

Received: 2007.01.25  
Accepted: 2007.06.13  
Published: 2007.07.11

## Wpływ tyreoliberyny na uwalnianie wazopresyny i oksytocyny z układu podwzgórzowo-przysadkowego w warunkach *in vivo* oraz *in vitro*

Influence of thyroliberin on vasopressin and oxytocin release from the hypothalamo-neurohypophysial system under *in vivo* and *in vitro* conditions

Joanna Ciosek

Zakład Badań Neuropeptydów, Katedra Patologii Ogólnej i Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

### Streszczenie

Tyreoliberyna (TRH) pełni w ośrodkowym układzie nerwowym rolę neuroprzekaźnika lub/i neuromodulatora zaangażowanego w różnych procesach o charakterze regulacyjnym. Celem pracy jest kompleksowe ujęcie zagadnienia wpływu tyreoliberyny na procesy uwalniania wazopresyny (AVP) i oksytocyny (OT) z układu podwzgórzowo-przysadkowego na podstawie danych literaturowych oraz badań własnych autorki. Tyreoliberyna w sposób zróżnicowany wpływa na sekrecję obu neurohormonów w zależności od stanu gospodarki wodno-elektrolitowej ustroju, u samic w okresie laktacji, w przebiegu rytmu dobowego uwalniania wazopresyny i oksytocyny, a także podczas inkubacji *in vitro* części nerwowo-pośredniej przysadki lub układów podwzgórze-część nerwowa przysadki.

Wyniki badań wskazują, że:

- TRH działa jako neuromodulator pobudzający uwalnianie OT do krwi w warunkach równowagi gospodarki wodno-elektrolitowej,
- TRH pełni w OUN funkcję neuromodulatora hamującego uwalnianie wazopresyny i oksytocyny z układu podwzgórzowo-przysadkowego podczas inkubacji *in vitro*, w warunkach pobudzenia osmotycznego, a także u samic w okresie laktacji,
- TRH hamuje uwalnianie AVP w warunkach ostrej hipowolemii wywołanej krwotokiem oraz zmienia przebieg rytmu dobowego sekrecji AVP i OT.

Można zatem przyjąć, że TRH może wchodzić w interakcje czynnościowe z mechanizmami zaangażowanymi w procesie sekrecji wazopresyny i oksytocyny, zaburzając te mechanizmy zwłaszcza w warunkach zwiększonego zapotrzebowania ustroju na oba neurohormony.

**Słowa kluczowe:** tyreoliberyna • wazopresyna • oksytocyna

### Summary

A thorough presentation of the influence of thyroliberin (TRH) on vasopressin and oxytocin release from the hypothalamo-neurohypophysial system is presented. Thyroliberin affects in different ways both neurohormone secretion in females during lactation according to the water-electrolyte metabolism in the course of the circadian rhythm of vasopressin and oxytocin release as well as during *in vitro* incubation of isolated neurointermediate lobe or hypothalamo-neurohypophysial explants.

The results showed that:

- TRH acts as a stimulator of oxytocin release into the blood by equilibrated water-electrolyte metabolism,
- TRH acts in the central nervous system as an inhibitory neuromodulator of vasopressin and oxytocin release from the hypothalamo-neurohypophysial system under *in vitro* conditions, by osmotic stimulation, as well as in females during lactation,
- TRH inhibits AVP release in acute bleeding-provoked hypovolemia and alters the circadian rhythm of vasopressin and oxytocin release.

It is assumed that this neuropeptide can interact with the mechanisms engaged in vasopressin and oxytocin release and can disturb these mechanisms, especially under conditions of augmented demand of the organism for these neurohormones.

**Key words:** thyroliberin • vasopressin • oxytocin

**Full-text PDF:** [http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol\\_61/10653.pdf](http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_61/10653.pdf)

**Word count:** 3766

**Tables:** –

**Figures:** –

**References:** 115

**Adres autorki:** prof. nadzw. dr hab. n. med. Joanna Ciosek, Zakład Badań Neuropeptydów Katedra Patologii Ogólnej i Doświadczalnej Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Narutowicza 60, 90-136 Łódź; e-mail: joannack@poczta.onet.pl

**Wykaz skrótów:** **A** – adrenalina; **AVP** – wazopresyna; **CSF** – płyn mózgowo-rdzeniowy; **DA** – dopamina; **Fos** – białko Fos; **c.v.** – do komory mózgu; **NA** – noradrenalina; **NH** – część nerwowa przysadki; **OT** – oksytocyna; **OUN** – ośrodkowy układ nerwowy; **PRL** – prolaktyna; **PVN** – jądro przykomorowe; **SCN** – jądro nadskrzyżowaniowe; **SON** – jądro nadwzrokowe; **TRH** – tyreoliberyna.

## WSTĘP

W 1969 roku Guillemin i niezależnie Schally wykazali w podwzgórzcu obecność tripeptydu, określonego biochemicznie jako amid L-pyroglutamyl-L-histydyl-L-proliny. Peptyd ten nazwano tyreoliberyną (TRH) ze względu na jego zasadniczy kierunek działania, jakim jest stymulacja uwalniania hormonu tyreotropowego (TSH) z części przedniej przysadki. TRH jest więc ważną częścią składową osi podwzgórze–przysadka–tarczyca. Badania późniejsze wykazały, że TRH pełni ponadto funkcję prolaktoliberyny; pobudza bowiem uwalnianie prolaktyny (PRL) z przysadki. Wiele danych wskazuje na udział TRH w regulacji uwalniania hormonu wzrostu, insuliny, a także takich neuroprzekazników ośrodkowego układu nerwowego (OUN), jak noradrenalina i adrenalina [3,96]. Tyreoliberyna a także gen TRH oraz produkt jego ekspresji – TRH mRNA, występują w ośrodkowym układzie nerwowym oraz w narządach i tkankach obwodowych [19]. Neuropeptyd ten, obecny w różnych strukturach mózgu, pełni funkcję neuroprzekaznika lub/i neuromodulatora różnych procesów regulacyjnych na poziomie pre- lub/i postsynaptycznym [89,90]. Wykazano wpływ tyreoliberyny na procesy termoregulacyjne ustroju, aktywność lokomotoryczną, czynność układu sercowo-naczyniowego i oddechowego, sekrecję soków trawiennych w przewodzie pokarmowym oraz regulację poziomu glikemii [3,34,35,36].

Ciała komórek nerwowych zawierających TRH, występują głównie w rejonach podwzgórzca obejmujących jądro nadskrzyżowaniowe (SCN), jądro nadwzrokowe (SON), a tak-

że obszar wokół III komory mózgu [62,103]. Zakończenia neuronów TRH-ergicznymi docierają do obszaru wyniosłości pośrodkowej, gdzie poprzez kontakty neuro-hemalne neuropeptyd ten dostaje się do krążenia wrotnego, dociera do części przedniej przysadki i moduluje czynność odpowiednich komórek tropowych. Obecność neuronów TRH-ergicznymi w różnych strukturach podwzgórzca, związanych z procesem neurosekrecji, oraz w części nerwowej przysadki (NH) wskazuje na możliwy udział tego neuropeptydu w mechanizmach uwalniania wazopresyny (AVP) i oksytocyny (OT) [18]. Występowanie TRH oraz TRH mRNA potwierdzono w neuronach OT-ergicznymi oraz AVP-ergicznymi jądra nadwzrokowego (SON) oraz przykomorowego (PVN) podwzgórzca [71,92,105].

Badania dotyczące powiązań TRH z wydzielaniem AVP i OT są niezbyt liczne, a ich początki datują się na lata 70. minionego stulecia. Wiele doświadczeń przeprowadzonych w Zakładzie Patofizjologii Akademii Medycznej w Łodzi (obecnie Katedra Patologii Ogólnej i Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi) pozwoliło na kompleksowe zbadanie oddziaływania TRH na uwalnianie wazopresyny i oksytocyny w warunkach *in vitro* oraz *in vivo*.

## EFEKTY DZIAŁANIA TRH – W ZALEŻNOŚCI OD DAWKI I SPOSOBU PODANIA

Przeprowadzone dotychczas badania oceniające wpływ TRH na uwalnianie AVP i OT u szczura i innych gatunków zwierząt sugerują obecność działań zarówno pobudzających, jak i hamujących, co jest zależne przede wszystkim

od wielkości podawanej dawki, jak i drogi podania tego peptydu. Tyreoliberyna pobudzała uwalnianie OT i AVP u królika, kiedy była podawana do komór mózgu (*i.c.v.*) lub dożylnie (*i.v.*) w dawkach 3 nmol lub 30 nmol [108]. Podobnie, TRH wstrzykiwany *c.v.* w dawkach 10 ng–5 µg powodował wzrost uwalniania AVP u szczura [101]. W innych doświadczeniach [54] nie wykazano zmian uwalniania AVP i OT w następstwie dożylnych iniekcji TRH w dawkach 0,05–5 ng. Co więcej, nie było zmian uwalniania OT i AVP po dożylnych iniekcji 500 ng TRH u szczura [97]. Podobnie, nie wykazano wpływu iniekcji dożylnych TRH na uwalnianie AVP i OT u człowieka [1].

Badania Ciosek i Stempniak [27] wykazały, że TRH, wstrzykiwany w dawce 50 ng lub 100 ng do lewej bocznej komory mózgu szczurów w stanie równowagi gospodarki wodnej, powodował spadek zawartości AVP w części nerwowej przysadki (NH). Działanie przeciwstawne, tj. hamowanie wyrzutu wazopresyny z NH do krwi zaobserwowano pod wpływem większej dawki TRH (tj. 200 ng) wstrzykiwanej także *c.v.* W dalszych badaniach [20] zaobserwowano, że u zwierząt z wyrównanym metabolizmem wodno-elektrolitowym, TRH stosowany w iniekcjach dożylnych w dawce 100 ng/100 g m.c. był przyczyną nasilonego uwalniania AVP oraz OT do krwi.

Przyjmuje się, że TRH podawany *i.v.* przenika do mózgu przez barierę krew-mózg [59]. Okuda [83] obserwował, że po iniekcji dożylnych TRH przytomnym szczurom stężenie tego peptydu w płynie mózgowo-rdzeniowym (CSF), zbieranego z komór mózgu, wzrasta szybko podczas pierwszych 20 minut po iniekcji. Przypuszcza się, że obwodowo podany TRH przedostaje się do różnych obszarów ośrodkowego układu nerwowego poprzez CSF [116]. Według innych autorów dożylne podawanie TRH wyzwała działanie ośrodkowe poprzez uruchomienie mechanizmów warunkujących osłabienie bariery krew-mózg, ułatwiających wówczas przejście TRH do OUN [76].

TRH, wstrzykiwany w iniekcjach dokomorowych lub dożylnych, działa w OUN przede wszystkim na poziomie podwzgórza, które jest uważane za jedno z głównych miejsc działania TRH. Receptory TRH, o wysokim stopniu powinowactwa do tego peptydu, występują w różnych obszarach mózgu, zwłaszcza w PVN i SON [58,74,94], jak również w przysadce [58,74]. Egzogenny TRH może zatem modyfikować uwalnianie neurohormonów części nerwowej przysadki do krwi przez wiązanie ze swoistymi receptorami na poziomie podwzgórzowym lub przysadkowym, bądź poprzez bezpośredni wpływ na neurony AVP-ergiczne i OT-ergiczne. W badaniach Ciosek i Stempniak [28] wykazano modulujący wpływ TRH na uwalnianie AVP i OT z układu podwzgórzowo-przysadkowego *in vitro*. Należy podkreślić, że takie bezpośrednie działanie TRH może być zakłócone przez jego szybki metabolizm i usuwanie z ustroju [67,72]. Czas półtrwania tego peptydu we krwi wynosi bowiem około 6–9 min [50,77], w tkankach mózgu – 9–11 min [10]. Należy ponadto uwzględnić ewentualne działanie biologiczne metabolitów TRH [10].

TRH może regulować swoje własne uwalnianie. W części drobnokomórkowej jądra przykomorowego wykazano obecność synaps aksodendrytycznych i/lub aksosomatycznych między włóknami TRH immunoreaktywnymi a neu-

ronami TRH-IR [48,104]. Nie można zatem wykluczyć, że egzogenny TRH moduluje czynność takich połączeń i w sposób pośredni działa ośrodkowo.

#### WPLYW TYREOLIBERYNY NA WYDZIELANIE WAZOPRESYNY I OKSYCYTINY *IN VITRO*

Wydzielona część nerwowo-pośrednia przysadki mózgowej szczura, inkubowana *in vitro*, stanowi dobry model do badania czynności wydzielniczej neuronów AVP-ergicznym i OT-ergicznym [22,37,44]. Płat nerwowo-pośredni przysadki inkubowany w płynie Locke'a lub Krebsa-Ringera o odpowiednim pH (7,38–7,50), osmolalności (280–285 mOsm/Kg H<sub>2</sub>O), temperaturze (37°C) i prężności tlenu (nasycanie karbogenem, tj. mieszaniną tlenu i dwutlenku węgla w proporcji 95:5%) zachowuje przez co najmniej kilka godzin zdolność do odpowiedniego reagowania, na stosowane bodźce, zmianami wydzielania AVP i OT [22,87]. Nadmiar jonów potasowych, zastosowany podczas inkubacji, wywołuje depolaryzację błony neuronalnej zakończeń aksonalnych w części nerwowej przysadki, co do pewnego stopnia odpowiada naturalnym procesom pobudzenia komórki nerwowej, związanymi z mechanizmem wydzielania neurohormonów [8,65]. W przedstawionym modelu inkubacji stosuje się stężenie jonów potasu równe 56 mM (tj. 10-krotnie wyższe w porównaniu z podstawowym płynem inkubacyjnym).

Inkubacja *in vitro* płata nerwowo-pośredniego przysadki pozwala wykluczyć zależność neuronów neurosekrecyjnych od większości mechanizmów modulujących ich czynność, które to mechanizmy mogą mieć znaczenie w doświadczeniach *in vivo*. Można przyjąć, że uwalnianie AVP lub/i OT jest w modelu inkubacji części nerwowo-pośredniej przysadki bezpośrednim następstwem działania TRH na zakończenia neuronów neurosekrecyjnych przysadki lub zakończenia akso-aksonalne takich włókien nerwowych, które docierają do aksonów neuronów AVP-ergicznym lub OT-ergicznym na poziomie płata nerwowej przysadki.

W badaniach nad uwalnianiem AVP i OT *in vitro* stosuje się też inkubację wyosobnionego układu podwzgórzowo-przysadkowego pobranego od samców szczura [28,86]. Ten model doświadczenia *in vitro* pozwala na utrzymanie ciągłości neuronalnych dróg podwzgórzowo-przysadkowych [100]. Przyjmuje się, że podczas prawidłowo wykonanego wypreparowania bloku tkanki obejmującego część wzgórza oraz podwzgórze połączone lejkiem z przysadką, w większej części zachowane są włókna nerwowe dróg kończących się synapsami leżącymi na perikariach neuronów AVP-ergicznym jąder przykomorowych i nadwzrokowych podwzgórza. Do pewnego stopnia zachowana jest integracja zachodzących tam procesów regulacyjnych wydzielania neurohormonów części nerwowej przysadki [44,113].

W dostępnym piśmiennictwie nie znajdujemy wielu prac badających wpływ *in vitro* TRH na uwalnianie AVP i OT. W 1976 roku Skowsky i Swan [99] zaobserwowali, że TRH jest prawdopodobnie czynnikiem pobudzającym uwalnianie AVP z części nerwowej przysadki szczura *in vitro*. Podobnie, w badaniach Ciosek i Guzka [22] tyreoliberyna, obecna w płynie inkubacyjnym w stężeniu 28 nM/l, nasilała uwalnianie AVP z części nerwowo-pośredniej przysad-

ki w warunkach podstawowych oraz w czasie depolaryzacji zakończeń neuronalnych wywołanej zwiększonym stężeniem jonów  $K^+$ . Natomiast – zupełnie przeciwnie – TRH wpływa na sekrecję oksytocyny do medium inkubacyjnego; jest mianowicie przyczyną ograniczenia jej uwalniania w ciągu całego okresu inkubacji części nerwowo-pośredniej przysadki. Następnie wykazano [28], że TRH, zastosowana w tym samym stężeniu podczas inkubacji układów podwzgórzowo-przysadkowych, wyraźnie tłumi uwalnianie *in vitro* zarówno AVP, jak i OT, zwłaszcza w czasie stymulacji zakończeń neuronalnych wywołanej zwiększonym stężeniem jonów  $K^+$ .

Wydaje się, że wpływ TRH, zawartej w płynie inkubacyjnym, na uwalnianie *in vitro* AVP i OT z płata nerwowo-pośredniego przysadki lub z układu podwzgórze – część nerwowo-pośrednia przysadki może stanowić pewną wypadkową pośredniego lub bezpośredniego działania tego neuropeptydu na procesy biosyntezy, transportu i uwalniania obu neurohormonów części nerwowej przysadki.

#### **Wpływ TRH na syntezę i uwalnianie wazopresyny i oksytocyny w warunkach *in vivo***

##### **Zwierzęta odwadniane lub obciążane hipertonicznym roztworem chlorku sodu**

Odwodnienie hipertoniczne nasila syntezę, transport i uwalnianie neurohormonów części nerwowej przysadki [64]. Większy stosunkowo ubytek wody niż elektrolitów jest przyczyną zwiększenia ciśnienia osmotycznego i zmniejszenia objętości płynu zewnątrzkomórkowego. Nasila się wówczas aktywność bioelektryczna neuronów AVP-ergiczych i OT-ergiczych [9], wzrasta synteza AVP i OT, czego przejawem jest wzrost pojawiania się białka Fos, a także mRNA AVP i OT w obszarze jąder przykomorowych i nadwzrostkowych podwzgórza [15,41,61,112]. Obniża się natomiast – skutek zwiększonego uwalniania – zawartość obu neurohormonów w części nerwowej przysadki, wzrasta natomiast ich stężenie we krwi [21,22]. Model doświadczalny z zastosowaniem ograniczenia dostępu zwierzętom do wody pitnej jest zatem najprostszym sposobem indukcji biosyntezy i uwalniania wazopresyny i oksytocyny.

Zwiększenie syntezy i uwalniania AVP oraz OT jest wypadkową działania na układ podwzgórzowo-przysadkowy impulsacji generowanej w osmoreceptorach (nasilonej w warunkach odwodnienia hipertonicznego) oraz obniżenia częstości impulsacji generowanej w receptorach objętościowych – przede wszystkim w receptorach objętościowych niskociśnieniowego obszaru układu krążenia (głównie w receptorach lewego przedsionka), odbarczonych w warunkach obniżenia objętości krwi krążącej. Zwiększenie wydzielania AVP a także OT w warunkach odwodnienia hipertonicznego zależy zatem od dwu mechanizmów: zwiększenia osmolalności osocza krwi oraz obniżenia jego objętości [16,79].

U szczurów otrzymujących do picia roztwór hipertoniczny chlorku sodowego lub otrzymujących wstrzyknięcia dokomorowe lub dootrzewnowe takiego roztworu [95,107] wykazano obniżenie zawartości AVP i OT w części nerwowej przysadki oraz w jądrach wielkokomórkowych podwzgórza; zwiększa się wówczas stężenie AVP we krwi oraz w pły-

nie mózgowo-rdzeniowym [70,84]. Pobudzenie osmotyczne moduluje aktywność neuronów neurosekrecyjnych podwzgórza u szczura oraz nasila w nich immunoreaktywność Fos [14]. Wstrzyknięcie dożylnie roztworu hipertonicznego NaCl jest przyczyną zwiększenia stężenia AVP i OT w osoczu krwi [54,80], porównywalnego ze wzrostem stężenia obu hormonów we krwi po 48-godzinnym odwadnianiu [110]. Wprowadzenie roztworów hipertonicznych do tętnicy szyjnej powoduje nasilenie aktywności bioelektrycznej neuronów SON i PVN, czemu towarzyszy wzrost stężenia AVP we krwi [107].

Badania wcześniejsze dotyczące wpływu TRH na uwalnianie AVP i OT z części nerwowej przysadki sugerowały, że TRH pełni funkcję neuromodulatora pobudzającego uwalnianie AVP i OT [47,97,108].

Ciosek i wsp. [24,27,29,30] przeprowadzili kompleksowe badania dotyczące roli TRH w uwalnianiu AVP i OT z układu podwzgórzowo-przysadkowego w zależności od stanu gospodarki wodno-elektrolitowej. Wykazano, że TRH, wstrzykiwany do bocznej komory mózgu w dawce 200 ng, jest przyczyną istotnego zwiększenia zawartości AVP w podwzgórzu, bez zmian jej zawartości w części nerwowej przysadki u szczurów w stanie równowagi gospodarki wodnej. Przeciwnie, dokomorowe iniekcje TRH są przyczyną znamiennego obniżenia zawartości OT w podwzgórzu i części nerwowej przysadki oraz wzrostu jej poziomu we krwi u tych samych zwierząt.

TRH wybitnie podnosi zasoby AVP w podwzgórzu i w części nerwowej przysadki u zwierząt poddanych 2- i 4-dniowemu odwadnianiu [24]. Podobne efekty tj. wzrost zawartości AVP w podwzgórzu i NH obserwujemy również w przypadku zwierząt obciążonych hipertonicznym roztworem NaCl i jednocześnie poddanych działaniu TRH [29]. Tłumaczy się to nasiloną syntezą tego neurohormonu bądź obniżeniem jego transportu aksonalnego z podwzgórza ku części nerwowej przysadki. Natomiast w osoczu krwi opisywanych zwierząt, pod wpływem dokomorowych iniekcji TRH, stężenie AVP ulega obniżeniu. Neurony OT-ergiczne odpowiadają na TRH podobnie jak neurony AVP-ergiczne. Iniekcja *c.v.* TRH w wysokim stopniu ogranicza również spadek zawartości OT w podwzgórzu i w części nerwowej przysadki u zwierząt odwadnianych [24].

U zwierząt obciążanych roztworem hipertonicznym chlorku sodu następuje, pod wpływem TRH, obniżanie zawartości OT w podwzgórzu [29]. W części nerwowej przysadki TRH nie wpływa w sposób znamienny na zawartość oksytocyny. Poziom OT w osoczu krwi zwierząt obciążanych hipertonicznym roztworem NaCl i poddanych działaniu TRH jest natomiast wyraźnie obniżony [29].

Wyniki przedstawionych doświadczeń pozwalają na sformułowanie wniosku, że TRH wpływa odmiennie na uwalnianie AVP i OT w zależności od stanu gospodarki wodno-elektrolitowej. W stanie zrównoważonego bilansu wodnego, TRH działa jako neuromodulator hamujący uwalnianie AVP, a pobudzający uwalnianie OT. W warunkach natomiast pobudzenia osmodetektorów TRH przeciwdziała nasilonemu uwalnianiu obu neurohormonów. TRH może zmieniać czynność neuronów AVP-ergiczych i OT-ergiczych bezpośrednio tzn. działając na neurony SON i PVN

podwzgórze lub/i pośrednio tzn. modulując przekazywanie impulsacji na połączeniach neuronalnych w odpowiednich drogach aferentnych.

### **Wpływ tyreoliberyny na uwalnianie wazopresyny i oksytocyny w warunkach hipowolemii spowodowanej krwotokiem**

Krwotok, podobnie do odwodnienia, jest ważnym czynnikiem nasilającym uwalnianie neurohormonów części nerwowej przysadki. Wzrost stężenia AVP we krwi w następstwie krwotoku stwierdzano u szczurów, psów oraz ludzi [53,54]. Mechanizm odruchowy prowadzący do zwiększonego uwalniania AVP i OT w następstwie krwotoku nie jest jednak identyczny z mechanizmem, jaki prowadzi do podobnych efektów w warunkach odwodnienia hipertonicznego. Pozbawienie zwierząt dostępu do wody jest przyczyną zwiększenia osmolalności płynów ustrojowych (dochodzi wówczas do pobudzenia osmoreceptorów); jednocześnie rozwija się hipowolemia, często obniża się też ciśnienie tętnicze krwi. Przeciwnie, krwotok nie zmienia doraźnie ciśnienia osmotycznego płynów ustrojowych, jest jednak przyczyną ostrego odbarczenia baroreceptorów. Mechanizmy prowadzące do uwalniania AVP w następstwie ostrej hipowolemii są związane bardziej z receptorami przedsionków serca (zwłaszcza lewego) niż z baroreceptorami umiejscowionymi w zatoce szyjnej i łuku aorty [53]. Uwalnianie AVP w warunkach krwotoku nasila się szczególnie wówczas, gdy już przed skrwawianiem istniała pewna hipotonia [11].

Pojedyncza dawka TRH podawana *c.v.* szczurom nieskrwawianym była przyczyną znaczącego spadku zawartości AVP w podwzgórze [25]. Jest to przypuszczalnie następstwem nasilonego transportu aksonalnego AVP z podwzgórzeza ku części nerwowej przysadki, w której dochodzi do kumulacji zasobów AVP. Wzrost zawartości AVP w części nerwowej przysadki obserwowany jest także u zwierząt skrwawianych po dokomorowej iniekcji TRH. Upatruje się w tym przyczynę obniżonego uwalniania tego neurohormonu do krwi. Istotnie, w osoczu krwi u zwierząt skrwawianych, traktowanych uprzednio TRH, nie występował wzrost stężenia AVP [25]. Iniekcja dokomorowa TRH u zwierząt skrwawianych nie zmieniała też poziomu AVP w podwzgórze.

Tyreoliberyna nie wywołuje natomiast zmian w zawartości oksytocyny w układzie podwzgórzowo-przysadkowym u szczurów poddanych krwotokowi, choć u zwierząt kontrolnych, tzn. nieskrwawianych, TRH była przyczyną podwyższenia stężenia OT w osoczu krwi [25].

Uważa się, że TRH może wpływać na uwalnianie AVP i OT poprzez mechanizmy pośrednie. Dożylnie lub dokomorowe podanie dużych dawek TRH może powodować wzrost ciśnienia tętniczego, objętości wyrzutowej i pojemności minutowej serca, a także skurcz naczyń krwionośnych nerek i jelit [51,69,97]. Wzrost ciśnienia tętniczego w warunkach wstrząsu endotoksycznego, pokrwotocznego, anafilaktycznego bądź po przerwaniu rdzenia kręgowego [39,45] przypuszczalnie następuje poprzez uczynienie mechanizmów cholinergicznym [115]. Mechanizmy cholinergiczne powiązane z podwzgórzem (receptor nikotynowy) i z częścią nerwową przysadki (receptor muska-

rynowy) uczestniczą w procesach aktywacji uwalniania AVP i OT [43]. Prawdopodobne jest, że TRH może również modyfikować procesy biosyntezy i uwalniania AVP i OT za pośrednictwem mechanizmów ośrodkowych o charakterze adrenergicznym aktywowanych podczas wstrząsu pokrwotocznego [55].

TRH zwiększając objętość krwi krążącej u szczura w warunkach wstrząsu pokrwotocznego hamuje jego rozwój [45,102]. Efekt ten jest przypuszczalnie spowodowany przemieszczaniem krwi z łożyska naczyń włosowatych i zbiorników krwi (wątroba, śledziona) do łożyska tętniczego. Istnieje możliwość, że ma to związek ze zmniejszonym wówczas uwalnianiem neurohormonów części nerwowej przysadki, w głównej mierze wazopresyny.

### **Wpływ tyreoliberyny na uwalnianie wazopresyny i oksytocyny u samic szczura w okresie laktacji**

Liczne spostrzeżenia dowodzą zmienionego uwalniania oksytocyny i prolaktyny w odpowiedzi na ssanie. W czasie karmienia młodych wzrasta aktywność bioelektryczna neuronów oksytocynergicznych [76]. Okresowemu wzbudzeniu neuronów OT-ergicznym towarzyszy pulsacyjne uwalnianie oksytocyny z części nerwowej przysadki do krwi; zazwyczaj uwalnianie to najbardziej nasila się między 5 a 30 minutą ssania [31,32,85]. W tych samych warunkach nasila się uwalnianie oksytocyny w jądrach przykomorowych i nadwzrostkowych, co wykazano za pomocą mikrodializy i perfuzji metodą push-pull [75,81]. Oksytocyna ma znaczenie w procesach wzbudzania aktywności bioelektrycznej neuronów OT-ergicznym podczas ssania [73]. W czasie ssania wzrasta też stężenie prolaktyny w osoczu osiągając maksymalne wartości w ciągu 15–30 minut od początku ssania [33]. Przypuszcza się, że oksytocyna jest tym czynnikiem neurohormonalnym, który pobudza komórki laktotropowe i powoduje rytmiczne uwalnianie prolaktyny [5,6]. Jednak prolaktyna pobudza uwalnianie oksytocyny zarówno *in vivo*, jak i *in vitro* [57,85]. Być może, istnieją więc wzajemne powiązania regulacyjne między uwalnianiem oksytocyny i prolaktyny ujawniające się w stanach karmienia bądź zachowania matczynego.

Udział TRH w procesie uwalniania AVP i OT z podwzgórzeza i z części nerwowej przysadki u samic w okresie laktacji był przedmiotem badań prowadzonych przez Ciosek i Guzka [23]. Samice szczura, karmiące bądź niekarmiące swoje młode, poddawano działaniu TRH. Zaobserwowano wzrost stężenia wazopresyny w części nerwowej przysadki u samic karmiących, którym podano TRH. Natomiast poziom AVP we krwi zarówno u samic karmiących, jak i niekarmiących, poddanych jednocześnie działaniu tyreoliberyny, wyraźnie obniżył się. Wyniki te jednoznacznie wskazują, że TRH hamuje uwalnianie wazopresyny z układu podwzgórzowo-przysadkowego u samic szczura będących w okresie laktacji zarówno karmiących, jak i niekarmiących. Przyjmuje się wobec tego, że TRH funkcjonuje w OUN szczura jako neuromodulator hamujący uwalnianie wazopresyny w okresie laktacji. Poziom oksytocyny w układzie podwzgórzowo-przysadkowym i w osoczu krwi u samic będących w okresie laktacji również podlega wpływom TRH. Tyreoliberyna modyfikuje uwalnianie OT inaczej u samic karmiących, niż w okresie przerwy między karmieniami. TRH zwiększa uwalnianie OT u samic,

które nie karmią, a całkowicie je znosi podczas karmienia [23]. Jest więc zatem prawdopodobne, że wpływ tyreoliberyny na uwalnianie oksytocyny zależy od aktywności neuronów TRH-ergicznymi (tj. podczas ssania lub między okresami karmienia).

Interesujące pozostaje zagadnienie, jaki jest wpływ tyreoliberyny na mechanizm odruchowy uwalniania wazopresyny i oksytocyny. Po iniekcji dokomorowej TRH można się spodziewać działania tego peptydu na wiele struktur mózgu zawierających zróżnicowane połączenia neuronalne. Przypuszcza się, że iniekcja względnie dużych dawek TRH (ok. 200 ng) może tłumić aktywność neuronów TRH-ergicznymi i zmniejszać czułość receptorów wiążących TRH umiejscowionych w PVN i SON. Stwierdzono wcześniej, że iniekcja TRH w dawce 600 µg/100 g m.c. hamuje czynność receptorów TRH w przysadce mózgu szczura [82]. TRH może również zmieniać stopień wydzielania wewnątrzpodrodnej TRH działając bezpośrednio na neurony TRH-ergiczne obecne w jądrach przykomorowych poprzez synapsy aksodendrytyczne lub/i aksosomatyczne znajdujące się między włóknami i neuronami TRH-ergicznymi [104]. Wobec tego istnieje możliwość, że przewodzenie impulsów przez połączenia między neuronami syntetyzującymi tyreoliberynę, obecnymi w drobnokomórkowej części jądra przykomorowego [48,104], może zmieniać się pod wpływem tyreoliberyny podawanej osódkowo.

Oprócz tego TRH może działać pośrednio, tj. poprzez inny mediator lub modulator. Jak wcześniej wspomniano, na włóknach TRH-ergicznymi w wyniosłości pośredniej leżą zakończenia neuronów dopaminergicznymi o synapsach hamujących, które mogą tłumić uwalnianie TRH [4]. Wyniki przeprowadzonych badań [23] przemawiają za poglądem, że podczas karmienia zewnątrzpodrodnej TRH może modyfikować czynność neuronów TRH-ergicznymi, a więc przeciwdziała skutkom impulsacji wzbudzonej w mechanoreceptorach sutka i przekazywanej drogami aferentnymi do neuronów OT-ergicznymi.

Podsumowując, można stwierdzić, że tyreoliberyna spełnia ważną rolę regulacyjną w uwalnianiu wazopresyny i oksytocyny u samic szczura w okresie laktacji. TRH działa jako neuromodulator hamujący uwalnianie wazopresyny, oksytocyny a także prolaktyny wyzwalane przez odruch neurohumoralny z mechanoreceptorów sutka w czasie ssania.

### **Wpływ tyreoliberyny na rytm dobowy syntezy i uwalniania wazopresyny i oksytocyny**

Stężenie AVP i OT w osoczu krwi oraz w płynie mózgowo-rdzeniowym wykazuje wahania dobowe. Zmiany te, niezależnie od wieku i płci zwierząt, odpowiadają wysokim wartościom w czasie dnia, a niskim podczas nocy [2,40,42,52,91]. U dorosłych ssaków (w tym u szczura) zawartość AVP i OT w części nerwowej przysadki obniża się [38,109] podczas gdy ich stężenie w osoczu krwi rośnie w czasie fazy jasnej [109]. We krwi człowieka najwyższe poziomy AVP zanotowano nad ranem [60]. Nie wykazano natomiast rytmu dobowego zawartości mRNA dla AVP i OT w neuronach podwzgórza [13]. Nie stwierdzono też rytmu dobowego stężenia AVP i OT we krwi kota [91], małpy [88] i kozy [93]. Doświadczenia przeprowadzone przez Ciosek i Stempniak [26] są dowodem na

to, że tyreoliberyna modyfikuje rytm dobowy uwalniania wazopresyny i oksytocyny z układu podwzgórzowo-przysadkowego szczura w stanie równowagi bilansu wodnego. Zmiany te dotyczą głównie zawartości wymienionych neurohormonów w części nerwowej przysadki i ich stężenia we krwi.

TRH podana dokomorowo zwierzętom w stanie równowagi gospodarki wodnej powoduje obniżenie zawartości AVP i OT w części nerwowej przysadki w godzinach rannych, podczas gdy w grupie zwierząt kontrolnych poziomu obu neurohormonów są wówczas najwyższe. Następnie pod wpływem TRH wzrasta zawartość AVP i OT w części nerwowej przysadki do wartości najwyższych: dla AVP w południe i dla OT o północy (przeciwstawnie do wartości stwierdzanych u zwierząt kontrolnych). Natomiast stężenie AVP i OT w osoczu krwi tych zwierząt najwyższe było w godzinach rannych (u zwierząt kontrolnych występują wtedy najniższe stężenia obu neurohormonów), a najniższe w nocy. W podwzgórzu TRH jest przyczyną obniżenia zawartości AVP i OT w południe, podniesienia natomiast poziomu obu neurohormonów w ciągu nocy.

Wpływ TRH na zmiany rytmu dobowego uwalniania wazopresyny i oksytocyny z układu podwzgórzowo-przysadkowego w stanie równowagi gospodarki wodnej dotyczy bezpośredniego i pośredniego działania tego neuropeptydu na neurony AVP-ergiczne i OT-ergiczne.

Wcześniej wykazano, że dokomorowe wielokrotne wstrzyknięcia TRH powodują wzrost zawartości AVP i OT w podwzgórzu [27]. Stąd wniosek, że TRH działając bezpośrednio na podwzgórze może modyfikować rytm dobowy syntezy i uwalniania obu neurohormonów na poziomie układu podwzgórzowo – przysadkowego.

Jest prawdopodobne, że jedną z przyczyn zwiększonego uwalniania AVP i OT podczas pory nocnej może być TRH pochodzenia szyszynkowego. Obecność tego neuropeptydu wykazano bowiem w szyszynce wieprzowej i wołowej, a także u gryzoni [66], jakkolwiek, szyszynka jest źródłem niewielkiej ilości TRH. Na uwagę zasługuje także obecność TRH w jądrze nadskrzyżowaniowym [63], które uważane jest za rozrusznik rytmów biologicznych.

Mechanizm działania TRH na uwalnianie AVP i OT z przysadki może mieć różny charakter. Jak już wcześniej wspomniano, regulacyjna rola TRH w zakresie uwalniania obu neurohormonów części nerwowej przysadki dotyczy również jej działania pośredniego – poprzez zmiany przewodzenia dopaminergicznego i noradrenergicznego. Znany jest udział mediatora cholinergicznego oraz mediatorów monoaminergicznymi, a także licznych innych neuroregulatorów (neuromodulatorów /i/ lub neuromediatorów), w tym wielu neuropeptydów w regulacji uwalniania AVP i OT [17,18,46]. Jedną z możliwości jest to, że TRH może oddziaływać na neurony mózgu pośrednio, mianowicie przez zmianę syntezy i wydzielania dopaminy (DA): TRH nasila bowiem uwalnianie DA z zakończeń neuronalnych [49,68]. Zawartość kwasu homowalilowego (produktu degradacji DA) w neuronach mózgu wzrasta pod wpływem TRH [49,78]. W działaniach TRH może pośredniczyć też układ współczulny; stężenie noradrenaliny (NA) i adrenaliny (A) w osoczu krwi wzrasta po iniekcji TRH do komór

mózgu [12,49]. NA hamuje uwalnianie AVP i OT [98] zarówno *in vitro* [7], jak i *in vivo* [56]. Według innych autorów [106,112] NA pobudza ekspresję mRNA AVP i mRNA OT w jądrach SON i PVN podwzgórza. Z kolei obecność włókien nerwowych TRH-immunoreaktywnych w podwzgórzu i części nerwowej przysadki przemawia za bezpośrednim, tj. bez udziału mediatorów pośredniczących, wpływem TRH na biosyntezę i uwalnianie AVP i OT. Świadczą o tym bezpośrednie kontakty synaptyczne obserwowane między aksonami neuronów TRH-ergicznymi a zakończeniami neuronów neurosekrecyjnych w części nerwowej przysadki [62].

## PODSUMOWANIE

Dane doświadczalne wskazują, że tyreoliberyna jest zaangażowana w mechanizmach ośrodkowych uwalniania wa-

zopresyny i oksytocyny z części nerwowej przysadki do krwi. W warunkach równowagi gospodarki wodno-elektrolitowej tyreoliberyna działa stymulująco na uwalnianie OT do krwi. Można natomiast przyjąć, że TRH pełni w OUN funkcję neuromodulatora hamującego uwalnianie wazopresyny i oksytocyny z układu podwzgórzowo-przysadkowego w warunkach pobudzenia osmotycznego, a także u samic w okresie laktacji. Przemawiają za tym wnioskiem także badania *in vitro*. Podobnie, TRH hamuje uwalnianie AVP w warunkach ostrej hipowolemii wywołanej krwotokiem oraz zmienia przebieg rytmu dobowego sekrecji AVP i OT. Wydaje się więc, że neuropeptyd ten może wchodzić w interakcje czynnościowe z mechanizmami zaangażowanymi w procesie sekrecji wazopresyny i oksytocyny, zaburzając te mechanizmy zwłaszcza w warunkach zwiększonego zapotrzebowania ustroju na oba neurohormony.

## PIŚMIENICTWO

- [1] Amico J.A., Johnston J.M.: Thyrotropin and gonadotrophin releasing hormones (TRH and GnRH) do not alter levels of oxytocin and oxytocin does not change the response of luteinizing or follicle stimulating hormones to GnRH in humans. *Endocr. Rev.*, 1985; 11: 75–85
- [2] Amico J.A., Levin S.C., Cameron J.L.: Circadian rhythm of oxytocin in the cerebrospinal fluid of rhesus and cynomolgus monkeys; effects of castration and adrenalectomy and presence of a caudal-rostral gradient. *Neuroendocrinology*, 1989; 50: 624–632
- [3] Amir S., Rivkind A., Harel M.: Central thyrotropin-releasing hormone elicits systemic hypoglycemia in mice. *Brain Res.*, 1985; 344: 387–391
- [4] Andersson K., Eneroth P.: Thyroidectomy and central catecholamine neurons of the male rat. Evidence for the existence of an inhibitory dopaminergic mechanism in the external layer of the median eminence and a facilitatory noradrenergic mechanism in the paraventricular hypothalamic nucleus regulating TSH secretion. *Neuroendocrinology*, 1987; 45: 14–27
- [5] Arey B.J., Freeman M.E.: Activity of oxytocinergic neurons in the paraventricular nucleus mirrors the periodicity of the endogenous stimulatory rhythm regulating prolactin secretion. *Endocrinology*, 1992; 130: 126–132
- [6] Arey B.J., Freeman M.E.: Oxytocin, vasoactive intestinal peptide and serotonin regulate the mating-induced surges of prolactin secretion in the rat. *Endocrinology*, 1990; 126: 279–284
- [7] Armstrong W.E., Sladek C.D., Sladek J.R.: Characterization of noradrenergic control of vasopressin release by the organ-cultured rat hypothalamo-neurohypophysial system. *Endocrinology*, 1982; 111: 273–279
- [8] Bielefeldt K., Rotter J.L., Jackson M.B.: Three potassium channels in rat posterior pituitary nerve terminalis. *J. Physiol.*, 1992; 458: 41–67
- [9] Bourque C.W., Renaud L.P.: Electrophysiology of mammalian magnocellular vasopressin and oxytocin neurosecretory neurons. *Front. Neuroendocrinol.*, 1990; 11: 183–212
- [10] Brewster D.: Species variations in TRH activation: advantages of stable analogues. W: *Thyrotropin-Releasing Hormone*, red.: E.C. Griffith, G.W. Bennett. Raven Press, New York 1983, 109–118
- [11] Brizzee B.L., Russ R.D., Walker B.R.: Role of vasopressin in acutely altered baroreflex sensitivity during hemorrhage in rats. *Am. J. Physiol.*, 1991; 261: R677–R685
- [12] Brown M.R.: Thyrotropin releasing factor: a putative CNS regulator of the autonomic nervous system. *Life Sci.*, 1981; 28: 1789–1795
- [13] Burbach J.P., Liu B., Voorhuis T.A., Van Tol H.H.: Diurnal variation in vasopressin and oxytocin messenger RNAs in hypothalamic nuclei of the rat. *Brain Res.*, 1988; 464: 157–160
- [14] Carlson S.H., Beitz A., Osborn J.W.: Intra-gastric hypertonic saline increases vasopressin and central Fos immunoreactivity in conscious rats. *Am. J. Physiol.*, 1997; 272: R750–R758
- [15] Carter D.A., Murphy D.: Rapid changes in Poly(A) tail length of vasopressin and oxytocin mRNAs form a common early component of neurohypophysial peptide gene activation following physiological stimulation. *Neuroendocrinology*, 1991; 53: 1–6
- [16] Chana Y., Sladek C.D.: Osmotic regulation of vasopressin and oxytocin release is rate sensitive in hypothalamo-neurohypophysial explants. *Am. J. Physiol.*, 1990; 25: 492–500
- [17] Ciosek J.: Neurohormony części nerwowej przysadki – ich biosynteza, uwalnianie oraz rola fizjologiczna. *Acta Physiol. Pol.*, 1989; 40 Supl 33: 1–27
- [18] Ciosek J.: Neuroregulatory ośrodkowego układu nerwowego a uwalnianie wazopresyny i oksytocyny. *Endokr. Pol.*, 2001; 52: 109–116
- [19] Ciosek J.: Tyreoliberyna (TRH): biosynteza, występowanie, receptory, metabolizm. *Endokr. Pol.*, 2004; 5: 608–615
- [20] Ciosek J.: Vasopressin and oxytocin release as influenced by thyrotropin-releasing hormone in euhydrated and dehydrated rats. *J. Physiol. Pharmacol.*, 2002; 53: 423–437
- [21] Ciosek J., Ciszowska A.: Centrally administered galanin modifies vasopressin and oxytocin release from the hypothalamo-neurohypophysial system of euhydrated and dehydrated rats. *J. Physiol. Pharmacol.*, 2003; 54: 625–641
- [22] Ciosek J., Guzek J.W.: Thyrotropin-releasing hormone (TRH) and vasopressin and oxytocin release: *in vitro* as well as *in vivo* studies. *Exp. Clin. Endocrinol.*, 1992; 100: 152–159
- [23] Ciosek J., Guzek J.W.: Thyrotropin-releasing hormone affect the oxytocin, vasopressin and prolactin release in female rats during midlactation: relation to suckling. *J. Physiol. Pharmacol.*, 1998; 49: 135–150
- [24] Ciosek J., Guzek J.W., Orłowska-Majdak M.: Thyrotropin-releasing hormone (TRH) modulates vasopressin and oxytocin release from the hypothalamo-neurohypophysial system in dehydrated rats. *J. Physiol. Pharmacol.*, 1993; 44: 293–302
- [25] Ciosek J., Orłowska-Majdak M.: Thyrotropin-releasing hormone (TRH) inhibits the release of vasopressin but not that of oxytocin from the hypothalamo-neurohypophysial system in haemorrhaged rat. *Endocr. Regul.*, 1995; 29: 47–55
- [26] Ciosek J., Stempniak B.: Thyrotropin and the daily rhythm of vasopressin and oxytocin release from the hypothalamo-neurohypophysial system. *Pathophysiology*, 1998; 5: 131–139
- [27] Ciosek J., Stempniak B.: Thyrotropin-releasing hormone (TRH) and release of neurohypophysial hormones in the rat. *J. Pol. Endocrinol.*, 1997; 48: 23–34
- [28] Ciosek J., Stempniak B.: Thyrotropin-releasing hormone (TRH) inhibits vasopressin and oxytocin release from rat hypothalamo-neurohypophysial explants *in vitro*. *Acta Neurobiol. Exp.*, 1996; 56: 35–40
- [29] Ciosek J., Stempniak B.: Thyrotropin-releasing hormone (TRH) modifies oxytocin release from the hypothalamo-neurohypophysial system in salt-loaded rats. *J. Physiol. Pharmacol.*, 1995; 46: 169–177
- [30] Ciosek J., Stempniak B., Orłowska-Majdak M.: Thyrotropin-releasing hormone (TRH) inhibits vasopressin release from hypothalamo-neurohypophysial system of rats drinking hypertonic saline. *Endocr. Regul.*, 1993; 27: 29–34
- [31] Crowley W.R., Armstrong W.E.: Neurochemical regulation of oxytocin secretion in lactation. *Endocr. Rev.*, 1992; 13: 33–65

- [32] Crowley W.R., Parker S., Armstrong W.E., Spinolo L.H., Grosvenor C.E.: Neurotransmitter and neurohormonal regulation of oxytocin secretion in lactation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992; 652: 286–302
- [33] De Greef W.J., Voogt J.L., Visser T.J., Lamberts S.W.J., Van Der Schoot P.: Control of prolactin release induced by suckling. *Endocrinology*, 1987; 121: 316–322
- [34] Dolva L.O., Hanssen K.F., Frey H.M.M.: Actions of thyrotropin-releasing hormone on gastrointestinal function in man. I. Inhibition of glucose and xylose absorption from the gut. *Scand. J. Gastroenterol.*, 1978; 13: 599–604
- [35] Dolva L.O., Stadaas J.O.: Actions of thyrotropin-releasing hormone on gastrointestinal function in man. III. Inhibition of gastric motility in response to distension. *Scand. J. Gastroenterol.*, 1979; 14: 419–423
- [36] Dolva L.O., Stadaas J.O., Hanssen K.F.: Effect of TRH and atropine on the gastric motility stimulated by insulin-induced hypoglycemia. *Scand. J. Gastroenterol.*, 1982; 17: 769–773
- [37] Dreifuss J.J., Gran J.D., Legros J.J., Nordmann J.J.: The isolated neurohypophysis; a model for studies on neuroendocrine release mechanisms. W: *Topics in Neuroendocrinology (Progress in Brain Research, vol. 38)*, red.: J.A. Kappers, J.A. Schade. Elsevier Publ Comp, Amsterdam-London-New York 1972, 31–40
- [38] Dyball R.E.J., Forsling M.L., Patterson A.H., Peysner K.: Rapid daily turnover of vasopressin in the neurohypophysis of mice and rats. *J. Physiol.*, 1988; 398: 90P
- [39] Faden A., Feuerstein G., Hayes E., Lux W.E.: Leukotriens and anaphylactic shock: a therapeutic role for thyrotropin-releasing hormone. *Circ. Shock*, 1993, 10, 246–251
- [40] Gauquelin G., Geelen G., Louis F., Allevard A.M., Meunier C., Cuisinaud G., Benjanet S., Seidah N.G., Chretien M., Legros J.J., Gharib C.: Presence of vasopressin, oxytocin and neurophysin in the retina of mammals, effect of light and darkness, comparison with the neuropeptide content of the neurohypophysis and the pineal gland. *Peptides*, 1983; 4: 509–515
- [41] Giovanelli L., Shiromani P.J., Jirikowski G.F., Bloom F.E.: Expression of c-fos protein by immunohistochemically identified oxytocin neurons in the rat hypothalamus upon osmotic stimulation. *Brain Res.*, 1992; 588: 41–48
- [42] Greeley G.H., Morris M., Eldridge J.C., Kizer J.S.: A diurnal plasma vasopressin rhythm in rats. *Life Sci.*, 1982; 31: 2843–2846
- [43] Gregg C.M.: Effect of cholinergic antagonists on basal and osmotically stimulated vasopressin release in compartmentalized hypothalamo-neurohypophysial explants. *Neuroendocrinology*, 1986; 44: 378–383
- [44] Gregg C.M., Sladek C.D.: A compartmentalized, organ-culture hypothalamo-neurohypophysial system for the study of vasopressin release. *Neuroendocrinology*, 1984; 38: 397–402
- [45] Guarini S., Gherardi S., Calabro G., Bertolini A.: A pharmacological study of the cardiovascular effects of TRH-T in haemorrhagic shock in rats. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, 1989; 299: 65–76
- [46] Guzek J.W.: Mediatory i modulatory osrodkowego ukladu nerwowego a uwalnianie wazopresyny i oksytocyny. *Acta Physiol. Pol.*, 1984 Supl 35: 3–32
- [47] Horita A., Carino M.A.: Centrally administered TRH produces a vasopressor response in rabbits. *Proc. West. Pharmacol. Soc.*, 1977; 20: 303–304
- [48] Ishikawa K., Taniguchi Y., Inoue K., Kurosumi K., Suzuki M.: Immunocytochemical delineation of thyrotropic area: origin of thyrotropin-releasing hormone in the median eminence. *Neuroendocrinology*, 1988; 47: 384–388
- [49] Itoh Y., Yamazaki A., Ukai Y., Yoshikuni Y., Kimura K.: Enhancement of brain noradrenaline and dopamine turnover by thyrotropin-releasing hormone and its analogue NS-3 in mice and rats. *Pharmacol. Toxicol.*, 1996; 78: 421–428
- [50] Iversen E.: Intra- and extravascular turnover of thyrotropin-releasing hormone in normal man. *J. Endocrinol.*, 1988; 118: 511–516
- [51] Jin H., Fedorowicz G., Yang R., Ogasawara A., Peale F., Pham T., Paoni N.F.: Thyrotropin-releasing hormone is induced in the left ventricle of rats with heart failure and can provide inotropic support to the failing heart. *Circulation*, 2004; 109: 2240–2245
- [52] Jolkkonen J.: Vasopressin in the central nervous system. A study based on cerebrospinal fluid measurements. (Academic Dissertation), University of Kuopio, University Printing Office, Kuopio 1988
- [53] Kadekaro M., Summy-Long J.Y., Terrell M.L., Lekan H., Gary H.E., Eisenberg H.M.: Cerebral metabolic and hormonal activations during hemorrhage in sinoaortic-denervated rats. *Am. J. Physiol.*, 1990; 259: R305–R312
- [54] Kasting N.W.: Simultaneous and independent release of vasopressin and oxytocin in the rat. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1988; 66: 22–26
- [55] Kimura T., Shoji M., Iitake K., Ota K., Matsui K., Yoshinaga K.: The role of central  $\alpha$ 1- and  $\alpha$ 2-adrenoceptors in the regulation of vasopressin release and the cardiovascular system. *Endocrinology*, 1984; 114: 1426–1432
- [56] Kimura T., Wang B.C., Crofton J.T., Share L.: Effect of norepinephrine on plasma vasopressin concentration and renal water metabolism. *Neuroendocrinology*, 1980; 31: 276–281
- [57] Kokay I.C., Bull P.M., Davis R.L., Ludwig M., Grattan D.R.: Expression of the long form of the prolactin receptor in magnocellular oxytocin neurons is associated with specific prolactin regulation of oxytocin neurons. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2006; 290: R1216–R1225
- [58] Konaka S., Yamada M., Satoh T., Ozawa H., Watanabe E., Takata K., Mori M.: Expression of thyrotropin-releasing hormone (TRH) receptor mRNA in somatotrophs in the rat anterior pituitary. *Endocrinology*, 1997; 138: 827–830
- [59] Koskinen L.D.: Thyrotropin-releasing hormone and cerebral blood flow. W: *Vasodilatation*, red.: P.M. Vanhoutte. Raven Press, New York 1988, 75–80
- [60] Landgraf R., Häcker R., Buhl H.: Plasma vasopressin and oxytocin changes in response to exercise and during the day-night cycle in man. *Endokrinologie*, 1982; 79: 281–291
- [61] Larsen P.J., Mikkelsen J.D.: Functional identification of central afferent projections conveying information of acute “stress” to the hypothalamic paraventricular nucleus. *J. Neurosci.*, 1995; 15: 2609–2627
- [62] Lechan R.M., Jackson I.M.: Immunohistochemical localization of thyrotropin-releasing hormone in the rat hypothalamus and pituitary. *Endocrinology*, 1982; 111: 55–56
- [63] Lechan R.M., Wu P., Jackson I.M.D., Wolf H., Cooperman S., Mandel G., Goodman R.H.: Thyrotropin-releasing hormone precursor: characterization in rat brain. *Science*, 1986; 231: 159–161
- [64] Leng G., Dyball R.E.J., Luckman S.M.: Mechanisms of vasopressin secretion. *Horm. Res.*, 1992; 37: 33–38
- [65] Leng G., Shibuki K., Way S.A.: Effects of raised extracellular potassium on the excitability of, and hormone release from, the isolated rat neurohypophysis. *J. Physiol.*, 1988; 399: 591–605
- [66] Lew G.M.: An immunocytochemical study of thyrotropin releasing hormone in the porcine, ovine and rodent pineal gland. *Histochemistry*, 1989; 91: 43–46
- [67] Loosen P.T.: TRH: behavioral and endocrine effects in man. *Progr. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 1988; 12 Suppl.: S87–S117
- [68] Maeda K., Frohman L.A.: Release of somatostatin and thyrotropin-releasing hormones from rat hypothalamic fragment *in vitro*. *Endocrinology*, 1980; 106: 1837–1842
- [69] Mattila J., Bunag R.D.: Sympathomimetic pressor response to thyrotropin-releasing hormone in rats. *Am. J. Physiol.*, 1986, 251, H86–H92
- [70] McKinley M.J., Congiu M., Denton D.A., Lichardus B., Park R.G., Tarjan E., Weisinger R.S.: Cerebrospinal fluid composition and homeostatic responses to dehydration. W: *Vasopressin*, red.: R.W. Schrier RW. Raven Press, New York 1985; 299–309
- [71] Meister B., Villow M.J., Ceccatelli S., Hökfelt T.: Comparative analysis on the localization of chemical messengers in magnocellular neurons of the hypothalamic supraoptic and paraventricular nuclei: an immunohistochemical study using experimental manipulations. W: *Hypothalamic Neurosecretory Neurons. Histochemical and Experimental Studies on Distribution and Regulation with Special Reference to Multiple Messenger Systems*, red.: B. Meister. Karolinska Institutet, ReproPrint, Stockholm 1989; X1–X40
- [72] Metcalf G.: Regulatory peptides as a source of new drugs – the clinical prospects for analogues of TRH which are resistant to metabolic degradation. *Brain Res.*, 1982; 257: 389–408
- [73] Meyer C., Freund-Mercier M.J., Richard P.: Facilitatory effect of oxytocin on oxytocin cell background activity in the rat is suckling-dependent. *Neurosci. Lett.*, 1987; 75: 80–84
- [74] Mitsuma T., Rhue N., Sobue G.: Distribution of thyrotropin releasing hormone receptor in rats: an immunohistochemical study. *Endocr. Regul.*, 1995; 29: 129–134
- [75] Moos F., Poulain D.A., Rodriguez F., Guerné Y., Vincent J.D., Richard P.: Release of oxytocin within the supraoptic nucleus during the milk ejection reflex in rats. *Exp. Brain Res.*, 1989; 76: 593–602
- [76] Morley J.E.: Extrahypothalamic thyrotropin-releasing hormone (TRH) – its distribution and its functions. *Life Sci.*, 1979; 25: 1539–1550



- [77] Møss J., Bundgaard H.: Kinetics and pattern of degradation of thyrotropin-releasing hormone (TRH) in human plasma. *Pharm. Res.*, 1990; 7: 751–755
- [78] Narumi S., Nagawa Y.: Modification of dopaminergic transmission by thyrotropin-releasing hormone. W: *Adv. Biochem. Psych. Pharmacol.*, red.: T. Segawa, H.J. Yamamura, K. Kuriyama. Raven Press, New York 1983; vol 36: 185–197
- [79] Negoro H., Higuchi T., Tadokoro Y., Honda K.: Osmoreceptor mechanism for oxytocin release in the rat. *Jpn. J. Physiol.*, 1988; 38: 19–31
- [80] Neumann I., Ludwig M., Engelmann M., Pittman Q.J., Landgraf R.: Simultaneous microdialysis in blood and brain: oxytocin and vasopressin release in response to central and peripheral osmotic stimulation and suckling in the rat. *Neuroendocrinology*, 1993; 58: 637–645
- [81] Neumann I., Russell J.A., Landgraf R.: Oxytocin and vasopressin release within the supraoptic and paraventricular nuclei of pregnant, parturient and lactating rats: a microdialysis study. *Neuroscience*, 1993; 53: 65–75
- [82] Ogawa N., Mizuno S., Nukina I., Tsukamoto S., Mori A.: Chronic thyrotropin releasing hormone (TRH) administration on TRH receptors and muscarinic cholinergic receptors in CNS. *Brain Res.*, 1983; 263: 348–350
- [83] Okuda C., Tanaka H., Miyazaki M.: Cardiovascular effect of intravenously administered thyrotropin-releasing hormone and its concentration in push-pull perfusion of the fourth ventricle in conscious and pentobarbital-anesthetized rats. *Life Sci.*, 1988; 42: 1181–1188
- [84] Ota K., Kimura T., Matsui K., Iitake K., Shoji M., Inoue M., Sato K., Ohta M., Yamamoto T., Yoshinaga K.: Effects of central osmotic stimulation on vasopressin and enkephalin release into the blood and cerebrospinal fluid and blood pressure. *Acta Endocrinol.*, 1990; 122: 62–70
- [85] Parker S.L., Armstrong W.E., Sladek C.D., Grosvenor C.E., Crowley W.R.: Prolactin stimulates the release of oxytocin in lactating rats: evidence for a physiological role via an action at the neural lobe. *Neuroendocrinology*, 1991; 53: 503–510
- [86] Pearson D., Shainberg A., Malamed S., Sachs H.: The hypothalamo-neurohypophysial complex in organ culture: effects of metabolic inhibitors, biologic and pharmacologic agents. *Endocrinology*, 1975; 96: 994–1003
- [87] Perlmutter L.S., Hatton G.I., Tweedle C.D.: Plasticity in the *in vitro* neurohypophysis: effects of osmotic changes on pituicytes. *Neuroscience*, 1984; 12: 503–511
- [88] Perlow M.J., Reppert S.M., Artman H.A., Fisher D.A., Self S.M., Robinson A.G.: Oxytocin, vasopressin and oestrogen stimulated neurophysin: daily patterns of concentration in cerebrospinal fluid. *Science*, 1982; 216: 1416–1418
- [89] Ragenbass M., Vozzi C., Tribollet E., Dubois-Dauphin M., Dreifuss J.J.: Thyrotropin-releasing hormone causes direct excitation of dorsal vagal and solitary tract neurones in rat brainstem slices. *Brain Res.*, 1990; 530: 85–90
- [90] Reichlin S. Neural functions of TRH. *Acta Endocrinol. Suppl.*, 1986; 276: 21–33
- [91] Reppert S.M., Artman H.G., Swaminathan S., Fisher D.A.: Vasopressin exhibits a rhythmic daily pattern in cerebrospinal fluid, but not in blood. *Science*, 1981; 213: 1256–1257
- [92] Rondeel J.M., Klootwijk W., Linkels E., van Haasteren G.A., de Greef W.J., Visser T.J.: Regulation of thyrotropin-releasing hormone in the posterior pituitary. *Neuroendocrinology*, 1995; 61: 421–429
- [93] Seckl J.R., Lightman S.L.: Diurnal rhythm of vasopressin but not oxytocin in the cerebrospinal fluid of the goat: lack of association with plasma cortisol rhythm. *J. Endocrinol.*, 1987; 114: 477–482
- [94] Sharif N.A.: Quantitative autoradiography of TRH receptor in discrete brain regions of different mammalian species. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1989; 553: 147–175
- [95] Shibuki K., Leng G., Way S.: Effects of naloxone and of intraperitoneal hypertonic saline upon oxytocin release and upon supraoptic neuronal activity. *Neurosci. Lett.* 1988; 88: 75–80
- [96] Siren A.L., Feuerstein G.: Central autonomic pharmacology of thyrotropin releasing hormone. *Rev. Clin. Bas. Pharmacol.*, 1987; 6: 315–327
- [97] Siren A.L., Lake C.R., Feuerstein G.: Hemodynamic and neural mechanisms of action of thyrotropin-releasing hormone in the rat. *Circ. Res.*, 1988, 62, 139–154
- [98] Sklar A.H., Schrier R.W.: Central nervous system mediators of vasopressin release. *Physiol. Rev.*, 1983; 63: 1243–1280
- [99] Skowsky W.R., Swan L.: Effects of hypothalamic releasing hormones in neurohypophyseal arginine vasopressin secretion. *Clin. Res.*, 1976; 24: 101
- [100] Sladek C.D., Knigge K.: Cholinergic stimulation of vasopressin release from the rat hypothalamo-neurohypophyseal system in organ culture. *Endocrinology*, 1977; 101: 411–420
- [101] Sowers J.R., Hershman J.M., Skowsky W.R., Carlson H.E.: Effect of TRH on serum arginine vasopressin in euthyroid and hypothyroid subjects. *Horm. Res.*, 1976; 7: 232–237
- [102] Taglavini S., Bertolini E., Bazzani C., Bertolini A., Guarini S.: Influence of TRH on regional blood flow and metabolic acidosis in a model of volume-controlled hemorrhagic shock in rats. *Neuropeptides*, 1991; 20: 233–238
- [103] Taylor T., Gyves P., Burgunder J.M.: Thyroid hormone regulation of TRH mRNA levels in rat paraventricular nucleus of the hypothalamus changes during ontogeny. *Neuroendocrinology*, 1990; 52: 262–267
- [104] Toni R., Jackson I.M.D., Lechan R.M.: Thyrotropin-releasing hormone-immunoreactive innervation of thyrotropin-releasing hormone-infundibular neurons in rat hypothalamus: anatomical basis to suggest ultrashort feedback regulation. *Neuroendocrinology*, 1990; 52: 422–428
- [105] Tsuruo Y., Ceccatelli S., Villar M.J., Hökfelt T., Visser T.J., Terenius L., Goldstein M., Brown J.C., Buchan A., Walsh J., Morris M., Sofroniew M.V., Verhofstad A.: Coexistence of TRH with other neuroactive substances in the rat central nervous system. *J. Chem. Neuroanat.*, 1988; 1: 235–253
- [106] Vacher C.M., Fretier P., Creminon C., Calas A., Hardin-Pouzet H.: Activation by serotonin and noradrenaline of vasopressin and oxytocin expression in the mouse paraventricular and supraoptic nuclei. *J. Neurosci.*, 2002; 22: 1513–1522
- [107] Wade C.E., Bie P., Keil L.C., Ramsay D.J.: Effect of hypertonic intracarotid infusions on plasma vasopressin concentration. *Am. J. Physiol.*, 1982; 243: E522–E526
- [108] Weitzman R.E., Firemark H.M., Glatz T.H., Fisher D.A.: Thyrotropin-releasing hormone stimulates release of arginine vasopressin and oxytocin *in vivo*. *Endocrinology*, 1979, 104, 904–907
- [109] Windle R.J., Forsling M.L., Guzek J.W.: Daily rhythm in the hormone content of the neurohypophysial system and release of oxytocin and vasopressin in the male rat: effect of constant light. *J. Endocrinol.*, 1992; 133: 283–290
- [110] Windle R.J., Forsling M.L., Smith C.P., Balment R.J.: Patterns of neurohypophysial hormone release during dehydration in the rat. *J. Endocrinol.*, 1993; 137: 311–319
- [111] Xiong J.J., Hatton G.I.: Differential responses of oxytocin and vasopressin neurons to the osmotic and stressful components of hypertonic saline injections: a Fos protein double labeling study. *Brain Res.*, 1996; 719: 143–153
- [112] Xu S., Guo S., Jiang X., Umezawa T., Hisamitsu T.: The role of norepinephrine and nitric oxide in activities of rat arginine vasopressin neurons in response to immune challenge. *Neurosci. Lett.*, 2005; 383: 231–235
- [113] Yagil C., Sladek C.D.: Osmotic regulation of vasopressin and oxytocin release is rate sensitive in hypothalamoneurohypophysial explants. *Am. J. Physiol.*, 1990; 258: R492–R500
- [114] Yarbrough G.G.: Thyrotropin releasing hormone and CNS cholinergic neurons. *Life. Sci.*, 1983; 33: 111–118
- [115] Zlokovic B.V., Segal M.B., Begley D.J., Davson H., Rakic L.: Permeability of the blood-cerebrospinal fluid and blood brain barriers to thyrotropin-releasing hormone. *Brain Res.*, 1985; 358: 191–199