

Efecto de la administración intraventricular cerebral de 5,6-dihidroxitriptamina y de 5,7-dihidroxitriptamina sobre la secreción cíclica de corticosterona en la rata

P. Montilla, J. Pinilla, M. C. Muñoz y R. M. Clavero

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina
Universidad de Córdoba

(Recibido el 15 de septiembre de 1983)

P. MONTILLA, J. PINILLA, M. C. MUÑOZ and R. M. CLAVERO. *Effect of the Intraventricular Brain Administration of 5,6-Dihydroxytryptamine and 5,7-Dihydroxytryptamine on the Cyclic Secretion of Corticosterone in Rat*. Rev. esp. Fisiol., 40, 333-340, 1984.

The effect of two potent neurotoxic agents for 5HT neurons, 5,6-DHT and 5,7-DHT, intraventricularly injected, has been studied on the values and rhythm of plasmatic corticosterone secretion in the male Wistar rat model, along an entire day: 4 a.m., 8 a.m., noon, 5 p.m. and midnight.

The dose administered for each drug was 100 µg/animal in a single injection. The levels of corticosterone were determined 15 and 30 days post-injection. The effects observed for both drugs were similar at similar times: highly significant decreases in all the studied points which fall under the same line of secretion and evince an absolute inhibition of the cyclic rhythm. There are no significant differences among the values obtained with different drugs at various times.

The contents of NA and 5HT significantly decrease for both drugs especially those of the 5HT on the 15th day. 30 days after the injection there is a small recovery of 5HT, but differences with control values are still significant. On the other hand the recovery of NA was almost total (near 100 %).

The results are discussed within the highly controversial frame of the influence of central 5HT neurons on the various types of secretion of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. The data obtained with this «chronic model» are confronted with those from other authors who have used drugs with transitory effect on the 5HT brain metabolism.

Key words: Corticosterone, Noradrenaline, 5HT, Circadian cycles.

Las investigaciones que abordan el papel de las aminas del cerebro dopamina (DA), noradrenalina (NA) y 5-hidroxitriptamina (5HT) en la función del sistema hipotalámico-hipófiso-adrenal

muestran numerosas contradicciones entre sí (1, 13, 31, 37).

Centrando en este tema la acción de 5HT existen aportaciones que defienden un efecto estimulador (12, 17, 18, 25),

en tanto que otras postulan una acción inhibitoria (30, 32, 34, 35) o nula (9, 20). Si se extrapola este aspecto a la modalidad circadiana de secreción de este complejo neuroendocrino casi todas las publicaciones son coherentes y unánimes en admitir la importancia de los sistemas serotoninérgicos centrales en el mantenimiento de establecer las características de modulación, positiva o negativa, de esta amina cerebral sobre la liberación cíclica de ACTH y de corticosteroides adrenales (23, 24, 27, 28, 33).

Dada la alta conflictividad del tema, se ha planteado el presente trabajo, que tiene como fundamental objetivo explorar la importancia de la serotonina cerebral sobre la referida actividad circadiana en un modelo crónico en el que los sistemas serotoninérgicos cerebrales son funcionalmente excluidos por la administración de drogas neurotóxicas, de efecto selectivo, por vía intraventricular cerebral. Para ello, se han valorado los niveles de corticosterona plasmática en cinco puntos del día en ratas a las que se les administraron dosis elevadas de 5,6-dihidroxitriptamina (5,6-DHT) y 5,7-dihidroxitriptamina (5,7-DHT) 15 y 30 días antes; drogas de un efecto selectivo, potente y prolongado como neurotóxico sobre las neuronas y fibras productoras de 5HT (2, 3, 5-7, 13, 16).

También es objetivo de esta investigación confrontar los datos obtenidos en este modelo experimental con aquellos que utilizan drogas de efectos menos selectivos y transitorios, administradas generalmente por vía intraperitoneal, y que bien pudieran ser las causas de las discrepancias encontradas en la literatura del tema abordado en el presente estudio.

Material y métodos

Se ha utilizado un total de 100 ratas Wistar machos de un peso medio de 300

gramos. Los animales se sometieron a condiciones controladas de iluminación (14 h de luz/10 h de oscuridad), temperatura alrededor de los 23° C, alimentación integral y agua *ad libitum*.

La administración de las sustancias se efectuó bajo control estereotóxico en ratas sometidas a ligera anestesia con éter. Mediante una microjeringa se inyectaron, según grupo, 50 µg de 5-DHT o de 5,7-DHT disueltos en 5 µl de un vehículo de ClNa/ácido ascórbico (1 mg ácido ascórbico en 1 ml de una solución de ClNa al 0,9 %) en cada ventrículo lateral. Este vehículo tiene la finalidad de evitar la autooxidación de los compuestos. La dosis total administrada por animal, según grupo, fue de 100 µg de 5,6-DHT o 5,7-DHT en 10 µl de solución. Los grupos de animales que recibieron una u otra sustancia fueron inyectados dos horas antes con una dosis de 25 mg/kg vía i.p. de disipramina, con el fin de proteger a los sistemas de catecolaminas centrales del efecto colateral de estas sustancias sobre tales neuronas.

Transcurridos los 15 ó 30 días de las inyecciones, se tomaron muestras de sangre por punción yugular a las 4 a.m., 8 a.m., mediodía, 5 p.m. y medianoche, para la determinación de corticosterona, y se procedió al sacrificio mediante decapitación, siendo rápidamente extraídos y procesados los cerebros, para ulterior estudio de los contenidos de NA y de 5HT. Se evitó toda causa desencadenante de *stress*.

La corticosterona plasmática, en muestras dobles, se determinó por método fluorimétrico (38). Los contenidos de NA y 5HT a partir de homogenados fueron valorados según el método descrito por SHELLEMBERGER y GORDON (29), que permite la cuantificación simultánea de DA, NA y 5HT.

Las sustancias altamente purificadas y en forma de bases fueron suministradas por Sigma.

Tabla 1. Efecto de la inyección de 5,6-DHT (100 µg/animal) y de 5,7-DHT (100 µg/animal) por vía i.v. sobre los niveles de corticosterona de la rata.
Media ± Error estándar. Número de animales entre paréntesis.

Grupo Experimental	Corticosterona: µg/dl			
	8 a.m.	Mediodía	5 p.m.	4 a.m.
Intactos (10)	19,24 ± 2,13	22,60 ± 3,40	36,50 ± 2,76**	24,30 ± 3,30
Vehículo (10)	21,72 ± 2,40 NSa	24,10 ± 3,00 NSa	33,45 ± 2,86 NSa	26,61 ± 2,93 NSa
5,6-DHT 15 días (20)	10,78 ± 1,14*	10,23 ± 1,36*	12,07 ± 1,65*	12,15 ± 1,48*
30 días (20)	8,61 ± 1,10* NSc	8,80 ± 1,13* NSc	10,75 ± 1,94* NSc NSb	11,80 ± 1,50* NSc
5,7-DHT 15 días (20)	7,93 ± 1,00*	9,85 ± 1,10*	11,70 ± 1,69*	10,74 ± 1,28*
30 días (20)	9,00 ± 0,89* NSd	10,50 ± 1,22* NSd	10,35 ± 1,11* NSd NSb	9,45 ± 1,34* NSd

a: Valor de «p» versus respectivos controles.

b: Valor de «p» entre 8 a.m. y 5 p.m. de los distintos grupos.

c: Valor de «p» entre los valores 5-6 DHT a los 15 días con los respectivos de 5-6 DHT a los 30 días.

d: Valor de «p» entre los valores de 5-7 DHT a los 15 días con los respectivos de 5-7 DHT a los 30 días.

NS: No significativo.

*: p < 0,001a; **: p < 0,001b

Resultados

Tanto 5,6-DHT como 5,7-DHT producen efectos muy similares sobre los valores y la conducta cíclica de la corticosterona. Se observa igualmente un paralelismo en función del tiempo, 15 o 30 días, no registrándose diferencias significativas en estos tiempos después de la inyección de una u otra droga (tabla I).

En estos resultados cabe distinguir dos aspectos: el descenso cuantitativo de todos los valores de corticosterona y la nula diferencia entre los distintos puntos del día. El primero, traduce una hipoactividad del eje, que considerada globalmente, media de los 5 puntos del día, es casi un 60 % menor, y de un 70 % respecto al valor 5 p.m., y que estadísticamente proporcionan valores de $p < 0,001$ cuando se compara cada uno de los puntos del día con sus respectivos controles. El segundo, traduce una abolición absoluta del ritmo cíclico de corticosterona, con la desaparición de los picos p.m. tan característico de esta especie animal y sin diferencias en

los valores de «p» al ser comparados con los valores a.m. y p.m.

Los cambios de NA y de 5HT a los 15 y 30 días de administradas las drogas, son muy similares a los comentados para la corticosterona, guardando gran similitud, al respecto, una y otra droga. En la tabla II se expresan porcentualmente los descensos y recuperaciones de las distintas aminas en función del tiempo.

Discusión

Los resultados expuestos indican que la degeneración de las neuronas serotoninérgicas por la administración intraventricular de estas drogas determinan alteraciones notorias en la actividad del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal. Cambios caracterizados por una caída cuantitativamente significativa de la corticosterona segregada en el curso del día y por una abolición manifiesta de la liberación cíclica del esteroide en la especie animal estudiada.

Tabla II. Cambios del contenido cerebral de noradrenalina (NA) y de 5-hidroxitriptamina (5HT) a los 15 y 30 días de la inyección intraventricular cerebral de 100 µg/animal de 5,6-DHT y 5,7-DHT. Media ± Error estándar. Número de animales entre paréntesis.

Grupo experimental	5HT cerebral (ng/g tejido)	Variación %	NA cerebral (ng/g tejido)	Variación %
Intactos (10)	663,30 ± 46,75		420,51 ± 32,40	
Vehículo (10)	645,00 ± 42,80 NSa		387,45 ± 29,18 NSa	
5,6-DHT				
A los 15 días (20)	157,45 ± 12,55*	-76,25	362,00 ± 21,40	-13,80
A los 30 días (20)	226,30 ± 12,43*	-65,86	408,10 ± 26,35 NSa	-2,85
5,7-DHT				
A los 15 días (20)	276,25 ± 21,30*	-58,37	338,80 ± 24,00**	-19,33
A los 30 días (20)	395,40 ± 30,28*	-40,42	396,55 ± 19,86 NSa	-5,58

a: Valor de «p» versus respectivos controles intactos.

NS: No significativo.

*: $p < 0,001$; **: $p < 0,05$

La acción inhibitoria de estas drogas, asumidos los efectos de deplección y generación sobre los sistemas 5HT cerebrales, viene en apoyo de la hipótesis más unánimemente aceptada en la actualidad de que las neuronas triptaminérgicas del sistema nervioso central contribuyen en su conjunto, facilitando las diversas modalidades de secreción del eje hipófiso-adrenal (8, 11, 12, 26).

El descenso de serotonina superior siempre al 40 %, bien se trate de uno u otro compuesto o del período de administración, pudiera ser la causa explicativa de estos fenómenos de fijación y de mantenimiento de los niveles de corticosterona en cotas mínimas de secreción. Estos resultados muestran una coherencia parcial con los referidos por otros autores con el uso de estas drogas (21), que igualmente encuentran alteraciones del ritmo circadiano de corticosterona, aunque la abolición del ritmo no es tan absoluta ni los valores de corticosterona son tan bajos como los representados en el estudio presente. Es posible que tales diferencias se vinculen a las dosis empleadas y al tiempo de actuación de las drogas, ambas condiciones fueron superiores en este estudio.

Otro aspecto a destacar es la similitud de efectos producidos por una y otra droga, tanto en lo que concierne a la secreción de corticosterona como a los cambios provocados sobre los contenidos de NA y de 5HT en el cerebro. En cuanto a la especificidad neurotóxica, la 5,6-DHT es catalogada como más específica, pues según algunos autores la 5,7-DHT produce mayor afectación sobre los contenidos de NA (4), supuesto que es negado por otros investigadores (10). Contrastando estas afirmaciones con los datos que se presentan, no existen diferencias fundamentales entre uno y otro compuesto; tanto 5,6-DHT como la 5,7-DHT producen notables descensos de la concentración cerebral de 5HT. Respecto a los cambios de NA, la

5,7-DHT determina un mayor descenso a los 15 días, si bien es sólo un 6 % superior al producido por 5,6-DHT en este mismo tiempo. De todos modos, la afectación de NA es de escasa cuantía comparada con las notables caídas de 5HT.

Todo ello sugiere relacionar los cambios de la secreción de corticosterona con el descenso de 5HT exclusivamente, ya que la caída de NA, además de ser cuantitativamente poco importante, no modifica las características de la liberación del esteroide a los 30 días en que las concentraciones de NA han retornado a la normalidad, mientras que las de 5HT permanecen aún significativamente descendidas.

Los cambios producidos por la secreción de corticosterona llevan a la sospecha de que la disminución profunda y mantenida de 5HT es causa del descenso de la secreción de ACTH, tanto tónica como fásica. En este experimento, no se ha determinado la cantidad hipofisaria ni periférica de esta hormona, pero los valores de corticosterona descendidos y mantenidos casi en una misma línea de secreción permiten sospecharlo. En apoyo de lo expuesto, estudios recientes han puesto de manifiesto la caída superior al 30 % de ACTH periférica después de una semana de la administración de 5,6-DHT a dosis muy inferiores a las utilizadas en el presente estudio (19). También el descenso mantenido de corticosterona en estas circunstancias pudiera estar relacionado con un bloqueo de la esteroidogénesis adrenal, tal como ha sido comprobado recientemente por AMAR *et al.* (1), los cuales tras la inyección intraventricular de 5,6-DHT y de p-clorofenilalanina (PCPA) comprueban una significativa disminución de la corticosterona sanguínea como respuesta al *stress* y una disminución del proceso de esteroidogénesis adrenal, lo que les sugiere la existencia de un mecanismo de

control de ACTH mediado por las serotoninas centrales.

Por los cambios en los niveles de corticosterona hasta los 30 días, tiempo en el que ya han acontecido grandes recuperaciones de las cotas de 5HT, que en el caso de la administración de 5,7-DHT alcanzan el 18 %, cabría pensar que los niveles de corticosterona debieran de haberse modificado, supuesto que no acontece. Podría aducirse que el descenso de 5HT producido, continúa aún siendo muy manifiesto, aunque mejor vía explicativa la constituya la demostración de que la recuperación anatómica, constatada mediante histofluorescencia no implica una recuperación funcional (14, 15) siendo estos autores de la opinión de que este tipo de drogas neurotóxicas ejerce un efecto prolongado sobre los receptores de 5HT.

Los efectos obtenidos con el uso de 5,6-DHT y de 5,7-DHT en este trabajo difieren bastante de los obtenidos con otras drogas depletoras de 5HT, especialmente con PCPA. El empleo de este compuesto, generalmente usado por vía intraperitoneal no proporciona anulaciones del ritmo circadiano de corticosterona, sino más bien inversiones del ritmo, y en muchos de los casos la alteración suele ser transitoria (28, 33, 36). De cualquier forma, aunque este inhibidor de la triptófano-hidroxilasa actúa disminuyendo la secreción de corticosterona (11, 12), su especificidad ha sido cuestionada en este tipo de estudios, al comprobarse que los efectos, tanto sobre los niveles como sobre el ritmo de la secreción de corticosterona, dependen según que ésta se cuantifique a las 24, 48 o 72 horas de la última inyección del enzima a la dosis de PCPA empleada se mantiene elevada hasta las 96 horas (22).

Concluyendo, estos resultados apoyan la opinión en la actualidad más comúnmente admitida de que los sistemas de serotonina del cerebro actúan faci-

tando diversas modalidades de secreción regidas por el complejo hipotálamo-hipófiso-adrenal. Al mismo tiempo, ya que es objetivo de este trabajo señalar la idoneidad de los modelos crónicos y administración directa en cerebro de drogas de acción neurotóxica específica y prolongada frente a los que utilizan compuestos de acción fugaz por vía intraperitoneal o sistémica en este tipo de investigación.

Resumen

Se estudia en ratas Wistar machos el efecto de dos agentes neurotóxicos de las neuronas de 5HT, 5,6-DHT y 5,7-DHT, inyectadas al cerebro por vía intraventricular (100 µg/animal), sobre la cuantía y ritmo de secreción de corticosterona plasmática en cinco puntos del día: 4 a.m., 8 a.m., mediodía, 5 p.m. y medianoche.

Los niveles del esteroide se estiman a los 15 y 30 días después de la inyección. Ambas drogas, producen efectos similares: descensos altamente significativos de todos los puntos estudiados que se sitúan en una misma línea de secreción y que traducen una abolición absoluta del ritmo cíclico. No se encuentran diferencias significativas de los valores obtenidos a los 15 o 30 días con una u otra droga.

Los contenidos de NA y 5HT descienden significativamente, especialmente los de 5HT, a los 15 días por 5,6-DHT y 5,7-DHT. A los 30 días se producen recuperaciones parciales de 5HT, pero que mantienen aún diferencias significativas respecto a los controles. La recuperación de NA es cercana al 100 %, sin diferencias con los controles. Estos resultados se confrontan con los de otros autores que utilizan drogas de efecto transitorio, sobre el metabolismo cerebral de 5HT.

Bibliografía

1. AMAR, A., MANDAL, S. y SANYAL, A. K.: *Acta Endocrinológica*, 101, 180-186, 1982.
2. BALDESSARINI, R. y GERSON, S.: *J. Pharm. Pharmacol.*, 25, 647-648, 1973.
3. BAUMGARTEN, H. G., BJORKLUND, A., HORN, A. S. y SCHOLOSBERGER, H. G.: En «Dynamic of degeneration and regeneration in

- neurons» (Fuxe, K., Olson, L. and Zotterman, Y., eds.). Pergamon Press. Nueva York, 1974, pp. 153-167.
4. BAUMGARTEN, H. G., BJORKLUND, A., LACHENMAYER, L. y NOBIN, A.: *Acta Physiol. Scand.*, Suppl. 391, 3-19, 1973.
 5. BAUMGARTEN, H. G., BJORKLUND, A., LACHTERNMAYER, L., NOBIN, A. y STENEVI, U.: *Acta Physiol. Scand.*, Suppl. 373, 1-15, 1971.
 6. BAUMGARTEN, H. G., KLEMM, H. P., LACHEMMAYER, L., BJORKLUND, A., LOVEMBERG, W. y SCHOLOSBERGER, H. G.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 305, 3-24, 1978.
 7. BAUMGARTEN, H. G., LACHENMAYER, L., BJORKLUND, A., NOBIN, A. y ROSENGREEN, E.: *Life Sci.*, 12, 357-364, 1973.
 8. BERGER, P. A., BARCHAS, J. D. y VERNIKOS-DANIELLI, J.: *Nature*, 248, 424-426, 1974.
 9. BHATACHARYA, A. N. y MARKS, B. H.: *Neuroendocrinology*, 6, 48-55, 1970.
 10. DALY, J., FUXE, K. y JONSONN, G.: *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 7, 175-187, 1974.
 11. FULLER, R. W.: *Neuroactive drugs in Endocrinology*. Elsevier North-Holland Biomedical Press. Amsterdam-Nueva York, 1980, pp. 123-135.
 12. FULLER, R. W.: *Neuroendocrinology*, 32, 118-127, 1981.
 13. FUXE, K. y JONSONN, G.: En «Neurochemical Aspects of Hypothalamic Function» (Martini, L., Motta, M. y Franchini, F., eds.). Academic Press. Nueva York, 1970, pp. 61-83.
 14. FUXE, K. y JONSONN, G.: *Adv. Biochem. Psychopharmacol.*, 10, 1-12, 1974.
 15. FUXE, K. y JONSONN, G.: En «Dynamic of degeneration and regeneration in neurons» (Fuxe, K., Olson, L. and Zotterman, Y., eds.). Pergamon Press. Nueva York, 1974, pp. 169-179.
 16. HERMAN, Z. S. y BONCZEK, A.: *Pharmacology*, 17, 8-14, 1978.
 17. JONES, M. T., GILLHAM, B. y HOLMES, M. C.: *VI International Congress of Endocrinology*, Melbourne, 1980. Abstract núm. 83.
 18. JONES, M. T., HILLHOUSE, E. W. y BURDEN, J.: *J. Endocr.*, 69, 1-10, 1976.
 19. KARTESZI, M., PALKOVITS, M., KISS, J. B., KANYLSKA, B., FAKETE, M. I. K. y STAR, E.: *Neuroendocrinology*, 32, 7-13, 1981.
 20. KAWA, A., MIZOGUCHI, K., NAEDA, Y., TANIGUCHI, Y., RYUS, S., YAMASHITA, S., ARIYAMA, T., KAMISAKI, T. y KANEHISA, T.: *Life Sci.*, 25, 487-496, 1979.
 21. KEPIC, T., MORGAN, R., ALLEN, J. P. y ROWLANDS, C. F.: *Soc. Neurosci. Abstr.*, 1979, 499.
 22. KOE, B. K. y WEISSMAN, A.: *Adv. Pharmacol.*, 6B, 29-47, 1968.
 23. KRIEGER, D. T.: *Neuroendocrinology*, 17, 62-74, 1975.
 24. KRIEGER, D. T. y RIZZO, F.: *Am. J. Physiol.*, 217, 1703-1707, 1970.
 25. MEYER, J. S., BUCKHOLTZ, N. S. y BOGGAN, W. A.: *Neuroendocrinology*, 26, 312-324, 1978.
 26. POPOVA, N. K., MASLOVA, L. N. y NAUMENKO, E. V.: *Brain. res.*, 47, 61-67, 1972.
 27. ROSZTEIN, W. H., BEAUDET, A., ROBERGE, A. G., LALONDE, J. y FORTIER, C.: *Neuroendocrinology*, 23, 157-170, 1977.
 28. SCAPAGNINI, U., MOBERG, G. P., VAN LOON, G. R. de GROOT, J. y GANONG, W. F.: *Neuroendocrinology*, 7, 90-96, 1971.
 29. SHELLEMBERGER, M. K. y GORDON, J. H.: *Analytical Biochemistry*, 39, 356-372, 1971.
 30. TELEGDY, G. y VERMES, I.: *Neuroendocrinology*, 18, 16-26, 1975.
 31. TELEGDY, G. y VERMES, I.: En «Catecholamines and stress». (Usdin, E. K., Kvetnansky, R. and Kopin, E. J., eds.). Pergamon Press. Oxford, 1976, pp. 145-146.
 32. ULRICH, R. S., YUWLER, A. y GELLER, E.: *Neuroendocrinology*, 19, 259-268, 1975.
 33. VAN DELFT, A. M. L., KAPLANSKY, J. y SMELIK, P. G.: *J. Endocr.*, 59, 465-474, 1973.
 34. VERMES, I. y TELEGDY, G.: *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.*, 42, 49-59, 1972.
 35. VERMES, I., TELEGDY, G. y LISSAK, K.: *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.*, 43, 33-42, 1973.
 36. VERNIKOS-DANIELLI, J., BERGER, P. y BARCHAS, J. D.: *Progr. Brain Res.*, 39, 303-309, 1973.
 37. WEINER, R. L. y GANONG, W. F.: *Physiol. Rev.*, 58, 905-976, 1978.
 38. ZENKER, N. y BERSTEIN, D. E.: *J. Biol. Chem.*, 231, 695-701, 1958.

