

MODIFICACIONS NEUROENDOCRINOLÒGIQUES AMB L'ESTRÈS

OCTAVI MARTÍ I ANTONIO ARMARIO

Unitat de Fisiologia Animal. Departament de Biologia Cel·lular i de Fisiologia. Universitat Autònoma de Barcelona.

Adreça per a la correspondència: Unitat de Fisiologia Animal. Departament de Biologia Cel·lular i de Fisiologia. Facultat de Ciències. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra, Barcelona.

RESUM

Sota el terme estrès s'engloben una àmplia gamma de canvis orgànics que tenen lloc en resposta a tot un ventall d'estímuls i situacions que no podrien ser afrontats satisfactòriament mitjançant els mecanismes homeostàtics normals. Tant el component físic i psicològic dels estímuls estressants, la seva intensitat, com la forma en què els organismes hi són exposats, determinen el tipus de resposta que es posarà en marxa. Els estímuls estressants són processats a nivell del sistema nerviós central. Però els centres, les vies i els neurotransmissors implicats són encara lluny d'estar ben caracteritzats, si bé les vies noradrenergiques procedents del tronc encefàlic podrien tenir un paper rellevant. Per la seva banda, l'hipotàlem i la corticoliberina tenen un paper clau en la integració de tot aquest procés, i així, l'activació subsegüent de l'eix neuroendocrí hipotalàmic-pituitario-adrenal (HPA) constitueix un dels puntals de la resposta d'estrès. En situacions cròniques d'estrès, malgrat que la capacitat potencial de resposta de l'eix HPA està notablement incrementada, la resposta de l'adrenocorticotropina (ACTH) al mateix estímul (homotípic) està freqüentment atenuada (habitució), mentre que davant d'un estímul estressant nou (heterotípic) es troba, almenys en alguns casos, exacerbada (facilitació). Les perspectives de recerca es dirigeixen cap a l'estudi de la relació entre estrès i sistema immunitari, cada dia més clara.

Paraules clau: Estrès, estímul estressant, eix HPA, neurotransmissors, neuroendocrinologia.

SUMMARY

The term of stress comprises a myriad of organic changes occurring in response to a wide range of stimuli and situations which could not be satisfactorily faced by means of normal homeostatic mechanisms. Both the physical and psychological components of stressors, their intensity and the way the organisms are exposed to them, determine the type of response that will be triggered. Stressors are processed within the central nervous system, but the centers, pathways and neurotransmitters involved are far from being well understood. Nevertheless, brainstem noradrenergic system might be of relevance. Similarly, the hypothalamus and the corticotropin-releasing factor play a pivotal role in integrating this process, and thus, the subsequent activation of the neuroendocrine hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, one of the crucial components of the stress response. During chronic stress situations, despite the fact that the potential response of the HPA axis is increased, the adrenocorticotropin (ACTH) response to the same (homotypic) stimulus has usually been found to be attenuated (habituation) and that to novel (heterotypic) stressors to be exacerbated, at least in some cases (facilitation). The growing body of evidence about the close relationship between stress and the immune system opens a universe of research perspectives in this field.

Keywords: Stress, stressor, HPA axis, neurotransmitters, neuroendocrinology.

INTRODUCCIÓ AL CONCEPTE D'ESTRÈS

Segurament no estariem exagerant si diguéssim que podríem comptar amb els dits d'una mà aquells de nosaltres que mai no han experimentat en alguna ocasió, davant alguna situació quotidiana o extraordinària, un conjunt de sensacions, que podrien anar des d'un excés de suor al palmell de les mans a un increment de la freqüència cardíaca o un cert grau d'ansietat: és també força probable que llavors haguem dit o pensat que estàvem «estressats». Tant és així, que el fet d'experimentar un estat d'«estrès» seria intuïtivament una experiència tan comuna que el terme estrès ha passat ja a formar part del llenguatge diari de milions de persones arreu del món.

Però, malgrat que les últimes dècades l'estrès s'ha estat utilitzant com a eina de treball en molts laboratoris en l'àmbit de la biomedicina experimental i malgrat la pro-

lífica bibliografia científica que aquesta activitat ha generat, avui no existeix encara una definició del concepte d'estrès universalment acceptada, fins i tot 60 anys després que el terme d'estrès fos introduït en l'àmbit biomèdic des d'altres camps com l'enginyeria o la geologia per l'endocrinòleg canadenc d'origen austríac Hans Selye. Malgrat tot, encara que no ha rebut un consens generalitzat, una de les definicions d'estrès amb què estariem més en sintonia seria la de Vigas, quan postula que l'estrès seria la resposta del organisme, desenvolupada allarg de la filogènia, als agents que de forma simbòlica o real posen en perill la seva integritat (Vigas, 1980). En aquest context caldria distingir les respostes homeostàtiques normals de l'organisme, que serien per naturalesa específiques per a cada estímul en particular, de la resposta d'estrès. Aquesta

es posaria en marxa quan s'ha sobrepassat la capacitat dels mecanismes homeostàtics normals per afrontar les alteracions del medi intern, i tindria un component no específic, comú a tots els estímuls estressants i associat en alguns casos a l'activació emocional que aquells desencadenen.

L'estudi de l'estrès basa sens dubte gran part del seu desenvolupament actual en els conceptes de medi intern i d'homeòstasi, elaborats fa aproximadament un segle per Claude Bernard i Walter B. Cannon, respectivament. Fou Cannon qui, estudiant l'activació del sistema simpàtico-medul·lo-adrenal (SMA) durant la que ell anomenà «resposta d'emergència», postulà que aquesta podia considerar-se la reacció per a la lluita o la fugida (de l'anglès *fight or flight*), amb la finalitat de protegir l'organisme i garantir-ne la supervivència. Ja als anys trenta, Selye fou el primer a considerar i estudiar en detall la resposta en rata a una àmplia gamma de substàncies i situacions, observant que es produïa en tots els casos un patró de respostes fisiològiques inespecífiques, a les quals ell es referí inicialment com a «reacció d'alarma». Selye postulà que els organismes desenvolupaven resistència als estímuls adversos quan aquests hi eren exposats de forma crònica, però que si l'exposició era suficientment prolongada desapareixia la resistència i en la major part dels casos sobrevenia la mort. Ell anomenà tot aquest procés «síndrome general d'adaptació» (SGA) i, en treballs posteriors, introduí la paraula *stressor* per designar l'estímul que provocava aquesta síndrome, mantenint la de *stress* per definir la resposta orgànica a l'estímul. Als anys seixanta i setanta, John W. Mason s'aproximà al camp de l'estrès des d'un punt de vista psicossomàtic i demostrà que la resposta d'estrès es reduïa quan es minimitzava o s'eliminava el component psicològic associat a l'exposició a l'estímul. Això el conduí a reformular la teoria de

Selye, en el sentit que la inespecificitat aparent de la resposta a l'estrès postulada per aquell seria conseqüència de l'activació emocional provocada per estímuls aparentment físics. D'aleshores ençà, hi ha hagut tota una constel·lació de treballs dirigits a la caracterització de l'estrès, que en molts casos han tingut un enfocament més interaccionista. Des d'aquesta perspectiva, són diversos els autors que han proposat que la resposta orgànica d'estrès estaria determinada tant per les característiques intrínseques de l'estímul i la forma com l'individu hi és exposat, com per la capacitat de l'organisme de percebre i valorar l'estímul i de posar en funcionament els mecanismes necessaris per contrarestar els possibles efectes nocius.

CARACTERÍSTIQUES DELS ESTÍMULS ESTRESSANTS

Les principals característiques que determinen la resposta conductual i fisiològica als agents estressants són les propietats físiques i els atributs psicològics dels esdeveniments aversius. Ambdós components poden tenir efectes immediats, que es posarien de manifest just després de l'exposició a l'estímul, i efectes a mitjà o llarg termini, que determinarien la resposta futura al mateix estímul o a un estímul nou, sovint com a conseqüència de l'habitució de la resposta al mateix estímul (és a dir, una disminució) o de facilitació de la resposta a un estímul nou (potenciació). Dels components psicològics dels estímuls estressants, la capacitat de control sobre ells o la capacitat de predir algun aspecte significatiu de la situació en són dos exemples que han rebut una considerable atenció a la bibliografia. El primer d'ells fa referència a la capacitat de control que tindria l'animal sobre l'estímul aversiu (ja fos d'iniciar-lo,

posar-hi fi, o disminuir-ne la intensitat o freqüència), i la predictibilitat es refereix a la capacitat de l'animal de predir quan ha de començar o acabar l'estímul, la seva densitat, probabilitat, intensitat o durada. Aquests dos components han estat descrits i discutits a la bibliografia extensament, i en la major part d'estudis s'ha demostrat que tant els animals com els humans presenten menys perjudicis conductuals i semblen ser menys reactius emocionalment i fisiològicament als estímuls estressants quan tenen capacitat de controlar-ne o predir-ne algun aspecte significatiu. Atenent, doncs, a aquestes característiques, podem classificar els agents estressants com a estímuls fonamentalment físics (per exemple exposició al fred o a la calor, verins, privació d'aliments, intervencions quirúrgiques), fonamentalment psicològics (per exemple estímuls sonors, canvi d'ambient) i de naturalesa mixta (per exemple xoc elèctric, restricció de moviments). Quantitativament, la magnitud de la resposta d'estrès depèn també de la forma com l'organisme hi és exposat, i així parlaríem d'estímuls estressants aguts (des de pocs segons fins a unes quantes hores), aguts repetits (l'exposició discreta a l'estrès es repeteix diverses vegades durant el mateix dia), crònics intermitents (l'exposició a l'estímul es repeteix discretament i diàriament durant un determinat nombre de dies) i crònics continus (exposició contínua prolongada). El nostre interès s'ha centrat en la major part dels nostres estudis en la caracterització en rata dels efectes de l'estrès crònic intermitent.

PROCESSAMENT CENTRAL DELS ESTÍMULS ESTRESSANTS

Si bé hi ha un consens generalitzat al voltant de la idea que tots els estímuls estressants són processats a nivell del siste-

ma nerviós central (SNC), els centres, les vies i els neurotransmissors implicats són encara lluny d'estar ben caracteritzats, potser en part perquè cada estímul estressant pot ser processat centralment, almenys en part, de forma particular. Però el processament de la informació de tots o quasi bé tots els agents estressants sembla implicar alguns elements comuns de l'SNC. Així, està relativament ben establert que les situacions estressants incrementen l'activitat de les monoamines a l'SNC, amb un alliberament generalitzat de noradrenalina (NA) i de serotonina (5-HT). Aquesta conclusió és perfectament compatible amb la profusa innervació monoaminèrgica de l'SNC i s'ha obtingut sobre la base d'estudis electrofisiològics, mitjançant la valoració de neurotransmissors i els seus metabòlits en teixit cerebral *post mortem* o per microdiàlisi *in vivo*. Cal destacar la importància d'algunes àrees, com el locus ceruleus, amb projeccions de NA fonamentalment cap a l'escorça cerebral i l'hipocamp, i altres nuclis de NA/adrenalina (A) del tronc encefàlic, que envien projeccions preferentment als nuclis paraventriculars (NPV) de l'hipotàlem. L'activació dopaminèrgica en situacions d'estrès és més selectiva i afecta sobre tot el nucli *accumbens* i l'escorça prefrontal.

Encara que les dades relatives a la histamina són més escasses a la bibliografia, s'ha descrit també un increment de l'activitat histaminèrgica cerebral en situacions d'estrès per part de les neurones tuberomil·lars de l'hipotàlem, que envien projeccions a àmplies zones dins i fora de l'hipotàlem. Les evidències en relació amb el paper d'altres sistemes de neuro-transmissió/neuromodulació durant la resposta d'estrès són menys abundoses i en molts casos indirectes. Durant la resposta d'estrès té lloc un alliberament a la circulació d'opioides endògens (EOP) derivats de la proopiomelanocortina (POMC) hipofisària,

així com una activació dels EOP a nivell central, encara que sobre això hi ha dades contradictòries i diferències qualitatives entre espècies. Sembla que els estímuls estressants podrien activar també algunes vies colinèrgiques, encara que la importància funcional d'aquesta estimulació podria ser menor. L'activitat dels sistemes GABAèrgics i glutamatèrgics està incrementada durant l'estrès (Horger *et al.*, 1995), i el primer exerceix un efecte inhibitor sobre l'eix HPA; per aquestes raons es postula que aquest sistema estaria implicat en la prevenció d'una estimulació excessiva de l'eix HPA en situacions d'estrès (Armario *et al.*, 1986c). Però les dades sens dubte més espectaculars en relació amb la neuroquímica de l'estrès corresponen a la corticoliberina (CRF) (Dunn *et al.*, 1990; Owens *et al.*, 1991). A més del CRF d'origen hipotalàmic, directament implicat en el control de la hipòfisi, tant aquest pèptid com els seus diferents receptors, recentment clonats i caracteritzats, i els mRNA que els codifiquen, es troben distribuïts arreu de l'SNC (Owens *et al.*, 1991). L'administració central o perifèrica de CRF mimetitzta la major part dels canvis neuroquímics, endocrins i de comportament que tenen lloc durant l'estrès, i aquests canvis són revertits pel bloqueig experimental del CRF o de la seva acció (administració d'un antiserum contra el CRF o d'un antagonista del CRF, respectivament) (Dunn *et al.*, 1990; Owens *et al.*, 1991), fet que reafirma la importància d'aquest pèptid i de l'eix HPA en la resposta d'estrès. Més recentment, s'ha demostrat que diferents estímuls estressants incrementen selectivament l'expressió de factors de transcripció d'inducció ràpida, com el *c-fos*, en àrees implicades en la resposta d'estrès, com l'escorça cerebral, l'hipocamp, el tronc encefàlic, l'hipotàlem i l'amígdala (Cullinan *et al.*, 1995).

És probable que la informació relativa a

les propietats físiques dels estímuls estressants es processa en diversos nuclis del tronc encefàlic i la informació viatja des d'allà cap a l'hipotàlem, on controlaria l'activació de les neurones que sintetitzen diversos factors hipofisiotròfics i les àrees responsables de l'activació simpàtica. El component psicològic dels estímuls es processaria en altres centres superiors (escorça cerebral, hipocamp, amígdala) que tenen connexions directes i indirectes amb l'hipotàlem. En els darrers anys s'han anat acumulant evidències del possible paper de l'amígdala en el control de la resposta de comportament i fisiològica als estímuls estressants, especialment en aquelles situacions que impliquen por o ansietat. Aquest paper clau de l'amígdala estaria reforçat per les seves connexions amb zones com l'hipotàlem i la substància gris periaqueductal, i serien els dos llocs d'integració de les respostes als estímuls estressants. L'amígdala comunica directament o indirectament (a través del nucli del llit de l'estria terminal) amb els NPV de l'hipotàlem, i aquesta podria ser una de les vies d'activació de l'eix HPA durant l'estrès. Encara que l'amígdala es comunica també amb els sistemes mono-aminèrgics del tronc encefàlic, i que aquests envien projeccions cap als NPV, la importància relativa d'aquestes dues àrees i la relació entre ambdues en relació amb l'activació de l'eix HPA estan encara per definir.

RESPOSTA FISIOLÒGICA ALS ESTÍMULS ESTRESSANTS: MARCADORS D'ESTRÈS

Les situacions estressants provoquen en general canvis de comportament, fisiològics, endocrins i metabòlics encaminats a assegurar la capacitat dels organismes de posar en marxa, si és necessari, un compor-

tament actiu i inhibir alhora processos fonamentalment anàbolic. Així, la resposta típica d'estrès involucra una estimulació de l'eix neuroendocrí HPA, a més de la ja esmentada activació del sistema SMA. L'activació del sistema SMA provoca canvis fisiològics com un increment de la freqüència i intensitat de contracció del cor, increment de la pressió arterial, hiperglicèmia, lipòlisi, inhibició de la secreció d'insulina (i estimulació de la del glucagó) i activació del sistema renina-angiotensina II-aldosterona.

A més de contribuir a aclarir el seu possible paper adaptatiu o la seva contribució a les patologies associades a les situacions estressants, l'estudi de la resposta d'estrès ens pot permetre obrir el camí a la recerca de marcadors d'estrès com a futura eina de diagnosi. Un bon marcador d'estrès ens hauria de permetre quantificar objectivament el grau d'estrès experimentat per l'individu, i a tal efecte hauria de respondre als estímuls estressants: a) de forma consistent, b) unidireccionalment, i c) sent el reflex fidel de la intensitat de l'estímul. En aquest sentit, tant el sistema SMA (fonamentalment l'adrenalina, i subsidiàriament la glicèmia) com l'eix HPA semblen ser bons marcadors d'estrès tant en rosegadors com en humans (Armario *et al.*, 1986b, 1986c, 1990, 1995; De Boer *et al.*, 1989). Si bé aquest és també el cas de la prolactina, fins i tot en mascles, la seva significació funcional encara s'ha d'establir (Armario *et al.*, 1986b, 1995). Malgrat que altres variables metabòliques (per exemple, àcids grassos lliures i triglicèrids) i endocrines (per exemple, hormona de creixement (GH), tirotròpina (TSH) i hormona luteïnitzant (LH)), responen als agents estressants, la magnitud d'aquestes respostes és totalment independent de la intensitat de l'estímul, la qual cosa resta vàlida al seu possible ús com a marcadors d'estrès (Armario *et al.*, 1986b, 1986c, 1989; Martí *et al.*, 1996) (Figura 1).

ESTÍMULS ESTRESSANTS I EIX HPA

La informació rebuda i processada en diferents àrees de l'SNC provinent d'un estímul estressant convergeix en última instància a l'hipotàlem per induir la síntesi i l'alliberament de CRF i d'altres factors hipotalàmics com la vasopressina (AVP). Si bé el CRF té un paper fonamental en el control de la secreció d'adrenocorticotropina (ACTH) durant l'estrès, altres factors hipotalàmics (AVP, oxitocina, angiotensina II, catecolamines) poden participar d'aquest control, de forma que la resposta de l'ACTH a un estímul estressant donat estaria determinada per l'alliberament conjunt d'alguns d'aquests factors, i el CRF exerciria un paper merament permissiu en alguns casos i principal en altres (Antoni, 1986). La participació del CRF i de l'AVP provinents dels NPV en la resposta de l'ACTH als estímuls estressants ha estat demostrada en diversos experiments, on s'ha observat que aquella resposta queda atenuada o abolida per lesions dels NPV o l'administració d'anticossos específics o antagonistes del CRF i de l'AVP. El CRF és la principal molècula amb activitat alliberadora de corticotropina i, neuroanatòmicament, al voltant del 90 % del CRF directament implicat en el control neuroendocrí de l'eix HPA és sintetitzat per un grup de neurones de la regió parvicel·lular dels NPV hipotalàmics. Els axons d'aquestes neurones abandonen conjuntament en forma de feix els NPV de forma lateral i arriben a la zona externa de l'eminència mitjana (EM), on descarreguen els seus productes de neurosecreció cap al sistema de circulació portohipofisari (Figura 2). S'ha demostrat que en rates quasi la meitat d'aquestes fibres de CRF de la regió parvicel·lular dels NPV contenen AVP, que està funcionalment separada de l'AVP descarregada a la neurohipòfisi provinent de les neurones magnocel·lulars dels NPV. La plas-

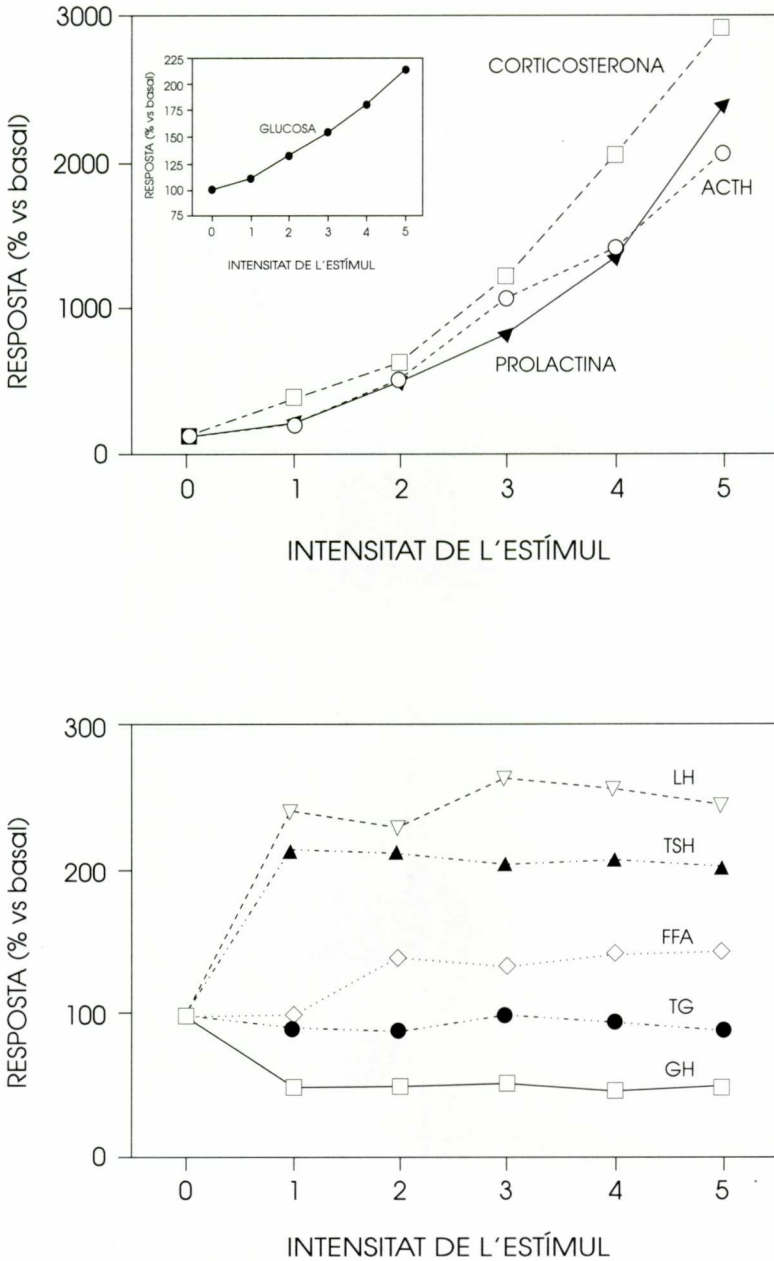


FIGURA 1. Resposta a estímuls estressants d'intensitat creixent (on 0 indicaria la condició basal sense estímul i 5, la condició on la intensitat seria màxima) de les hormones i els metabòlits següents: ACTH, corticosterona, prolactina i glucosa (gràfica superior), i GH, TSH, LH, àcids grassos lliures (FFA) i triglicèrids (TG) (gràfica inferior). Observeu que la relació proporcional entre la intensitat de l'estímul i la magnitud de les respostes és evident només en les variables de la gràfica superior. Amb situacions estressants més intenses que les que s'indiquen a la figura, algunes de les variables de la gràfica inferior mostrarien una inhibició.

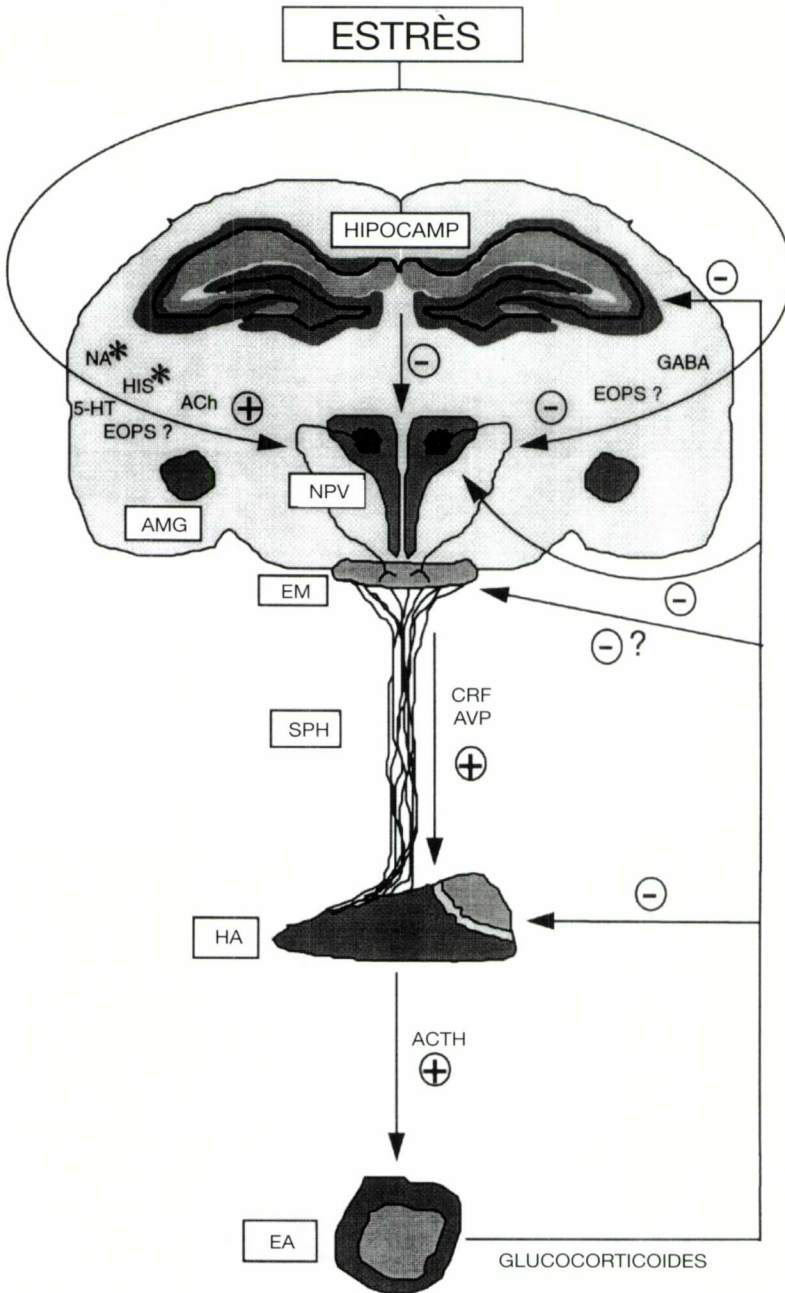


FIGURA 2. Anatomia fisiològica de l'activitat de l'eix HPA durant l'estrès. NA: noradrenalina; 5-HT: serotonina; ACh: acetilcolina; HIS: histamina; EOP: opioïdes endògens; GABA: àcid γ -aminobutíric; AMG: amígdala; NPV: nuclis paraventriculars de l'hipotàlem; EM: eminència mitjana; SPH: sistema de circulació portohipofisari; HA: hipòfisi anterior; EA: escorça adrenal; +: estimulació; -: inhibició. Els neurotransmissors assenyalats amb un asterisc són els més clarament implicats en la resposta d'estrès. A l'efecte d'aclariment, els diferents components de l'eix HPA no estan representats a escala.

ticitat genòmica d'aquelles neurones es posa de manifest després d'adrenalectomia o estrès crònic, on s'observa que la coexistència de CRF i d'AVP s'estén a gairebé totes les fibres CRFèrgiques que arriben a l'EM (Whitnall *et al.*, 1987), la qual cosa suggereix una potenciació del paper de l'AVP en situacions d'alliberament crònic d'ACTH.

El CRF actua sobre les cèl·lules corticotropes de l'adenohipòfisi, a través de la unió específica als receptors de CRF tipus 1, per estimular l'expressió del gen que codifica per a la POMC, que és el precursor de l'ACTH i d'altres pèptids com les β -endorfines i les lipotropines (Antoni, 1986). En resposta a un estímul estressant, els nivells circulants d'ACTH s'eleven entre 5 i 100 vegades, assoleixen el màxim nivell al cap de 5 o 30 minuts i es normalitzen progressivament fins a nivells basals al cap d'unes hores, fins i tot en aquells casos on l'exposició a l'estímul és molt prolongada. Aquesta reducció progressiva sembla ser deguda, almenys en part, als mecanismes de retroinhibició de l'eix HPA i a la disminució dels magatzems d'ACTH de la hipòfisi. Els efectes fisiològics de l'ACTH semblen estar fonamentalment restringits a l'adrenal, on té un efecte tròfic sobre la glàndula i estimula la síntesi i secreció de glucocorticoides, corticosterona en rata i cortisol en humans (Figura 2).

L'activitat de l'eix HPA és contrarestatada per mecanismes de retroinhibició exercits pels glucocorticoides, com ha estat abastament demostrat en diversos treballs en què fonamentalment s'escolliren com a aproximacions experimentals l'adrenalectomia (extirpació quirúrgica o anul·lació funcional de les glàndules adrenals) i/o l'administració exògena de glucocorticoides. Aquesta inhibició s'ha demostrat tant en condicions basals com en resposta a diversos estímuls estressants. Hi ha probablement quatre o més llocs on els glucocorticoides podrien actuar per modular la secreció d'ACTH, que

inclourien la hipòfisi, l'EM (encara que les proves no són concloents), l'hipotàlem i altres estructures de l'SNC, bàsicament l'hipocamp. Això seria compatible amb el fet que s'ha descrit la presència de receptors per a aquestes hormones en les zones mencionades (Figura 2). Els glucocorticoides duen a terme l'acció inhibidora a través de la interacció amb dos tipus de receptors: a) els de tipus I, que tenen alta afinitat per la corticosterona i es troben localitzats sobre tot a l'hipocamp, i b) els de tipus II, que tenen major afinitat pel cortisol i per alguns glucocorticoides sintètics com la dexametasona, i que presenten una distribució més generalitzada, incloent-hi l'hipocamp, l'hipotàlem i la hipòfisi. Encara que tots dos tipus de receptors contribueixen a la retroinhibició de l'eix HPA per glucocorticoides, en rata, els de tipus I estarien totalment ocupats amb nivells de corticosterona baixos, i serien per tant els de tipus II (que tenen menys afinitat per la corticosterona que els de tipus I) els que s'anirien ocupant en situacions d'estrès, i per tant els més importants a l'hora de blocar la resposta de l'eix HPA als estímuls estressants. El seu efecte és més evident quant a la velocitat de retorn de les hormones de l'eix HPA a la normalitat que no pas quant a la resposta inicial.

En el marc dels estudis al voltant de la implicació dels diferents sistemes de neurotransmissió en el control de la resposta de l'eix HPA als estímuls estressants, és important considerar que poden haver-hi vies comunes a molts estímuls estressants, situades presumiblement al nivell pròxim a l'hipotàlem, i vies particulars per a cadascun dels estímuls, distals a l'hipotàlem. Aquesta és potser una de les raons per la qual les dades experimentals han estat i són encara escasses i de vegades contradictòries. Malgrat tot, sembla haver-hi un consens generalitzat a l'hora de concedir una importància cabdal a les vies noradrenèrgiques que, pro-

cedents de la regió A1 (i en menor mesura d'A2 i d'A6) del tronc encefàlic, viatjarien pel feix ascendent noradrenèrgic ventral i activarien les neurones CRFèrgiques dels NPV (i en conseqüència la resta de l'eix HPA) en situacions d'estrès, fonamentalment a través de receptors $\alpha 1$ -adrenèrgics (Plotsky *et al.*, 1989). Pel que fa a altres sistemes, la participació dopaminèrgica i serotoninèrgica sembla ser menys rellevant i el que està guanyant consideració en els darrers anys és el possible paper de les neurones histaminèrgiques.

ESTRÈS CRÒNIC I EIX HPA

Un dels principals problemes en l'estudi de l'estrès crònic, inherent a la pròpia ambigüïtat en la definició del concepte d'estrès, és l'extremament àmplia diversitat de protocols experimentals descrits a la bibliografia, tant pel que fa al tipus d'estímuls estressants com a la durada o la forma com els individus hi són exposats. Això pot contribuir segurament al fet que, malgrat que els resultats obtinguts amb estímuls suficientment intensos o prolongats (ja siguin continus o intermitents) són generalment força consistents, algunes de les dades són difícils d'encaixar en l'esquema general de la resposta d'estrès crònic.

Pel que fa al que es podria considerar el component més inespecífic de la resposta d'estrès crònic, hem observat repetidament al nostre laboratori que l'estrès crònic intermitent provoca en rata anorèxia i disminució del guany de pes corporal. És característica també l'aparició d'hipertrofia adrenal (recordem a aquest respecte el típic increment d'ACTH durant l'estrès i l'efecte tròfic que aquesta exerceix sobre l'adrenal) i una involució del timus mediada pels glucocorticoides (Martí *et al.*, 1993b, 1995). També hem observat al nostre laboratori un incre-

ment dels nivells basals de glucocorticoides, però només en la fase de repòs, quan són més baixos (Martí *et al.*, 1993a), que es normalitzen al cap de set dies, així com un increment de la resposta *in vivo* i *in vitro* de l'adrenal a l'ACTH (Armario *et al.*, 1988). El fet que mai no hàgim trobat alteracions en els nivells basals d'ACTH en les rates estressades crònicament no és en absolut indicatiu que l'eix HPA no presenti importants alteracions bioquímiques a diferents nivells. Ans al contrari, doncs, malgrat haver-hi un descens del nombre de receptors de CRF de l'adenohipòfisi, es troba un increment en l'expressió del gen de la POMC (Figura 3), en l'acumulació d'ACTH i de β -endorfina a la pituitària anterior i també en la resposta de l'ACTH al CRF (Martí *et al.*, 1994, dades no publicades). A nivell hipotalàmic, hem observat que l'estat d'estrès crònic es caracteritza per un increment dels nivells de mRNA de CRF (Figura 3) i d'AVP als NPV (Martí *et al.*, dades no publicades), com ja havíem assenyalat anteriorment. Si bé no s'han observat que estímuls estressants crònics canviïn el nombre de receptors de glucocorticoides a la hipòfisi o a l'hipotàlem, en el nostre laboratori s'han obtingut evidències en el sentit que tant l'expressió gènica com el nombre de receptors de tipus II a l'hipocamp estan disminuïts en aquells animals (Martí *et al.*, 1994). Atès que l'hipocamp té un paper important en la inhibició de l'eix HPA pels glucocorticoides, aquestes dades són compatibles amb una reducció de l'eficàcia dels glucocorticoides per inhibir l'eix en animals sotmesos a situacions d'estrès crònic.

Si prenem en conjunt totes aquestes dades, sembla que després de l'exposició a estímuls estressants crònics la capacitat potencial de resposta de l'eix HPA està considerablement incrementada, malgrat que no es manifesti en l'activitat tònica de l'eix a tots els nivells. Seria per tant possible que l'ob-

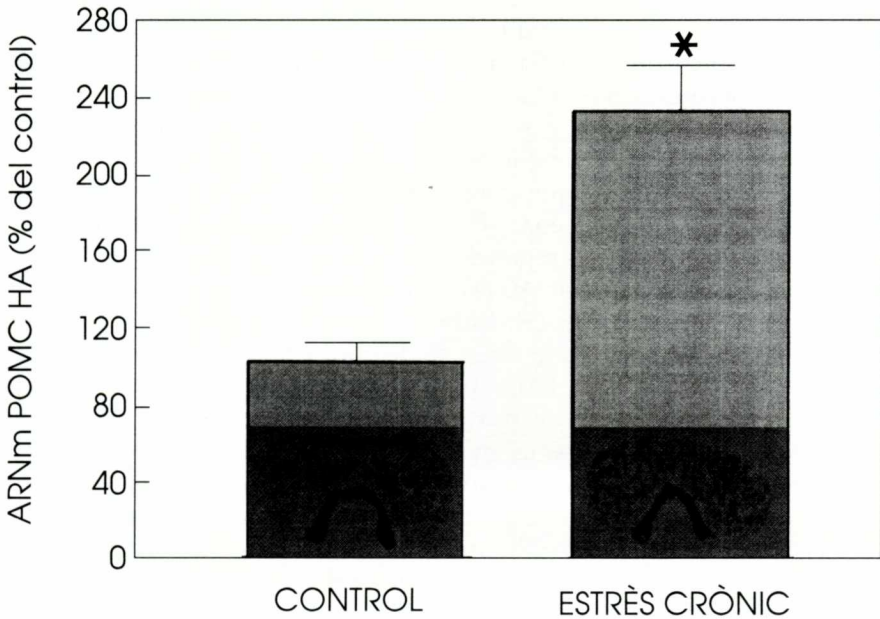
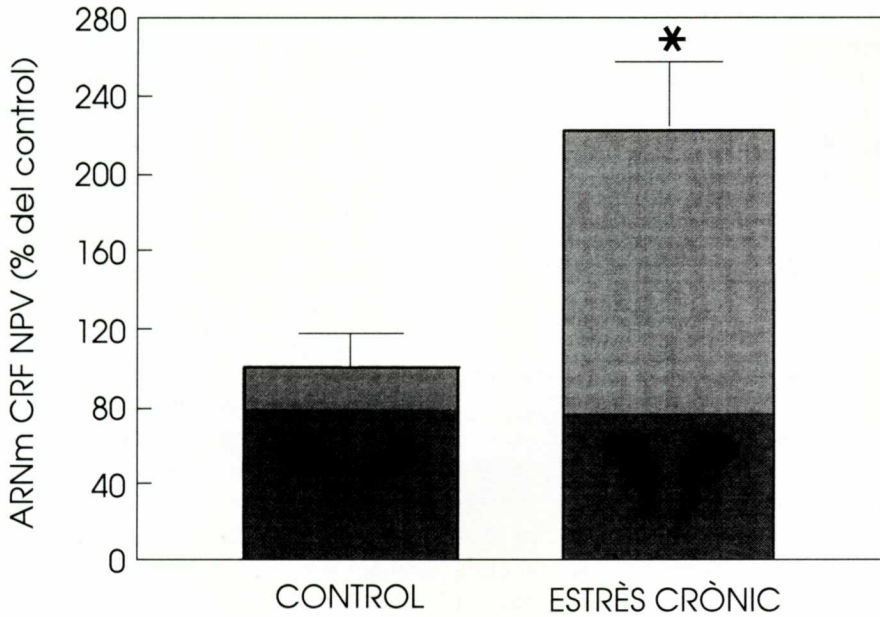


FIGURA 3. L'exposició a un estímul estressant crònic incrementa els nivells basals de l'mRNA per al CRF als NPV de l'hipotàlem (gràfica superior) i per a la POMC a la hipòfisi anterior (s'ha de destacar l'intens senyal del lòbul intermedi, en forma de ferradura) (gràfica inferior). * $p < 0,01$ vs. control.

jectiu d'aquesta major capacitat potencial de resposta fos necessari per tal d'assegurar en el futur una resposta adequada de l'eix HPA enfront de noves demandes representades per nous estímuls estressants de característiques o durada imprevisibles.

ELS FENÒMENS D'HABITUACIÓ I DE FACILITACIÓ DE L'EIX HPA

La resposta hormonal a les situacions estressants és clarament dependent del temps d'exposició a aquestes situacions, de forma que quan la situació es repeteix o prolonga suficientment és freqüent observar una normalització de les variables alterades inicialment. Els mecanismes generals que regeixen aquesta normalització malgrat la persistència o repetició de l'estímul no són ben coneguts, però en principi caldria esperar la implicació de modificacions en els mecanismes fisiològics que regulen cadascun dels sistemes endocrins i una reducció en la reacció emocional provocada per la repetició intermitent o per la persistència de la situació estressant.

En aquest sentit, s'ha demostrat que no més algunes variables fisiològiques presenten una reducció progressiva en la resposta com a conseqüència de la repetició diària del mateix estímul estressant: ACTH, catecolamines circulants (fonamentalment adrenalina) i glucosa (Armario *et al.*, 1986a, 1988, 1990; De Boer *et al.*, 1989). Quan es canvia l'estímul estressant, la resposta hormonal es normalitza, fet que indica que aquesta reducció és específica per a l'estímul que es repeteix diàriament. Aquest fenomen ha rebut la denominació d'adaptació o d'habitució en funció dels mecanismes subjacents que se suposen implicats. El terme adaptació s'utilitza més en la tradició biològica dels mecanismes que es posen en marxa per afrontar una situació que ten-

deix a alterar l'equilibri homeostàtic, i el d'habitució és utilitzat pels que assumeixen que el procés segueix les lleis de l'habitució als estímuls sensorials proposades per Groves i Thompson: a) com més freqüent o dèbil és l'estímul més ràpida i/o pronunciada és l'habitució, b) després d'instaurar l'habitució, la resposta es recupera progressivament si l'estímul no es continua aplicant, i c) la presentació d'un altre estímul produeix la recuperació de la resposta. Aquesta darrera característica és la que suggereix que el mecanisme determinant de la reducció de la resposta seria sobretot la familiarització amb l'estímul (i la reducció subsegüent de la resposta emocional associada), més que no pas els possibles canvis bioquímics en els sistemes endocrins. En aquest context, doncs, no és sorprenent que ACTH, catecolamines i glucosa siguin els millors marcadors de l'habitució si pensem en la seva capacitat de reflectir la intensitat de la situació. Les inconsistències sobre si els glucocorticoides serien també bons marcadors d'habitució sorgirien en primer lloc de l'evidència que la resposta de l'adrenal a l'ACTH està incrementada en animals estressats crònicament i, en segon lloc, del fet que la capacitat secretora de l'adrenal se satura amb nivells circulants d'ACTH submàxims, i és possible, per tant, que reduccions en els nivells d'ACTH no es vegin reflectits en els de glucocorticoides (Armario *et al.*, 1988).

Si bé l'habitució de la resposta de l'ACTH a un estímul repetit sembla ser un fenomen força ben caracteritzat, alguns dissenys experimentals han permès desemmascarar un fenomen, del tot oposat, d'exacerbació de la resposta de l'ACTH per sobre de la que presenten els animals control, que ha rebut el nom de facilitació. Encara que les proves de l'existència d'aquest fenomen són escasses, en tots els casos en què s'ha descrit facilitació s'estu-

dià la resposta aguda a un estímul estressant nou de característiques totalment diferents a les de l'estímul usat com a paradigma d'estrès crònic (per exemple, restricció crònica de moviments o exposició crònica al fred *versus* resposta a la inhalació aguda de vapors d'èter, o resposta a l'administració aguda d'histamina en un model d'estrès crònic representat per la diabetis experimental). Recentment hem descrit al nostre laboratori facilitació de la resposta de l'ACTH a un estímul estressant agut nou en rates estressades crònicament, però només quan aquestes havien estat prèviament adrena-lectomitzades (Martí *et al.*, 1994). Aquestes dades donen suport a la hipòtesi que l'estrès podria contrarestar els mecanismes de retroinhibició de la corticosteroïna mitjançant un procés de sensibilització, i confirma dades prèvies obtingudes al nostre laboratori en el sentit que l'exposició a un estímul estressant crònic facilita més que no pas habitua la resposta durant un estrès crònic nou.

No es coneix a penes res dels mecanismes nerviosos implicats en els processos de facilitació o en l'habitució de l'eix HPA a la presentació repetida d'un estímul. En aquest sentit, els estudis sobre les conseqüències de l'exposició repetida a un mateix estímul estressant sobre l'alliberament de NA als NPV mitjançant la tècnica de microdiallisi, han generat resultats contradictoris (Pacak *et al.*, 1995), i en aquells casos on s'ha observat una disminució de la resposta, anàlogament a la de l'ACTH, aquesta ha estat específica per a l'estímul aplicat crònicament (Terrazzino *et al.*, 1995). És interessant destacar que l'activació de les vies de NA/A de les regions A1/C1 del tronc encefàlic, que són les que envien projeccions majoritàriament als NPV, també s'habituen, mentre que les d'altres regions (per exemple, locus ceruli) no ho fan o ho fan més tard (Lachuer *et al.*, 1994).

INTERACCIÓ AMB EL SISTEMA IMMUNITARI

La relació entre estrès i sistema immunitari és potser una de les més investigades l'última dècada, especialment des del moment en què es varen començar a establir les connexions bidireccionals existents entre els sistemes endocrí i immunitari (Gaillard, 1994). Avui està ben establert que cèl·lules i òrgans del sistema immunitari poden sintetitzar diverses hormones, algunes d'elles relacionades amb l'eix HPA, com el CRF, l'AVP, l'ACTH o la β -endorfina (Martí *et al.*, dades no publicades), i que, per la seva banda, moltes hormones, incloent-hi algunes que es modifiquen de manera important en situacions estressants (catecolamines, els EOP, prolactina o ACTH), poden modular l'activitat del sistema immunitari. En el cas concret de l'eix HPA, recentment s'ha demostrat que la inhibició del sistema immunitari no es restringeix únicament als glucocorticoides corticoadrenals, sinó que també és mediada pel propi CRF actuant a nivell central i de manera totalment independent dels glucocorticoides (Dunn *et al.*, 1990; Owens *et al.*, 1991). Per la seva banda, diverses citocines poden activar l'eix HPA actuant a través de l'SNC, si bé els llocs i les vies a través de les quals té lloc aquesta activació no estan encara ben establerts. El fet que algunes situacions estressants purament psicològiques incrementin els nivells d'algunes citocines com la interleucina-6 (Zhou *et al.*, 1993), suggereix que el paper d'aquestes en la resposta d'estrès desborda amb escreix el marc immunitari clàssic per inscriure's dins dels mecanismes generals d'habitució a les situacions d'estrès. Malgrat que les dades obtingudes al voltant de la relació entre estrès i sistema immunitari atorguen al primer un paper important, hi ha també un cos de resultats contradictoris, dependent de les variables estudiades i sobretot de la intensitat, la durada i el grau de control que l'animal exer-

ceix sobre la situació. En aquest sentit, és especialment important tenir en compte la possibilitat que l'animal s'habitui a la situació si aquesta es repeteix diàriament, atès que s'ha observat una inhibició del sistema immunitari durant la resposta aguda d'estrès i, en canvi, una estimulació quan l'estímul és crònic (Heninger, 1995). Queden per tant molts aspectes per investigar al voltant dels efectes dels estímuls estressants sobre el sistema immunitari i els mecanismes fisiològics implicats.

EPÍLEG

Si bé el mateix concepte d'estrès ha defugit gairebé tots els intents de definició, la idea que seria el ventall de respostes a tots aquells estímuls que amenacen realment o potencialment la integritat de l'individu ha pres rellevància els darrers anys. Els estímuls estressants són processats a nivell central, i són els sistemes noradrenèrgics del tronc encefàlic i el sistema CRFèrgic de l'hipotàlem (amb l'activació subsegüent de l'eix HPA) els més estudiats. La consistència de la resposta de l'ACTH en situacions d'estrès fan que aquesta hormona prengui cada dia més importància com a possible marcadora d'estrès. Malgrat que l'exposició dels organismes a situacions cròniques d'estrès produeix força vegades una reducció de la resposta de l'ACTH, que segueix les lleis de l'habitució, la capacitat potencial de resposta de l'eix HPA està incrementada, com demostren alguns estudis duts a terme en el nostre laboratori, i això es pot manifestar en forma d'una potenciació de la resposta davant d'un nou estímul (facilitació). En el marc de les interrelacions entre els diferents sistemes fisiològics, la possible importància funcional de la comunicació bidireccional entre el sistema neuroendocrí i el sistema immunitari rebrà probablement un impuls renovat els propers anys.

BIBLIOGRAFIA

- ANTONI, F. A. (1986). «Hypothalamic control of adrenocorticotropin secretion: advances since the discovery of 41-residue corticotropin-releasing factor». *Endocrin. Rev.*, núm. 7, pàg. 351-378.
- ARMARIO, A.; J. HIDALGO; M. GIRALT (1988). «Evidence that the pituitary-adrenal axis does not cross-adapt to stressors: comparison to other physiological variables». *Neuroendocrinology*, núm. 47, pàg. 263-267.
- ARMARIO, A.; T. JOLÍN (1989). «Influence of intensity and duration of exposure to various stressors on serum TSH and GH levels in adult male rats». *Life Sci.*, núm. 44, pàg. 215-221.
- ARMARIO, A.; A. LÓPEZ-CALDERÓN; T. JOLÍN; J. BALASCH (1986a). «Response of anterior pituitary hormones to chronic stress. The specificity of adaptation». *Neurosci. Biobehav. Rev.*, núm. 10, pàg. 245-250.
- ARMARIO, A.; A. LÓPEZ-CALDERÓN; T. JOLÍN; J. M. CASTELLANOS (1986b). «Sensitivity of anterior pituitary hormones to graded levels of psychological stress». *Life Sci.*, núm. 39, pàg. 471-475.
- ARMARIO, A.; J. MARTÍ; M. GIL (1990). «The serum glucose response to acute stress is sensitive to the intensity of the stressor and to habituation». *Psychoneuroendocrinology*, núm. 15, pàg. 341-347.
- ARMARIO, A.; O. MARTÍ; T. MOLINA; J. DE PABLO; M. VALDÉS (1995). «Acute stress markers in humans: response of plasma glucose, cortisol and prolactin to two examinations differing in the anxiety they provoke». *Psychoneuroendocrinology*, núm. 21, pàg. 17-24.
- ARMARIO, A.; J. L. MONTERO; J. BALASCH (1986c). «Sensitivity of corticosterone and some metabolic variables to graded levels of low intensity stresses in adult male rats». *Physiol. Behav.*, núm. 37, pàg. 559-561.
- CULLINAN, W. E.; J. P. HERMAN; D. L. HELMREICH; S. J. WATSON, jr. (1995). «A neuroanatomy of stress». A: Friedman, M. J.; Charney, D. S.; Deutch, A. Y. *Neurobiological and clinical consequences of stress: from normal adaptation to post-traumatic stress disorder*. Filadèlfia: Lippincott-Raven Publishers. pàg. 3-26.
- DE BOER, S. F.; J. VAN DER GUGTEN; J. L. SLANGEN (1989). «Plasma catecholamine and corticosterone responses to predictable and unpredictable noise stress in rats». *Physiol. Behav.*, núm. 45, pàg. 789-795.
- DUNN, A. J.; C. W. BERRIDGE (1990). «Physiological and behavioral responses to corticotropin-releasing factor administration: is CRF a mediator of anxiety or stress responses?». *Brain Res. Rev.*, núm. 15, pàg. 71-100.
- GAILLARD, R. C. (1994). «Neuroendocrine-immune system interactions. The immune-hypothalamo-pituitary-adrenal axis». *Trends Endocrinol. Metab.*, núm. 5, pàg. 303-309.
- HENINGER, G. R. (1995). «Neuroimmunology of stress». A: Friedman, M. J.; Charney, D. S.; Deutch, A. Y. *Neuro-*

- biological and clinical consequences of stress: from normal adaptation to post-traumatic stress disorder*. Filadèlfia: Lippincott-Raven Publishers. pàg. 381-401.
- HORGER, B. A.; R. H. ROTH (1995). «Stress and central amino acid systems». A: Friedman, M. J.; Charney, D.S.; Deutch, A.Y. *Neurobiological and clinical consequences of stress: from normal adaptation to post-traumatic stress disorder*. Filadèlfia: Lippincott-Raven Publishers. pàg. 61-81.
- LACHUER, J.; I. DELTON; M. BUDA; M. TAPPAZ (1994). «The habituation of brainstem catecholaminergic groups to chronic daily restraint stress is stress specific like that of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis». *Brain Res.*, núm. 638, pàg. 196-202.
- MARTÍ, O.; A. GAVALDÀ; F. GÓMEZ; A. ARMARIO (1994). «Direct evidence for chronic stress-induced facilitation of the adrenocorticotropin response to a novel acute stressor». *Neuroendocrinology*, núm. 60, pàg. 1-7.
- MARTÍ, O.; A. GAVALDÀ; T. JOLÍN; A. ARMARIO (1993a). «Effect of regularity of exposure to chronic immobilization stress on the circadian pattern of pituitary adrenal hormones, growth hormone and thyroid stimulating hormone in the adult male rat». *Psychoneuroendocrinology*, núm. 18, pàg. 67-77.
- (1996). «Acute stress attenuates but not abolishes circadian rhythmicity of serum TSH and GH in the rat». *Eur. J. Endocrinol.*, núm. 135, pàg. 703-708.
- MARTÍ, O.; A. GAVALDÀ; J. MARTÍ; M. GIL; M. GIRALT; A. LÓPEZ-CALDERÓN; A. ARMARIO (1993b). «Chronic stress induced changes in LH secretion: the contribution of anorexia associated to stress». *Life Sci.*, núm. 52, pàg. 1187-1194.
- MARTÍ, O.; J. MARTÍ; A. ARMARIO (1995). «Effects of chronic stress on food intake in rats: influence of stressor intensity and duration of daily exposure». *Physiol. Behav.*, núm. 55, pàg. 747-753.
- OWENS, M. J.; C. B. NEMEROFF (1991). «Physiology and pharmacology of corticotropin-releasing factor». *Pharmacol. Rev.*, núm. 43, pàg. 425-473.
- PACAK, K.; M. PALKOVITS; I. J. KOPIN; D. S. GOLDSTEIN (1995). «Stress-induced norepinephrine release in the hypothalamic paraventricular nucleus and pituitary-adrenocortical and sympathoadrenals activity: *In vivo* microdialysis studies». *Frontiers Neuroendocrinol.*, núm. 16, pàg. 89-150.
- PLOTSKY, P. M.; E. T. CUNNINGHAM; E. P. WIDMAIER (1989). «Catecholaminergic modulation of corticotropin-releasing factor and adrenocorticotropin secretion». *Endocrine Rev.*, núm. 10, pàg. 437-458.
- TERRAZZINO, S.; C. PEREGO; M. G. DE SIMONI (1995). «Effect of development of habituation to restraint stress on hypothalamic noradrenaline release and adrenocorticotropin secretion». *J. Neurochem.*, núm. 65, pàg. 263-267.
- VIGAS, M. (1980). «Contribution to the understanding of the stress concept». A: Usdin, E.; Kvetnansky, R.; Kopin, I. J. *Catecholamines and stress: recent advances*. Nova York: Elsevier North Holland. pàg. 572-581.
- WHITNALL, M. H.; D. SMYTH; H. GAINER (1987). «Vasopressin coexists in half of the corticotropin-releasing factor axons present in the external zone of the median eminence in normal rats». *Neuro-endocrinology*, núm. 45, pàg. 420-424.
- ZHOU, D.; A. W. KUSNECOV; M. R. SHURIN; M. DE PAOLI; B. S. RABIN (1993). «Exposure to physical and psychological stressors elevates plasma interleukin 6. Relationship to the activation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis». *Endocrinology*, núm. 133, pàg. 2523-2530.