

5-HIDROXITRIPTAMINA EN ENCEFALO TOTAL Y EN DIVERSAS REGIONES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DE RATAS INTOXICADAS CON EL EXTRACTO ACUOSO DE ASTRAGALUS LUSITANICUS LAM.

(5-HYDROXYTRYPTAMINE CONTENT IN TOTAL BRAIN AND IN VARIOUS CENTRAL NERVOUS SYSTEM REGIONS OF RATS INTOXICATED WITH THE AQUEOUS EXTRACT OF ASTRAGALUS LUSITANICUS LAM.)

por

Yusta, B*., P. Tovar**, M^a P. Contreras*** y J.M^a. González Rodríguez*

* Departamento de farmacología y toxicología. Facultad de veterinaria. Universidad de Córdoba (España).

** Departamento de fisiología animal. Facultad de ciencias. Universidad de Córdoba (España).

*** Departamento de fisiología animal. Facultad de veterinaria. Universidad de Córdoba (España).

Palabras clave: Toxicología vegetal. Leguminosas. Neurotoxicidad. Depresión. Sistema nervioso central.

Keywords: Plant toxicology. Legumes. Neurotoxicity. Central nervous system. Depression.

Summary

The administration of the aqueous extract of Astragalus lusitanicus to rats, in a dose corresponding to 45 g wet plant/kg body weight, brought about the symptomatology of a central nervous system depression that persisted until the animals were sacrificed. The diencephalon and hippocampus content of 5-hydroxytryptamine significantly increased in the intoxicated group with respect to control rats. In total brain, midbrain and pons-medulla, the 5-hydroxytryptamine levels remained practically unaltered. The results indicate that the aqueous extract of A. lusitanicus contains a substance (s) which modifies the functional activity of the serotonergic system. This effect could be in part responsible for the depression pattern observed in the studied experimental acute intoxication.

Recibido para publicación el 17-9-1984.

Resumen

La administración del extracto acuoso de Astragalus lusitanicus en ratas, en una dosis equivalente a 45 g de planta fresca/kg pv, provocó síntomas característicos de un estado depresivo del sistema nervioso central, que persistieron hasta que los animales fueron sacrificados. La 5-hidroxitriptamina aumentó significativamente en el grupo intoxicado, respecto al control, en diencéfalo e hipocampo. En bulbo-puente, mesencéfalo y encéfalo total los niveles de dicho neurotransmisor permanecieron prácticamente inalterados. Los resultados indican que el extracto acuoso de A. lusitanicus contiene una sustancia (s) capaz de modificar la actividad funcional del sistema serotoninérgico. Este efecto podría ser en parte responsable del cuadro depresivo observado en la intoxicación aguda experimental estudiada.

La producción extensiva de ganado en el área montañosa del sur de la Península Ibérica se ve afectada en mayor o menor medida, según la menor o mayor disponibilidad de pastos naturales, por el consumo de Astragalus lusitanicus Lam. Se trata de una leguminosa de desarrollo temprano (es de las primeras plantas que aparecen en otoño), con un alto valor nutritivo y sin características organolépticas que denoten su capacidad toxigénica, por lo que no es rechazada por los animales^{9,17}. La ingestión prolongada de Astragalus produce un cuadro neurológico caracterizado por un estado depresivo generalizado del sistema nervioso central (SNC), acompañado de trastornos motores y de la sensibilidad^{8,11,21}. En situaciones de estrés los individuos afectados devienen nerviosos y llegan a manifestar actitudes agresivas^{10,13}. Se han descrito también signos de habituación al consumo de Astragalus^{13,20}.

Aunque los síntomas y el origen de la neuropatía están bien definidos, aún no se ha precisado la identidad de las sustancia o sustancias de Astragalus responsables de la misma. Sin embargo, en el caso de A. lusitanicus parece descartada la posibilidad de que sean únicamente el selenio o compuestos nitroalifáticos^{5,9,17}.

Ya que numerosos estudios bioquímicos y farmacológicos han señalado una relación entre la actividad del sistema de neurotransmisión serotoninérgico y los estados emocional y de vigilia animales^{3,14,15}, en el presente trabajo se examinan los niveles de 5-hidroxitriptamina (5-HT,

serotonina), en encéfalo total y en diversas regiones del SNC de ratas, bajo los efectos de la intoxicación aguda experimental con el extracto acuoso de A. lusitanicus. Con ello se pretende determinar la posible implicación de dicho neurotransmisor en el desencadenamiento del cuadro depresivo característico de las intoxicaciones por Astragalus.

Material y métodos

1. Preparación del extracto acuoso de A. lusitanicus. El vegetal se recolectó en la Sierra de Córdoba, durante el mes de marzo (antes de la floración) y se conservó a -20° C hasta el momento de ser utilizado. Previa descongelación, las partes aéreas de las plantas se sometieron a un choque térmico (100° C, 15 min.) y seguidamente se molturaron. La harina se trató, durante 30 min. a $35-40^{\circ}$ C y en agitación continua, con agua bidestilada en relación 1:1 (p/v). El extracto acuoso obtenido se filtró con filtro Millipore y se liofilizó.

2. Pauta de intoxicación. Se utilizaron ratas adultas Wistar criadas en nuestro laboratorio, de un peso corporal de 275-300 g. Doce animales fueron intoxicados por inyección ip de 1 g del extracto liofilizado de A. lusitanicus (que equivale aproximadamente a 15 g de planta fresca) disuelto en 2 ml de agua bidestilada. El grupo control estuvo constituido por 12 ratas a las que se les administró ip 2 ml de una solución de glucosa al 5%.

3. Obtención de muestras y análisis. Los animales fueron sacrificados por decapitación a las 2 horas de ser inyectados, y se les extrajo el encéfalo. Siete encéfalos de cada grupo fueron inmediatamente disecados sobre una placa refrigerada para obtener bulbo-puente, mesencéfalo, diencéfalo e hipocampo. Los encéfalos no disecados (5 por grupo experimental) y las muestras de tejido de las distintas regiones anatómicas fueron pesados y a continuación homogeneizados a $0-4^{\circ}$ C en HCl 0.1M, determinándose la concentración de serotonina según la técnica fluorimétrica de Udenfrien¹⁹ con las modificaciones introducidas por Pasquier y Balfagon¹⁶. Las valoraciones se realizaron en un espectrofluorímetro Aminco-Bowman. Las longitudes de onda de emisión y absorción fueron, respectivamente, 540 y 295 nm. Todos los reactivos utilizados fueron productos para análisis o para fluorimetría.

4. Estadística. La significación estadística de las diferencias entre medias fue determinada mediante la prueba "t" de "Student" (ensayo de 2 colas).

Resultados

Tras una latencia de 15 ± 3 min. los animales intoxicados mostraron una acusada dificultad respiratoria y signos de depresión del SNC, manifestados por postración, aislamiento y una disminución en la capacidad de respuesta a estímulos mecánicos y acústicos. Ningún animal murió antes de las 2 horas. Los efectos de la administración del extracto acuoso de A. lusitanicus sobre la 5-hidroxitriptamina (expresada en $\mu\text{g/g}$ de tejido fresco contenida en encéfalo total y en diversas regiones del sistema nervioso central de rata, se muestran en la figura 1. Únicamente en diencéfalo e hipocampo se observaron diferencias significativas entre las dos condiciones experimentales. Los niveles medios de serotonina en dichas regiones, en el grupo intoxicado, excedieron en un 10% ($P < 0.05$) y en un 17% ($p < 0.01$), respectivamente, a los encontrados en el grupo control. En encéfalo total la cantidad de 5-HT en los animales intoxicados fue ligeramente superior (7%), aunque no significativamente a la del grupo control. En bulbo-puente y mesencéfalo los niveles de serotonina permanecieron prácticamente inalterados.

Discusión

La sintomatología de la intoxicación aguda estudiada en el presente trabajo es característica de un estado depresivo del sistema nervioso central, con manifestaciones clínicas similares a las que se han descrito en las intoxicaciones crónicas accidentales y experimentales con Astragalus^{8,21,22}. Los resultados, por tanto, indican que el extracto acuoso de A. lusitanicus contiene una sustancia (s) de efectos depresores sobre el SNC, que probablemente participa en el desarrollo del cuadro depresivo detectado en los animales cuando ingieren dicho vegetal. Estas observaciones coinciden en parte con las de Poyato¹⁷; quien encuentra que sólo los extractos acuosos e hidroalcohólicos de A. lusitanicus poseen capacidad toxigénica.

Los resultados han mostrado que la cantidad de 5-hidroxitriptamina en los animales intoxicados se incrementó significativamente en diencéfalo e hipocampo; regiones que constituyen sitios principales de terminación de las vías serotoninérgicas ascendentes⁶. En bulbo-puente y en mesencéfalo donde se localiza el complejo de núcleos del rafe origen de las mencionadas vías⁶, los niveles de 5-HT permanecieron inalterados. Considerando la organización anatómica del sistema serotoninérgico, la acción diferencial del extracto acuoso de A. lusitanicus en las dis-

tintas regiones estudiadas, probablemente refleja una disminución de la liberación de 5-hidroxitriptamina en los terminales sinápticos serotoninérgicos de diencéfalo e hipocampo, cuya expresión neuroquímica inmediata sería una acumulación del neurotransmisor en estas áreas. Sin embargo, los datos disponibles no permiten concretar si el o los componentes neurotóxicos del extracto acuoso de A. lusitanicus desarrollan una acción directa sobre estructuras serotoninérgicas o mediada por la modificación de alguno (s) de los sistemas de neurotransmisión que ejercen una influencia moduladora sobre la fisiología de las neuronas 5-HT de los núcleos del rafe^{3,12,18}.

Nuestros resultados son similares a los de James y Olsen¹⁰, quienes encuentran en la intoxicación crónica con A. lentiginosus signos de depresión junto con un notable incremento de la 5-hidroxitriptamina en corteza cerebral, y considerados en conjunto indican que el extracto acuoso de A. lusitanicus contiene una o más sustancias capaces de alterar directa o indirectamente la actividad funcional del sistema serotoninérgico, lo que podría ser responsable, en parte, del estado depresivo del SNC observado en el cuadro agudo y, quizás también, del que se manifiesta en la intoxicación crónica por dicha especie vegetal. Apoyan esta hipótesis los estudios que muestran que, en general, la falta de disponibilidad de serotonina en el encéfalo provoca trastornos de la conducta caracterizados por postración, sedación, disminución de la actividad espontánea y una gran emotividad ante los cambios ambientales bruscos^{1,4,7}; observaciones que concuerdan con las descritas en los estudios de intoxicación crónica por Astragalus^{8,21} y, parcialmente, con las del presente trabajo.

Bibliografía

1. Baumgarten, H.G. y H.G. Schlossberger. En Serotonin and Behavior (ed. Barchas, J. y E. Usdin) 209-224 (Academic Press, New York). (1973).
2. Baraban, J.M. y G.K. Aghajanian. Eur. J. Pharmacol. 66, 287-294 (1980).
3. Bliss, E.L. En Serotonin and Behavior (ed. Barchas, J. y E. Ustin) 315-324 (Academic Press, New York) (1973).
4. Conner, R.L., J.M. Stolk y S. Levine. En Serotonin and Behavior (ed. Barchas, J. y E. Ustin) 325-333 (Academic Press, New York) (1973).

YUSTA ET AL.: 5-HIDROXITRIPTAMINA EN ENCEFALO DE RATAS INTOXICADAS.

5. De Pascual Teresa, J.; J.C. Hernández Aubanell y J.J. Sánchez Saez. Anales de Química 75, 775-777 (1979).
6. Fuxe, K. y G. Jonsson. En Serotonin-New Vistas. Histochemistry and Pharmacology (ed. Costa, E., G.L. Gessa y M. Sandler) 1-12 (Raven Press, New York) (1974).
7. Grahame-Smith, D.G. En Serotonin-New Vistas. Histochemistry and Pharmacology (ed. Costa, E., G.L. Gessa y M. Sandler) 83-91 (Raven Press, New York) (1974).
8. Hartley, W.J. En Effects of Poisonous Plants on Livestock (ed. Keeler, R.F., K.R. Van Kampen y L.F. James) 363-369 (Academic Press, New York) (1978).
9. Infante F., E. Peinado y M. Medina. III Semana Nacional Veterinaria, III, 12. Córdoba (1964).
10. James, L.F. y J.D. Olsen. Clin. Toxicol. 11, 53-60 (1977).
11. Kingsbury, J.M. Poisonous Plants of the United States and Canada (Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey) (1964).
12. Lakoski, J.M. y G.K. Aghajanian. J. Pharmacol. Exp. Therap. 227, 517-529 (1983).
13. Molyneux, R.J. y L.F. James. Science 219, 190-191 (1982).
14. Morgane, P.J. y W.C. Stern. En Serotonin and Behavior (ed. Barchas, J. y E. Usdin) 427-442 (Academic Press, New York) (1973).
15. Pare, C.M.B., Trenchard, A. y P. Turner. En Serotonin-New Vistas. Biochemistry and Behavioral and Clinical Studies (ed. Costa, E., G.L. Gessa y M. Sandler) 275-279 (Raven Press, New York) (1974).
16. Pasquier, D. y G. Balfagon. An. Anat. 23, 247-254 (1974).
17. Poyato, J. Estudio fitoquímico, toxicológico y farmacológico de Astragalus lusitanicus. Th. Doct. Fac. Farmacia. Univ. Complutense. Madrid (1968).
18. Przewlocka, B., L. Stala y J. Scheel-Krüger. Life Sci. 25, 937-946 (1979).
19. Udenfrien, S. Fluorescence Assay in Biology and Medicine (Academic Press, New York) (1962).

20. Van Kampen, K.R. y L.F. James. Path. Vet. 6, 413-423 (1969).
21. Van Kampen, K.R. y L.F. James. En Effects of Poisonous Plants on Livestock (ed. Keeler, R.F., K.R. Van Kampen y L.F. James) 135-138 (Academic Press, New York) (1978).
22. Van Kampen, K.R., R.W. Rhees y L.F. James. En Effects of Poisonous Plants on Livestock (ed. Keeler, R.F., K.R. Van Kampen y L.F. James) 465-471 (Academic Press, New York) (1978).

Iconografía

Figura 1. Efecto de la administración del extracto acuoso de A. lusitanicus sobre la 5-hidroxitriptamina de encéfalo total y de diversas regiones del sistema nervioso central de rata.

Cada barra del histograma es la $\bar{X} \pm E.T.M.$ de 7 animales, excepto del encéfalo total, en el que $n = 5$. Las diferencias significativas respecto al grupo de control fueron calculadas utilizando la prueba "t" de Student, y se indican con los siguientes símbolos: *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$. ET = encéfalo total; BP = bulbo-puente; MS = mesencéfalo; DC = diencéfalo; HP = hipocampo.

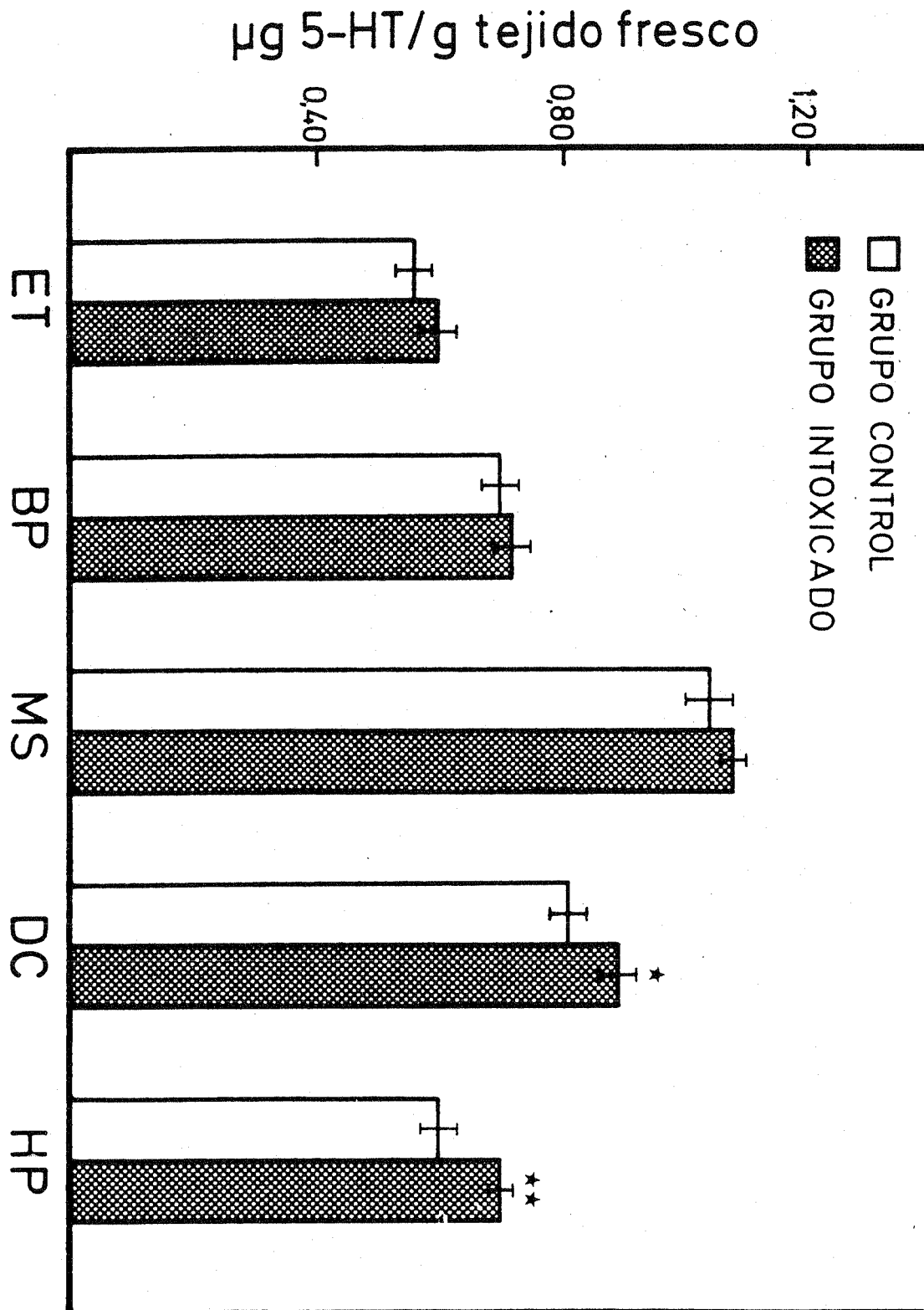


Figura 1.