

Efecto del consumo crónico de alcohol sobre el eje hipotálamo-hipofiso-testicular en la rata

A. Mateos, J. Feroso, C. Agrasal*, I. Martín, J. Paz-Bouza**,
J. A. F. Tresguerras*** y A. I. Esquifino*

Departamento de Medicina Interna
Hospital Clínico
Facultad de Medicina
Salamanca

(Recibido el 7 de marzo de 1986)

A. MATEOS, J. FEROSO, C. AGRASAL, I. MARTIN, J. PAZ-BOUZA, J. A. F. TRESGUERRES and A. I. ESQUIFINO. *Effect of Chronic Alcohol Abuse on the Hypothalamic Pituitary Testicular Axis in Rat*. Rev. esp. Fisiol., 43 (1), 33-38, 1987.

An experimental model of chronic alcohol abuse is developed, in order to study the hypothalamic-pituitary testicular axis in the rat. For this purpose basal plasma prolactin, gonadotropins, testosterone and estradiol have been measured. Also these hormones were studied after LHRH or hCG stimulation. This experimental model allows us to study the role of alcohol in hypogonadism induction. Chronic alcohol administration resulted in an inconstant decrease in plasma testosterone levels and very diminished response of it to hCG. Along with these modifications, there was an increase in basal plasma estrogen levels, as has been shown in the human. The decrease in plasma LH levels in alcoholic rats together with a normal response to LHRH suggest a toxic role of alcohol at higher levels than the pituitary. The existence of a hyperprolactinemic state under chronic alcohol ingestion is confirmed. The decrease in plasma prolactin levels after LHRH administration suggests that prolactin and gonadotropin secretion are very closely related.

Key words: Prolactin, LH, FSH, Testosterone, Estradiol, LHRH, hCG, Alcohol.

La ingestión crónica de alcohol, tanto en el hombre como en otros mamíferos, altera la función gonadal (6, 24, 27). Sin embargo, existen datos muy dispares de

esta alteración (12, 14, 16, 17, 20, 25, 29), debido a una falta de criterio en la selección de pacientes (22, 28, 31) y a la utilización de distintas metodologías en la inducción del modelo experimental (3, 8, 11, 12).

El motivo de este trabajo ha sido el estudio del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal en condiciones de intoxicación alcohólica crónica en un modelo experimental en la rata, que no presente deficiencias nutritivas ni vitamínicas, me-

Correspondencia a Dr. A. I. Esquifino.

* Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina. Universidad Complutense. 28040 Madrid.

** Departamento de Anatomía Patológica, Hospital Clínico. Facultad de Medicina. Salamanca.

*** Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. 28040 Madrid.

dianite la determinación de hormonas hipofisarias y gonadales en condiciones basales y tras estímulos específicos.

Material y Métodos

Animales. — Se han utilizado ratas macho, Wistar, de 60-75 días de edad. Los animales se mantuvieron en condiciones controladas de luz/oscuridad (12:12) y temperatura de 23°C durante todo el experimento. Tres grupos de veinte ratas se alimentaron durante seis semanas con diferentes dietas: el grupo control con pienso pellets (Panlab), el grupo *pair fed* con dieta líquida sintética (11), y el grupo alcohol con dieta líquida isocalórica conteniendo un 36% del aporte calórico en alcohol.

Obtención de muestras. — Todos los animales fueron decapitados, con el mínimo estrés previo. La sangre troncular se recogió en tubos heparinizados que se centrifugaron inmediatamente después a 4°C (1.500 g) y el plasma se alicuotó y se almacenó a -20°C hasta el momento de su valoración.

Los valores plasmáticos de LH, FSH y PRL fueron medidos por radioinmunoanálisis específicos de doble anticuerpo utilizando materiales suministrados por el NIAMDDK a través de la National Pituitary Agency (Baltimore, MD, U.S.A.) y previamente validados en el laboratorio (23).

La testosterona y el estradiol plasmáticos fueron cuantificados mediante Kits comerciales de doble anticuerpo (SORIN), y también comprobados en el laboratorio (datos no publicados).

Para el test LHRH se obtuvieron muestras basalmente y a los 30 minutos de la administración i.p. de 1 µg de LHRH sintético (Luforan Perya) disuelto en 200 µl de solución salina para la determinación plasmática de LH, FSH y PRL.

Para el test hCG se obtuvieron muestras basalmente y a los 120 min de la

administración i.v. de 25 U.I. de hCG (Physex-Leo), para cuantificación plasmática de testosterona.

En las tomas basales se determinaron los niveles plasmáticos de E₂.

Análisis estadístico. — Los resultados fueron analizados por el test de la U de Mann-Whitney.

Estudio morfológico hepático. — Se tomaron muestras de hígado de cada uno de los grupos de ratas fijándose en formol al 10% con posterior inclusión en parafina. Los cortes de los bloques se realizaron con microtomo Leitz en secciones de 5 mm de espesor, tiñéndose con técnicas de hematoxilina-eosina, PAS y tetracómico de MASSON y WILDER.

Resultados

El estudio histológico del hígado de los animales que estaban tomando alcohol en la dieta, presentaban esteatosis hepática respecto de los grupos controles (fig. 1).

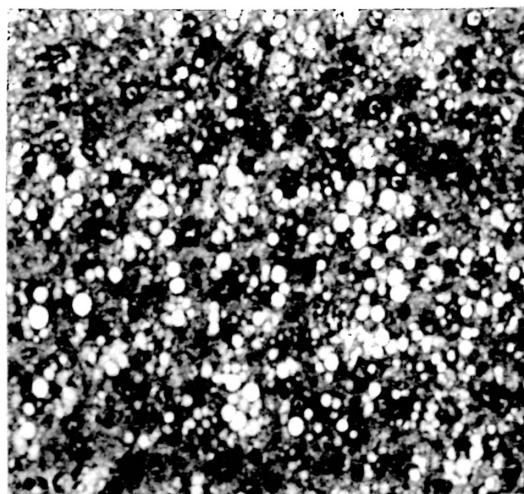


Fig. 1. Esteatosis hepática en los animales crónicamente alcoholizados.

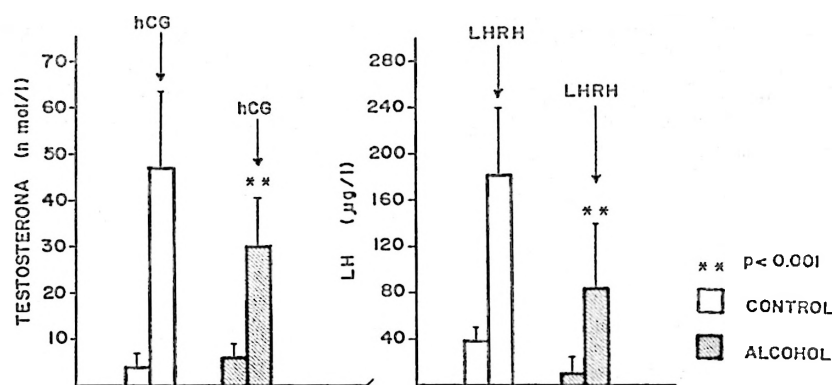


Fig. 2. Concentraciones plasmáticas de testosterona y LH en condiciones basales y tras el estímulo hCG y LHRH, respectivamente.

La administración durante seis semanas de una dieta líquida sin alcohol (grupo *pair-fed*) no produjo alteraciones en las hormonas estudiadas. Los niveles de testosterona plasmática disminuyeron en dos de las diez ratas alimentadas con dieta líquida conteniendo alcohol y, en el resto, fueron similares a los del grupo control. El valor medio de testosterona plasmáticas en el grupo alcohol ($5,3 \pm 2,5$ nmol/l) no presentó variación estadísticamente significativa con el grupo control ($3,6 \pm 1,4$ nmol/l) (fig. 2). Sin embargo, la respuesta de testosterona al test de hCG disminuyó en el grupo de ratas alcoholizadas ($29,4 \pm 10,2$ vs. $45,9 \pm 15$ nmol/l).

Después de la administración crónica de etanol, los valores basales de LH esta-

ban marcadamente disminuidos ($p < 0,01$). El estímulo con LHRH produjo una respuesta de LH menor que en el grupo control y que fue estadísticamente significativa (84 ± 54 vs. 181 ± 83 µg/l) (fig. 2), aunque teniendo en cuenta los valores basales del grupo alcohol para LH, la respuesta al LHRH es incluso mayor que la del grupo control.

Los niveles plasmáticos de estradiol, observados en el grupo alcohol, con un valor medio de 202 ± 41 nmol/l estaban elevados significativamente (172 ± 26 nmol/l) frente a los del grupo control (fig. 3).

El valor medio de prolactina plasmática en el grupo alcohol estaba elevada ($11 \pm 3,5$ vs. $6 \pm 2,4$ µg/l) significativamente respecto al grupo control. La administra-

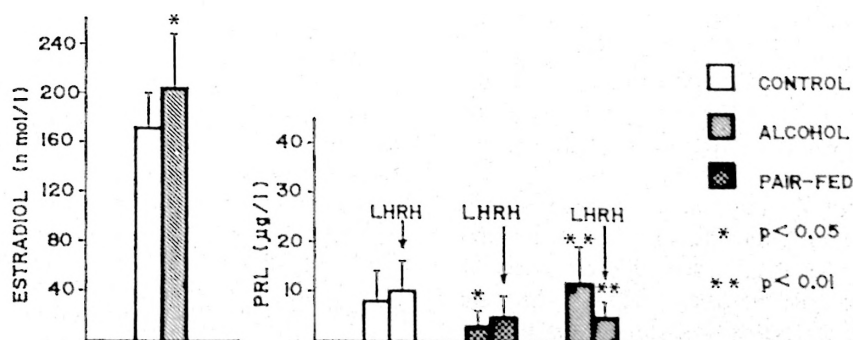


Fig. 3. Niveles plasmáticos de estradiol y concentraciones basales de prolactina y estímulo con LHRH.

ción de una dieta líquida sin alcohol produjo, sin embargo, un descenso de prolactina. Tras la administración de LHRH los niveles plasmáticos de prolactina descendieron en el grupo alcohol (fig. 3) de forma significativa.

Discusión

La administración crónica de etanol durante 6 semanas, produjo un descenso inconstante en los valores plasmáticos de testosterona considerando los valores individualizados de cada animal. La existencia de una disminución marcada en la respuesta de testosterona al hCG, confirmó otros datos (1, 30) que sugerían una acción directa del etanol a nivel gonadal.

El consumo crónico de alcohol indujo un marcado descenso en los niveles plasmáticos de LH que coinciden con los descritos por otros autores (2), aunque existen datos en los que no se ha podido demostrar dicha disminución (8). La existencia de respuesta a la estimulación con LHRH sugiere que el etanol podría ejercer su acción tóxica a niveles suprahipofisarios (4).

También se ha observado una hiperestrogenemia estadísticamente significativa que, aunque coincide con otros autores (26) no todos la encuentran (24). Estos resultados pueden explicarse por la existencia de una alteración en el aclaramiento metabólico por deficiencia en la hidrolasa hepática (10) y la aparición de un mayor número de receptores estrogénicos (7), así como un aumento en la tasa de conversión de andrógenos a estrógenos (9) o la inhibición de la síntesis de testosterona (23).

La hiperprolactinemia encontrada tras el consumo crónico de alcohol confirma datos que muestran este efecto tanto *in vivo* (12) como *in vitro* (21) y que se podría explicar sobre las siguientes bases: que el alcohol altera los mecanismos de transmisión dopaminérgica (5, 30) y por

las modificaciones en la transmisión serotoninérgica (15) o acetilcolinérgica (13).

Sin embargo, no se puede olvidar la existencia de una hiperestrogenemia en nuestro modelo que podría estar actuando también, elevando los niveles de prolactina y produciendo, por tanto, una hiperplasia de las células lactotropas (23), ya que un efecto de estrés queda descartada al no encontrarse hiperprolactinemia en el grupo *pair-fed* (18, 19).

La disminución de prolactina tras la administración de LHRH en ratas alcohólicas crónicas confirma estudios previos en otros modelos de hiperprolactinemia (23).

Se constata la validez del modelo experimental al garantizar con la dieta líquida el aporte calórico y vitamínico adecuado, del que carecen los animales que toman el alcohol por otras vías. Se esperan 6 semanas para realizar este estudio ya que es el tiempo en que se consigue la aparición de la esteatosis hepática sin fibrosis que es característica de este síndrome, así como las alteraciones endocrinas que se describen. Y, por tanto, se considera que el modelo aquí descrito es el adecuado para tratar de elucidar los mecanismos moleculares por los que el consumo crónico de alcohol induce hipogonadismo en la rata macho.

Resumen

Se desarrolla un modelo experimental de alcoholismo crónico con esteatosis, sin cirrosis hepática, que permite el estudio del eje hipotálamo-hipófisis-gónada mediante la determinación de gonadotropinas testosterona y estradiol en condiciones basales y tras estímulo LHRH y hCG a fin de valorar el grado de reserva funcional hipofisaria-testicular. El modelo experimental permite determinar el papel etiológico del alcohol en la génesis del hipogonadismo. La administración crónica de etanol origina un descenso variable de testosterona plasmática y una débil respuesta de dicha hormona tras el estímulo con hCG. Este modelo desarrolla también la hiperestrogenemia del paciente alcohólico. La disminución de las concentraciones basales de LH en el

grupo alcohol, junto con el mantenimiento de la secreción de LH tras el estímulo con LHRH, sugiere una acción tóxica del etanol a nivel suprahipofisario. Se confirma la acción hiperprolactinémica del alcohol descartándose la implicación del estrés en la misma, al no encontrarse en el grupo *pair-fed*. El descenso de prolactina tras el estímulo LHRH sugiere una relación entre la secreción de gonadotrofinas y prolactina.

Palabras clave: Prolactina, LH, FSH, Testosterona, Estradiol, LHRH, hCG, Alcohol.

Bibliografía

1. Bhalla, V., Chen, C. y Gnanaprakasam, M.: *Life Sci.*, 24, 1315-1321, 1979.
2. Cicero, T. J. y Badger, T. M.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 201, 427-433, 1976.
3. Cicero, T. J., Bermstein, D. y Badger, T. M.: *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 2, 249-254, 1978.
4. Cicero, T. J., Meyer, E. y Bell, R.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 208, 210-215, 1979.
5. Corrodi, H., Fuxe, K. y Hokfelt, T.: *J. Pharm. Pharmacol.*, 18, 821-823, 1966.
6. Distiller, L., Sagel, J., Dubowitz, B., Kay, G., Carr, P., Katz, M. y Kew, M.: *Horm. Metab. Res.*, 8, 461-465, 1976.
7. Eagon, P., Zdunek, J., Van Thiel, D., Singletary, B., Egler, K., Gavalier, J. y Porter, L.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 211, 48-54, 1981.
8. Gavalier, J., Van Thiel, D. y Lester, R.: *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 4, 271-276, 1980.
9. Gordon, G., Altman, K., Southren, A., Rubin, E. y Lieber, C.: *N. Engl. J. Med.*, 295, 793-797, 1976.
10. Hoffoman, A., Majchrowicz, E., Poth, M. y Paul, S.: *Life Sci.*, 29, 789-794, 1981.
11. Lieber, C., y Decarli, L.: *Fed. Proc.*, 35, 1232-1236, 1976.
12. Marco, J., Leandro, S., Villa, I., Esquifino, A. y Larralde, J.: *Rev. esp. Fisiol.*, 39, 7-12, 1983.
13. Moss, J., Smith, R. y Beck, H.: *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 108, 235-238, 1967.
14. Mowat, N., Edwards, C. y Fisher, R.: *Gut*, 17, 345-350, 1976.
15. Muller, E., Nistico, G. y Scapagnini, V.: En «Neurotransmitters and Pituitary Function». Academic Press. Nueva York, 1978.
16. Rallo, A., Feroso, J., Ramos, F., González Calvo, V. y Marañón, A.: *Prensa Med. Mex.*, 44, 136-144, 1979.
17. Rubio-Pérez, P., de Pablos, I., Gallardo, J. y Sánchez-Sánchez, M.: *Rev. Clin. Esp.*, 167, 317-320, 1982.
18. Shin, S.: *Life Sci.*, 25, 1829-1835, 1979.
19. Siegel, R., Conforti, N. y Chowers, I.: *Brain Res.*, 198, 43-53, 1980.
20. Solís-Herruzo, J., González-Gamarra, A., Ruiz-Morales, J., Fernández-Salas, C., Larrodera, L., Martínez Fernández, A. y Valdívieso, L.: *Gastroenterol. Hepatol.*, 7, 312-320, 1984.
21. Thorner, M., Kiak, C. y MacLeod, R.: *Fed. Proc.*, 37, 637-642, 1978.
22. Toro, G., Kolddny, R., Jacobs, L., Masters, W. y Daughday, W.: *Clin. Res.*, 21, 505-509, 1973.
23. Tresguerres, J., Esquifino, A., Pérez-Méndez, L. y López-Calderón, A.: *Endocrinology*, 108, 83-87, 1981.
24. Van Thiel, D., Lester, R. y Sherins, R.: *Gastroenterology*, 67, 1188-1199, 1974.
25. Van Thiel, D. y Lester, R.: *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 2, 265-270, 1978.
26. Van Thiel, D., y Loriaux, D.: *Metab. Clin. Exp.*, 28, 536-541, 1979.
27. Van Thiel, D., Gavalier, J., Eagon, P., Chiao, Y., Cobb, C. y Lester, R.: *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 13, 125-129, 1980.
28. Van Thiel, D., Gavalier, J. y Spero, J.: *Hepatology*, 1, 39-46, 1981.
29. Van Thiel, D. y Gavalier, J.: *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 6, 179-185, 1985.
30. Van Thiel, D.: *J. Lab. Clin. Med.*, 101, 21-33, 1983.
31. Ylikahari, R., Huttunen, M. y Harkonen, M.: *The Lancet*, 1, 1353-1354, 1976.

