

## Sistema renina-angiotensina y liberación de noradrenalina en el hipotálamo y bulbo raquídeo

A. E. Domínguez, B. E. Fernández y N. A. Vidal

Orientación Fisiología Humana,  
Departamento de Ciencias Biológicas,  
Facultad de Farmacia y Bioquímica,  
Universidad de Buenos Aires  
(República Argentina)

(Recibido el 15 de noviembre de 1982)

A. E. DOMINGUEZ, B. E. FERNANDEZ and N. A. VIDAL. *Renin-Angiotensin System and Norepinephrine Release in the Hypothalamus and Medulla Oblongata* Rev. esp. Fisiol., 39, 249-252, 1983

The effect of angiotensin II ( $A_{II}$ ) and 48 h bilateral nephrectomy on the  $^3H$ -norepinephrine ( $^3H$ -NE) and  $^3H$ -NE metabolites release *in vitro* was studied in slices of male Wistar rat hypothalamus and medulla oblongata. The total  $^3H$  outflow of radioactivity was higher in  $A_{II}$  exposed tissues than in nephrectomized ones of both organs. The  $^3H$ -NE and  $^3H$ -NE metabolites remanent radioactivity in the tissues increased in both the soluble cytoplasmatic fractions and the granular vesicle ones, in the two organs from the nephrectomized rats. The ratio between granular and cytoplasmatic NE and granular and cytoplasmatic radioactive metabolites was not noticeably altered in any of the groups.

The release of  $^3H$ -NE caused by  $A_{II}$  and the opposite effect by nephrectomy, agree with the inverse relationship demonstrated between endogenous NE content in the central nervous system and  $A_{II}$  plasmatic levels.

$A_{II}$  might act on presynaptic NE receptors of the cellular membrane. The relationship between the renin- $A_{II}$  system and the central nervous system catecholamines could be involved in the control of development and maintenance of the renal arterial hypertension.

La angiotensina II (AII) es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica en ciertas áreas del sistema nervioso central (SNC) (7) y se ha postulado que ejerce parte de sus acciones cardiocirculatorias a través de las modificaciones del metabolismo de las catecolaminas del SNC.

En trabajos anteriores se comprobó una estrecha vinculación entre el sistema renina-angiotensina y los niveles de la noradrenalina (NA) en el SNC, siendo la

concentración de la NA endógena inversamente proporcional a los niveles de la AII plasmática (3, 12). También se observó que la captación neuronal de la NA en el hipotálamo y el bulbo raquídeo está disminuída en presencia de AII y aumentada en su ausencia y que la AII modifica asimismo la relación entre la NA y sus metabolitos en los compartimientos de almacenamiento intracelular (5).

El motivo del presente trabajo es am-

pliar el estudio de los efectos de la AII y la nefrectomía sobre la liberación de la NA, en el hipotálamo y el bulbo raquídeo de la rata.

### Material y métodos

Los experimentos se efectuaron en ratas Wistar macho de un peso que oscilaba entre los 180 y 250 g. Se utilizaron los siguientes grupos de animales: a) controles; b) incubados en presencia de AII, y c) nefrectomizados.

La nefrectomía se efectuó bilateralmente 48 h antes de los experimentos en ratas anestesiadas con éter, las cuales se sacrificaron por decapitación entre las 13 y 14 h para evitar las variaciones circadianas. Se disecaron, extrajeron, congelaron y pesaron los hipotálamos y bulbos raquídeos, los que se trocearon en cortes de 1 mm<sup>3</sup> de volumen aproximadamente y se preincubaron en un baño termostático tipo Dubnoff durante 15 min con solución de Krebs modificada (2), a 37° C, con burbujeo con carbógeno y agitación continua. Se incubaron durante 30 min con 2,5 µCi/ml de 7-d-1-<sup>3</sup>H NA CIH (New England Corporation), de 0,32 µCi/mg de actividad específica, y luego se lavaron durante 90 min con solución de Krebs para eliminar la radioactividad correspondiente a la captación extraneuronal y la liberación extracelular. Al cabo del lavado se recogió una muestra basal durante 3 min y luego se estimuló con 0,2 ml de CIK 20 mM durante otros 3 min. En estas muestras se midió, respectivamente, la liberación basal y la inducida por CIK por métodos convencionales de conteo de centelleo líquido. En el grupo b) se agregó 0,1 ml de AII (1 × 10<sup>-6</sup>M) en la muestra basal y en la estimulada con potasio. Para medir la radioactividad remanente en los tejidos, éstos se lavaron durante 5 min con solución de sacarosa 0,32 M, se homogeneizaron con la misma solución y se ultracentrifugaron a 100.000 G durante 90 min. Se separaron alícuotas

del sobrenadante y del sedimento resuspendido, determinándose la radioactividad total de las muestras. Otras alícuotas de las dos fracciones se desproteinizaron con ácido tricloroacético al 10% y se pasaron por columnas cromatográficas de óxido de aluminio, eluyéndose la NA en medio ácido y determinándose su radioactividad. La actividad de los metabolitos de la NA se calculó por diferencia entre la radioactividad total y la correspondiente a la NA (10). Los resultados se expresan en d.p.m./g de tejido fresco ± E. S. y fueron todos analizados por el t-test de Student.

### Resultados

La liberación de radioactividad total inducida por CIK (fig. 1) fue significativamente mayor en los órganos incubados en presencia de AII, que en los de los animales nefrectomizados, tanto en el hipotálamo (47%,  $p < 0,005$ ), como en el bulbo raquídeo (84%  $p < 0,02$ ). La <sup>3</sup>H-NA remanente en los tejidos (fig. 2) fue superior en los órganos de los animales nefrectomizados, comparados con los incubados con AII: hipotálamo (sobrenadante 24%,  $p < 0,005$ ; sedimento 62%,  $p < 0,001$ ).

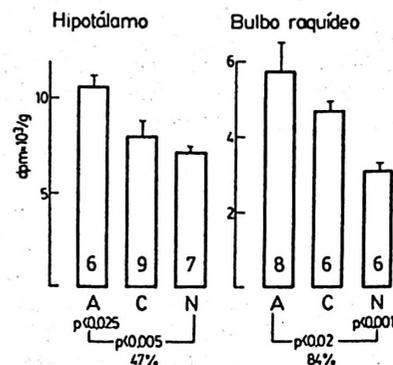


Fig. 1. Efecto de la angiotensina II y la nefrectomía bilateral sobre la liberación de noradrenalina provocada por CIK en el hipotálamo y el bulbo raquídeo. A: angiotensina II; C: controles; N: nefrectomizadas.

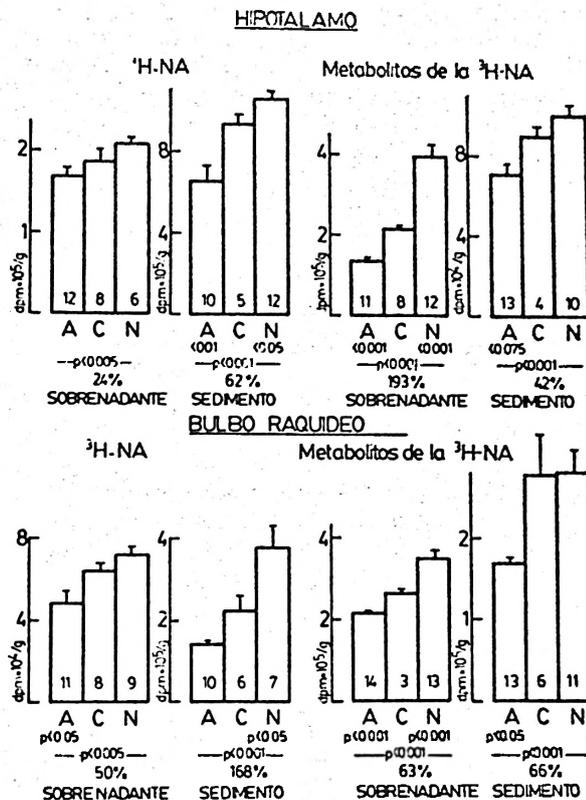


Fig. 2. Radioactividad de la noradrenalina y sus metabolitos retenida en las fracciones correspondientes al sobrenadante y el sedimento del hipotálamo y el bulbo raquídeo, después de la liberación de noradrenalina provocada por estimulación con CIK. A: angiotensina II; C: controles; N: nefrectomizadas.

< 0,001) y bulbo (sobrenadante 50%,  $p < 0,005$ ; sedimento 168%,  $p < 0,001$ ). Los metabolitos radioactivos de la <sup>3</sup>H-NA (fig. 2) también se incrementaron en los tejidos de las ratas nefrectomizadas, comparadas con las incubadas en presencia de AII: hipotálamo (sobrenadante 193%,  $p < 0,001$ ; sedimento 42%,  $p < 0,001$ ) y bulbo (sobrenadante 63%,  $p < 0,001$ ; sedimento 66%,  $p < 0,001$ ).

**Discusión**

Se ha demostrado que la AII disminuye la recaptación neuronal de la NA (4, 11), inhibe su síntesis (1) e incrementa su liberación (9) en diversos órganos. Nuestros resultados muestran que la AII aumenta la liberación de la <sup>3</sup>H-NA tanto en el hipotálamo como en el bulbo raquídeo y que la

nefrectomía bilateral produce el efecto opuesto. El análisis de la radioactividad remanente en los tejidos concuerda con estos resultados, puesto que la radioactividad total, de la <sup>3</sup>H-NA y sus metabolitos se encontró aumentada en los órganos de los animales nefrectomizados y disminuida en los incubados con AII. Este efecto se verificó tanto en la fracción soluble citoplasmática como en la fracción vesículo granular.

La inhibición de la captación de la <sup>3</sup>H-NA y el incremento de su liberación en el SNC de la rata, por efectos de la AII y el efecto opuesto observado en los animales nefrectomizados, concuerda con la relación inversa encontrada entre la concentración endógena de la NA en el bulbo e hipotálamo y los niveles de AII plasmática (2, 12).

Si bien los resultados de los grupos controles no son en todos los casos diferentemente significativos con los hallados en las ratas nefrectomizadas, aquéllos siempre se ubican en valores intermedios entre los otros dos grupos experimentales. Cabe consignar que *in vitro*, a diferencia de *in vivo*, tanto los tejidos de los animales controles como los de los nefrectomizados se hallan en ausencia de AII plasmática. Los resultados diferentes encontrados en estos grupos, ante los estímulos liberadores de NA, podrían deberse a diversos motivos: a) efectos de la AII cerebral; b) variaciones en el contenido endógeno de la NA en el tejido nervioso producidas por la nefrectomía *per se*, y c) a la subsistencia, en los animales nefrectomizados, de los efectos provocados por la disminución de la AII plasmática. El hecho de que la nefrectomía no altere los niveles de la AII cerebral y, que exista una correlatividad entre las concentraciones de AII y NA cerebrales (6, 8), hace descartable la primera posibilidad. La segunda hipótesis parece también poco probable, ya que el aumento de la NA endógena, que es lo que sucede en los animales nefrectomizados (4), aumentaría la liberación neuronal de NA por mecanismos de retroalimentación. Por lo tanto, la tercera posibilidad parece ser la más factible.

Esta interrelación entre el sistema renina-angiotensina y las catecolaminas del SNC puede estar involucrada en la modulación del desarrollo y mantenimiento de la hipertensión arterial de origen renal.

### Resumen

Se estudia en rata Wistar macho el efecto de la angiotensina II y la nefrectomía bilateral de 48 h sobre la liberación de <sup>3</sup>H-noradrenalina (<sup>3</sup>H-NA) y sus metabolitos *in vitro*, en el hipotálamo y el bulbo raquídeo. La liberación de radioactividad total inducida por C1K es significativamente mayor en los órganos incubados en presencia de angiotensina con respecto a los de animales nefrectomizados, tanto

en el hipotálamo como en el bulbo. La radioactividad remanente en los tejidos correspondiente a la <sup>3</sup>H-NA y a los metabolitos es superior, tanto en la fracción soluble citoplasmática como en la fracción vesículo granular, en ambos órganos de las ratas nefrectomizadas en comparación con los de los incubados con angiotensina II. El incremento de la liberación de <sup>3</sup>H-NA producido por la angiotensina II y el opuesto provocado por la nefrectomía bilateral concuerda con la relación inversa descrita entre la concentración endógena de la NA en el sistema nervioso central y los niveles del péptido en plasma. La interrelación entre el sistema renina-angiotensina y las catecolaminas del sistema nervioso central sugieren su participación en la modulación del desarrollo y mantenimiento de la hipertensión arterial nefrogénica.

### Bibliografía

1. DÁVILA, D. y KHAIRALLAH, PH. D.: *Pharmacodyn.*, 193, 307-314, 1971.
2. FARAH, M. B., ADLER-GRASCHINSKY, E. y LANGER, S. Z.: *Naunyn Sch. Arch. Pharmacol.*, 297, 119-131, 1977.
3. FERNÁNDEZ, B. E., DOMÍNGUEZ, A. E., VIDAL, N. A. y TAQUINI (Jr.), A. C.: *Neuroendocrinology*, 15, 338-345, 1974.
4. FERNÁNDEZ, B. E., DOMÍNGUEZ, A. E., VIDAL, N. A. y MARTÍNEZ-SEEGER, A.: *Arch. internat. Physiol. Biochim.*, 85, 287-293, 1977.
5. FERNÁNDEZ, B. E., DOMÍNGUEZ, A. E., VIDAL, N. A. y MARTÍNEZ-SEEGER, A.: *XIII Reun. Asoc. Argentina Farmacol. Exper.* 1981. *Abstr.* 31.
6. FISCHER-FERRARO, C., NAHMOD, V. E., GOLDSTEIN, D. S. y FINKIELMAN, S.: *Amer. J. Med.*, 2, 353-361, 1971.
7. GANTEN, D., SCHELLING, P., VECSEI, P. y GANTEN, U.: *Amer. J. Med.*, 60, 760-772, 1976.
8. GOLDSTEIN, D. J., FINKIELMAN, S., DIAZ, A., FISCHER-FERRARO, C. y NAHMOD, V. E.: *Medicina*, (Buenos Aires), 32, 48-52, 1972.
9. HUGHES, J. y ROTH, R. H.: *Brit. J. Pharmacol.*, 41, 239-255, 1971.
10. PALAIC, D. y KHAIRALLAH, PH. A.: *Biochem. Pharmacol.*, 16, 2291-2298, 1967.
11. STARKE, K.: *Eur. J. Pharmacol.*, 14, 112-123, 1971.
12. VIDAL, N. A., MARTÍNEZ-SEEGER, A., FERNÁNDEZ, B. E., DOMÍNGUEZ, A. E. y TAQUINI (Jr.), A. C.: *Arch. internat. Physiol. Biochim.*, 82, 591-596, 1974.