REVISTA ESPAÑOLA DE FISIOLOGIA, 43, (3), 311-316, 1987

Efecto crónico de prazosina y yohimbina sobre el contenido renal de noradrenalina en ratas DOCA-sodio y SHR

A. Torres*, J. Sáiz y A. Sánchez

Departamento de Farmacología
Facultad de Medicina
14071 Córdoba (España)

(Recibido el 14 de octubre de 1986)

A. TORRES, J. SAIZ and A. SANCHEZ. *Chronic Effect of Prazosin and Yohimbine on Renal Noradrenaline Content in DOCA-Salt and SHR Rats.* Rev. esp. Fisiol., 43 (3), 311-316, 1987.

The chronic effect of two alpha-adrenergic receptor blockers, prazosin and yohimbine, on the renal noradrenaline (NA) content was investigated in two models of hypertensive rats, the DOCA-salt and the spontaneously hypertensive rats (SHR). In DOCA-salt rats an inversal relation exists between the level of blood pressure and renal NA content in all groups studied, except those treated with yohimbine and prazosin plus yohimbine. In SHR rats a decreased renal NA content has been detected with respect to their normotensive Wistar-Kyoto (WKY) rat controls. The administration of prazosin and/or yohimbine did not alter the renal NA content of the SHR rats, while on the contrary these agents produced an elevation of these levels in kidneys from normotensive WKY rats. These results suggest that the alpha-selective blocker agents used, demonstrate a different effect on the renal NA content in the two models of hypertension studied.

Key words: DOCA-salt hypertension, Spontaneously hypertensive rats, Prazosin, Yohimbine, Renal noradrenaline content.

El papel del sistema nervioso simpático (SNS) en el desarrollo y/o mantenimiento de la hipertensión arterial en ratas tras la administración de acetato de desoxicorticosterona (DOCA) y ClNa ha sido ampliamente estudiado. Numerosas líneas de investigación apoyan la hipótesis de que en este modelo de ratas existe una hiperactividad del SNS (4). Por ello, la mayoría de los trabajos se han dirigido al estudio de la capacidad de estas ratas para almacenar y retener el neurotransmisor adrenérgico: noradrenalina (NA) (3, 5), así como a la determinación de los niveles de NA en varios tejidos (7). En esta línea, se ha observado que el recambio de NA está incrementado en numerosos órganos inervados simpáticamente, con la consiguiente disminución del contenido endógeno de NA e incremento de los niveles plasmáticos del neurotransmisor (1, 6, 9).

En otro modelo de animales hipertensos, las ratas espontáneamente hipertensas (SHR), el SNS juega un papel clave habiéndose constatado incrementos plasmá-

* A quien debe dirigirse la correspondencia.

ticos de NA o de sus precursores enzimáticos (dopamina-beta-hidroxilasa) en numerosos tejidos (13).

En trabajos previos, se constataba cómo el uso de fármacos bloqueantes del SNS, prazosina y/o yohimbina, eran capaces de prevenir el establecimiento de la hipertensión arterial DOCA-sodio (10), pero no de la hipertensión genética (ratas SHR) (observaciones no publicadas). Este hallazgo se acompañaba de diversas modificaciones en el contenido renal de NA en ambos modelos de animales.

En el presente trabajo, se estudia el efecto de estos fármacos en ambos modelos con una hipertensión arterial establecida. Una vez desarrollado el cuadro hipertensivo se intenta revertir para valorar las posibles modificaciones que se produzcan al final del estudio en un órgano ricamente inervado por el SNS como es el riñón.

Material y Métodos

Para este estudio han sido utilizadas ratas machos de 12 semanas de vida y de diferentes razas: Wistar, Wistar-Kyoto (WKY) y SHR. Todos los animales fueron colocados en jaulas individuales, y estuvieron expuestos a las mismas condiciones experimentales de temperatura (22 ± 1°C) y humedad (50-60%) constantes y sistema automático de iluminación (7 a.m.-7 p.m.).

Hipertensión experimental; Ratas DOCA-sodio. — Se utilizaron ratas Wistar (n = 60), tratadas durante 8 semanas con DOCA (30 mg/kg, 2 veces por semana, s.c.) disuelto en aceite de oliva. El agua de bebida se sustityó por una solución de ClNa al 1%. Tras este período, en el cual se hacen hipertensos los animales, se repartieron en 8 grupos experimentales de 6-8 animales por grupo que recibieron, durante 4 semanas más, los siguientes regímenes terapéuticos: 1, control (C): DOCA y ClNa + suero salino. 2, control' (C'): aceite y agua + suero salino. 3, DOCA: DOCA y agua + suero salino. 4, Na: aceite y ClNa + suero salino. 5, P: DOCA y ClNa + prazosina (0,1 mg/kg peso). 6, P': DOCA y ClNa + prazosina (0,3 mg/kg peso). 7, Y: DOCA y ClNa + yohimbina (0,1 mg/kg peso). 8, P + Y: DOCA y ClNa + prazosina y yohimbina (0,1 mg/kg, respectivamente).

La DOCA se administró por la misma vía y a las mismas dosis que durante las 8 primeras semanas de estudio. Los fármacos (prazosina y yohimbina) y soluciones se administraron diariamente por vía i.p. en un volumen final de 0,1 ml por animal.

Hipertensión genética: Ratas SHR. — Se utilizaron ratas SHR así como sus controles normentensos WKY (n = 40, para cada una de las razas). Se comenzó el estudio a la semana 12 de vida, edad en que las ratas SHR presentan una hipertensión arterial estable. Se repartieron en 5 grupos experimentales, de 6-8 animales por grupo, que recibieron durante 7 semanas los siguientes regímenes terapéuticos: 1, control (C): suero salino. 2, P: prazosina (0,1 mg/kg peso). 3, P': prazosina (0,3 mg/kg peso). 4, Y: yohimbina (0,1 mg/kg peso). 5, P+Y: prazosina + yohimbina (0,1 mg/kg peso, respectivamente). Los fármacos y soluciones se administraron diariamente por via i.p. en un volumen final de 0,1 ml por rata.

Determinación de la presión arterial. — Se realizó por el método indirecto (8), en animales ligeramente anestesiados con éter, mediante un electroesfigmomanómetro digital programado (Digital Pressure Meter LE-5000).

Determinación de NA. — Tras las 12 semanas de administración de los fármacos, las ratas fueron sacrificadas por decapitación. Los riñones fueron extraídos y

rápidamente congelados con nitrógeno líquido y almacenados a −30°C hasta su posterior análisis. El riñón entero de cada uno de los animales utilizados fue homogenizado en 5 ml de ácido perclórico 0,4 N; el ensayo se realizó por duplicado usando alúmina activada para la extracción de NA y determinando por fluorimetría (11) el contenido renal del neurotransmisor. Los homogenados se ajustaron a pH 7,8, con tricina; se añadió alúmina (300 mg) para la adsorción de las catecolaminas. La NA fue extraída de la alúmina con ácido perclórico 0,05 N y fue oxidada con iodo. Los derivados trihidroxiindoles procedentes de la oxidación de NA, fueron colocados en una estufa a la temperatura de 100°C durante 3-4 min y la intensidad de fluorescencia fue leída a temperatura ambiente en un espectrofluorímetro Perkin-Elmer (3000) usando una excitación y emisión comprendida entre 380 y 480 nm, respectivamente. Los blancos del tejido fueron obtenidos por oxidación a la inversa y los estándares internos y externos fueron utilizados para determinar el porcentaje de recuperación de NA y como control de la eficiencia del método de extracción. El porcentaje de recuperación para NA se situó entre el 71 y el 79% sobre el 90% de los ensayos realizados. La fluorescencia relativa fue convertida a concentración de NA usando curvas estándar y la concentración final fue corregida del porcentaje de recuperación. Las curvas estándar fueron determinadas antes, durante y después del período experimental para que sirvieran como control de la variabilidad del ensayo. A ninguno de estos tiempos se obtuvieron diferencias significativas entre las pendientes o las intersecciones de las líneas de regresión calculadas para las curvas estándar. La concentración renal de NA es expresada en ng/g tejido para una determinada rata, calculándose la media del grupo ± el error estándar (ESM).

Análisis estadístico. — El contraste estadístico empleado fue un análisis de varianza simple o de doble vía, según el modelo estudiado, seguido de un test de Newman-Keul's (14). Se consideran valores estadísticamente significativos a partir de $p < 0,05$.

Resultados

Hipertensión DOCA-sodio. — Los diferentes regímenes terapéuticos revierten la hipertensión arterial (tabla I).

En cuanto al contenido renal de NA, el

Tabla I. *Presion arterial sistolica (PAS) inicial (I) y final (F) en los modelos estudiados (DOCA-sodio y SHR/WKY).*

Los valores representados en mmHg corresponden a la media ± ESM. Para el significado de los grupos ver Material y Métodos.

GRUPOS	DOCA-SODIO		GRUPOS	SHR		WKY	
	PAS I	PAS F		PAS I	PAS F	PAS I	PAS F
C	170 ± 1	182 ± 2	C	191 ± 2	223 ± 2	122 ± 1	123 ± 1
C'	171 ± 1	136 ± 1**	P	186 ± 1	207 ± 5	125 ± 1	122 ± 1
DOCA	172 ± 1	130 ± 1**	P'	196 ± 3	210 ± 3	125 ± 1	124 ± 1
Na	171 ± 3	129 ± 1**	Y	191 ± 2	181 ± 3**	123 ± 1	126 ± 1
P	170 ± 1	130 ± 2**	P + Y	187 ± 2	182 ± 1**	123 ± 1	124 ± 1
P'	172 ± 1	133 ± 2**					
Y	170 ± 1	128 ± 1**					
P + Y	171 ± 1	126 ± 1**					

** $p < 0,001$

grupo control (C) presenta un valor de 25 ± 5 ng/g tejido, no existiendo diferencias significativas con respecto al grupo control (C'). Se observa un incremento significativo de NA renal en los grupos DOCA o ClNa, y en aquellos que reciben prazosina a diferentes dosis (P y P').

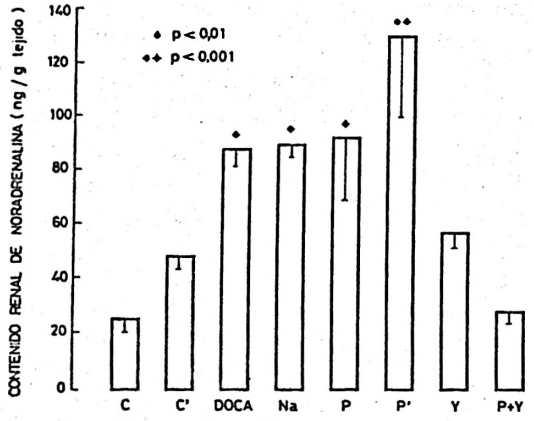

Fig. 1. *Efecto de prazosina y yohimbina sobre el contenido renal de NA en ratas DOCA-sodio.* Se representan valores medios ± el error estándar de la media de 6-8 animales por grupo. Para el significado de los grupos ver Material y Métodos.

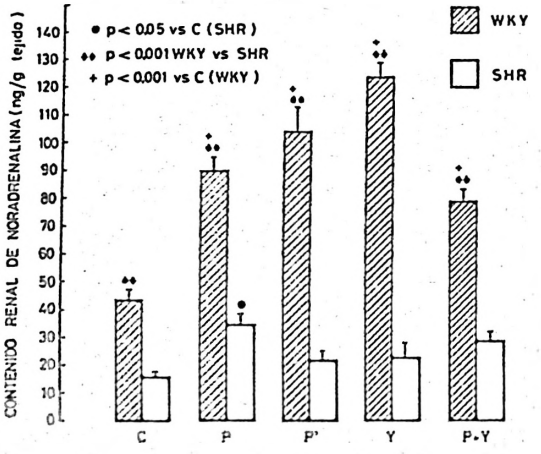

Fig. 2. *Efecto de prazosina y yohimbina sobre el contenido renal de NA en ratas SHR y WKY.* Se representan valores medios ± el error estándar de la media de 6-8 animales por grupo. Para el significado de los grupos ver **Material y Métodos.**

Los grupos Y o P+Y no presentan diferencias significativas con respecto al control (fig. 1).

Hipertensión genética. — Los diferentes regímenes terapéuticos no revirtieron la hipertensión arterial (tabla I). En cuanto al contenido renal de NA, se observa una disminución significativa en las ratas SHR con respecto a sus controles normotensos WKY en todos los grupos experimentales. El grupo de ratas SHR tratadas con prazosina (0,1 mg/kg) (P) presenta una ligera elevación de NA renal con respecto a su control (C). En las ratas WKY se detecta un incremento de NA renal en los grupos tratados con prazosina y/o yohimbina con respecto al control (fig. 2).

Discusión

El desarrollo del cuadro hipertensivo en las ratas DOCA-sodio se acompaña de una disminución del contenido renal de NA, cuando se comparan con ratas no tratadas (2, 10). En este trabajo el grupo control, el cual recibía a lo largo de todo el estudio DOCA y ClNa, presenta el contenido renal de NA más bajo de todos ellos. Estos cambios, que ocurren en riñón y en otros órganos periféricos, están en relación con el nivel de presión arterial y parecen deberse a un incremento del recambio de NA secundario a un aumento crónico de la actividad del SNS (2). Así, en los grupos en que disminuye la presión arterial tiende a elevarse el contenido renal de NA (C') o está significativamente elevado (DOCA/Na) con respecto al control. La administración de prazosina a estas ratas también incrementa este parámetro, quizá porque al estar bloqueados los receptores alfa-1 a nivel renal por el fármaco a diferentes dosis (P y P'), el neurotransmisor liberado por estimulación nerviosa puede activar receptores alfa-2 presinápticos, con

la consiguiente puesta en marcha de un mecanismo de retroalimentación negativo que inhibe la liberación de NA, la cual se acumula en riñón.

En cuanto a la hipertensión genética, existe una disminución del contenido renal de NA con respecto a sus controles normotensos, lo que confirma los trabajos de STUART *et al.* (12), quienes obtienen similares resultados y habla en favor de la existencia, en estos animales, de un recambio de NA incrementado secundario a la prolongada hiperactividad simpática. Los fármacos administrados tampoco alteran el contenido renal de NA en las ratas SHR, lo cual corrobora aún más la hipótesis que se ha comentado anteriormente. Sin embargo, en las ratas normotensas, estos mismos agentes alteran el contenido renal de NA incrementándolo, sugiriendo un diferente comportamiento de estos fármacos en ratas hipertensas o normotensas. En estas últimas, la puesta en marcha de mecanismos homeostáticos compensatorios del SNS puede explicar las modificaciones detectadas en el estudio, si bien se requerirán ulteriores estudios para aclarar este hallazgo.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido posible gracias a la ayuda número 0986/84 de la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica (CAICYT). Agradecemos a la Srta. Julia Peña su experta asistencia técnica.

Resumen

Se estudia el efecto crónico de dos agentes bloqueantes alfa-adrenérgicos, prazosina y yohimbina, sobre el contenido renal de noradrenalina (NA) en dos modelos de ratas con hipertensión arterial: DOCA-sodio y espontáneamente hipertensas (SHR). La hipertensión DOCA-sodio muestra una relación inversa entre el nivel de presión arterial con contenido renal de NA en todos los grupos estudiados, excepto en los tratados con yohimbina y la asociación de prazosina-yohimbina. Las ratas SHR muestran una disminución del contenido renal de NA respecto de sus controles normotensos Wistar-Kyoto (WKY). La administración de prazosina y/o yohimbina no altera al contenido renal de NA en ratas SHR, sino que incrementa los niveles en riñones de ratas WKY. Estos resultados sugieren que los fármacos bloqueantes alfa selectivos empleados, tienen un efecto diferente sobre el contenido renal de NA en ambos modelos de hipertensión arterial estudiados.

Palabras clave: Hipertensión DOCA-sodio, Ratas espontáneamente hipertensas (SHR), Prazosina, Yohimbina, Contenido renal de noradrenalina.

Bibliografía

1. Bouvier, M. y DeChamplain, J.: *Clin. Exp. Hypertension*, A7, 1629-1645, 1985.
2. DeChamplain, J., Krakoff, L. R. y Axelrod, J.: *Circ. Res.*, 20, 136-145, 1967.
3. DeChamplain, J., Mueller, R. A. y Axelrod, J.: *Circ. Res.*, 25, 285-291, 1969.
4. DeChamplain, J. y Van Ameringen, M. R.: *Circ. Res.*, 31, 617-628, 1972.
5. Doyle, A. E.: *Lancet*, 1, 1399-1400, 1968.
6. Franco-Morselli, R., DeMendoca, M., Baudouin-Legros, M., Guicheney, P. y Meyer, P.: En «Nervous System and Hypertension». (Meyer, P. y Schmitt, H., eds.), John Willey Sons, Nueva York, 1979, pp. 287-296.
7. Nakamura, K., Gerold, M. y Thoenen, H.: *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 268, 125-139, 1971.
8. Pfeffer, J. M., Pfeffer, M. A. y Frohlich, E. D.: *J. Lab. Clin. Med.*, 78, 957-962, 1971.
9. Saavedra, J. M. y Grobecker, H.: En «Nervous System and Hypertension». (Meyer, P. y Schmitt, H., eds.), John Willey Sons, Nueva York, 1979, pp. 223-233.
10. Sánchez, A., Sáiz, J., Torres, A., Montero, D. y Martínez-Sierra, R.: *Life Sci.*, 36, 1589-1596, 1985.
11. Shellenberger, M. K. y Gordon, J. H.: *Anal. Biochem.*, 39, 356-372, 1971.
12. Stuart, P. F., Kline, R. L. y Mercer, P. J.: *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 57, 438-441, 1979.
13. Vlachakis, N. D., Alexander, N. y Maronde, R. F.: *Clin. Exp. Hypertension*, 2, 309-321, 1980.
14. Zar, J. H.: En «Biostatistical Analysis». Prentice Hall, Englewood Cliffs, Nueva York, 1974. pp. 152-154.