

Efecto de la administración de 5,6-dihidroxitriptamina en amígdala y núcleo dorsal del rafe sobre la actividad renínica del plasma

P. Montilla, J. A. Castro, A. Varo y J. Pinilla

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina
14080 Córdoba (Spain)

(Recibido el 17 de diciembre de 1984)

P. MONTILLA, J. A. CASTRO, A. VARO and J. PINILLA. *Effect of 5,6-Dihydroxytryptamine in the Amigdala and Dorsal Raphe Nucleus on the Plasmatic Renin Activity.* Rev. esp. Fisiol., 41, 417-422. 1985.

The effect of injections of 5,6-dihydroxytryptamine, a potent and selective neurotoxic of serotonin neurons, into amygdala and dorsal raphe mesencephalic nucleus on the plasma renin activity has been studied in male Wistar rats. Plasma renin activity was estimated on 2nd, 4th, 7th and 14th day after injections in both areas. The administration of 5,6-dihydroxytryptamine in amygdala produced a significant decrease in plasmatic renin activity between 2nd and 4th day, but the inverse effect between 7th and 14th day. Similar effects were found after injections in dorsal raphe nucleus. The contents of cerebral 5-HT were simultaneously evaluated in the entire brain when the drug was implanted in dorsal raphe, and only in amygdaloid tissue when the injection was restricted to this area. A significant decrease in serotonin content was produced 7th day in both places, while partial recuperation was found toward 14th day. The results, especially the ones related to the chemical lesion of dorsal raphe nucleus, suggest that serotonergic brain systems are involved, as stimulators, in the control of the dynamics of renin-angiotensin system.

Key words: Amygdala and raphe serotonin, Plasmatic renin activity.

La angiotensina II, producto derivado de la renina, atraviesa con facilidad la barrera hematoencefálica y se acumula en determinadas áreas del sistema nervioso central (10), donde ejerce parte de

sus acciones relacionadas con el aparato cardiocirculatorio. Diversos estudios han conectado la angiotensina con el metabolismo cerebral de las catecolaminas, encontrando una relación inversa entre el contenido central de noradrenalina y los niveles periféricos de angiotensina II (6-8, 20).

La 5-HT también juega un papel en este sentido. Diversas investigaciones han evidenciado que los cambios cerebrales de esta amina se corresponden con va-

* Abreviaturas: 5-HT: 5-hidroxitriptamina o serotonina. 5-HTP: 5-hidroxitriptófano. 5,6-DHT: 5,6-dihidroxitriptamina. NDR: Núcleo dorsal del rafe. APR: Actividad renínica del plasma.

riaciones sistémicas de renina y sus derivados. La administración de 5-HTP, precursor de la síntesis cerebral de 5-HT, aumenta los niveles periféricos de renina en sangre arterial (13, 25), efecto que es anulado por benzerazida (1), inhibidor, tanto en el sistema nervioso central como periférico, de la enzima 5-hidroxitriptofanodecarboxilasa, pero no lo es por la carbidopa (23), que inhibe a esta enzima sólo a nivel periférico.

Este estudio tiene como objetivo valorar el papel de las neuronas de 5-HT sobre la ARP en dos áreas del sistema nervioso: la amígdala y el rafe mesencefálico, y dentro de éste, del NDR. Elección basada, por un lado, en la riqueza de ambas zonas en este tipo de neuronas, y por otro, en la significación funcional de la amígdala en la regulación de la presión arterial (5, 11, 16, 18). Por ello, se ha inyectado en estas localizaciones 5,6-DHT, selectivo agente neurotóxico, que de modo prolongado degenera las terminaciones neuronales de 5-HT (2, 3, 4), al tiempo que se han estimado los niveles de ARP en función del tiempo de administración de la droga.

Material y Métodos

Se han utilizado ratas Wistar macho de un peso medio de 300 g que se sometieron a condiciones reguladas de temperatura (23°C), iluminación (14 h luz/10 h oscuridad), alimentación integral y agua *ad libitum*.

Los animales se distribuyeron con arreglo a los grupos y subgrupos que figuran en las tablas I y II.

La inyección de 5,6-DHT, previa anestesia con pentotal sódico (25 mg/kg peso v.i.p.), se hizo bajo control estereotáxico de acuerdo con los planos y coordenadas del atlas de PELLEGRINO y CUSHMAN (15). Mediante una microjeringa se inyectaron 10 µg de sustancia disueltos en 2 µl de vehículo en el caso de la amígdala,

y 5 µg en 1 µl en NDR. El disolvente consistió en una solución de ácido ascórbico en cloruro sódico (1 mg de ácido ascórbico/ml de ClNa 0,9%), con el objeto de evitar la autooxidación de la droga, que fue administrada en forma de sulfato de creatinina y suministrada por Sigma. Con el fin de evitar el efecto colateral del 5,6-DHT sobre la noradrenalina central se inyectó previamente a cada animal 25 mg de disipramina por kg de peso. Los animales controles sólo recibieron la inyección del vehículo.

Acabados los distintos períodos de adaptación se procedió al sacrificio de los animales por decapitación. Se extrajeron los cerebros y se separaron la amígdala, en su caso, y el cerebro completo, excepto cerebelo, en los inyectados en NDR. Las muestras se vertieron en solución Ringer y fueron congeladas a -20°C. Posteriormente se elaboraron homogenados de los que se partió para la determinación de 5-HT cerebral (19). En cada uno de los períodos descritos se tomó sangre del tronco vascular del cuello, de la cual se obtuvieron los plasmas para la determinación de ARP, realizada por radioinmunoensayo y expresada en cantidad de angiotensina I obtenida tras una hora de incubación (21).

Para demostrar la correcta localización y elección de las coordenadas, a unos animales testigo, se inyectó una solución de azul de metileno al 2 %, según el procedimiento antes descrito. El estudio histológico reveló en todos los animales una correcta localización y distribución del colorante.

Resultados

Los resultados obtenidos tras la inyección de 5,6-DHT, sobre la actividad renínica del plasma, se exponen en tabla I. En amígdala, la inyección bilateral produce un incremento altamente significativo de los niveles de ARP a los 2 días

Tabla I. Efecto de la inyección de 5,6-dihidroxitriptamina (5,6-DHT) en amígdala y en núcleo dorsal del rafe (NDR), sobre la actividad renínica del plasma (ARP).
Media \pm error estándar. Número de animales entre paréntesis.

| Grupo | Día | ARP (ng/ml h) | | Valores de «p» | |
|-----------|-----|---------------------|----------------------|--------------------|--------------------|
| | | Amígdala | NDR | | |
| Controles | | 7,87 \pm 0,44 (8) | 7,87 \pm 0,44 (8) | | |
| Vehículo | 2 | 7,22 \pm 0,38 (6) | 7,26 \pm 0,52 (6) | NS ^{a,b} | |
| | 4 | 6,99 \pm 0,51 (6) | 6,65 \pm 0,57 (6) | NS ^{a,b} | |
| | 7 | 7,25 \pm 0,42 (6) | 7,21 \pm 0,46 (6) | NS ^{a,b} | |
| | 14 | 7,14 \pm 0,46 (6) | 6,99 \pm 0,50 (6) | NS ^{a,b} | |
| 5,6-DHT | 2 | 9,06 \pm 0,47 (8) | 10,44 \pm 0,68 (8) | 0,010 ^c | 0,005 ^d |
| | 4 | 8,34 \pm 0,34 (8) | 8,47 \pm 0,37 (8) | 0,050 ^c | 0,010 ^d |
| | 7 | 5,69 \pm 0,42 (8) | 5,12 \pm 0,35 (8) | 0,025 ^c | 0,005 ^d |
| | 14 | 5,63 \pm 0,31 (8) | 5,01 \pm 0,39 (8) | 0,010 ^c | 0,005 ^d |

a = Grupo Vehículo Amígdala vs grupo Control Amígdala. b = Grupo Vehículo NDR vs grupo Control NDR. c = Grupo 5,6-DHT Amígdala vs grupo Vehículo Amígdala. d = Grupo 5,6-DHT NDR vs grupo Vehículo NDR. NS = No significativo.

Tabla II. Efecto de la inyección de 5,6-dihidroxitriptamina (5,6-DHT) en amígdala y en núcleo dorsal del rafe (NDR), sobre el contenido de serotonina (5-HT) amigdalino y cerebral respectivamente.
Media \pm error estándar. Número de animales entre paréntesis.

| Grupo | Día | 5-HT (μ g/g tej.) | | Valores de «d» | |
|-----------|-----|------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| | | Amígdala | NDR | | |
| Controles | | 1,13 \pm 0,17 (8) | 1,14 \pm 0,11 (8) | | |
| Vehículo | 7 | 0,89 \pm 0,13 (6) | 0,94 \pm 0,16 (6) | NS ^{a,b} | |
| | 14 | 0,91 \pm 0,15 (6) | 0,99 \pm 0,19 (6) | NS ^{a,b} | |
| 5,6-DHT | 7 | 0,55 \pm 0,09 (8) | 0,35 \pm 0,08 (8) | 0,005 ^c | 0,001 ^d |
| | 14 | 0,70 \pm 0,14 (8) | 0,59 \pm 0,15 (8) | NS ^c | 0,010 ^d |

a = Grupo Vehículo Amígdala vs grupo Control Amígdala. b = Grupo Vehículo NDR vs grupo Control NDR. c = Grupo 5,6-DHT Amígdala vs grupo Vehículo Amígdala. d = Grupo 5,6-DHT NDR vs grupo Vehículo NDR. NS = No significativo.

de su administración, los cuales descienden del 4.º al 7.º día, hasta alcanzar valores inferiores a los controles, de tal modo que hacia el 14.º día, el descenso muestra una significación de $p < 0,01$.

En NDR, la administración de 5,6-DHT, origina una elevación altamente significativa a los 2 días de la inyección, la cual decrece al 4.º día. Al 7.º día, se

produce un efecto inverso, con una evidente caída de ARP que se mantiene hasta el día 14.º.

En la tabla II, se muestran los cambios de 5-HT producidos en cerebro completo en el caso de la inyección en NDR, y en tejido amigdalino en el caso de los inyectados en amígdala, a los 7 y 14 días de la administración de 5,6-DHT.

En cerebro, el neurotóxico inyectado en NDR, determina caídas significativas hacia el 7.º día, con un descenso del 62,7% respecto al vehículo. Hacia el 14.º día, se produce una recuperación de los niveles de 5-HT, representando el descenso sólo el 40,4% y con una significación, desde el punto de vista estadístico elevada con respecto a su control.

En amígdala, los descensos al 7.º día no son tan notorios como los obtenidos tras la inyección en NDR, pues el descenso sólo alcanza el 38,2%. Igualmente hacia el día 14, se produce una recuperación de los contenidos de 5-HT, de modo que sólo es ya de un 23% la caída registrada y con una nula significación estadística, cuando se compara con su respectivo control.

Discusión

Tanto la lesión química del NDR como de la amígdala, producen variaciones importantes en los niveles de ARP, muy manifiestas a partir del 7.º día en el primer caso y del 14.º en el segundo.

La lesión del NDR determina un comportamiento bifásico, de aumento inicial, seguido de un descenso a partir del 7.º día en los valores de ARP que bien pudiera estar ligado al efecto neurotóxico en función del tiempo, aspecto que por su interés y por la posible relación que guarda con estos resultados se considera preciso señalar. Estudios recientes (9) han puesto de manifiesto que la administración de 5,6-DHT no modifica el contenido de 5-HT ni de ácido 5-hidroxi-indol-acético sino hasta los 7 ó 10 días de administrada, momento en que se produce un descenso de estos compuestos en todas las regiones del cerebro menos en el cuerpo estriado, donde aparece un descenso selectivo de dopamina (9). A las dos semanas se incrementa la noradrenalina y hay una recuperación parcial de los contenidos de 5-HT (9).

No se encuentra una explicación adecuada a la elevación inicial de ARP registrada después de la inyección en ambas estructuras ya que los contenidos de 5-HT no fueron valorados hasta el 7.º día de la administración, aunque sí puede descartarse la participación de los sistemas catecolaminérgicos dada la protección previa que se hizo con disipramina. Sí puede estar relacionado con cambios del 5-HT cerebral el descenso acontecido a partir del 7.º día; tanto a los 7 como a los 14 días se constatan disminuciones significativas de esta amina, muy similares a las que se producen tras la administración de p-cloro-fenil-alanina, potente depletor del contenido cerebral de 5-HT.

En amígdala se encuentra el mismo efecto bifásico tras la administración de 5,6-DHT, aunque el aumento inicial de ARP no es tan manifiesto como en el NDR en donde este incremento continúa con un descenso de los niveles de renina plasmática. Es particularmente llamativo el que una zona que participa del sistema serotoninérgico, como es la amígdala, ejerza por sí misma efectos similares a los que se siguen tras la anulación del NDR, origen de los sistemas serotoninérgicos centrales, lo que sugiere que las neuronas de 5-HT presentes en la amígdala son de gran relevancia en el problema que nos ocupa.

Los resultados encontrados, tanto por la lesión química del NDR como de la amígdala, pudieran ser la base explicativa de los efectos que se producen por la estimulación eléctrica de estas zonas, en relación con los cambios de secreción de renina y de presión arterial. Ya es conocido cómo la estimulación eléctrica de determinados núcleos mesencefálicos del puente y de la médula oblongata da lugar a un incremento de la secreción de renina (14, 17, 22, 24). Estos incrementos también se han hallado en situaciones de estrés y en ciertas motivaciones comportamentales que implican una partici-

pación del sistema límbico, del cual la amígdala es su representante principal; la estimulación eléctrica del complejo amigdalino determina cambios manifiestos en la presión arterial (18), fenómeno concatenado con la ARP. Por tanto, no sería aventurado indicar que el descenso de 5-HT encontrado tras la administración del neurotóxico en las localizaciones cerebrales, mantenga una relación en la participación fisiológica de estas estructuras neurales en la regulación de la presión arterial y del sistema renina-angiotensina.

Resumen

Se estudia en ratas Wistar macho el efecto de la inyección en amígdala cerebral y núcleo dorsal del rafe mesencefálico de un potente neurotóxico de las neuronas de 5-HT, la 5,6-dihidroxitriptamina, sobre la actividad renínica del plasma. En amígdala, se producen descensos significativos de la actividad renínica del plasma entre el 2.º y 4.º días, pero acontece lo inverso cuando son estimados entre el 7.º y 14.º días. Similares efectos fueron obtenidos tras la inyección de la droga en el núcleo dorsal del rafe. Simultáneamente se valoraron los contenidos de 5-HT cerebral, en todo el cerebro cuando la droga se implantó en rafe, y solamente en tejido amigdalino cuando la inyección estuvo restringida a este área. Tanto en cerebro completo como en amígdala, se registró una importante caída del contenido de 5-HT al 7.º día con una recuperación parcial de los mismos hacia el 14.º día. Los resultados sugieren que los sistemas serotoninérgicos centrales están involucrados en la dinámica del sistema renina-angiotensina.

Bibliografía

1. BARHOLINI, G. y PLETSCHER, A.: *J. Pharm. Pharmac.*, **21**, 323-324, 1969.
2. BAUMGARTEN, H. G., BJORKLUND, A., LACHENMAYER, L., NOBIN, A. y STENEVI, V.: *Acta Physiol. Scand.*, **84**, suppl. 373, 1972.
3. BAUMGARTEN, H. G., KLIEM, H. P., LACHENMAYER, L., BJORKLUND, A. y LOVENBERG, H. G.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **305**, 3-24, 1978.
4. BJORKLUND, A., NOBIN, A. y STENEVI, V.: *Brain Res.*, **35**, 117-127, 1973.
5. DAHLSTROM, A. y FUXE, K.: *Acta Physiol. Scand.*, **62**, suppl. 232, 1964.
6. DOMÍNGUEZ, A. E., FERNÁNDEZ, B. E. y VIDAL, N. A.: *Rev. esp. Fisiol.*, **39**, 249-252, 1983.
7. FERNÁNDEZ, B. E., DOMÍNGUEZ, A. E., VIDAL, N. y MARTÍNEZ, S.: *XIII Reunión Asoc. Argentina Farmacol. Exper.*, 1981, Abstr. 31.
8. FITSIMONS, J. T. y SETLER, P. E.: *J. Physiol.*, Lond., **250**, 613-631, 1975.
9. FULLER, R. W.: *Neuractive drugs in Endocrinology*. Elsevier/North-Holland/Bio-medical Press. Amsterdam, 1980, pp. 123-135.
10. GANTEN, D. y SPECK, G.: *Biochem. Pharmacol.*, **27**, 2379-2389, 1978.
11. HAIGLER, H. J. y AGHAJANIAN, G. K.: *Fed. Proc.*, **26**, 2159-2164, 1974.
12. HERMAN, Z. S. y BONCZEK, A.: *Pharmacology*, **17**, 8-14, 1978.
13. MODLINGER, R. S., SCHONMULLER, J. y ARORA, P. S.: *Abstract. Clin. Res.*, **26**, 611 A, 1975.
14. PASSO, S. S., ASSAYKEEN, T. A., OTSUKA, K., WISE, B. L., GOLDFIEN, A. y GANONG, W. F.: *Neuroendocrinology*, **7**, 1-10, 1971.
15. PELLEGRINO, L. J. y CUSHMAN, A. J.: *A Stereotaxic Atlas of the Rat Brain*. Appleton/Century/Crofts. Nueva York, 1967.
16. PIN, C., JONES, B. y JOUVENT, M.: *C.R. Soc. Biol.*, **162**, 2136-2141, 1968.
17. RICHARDSON, D., STELLA, A., LEONETTI, G., BARTORELLI, A. y ZANCHETTI, A.: *Circ. Res.*, **34**, 425-434, 1974.
18. RIVAS, J., LÓPEZ-BARNEO, J. MIR, D., DELGADO-GARCÍA, J. M.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, **21**, 151-154, 1977.
19. SHELLEMBERGER, M. K. y GORDON, J. M.: *Analyt. Biochem.*, **39**, 336-372, 1971.
20. SIMONNET, G., GIORGUEFF-CHESSLEJ, N. J., CARAYON, A., BIOULAC, A., LESSELIN, F., GLOWINSKI, J. y VINCENT, D. J.: *J. Physiol.*, París, **77**, 71-79, 1981.
21. STOCKIGT, J. R., COLLIN, R. D. y BIGLIE-

- RI, E. G.: *Circulat. Res.*, 28/29, supp. 2, pp. 175-189, 1971.
22. UEDA, H., YASUDA, H., TAKABATAKE, Y., IIZUKA, T., IHORI, M., YAMAMOTO, M. y SAKAMOTO, Y.: *Jpn. Heart J.*, 8, 498-506, 1967.
23. WARSH, J. J. y STANCER, H. C.: *J. Pharmac. Exp. Ther.*, 97, 545-555, 1975.
24. ZANCHETTI, A. y STELLA, A.: *Clin. Sci. Mol. Med.*, 48, 215s-223s, 1975.
25. ZIMMERMANN, H. y GANONG, W. F.: *Neuroendocrinology*, 30, 101-107, 1980.