

Serotonina cerebral y sistema hipotálamo-hipófiso-adrenal de la rata en el envejecimiento

P. Montilla*, M. Salcedo, M. C. Muñoz y M. C. Montilla

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina
Avda. Menéndez Pidal, s/n
14004 Córdoba (España)

(Recibido el 17 de julio de 1990)

P. MONTILLA, M. SALCEDO, M. C. MUÑOZ and M. C. MONTILLA. *Brain Serotonin and Hypothalamus-Pituitary-Adrenal System of the Rat in Aging*. Rev. esp. Fisiol., 47 (4), 187-192, 1991.

The role of brain serotonin (5HT) on the hypothalamus-pituitary-adrenal system (HPAs) under basal condition and after injections of p-chlorophenylalanine (pCPA) and L-5-hydroxytryptophan (L-5HTP) has been studied in 6, 12 and 28 month old male Wistar rats. Four experimental groups were made for each age: control, saline, injected with pCPA (250 mg/kg i.p) and L-5HTP (200 mg/kg i.p.), the effects being valued 2 hours after L-5HTP administration and 24 hours after pCPA injection. In all groups the plasmatic ACTH, the corticosterone levels as well as the simultaneous changes of the 5HT content tryptophanehydroxylase activity in whole brain were estimated two hours after the L-5HTP injection and 24 hours after that of pCPA. Significant changes are not found in the plasmatic ACTH and corticosterone values with respect to age under basal condition. Nevertheless, the response of HPAs differs with the age after pCPA or L-5HTP injection. The ACTH and corticosterone levels augment by L-5HTP and decrease by pCPA in all age groups, but this corresponding increase or decrease was less marked in the older rats. The 5HT content as tryptophanehydroxylase activity in brain decreased in old animals. pCPA and L-5HTP determine, respectively, high falls and rise of 5HT values, these changes being more intense for pCPA in old rats and for L-5HTP in young and mature animals. The tryptophanehydroxylase activity is decreased by pCPA as L-5HTP injections. The data suggest: declination of the brain serotoninergic activity in aging, no variation of the dynamic of the HPA axis related to age under basal condition and low significance of this fall of 5HT brain during aging for functional maintenance of HPA system.

Key words: 5HT brain, ACTH, Corticosterone, Aging.

* A quien debe dirigirse la correspondencia.

La serotonina (5HT) cerebral experimenta cambios en relación con la edad (15, 16). Estudios previos detectan descensos importantes de contenido cerebral de 5HT en la vejez, imputándose este decremento a una disminución de la síntesis en el sistema nervioso de triptofanohidroxilasa, enzima fundamental para la síntesis de 5HT a expensas de los aminoácidos precursores. También se ha descrito una disminución de los receptores 5HT-2 en hígado y áreas definidas del sistema nervioso central en sujetos humanos de avanzada edad y con tendencia al suicidio (14, 29).

El papel de 5HT central como modulador de diversas funciones neuroendocrinas es ya un hecho probado desde diferentes frentes de investigación (7, 17), destacando en tal aspecto la participación de 5HT como facilitadora de la función del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal (HHA), acción ejercida tanto a nivel hipotalámico, extrahipotalámico como periférico (1, 8, 27).

Se acepta que la edad determina un incremento de la liberación de glucocorticoides en la rata (12, 28), aunque es discutible y no se presenta en todas las especies (11, 13, 24, 25). El presente trabajo se ocupa de establecer en ratas jóvenes, maduras y viejas los posibles cambios de la 5HT central y el estado de la función hipotálamo-hipófiso-adrenal de la rata en diferentes edades, tanto en condiciones normales como bajo los efectos de sustancias que modifican la síntesis neuronal de 5HT, como la p-clorofenilalanina (pCPA) y el L-5-hidroxitriptofano (L-5HTP), inhibidor y facilitador, respectivamente, de la síntesis central de 5HT. Con ello, se trata de proporcionar nuevos datos al controvertido tema de la función HHA en el envejecimiento y el posible significado de la 5HT cerebral en esta relación.

Material y Métodos

Se han utilizado ratas Wistar machos de edades diferentes, sometidas en el curso

experimental a condiciones reguladas de temperatura (20-23 °C), iluminación (14 horas luz/14 horas oscuridad), alimentación integral y agua *ad libitum*.

Se organizaron cuatro grupos básicos: Controles, salinos, tratado con pCPA y con L-5HTP de ratas de 6, 12 y 28 meses. La dosis de pCPA fue única (250 mg/kg i.p.) como la de L-5HTP (200 mg/kg i.p.), valorándose sus efectos a las 24 horas en el caso de pCPA y a las 2 horas después la administración de L-5HTP. Los controles inyectados recibieron un volumen similar al de los grupos experimentales (pCPA o L-5HTP) de una solución de ClNa al 0,09 %. Las tomas se efectuaron a las 9 de la mañana, haciéndose coincidir las inyecciones con los períodos antes indicados. Tras decapitación, se estimaron los niveles plasmáticos de ACTH y corticosterona en muestras procedentes del tronco vascular del cuello. Inmediatamente después del sacrificio se procedió a la extracción de cerebros y a la elaboración de homogenados para ulterior determinación del contenido de 5HT y actividad de triptofanohidroxilasas en cerebro total.

Los niveles de corticosterona se determinaron por radioinmunoanálisis de acuerdo con el material y metódicas proporcionado por Cambridge Medical Technology, U.S.A. Los contenidos de 5HT se midieron por enzimoimmunoanálisis en fase sólida con anticuerpos marcados con acetilcolinesterasa con material y normas técnicas suministrados por Immunotech S. A., en extractos preparados según método ya descrito (23). La actividad triptofanohidroxilasa, expresada en ng de 5HT originados a partir del sustrato L-5HTP por mg de proteína en 1 hora de incubación, se valoró por método fluorimétrico (9). Las sustancias inyectadas fueron suministradas por Sigma. Con el fin de evitar posibles efectos periféricos de las neuronas de 5HT, en los animales tratados, dos horas antes se administró bencerasida.

El tratamiento estadístico se hizo según el test de la «t» de Student.

Resultados

Tanto el contenido de 5HT como la actividad de triptófanohidroxilasa en cerebro total (fig. 1) descienden en el lote de animales de 28 meses, respecto a los de 6 y 12 meses, que no mostraron entre sí diferencias significativas. La administración de pCPA y de L-5HTP desciende y aumenta, respectivamente, los niveles de 5HT en todos los grupos, siendo mayores los descensos producidos por pCPA en los animales viejos, y menores los incrementos por L-5HTP. La administración de estas sustancias determina descensos de la actividad enzimática en todos los grupos.

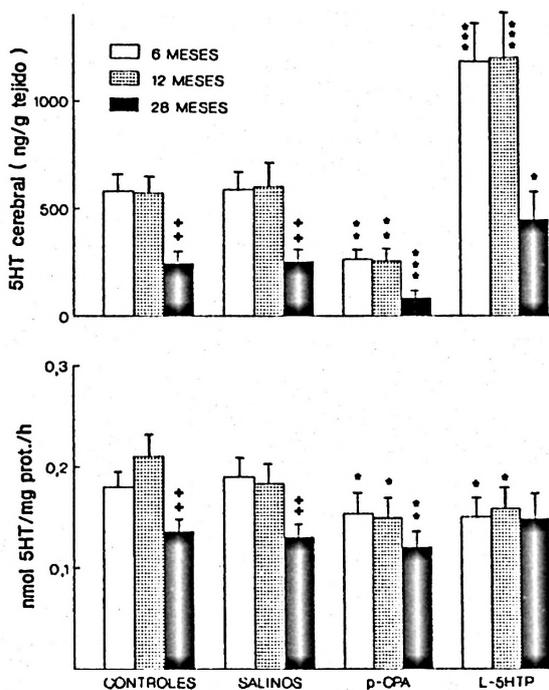


Fig. 1. Efecto de la edad y de la administración de p-CPA y L-5HTP sobre el contenido de 5HT y la actividad triptófano hidroxilasa cerebral.

Los valores representan la media ± error estándar. Número de animales por grupo, 6. Significación estadística vs controles y salinos respectivos: * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001; ++ p < 0,01 vs controles y salinos de 6 y 12 meses.

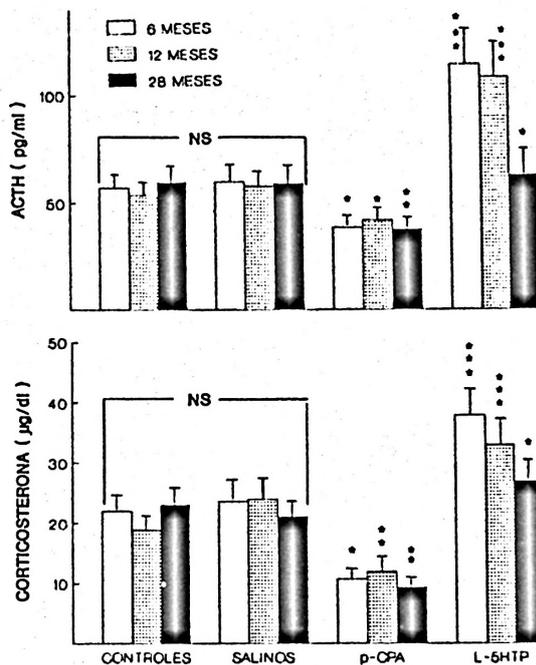


Fig. 2. Efecto de la edad y de la administración de p-CPA y L-5HTP sobre los valores plasmáticos de corticosterona y ACTH.

Media ± error estándar. Significación estadística vs controles y salinos respectivos: * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001.

Los niveles de ACTH y de corticosterona (fig. 2) descendieron significativamente por la administración de pCPA en las tres edades, siendo más intenso este cambio en el grupo de 28 meses. El L-5HTP determinó el efecto inverso, pero con menor respuesta en los animales viejos.

Discusión

Los resultados expuestos sugieren que en el envejecimiento se produce un descenso de 5HT que está muy posiblemente ligado a una disminución de la actividad triptófanohidroxilasa.

Este descenso de 5HT cerebral podría

deberse a un aumento de la actividad de las monoaminooxidasas (MAO) encargadas de degradar la 5HT a ácido 5-hidroindolacético. Sin embargo, no concuerda con los resultados obtenidos en este ni en otros estudios (10, 19) que detectan descensos de actividad triptófanohidroxilasa sin cambios sustanciales de MAO y cotas de 5HIA en líquido cefalorraquídeo.

No todas las referencias estudiadas son coherentes con los resultados aquí expuestos, siendo muy numerosas las que apuntan en el sentido de que si bien la noradrenalina y la dopamina descienden significativamente con el envejecimiento, la 5HT permanece inalterable, aunque sí se acepta una disminución en la sensibilidad de sus receptores centrales (13, 20, 26).

En favor de nuestros datos, conviene señalar que en los referidos trabajos las edades de las ratas utilizadas fueron siempre inferiores a 28 meses.

De entre los característicos efectos observados con pCPA o L-5HTP, sobre el contenido de 5HT y la actividad del enzima, destacan la gran sensibilidad al inhibidor y la menor respuesta al aminoácido precursor en el grupo experimental de más edad, especialmente en el contenido de 5HT cerebral. Tanto la pCPA como la L-5HTP, descienden la actividad de triptófanohidroxilasa, efectos en gran coherencia con estudios ya clásicos referentes al metabolismo cerebral y periférico de la 5HT (3).

Los niveles de ACTH y de corticosterona en las diferentes edades de controles y salinos no muestran diferencias significativas, fenómeno en acuerdo con recientes estudios (13), pero que no descartan las hipótesis que apunten modificaciones de la sensibilidad en los mecanismos de control y de los receptores de glucocorticoides en hipocampo, relacionados con la secreción de ACTH (5, 21, 22), si se considera que la secreción de corticosterona sólo se modifica en la rata durante la tarde y no en la mañana (6), en la que se midieron los niveles de ACTH y de corticosterona. Estos

resultados ponen de manifiesto la existencia de una caída de la actividad serotoninérgica en el tejido cerebral y que la función HHA en condiciones basales no se altera en el envejecimiento. Tampoco, en la rata de 24 meses, se han encontrado cambios en relación con la actividad circadiana de este sistema (24), aunque estudios posteriores no parecen confirmarlo (13).

En la rata de 28 meses se observan cambios importantes de la respuesta del eje HHA a manipulaciones experimentales que implican cambios en el metabolismo cerebral de 5HT, caracterizándose la misma por una gran inhibición frente a la pCPA y escasa reacción al estímulo por L-5HTP, efecto que en su conjunto habla en favor de una menor acción moduladora de 5HT cerebral sobre el sistema HHA, aunque tal descenso no parece ser fundamental para la secreción basal de ACTH y corticosterona.

Resumen

Se estudia en ratas Wistar machos de 6, 12 y 28 meses de edad la influencia de la serotonina central en la función hipotálamo-hipófiso-adrenal (HHA) en condiciones basales y tras la administración de p-clorofenilalanina (p-CPA) y la L-5-hidroxitriptófano (L-5HTP). Se forman cuatro grupos experimentales para cada una de las edades: controles, salinos, p-CPA (250 mg/kg i.p.) y L-5HTP (200 mg/kg i.p.). A las 2 horas de la inyección de L-5HTP y a las 24 de p-CPA se valoran la 5HT y la actividad triptofanohidroxilasa en cerebro total y los niveles plasmáticos de ACTH y de corticosterona. El sacrificio de los animales se realiza a las 9 de la mañana. A los 28 meses se detectan caídas significativas del contenido de 5HT y de la actividad enzimática. El efecto de L-5HTP sobre la 5HT cerebral es más acusado en los animales de 6 y 12 meses y el de la p-CPA en los de 28. Los niveles de ACTH y de corticosterona no difieren respecto a la edad, pero el efecto estimulador por la L-5HTP es

más intenso en los grupos más jóvenes, al revés que para p-CPA. Los resultados sugieren que hay disminución de la actividad serotoninérgica central en la vejez, que no se altera la actividad basal del eje HHA con la edad, y la escasa relevancia del descenso de 5HT central en el mantenimiento de la actividad basal de este eje neuroendocrino.

Palabras clave: 5HT cerebral, ACTH, Corticosterona, Envejecimiento.

Bibliografía

- Alper, R. H.: *Neuroendocrinology*, 51, 255-260, 1990.
- Bucht, G., Adolfson, R., Gottfries, C. G. y Winblad, B.: *J. Neural. Transm.*, 51, 185-203, 1981.
- Calson, A.: En «Aromatic aminoacids in the brain». Elsevier eds. Excerpta-Medica eds. North-Holland. Amsterdam. 1974. pp. 117-152.
- Cochra, E., Robins, E. y Grote, S.: *Biol. Psychiat.*, 11, 283-294, 1976.
- De Kloet, E. y Reul, J.: *Psyconeuroendocrinology*, 12, 83-105, 1987.
- De Kosky, S., Scheff, S. y Cotman, C.: *Neuroendocrinology*, 38, 33-38, 1984.
- Fuller, R. W.: *Neuroendocrinology*, 32, 118-127, 1981.
- Fuller, R. W. y Snoddy, H. D.: *Neuroendocrinology*, 32, 96-100, 1980.
- Gal, E. y Patterson, K.: *Anal. Biochem.*, 52, 625-629, 1973.
- Gottfries, C., Gottfries, I., Johanson, S., Olsson, R., Person, T., Roos, B. y Sjostron, R.: *Neuropharmacology*, 10, 665-672, 1971.
- Hess, G. D. y Riegler, G. D.: *Am. Physiol.*, 222, 1458-1462, 1972.
- Landfield, P., Sundberg, D., Smith, M., Eldridge, J. y Morris, C.: *Peptides*, 1, 184-189, 1980.
- Lorens, S., Hata, N., Handa, R. et al.: *Neurobiol. Aging*, 11, 139-150, 1990.
- Mann, J., Petito, C., Stanley, M., McBride, P., Chin, J. y Philgene, A.: En «Clinical and pharmacological studie in psychiatric disorders». (Burrows, G. D., Norman, T. y Dennerstein, R., eds.) John Libbey and Co. Ltd. Londres 1985. pp. 37-39.
- Meek, J., Bertilsson, L., Cheney, D., Zsilla, G. y Costa, E.: *J. Gerontol.*, 32, 129-131, 1977.
- McIntosh, J. L.: *Am. J. Orthopsychiatry*, 55, 188-193, 1985.
- Muller, E. y Nistico, G.: En «Brain messengers and the Pituitary» (Muller, E. ed.). Academic Press. San Diego. 1989.
- Ponzio, F., Calderini, G., Lomuscio, G., Vantini, G., Toffano, G y Algeri, S.: *Neurobiol. Aging*, 3, 23-29, 1982.
- Post, R., Ballenger, J. y Goodwin, F.: En «Neurobiology of mood disorders» (Post, R. y Ballenger, J., eds.) Williams and Wilkins, Baltimore. 1984, pp. 685-717.
- Pradhan, S.: *Life. Sci.*, 2, 1643-1656, 1980.
- Reul, J. y De Kloet, E.: *J. Steroids Biochem.*, 24, 269-272, 1986.
- Reul, J., Tonnaer, J. y De Kloet, E.: *Neurobiol. Aging*, 9, 253-260, 1988.
- Shellenberger, M. y Gordon, J.: *Analyt. Biochem.*, 39, 356-372, 1971.
- Sontag, W., Golisz, A., Brodish, A. y Eldridge, J.: *Endocrinology*, 120, 2308-2315, 1987.
- Tang, F. y Phillips, J. J.: *J. Gerontol.*, 33, 177-179, 1978.
- Timiras, P., Hudson, S. y Segall, P.: *Neurobiol. Aging*, 5, 235-242, 1984.
- Van der Kar, L., Wilkinson, C. y Ganog, W.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 219, 85-90, 1981.
- Wexler, B. y Mc Murtry, J.: *J. Gerontol.*, 38, 148-151, 1983.
- Wong, B., Wagner, H., Dannals, R. et al.: *Science*, 226, 1393-1396, 1984.

