

Efecto del propranolol sobre la cinética del sistema renina-angiotensina durante el hipertiroidismo experimental

E. Jiménez, M. Montiel, J. A. Narváez y M. Morell

Departamento de Fisiología y Bioquímica
Facultad de Medicina
Universidad de Málaga
Málaga (España)

(Recibido el 23 de febrero de 1981)

E. JIMENEZ, M. MONTIEL, J. A. NARVAEZ and M. MORELL. *Propranolol Effect on Renin-Angiotensin System Kinetic During Experimental Hyperthyroidism*. Rev. esp. Fisiol., 38, 35-40. 1982.

The basal levels of angiotensin I (A. I), plasma renin activity (PRA), plasma renin substrate (PRS) and plasma renin concentration (PRC) were estimated in hyperthyroid rats before and after propranolol treatment.

Serum levels of triiodothyronine (T_3), thyroxine (T_4), angiotensin I both basal and generated by incubation of plasma samples were measured by radioimmunoassay, while, PRC and PRS were evaluated by kinetic methods.

The hyperthyroidism provoked by triiodothyronine or thyroxine treatment induced a decrease in PRS and an increase in PRC whereas triiodothyronine alone produced an increase in the basal levels of angiotensin I and PRA.

The propranolol in euthyroid animals not only decreased the basal levels of angiotensin I and PRA, but also prevented the PRC increase in hyperthyroid rats, while restoring at the same time the basal levels of angiotensin I and PRA.

Desde hace unos años se ha venido estudiando el papel que el sistema nervioso simpático o, más concretamente, los niveles de catecolaminas en plasma, pueden desempeñar no sólo en el control de la secreción, sino también en la liberación de renina renal (17).

Por otra parte, se ha prestado especial atención a los cambios que se producen tras la administración de propranolol, habiéndose descrito no sólo una disminución de la liberación de renina (1), sino

también una neutralización en la elevación de la misma que se produciría en plasma durante la administración parenteral de catecolaminas (10) debido, al parecer, a una inhibición competitiva de los receptores β -adrenérgicos (9, 13). Asimismo, no sólo el propranolol sino también otros antagonistas de los receptores β -adrenérgicos, como el metoprolol, han sido utilizados experimentalmente y también para prevenir los síntomas clínicos que se presentan en el hipertiroidismo y

que están relacionados con un aumento de la actividad adrenérgica (12).

En el presente trabajo se intenta observar el efecto del propranolol sobre el sistema renina-angiotensina en ratas, a las que se les ha provocado hipertiroidismo y tirotoxicosis experimental, mediante administración de tiroxina y triiodotironina respectivamente, estudiando las alteraciones que se producen en los niveles basales de angiotensina I y concentración de angiotensinógeno, renina y actividad renina en plasma. Finalmente, se han estudiado, comparativamente, los cambios que la administración de propranolol produce sobre los parámetros mencionados.

Material y métodos

Se han empleado ratas Wistar machos, con un peso aproximado de 200 g, alimentadas con dieta estándar y agua *ad libitum*.

El hipertiroidismo experimental fue inducido, en un grupo de animales, por administración diaria y s.c. durante los últimos doce días de vida, de 5,5 μg de 1-triiodotironina (Sigma) y, alternativamente, en un segundo grupo, por administración s.c. de 100 $\mu\text{g}/\text{día}$ de 1-tiroxina (BDH) durante el mismo período. Ambas hormonas fueron preparadas en solución salina ligeramente alcalina (pH 8,4) con NaOH 0,1N.

A un grupo de ratas eutiroideas le fue administrado, del mismo modo y durante igual período de tiempo, el solvente utilizado para la inyección de ambas hormonas.

A dos grupos de animales, a los que previamente se les inició el tratamiento con tiroxina o triiodotironina para la inducción del hipertiroidismo, se les administró simultáneamente, durante la última semana de vida, 0,25 mg/día de propranolol i.p. (Sumial inyectable, Ici Farma). Un grupo de animales controles fue tra-

tado durante siete días con las dosis de propranolol antes mencionada.

Todos los animales fueron sacrificados a los setenta días de edad, previa anestesia con pentobarbital sódico (Nembutal, Abbott), tres horas después de recibir la última dosis.

La sangre fue extraída de la arteria abdominal con jeringas y agujas conservadas a 0° C. El plasma, obtenido en presencia de 80 μl de una solución al 6% de EDTA- Na_2 , y el suero, fueron almacenados a -20° C hasta su posterior uso en la determinación de angiotensina I y hormonas tiroideas respectivamente.

Los niveles séricos de 3,5,3'-triiodotironina (T_3) y tiroxina (T_4) fueron determinados por radioinmunoensayo (The Radiochemical Centre, Amersham) con objeto de seguir la evolución de ambas hormonas en los grupos experimentales.

Los niveles basales de angiotensina I (A. I) y angiotensina I generada en la incubación de las muestras plasmáticas a 37° C y pH 6,5 durante 2, 4, 6 y 8 horas se analizaron por radioinmunoensayo (Cea-Ire-Sorin) (5), utilizando 10 μl de dimercaptopropranolol 0,8 M y 20 μl de 8-hidroxiquinoleína 0,34 M como inhibidores del enzima convertidor y angiotensinasas.

La concentración de renina en plasma (PRC) fue evaluada en función de la constante de velocidad específica de la reacción, K (16).

Los niveles de substrato de renina en plasma (PRS) se determinaron según el método descrito por CAMPILLO *et al.* (4). Este método se resume en la relación lineal existente entre los inversos de los tiempos de incubación y las concentraciones de angiotensina I generada. El valor de la ordenada en el origen, equivalente al inverso del producto máximo generado, se correspondería estequiométricamente con el substrato inicial presente en la muestra.

La actividad renina en plasma (PRA) se evaluó a partir de la angiotensina ba-

sal y generada a las dos horas de incubación.

El análisis de los resultados se efectuó mediante la t-Student.

Resultados

En los animales tratados con triiodotironina más propranolol y en los tratados sólo con triiodotironina se produce un descenso en los niveles de T_4 y un aumento en los de T_3 . El propranolol provoca un descenso significativo en los niveles séricos de T_3 de los animales controles, no produciendo cambios significativos en los de T_4 . En el grupo de animales tratados con tiroxina más propranolol y en los tratados solamente con tiroxina, se

observa un aumento en los niveles periféricos de T_4 , permaneciendo normales los de T_3 (tabla I).

En la tabla II se muestra los resultados obtenidos en los niveles basales de angiotensina I y parámetros cinéticos determinados del sistema renina-angiotensina. Tras el hipertiroidismo, inducido por la administración de triiodotironina o tiroxina, se produce un aumento en la PRC ($p < 0,01$) y un descenso en los de PRS, pero sólo después del tratamiento con triiodotironina se puede observar un aumento en los niveles basales de angiotensina I ($p < 0,01$) y PRA.

La administración de propranolol a los animales controles desciende los niveles basales de angiotensino I ($p < 0,05$) y PRA ($p < 0,001$), produciendo en los

Tabla I. Niveles séricos de T_3 y T_4 en animales hipertiroides y tratados con propranolol. Se indican valores medios \pm error estándar de la media. El número entre paréntesis corresponde al número de animales en cada experimento. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

[mmol/l]	Control (8)	Triiodotironina (7)	Triiodotironina+ propranolol (6)	Tiroxina (8)	Tiroxina+ propranolol (6)	Propranolol (6)
T_3	5,6 \pm 0,9	14,8 \pm 1,4***	11,7 \pm 0,8***	5,5 \pm 0,6	7,5 \pm 0,8	0,7 \pm 0,1***
T_4	22,2 \pm 1,6	6,8 \pm 0,4***	4,4 \pm 0,5***	161,9 \pm 9,1***	212,2 \pm 11,4***	27,2 \pm 2,9

Tabla II. Niveles basales de angiotensina I (A. I), actividad renina plasmática (PRA), concentración de renina en plasma (PRC) y sustrato de renina (PRS) en animales hipertiroides y tratados con propranolol.

Valores medios \pm error estándar de la media. El número entre paréntesis corresponde al número de animales en cada experimento. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,001$. N.S. = no significativo.

	Control (8)	Triiodotironina (7)	Triiodotironina+ propranolol (6)	Tiroxina (8)	Tiroxina+ propranolol (6)	Propranolol (6)
A. I (nmol/ml)	5,0 \pm 0,6	8,1 \pm 0,6** ↑ $p < 0,05$ ↑	5,7 \pm 0,7	5,5 \pm 0,5	6,3 \pm 0,6 ↑ N.S. ↑	3,1 \pm 0,4*
PRA (nmol/ml/h)	43,5 \pm 4,0	60,3 \pm 9,0* ↑ N.S. ↑	49,9 \pm 4,5	44,1 \pm 3,2	49,0 \pm 5,7 ↑ N.S. ↑	16,0 \pm 1,7***
PRC (h^{-1})	27,3 \pm 4,2	80,9 \pm 16,0** ↑ $p < 0,05$ ↑	28,2 \pm 5,2	64,0 \pm 6,5** ↑ $p < 0,05$ ↑	34,4 \pm 9,0	—
PRS (nmol/ml)	1470 \pm 193	640 \pm 69*** ↑ $p < 0,01$ ↑	1681 \pm 312	604 \pm 67*** ↑ $p < 0,05$ ↑	1139 \pm 235	—

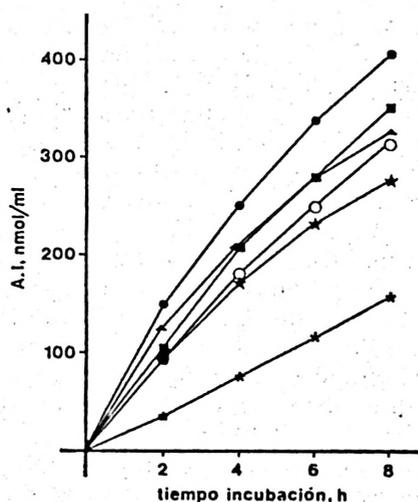


Fig. 1. Generación de angiotensina I en la incubación de las muestras plasmáticas de animales controles (○), tratados con triiodotironina (▲), tiroxina (★), propranolol (*), triiodotironina más propranolol (■) y tiroxina más propranolol (●).

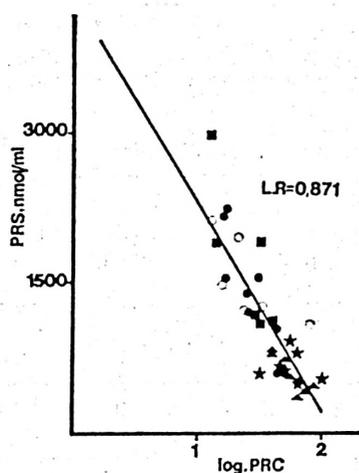


Fig. 2. Correlación entre los niveles de sustrato de renina en plasma (PRS) y concentración de renina (PRC) en animales controles (○), tratados con triiodotironina (▲), tiroxina (★), triiodotironina más propranolol (■) y tiroxina más propranolol (●).

animales hipertiroideos una normalización en los parámetros modificados y descritos anteriormente.

La generación de angiotensina I no es constante en la incubación de las muestras plasmáticas, a excepción de los animales tratados con propranolol (fig. 1). La generación de angiotensina I en los animales tirotóxicos es superior a la observada en animales eutiroides y, por el contrario, inferior en los tratados con tiroxina. La administración de propranolol a animales hipertiroideos aumenta la velocidad de formación de angiotensina I, siendo superior incluso a la obtenida en los animales tratados con triiodotironina.

La figura 2 muestra la relación existente entre la concentración de angiotensinógeno y el logaritmo de la concentración de renina en plasma, con un coeficiente de regresión de 0,871 ($p < 0,001$).

Discusión

Los resultados ponen de manifiesto, de acuerdo con las observaciones descritas por otros autores (8, 15) que, la administración de propranolol, durante siete días, produce cambios en los niveles periféricos de hormonas tiroideas, induciendo un marcado descenso en la concentración de T_3 . Los resultados descritos anteriormente y, especialmente, los presentados por otros autores (18), en los que se demuestra que el propranolol no tiene efecto alguno sobre la captación de yodo por el tiroides, ni altera la respuesta de la TSH a la TRH, inducen a pensar que las alteraciones, que se producen en los parámetros cinéticos del sistema renina-angiotensina, en ratas a las que se les produce hipertiroidismo o tirotoxicosis por inyección de tiroxina o triiodotironina respectivamente y a las que se trata con propranolol, sean producidos por mecanismos extratiroideos.

Aunque corrientemente se viene utilizando, tanto en los estudios clínicos como

experimentales, la determinación de la PRA como índice de las posibles alteraciones del sistema renina-angiotensina, en el presente trabajo se ha efectuado la evaluación de otros parámetros cinéticos, como la PRC y especialmente los de PRS que, con frecuencia, resulta ignorado al estudiar los cambios en la formación de angiotensina I y de la PRA, aún a pesar de que algunos autores (6, 14) hayan puesto de manifiesto su importancia para comprender las modificaciones del sistema renina-angiotensina.

Se han descrito numerosos métodos cinéticos para determinar PRS, la mayoría basados en la velocidad de formación de angiotensina I en presencia de un exceso de renina homóloga o heteróloga (2, 11). No obstante, la gran dificultad que representa la purificación de renina, y después de una serie de comprobaciones por métodos biológicos y fisicoquímicos, se ha llegado a la conclusión de que el método descrito por CAMPILLO *et al.* (4) es idóneo para el presente trabajo ya que, además, su desarrollo es rápido y adecuado para la mayoría de las condiciones experimentales descritas anteriormente, como lo pone de manifiesto el que los valores determinados de PRS en ratas eutiroides estén de acuerdo con los obtenidos por métodos cinéticos utilizando renina exógena (2).

A pesar de estas ventajas no sería aplicable en aquellas otras situaciones o condiciones en las que el sustrato no sea un factor limitante en la velocidad de formación de angiotensina I, como ocurre tras la administración de propranolol a animales eutiroides (fig. 1), lo que hace que no se consignen estos valores en resultados.

La acción bloqueante del propranolol, disminuyendo la liberación de renina por inhibición de los receptores β -adrenérgicos relacionados con el control de liberación de renina (10), se pone de manifiesto por el descenso no sólo en la PRA, sino también en los niveles basales de

angiotensina I. Asimismo, el propranolol previene el aumento inducido en la PRC y en los niveles basales de angiotensina I y PRA en el hipertiroidismo, aunque estos dos últimos sólo en el ocasionado por la administración de triiodotironina. No se ha descrito que estos cambios puedan ser debido a un efecto del propranolol o de algunos de sus metabolitos plasmáticos *in vitro*, aunque en la actualidad se están realizando experimentos en este sentido.

A pesar de la relación existente entre PRS y PRC (fig. 2), los niveles de angiotensinógeno parecen estar también relacionados con la acción que las hormonas tiroideas ejercen a nivel hepático. Es bien conocido que las hormonas tiroideas, y en especial la triiodotironina, por su acción más rápida e intensa, desempeñan un importante papel en el metabolismo, aunque las bases moleculares de su acción no estén aún resueltas. La adición de triiodotironina al medio de incubación de hepatocitos aislados, puede favorecer la incorporación de aminoácidos marcados a proteínas y estimula la síntesis de proteínas (3, 7). Dos observaciones sugieren esta acción: de un lado, la mayor formación de angiotensina I en animales hipertiroideos tratados con propranolol, aun a pesar del descenso en PRC y teniendo en cuenta que la cinética del sistema es de primer orden con respecto a la concentración de sustrato de renina (fig. 1). De otra parte, el hecho de que sólo durante el hipertiroidismo por administración de triiodotironina se produzca un aumento en los niveles basales de angiotensina I y en la PRA.

Resumen

Los niveles basales de angiotensina I (A. I), la actividad renina plasmática (PRA), los niveles de sustrato de renina en plasma (PRS) y concentración de renina en plasma (PRC) se han valorado en ratas hipertiroideas y tratadas con propranolol.

Las concentraciones de triiodotironina (T_3), tiroxina (T_4), angiotensina I basal y generada en la incubación de las muestras plasmáticas se analizaron por radioinmunoensayo, mientras que PRS y PRC se determinaron por métodos cinéticos.

Frente al marcado descenso en PRS y aumento en la PRC observado durante el hipertiroidismo y tirotoxicosis, sólo en el hipertiroidismo inducido por tratamiento con triiodotironina se produce un aumento en los niveles basales de angiotensina I y PRA.

La administración de propranolol no sólo produce un descenso en los niveles basales de angiotensina I y la PRA en animales eutiroideos, sino que previene el aumento de la PRC en animales hipertiroides, restablecidos los niveles basales de angiotensina I y PRA.

Bibliografía

- ASSAYKEEN, T. A., CLAYTO, P. L., GOLDFIEN, A. y PURNODE, W. F.: *Endocrinology*, 87, 1318-1322, 1970.
- BASSO, N.: *Medicina* (Buenos Aires), 32, 3-8, 1972.
- BOUHNİK, J., CLOT, J. P., BAUDRY, M. y MICHEL, R.: *Mol. Cell. Endocrinol.*, 15, 1-12, 1979.
- CAMPILLO, J. E., GARCÍA DEL RÍO, C., QUE-SADA, T. y OSORIO, C.: *Clin. Chim. Acta*, 75, 475-479, 1976.
- HABER, E., KOERNER, T., PAGE, L. B., KLIMAN, B. y PURNODE, A.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 29, 1349-1355, 1969.
- HASSEGAWA, H., NASILETTI, A., RICE, K. y MASSON, G. C.: *Am. J. Physiol.*, 225, 1-6, 1973.
- JEEJEBHOY, K. N., HO, J., GREENBERG, G. R., PHILLIPS, J., BRUCE-ROBERTSON, A. y SODTKE, U.: *Biochem. J.*, 146, 141-155, 1975.
- KALLNER, G., LJUNGGREN, J. G. y TRYSELIUS, M.: *Acta Med. Scand.*, 204, 35-37, 1978.
- LEVEY, G.: En «Thyroid and endocrine system investigation with radionuclides and radioassay» (F. S. Ashkar, ed.). Masson Pub., Nueva York, 1979.
- LOEFFLER, J. R., STOCKING, J. R. y GANONG, W. F.: *Neuroendocrinology*, 10, 129-138, 1972.
- MONTAGUE, D.: *Am. J. Physiol.*, 215, 78-83, 1968.
- MURCHISON, L. E., HOW, J. y BEWSHER, P. D.: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 8, 581-587, 1979.
- OATES, H. F., STOKER, L. M., MONAGHAN, J. C. y STOKES, G. S.: *Arch. int. Pharmacodyn.*, 234, 205-213, 1978.
- REID, I. A., TU, W. H., OTSUKA, K., ASSAYKEEN, T. A. y GANONG, W. F.: *Endocrinology*, 93, 107-114, 1973.
- RUBENFELD, S., SILVERMAN, V., WELCH, K. F., MALLETT, L. y KOHLER, P.: *New Engl. J. Med.*, 300, 353-354, 1979.
- RYAN, J. W., MCKENZIE, J. K. y LEE, M. K.: *Biochem. J.*, 108, 679-685, 1968.
- VANDONGEN, R. y GREENWOOD, D.: *Clin. Sci. Mol. Med.*, 49, 609-612, 1975.
- WARTOFSKY, L., DIMOND, R. C., NOEL, G. L., FRANTZ, A. G. y EARLL, J. M.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 41, 485-490, 1975.