

Efecto de α -metil-p-tirosina y dihidroxifenilalanina sobre los niveles plasmáticos de corticosterona en ratas pretratadas con acetato de prednisolona

P. Montilla, J. Pinilla y M.^a C. Muñoz

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

(Recibido el 5 de noviembre de 1981)

P. MONTILLA, J. PINILLA and M. C. MUÑOZ. *Effect of α -Methyl-p-Tyrosine and Dihydroxyphenylalanine on the Plasma Corticosterone Levels in the Rat Pretreated with Prednisolone Acetate.* Rev. esp. Fisiol., 39, 139-144. 1983.

The effects on hypothalamic-pituitary-adrenal function and on negative feed-back action of a synthetic adrenal steroid, prednisolone acetate, have been studied in female Wistar rats treated with α -methyl-p-tyrosine (α MpT) and L-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) administered for six consecutive days. The parameter for study was taken from the plasmatic changes of corticosterone levels.

α -MpT injection determines an increase of plasmatic corticosterone values, while L-DOPA injection produces the opposite effect, decreasing corticosterone levels as compared to the saline control group.

The simultaneous administration of prednisolone acetate 250 μ g/kg weight s.c. for six consecutive days to α -MpT or L-DOPA determines the following effects: a) With α -MpT the negative feed-back action of prednisolone was not modified. b) With L-DOPA this action of the steroid is cancelled and the plasmatic corticosterone values are increased significantly. These changes have been related to modifications of the catecholamines content in the brain.

The importance of the catecholamines on the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis is discussed under experimental condition, specially the effects of L-DOPA, which depends for its activity on the presence or absence of prednisolone.

Es un hecho establecido que los neurotransmisores del cerebro, especialmente los localizados en áreas hipotálamicas, modulan la actividad hipofisotrópica del hipotálamo (8, 10, 12), limitando este aspecto a la secreción de hormona adeno-corticotropa (ACTH). Diversos estudios

han puesto de manifiesto la existencia de sistemas catecolaminérgicos en el hipotálamo capaces de ejercer una influencia tónica inhibidora sobre la liberación del factor CRF. Este efecto no parece estar vinculado a cambios vasoactivos de los vasos portales, sino a mecanismos de in-

hibición sináptica sobre las neuronas secretoras de CRF (4, 5).

La acción inhibitoria de las catecolaminas sobre la secreción de ACTH es muy discutida. Los resultados en este sentido son consistentes en el perro (19, 20), mientras que en la rata son muy controvertidos. En este animal la inyección de α -metil-p-tirosina (α -MpT), un inhibidor de la síntesis de catecolaminas cerebrales, incrementa la liberación de ACTH y corticosterona (13-15), mientras que experimentos efectuados con 6-hidroxidopamina y noradrenalina no demuestran una acción inhibitoria (5, 7, 18).

En el presente trabajo se estudia en rata la posible participación de las catecolaminas cerebrales en la retroacción negativa de un esteroide adrenal con actividad de glucocorticoide, el acetato de prednisolona, el cual ha sido administrado durante seis días consecutivos asociado a la α -MpT o la L-dihidroxifenilalanina (L-DOPA), que descienden e incrementan, respectivamente, los contenidos de noradrenalina cerebral. Los cambios plasmáticos de corticosterona se han relacionado con las variaciones de noradrenalina en hipotálamo tras tratamiento con α -MpT y L-DOPA, con la finalidad de determinar si este neurotransmisor interviene, ejerciendo la discutida acción inhibitoria sobre el sistema CRF-ACTH (4, 5, 13, 14) en el efecto de retroalimentación negativa de este esteroide.

Material y métodos

Se han utilizado 54 ratas Wistar hembras de 4 meses de edad y peso medio de 250 g, que fueron sometidas a condiciones de iluminación (14 h de luz/10 h de oscuridad), temperatura de 23° C y alimentación y agua *ad libitum*.

Las ratas se agruparon del siguiente modo: I) Inyectadas con solución salina. II) Inyectadas vía s.c. con 250 μ g/kg peso de acetato prednisolona durante 6 días

seguidos. III) Inyectadas con 250 mg/kg peso de α -MpT v.i.p. durante 6 días. IV) Inyectadas con 100 mg/kg peso de L-DOPA v.i.p. durante igual período. V) Inyectadas con α -MpT y prednisolona en las condiciones descritas en II, III y IV. VI) Inyectadas con L-DOPA y acetato prednisolona en iguales circunstancias.

Finalizado el período, los animales fueron decapitados a las 9 a.m., evitando las posibles causas de stress antes del sacrificio. Se tomaron muestras sanguíneas en las que se estimó, mediante fluorimetría (22) los niveles plasmáticos de corticosterona. Los hipotálamos y la corteza de cada animal fueron pesados y homogeneizados; de ambas porciones se tomaron muestras para estimar el contenido cerebral de noradrenalina según método descrito (21).

Resultados

El acetato de prednisolona (tabla I) muestra un significativo descenso de los valores de corticosterona ($p < 0,001$). La inyección de α -MpT determina un incremento de los niveles plasmáticos de débil significación ($p < 0,05$) respecto al grupo salino. La administración de L-DOPA produce un efecto opuesto de similar significación estadística ($p < 0,05$) respecto al grupo control.

La prednisolona no modifica su efecto por la simultánea inyección de α -MpT, mientras que L-DOPA sí lo modifica, produciendo una elevación altamente significativa ($p < 0,001$).

En relación a los cambios de noradrenalina, la prednisolona no altera los contenidos de NA en hipotálamo ni en corteza cerebral. α -MpT produce un notorio descenso ($p < 0,001$) en ambas áreas, mientras que L-DOPA ocasiona un incremento más significativo en corteza cerebral ($p < 0,001$) que en hipotálamo ($p < 0,01$). La simultánea inyección de prednisolona con α -MpT o L-DOPA no

Tabla I. Efecto de α -metil-p-tirosina y dihidroxifenilalanina (L-DOPA) durante seis días consecutivos sobre la corticosterona plasmática en ratas pretratadas con prednisona. Media $\pm$ error estándar. Número de animales entre paréntesis.

Grupo experimental	Corticosterona (μ g/100 ml plasma)
I. Salino	14,30 $\pm$ 1,85 (10)
II. Prednisolona 250 μ /kg s.c.	4,10 $\pm$ 0,31 (10) 0,001 ^a
III. α -M-p-tirosina 250 mg/kg v.i.p.	20,42 $\pm$ 1,17 (10) 0,05 ^a
IV. L-DOPA 100 mg/kg v.i.p.	8,83 $\pm$ 1,24 (10) 0,05 ^a
V. Prednisolona + α -M-p-tirosina 250 μ /kg s.c. + 250 mg/kg v.i.p.	4,44 $\pm$ 0,39 (8) 0,001 ^a NS ^b
VI. Prednisolona + L-DOPA 250 μ /kg s.c. + 100 mg/kg v.i.p.	16,85 $\pm$ 0,94 (8) NS ^a 0,001 ^b

a: valor de p respecto al grupo I; b: valor de p respecto al grupo II; NS: no significativo.

modifica los efectos de estas drogas (tabla II).

Discusión

Los resultados obligan a distinguir dos aspectos en la discusión. El primero relativo al pobre efecto de α -MpT o L-DOPA cuando se administran aisladamente. Segundo, concerniente a los resultados obtenidos cuando α -MpT o L-DOPA se asocian con el acetato de prednisolona.

Respecto al primero, estos resultados apoyan la hipótesis de la existencia de una relación inversa entre el contenido cerebral de noradrenalina y la inhibición del sistema CRF-ACTH, dentro de ciertas condiciones experimentales (4, 13-15), defendida por otros investigadores, si bien no se obtienen cambios tan significativos como los reseñados por ellos, aunque ello podría deberse a la ausencia de stress y al largo período de administración de las drogas. En los estudios referidos la respuesta a α -MpT o L-DOPA fueron realizados bajo condiciones de stress y

Tabla II. Cambios de noradrenalina en hipotálamo y corteza cerebral tras administración de α -M-p-tirosina y L-DOPA durante seis días consecutivos en ratas pretratadas con prednisolona.

Media $\pm$ error estándar. Número de animales entre paréntesis.

Grupo experimental	Noradrenalina μ g/g tejido	
	Hipotálamo	Corteza cerebral
I. Salino	1,96 - 0,12 (5)	0,49 - 0,03 (10)
II. Prednisolona 250 mg/kg v.i.p.	1,71 - 0,14 (5) NS ^a	0,63 - 0,08 (10) NS ^a
III. α -M-p-tirosina 250 μ /kg s.c.	0,85 - 0,07 (5) 0,001 ^a	0,14 - 0,02 (10) 0,001 ^a
IV. L-DOPA 100 mg/kg v.i.p.	2,41 - 0,09 (4) 0,01 ^a	1,32 - 0,11 (8) 0,001 ^a
V. Prednisolona + α -M-p-tirosina 250 μ /kg s.c. + 250 mg/kg v.i.p.	0,78 - 0,11 (4) 0,001 ^a 0,001 ^b	0,24 - 0,05 (8) 0,001 ^a 0,001 ^b
VI. Prednisolona + L-DOPA 250 μ /kg s.c. + 100 mg/kg v.i.p.	2,37 - 0,08 (4) 0,01 ^a 0,01 ^b	0,82 - 0,07 (8) 0,01 ^a 0,01 ^b

a: valor de p respecto al grupo I; b: valor de p respecto al grupo II; NS: no significativo.

en períodos relativamente cortos de tiempo, nunca superiores a las 9 horas.

El segundo aspecto aporta resultados que muestran una aparente contradicción con el primero. Sería de esperar que el efecto inhibitor de la prednisolona hubiera acimentado con la inyección de L-DOPA, y que la de α -MpT lo hubiese anulado parcialmente. Contrariamente, la L-DOPA anula tal efecto mientras que la α -MpT no lo modifica.

Estos resultados no son coincidentes con otros estudios que afirman que en los animales pretratados con inhibidores de MAO (IMAO) se potencia el efecto inhibitor de dexametasona, o de los que encuentran este mismo fenómeno en los sujetos humanos afectados por la enfermedad de Cushing (2, 5, 11). Sin embargo, no puede hablarse de una contradicción absoluta si se tiene en cuenta que los IMAO incrementan al mismo tiempo los contenidos de NA y de serotonina, y esta última en gran proporción (1), por lo que tales efectos pueden ser atribuidos tanto a las catecolaminas como a la serotonina (3, 9, 12). El descenso de NA causado por la administración de α -MpT no altera el efecto inhibitor de la prednisolona, lo que demuestra que este neurotransmisor no es importante en el efecto *feed-back* negativo de este esteroide en el cerebro, capaz de inhibir a pequeñas dosis la actividad de CRF por períodos superiores a 24 h (16, 17).

El efecto que se obtiene de la combinación de L-DOPA con la prednisolona, parece indicar una inhibición recíproca del efecto de ambos, siendo de difícil explicación la elevación de los niveles de corticosterona producida en estas circunstancias, y para el paradójico efecto de L-DOPA, efecto que también ha sido referido en sujetos acromegálicos sometidos a la prueba de metopirona, cuya respuesta, en relación a la actividad del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal, está incrementada respecto a los sujetos sanos (6). Estos resultados con el últimamente cita-

do revelan que el efecto de L-DOPA es diferente según que el sistema hipotálamo-hipófiso-adrenal se encuentre o no modificado en su normal homeostasis.

Resumen

Se estudia en ratas Wistar hembras tratadas durante seis días consecutivos con α -metil-p-tirosina (α -MpT) y L-DOPA la función hipotálamo-hipófiso-adrenal y el efecto de retroacción negativa de un esteroide sintético, acetato de prednisolona, tomándose como parámetro de estudio los cambios de corticosterona plasmática.

La inyección α -MpT determina un aumento de los valores plasmáticos de corticosterona, mientras que la L-DOPA produce un efecto opuesto, disminuyendo los valores de corticosterona respecto al grupo control.

La simultánea administración de prednisolona determina los siguientes efectos: la α -MpT no modifica el efecto de retroacción negativa del esteroide. L-DOPA anula dicho efecto e incrementa los niveles de corticosterona. Estos cambios se relacionan con las variaciones de noradrenalina en hipotálamo y cortex cerebral, consecutivos a los diversos tratamientos.

Se discute la importancia de las catecolaminas en la actividad del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal dentro de estas circunstancias experimentales, haciendo especial énfasis en los efectos de L-DOPA, que dependen de la presencia o ausencia de prednisolona.

Bibliografía

1. DALHSTROM, A. y FUXE, K.: *Acta Physiol. Scand.*, 62 (suppl.), 1-55, 1964.
2. DALLMAN, M. y YATES, F. E.: En «Memoirs of the Society for Endocrinology», N.º 17 (James, V. y Landon, J., ed.). Cambridge University Press, Londres, 1968, pp. 39-72.
3. FULLER, R. W., SNODDY, H. D. y MOLLOY, B. B.: *Life Sci.*, 19, 337-345, 1976.
4. GANONG, W. F.: En «Evidence for a central noradrenergic system that inhibit ACTH brain-endocrine interaction: Media eminence-structure and function» (Kingge, K. y Scott, E., ed.). Int. Symp. Munich, 1971. Karger, Basilea, 1972, pp. 254-266.

5. GANONG, W. F.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 297, 509-517, 1977.
6. HSU, T. H.: *Clin. Endocrinol.*, 8, 35-43, 1978.
7. JONES, M. T., HILLHOUSE, E. y BURDEN, J.: En «Frontier in Neuroendocrinology», vol. 4 (Martini, L. y Ganong, W. F., ed.). Raven Press, Nueva York, 1976, pp. 195-226.
8. KORDON, C. y GLOWINSKY, J.: *Neuropharmacology*, 11, 156-162, 1972.
9. KRIEGER, D. T.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 297, 527-535, 1977.
10. MULLER, E. E., NISTICO, G. y SCAPAGNINI, U.: En «Neurotransmitter and anterior pituitary function». Academic Press. Nueva York, 1977.
11. NICOLESCU-CARTAGI, A., CRISTOVEANU, A., STAN, M. y BERCEANU, A.: 3rd. Int. Congr. Hormonal Steroids (abstract). Excerpta Medica, Amsterdam. 210, 201, 1970.
12. OLIVER, C., CONTE-DEVOLX, P., GIRAUD, P., GILLIOZ, J., LISSITZKY, J. C. y BOUDOURESQUE, F.: *Hormone Res.*, 13, 230-241, 1980.
13. SCAPAGNINI, U.: En «The Neurosciences», Third study Program (Schmidt, F. O. y Worden, F. G., ed.). MIT Press, Cambridge, 1974, pp. 565-569.
14. SCAPAGNINI, U., ANNUNZIATO, L., LOMBARDI G., OLIVER, CH. y PREZIOSI, P.: *Neuroendocrinology*, 18, 272-276, 1975.
15. SCAPAGNINI, U., VAN LOON, G. R., Moberg, G. P. y GANONG, W. F.: *Eur. J. Pharmacol.*, 11, 266-270, 1970.
16. TAKEBE, K., SAKAKURA, M. y BRODISH, A.: En «Psychoneuroendocrinology». Workshop Conf. Int. Soc. Psychoneuroendocrinology, Mieken, 1973. Karger, Basilea, 1974, pp. 198-205.
17. TAKEBE, K., SAKAMURA, M. y MASHIMO, K.: *Endocrinology*, 90, 1515-1520, 1972.
18. VALE, W., RIVIER, C., YANG, L., MINICK, S. y GUILLEMIN, R.: *Endocrinology*, 103, 1910-1915, 1978.
19. VAN LOON, G. R., HILGER, L., KING, A. B., BORYCZKA, A. T. y GANONG, W. F.: *Endocrinology*, 88, 1404-1414, 1971.
20. VAN LOON, G. R., SCAPAGNINI, U., COHEN, R. y GANONG, W. F.: *Neuroendocrinology*, 8, 257-272, 1971.
21. VAN EULER, U. S. y LISHAJHO, F.: *Acta Physiol. Scand.*, 51, 348-356, 1961.
22. ZENKER, N. y BERNSTEIN, D. E.: *J. Biol. Chem.*, 231, 695-701, 1958.

