

## Influencia del complejo habenular sobre la secreción cíclica de corticosterona plasmática en la rata

P. Montilla, M. C. Muñoz y M. C. Bellido

Departamento de Bioquímica  
Facultad de Medicina  
Universidad de Córdoba  
Córdoba (España)

(Recibido el 7 de diciembre de 1981)

P. MONTILLA, M. C. MUÑOZ and M. C. BELLIDO. *Influence of Habenular Complex on the plasmatic Corticosterone Secretion in Rat*. Rev. esp. Fisiol., 38, 333-338. 1982.

The effect of bilateral lesion of the medial and lateral habenular nuclei on the corticosterone plasmatic levels determined at 8 a.m. and 5 p.m. was studied in adult female rats 30, 60 and 90 days after the lesion. 30 days after the lesion a drop in plasmatic values and the suppression of the normal diurnal fluctuation in corticosterone plasmatic levels were found. At 60th day these changes still persist. At 90th day, the corticosterone levels and its daily fluctuations reversed to normal values. These data suggest that the habenular complex is a nervous area participant in the activity modulation of the hypothalamus pituitary-adrenal system. The possible role of the habenular nuclear complex in the maintenance of the rhythm is discussed taking into account its afferent and efferent connections, especially with the olfactory system and the limbic ventral tegmental area, whose direct involvement in this rhythm has been shown.

El sistema hipófiso-adrenal muestra en determinadas especies animales una actividad cíclica en el curso del día (2), siendo esta función controlada de forma básica por el sistema nervioso (6). Sin embargo, queda por establecer la importancia de muchas estructuras neurales del cerebro, en el mantenimiento de la mencionada actividad circadiana.

Las lesiones que afectan a áreas más o menos extensas del hipotálamo anterior (24) y de la región supraquiasmática (20), así como el aislamiento de la porción mediobasal del hipotálamo (zona hi-

poisotrópica) de las aferencias procedentes de la región anterior del cerebro (9, 21), alteran o bloquean la actividad circadiana del sistema hipotálamo-hipófiso-adrenal. También ha sido estudiada en este sentido, la participación del fórnix (18) septum (23, 26) e hipocampo (15), aunque el papel de estas estructuras han sido puestas en tela de juicio a tenor de investigaciones posteriores (11, 13, 27, 28).

Este trabajo tiene como principal objetivo explorar el posible papel del área epitalámica del cerebro, especialmente de los núcleos habenulares, en las variacio-

nes cíclicas de la corticosterona plasmática de la rata, tomando como punto de partida y motivación de este experimento, la estrecha relación anatómica y funcional que mantienen los núcleos habenulares con otros núcleos habenulares, con otros núcleos y áreas del cerebro comprometidas en la regulación de las distintas modalidades de secreción de la hormona adrenocorticotropa (ACTH), cual es el caso de los bulbos olfatorios, septum y la región preóptica, con los que el complejo habenular está relacionado mediante la estria medular (7, 8, 17) y con la zona mesencefálica límbica con la que establece conexión eferente por medio del haz habenulotegmental (25).

### Material y métodos

Se han utilizado ratas Wistar de seis meses de edad y de un peso medio aproximado a los 350 g. En el transcurso de la investigación, todos los grupos de animales fueron sometidos a condiciones idénticas de iluminación (14 h de luz/10 de oscuridad), temperatura controlada alrededor de los 23° C, alimentación integral y agua *ad libitum*.

Los animales fueron distribuidos del modo siguiente: intactos, falsamente lesionados o lesionados en blanco y lesionados bilateralmente en habénula. De este último grupo se hicieron tres subgrupos, según la supervivencia: 30, 60 y 90 días, respectivamente. Número de animales en tabla I.

La lesión bilateral fue efectuada por electrocoagulación en animal previamente anestesiado con pentotal sódico (25 mg/kg peso v.i.). Fijada la cabeza en un dispositivo estereotáxico, diseñado para ratas, se introdujo un electrodo de acero inoxidable de 1 mm Ø, aislado con epoxilita hasta 1 mm del extremo en contacto con la zona de lesión; por el electrodo se hizo pasar una corriente anódica de 3 mA durante 20 s. Los planos y coordenadas uti-

lizados en la verificación de las lesiones han sido los indicados en el atlas de ALBE-FESSARD *et al.* (1). Dada la longitud del complejo habenular se efectuaron en el sentido de la coordenada anteroposterior dos puntos de lesión consecutivos, distantes entre sí lo correspondiente al diámetro del electrodo. En la figura 1 se representa esquemáticamente la localización y extensión de un corte cuyas coordenadas se indican.

Al grupo de lesionados en blanco se sometió a idénticas maniobras quirúrgicas que los lesionados y fue igualmente introducido el electrodo, pero no se hizo pasar a través de él la corriente eléctrica.

Finalizados los correspondientes períodos de 30, 60 ó 90 días, se extrajeron por punción yugular muestras sanguíneas a dos horas del día: 8 a.m. y 5 p.m. Inmediatamente se procedió a la decapitación de los animales y a las extracciones de cerebros, para posterior estudio histológico. La corticosterona plasmática fue estimada por método fluorimétrico (29).

El estudio histológico de las lesiones se efectuó en cortes seriados de 25  $\mu$  de espesor, incluidos en parafina, y teñidos mediante la técnica de violeta de cresilo.

### Resultados

Dado que las variaciones son diferentes según el lapso temporal de las lesiones, la exposición de resultados se hace en relación a la variación del factor tiempo.

*A los 30 días:* Los valores de corticosterona de la mañana y tarde descendieron tras la lesión bilateral de los núcleos habenulares, siendo la caída especialmente significativa para los valores de la tarde ( $p < 0,001$ ) respecto al homónimo grupo de intactos.

Este efecto determina una anulación del ritmo de corticosterona en esta especie animal, caracterizada por una elevación considerable de los valores del esteroide

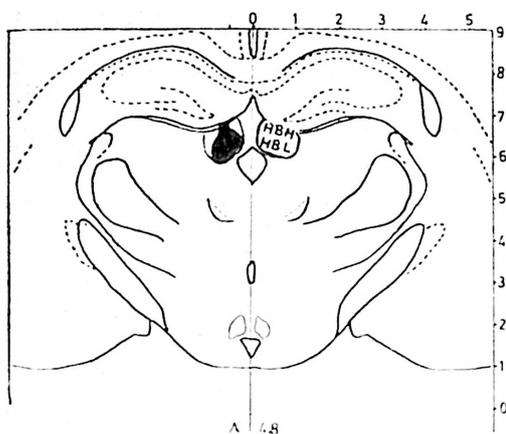


Fig. 1. Localización de la lesión de los núcleos medial y lateral de la habénula. Coordenadas estereotáxicas según el atlas de ABE-FESSARD *et al.* (1).

entre las 4 y 8 p.m. Los valores de la mañana también han sido afectados por la lesión, produciéndose un descenso de los mismos, aunque de débil significancia ( $p < 0.05$ ).

*A los 60 días:* Los efectos anteriormente mencionados persisten a los 60 días, si bien la caída vespertina es menos significativa que a los 30 días, con un valor de  $p < 0.01$  frente al de  $p < 0.001$  exhibido por este último grupo. Los valores de la mañana ascienden respecto a los lesionados del grupo anterior y la diferencia respecto al grupo intacto y lesionados en blanco no es significativa. Pudiera hablarse de una recuperación del ritmo, ya que los valores de mañana y tarde establecen una diferencia con un valor de ( $p < 0.05$ ).

Tabla I. Efecto de la lesión del complejo habenular sobre los niveles basales y cíclicos de corticosterona a los 30, 60 y 90 días de efectuada la lesión.

Media  $\pm$  error estándar. Número de animales, entre paréntesis. a.m.: antes del mediodía. p.m.: después del mediodía. Valor de «p» calculado según el valor de *t* de Student.

Grupos experimentales	$\mu\text{g}$ de corticosterona/100 ml de plasma	Valores de p		
		a	b	c
<i>Intactos</i>				
8 a.m.	28,35 $\pm$ 1,74 (12)			
5 p.m.	46,24 $\pm$ 1,89 (12)	0,001		
<i>Lesión blanco</i>				
8 a.m.	25,82 $\pm$ 2,04 (10)		NS	
5 p.m.	43,51 $\pm$ 2,50 (10)	0,001	NS	
<i>Lesión habénula</i>				
A los 30 días:				
8 a.m.	22,57 $\pm$ 1,83 (11)		0,05	
5 p.m.	29,70 $\pm$ 2,22 (10)	NS	0,001	0,01
A los 60 días:				
8 a.m.	25,08 $\pm$ 2,14 (11)		NS	
5 p.m.	33,65 $\pm$ 1,92 (10)	0,05	0,01	0,01
A los 90 días:				
8 a.m.	31,12 $\pm$ 2,33 (12)		NS	
5 p.m.	40,55 $\pm$ 2,48 (10)	0,01	0,05	NS

a: Valor p entre a.m. y p.m. de cada grupo.  
 b: Valor de p entre a.m. y p.m. de intactos con los respectivos de los otros grupos.  
 c: Valor p entre a.m. y p.m. de lesión blanco respecto a lesionados.  
 NS: No significativo.

*A los 90 días:* Transcurrido este tiempo sólo persiste un discreto descenso de los valores de la tarde ( $p < 0,05$ ) en tanto que los valores de la mañana se recuperan, haciéndose incluso superiores a los de los grupos controles de intactos y falsamente lesionados, de tal modo que el ritmo cíclico de corticosterona presenta las características habituales propias de esta especie animal con diferencias significativas entre los valores de la mañana y tarde, que en el caso de los 90 días consecutivos a la lesión es de  $p < 0,01$ .

Los animales que figuran en la tabla I son sólo aquellos en que el estudio histológico reveló lesiones bien circunscritas a los núcleos habenulares y que afectó al complejo en una extensión superior al 60 %.

### Discusión

La lesión bilateral de los núcleos lateral y medial de la habénula produce, según los anteriores resultados, cambios que afectan a los niveles cíclicos de corticosterona plasmática. Cambios que son muy evidentes a los 30 días de lesión y que persisten con menor notoriedad hasta los 90 días.

A los 30 días es evidente el descenso cuantitativo de secreción y la pérdida de conducta cíclica de liberación de corticosterona. Esto traduce un cambio en la actividad del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal tanto en lo referente a la secreción basal y circadiana como a la puesta en marcha de este sistema.

Los mecanismos de estos cambios acontecidos tras la destrucción del complejo habenular son difíciles de establecer sin acudir a las relaciones anatómicas indicadas en la introducción. Como se indicó, el epítalamo recibe fundamentalmente información de los bulbos olfatorios y del área olfativa a través de la estricta medular. Mediante procedimientos de lesión y estimulación se ha evidenciado que los bul-

bos olfatorios participan en la secreción cuantitativa y cíclica de corticosterona (3, 5, 12, 14, 19). Además, el hecho de que los cambios encontrados tras la ablación quirúrgica de los bulbos olfatorios en las variaciones cíclicas de corticosterona (19) sean muy similares a los encontrados a los 30 días de la lesión de los núcleos habenulares, sugiere que las causas de estos cambios guarden una estrecha relación. Posiblemente, la información que desde los bulbos olfatorios alcanza a la habénula sea importante en este aspecto funcional, bien actuando desde este complejo neural o bien influyendo sobre la zona mesencefálica límbica. Por todo ello debe mencionarse al haz habénulo-tegmental que conecta a la habénula con una región del mesencéfalo de gran interés neuroendocrino.

El área mesencefálica límbica de Nauta mantiene estrecha relación con el hipotálamo mediante dos sistemas: *medial* y *lateral*. El primero une al tegmento con áreas hipotalámicas anteriores, con los núcleos mamilares y con el ventromedial. El segundo tributa al haz prosencefálico medial para acabar en el área preóptica y en la región septal (10). A estos datos de tipo anatómico hay que añadir aspectos funcionales de interés en el tema presente, tales como que la estimulación eléctrica del tegmento proporciona incremento en la secreción de ACTH (4, 16, 22) y que las conexiones recíprocas del hipotálamo y del lóbulo temporal con el área mesencefálica límbica son fundamentales en la modulación de las distintas formas de secreción de ACTH (22).

En resumen, la habénula, al menos después de 30 días de efectuada la lesión, participa en la secreción cíclica de corticosterona, con lo que esta estructura nerviosa pudiera ser considerada como un dispositivo límbico más en la función moduladora del sistema límbico sobre la actividad hipofisotrópica del hipotálamo. Sin embargo, por los resultados obtenidos en fun-

ción del tiempo, los efectos producidos tras la lesión no son permanentes, ya que a los 90 días la actividad cíclica es recuperada, si bien persisten todavía valores vespertinos bajos respecto al grupo control de intactos ( $p < 0,05$ ).

### Resumen

En ratas adultas hembras se estudia el efecto de la lesión de los núcleos medial y lateral de la habénula sobre los niveles plasmáticos de corticosterona, que es determinada a las 8 a.m. y 5 p.m. en los días 30, 60 y 90 de verificadas las lesiones. A los 30 días de la lesión caen los niveles plasmáticos y se abole el ritmo de corticosterona, a los 60 días, estos cambios persisten. A los 90 días, las fluctuaciones cíclicas revierten a los valores normales. Estos datos sugieren que el complejo habenular es un área nerviosa que participa, de algún modo, en la modulación de la actividad del sistema hipotálamo-hipófiso adrenal. Se discute el posible papel del complejo habenular en el mantenimiento del ritmo, tomando como punto de partida la existencia de conexiones aferentes, especialmente las relacionadas con el sistema olfativo y el área tegmental límbica, las cuales se encuentran directamente envueltas en el determinismo de este ritmo.

### Bibliografía

- ALBE-FESSARD, D., STUTINSKY, F. y LI-BOUBAN, S.: En «Atlas stéréotaxique du diencéphale du rat blanc». C.N.R.S., París, 1966.
- CRITCHLOW.: En «Advances in Neuroendocrinology». University of Illinois Press, Urbana, 1963, pp. 377-402.
- DUNN, J., BENNET, M. y PEPLER, R.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 140, 755-758, 1972.
- ENDOCZI, E. y LISSACK, K.: *Acta Physiol. Acad. Sc. Hung.*, 17, 39-45, 1960.
- FELDMAN, S. y CONFORTI, N.: *Neuroendocrinology*, 24, 162-168, 1977.
- GANONG, W. F.: En «Advances in Neuroendocrinology». University of Illinois Press, Urbana, 1963, pp. 92-149.
- GASTAUT, H. y LAMMER, H. J.: «Anatomie du rinencéphale». Masson et Cie., París, 1961, pp. 1-66.
- GURDJIAN, E. S.: *J. Comp. Neurol.*, 38, 127-163, 1925.
- HALASZ, B., SLUSHER, M. A. y GORSKY, R. A.: *Neuroendocrinology*, 2, 43-45, 1967.
- LAMMER, H. J. y LOHMAN, M. H.: *Prog. Brain Res.*, 41, 61-78, 1974.
- LANIER, L. P., VAN HARTESVELDT, C., WEISS, B. J. y ISACSSON, R. L.: *Neuroendocrinology*, 18, 154-160, 1975.
- LECUONA, P. A., PERASSI, N. I., PALMA, J. A. y LOYBER, I.: *J. Endocrin.*, 54, 353-354, 1972.
- LEGVARI, I. y HALASZ, B.: *Neuroendocrinology*, 11, 191-196, 1973.
- LOYBER, I., PERASSI, N. I., LECUONA, F. A. y PERALTA, M. E.: *Neuroendocrinology*, 13, 93-99, 1974.
- MANGILI, G., MOTTA, M. y MARTINI, L.: En «Neuroendocrinology», Vol. 1. Academic Press, Nueva York, 1966, pp. 297-370.
- MANSON, J. V.: En «Reticular formation in the brain». Little Brown Company, Boston, 1958, pp. 645-670.
- MARBURG, O.: *J. Comp. Neurol.*, 80, 211-233, 1944.
- MOBERG, G. P., SCAPAGNINI, U., DE GROOT, J. y GANONG, W. F.: *Neuroendocrinology*, 7, 11-15, 1971.
- MONTILLA, P., BELLIDO, M. C., DORADO, M. L. y MUÑOZ, R.: *Rev. esp. Fisiol.*, 33, 17-20, 1977.
- MOORE, R. J. y EICHLER, V. B.: *Brain Res.*, 42, 201-206, 1972.
- PALKA, Y., COYER, D. y CRITCHLOW, V.: *Neuroendocrinology*, 5, 333-349, 1969.
- REDGATE, E. S.: *Endocrinology*, 86, 806-811, 1970.
- SEGGIE, J. y BROWN, G. M.: *Neuroendocrinology*, 8, 367-374, 1971.
- SLUSHER, M. A.: *Amer. J. Physiol.*, 206, 1161-1164, 1964.

25. TRAMEZZANI, J. H. y CANNATA, M. D.: En «Neuroendocrinología» (Schiaffini, O., Oriol-Bosch, A., Martini, L. y Motta, M., eds.). Toray, Barcelona, 1975, pp 1-33.
26. USHER, D. R., KASPER, P. y BIRMINGHAM, M. K.: *Neuroendocrinology*, 2, 158-174, 1967.
27. WILSON, M. y CRITCHLOW, V.: *Neuroendocrinology*, 13, 29-40, 1974.
28. WILSON, M. y CRITCHLOW, V.: *Neuroendocrinology*, 14, 333-344, 1974.
29. ZENKER, M. y BERNSTEIN, D. E.: *J. Biol. Chem.*, 231, 695-701, 1958.