

Efecto de la clorgilina y de la α -metil-p-tirosina sobre los niveles plasmáticos de corticosterona en rata

J. Pinilla, P. Montilla y R. Clavero

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina
14080 Córdoba (España)

(Recibido el 21 de mayo de 1984)

J. PINILLA, P. MONTILLA and R. CLAVERO. *Effect of Clorgyline and α -Methyl-p-Tyrosine on the Plasmatic Corticosterone Levels in the Rat.* Rev. esp. Fisiol., 41, 411-416. 1985.

The effect of a type A MAO inhibitor, clorgyline, injected alone or with α -methyl-p-tyrosine (aMpT) on the plasmatic corticosterone levels estimated at 9 a.m. and 5 p.m. has been studied in male Wistar rats. The clorgyline injected alone produced significant decreases in corticosterone values, especially at 5 p.m., determining a variation lack between the morning and the afternoon levels. When α -MpT is associated to IMAO, increases at both points of the day considered in this experiment take place. The amount of NA and 5-HT in the brain was also estimated; clorgyline high increases in Na and 5-HT contents, 5-HT; aMpT reduces the effect of clorgyline, especially as regards content. The results are discussed in relation to this type higher in of IMAO, MAO inhibitor, and with the role of these amines as modulators of ACTH secretion. In view of the changes introduced by the aMpT injection, the modifications produced by clorgyline alone are related to NA, but to 5-HT, when the NA synthesis has been interrupted by the tyrosine hydroxylase inhibitor.

Key words: Clorgyline, α -Methyl-p-tyrosine, Corticosterone.

Los neurotransmisores cerebrales (noradrenalina: NA, 5-hidroxitriptamina: 5-HT y dopamina: DA) intervienen como moduladores fisiológicos en la dinámica de los distintos sistemas neuroendocrinos (4, 8, 10).

Centrando el aspecto a la relación de estas aminas con la actividad del eje hipotálamo-hipofiso-adrenal, son numerosas las investigaciones realizadas desde distintos campos con el fin de establecer el significado funcional de las mismas en la secreción de ACTH. Existe una gran conflictividad al respecto, aunque la ma-

yor parte de los investigadores relacionados con el tema defienden que NA actúa de manera tónica a nivel del hipotálamo y otras áreas nerviosas inhibiendo la dinámica de este eje neuroendocrino (6, 7) y que la 5-HT, lo haría en un sentido inverso (3, 4). En cuanto al papel de DA, la conflictividad también está presente, siendo el criterio más aceptado que su acción en esta vía es poco relevante (12, 17).

Los estudios de tipo farmacológico representan en este campo un porcentaje importante, y entre ellos, los realizados

con inhibidores de monoaminoxidasa (IMAO), aunque los datos proporcionados difieren en relación al tipo de secreción de ACTH, la dosis, tiempo de administración y naturaleza del IMAO (2, 9).

En este trabajo se estudia el efecto de un potente IMAO tipo A, la clorgilina, administrado de forma reiterada en el curso de un día, sobre los niveles plasmáticos de corticosterona, con la intención, dado su efecto selectivo sobre la MAO actuante en sustratos de NA y 5-HT, de evaluar la conducta del eje hipotálamo-hipofiso-adrenal en la circunstancia en que ambas aminas se incrementan en el cerebro. También se ha estudiado los niveles del esteroide tras la administración simultánea de clorgilina a α -MpT, compuesto que inhibe la síntesis cerebral de NA; modelo que tiene como finalidad valorar el significado de 5-HT sobre la función del sistema hipofiso-adrenal en la condición en que la síntesis central de NA es bloqueada.

Material y Métodos

Se han utilizado ratas Wistar machos de cuatro meses de edad y peso medio de 300 g, sometidas a condiciones idénticas de iluminación (14 horas luz/10 horas oscuridad), temperatura (23°C), alimentación y agua *ad libitum*.

Los animales se distribuyeron en los siguientes grupos: I) Controles, II) Vehículo salino, III) Inyectados por vía i.p. con 20 mg/Kg peso de clorgilina, IV) Inyectados por vía i.p. con 250 mg/Kg peso de α -MpT y V) Inyectados con clorgilina y α -MpT a las dosis y condiciones descritas en III y IV.

Los animales sometidos al efecto de clorgilina y α -MpT desde 24 horas antes, recibieron, según grupo, las dosis indicadas cada seis horas, ajustándose de tal manera que la última inyección precediera en una hora a las extraccio-

nes sanguíneas, que se verificaron a las 9 a.m. y 5 p.m. por punción yugular. Finalizadas las extracciones se sacrificó el animal por decapitación; se extrajo el cerebro y se prepararon homogenados en los que en alícuotas correspondientes se estimaron los contenidos de NA y 5-HT.

La corticosterona plasmática se valoró por método fluorimétrico (19) y las aminas según SHELLENBERGER *et al.* (13).

La clorgilina, en forma de clorhidrato, fue suministrada por May and Baker y α -MpT, en forma de metil-éster, por Sigma.

Resultados

SOBRE CORTICOSTERONA PLASMÁTICA (TABLA I)

Efecto del IMAO. — La clorgilina, a la dosis y forma de administración indicadas, produce descensos significativos de los valores de corticosterona a las 9 a.m. y 5 p.m., siendo este último descenso de tal magnitud que produce una abolición del ritmo cíclico tan característico de esta especie animal.

Efecto de α -MpT. — Este inhibidor determina incremento de ambos valores, siendo porcentualmente mayor la elevación producida en a.m. que en p.m. (79 % frente a 17,9 %), siendo escasa la diferencia entre los valores de la mañana y la tarde.

Efecto de IMAO + α -MpT. — Esta asociación produce incremento de los dos puntos cuando se compara a los inyectados sólo con clorgilina, determinando elevaciones altamente significativas. Cuando se comparan estos cambios con los del grupo control, el valor a.m. aparece aumentado, pero sin significación estadística; mientras que el p.m. muestra un descenso respecto al correspondiente del control, igualmente sin significación.

Tabla I. Efecto de la administración de clorgilina (20 mg/kg), α -MpT (250 mg/kg) y asociación de ambas sobre los niveles plasmáticos ($\bar{x} \pm ES$) de corticosterona a las 9 a.m. y 5 p.m. Las dosis se repitieron cada 6 horas durante un periodo de 24 horas. Número de animales entre paréntesis.

Grupo experimental	Corticosterona ($\mu\text{g/dl}$)	a	Valores de «p» b	c
Controles				
9 a.m.	10,40 \pm 0,96 (10)			
5 p.m.	17,80 \pm 1,88 (10)		< 0,001	
Vehículo salino				
9 a.m.	12,50 \pm 1,22 (6)	NS		
5 p.m.	19,00 \pm 1,75 (6)	NS	< 0,001	
Clorgilina				
9 a.m.	7,06 \pm 0,63 (10)	< 0,001		
5 p.m.	8,35 \pm 0,90 (10)	< 0,001	NS	
α-MpT				
9 a.m.	18,64 \pm 1,67 (8)	< 0,001		
5 p.m.	21,00 \pm 1,95 (8)	< 0,05	NS	
Clorgilina + α-MpT				
9 a.m.	12,45 \pm 1,00 (10)	NS		< 0,001
5 p.m.	14,00 \pm 1,23 (10)	NS	NS	< 0,001

a = «p» vs respectivos controles. b = «p» a.m. vs p.m. mismo grupo. c = «p» grupo III vs grupo V a.m. y p.m. respectivamente. NS = no significativo.

Tabla II. Cambios en los niveles de 5-HT y NA cerebral tras la inyección de clorgilina y α -MpT. Pautas y dosis indicadas en la tabla I. Número de animales por dato, 10.

Grupo experimental	5-HT (ng/g)	Variación %	NA (ng/g)	Variación %
Controles	668 \pm 53		546 \pm 38	
Vehículo salino	710 \pm 69		590 \pm 53	
Clorgilina	1186 \pm 95*	+ 77,54	893 \pm 77*	+ 63,55
α -MpT	596 \pm 42 NS	- 10,70	185 \pm 20*	- 72,30
Clorgilina + α -MpT	876 \pm 78**	+ 31,13	336 \pm 28**	- 38,12

* p < 0,001 vs respectivo control; ** p < 0,01 vs respectivo control. NS = no significativo.

SOBRE LOS NIVELES DE 5-MT Y NA CEREBRALES (TABLA II)

Efecto del IMAO. — La inyección del IMAO produce un incremento manifiesto de los contenidos de las dos aminas, siendo éste muy notorio para la 5-HT. Esta conducta se produce en los dos puntos del día estudiados, aunque sensiblemente superiores a las 5 p.m. tanto para 5-HT como Na.

Efecto de α -MpT. — La α -MpT desciende los valores de NA y también los de 5-HT, aunque el descenso de este último no alcanza los valores observados para NA. No existen variaciones sensibles en los contenidos de la mañana y la tarde para las dos aminas.

Efecto de IMAO + α -MpT. — Esta asociación produce una caída manifiesta del contenido cerebral de NA, más evidente a las 9 a.m. que a las 5 p.m. En cuanto a la 5-HT, se produce un aumento porcentualmente idéntico en los que se refiere a las horas a.m. o p.m., pero inferior a las cotas 5-HT registradas cuando se administra solamente clorgilina.

Discusión

La inyección de clorgilina produce descensos significativos de los niveles de corticosterona a las 9 a.m. y a las 5 p.m., lo que se traduce en una abolición de la conducta cíclica de la secreción de corticosterona habitual en esta especie animal.

Estos resultados no muestran coherencia con los aportados por otros autores (15, 16), que obtienen elevaciones significativas de corticosterona con dosis inferiores o similares a las usadas en este estudio, siendo los incrementos altamente significativos, y más moderados, cuando el IMAO es inyectado a la dosis de 5 ó 10 mg/Kg durante ocho días consecuti-

vos. Esta discordancia está posiblemente ligada a la distinta forma de administración de la clorgilina, la cual ha sido mantenida mayor período de tiempo que el referido por otros autores.

Resulta difícil establecer una explicación adecuada a estos datos, que tanto pudieran estar ligados a efectos directos de clorgilina sobre las glándulas adrenales, como a los cambios de aminas producidos por ésta en el cerebro. En apoyo de este criterio son hechos reveladores la demostración de que los fármacos IMAO producen un aumento de la esteroidogénesis adrenal (1, 11), como que las aminas (Na y 5-HT) actúan modulando el citado eje neuroendocrino, de tal manera, que 5-HT parece hacerlo como facilitadora de la liberación de ACTH (3, 4), y la NA juega un efecto contrario, actuando como inhibidor tónico sobre la liberación de esta hormona hipofisaria (5, 14), y tal acción es llevada a cabo por mecanismos adrenérgicos (8, 18).

Los descensos obtenidos tras la administración mantenida de clorgilina, tanto pudieran estar relacionados con un agotamiento de la glándula tras una estimulación sostenida, como por los incrementos de NA y 5-HT producidos. Aunque en este experimento no ha sido medida la corticosterona producida a nivel de adrenales, existen datos de que los IMAO, a dosis bastante inferiores a las aquí utilizadas, proporcionan niveles de corticosterona elevados a nivel adrenal, que son hasta siete veces superiores a los mostrados por el control (16). Pero los resultados obtenidos con la inyección simultánea de IMAO y α -MpT sugieren que estos cambios en los niveles de corticosterona estén más vinculados a las modificaciones del metabolismo cerebral de NA y 5-HT. También fortalece este criterio, el hecho de que se trate de un IMAO de tipo A, con acción selectiva sobre la MAO que tienen como sustrato específico a las citadas aminas (18).

Se observa que la clorgilina determina incrementos altamente significativos de NA y 5-HT, siendo porcentualmente mayores los correspondientes a esta última. Si se atiende a la hipótesis de que 5-HT actúa como facilitadora del eje hipofiso-adrenal y que NA lo hace en sentido contrario, sería de esperar una respuesta muda o un fenómeno de solapamiento de ambos efectos, hecho que no ocurre, sino que los niveles de corticosterona en ambos puntos del día descienden de modo altamente significativo. Dicho efecto es abolido cuando la síntesis de NA se bloquea mediante α -MpT, lo que lleva a sugerir que el sistema inhibitor adrenergico muestra una acción vicariante sobre los serotoninérgicos en estas condiciones, invirtiéndose tal situación cuando estos últimos son liberados como consecuencia del bloqueo de la síntesis de NA por α -MpT.

Resumen

Se estudia en ratas Wistar machos el efecto de un IMAO tipo A, la clorgilina, administrado solo o con alfa-metil-p-tirosina (α MpT) sobre los niveles plasmáticos de corticosterona estimados a las 9 a.m. y a las 5 p.m. La clorgilina sola produce descensos significativos de los niveles de corticosterona, especialmente a las 5 p.m., determinando una ausencia en la variación de los valores de la mañana y la tarde. Cuando la α -MpT se asocia al IMAO se producen incrementos de los dos puntos del día considerado en este experimento. También se estimaron los contenidos de NA y 5-HT en el cerebro; la clorgilina produce elevados aumentos en contenido cerebral de estas dos aminas, mayor para 5-HT. La inyección de α -MpT reduce el efecto de la clorgilina, especialmente lo que concierne al contenido NA. Estos resultados se discuten en relación con este tipo de IMAO, de gran especificidad inhibitoria sobre la MAO que actúa sobre NA y 5-HT como con el papel de estas aminas como moduladores de la secreción de ACTH; los cambios ob-

tenidos con α -MpT sugieren que los efectos producidos por el IMAO están vinculados fundamentalmente a los incrementos de NA, mientras que lo son a 5-HT, cuando la síntesis de NA es bloqueada por el inhibidor de tirosin-hidroxilasa.

Bibliografía

1. AMAR, A., MANDAL, S. y SANYAL, A. K.: *Acta Endocrinológica*, 101, 180-186, 1982.
2. DE WIED, D. y DE JONG, W.: *Ann. Rev. Pharmacol.*, 14, 389-406, 1974.
3. FULLER, R. W. *et al.*, (Eds.): En «Neuroactive drugs in endocrinology». Elsevier-Nort Holland-Biomedical Press. Amsterdam. Nueva York, Oxford, 1980, pp. 123-135.
4. FULLER, R. W.: *Neuroendocrinology*, 32, 118-127, 1981.
5. GANONG, W. F.: En «The hypothalamus» (L. Martin, M. Motta y F. Franchini, eds.). Academic Press. Nueva York, 1980, páginas 313-320.
6. GANONG, W. F.: En «Neurosciences Research: 3rd study program» (F. O. Schmitt and F. G. Worden, eds.). M.I.T. Press, Cambridge, 1974, pp. 549-563.
7. GANONG, W. F.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 297, 509-517, 1977.
8. GANONG, W. F.: En «Catecholamines and stress: Recent advances» (E. Usdin, R. Kvetuansky y I. J. Kopin, eds.). Elsevier North Holland. Nueva York, 1980, pp. 115-163.
9. KEIM, K. L. y SIGG, E. B.: *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 6, 79-85, 1977.
10. KORDON, C. G. y GLOWINSKY, J.: *Neuropharmacology*, 11, 153-161, 1972.
11. LORENZEN, L. C. y GANONG, W. F.: *Endocrinology*, 80, 889-893, 1967.
12. MEITES, J. y SONNTA, G. W. E.: *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 21, 295-301, 1981.
13. SHELLENBERGER, M. K. y KORDON, J. H.: *Analyt. Biochem.*, 39, 356-372, 1971.

14. VAN LOON, G. R., SCAPAGNINI, U., MOBERG, G. P. y GANONG, W. F.: *Endocrinology*, **89**, 1464-1479, 1971.
15. VENTURA, M. A., PARVEZ, S. y YODIM, M. B. H.: En «Catecholamines and Stress: Recent advances» (E. Usdin, R. Kvetuansky y I. J. Kopin, eds.). Elsevier North Holland. Nueva York, 1980, pp. 359-381.
16. VENTURA, M. A.: *Europ. J. Pharmacol.*, **81**, 349-355, 1982.
17. WEINER, R. I. y GANONG, W. F.: *Physiol. Rev.*, **58**, 905-976, 1978.
18. YODIM, M. B. H. y HOLIZBAUER, M.: *J. Neural Transm.*, **38**, 193-210, 1976.
19. ZENKER, N. y BERSTEIN, D. E.: *J. Biol. Chem.*, **231**, 695-701, 1958.