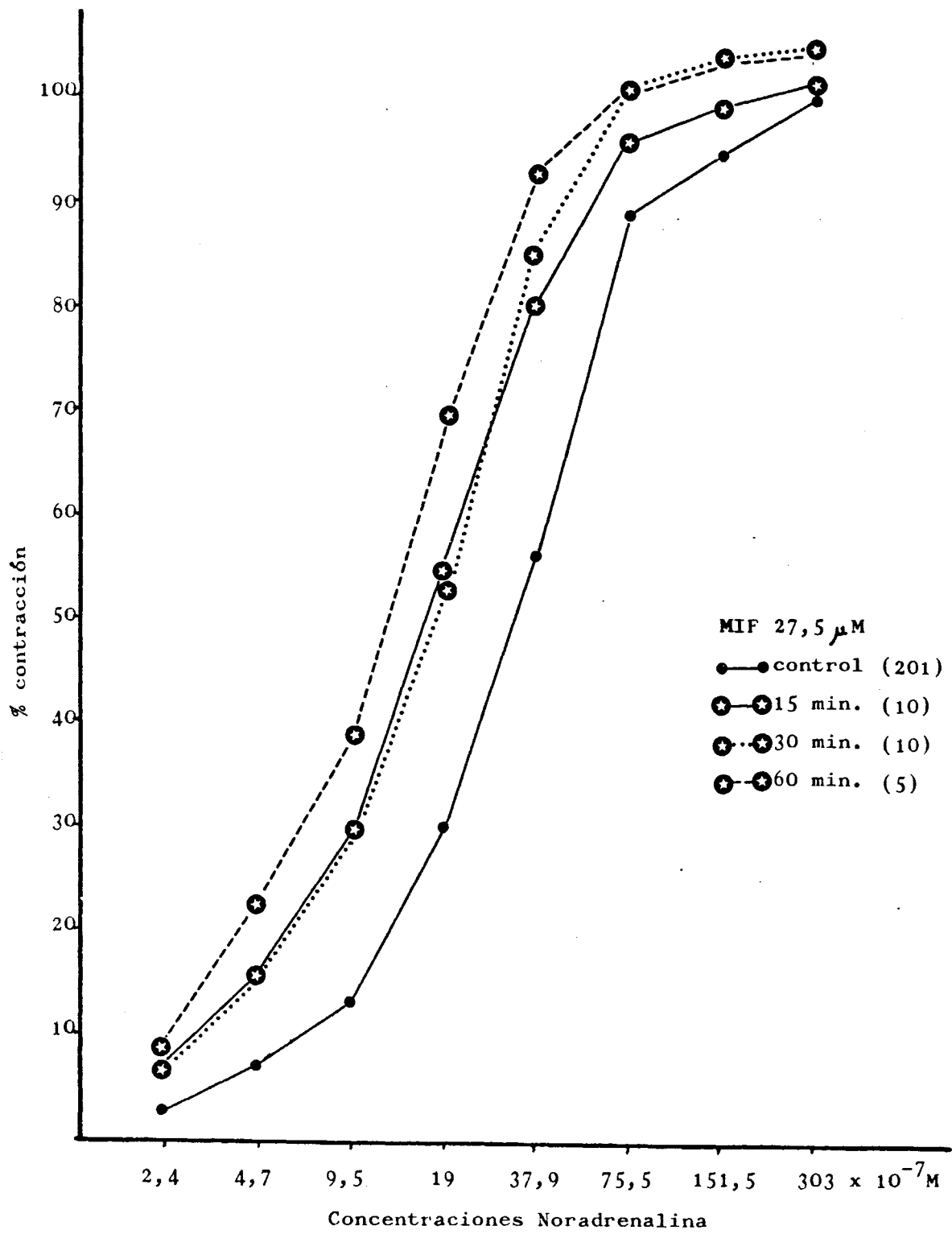
GRAFICA 8



GRAFICA 9



GRAFICA 10



GRAFICA 11

TABLA V

INFLUENCIA DEL M.I.F. SOBRE LA RESPUESTA DE LA NORADRENALINA EN EL CONDUCTO DEFERENTE AISLADO DE RATA

CONCENTRACION DROGA μ M I. INCUBACION 15 min.	N	% CONTRACCION MAXIMAL							
		CONCENTRACIONES NORADRENALINA $\times 10^{-7}$ M							
		2,4	4,7	9,5	19	37,9	75,5	151,5	303
CONTROL	201	2,69 \pm 0,03	7,00 \pm 0,84	13,34 \pm 0,18	30,30 \pm 0,22	56,48 \pm 0,31	88,72 \pm 0,26	94,47 \pm 0,17	100
M.I.F. 0,7	10	6,98 \pm 0,53	15,98 \pm 1,18	28,19 \pm 1,94	53,36 \pm 1,85	83,94 \pm 3,55	95,19 \pm 1,86	98,35 \pm 2,27	100,90 \pm 2,44
M.I.F. 1,4	10	8,94 \pm 1,19	18,86 \pm 2,74	33,60 \pm 4,34	51,49 \pm 6,66	80,20 \pm 5,40	96,54 \pm 2,54	102,51 \pm 1,31	104,73 \pm 1,8 ..
M.I.F. 3,5	10	6,95 \pm 0,46	15,83 \pm 1,52	28,06 \pm 2,55	51,28 \pm 3,03	80,63 \pm 3,41	96,93 \pm 0,90	99,61 \pm 1,20	102,17 \pm 1,41
M.I.F. 7	10	10,32 \pm 0,83	22,85 \pm 1,44	39,11 \pm 1,86	64,63 \pm 2,81	88,92 \pm 3,05	96,68 \pm 1,75	100,22 \pm 1,51	102,66 \pm 1,16 ..
M.I.F. 14	10	9,11 \pm 0,66	20,38 \pm 1,88	37,33 \pm 3,60	61,04 \pm 4,92	88,38 \pm 3,74	101,53 \pm 0,96 ..	103,99 \pm 0,94	106,35 \pm 1,02
M.I.F. 27,5	10	7,08 \pm 0,57	15,84 \pm 1,15	29,24 \pm 2,63	55,17 \pm 3,97	81,71 \pm 4,78	97,53 \pm 2,16	99,01 \pm 2,37	101,70 \pm 2,20
M.I.F. 55	10	1,68 \pm 0,26	4,52 \pm 0,30	8,01 \pm 0,51	18,16 \pm 1,49	31,11 \pm 1,82	46,70 \pm 3,53	55,07 \pm 3,60	61,47 \pm 3,94
M.I.F. 110	10	2,50 \pm 0,36	4,99 \pm 0,73	8,58 \pm 1,45	14,57 \pm 1,76	22,69 \pm 2,22	35,00 \pm 4,07	43,03 \pm 4,03	49,73 \pm 4,32

• P < 0,05 •• P < 0,025 ••• P < 0,01 •••• P < 0,001

TABLA VI

INFLUENCIA DEL M.I.F. SOBRE LA RESPUESTA DE LA NORADRENALINA EN EL CONDUCTO DEFERENTE AISLADO DE RATA

CONCENTRACION DROGA μ M I. INCUBACION 30 min.	N	% CONTRACCION MAXIMAL							
		CONCENTRACIONES NORADRENALINA $\times 10^{-7}$ M							
		2,4	4,7	9,5	19	37,9	75,5	151,5	303
CONTROL	201	2,69 \pm 0,03	7,00 \pm 0,84	13,34 \pm 0,18	30,30 \pm 0,22	56,48 \pm 0,31	88,72 \pm 0,26	94,47 \pm 0,17	100
M.I.F. 0,7	10	8,09 \pm 0,88 •••••	17,88 \pm 1,79 •••••	34,60 \pm 2,91 •••••	55,49 \pm 3,52 •••••	85,50 \pm 3,44 •••••	98,64 \pm 1,52 •••••	102,86 \pm 1,78 •••••	104,66 \pm 1,72 •••••
M.I.F. 1,4	10	9,79 \pm 1,12 •••••	23,90 \pm 2,05 •••••	44,06 \pm 3,43 •••••	71,54 \pm 4,83 •••••	91,80 \pm 3,28 •••••	101,60 \pm 0,87 •••••	102,73 \pm 0,98 •••••	104,03 \pm 0,93 •••••
M.I.F. 3,5	10	8,87 \pm 0,74 •••••	20,82 \pm 1,98 •••••	33,86 \pm 2,72 •••••	58,62 \pm 3,18 •••••	86,44 \pm 2,73 •••••	97,76 \pm 1,47 •••••	101,50 \pm 1,54 •••••	102,50 \pm 1,30
M.I.F. 7	10	10,22 \pm 0,91 •••••	22,38 \pm 1,85 •••••	37,70 \pm 3,19 •••••	63,56 \pm 5,40 •••••	88,34 \pm 4,83 •••••	105,55 \pm 2,27 •••••	106,45 \pm 1,88 •••••	107,28 \pm 1,70 •••••
M.I.F. 14	10	9,67 \pm 1,14 •••••	20,76 \pm 2,64 •••••	30,77 \pm 3,21 •••••	52,13 \pm 4,45 •••••	84,87 \pm 3,08 •••••	98,98 \pm 1,83 •••••	102,15 \pm 1,67 •••••	104,46 \pm 1,65 •••••
M.I.F. 27,5	10	7,80 \pm 0,55 •••••	15,92 \pm 1,42 •••••	28,60 \pm 2,90 •••••	52,58 \pm 3,98 •••••	85,24 \pm 3,53 •••••	100,83 \pm 1,96 •••••	103,85 \pm 1,45 •••••	105,37 \pm 1,40 •••••
M.I.F. 55	10	1,59 \pm 0,25 •••••	3,51 \pm 0,52 •••••	7,09 \pm 0,73 •••••	14,08 \pm 1,40 •••••	29,15 \pm 3,60 •••••	44,34 \pm 4,91 •••••	54,27 \pm 4,89 •••••	63,88 \pm 4,94 •••••
M.I.F. 110	10	1,10 \pm 0,19 •••••	3,21 \pm 0,27 •••••	6,15 \pm 0,54 •••••	12,90 \pm 1,15 •••••	22,28 \pm 1,71 •••••	32,63 \pm 2,11 •••••	41,80 \pm 3,18 •••••	48,18 \pm 3,24 •••••

• P < 0,05 •• P < 0,025 ••• P < 0,01 •••• P < 0,001

TABLA VII

INFLUENCIA DEL M.I.F. SOBRE LA RESPUESTA DE LA NORADRENALINA EN EL CONDUCTO DEFERENTE AISLADO DE RATA

CONCENTRACION DROGA μM T. INCUBACION 60 min.	N	% CONTRACCION MAXIMAL							
		CONCENTRACIONES NORADRENALINA $\times 10^{-7}$ M							
		2,4	4,7	9,5	19	37,9	75,5	151,5	303
CONTROL	201	2,69 \pm 0,03	7,00 \pm 0,84	13,34 \pm 0,18	30,30 \pm 0,22	56,48 \pm 0,31	88,72 \pm 0,26	94,47 \pm 0,17	100
M.I.F. 0,7	5	12,30 \pm 1,54 •••••	34,14 \pm 0,66 •••••	57,03 \pm 5,30 •••••	83,53 \pm 7,87 •••••	98,45 \pm 3,94 •••••	102,98 \pm 3,20 •••••	103,20 \pm 3,30 •••••	103,85 \pm 3,16
M.I.F. 1,4	5	10,93 \pm 1,66 •••••	24,23 \pm 3,82 •••••	43,48 \pm 7,38 •••••	72,80 \pm 9,75 •••••	92,86 \pm 8,78 •••••	102,85 \pm 2,63 •••••	103,95 \pm 2,06 •••••	104,30 \pm 1,93 •
M.I.F. 3,5	5	9,30 \pm 0,62 •••••	19,31 \pm 2,59 •••••	31,76 \pm 3,66 •	57,45 \pm 5,49 •••••	89,84 \pm 5,99 •••••	104,45 \pm 2,55 •••••	104,99 \pm 3,14 •••••	107,00 \pm 2,15 •••••
M.I.F. 7	6	11,82 \pm 2,60 •••••	23,40 \pm 5,76 •••••	39,34 \pm 8,64 •	64,14 \pm 10,1 •••••	88,50 \pm 8,70 •••••	101,43 \pm 4,60 •••••	104,24 \pm 3,93 •••••	106,00 \pm 3,17
M.I.F. 14	5	8,69 \pm 1,37 •••••	24,40 \pm 3,28 •••••	46,60 \pm 7,02 •••••	75,27 \pm 8,00 •••••	98,64 \pm 3,73 •••••	108,82 \pm 2,47 •••••	111,00 \pm 2,69 •••••	111,36 \pm 2,68 •••••
M.I.F. 27,5	5	8,79 \pm 0,66 •••••	23,06 \pm 2,17 •••••	39,76 \pm 3,41 •••••	69,68 \pm 3,64 •••••	93,60 \pm 1,00 •••••	99,32 \pm 0,92 •••••	102,67 \pm 1,13 •••••	103,38 \pm 1,28 •••••
M.I.F. 55	5	1,00 \pm 0,38 •••••	3,40 \pm 0,89 •••••	6,54 \pm 1,29 •	13,20 \pm 2,82 •••••	23,76 \pm 4,17 •••••	34,62 \pm 4,65 •••••	40,28 \pm 4,69 •••••	47,77 \pm 3,82 •••••
M.I.F. 110	5	0,51 \pm 0,21 •••••	2,49 \pm 0,58 •••••	5,16 \pm 0,93 •••••	10,91 \pm 1,67 •••••	20,21 \pm 2,90 •••••	30,38 \pm 4,39 •••••	35,91 \pm 5,56 •••••	40,20 \pm 5,97 •••••

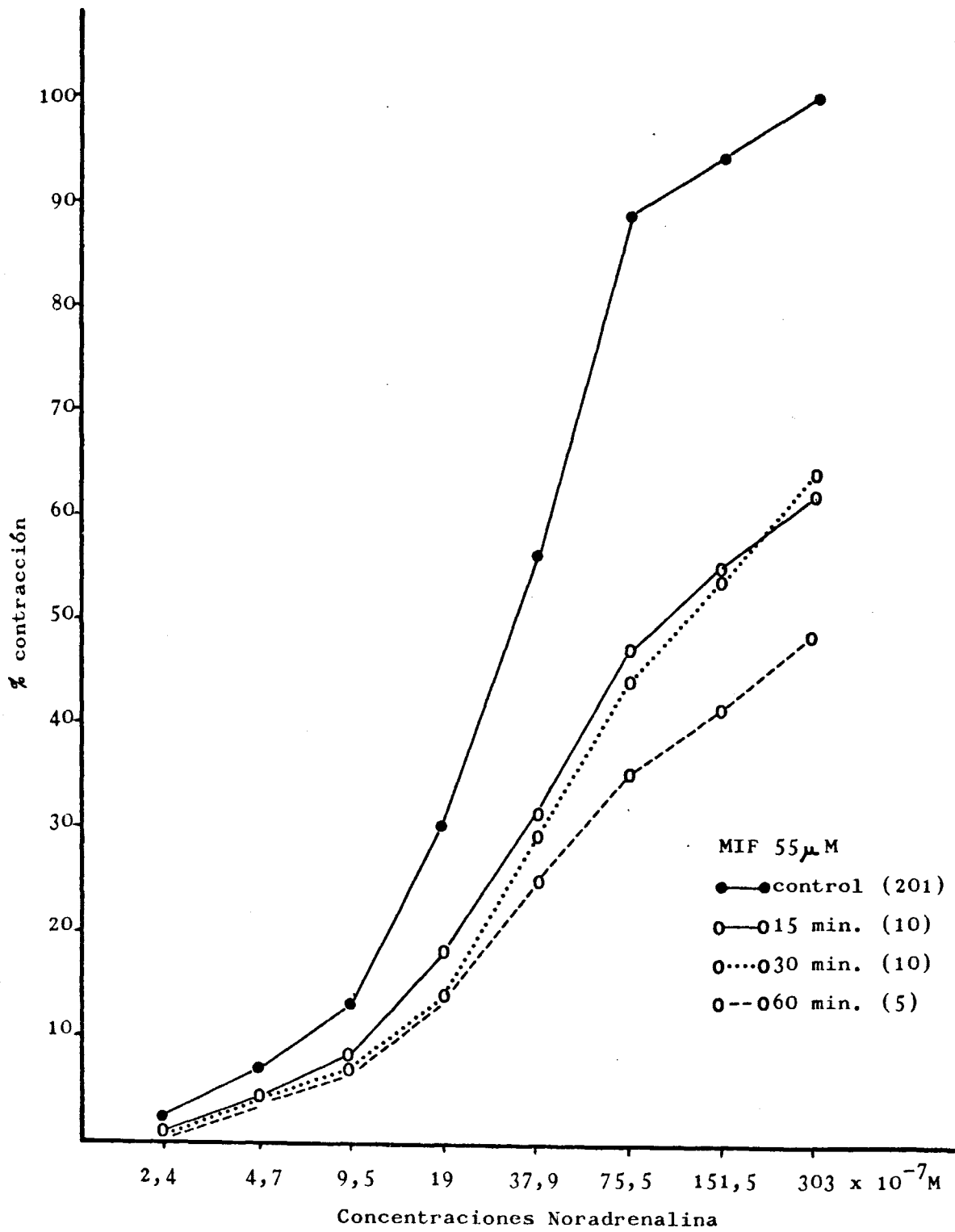
• P < 0,05 •• P < 0,025 ••• P < 0,01 •••• P < 0,001

plazamiento hacia la derecha de la curva dosis efecto (Gráficas 12 y 13). El análisis estadístico nos mostró unas diferencias significativas en todos los valores a los 15; 30 y 60 minutos de incubación (Tablas V, VI y VII).

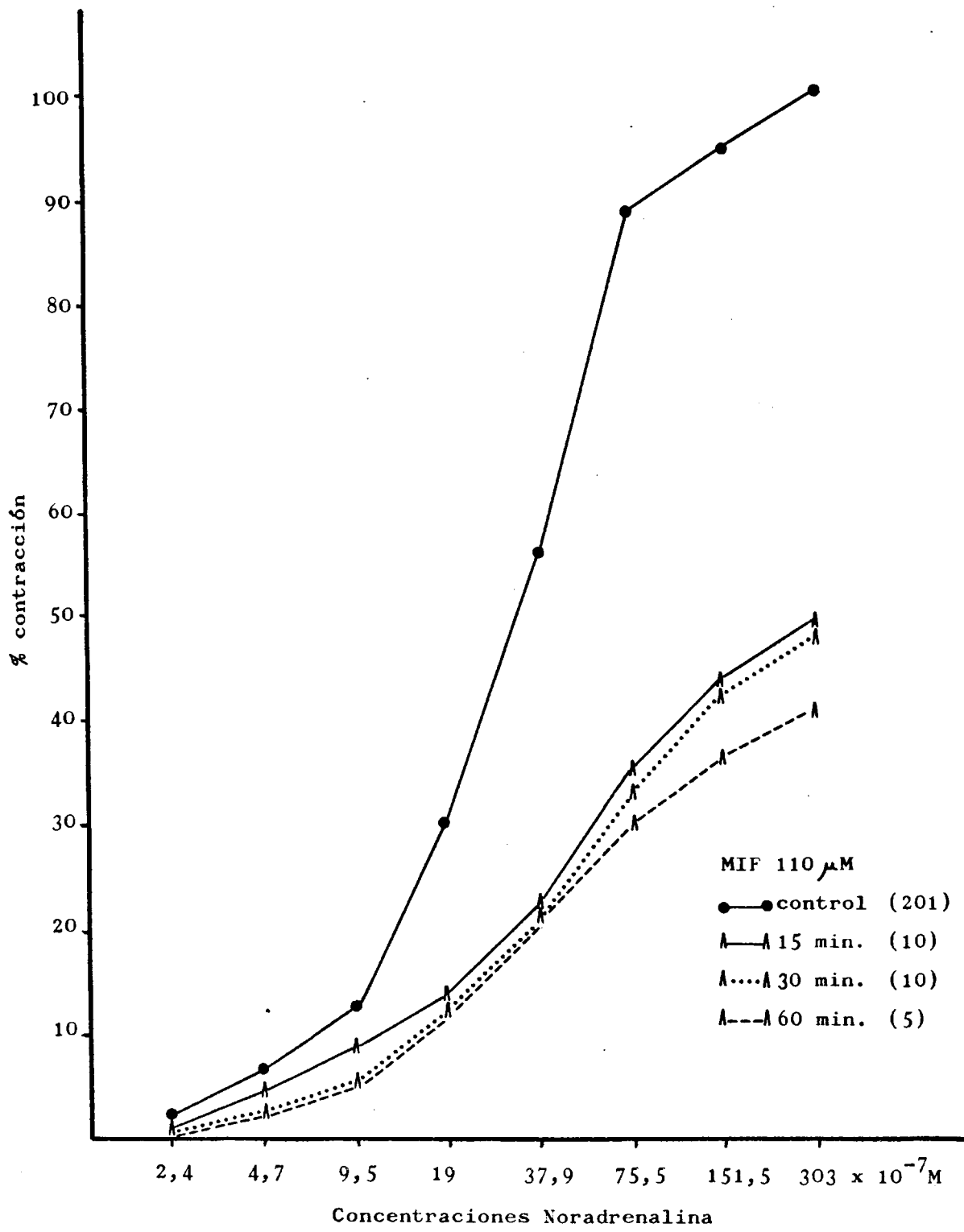
En relación a la respuesta maximal del agonista consideramos importante señalar que a diferencia de la T.R.H., el M.I.F. potencia esta respuesta de forma significativa según se desprende de las Tablas V, VI y VII.

Con el fin de determinar si la potenciación de las respuestas de la noradrenalina determinadas por el M.I.F. eran entre ellas significativas a los diferentes tiempos de incubación, llevamos a cabo un estudio estadístico comparativo que viene recogido en las tablas VIII, IX y X.

Como puede observarse existe diferencia significativa en algunos valores, pero, de forma dispersa, por lo que no se puede afirmar



GRAFICA 12



GRAFICA 13

de forma concluyente que la potenciación o inhibición observada tenga relación con el tiempo de incubación. Este aspecto diferencia al M.I.F. de la T.R.H..

Finalmente, y al igual que con la T.R.H., para expresar de forma global los resultados hasta ahora expuestos, determinamos las DE_{50} de todas las curvas dosis efecto de noradrenalina obtenidas antes y después de la adicción de la T.R.H.. Las medias de este parámetro farmacológico, así como, su significación estadística vienen recogidas en la Tabla XI. Como puede observarse las concentraciones más pequeñas de M.I.F. disminuyen las DE_{50} de noradrenalina. Por el contrario, a las concentraciones más elevadas, la DE_{50} de noradrenalina aumenta considerablemente. En ambos casos, la variación de este parámetro alcanzó valores altamente significativos.

En conclusión, podemos afirmar que el M.I.F. se comporta en líneas generales de for-

TABLA XI

M.I.F. CONCENTRACION μ M		DE ₅₀ DE NORADRENALINA x 10 ⁻⁷ M $\bar{x} \pm \epsilon$							
CONTROL	201	34,40 \pm 0,27							
	N	15 min.	P	N	30 min.	P	N	60 min.	P
0,7	10	20,22 \pm 1,94	<0,001	10	15,03 \pm 0,93	<0,001	5	9,24 \pm 1,92	<0,001
1,4	10	19,39 \pm 3,66	<0,001	10	14,12 \pm 1,62	<0,001	5	13,74 \pm 3,89	<0,001
3,5	10	19,42 \pm 1,76	<0,001	10	17,12 \pm 1,78	<0,001	5	16,16 \pm 2,31	<0,001
7	10	14,34 \pm 0,68	<0,001	10	15,75 \pm 1,67	<0,001	6	17,17 \pm 4,50	<0,001
14	10	15,33 \pm 1,86	<0,001	10	18,23 \pm 2,68	<0,001	5	11,88 \pm 2,37	<0,001
27,5	10	18,62 \pm 1,72	<0,001	10	18,87 \pm 1,68	<0,001	5	12,68 \pm 1,12	<0,001
55	10	139,55 \pm 24,54	<0,001	10	124,57 \pm 26,09	<0,001	5	232,66 \pm 46,42	<0,001
110	10	197,74 \pm 30,76	<0,001	10	247,42 \pm 25,77	<0,001	5	251,54 \pm 33,89	<0,001

ma similar a la T.R.H.. En efecto, a pequeñas concentraciones se desplaza la curva dosis efecto de noradrenalina hacia la izquierda mientras que a concentraciones más elevadas el desplazamiento es hacia la derecha. Este efecto bifásico es, pues, comparable al descrito anteriormente para la T.R.H. aunque el M.I.F. resulta activo a concentraciones más pequeñas.

C.- INFLUENCIA DE LA T.R.H. Y DEL M.I.F. SOBRE
LA ACTIVIDAD MAO EN EL CONDUCTO DEFERENTE
AISLADO DE RATA.

Los resultados obtenidos con la T.R.H. y el M.I.F. en el estudio realizado sobre la actividad monoaminooxidasa en el conducto deferente de rata, vienen recogidos en la Tabla XII. Los valores vienen expresados en μ M/gramo de tejido/hora de 4-hidroxiquinolina (4 OHQ) formada.

El calculo estadístico se realizó determinando la "t" de STUDENT. Los valores obtenidos tras la adición de los factores hipotalámicos estudiados al homogeneizado de tejido (conducto deferente derecho de rata), se compararon con los obtenidos en el otro conducto deferente del mismo animal (control).

Como puede observarse (Tabla XII), las medias de los valores de la 4 OHQ formada tras la administración de los factores hipotalámicos estudiados, no presentan diferencias estadísticas

TABLA XII

INFLUENCIA DE LA T.R.H. y M.I.F. SOBRE LA ACTIVIDAD MAO EN EL CONDUCTO DEFERENTE AISLADO DE RATAS NO TRATADAS

LOTE N°	N° ANIMALES	M/g/h de 4 OH Quinolina $\bar{x} \pm \epsilon$	DROGA CONCENTRACION	M/g/h de 4 OH Quinolina $\bar{x} \pm \epsilon$	P
1	9	0,4817 \pm 0,04	T.R.H. 0,7 . 10 ⁻⁵ M	0,4573 \pm 0,07	N.S.
2	10	0,5023 \pm 0,06	T.R.H. 1,4 . 10 ⁻⁵ M	0,5114 \pm 0,06	
3	8	0,4512 \pm 0,06	T.R.H. 2,7 . 10 ⁻⁵ M	0,4262 \pm 0,07	
4	6	0,3957 \pm 0,05	T.R.H. 5,5 . 10 ⁻⁴ M	0,3803 \pm 0,04	
5	6	0,3735 \pm 0,04	T.R.H. 1,1 . 10 ⁻⁴ M	0,3772 \pm 0,05	
6	9	0,3657 \pm 0,04	M.I.F. 1 . 10 ⁻³ M	0,3454 \pm 0,06	

mente significativas en relación a las medias de los valores controles.

Podemos pues concluir que en nuestras condiciones experimentales, tanto la T.R.H. como el M.I.F. no presentan actividad inhibidora del sistema enzimático monoaminooxidasa. Así pues, el efecto potenciador de la noradrenalina observado en el estudio biológico llevado a cabo con ambos factores hipotalámicos no se debe a la inhibición de la MAO.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Del estudio teórico y experimental realizado se derivan las siguientes conclusiones:

1.- Independientemente de sus acciones endocrinas (liberación de TSH, prolactina, etc), la T.R.H. posee un perfil psicofarmacológico peculiar que no permite encuadrarlo dentro de ningún grupo de psicofármacos actualmente conocidos. En efecto, de forma similar a los imipramínicos posee acción manifiesta frente a la hipotermia inducida por oxotremorina y al igual que las fenilisopropilamina ejerce un efecto estimulante y una actividad antihipnótica.

2.- Desde un punto de vista bioquímico aumenta específicamente la concentración de 3-metoxi-4-hidroxifeniletilenglicol (MOPEG) no solo en el cerebro total sino también en diversas áreas estudiadas en la rata. A diferencia de otras drogas (anfetamina, cocaína, IMAO e imipramínicos) la T.R.H. no inhibe, a nivel cere

bral, el "uptake" de Noradrenalina-³H, u otras aminas biógenas.

3.- Clínicamente su eficacia como antidepresivo no ha sido totalmente confirmada por todos los autores, existiendo discrepancias en sus resultados terapéuticos.

4.- Utilizando como reactivo biológico el conducto deferente aislado de rata, potencia o disminuye la respuesta estimulante de la noradrenalina en dependencia con la concentración empleada. A pequeñas concentraciones del orden de: 7, 14 y 27,5 μ M, se observa un incremento de la respuesta del agonista, mientras que a concentraciones más elevadas (55 y 110 μ M) se obtiene una respuesta menor.

5.- Este efecto bifásico es más patente a los 30 minutos que a los 15 minutos de incubación. No obstante, a ambos tiempos se obtienen diferencias estadísticamente significativa en relación a los controles.

6.- A las concentraciones potenciadoras, la respuesta maximal del preparado no difiere estadísticamente de la obtenida durante el periodo control, es decir, antes de la adición de la T.R.H..

7.- Trás 60 minutos de incubación, la T.R.H. no modifica de forma estadísticamente significativa la respuesta de la noradrenalina en el reactivo biológico empleado.

8.- El efecto potenciador de la noradrenalina, no se debe al bloqueo del proceso de recaptación de catecolaminas, ni a la inhibición de la MAO, por lo que no resulta ilógico pensar que es consecuente a un aumento de sensibilidad de los receptores adrenérgicos.

9.- En el aspecto por nosotros estudiado, el M.I.F. se comporta en líneas generales de forma similar a la T.R.H.. A concentraciones pequeñas (0,7; 1,4; 3,5; 7; 14 y 27,5 μ M) desplaza la curva dosis efecto de la noradrenali

na hacia la izquierda mientras que, a concentraciones más elevadas (55 y 110 μ M) produce un efecto contrario.

10.- Con este factor hipotalámico el tiempo de incubación no influye de forma significativa. En efecto, las respuestas de la noradrenalina obtenidas con las concentraciones áctivas de M.I.F. y a los distintos tiempos de incubación estudiados, (15, 30 y 60 minutos) no difieren entre sí de forma estadísticamente significativa, pero, alcanzan un alto grado de significación en relación a las respuestas del período control.

11.- A diferencia de la T.R.H., el M.I.F. resulta más áctivo y potencia la respuesta maximal del preparado a determinadas concentraciones.

12.- En nuestras condiciones experimentales el efecto potenciador de la noradrenalina no se debe a la inhibición de la MAO. Posiblemente,

al igual que con la T.R.H., se debe a un aumen
to de sensibilidad de los receptores, mecanis
mo de difícil demostración, aunque plausible
en el estado actual de nuestros conocimientos.

13.- Finalmente, no podemos afirmar si la dis
cutida acción antidepresiva de los factores
hipotalámicos estudiados se deben a la poten-
ciación de mecanismos adrenérgicos centrales.
Resultados obtenidos por otros autores apoyan
esta forma de pensar, por otra parte, congruen
te con la hipótesis catecolamínica de la depre
sión, pero la extrapolación de nuestros hallazg
os a nivel central resultaría aventurada y ca
rente de rigor científico. Nuestra Tesis Doc-
toral constituye una aportación inédita y so-
lo pretende contribuir al conocimiento de la
T.R.H. y el M.I.F.. El correr de los años en-
juiciará su trascendencia.

B I B L I O G R A F I A

BIBLIOGRAFIA

ALMQVIST, S., y KARLERBERG, B.: Thyrotropinfri
sättande hormon, TRH, fysiologiska och kliniska
effekter. Läkartidningen, 69: 1755-1760, 1972.

ANDERSON, M.S.; BOWERS, C.Y.; KASTIN, A.J.;
SCHALCH, D.S.; SCHALLY, A.V.; SNYDER, P.J.;
UTIGER, R.D.; WILBERT, J.F., y WISE, A.J.: Syn
thetic thyrotropin-releasing hormone. New Engl.
J.med., 2: 279-1283, 1971.

BARBEAU, A.: Potentiation of levodopa effect by
intravenous L-Prolyl-L-Leucyl-Glycine amide in
man. Lancet, II: 683-684, 1975.

BASSIRI, R.M., y UTIGER, R.D.: Serum inactiva-
tion of the immunological and biological acti-
vity of Thyrotropin-Releasing Hormone (TRH).
Endocrinology, 91: 657-664, 1972.

BASSIRI, R.M., y UTIGER, R.D.: Metabolism and
excretion of exogenous Thyrotropin-releasing

Hormone in humans. J. clin. Invest., 52: 1616-1619, 1973.

BENKERT, O.; MARTSCHKE, D., y GORDON, A.: Comparison of T.R.H., L.H.-R.H., and placebo in depression. Lancet, II: 1146, 1974a.

BENKERT, O.; GORDON, A., y MARTSCHKE, D.: The comparison of Thyrotropin Releasing Hormone, Luteinising Hormone-Releasing Hormone and placebo in depressive patients using a double-blind cross-over technique. Psychopharmacologia, 40: 191-198, 1974b.

BOLER, J.; ENZMANN, F.; FOLKERS, K.; BOWERS, C.Y., y SCHALLY, A.V.: The identity of chemical and hormonal properties of the thyrotropin releasing hormone and pyroglutamyl-histidylprolineamide. Biochem. biophys. Res. Comm., 37: 705-710, 1969.

BORSY, J.; KIRALI, I., y BAJUSZ, S.: Behavioural and antidepressant effects of thyrotropin-

releasing hormone (TRH). J. pharmacol. (Paris),
5: supl. 2, 10, 1974.

BOWER, S.A.; HADLEY, MACE y HRUBY, V.J.: Compara
tive MSH release - inhibiting activities of toci
noic acid (the ring of oxytocin), and L-Pro-Leu-
Gly-NH₂ (the side chain of oxytocin). Biochem.
Biophys. Res. Comm. 45: 1185-1191, 1971.

BOWERS, C.Y.; REDDING, T.W., y SCHALLY, A.V.:
Effect of thyrotropin releasing factor (TRF) of
ovine, bovine, porcine and human origin on thy-
rotropin release in vitro and in vivo. Endocrin
ology, 77: 609-616, 1965.

BOWERS, C.Y.; SCHALLY, A.V.; REYNOLDS, G.A., y
HAWLEY, W.D.: Interactions of L-thyroxine or L-
triiodotyronine and thyrotropin releasing factor
on the release and synthesis of thyrotropin from
the anterior pituitary gland of mice. Endocrin
ology, 81: 741-747, 1967.

BOWERS, C.Y.; SCHALLY, A.V.; GUAL, C., y PARLOW,

A.I.: Effects of thyrotropin releasing factor in man. J. clin. Endocrinol. Metab., 28: 978-982, 1968.

BOWERS, C.Y.; SCHALLY, A.V.; SCHALCH, D.S.; GUAL, C.; KASTIN, A.J. y FOLFERS, K.: Activity and specificity of synthetic thyrotropin-releasing hormone in man. Biochem. Biophys. Res. Comm., 39: 352-355, 1970.

BOWERS, C.Y.; SCHALLY, A.V.; KASTIN, A.J.; ARIMURA, A.; SCHALCH, D.S.; GUAL, C.; CASTINEDA, E., y FOLKERS, K.: Synthetic thyrotropin-releasing hormone. Activity in men and women, specificity of action, inhibition by triiodothyronine, and activity orally. J. med. Chem., 14: 477-481, 1971a.

BOWERS, C.Y.; FRIESEN, H.G.; HWANG, P. y GUYDA, H.J.: Prolactin and thyrotropin release in man by synthetic pyroglutamyl-histidyl-proline amide. Biochem. Biophys. Res. Comm., 45: 1033-1041, 1971b.

BOWERS, C.Y.; FRIESEN, H.G., y FOLKERS, K.:

Further evidence that TRH is also a physiological regulator of prolactin secretion in man.

Biochem. Biophys. Res. Comm., 51: 512-521, 1973.

BREESE, G.R.; COTT, J.M.; COOPER, B.R.; PRANGE, Jr. A.J., y LIPTON, M.A.: Antagonism of ethanol narcosis by thyrotropin-releasing hormone. Life Sciences, 14: 1053-1063, 1974a.

BREESE, G.R.; COOPER, B.R.; PRANGE, Jr. A.J.; COTT, J.M., y LIPTON, M.A.: The thyroid axis, drug and behavior, pág. 115. Ed. PRANGE, Jr.A.J. Raven Press, Nueva York, 1974b.

BREESE, G.R.; COTT, J.M.; COOPER, B.R.; PRANGE, Jr.A.J.; LIPTON, M., y PLOTNIKOFF, N.: Effects of thyrotropin-releasing hormone (TRH) on the actions of pentobarbital and other centrally acting drugs, J. Pharmacol. Ex. Ther. 193: 12-22, 1975.

BROWN, M.R., y HEDGE, G.A.: TSH and ACTH secretion after intrapituitary injection of synthetic

TRF. *Endocrinology*, 91: 206-212, 1972.

BUNNEY, W.E., y DAVIS, J.M.: Norepinephrine in depressive reactions. *Arch. Gen. Psychiat.*, 13: 483-494, 1965.

BURGUS, R.; DUNN, T.F.; DESIDERIO, D., y GUILLEMIN, R.: Structure moléculaire du facteur hypothalamique hypophysiotrope (TRF) d'origine ovine: mise en évidence par spectrométrie de masse de la séquence PGA-His-Pro-(NH₂). *C.R. Acad. Sci.*, 269: 1870-1873, 1969a.

BURGUS, R.; DUNN, T.F.; DESIDERIO, D.; VALE, W., y GUILLEMIN, R.: Derives polipeptidiques des synthèses doués d'activité hypophysiotrope TRF. Nouvelles observations. *C. R. Acad. Sci.*, 269: 2116-2118, 1969b.

BURGUS, R.; DUNN, T.F.; DESIDERIO, D.; WARD, D.; VALE, W., y GUILLEMIN, R.: Biological activity of synthetic polipeptide derivatives related to the structure of hypothalamic

TRF. *Endocrinology*, 26: 573-581, 1970.

CASTENSSON, S.; SIEVERTSSON, H.; LINDEKE, B. y SUM, Ch. Y.: Studies of the inhibition of oxotremorine induced tremor by a melanocyte, stimulating hormone release inhibiting factor, thyrotropin releasing hormone and related peptides. *Fed. Eur. Bioch. Soc.* 44: 101-105, 1974.

CELIS, M.I.; TALEISNIK, S. y WALTER, R.: Regulation of formation and proposed structure of the factor inhibiting the release of melanocyte-stimulating hormone. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 68: 1428-1433, 1971.

COLLU, R.; CLERMONT, H.J., y DUCCHARME, J.R.: Effects of thyrotropin-releasing hormone on prolactin growth hormone and corticosterone secretions in adult male rats treated with pentobarbital or morphine. *Eu. J. Pharmacol.*, 37: 133-140, 1976.

COPPEN, A.; PEET, M.; MONTGOMERY, S., y BAILEY, J.: Thyrotropin-releasing hormone in the treat-

ment of depression. *Lancet*, II: 433-435, 1974.

COTZIAS, G.C.; VAN WOERT, M.M., y SCHIFFER, L.M..

New Engl. J. med. 276-374, (1967). Citado por
BARBEAU en: Potentiation of levodopa effect by
intravenous L-Prolyl-L-Leucyl-glicine amide in
man. *Lancet*, II: 683-684, 1975.

CUENCA, E., y VALDECASAS, F.G.: Influence of des
methylimipramine on adrenergic mechanism. *Neuro-
psychopharmacology*, 4: 209-211. Ed. D. Bente y
P.B. Bradley. Elsevier Publishing Company, Amster-
dam, 1965.

CUENCA, E.: Mechanism of action of tricyclic anti-
depressants. *Pharmacol. Biochem. Basis Int. J. Neu-
rology*, 10: 46-52, 1975.

CHOPRA, I.J., y SOLOMON, D.H.: Hyperthyroidism
induced by thyrotropin-releasing hormone in mice.
Endocrinology, 92: 1731-1735, 1973.

D'ANGELO, S.A.: *Advan. Neuroendocrinol., Proc.*

Symp. Miami, 158, 1963. Citado por GUAL, C.; KASTIN, A.J., y SCHALLY, A.V., en: Clinical experience with hypothalamic releasing hormone. Section 1: Thyrotropin-releasing hormone (TRH). Recent Progress in Hormone Research, 28: 173-200, 1972.

DENMAN, P.M.; MILLER, L.H.; SANDMAN, C.A.; SCHALLY, A.V., y KASTIN, A.J.. J.Comp. Psych., 80: 59, (1972). Citado por KASTIN, A.J.; BARBEAU, A.; EHERENSING, R.H.; PLOTNIKOFF, N.P., y SCHALLY, A.V. en: Melanocyte-stimulating hormone and the hypothalamic hormone which inhibits its release. Advan. Neurology, 5: 225-229, 1974a.

DIMITRIKOUDI, M.; HANSON-NORTY, E., y JENNER, F. A.: T.R.H. in psychosis. Lancet, I: 456, 1974.

DYSTER-AAS, H.K., y KRAKAU, C.E.T.. Acta Endocrinol., 48: 609, (1965). Citado por KASTIN, A.J.; BARBEAU, A.; EHERENSING, R.H.; PLOTNIKOFF, N.P., y SCHALLY, A.V. en: Melanocyte-stimulating hormone and the hypothalamic hormone which inhibits its release. Advan. Neurology, 5:

225-229, 1974a.

DRAYSON, A.M.: TRH in cyclical psychosis. *Lancet*, I:312, 1974.

DUPONT, A.; LABRIE, F.; PELLETIER, G., y PUVIANI, D.H.: Organ distribution of thyrotropin-releasing hormone. *Gen. Comp. Endocrinology*, 19: 522-526, 1972.

DUPONT, A.; LABRIE, F.; PELLETIER, G.; PUVIANI, D.H.; SCHALLY, A.V., y KASTIN, A.J.: Organ distribution of radioactivity after injection of H^3 L-Prolyl-L-Leucyl-Glycinamide into rat and mouse. *J. Endocrinol.*, 54: 243-248, 1975.

EHRENSING, R.H., y KASTIN, A.J.: Melanocyte-stimulating hormone release inhibiting hormone as an antidepressant. *Arch. Gen. Psychiatry*, 30: 63-65, 1974.

ENZMANN, F.; BOLER, J.; FOLKERS, K.; BOWERS, C.Y., y SCHALLY, A.V.: Structure and synthesis

of the thyrotropin-releasing hormone. J. med.

Chem. 14: 469-474, 1971.

ETKIN, W.: Hypothalamic inhibition of pars intermedia activity in the frog. Gen. Comp. Endocrinol. Supl. 1: 148-159, 1962.

ETKIN, W., y GONA, A.G.: Failure of mammalian thyrotropin-releasing factor preparation to elicit metamorphic response in tadpoles. Endocrinology, 82: 1067-1068, 1968.

EVERETT, G.M., y TOMAN, J.E.P.: Mode of action of rauwolfia alkaloids and motor activity. Biological psychiatry, 75-81. Ed. GRUNE y STRATTON, Nueva York, 1959.

EVERETT, G.M.: Antidepressant drugs. Ed. GARATTINMI; S., y DUKES, M.N.G., Amsterdam. Exert. Med. Found, 164-167, 1966.

FELL, L.R.; FINDLAY, J.K.; CUMMING, I.A. y GODING, J.R.: Effect of synthetic TRF on prolactin release

in the sheep. *Endocrinology*, 93: 487-491, 1973.

FOLKERS, K.; ENZMANN, F.; BOLER, J.; BOWERS, C.Y.;
SCHALLY, A.V.: Discovery of modification of the
synthetic tripeptide, sequence of the thyrotropin-
releasing hormone having activity. *Biochem. Bio-
phys. Res. Commun*, 37: 123-126, 1969.

FRIEDMAN, E.; FRIEDMAN, J., y GERHON, S.: Dopamine
synthesis stimulation by a hypothalamic factor.
Science, 182: 831-832, 1973.

FUENTES, I.A., y LONGO, V.G.: An investigation on
the central effects of harmine, harmaline and re-
lated B-carbolines. *Neuropharmac*, 10: 15-23, 1971.

FUKATSU, H.; SAKODA, H., y BABA, S.: Influence of
dexamethasone on TRF induced TSH release in rats.
Endocrinol. Jap., 20: 81-84, 1973.

GONZALEZ-BARCENA, D.; KASTIN, A.J.; SCHALCH, D.S.;
TORRES-ZAMORA, M.; PEREZ-PASTEU, E.; KAFO, A., y
SCHALLY, A.V.: Response to thyrotropin releasing

hormone in patients with renal failure and after infusion in normal men. J. clin. Endocrinol. Metab., 36: 117-120, 1973.

GOUJET, M.A.; SIMON, P. y BOISSIER, J.R.: La T.R.H. presente elle chez l'animal le profil d'un antidiéresseur?. J.Pharmacol. (Paris), 5 supl. 2: 39, 1974.

GREER, M.A.: Studies on the influence of the central nervous system on anterior pituitary function. Recent Progress in Hormone Research, 13: 67-104, 1957.

GUAL, C.; KASTIN, A.J. y SCHALLY, A.V.: Clinical experience with hypothalamic releasing hormones. Section 1: Thyrotropin-releasing hormone (TRH). Recent Progress in Hormone Research, 28: 173-200, 1972.

GUDIOL, T.: Acción de la hormona liberadora de la tirotropina (TRH) sobre mecanismos adrenergicos. Tesina. Barcelona, 1976.

GUILLESSEN, D.; FELIX, A.M.; JEGIER, W., y STUDER, R.O.: Synthese of "thyrotropin-releasing-hormone

(TRH) and related peptides". *Helv. Chim. Acta*,
53: 63-72, 1970.

GUILLEMIN, R.; YAMAZAKI, E.; JUSTISZ, M., y SAKIZ,
E.: Présence dans extrait de tissus hypothalamiques
d'une substance stimulant la sécrétion de l'hormon
ne hypophysaire thyroéotrope (TSH). Première puri-
fication par filtration sur gel sephadex. *Cr.*
Acad. Sci., 225: 1018-1020, 1962.

GUILLEMIN, R.: *Proc. 23 rd Int. Congr. Physiol. Sci.*,
284, (1965). Citado por GUAL, C.; KASTIN, A.J. y
SCHALLY, A.V. en: *Clinical experience with hypotham*
amic releasing hormones. Section 1: Thyrotropin-re
leasing hormones (TRH). Recent Progress in Hormone
Research, 28: 173-200, 1972.

GUILLEMIN, R.; SAKIZ, E., y WARD, D.N.: *Proc. Soc.*
Exp. Biol. Med., 118: 1132, (1965). Citado por GUAL,
C.,; KASTIN, A.J., y SCHALLY, A.V. en: *Clinical exp*
erience with hypothalamic releasing hormones. Sec
tion 1: Thyrotropin-releasing hormones (TRH). Recent
Progress in Hormone Research, 28: 173-200, 1972.

GUILLEMIN, R.; BURGUS, R.; SAKIZ, E., y WARD, D.N.: Nouvelles données sur la purification de l'hormone hypothalamique TSH-Hypophysiotrope, TRF. Cr. Acad. Sci., 262: 2278-2280, 1966.

GUILLEMIN, R.: The adenohiphysis and its hypothalamic control. Ann. Rev. Physiol., 29: 313-348, 1967.

GUILLEMIN, R.; SAKIZ, E., y WARD, D.N.: Further purification of TSH-releasing factor (TRF) from shepp hypothalamic tissues, with observations on the amino acid composition. Proc. Soc. Exp. biol. Med. 118: 1132-1137, 1969.

HALL, R.; AMOS, J.; GARRY, R., y BUXTON, R.1.: Thyroid-stimulating hormone response to synthetic thyrotrophin releasing hormone in man. Br. med. J., II: 274-277, 1970.

HALL, R.; HUNTER, P.R.; PRICE, J.S., y MOUNTJOY, C.Q.: Thyrotropyn-releasing hormone in depression. Lancet, I: 162, 1975.

HARRIS, G.W., 1965. Citado por GUAL, C.; KASTIN, A.J., y SCHALLY, A.V.: Clinical experience with hypothalamic releasing hormones. Section 1: Thyrotropin-releasing hormone (TRH). Recent Progress in Hormone Research, 28: 173-200, 1972.

HERRERA, R.; GARCIA, R.; GALIANA, J., y CUENCA, E.: Niveles séricos de T-4, colesterol y lípidos totales, en enfermas depresivas tratadas con T.R.H.. Actas II Cong. Nac. Asoc. Esp. Farmacol., 34, 1976.

HERRERO, F., y DARGHAM, J.: Tratamiento de las migrañas con T.R.H.. Münchener Medizinische Wochenschrift. Ed. en español, 910-914, 1976.

HINE, B.; SANGHVI, I., y GERSHON, S.: Evaluation of thyrotropin-releasing hormone as a potential antidepressant agent in the conscious dog. Life Sciences, 13: 1789-1797, 1973.

HOLLANDER, C.S.; MITSUMA, SHENKMAN, L.; WOLF, P., y GERSHENGORN, M.C.: Thyrotropin-releasing hormone

evidence for thyroid response to intravenous injection in man. *Science*, 175: 209-210, 1972.

HOLLISTER, L.E.; BERGER, G.; OGLER, F.L.; ARNOLD, R.C., y JOHNSON, A.: Protirelin (TRH) in depression. *Arch. Gen. Psychiatry*, 31: 468-470, 1974.

HORST, W.D., y SPIRT, N.: A possible mechanism for the antidepressant activity of thyrotropin-releasing hormone. *Life Sciences*, 15: 1073-1082, 1974.

HUIDOBRO-TORO, J.P.; SCOTTI DE CAROLIS, A., y LONGO, V.G.: Action of two hypothalamic factors (TRH, MIF) and of angiotensin II on the behavioral effects of L-DOPA and hydroxytryptophan in mice. *Pharmacol. Biochem. Behavior*. 2: 105-109, 1974.

HUIDOBRO-TORO, J.P.; SCOTTI DE CAROLIS, A., y LONGO, V.G.: Intensification of central catecholaminergic and serotonergic processes by the hypothalamic factors MIF and TRH and by angiotensin II. *Pharmacol. Biochem. Behavior*, 3: 235-242, 1975.

ISHIKAWA, H.: Study on the existence of TRH in the cerebrospinal fluid in humans. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 54: 1203-1209, 1973.

JACKSON, J.M., y REICHLIN, S.: Thyrotropin-releasing hormone (TRH): Distribution in Hypothalamic and extrahypothalamic brain tissues of mammalian and submammalian chordates. *Endocrinology*, 95: 854-862, 1974.

JACQUET, P.; CODACCIONI, J.L.; BORDARIES, P.; CHARVET, J.P.; OLIVER, Ch; AQUARON, R., y VAGUE, J.: Effects de l'administration de TRH synthétique chez le sujet normal. *Ann. Endocrinol.* 33: 305-316, 1972.

KASTIN, A.J., y SCHALLY, A.V.: MSH activity in pituitaries of rat treated with hypothalamic extracts. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 7: 432-456, 1966.

KASTIN, A.J.; SCHALLY, A.V., y VIOSCA, S.: Inhibition of MSH release in frogs by direct applica

tion of L-prolyl-leucyl-glicinamide to the pituitary. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 137: 1437-1439, 1971.

KASTIN, A.J.; EHRENSING, R.H.; SCHALCH, D.S., y ANDERSON, M.S.: Improvement in mental depression with decreased thyrotropin response after administration of thyrotropin releasing hormone. Lancet, II, 740-742, 1972.

KASTIN, A.J.; y BARBEAU, A.: Preliminary clinical studies with L-Prolyl-L-leucil-glicine-amide in parkinson's disease. Can. Med. As., 107: 1079-1081, 1972.

KASTIN, A.J.; BARBEAU, A.; EHERENSING, R.H.; PLOTNIKOFF, N.P., y SCHALLY, A.V.: Melanocyte-stimulating hormone and hypothalamic hormone which inhibits its release. Advan. Neurology., 5: 225-229, 1974a.

KASTIN, A.J.; NISSEN, Ch.; REDDING, T.W.; NAIR, R.M., y SCHALLY, A.V.: Delayed disappearance of

"C-labeled-Pro-Leu-Gly-NH₂" from the blood of hypophysectomized rats. *Neuroendocrinology*, 16: 36-42, 1974b.

KELLER, H.H.; BARTHOLINI, G., y PLETSCHER, A.: Enhancement of cerebral noradrenaline turnover by thurotrophin releasing hormone. *Nature*, 248: 528-529, 1974.

KIELHOLZ, P.: Etats dépressifs. Symp. International, St. Moritz, 10-11 enero. Ed. HUBER, H. y STUTTGART, B., 11-12, 1972.

KNIGE, K.M. y SCOTT, D.E. Structure and funtion of the median eminence. *Ann. J. Anat.*, 129: 224-244, 1970.

KRAJL, M.: "A rapid microfluorimetric determination of monoamine oxidase". *Biochem. Pharmacol.*, 14: 1684-1686, 1965.

KRUSE, H., y SCHACHT, U.: TRH-chlorpromazine in teraction. *J. Pharmacol.*, (Paris), 5 supl., 2,

53, 1974.

LAPORTE, J.; JANE, F., y VALDECASAS, F.G.: Some aspects of the rat and guinea-pig isolated vas deferens preparations. *Med. Pharmacol. Exp.* 15: 483-490, 1966.

LEACH, G.D.H.: Estimulation of drug antagonism on the isolated guinea pig vas deferens. *J. Pharmacol.*, 8: 501-503, 1956.

LEPPÄLUOTO, L.; VIRKKUNEN, P., y LYBECK, H.: Elimination of TRH in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 35: 477-478, 1972.

LÖGFREN, F.: The infundibular recess, a component in the hypothalamo-adenohypophyseal system. *Acta morph. Neerl. Scand.*, 3: 55-78, 1960.

LONGO, V.G.; HUIDOBRO-TORO, J.P., y SCOTTI DE CAROLIS, A.: Intensification of central catecholaminergic and serotonergic processes by the hypothalamic factors MIF and TRH. *J. Pharmacol.*

(Paris), 5 supl., 1, 86, 1974.

MARTIN, J.B.; RENAUD, L.P., y BRAZEAU, P.: Hypothalamic peptides: New evidence for "peptidergic" pathways in the CNS. *Lancet*, II: 393-395, 1975.

MATCALF, C.: TRH: A possible mediator of thermoregulation. *Nature*, 252: 310-311, 1974.

MATUSEK, N.: Etats dépressifs. Symp. International, St. Moritz, 10-11 enero. Ed. HUBER, H., y STUTTGART, B., 13-27, 1972.

Mc CAUL, J.A.; CASSELL, K.J., y STERN, G.M.: Intravenous thyrotropin-releasing hormone in parkinson's disease. *Lancet*, I: 735, 1974.

MITTLER, J.C.; REDDING, T.W., y SCHALLY, A.V.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 130-405, (1969). Cita do por GUAL, C.; KASTIN, A.J., y SCHALLY, A.V. en: Clinical experience with hypothalamic releasing hormones. Sección 1: Thyrotropin-releasing hormone (TRH). *Recent Progress in Hormone Research*,

28: 173-200, 1972.

Mc KELVY, J.: Brain Res., 65: 489, (1974). Citado
do por MARTIN, J.B.; RENAUD, L.P., y BRAZEAU,
P.: Hypothalamic peptides: New evidence for
"peptidergic" pathways in the CNS. Lancet, II:
393-395, 1975.

MOUNTJOY, C.; WELLER, H.; HALL, R.; PRICE, J.S.;
HUNTER, P., y DEWARD, J.H.: A double-blind crosso
ver sequential trial of oral thyrotropin releasing
hormone in depression. Lancet, I : 958-960,
1974a.

MOUNJOY, C., y HALL, R.: Thyrotropin-releasing
hormone in depression. Lancet, II: 415, 1974b.

MULLER, E.E.; PECILE, A.; FELICI, M., y COCHI,
D.. Endocrinology, 86: 1376, (1970). Citado por
FRIEDMAN, E.; FRIEDMAN, J., y GERSHON, S., en:
Dopamine synthesis: Stimulation by a hypothalamic
factor. Science, 182: 831-832, 1973.

MURTHY, G.G., y MODESTO, R.R.: Effects of luteinizing hormone releasing hormone and thyrotropin releasing hormone on rabbit adipose tissue. J. Endocrinol., 62: 639-643, 1974.

NAIR, R.M.; REDDING, T.W., y SCHALLY, A.V.: Site of inactivation of thyrotropin-releasing hormone by human plasma. Biochemistry, 10: 3621-3622, 1971a.

NAIR, R.M.; KASTIN, A.J., y SCHALLY, A.V.: Isolation and structure of hypothalamic MSH release inhibiting hormone. Biochem. Biophys. Res. Comm., 43: 1376-1381, 1971b.

NAIR, R.M.; REDDING, T.W.; KASTIN, A.J., y SCHALLY, A.V.: Site of inactivation of MSH-release inhibiting hormone by human plasma. Biochem. Pharmacol. 22: 1915-1919, 1973.

NORDWIG, A., y MAYER, H.: The cleavage of prolyl peptides by kidney peptidase. Physiol. Chem. 345: 380-383, 1973.

OBIOLS, J.; PUJOL, J.; GONZALEZ, E.; FERRER, J.,
y SARRO, B.: Experiencia clínica con TRH en en-
fermos depresivos. Medicina Clínica, 62: 110-
116, 1974a.

OBIOLS, J.; PUJOL, J.; GONZALEZ, E., y BALLUS,
C.: Estudio de la acción del TRH en los estados
depresivos a lo largo de 8 meses de experiencia
por via endovenosa y oral. Münchener Medizinische
Wochenschrift. Ed. en español, 1123-1132, 1974b.

OLIVER, C.; ESKAY, R.L.; MICAL, R.S., y PORTER,
J.C.: Radioimmunoassay for TRH and its determi-
nation in hypophysial portal and peripheral plas-
ma of rats. Amer. Thy. Assoc., 49: 12-15, Sep.,
1973.

OLIVER, C.; TAUROG, A., y PORTER, J.C.: Physio-
logie de la secretion de la TRH. Nouv. Presse
Med., 31: 1941-1944, 1974a.

OLIVER, C.; CHARVET, J.P.; CODACCIONI, J.L.; y
VAGUE, J.: TRH levels in humans cerebrospinal

fluid, plasma and urine. Europ. Thy. Assoc. Praga
25-28, 1974b.

OLIVER, C.; CHARVET, J.P.; CODACCIONI, J.L.; VAGUE,
J., y PORTER, J.C.: TRH in human C.S.F. Lancet, I:
873, 1974c.

OLIVER, C.; SIMON, M.C.; TAUROG, A., y PORTER, J.
C.: Thyrotropin releasing hormone (TRH) in rat and
amphibian brain. J. Pharmacol (Paris), 5: supl.
2, 73, 1974d.

ORMSTON, B.J.; KILBORN, J.R.; GARRY, R.; AMOS, J.,
y HALL, R.: Further observations on the effect of
synthetic thyrotropin releasing hormone in man.
Br. Med. J., II: 199-202, 1971a.

ORMSTON, B.J.; GARRY, R.; CRYER, R.I.; BESSER, G.
M., y HALL, R.: Thyrotrophin-releasing hormone as
a thyroid-function test. Lancet, II: 10-14, 1971b.

OVERAL, J.E. y HOLLISTER, L.E. Archs. Gen. Psy-
chiat. 16: 146, (1967), citado por WILSON, I.C.;

LARA, P.P., y PRANGE, A.J. Jr.: Thyrotrophin-releasing hormone in schizophrenia. *Lancet* II, 43-44, 1973.

PIVA, F., y STEINER, H.: Bioassay and toxicology of TRH. *Front. Hormone Res.* I: 11-21, 1972.

PELLETIER, G.; LABRIE, J.; KASTIN, A.J.; COY, D., y SCHALLY, A.V.: Radiautographic localization radioactivity in rat brain after intraventricular or intracardiac injection of H³ L-Prolyl-L-Leucyl-Glycinamide. *Pharmacol. Biochem. Behavior*, 3: 675-679, 1975.

PLOTNIKOFF, N.P.; KASTIN, A.J.; ANDERSON, M.S., y SCHALLY, A.V.: Dopa potentiation by a hypothalamic factor, MSH release inhibiting hormone (MIF). *Life Sciences*, 10: 1279-1283, 1971.

PLOTNIKOFF, N.P.; PRANGE, Jr. A.J.; BRESSE, G. R.; ANDERSON, M.S., y WILSON, I.C.: Thyrotropin releasing hormone: Enhancement of dopa activity by a hypothalamic hormone. *Science*, 176; 417-418,

1972a.

PLOTNIKOFF, N.P.; KASTIN, A.J.; ANDERSON, M.S.,
y SCHALLY, A.V.: Oxotremorine antagonism by a
hypothalamic hormone, melanocyte, stimulating
hormone release-inhibiting factor (MIF). *Procc.
Soc. Exp. Biol. Med.*, 140: 811-814, 1972b.

PLOTNIKOFF, N.P.; PRANGE, Jr. A.J.; BREESE, G.
R.; ANDERSON, M.S., y WILSON, I.C.: Enhacement
of DOPA activity in normal intact, hypofisecto
mized and thyroidectomized animals. *Psychophar
macol., Bull.*, 3: 27, 1973a.

PLOTNIKOFF, N.P.; KASTIN, A.J.; ANDERSON, M.S.,
y SCHALLY, A.V.: Deserpidine antagonism by a tri
peptide, L-prolyl-L-leucyl-Glycinamida. *Neuroen
docrinology*, 11: 67-71, 1973b.

PLOTNIKOFF, N.P., y KASTIN, A.J.: Pharmacologi
cal studies with a tripeptide, prolyl-leucyl-
glycine amide. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 2: 211-
244, 1974.

PRANGE, A.J., y WILSON, I.C.: Thyrotropin-releasing hormone (TRH) for the immediate relief of depression: A preliminary report. Psychopharmacol., Supl., 26: 82, 1972.

PRANGE, Jr. A.J.; LARA, P.P.; WILSON, I.C.; ALLTOP, L.P. y BREESE, G.R.: Effects of thyrotropin-releasing hormone in depression. Lancet, II, 999-1002, 1972.

PRANGE, Jr. A.J.; BREESE, G.R.; COTT, J.M.; MARTIN, B.R.; COOPER, B.R.; WILSON, I.C., y PLOTNIKOFF, N.P.: Thyrotropin-releasing hormone: antagonism of pentobarbital in rodents. Life Sciences, 14: 447-455, 1974.

PORTER, J.C.; KAMBERI, J.A., y GRAZIA, Y.R.. Frontiers in Neuroendocrinology. Ed. MARTINI, L., y GANONG, W.F., 145, (1970). Citado por FRIEDMAN, E.; FRIEDMAN, J., y GERSHON, S., en: Dopamine synthesis stimulation by a hypothalamic factor. Science, 182: 831-832, 1973.

FÜHRINGER, W.; WIRZ-JUSTICE, A., y HOLE, G.:
TRH response as screening for specific antidepressant therapy. *Lancet*, I: 1344-1345, 1975.

REDDING, T.W., y SCHALLY, A.V.: On the half-life of thyrotropin releasing hormone in rats. *Neuroendocrinology*, 9: 250-256, 1972.

REDDING, T.W.; KASTIN, A.J.; NAIR, R.M.G., y SCHALLY, A.V.: Distribution half-life and excretion of ^{14}C and labeled L-Prolyl-L-Leucyl-Glycinamide in the rat. *Neuroendocrinology*, 11: 92-100, 1973.

REDDING, T.W.; KASTIN, A.J.; GONZALEZ-BARCENA, D.; COY, D.M.; MIROTSU, Y.; RUELAS, I., y SCHALLY, A.V.: The disappearance excretion and metabolism of tritiated Prolyl-L-Leucyl-Glycinamide in man. *Neuroendocrinology*, 15: 119-126, 1974.

REICHLIN, S. *New Engl. J. Med.* 269: 1182, (1963), citado por GUAL, C.; KASTIN, A.J., y SCHALLY, A.

V.: Clinical experience with hypothalamic-releasing hormones. Section I: Thyrotropin-releasing hormone (TRH). Recent. Progress in Hormone Research 28: 173-200, 1972.

REICHLIN, S., y MITNICK, H.: Biosynthesis of hypothalamic hypophysiotropic factors. Frontiers in Neuroendocrinology. ed. por GANONG, W.F. y MARTINI, Nueva York, 61-88, 1973.

REIGLE, T.G.; AVNI, J.; PLATZ, P.A. SCHILDKRAUT, J.J., y PLOTNIKOFF, N.P.: Norepinephrine metabolism in the rat brain following. Acute and chronic administration of thyrotropin releasing hormone. Psychopharmacology, 37: 1-6, 1974.

RETIENE, K.; HOLZ, H.; MÜLLER, A.; GUTHOFF, R.; EWERS, H.J.; BARTELT, K.M.; ALTHOFF, P., y GRABS, V.: Further experimental and clinical findings during long-term administration of synthetic TRH. Acta Endocrinol., Supl. 159: 4, 1972.

RETIENE, K.; SCHULZ, F., y MÜLLER, A.: Posibili

dades de utilización de la thyreotropin-releasing
hormon (TRH). Med. Klin. ed. en español, 160:
55-62, 1974.

ROOT, A.W.; SNYDER, P.J.; REZVANI, I.; DIGEORGE,
A.M., y UTIGER, R.D.: Inhibition of thyrotropin-
releasing hormone-mediated secretion of thyrotro-
pin by human growth hormone. J. clin. Endocrinol.
Metab., 36: 103-107, 1973.

SAITO, S.; NISHI, K.; YAMAMOTO, T.; TOMIE, S., y
SHIBUSAWA, K. Ist. Asia-Oceania Reg. Congr. En-
docrinol., Kyoto, 1-4, (1959), citado por GUILLEMIN,
R., en: Hypothalamic factors releasing pituitary
hormones. Recent Progress in Hormone Research, 20:
89-121, 1972.

SANDLER, M.; GODDWIN, B.L.; LEASK, B.E.S.; y
RUTHREN, C.R.: Melanocyte stimulating hormone and
parkinsonism: the role of hypothalamic releasing
factors. Lancet, I: 512, 1973.

SANDMAN, C.; DENMAN, P.M.; MILLER, L.H.; KNOTT,

J.R.; SCHALLY, A.V., y KASTIN, A.J.. *Physiol. Behav.*, 6: 45, (1971). Citado por KASTIN, A.J.; BARBEAU, A.; EHERENSING, R.H.; PLOTNIKOFF, N. P., y SCHALLY, A.V. en: Melanocyte-stimulating hormone and the hypothalamic hormone which inhibits its release. *Advan. Neurology*, 5: 225-229, 1974a.

SCHALLY, A.V., y KASTIN, A.J.: Purification of a bovine hypothalamic factor which elevates pituitary MSH levels in rats. *Endocrinology*, 79: 768-772, 1966.

SCHALLY, A.V.; BOWERS, C.Y., y REDDING, T.W.: Presence of thyrotropic hormone-releasing factor (TRF) in porcine hypothalamus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 121: 718-722, 1966a.

SCHALLY, A.V.; BOWERS, C.Y., y REDDING, T.W.: Purification of thyrotropic hormone-releasing factor from bovine hypothalamus. *Endocrinology*, 78: 726-732, 1966b.

SCHALLY, A.V.; BOWERS, C.Y.; REDDING, T.W., y
BARRET, J.I.: Isolation of thyrotropin relea-
sing factor (TRF) from porcine hypothalamus.
Biochem. Biophys. Res. Comm., 25: 165-169,
1966c.

SCHALLY, A.V., y REDDING, T.W.: In vitro studies
with thyrotropin releasing factor. Proc. Soc.
Exp. Biol. Med., 126: 320-325, 1967.

SCHALLY, A.V.; MULLER, E.E.; ARIMURA, A.; BOWERS,
C.Y.; SAITO, T.; REDDING, T.W.; SAWANO, S., y
PIZZOLATO, P.: Releasing factors in human hypo-
thalamic and neurohypophysial extracts. J. clin.
Endocrinol. Metab., 27: 755-767, 1967.

SCHALLY, A.V.; ARIMURA, A.; BOWERS, C.Y.; KASTIN,
A.J.; SAWANO, S., y REDDING, T.W.: Hypothalamic
neurohormones regulating anterior pituitary fun-
tion. Recent Progress Hormone Research, 24:
497-588, 1968.

SCHALLY, A.V.; REDDING, T.W.; BOWERS, C.Y., y

BARRET, J.F.: Isolation and properties of porcine thyrotropin-releasing hormone. J. Biol. Chem., 244: 4077-4081, 1969.

SCHALLY, A.V.; ARIMURA, A.; BOWERS, C.Y.;
WAKABAYASHI, I.; KASTIN, A.J.; REDDING, T.W.;
MITTLER, J.C.; NAIR, R.M.; PIZZOLATO, P., y
SEGAL, A.J.: Purification of hypothalamic releasing hormones of human origin. J. clin. Endocrinol. Metab., 31: 291-300, 1970.

SCHILDKRAUT, J.J.: The catecholamine hypothesis of affective disorders. A review of supporting evidence. Am. J. Psychiat., 122: 509-522, 1965.

SCHILDKRAUT, J.J.; DAVIS, J.M., y KLERMAN, G.L.:
Biochemistry of depressions. Psychopharmacol.,
1957-1967, 1968.

SHIBUSAWA, K.; YAMAMOTO, T.; NICHI, K.; ABE, C.,
y TOMIE, S.. Endocrinol. Jap., 6: 31-38, (1959).
Citado por GUILLEMIN, R. en: Hypothalamic factors releasing pituitary hormones. Recent Progress in

Hormone Research, XX: 89-121, 1972.

SHUSTER, S.; THODY, A.J.; GOOLAMALI, S.K.; BURTON, J.L.; PLUMMER, N., y BATES, D.: Melanocyte-stimulating hormone and Parkinsonism. Lancet, I: 463-464, 1973.

SIGG, E.B.: Neuropharmacologic assessment of Tofranil (Imipramine), a new antidepressant agent. Fedn. Proc. Fedn. Am. Socs. Exp. Biol., 18: 144, 1959.

SIMON, P.; GOUJET, M.A., y BOISSIER, J.R.: T.R.H. psychopharmacological effects in animals. Therapie, 30: 485-498, 1975.

SNYDER, P.J.; JACOBS, L.S.; UTIGER, R.D., y DAUGHADAY, W.H.: Thyroid hormone inhibition of the prolactin response to thyrotropin-releasing hormone. J. clin. Investig., 52: 2324-2329, 1973.

SPAULDING, S.W.; BURROWS, G.N.; DONABEDIAN, R., y VAN WOERT, M.: L-DOPA suppression of thyrotro-

pin-releasing hormone response in man. J. clin. Endocrinol. Metab., 35: 182-185, 1972.

STEINER, M.; ZANISI, M., y MARTINI, L.: Antiovulatory activity of the thyrotropin releasing hormone in the rat. Horm. Metab. Res., 6: 432-433, 1974.

STEVENS, V.C.; POWELL, J.E., y SPARKS, S.J.: 55 th Ann. Meet. Endocrine Soc., Chicago III, 64, (1973). Citado por STEINER, M.; ZANISI, M., y MARTINI, L. en: Antiovulatory activity of the thyrotropin releasing hormone in the rat. Horm. Metab. Res., 6: 432-433, 1974.

SULSER, F., y BASS, D.: Pharmacodinamic and biochemical considerations of the mode of action of reserpine like drugs. Psychopharmacology, 1065-1075, 1968.

TALEISNIK, S., y TOMATIS, M.E.: Melanocyte-stimulating hormone releasing and inhibiting factors in two hypothalamic extracts. Endocrinology,

81: 819-825, 1967.

TALEISNIK, S.; TOMATIS, M.E., y CELIS, M.F.: *ibid.*
10, 235, (1972). Citado por FRIEDMAN, E.; FRIEDMAN,
J., y GERSHON, S. en: Dopamine synthesis: Stim-
ulation by a hypothalamic factor. *Science*, 182:
831-832, 1973.

TAUROG, A.; OLIVER, C., y PORTER, J.C.: Metamor-
phosis in mexican axolotls treated with TSH,
TRH or LATS. *Amer. Thy. Assoc.*, 49 th Meeting,
supl. 5, (sep. 12-15), 1972.

THOREL, J.I., y ADIELSON, G.: Antidepressive e-
ffects of electroconvulsive therapy and thyro-
trophin-releasing hormone. *Lancet*, II: 43, 1973.

TIWARY, C.M.; FRIAS, J.L., y ROSENBLOOM, A.L.:
Response to thyrotrophin in depressed patients.
Lancet, I: 1086, 1972.

TORDA, C., y WOLFF, H.G.: *Am. J. Physiol.*, 168:
406, (1952). Citado por KASTIN, A.J.; BARBEAU,

A.; EHERENSING, R.H.; PLOTNIKOFF, N.P., y
SCHALLY, A.V. en: Melanocyte-stimulating hormon
ne and the hypothalamic hormone which inhibits
its release. Advan. Neurology, 5: 225-229, 1974.

TUOMISTO, J., y MANNISTO, P.: Amine uptake and
thyrotropin-releasing hormone. Lancet, I: 836,
1973.

URSILLO, R.C., y JACOBSON, J.: Potentiation of
norepinephrine in the isolated vas deferens of
the rat by some CNS stimulants and antidepressants.
J. Pharmacol. Exp. Ther., 148: 247-251, 1965.

VALE, W.; RIVIER, J., y BURGUS, R.: Synthetic
TRF (thyrotropin-releasing factor) analogues:
II. pGlu-N^{3im}Me-His-Pro-NH₂: A synthetic analoge
gue with specific activity greater than that of
TRF. Endocrinology, 8: 1485-1488, 1971.

VALE, W.; BLACKWELL, R.; GRANT, G., y GUILLEMIN,
R.: TRF and thyroid hormones on prolactin se-
cretion by rat anterior pituitary cells in vi-

tro. Endocrinology, 93: 26-33, 1973.

VAN DER VIS-MELSEN, M.J.E., y WIENER, J.D.: Im
provement in mental depression with decreased
thyrotropin response after administration of thy
rotropin response after administration of thyro
tropin-releasing hormone. Lancet, II, 1415,
1972.

VAN DER VIS-MELSEN, M.J.E., y WIENER, J.D.: Effect
of thyrotrophin-releasing hormone on serum cho
lesterol. Brit. med. J., 17: 419, 1973.

VIRKKUNEN, P.; LEPALUOTO, J., y LYBECK, H.: The
distribution of ¹²⁵I-labelled thyrotropin-relea
sing hormone. Horm. Metab. Res., 4: 506-507,
1972.

WALTER, R.: The role of enzymes in the formation
and inactivation of peptide hormones. Proc. 12 th
Europ. Peptide Symp. (North-Holland publ. Co.,
Elsevier, Nueva York), 1973.

WEISSBACH, H.; SMITH, T.E.; DALY, J.W.; WITKOP, B., y UDENFRIEND, S.: A rapid spectrophotometric assay of monoamine oxidase based on the rate of disappearance of kynuramine. *J. Biol. Chem.*, 235: 1160-1163, 1961a.

WEISSBACH, H.; LOVENBERG, W.; REDFIELD, B.G., y UDENFRIEND, S.: "In vivo" metabolism of serotonin and tryptamine: effect of monoamine oxidase inhibition. *J. Pharmacol.*, 131: 26-30, 1961b.

WILSON, I.C.; LARA, P.P., y PRANGE, Jr. A.J.: Thyrotrophin-releasing hormone in schizophrenia. *Lancet*, II: 43-44, 1973.

WINTERS, A.J.; ESKAY, R.L., y PORTER, J.C.: Concentration and distribution of TRH and LRH in the human fetal brain. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 39: 960-963, 1974.

WOODBURY, D.M.: *Pharmacol. Rev.*, 10: 257, (1958). Citado por KASTIN, A.J.; BARBEAU, A.; EHERENSING,

R.H.; PLOTNIKOFF, N.P., y SCHALLY, A.V. en: Me
lanocyte-stimulating hormone and the hypothala
mic hormone which inhibits its release. Advan.
Neurology, 5: 225-229, 1974.

WURTMAN, R.J.: Brain monoamine and endocrine
function. Neuro-Sciences Research. Program. Bull.,
9: 2, 1971.

ZARIFIAN, E.; COTTEREAU, M.J., y LOO, H.: Essai
de vérification de l'action thymoanaleptique de
la thyroestimuline (Thyrotropine releasing fac-
tor on TRF) dans les états mélancoliques. J.
Pharmacol. (Paris), 5: suppl. 2, 107, 1974.

ZELLER, V., RAMACHANDEL, G., y ZELLER, E.A.: A-
mine oxidases XXI. A rapid method for the de-
termination of the activity of monoamine oxida-
se and monoamine oxidase inhibitors. J. med.
Chem., 8:440-443, 1965.