

## Serotonina cerebral en la respuesta del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal a la hipoglucemia insulínica

P. Montilla\*, J. Montilla, J. Pinilla y M.ª C. Muñoz

Departamento de Bioquímica  
Facultad de Medicina  
14080 Córdoba (España)

(Recibido el 13 de enero de 1987)

P. MONTILLA, J. MONTILLA, J. PINILLA and M. C. MUÑOZ. *Brain Serotonin on the Response of Hypothalamus-Pituitary-Adrenal System to Hypoglycemia by Insulin*. Rev. esp. Fisiol., 44 (1), 93-98, 1988.

The response of hypothalamus-pituitary-adrenal system to insulin administration was studied in the male Wistar rats submitted to a strong and prolonged blockade of serotonin brain synthesis by repetitive injections of p-chlorophenylalanine (PCPA) a 5-hydroxytryptophan inhibitor. After 24, 48, 72 or 96 hours of either one or two doses of PCPA (250 mg/kg. i.p.) were administered with insulin (0.25 UI/kg s.c.), the plasmatic glucose and corticosterone levels being estimated at 0, 30 and 60 minutes. When PCPA was injected twice, the lapse between them was 48 hours. Insulin produced decrease of plasmatic corticosterone values and inhibition of the response to insulin, specially between 48 and 72 hours, for a single management of PCPA, and stronger and more prolonged for the double dose. The fall of serotonin content in brain maintained great correlation with effects referred above. The results support that stimulatory action of insulin on the pituitary-adrenal system is mediated by central serotonergic neurons and reaffirms the hypothesis that serotonin (5HT) positively modulates the activity of hypothalamus-pituitary-adrenal system.

Key words: Serotonin-hypoglycemia-pituitary-adrenal system.

La serotonina (5HT) ejerce un papel modulador en la secreción de ACTH, actuando en las distintas formas de liberación de esta hormona, especialmente en la modalidad circadiana (5-8).

Menos definida es la función de 5HT en la respuesta del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal en condiciones de estrés y en los estados, patológicos o experimentales, de hipersecreción mantenida de

ACTH y glucocorticoides. En humanos, el bloqueo de receptores de 5HT por metergolina reduce las tasas de ACTH periférica inducida por hipoglucemia insulínica (2) e igualmente, la metisergida y la ciproheptadina, antagonista de 5HT, en sujetos previamente tratados con metopirona (1, 11).

La p-clorofenilalanina (pCPA), potencia la liberación de CTH en la rata sometida a éter (16), no ocurriendo tal efecto si previamente se administra L-triptófano o 5HT por vía ventricular cerebral (14). Sin

\* A quien debe dirigirse la correspondencia.

embargo, otras aportaciones no encuentran respuestas definidas en estas circunstancias después de la administración de fluoxetina, inhibidor de la recaptación de 5HT, ni con pCPA, en ratas sometidas a hipoxia e hipercapnia (6, 9).

Este estudio explora la respuesta del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal a la administración de insulina en modelos en los que la síntesis cerebral de 5HT es bloqueada por inyecciones repetidas de pCPA, intentando establecer el efecto de esta inhibición cuando se prolonga por un tiempo superior a los 120 minutos y si la acción estimulante de la insulina sobre la liberación de ACTH y glucocorticoides es mediada por los sistemas serotoninérgicos centrales.

#### Material y Métodos

Se han utilizado ratas Wistar machos de 4 meses de edad y un peso medio de 300 g, mantenidas en régimen controlado de temperatura (23° C) e iluminación (14 h luz/10 h oscuridad) y con alimentación y agua *ad libitum*.

Se suministraron una o dos dosis de pCPA (250 mg/kg i.p.), separadas por un intervalo de 48 horas. Se valoraron los niveles de glucosa y corticosterona plasmática tras doce horas de ayuno y a los 0, 30 y 60 min de la administración de insulina (0,25 UI/kg s.c.) a las 24, 48, 72 y 96 h de la primera inyección de pCPA en un grupo, y de la segunda, en el otro. La hora de iniciación de estas pruebas fue las 9 de la mañana.

Los animales se sacrificaron por decapitación, y del tronco vascular del cuello se tomaron muestras sanguíneas para la determinación de glucosa y corticosterona. Inmediatamente se extrajeron los cerebros que, una vez procesados y pesados, se congelaron a -30° C para ulterior estimación del contenido de 5HT.

La corticosterona plasmática se valoró por método fluorimétrico (17), la glucosa

por técnica enzimática (13) y el contenido cerebral de 5HT según procedimiento ya descrito (12).

La pCPA en forma de metil ester altamente purificada fue suministrada por Sigma, y la insulina por los laboratorios Leo.

#### Resultados

La administración de una sola dosis de pCPA produjo una disminución gradual de los valores de corticosterona en el tiempo 0 y un bloqueo al estímulo insulínico, siendo ambos significativos a las 48 y 72 horas (tabla I). La glucemia descendió significativamente a los 30 minutos de la administración de insulina en todos los subgrupos.

Con la dosis repetida (tabla II), los efectos descritos se intensificaron y prolongaron en el tiempo, existiendo una gran correlación entre el grado de bloqueo de la respuesta y la disminución de las tasas cerebrales de 5HT.

El contenido en 5HT (tabla III) disminuye significativamente con las inyecciones de pCPA, y de modo muy evidente con la repetición de la dosis, con la cual no se observa la parcial recuperación observada a las 96 horas con la inyección única. En todos los casos, los descensos registrados fueron significativos.

#### Discusión

Los resultados indican que la hipoglucemia insulínica no produce respuesta del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal cuando la síntesis cerebral de 5HT es bloqueada de modo intenso y duradero, efecto que se acentúa cuando se administra una nueva dosis de pCPA, lo que sugiere que el efecto de la insulina sobre el mencionado sistema sea mediado por las neuronas serotoninérgicas centrales.

Estos datos son coherentes con los de

Tabla I. Respuesta hipófiso-adrenal a la administración de insulina (0,25 UI s.c.) en ratas previamente inyectadas con p-clorofenilalanina (250 mg/kg i.p.) a los tiempos indicados. Media  $\pm$  Error estándar. Número de animales por grupo: 7.

Grupo experimental	Insulina (min)	Corticosterona $\mu$ g/dl	$\alpha$ -p	Glucosa mg/dl	$\alpha$ -p
Control	0	13,44 $\pm$ 0,76		111,30 $\pm$ 5,96	
	30	28,03 $\pm$ 3,10	0,001 <sup>a</sup>	53,52 $\pm$ 4,08	0,001 <sup>a</sup>
	60	29,45 $\pm$ 2,78	0,001 <sup>a</sup>	66,87 $\pm$ 3,44	0,001 <sup>a</sup>
Vehículo	0	16,21 $\pm$ 2,28		118,41 $\pm$ 7,73	
	30	33,17 $\pm$ 3,06	0,001 <sup>a</sup>	59,06 $\pm$ 5,39	0,001 <sup>a</sup>
	60	35,14 $\pm$ 2,89	0,001 <sup>a</sup>	67,48 $\pm$ 5,55	0,001 <sup>a</sup>
pCPA a las 24 h	0	12,88 $\pm$ 0,95	0,05 <sup>b</sup>	125,60 $\pm$ 8,54	
	30	17,61 $\pm$ 2,00	0,05 <sup>a</sup>	61,88 $\pm$ 6,99	0,001 <sup>a</sup>
	60	21,52 $\pm$ 2,43	0,01 <sup>a</sup>	75,06 $\pm$ 7,21	0,001 <sup>a</sup>
pCPA a las 48 h	0	9,39 $\pm$ 0,93	0,001 <sup>b</sup>	119,64 $\pm$ 9,52	
	30	11,22 $\pm$ 1,45	NS <sup>a</sup>	58,16 $\pm$ 6,11	0,001 <sup>a</sup>
	60	13,25 $\pm$ 1,38	NS <sup>a</sup>	66,40 $\pm$ 5,95	0,001 <sup>a</sup>
pCPA a las 72 h	0	7,56 $\pm$ 0,68	0,001 <sup>b</sup>	122,18 $\pm$ 10,70	
	30	7,12 $\pm$ 0,90	NS <sup>a</sup>	51,59 $\pm$ 5,23	0,001 <sup>a</sup>
	60	10,34 $\pm$ 1,12	NS <sup>a</sup>	67,81 $\pm$ 7,00	0,001 <sup>a</sup>
pCPA a las 96 h	0	14,06 $\pm$ 1,51	NS <sup>b</sup>	115,47 $\pm$ 8,89	
	30	19,97 $\pm$ 1,63	0,01 <sup>a</sup>	49,73 $\pm$ 6,10	0,001 <sup>a</sup>
	60	23,95 $\pm$ 2,55	0,01 <sup>a</sup>	65,07 $\pm$ 6,99	0,001 <sup>a</sup>

a: Valor  $\alpha$ -p v.s. tiempo 0 respectivo; b: Valor  $\alpha$ -p v.s. tiempo 0 vehiculo; NS: No significativo.

otros autores (16) con modelos muy próximos al utilizado aquí, con la diferencia de que emplean 5-6-DHT, potente neurotóxico de las neuronas de 5HT, en lugar de pCPA, además del bloqueante metisergida. Sin embargo, estos resultados no son acordes ni superponibles con los referidos por otros investigadores que emplean fluoxetina, aunque con un estímulo diferente (6, 9).

El efecto ocasionado por pCPA, y el estrecho paralelismo entre el grado de bloqueo de la síntesis y el de la respuesta, viene a confirmar que la acción estimulante de la insulina sobre el eje hipotálamo-hipófiso-adrenal sea mediada por los sistemas serotoninérgicos centrales, posiblemente porque esta hormona pancreá-

tica aumente, según estudios realizados en distintas condiciones experimentales (3, 4, 16), la disponibilidad de L-triptófano a las neuronas de 5HT centrales. De otro lado, estos resultados en el animal aún no estimulado con insulina muestran coherencia con el criterio más unánimemente aceptado de que los sistemas serotoninérgicos centrales actúan modulando positivamente la liberación de ACTH en rata y otras especies animales (5-8, 10).

El modelo utilizado muestra que la indemnidad de la 5HT central es fundamental en la respuesta del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal a la insulina, aunque se precisa mayor número de datos que ayuden a esclarecer el mecanismo mediante el cual esta hormona estimula o propicia la

Tabla II. Respuesta hipofiso-adrenal a la administración (0,25 UI s.c.) en ratas preinyectadas con dos dosis idénticas, separadas por un intervalo de 48 horas, de pCPA (250 mg/kg i.p.), y a las horas que se indican de la segunda dosis.

Media  $\pm$  Error estándar. Número de animales por grupo: 7.

Grupo experimental	Insulina (min)	Corticosterona $\mu$ g/dl	$\llcorner$ p $\llcorner$	Glucosa mg/dl	$\llcorner$ p $\llcorner$
Vehículo	0	17,96 $\pm$ 1,83		119,40 $\pm$ 11,07	
	30	29,55 $\pm$ 2,67	0,001 <sup>a</sup>	56,25 $\pm$ 6,32	0,001 <sup>a</sup>
	60	34,16 $\pm$ 3,22	0,001 <sup>a</sup>	69,48 $\pm$ 7,05	0,001 <sup>a</sup>
pCPA a las 24 h	0	8,21 $\pm$ 1,00	0,001 <sup>b</sup>	125,60 $\pm$ 13,20	
	30	9,69 $\pm$ 1,27	NS <sup>a</sup>	54,99 $\pm$ 7,15	0,001 <sup>a</sup>
	60	7,68 $\pm$ 0,83	NS <sup>a</sup>	59,60 $\pm$ 6,60	0,001 <sup>a</sup>
pCPA a las 48 h	0	7,44 $\pm$ 0,91	0,001 <sup>b</sup>	122,39 $\pm$ 12,29	
	30	10,10 $\pm$ 1,30	NS <sup>a</sup>	52,63 $\pm$ 7,05	0,001 <sup>a</sup>
	60	9,48 $\pm$ 1,17	NS <sup>a</sup>	64,26 $\pm$ 7,15	0,001 <sup>a</sup>
pCPA a las 72 h	0	8,25 $\pm$ 0,88	0,001 <sup>b</sup>	121,70 $\pm$ 11,93	
	30	12,10 $\pm$ 1,63	NS <sup>a</sup>	52,63 $\pm$ 7,05	0,001 <sup>a</sup>
	60	11,65 $\pm$ 1,29	NS <sup>a</sup>	68,55 $\pm$ 7,62	0,001 <sup>a</sup>
pCPA a las 96 h	0	10,93 $\pm$ 1,20	0,001 <sup>b</sup>	117,16 $\pm$ 11,43	
	30	14,38 $\pm$ 1,51	NS <sup>a</sup>	46,10 $\pm$ 6,10	0,001 <sup>a</sup>
	60	17,86 $\pm$ 1,80	0,01 <sup>a</sup>	66,38 $\pm$ 8,17	0,001 <sup>a</sup>

a: Valor  $\llcorner$ p $\llcorner$  v.s. tiempo 0 respectivo. b: Valor de  $\llcorner$ p $\llcorner$  v.s. tiempo 0 de grupo vehículo.

Tabla III. Cambios de 5-HT cerebral, tras la administración de pCPA (250 mg/kg peso i.p.) en la forma y tiempos que se indican.

Segunda dosis: 48 horas después de la primera. Media  $\pm$  Error estándar. Número de animales por grupo: 7.

Grupo experimental	5-HT ng/ml	$\llcorner$ p $\llcorner$
Control	698 $\pm$ 50	
Vehículo	687 $\pm$ 53	NS <sup>a</sup>
Dosis única de pCPA		
24 h	375 $\pm$ 45	0,001 <sup>b</sup>
48 h	279 $\pm$ 40	0,001 <sup>b</sup>
72 h	394 $\pm$ 48	0,001 <sup>b</sup>
96 h	586 $\pm$ 56	NS <sup>b</sup>
Dosis doble de pCPA		
24 h	226 $\pm$ 38	0,001 <sup>b</sup>
48 h	160 $\pm$ 35	0,001 <sup>b</sup>
72 h	284 $\pm$ 42	0,001 <sup>b</sup>
96 h	402 $\pm$ 50	0,01 <sup>b</sup>

a: Valor de  $\llcorner$ p $\llcorner$  v.s. grupo control. b: Valor de  $\llcorner$ p $\llcorner$  v.s. grupo vehículo. NS: No significativo.

síntesis de 5HT en este tipo de neuronas, y la de su acción estimuladora sobre el mencionado eje.

## Resumen

Se estudia la respuesta del eje hipotálamo-hipofiso-adrenal a la administración de insulina en ratas Wistar machos a las que previamente fue bloqueada la síntesis cerebral de serotonina (5HT) mediante p-clorofenilalanina (pCPA). A las 24, 48, 72 y 96 horas de una única o doble inyección de pCPA (250 mg/kg peso i.p.) se administra insulina (0,25 UI/kg s.c.) y a los 0, 30 y 60 min se valoran los cambios plasmáticos de glucosa y de corticosterona. Cuando se repite la dosis de pCPA, el lapso temporal de una a otra inyección es de 48 horas. La insulina, en estas condiciones, produce un descenso de los valores basales de corticosterona e inhibición de la respuesta del eje a la insulina, especialmente entre las 48 y 72 h, en el caso de una única dosis, y más intensificada y prolongada cuando se repite la inyección de pCPA. El descenso en los contenidos

de 5HT cerebral mantiene muy buena correlación con los cambios antes referidos. Estos resultados sugieren que el efecto hipoglucémico de la insulina como activador del sistema hipotálamo-hipófiso-adrenal es mediado por la serotonina central, y reafirma la hipótesis de que la 5HT en el cerebro modula positivamente la funcionalidad del citado eje.

**Palabras clave:** Sistema serotonina-hipoglucemia-hipófiso-adrenal.

### Bibliografía

1. Cavagnini, F., Panerai, A. E., Bulgheroni, P., Perachi, M. y Pinto, M.: *J. Clin. Endocr. Metab.*, 41, 143-148, 1974.
2. Cavagnini, F., Raggi, V., Micossi, P., Dilantro, A., Invitti, G.: *J. Clin. Endocr. Metab.*, 43, 306-312, 1976.
3. Fernstrom, J. D. y Wurtmann, R. J.: *Science*, 174, 1023-1025, 1971.
4. Fernstrom, J. D. y Wurtmann, R. J.: *Metabolism*, 21, 337-342, 1972.
5. Fuller, R. W.: *Neuroendocrinology*, 32, 118-127, 1981.
6. Fuller, R. W. y Snoddy, H. D.: *Endocr. Res. Commun.*, 4, 11-23, 1977.
7. Fuller, R. W. y Snoddy, H. D.: *Neuroendocrinology*, 31, 96-100, 1980.
8. Lewis, D. A. y Sherman, B. M.: *J. Clin. Endocr. Metab.*, 58, 458-462, 1984.
9. Marotta, S. F., Sithichoke, N., Garcy, A. M. y Yu, M.: *Neuroendocrinology*, 20, 182-192, 1976.
10. Meyer, J. S., Buckholz, N. S. y Boggan, W. D.: *Neuroendocrinology*, 26, 312-324, 1978.
11. Plonk, J. y Feldman, J. M.: *J. Clin. Endocr. Metab.*, 42, 291-296, 1975.
12. Shellemberger, M. K. y Gordon, J. H.: *Analytical Biochem.*, 39, 356-372, 1971.
13. Trynder, P.: *Ann. Clin. Biochem.*, 6, 24-27, 1969.
14. Vermes, I. y Telegdy, G.: *Acta Physiol. Hung.*, 42, 49-59, 1972.
15. Vernikos-Danellis, J. y Berger, P. A.: En «Serotonin Behavior» (Barchas, J. y Usdin, E., eds.). Academic Press, Nueva York, 1973, pp. 172-177.
16. Yehuda, R. y Meyer, J. S.: *Neuroendocrinology*, 38, 25-32, 1984.
17. Zenker, N. y Bernstein, D. E.: *J. Biol. Chem.*, 231, 696-701, 1958.

