



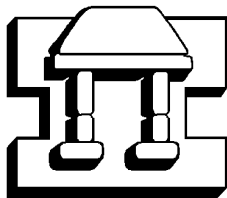
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

IZTACALA

INTERACCIÓN DE RESPUESTAS PRESORAS  
MEDIADAS POR EL RECEPTOR  
ADRENÉRGICO  $\alpha_1$  CON ANGIOTENSINA II EN  
LA RATA ANESTESIADA

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**B I O L O G O**  
P R E S E N T A:  
**LEONARDO ALVARADO GÓMEZ**



IZTACALA

DIRECTOR DE TESIS: DR. JOSÉ ANTONIO TERRÓN SIERRA

TLALNEPANTLA EDO. DE MÉX.

2003



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



## DEDICATORIAS

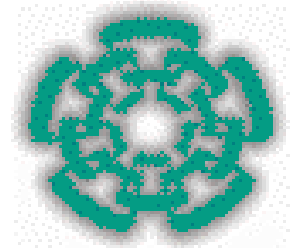
**E**ste trabajo quiero dedicarlo en especial a aquellas personas que hicieron posible su realización desde un principio, ellos son mis padres; **Yolanda Gómez Martínez y Leonardo Alvarado Castelán**. Puesto que gracias a su apoyo durante todo este tiempo, he logrado terminar la carrera de Biología, lo cual representa para mí el fruto de este esfuerzo.

## **AGRADECIMIENTOS**

**A** ti, quien estuviste conmigo en las buenas y en las malas durante toda nuestra carrera, compartiendo tantos momentos alegres y también los tristes y que supiste cuidarme en esos momentos de enfermedad y aguantar mis momentos de enojo, por todo esto y más, te doy las gracias mi cielo: **Adriana Lizbeth Alcántara Galindo.**

**A** esas personas que me aconsejaron y enseñaron durante mi estancia en CINVESTAV, me refiero a los biólogos: **Eduardo García Osornio y Estanislao Escobar Isla s.**

**Y** a todas las personas que formaron parte de mi enseñanza, tanto maestros como la gente que durante las prácticas de campo pusieron su granito de arena. Es especial a aquellos que más que maestros fueron amigos. Así como a todos los compañeros de carrera que de alguna manera colaboraron conmigo dentro de los salones de clase, en particular los de la generación 99-02 del grupo 01



El presente trabajo se llevo a cabo en el **CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL IPN, CINVESTAV**. Dentro de la sección externa de farmacología, en el laboratorio 19, de investigación cardiovascular y cerebrovascular. Bajo la dirección del Dr. **José Antonio Terrón Sierra** y con la asistencia del Biólogo **Eduardo García Osorio**

# ÍNDICE

Índice.....	1
Resumen .....	3
Antecedentes generales .....	6
-Sistema renina-angiotensina.....	6
-Sistema nervioso simpático.....	8
Antecedentes particulares .....	11
Justificación .....	12
Hipótesis .....	12
Objetivo general .....	12
Objetivos particulares .....	13
Materiales y métodos .....	14
Protocolos experimentales.....	15
Colección de datos y análisis estadístico.....	18
Resultados.....	19
-Efecto de los tratamientos farmacológicos sobre los valores basales de presión arterial y frecuencia cardiaca.....	19
-Efecto del CAP sobre las respuestas presoras inducidas por NA y FEN.....	21
-Efecto de Ang II exógena sobre las respuestas presoras a NA y FEN.....	23
-Efecto de la IND y L-NAME sobre la inhibición por Ang II de las respuestas presoras a NA y FEN.....	23

-Efecto de IND y L-NAME sobre las respuestas presoras a NA y FEN en ausencia de Ang II exógena.....	26
-Efecto de CAP y de Ang II exógena sobre las respuestas presoras inducidas por el BHT-933.....	28
Discusión .....	29
-Inhibición de la ECA en la modulación de las respuestas presoras mediadas por el receptor $\alpha_1$ -adrenérgico.....	29
-Modulación por Ang II de las respuestas presoras mediadas por los receptores $\alpha_1$ -adrenérgicos: papel de las PGs y del NO.....	31
Conclusión .....	35
Referencias .....	36



## RESUMEN

Diversos estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que la angiotensina II (Ang II) es capaz de amplificar las respuestas vasoconstrictoras inducidas por diversos agentes vasoactivos, entre los que destaca la noradrenalina (NA). Se ha propuesto que tal efecto amplificador se genera por una interacción del receptor de Ang II del tipo 1 (AT<sub>1</sub>) con los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos y/o con sus mecanismos de señalización. No obstante, a la fecha se desconoce si tal efecto amplificador involucra la participación de algunos mediadores generados como consecuencia de la estimulación de los receptores a la Ang II, tales como las prostaglandinas (PGs) y el óxido nítrico (NO). Por tal motivo, el objetivo inicial del presente trabajo fue investigar la posible participación de las PGs y del NO en el efecto amplificador de la Ang II sobre las respuestas vasopresoras inducidas por la estimulación del receptor  $\alpha_1$ -adrenérgico en la rata anestesiada. Para ello, se emplearon ratas Wistar macho anestesiadas con pentobarbital sódico (50 mg/kg, i.p.), las cuales fueron traqueotomizadas para facilitar la respiración espontánea y preparadas para registrar la presión arterial y administrar fármacos por vía intravenosa (i.v.), previa sección de ambos nervios vagos. Con el fin de analizar la naturaleza de la interacción entre la Ang II y las respuestas mediadas por los receptores adrenérgicos, los efectos de los agentes presores se evaluaron en presencia y ausencia de Ang II. En cada animal se construyó una curva dosis-respuesta (D-R) a la NA o al agonista  $\alpha_1$ -adrenérgico, fenilefrina (FEN), mediante la inyección de bolos intravenosos. En contraste con las observaciones reportadas en ratas descerebradas y desmeduladas, el tratamiento con el inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), captopril (CAP; 5 mg/kg, i.v.), produjo una

facilitación aparente de las respuestas presoras a la NA. En animales tratados con el bloqueador ganglionar, hexametonio (HXM; 10 mg/kg, i.v.), el CAP facilitó, aunque no significativamente, las respuestas presoras a la NA y la FEN. Bajo el tratamiento sistemático con HXM, la administración de una infusión continua de Ang II (50 ng/kg/min, i.v.) produjo una depresión significativa y muy importante de las respuestas presoras a la NA y la FEN. En vista de que estas observaciones pusieron de manifiesto un efecto inhibitorio de la Ang II sobre las respuestas vasopresoras inducidas por ambos agonistas, el resto del trabajo tuvo por objetivo determinar la posible participación de las PGs y del NO en dicho efecto de la Ang II. Para ello se investigaron los efectos del inhibidor no específico de las enzimas ciclo-oxigenasas (COXs), indometacina (IND; 5 mg/kg, i.v.), y del inhibidor competitivo de la sintasa de NO, NG-nitro-L-arginina metil ester (L-NAME; 10 mg/kg, i.v.). La IND revirtió completamente, y el L-NAME parcialmente, el efecto inhibitorio de la Ang II sobre las respuestas presoras a la NA y la FEN. El tratamiento con ambos fármacos revirtió el efecto inhibitorio de la Ang II pero en menor grado que aquel obtenido con IND sola. Por otro lado, en ausencia de la infusión de Ang II, la IND, pero no el L-NAME, facilitó las respuestas presoras a la NA únicamente. Finalmente, el CAP produjo una facilitación, mientras que la infusión de Ang II una inhibición, de las respuestas presoras inducidas por el agonista selectivo  $\alpha_2$ -adrenérgico, diclorhidrato de 6-etil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-oxazolo[4,5-d]azepina-2-amina (BHT-933). Los resultados del presente trabajo sugieren que la Ang II ejerce un efecto depresor sobre las respuestas vasoconstrictoras mediadas por los receptores  $\alpha_1$ - y  $\alpha_2$ -adrenérgicos en la vasculatura sistémica de la rata anestesiada. Al menos en el caso de las respuestas mediadas por el receptor  $\alpha_1$ -adrenérgico, el efecto inhibitorio de la Ang II

involucra principalmente la generación de PGs y, en menor grado, de NO. Los resultados en ausencia de la infusión de Ang II son consistentes con un posible efecto depresor de la Ang II endógena vía la producción tónica de PGs. En lo referente al fenómeno de interacción entre la Ang II y los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos, el modelo de la rata descerebrada y desmedulada difiere marcadamente del modelo de rata anestesiada.

## **ANTECEDENTES GENERALES**

### **Sistema Renina-Angiotensina**

El sistema renina-angiotensina opera a partir de la acción inicial de la enzima renina sobre el angiotensinogeno (sustrato de la renina), una alfa-globulina, para dar paso al decapeptido angiotensina I. La enzima renina es una proteasa ácida liberada por las células yuxtglomerulares del riñón, principalmente por la influencia del sistema nervioso simpático (Saavedra, 1999; Ramaha, et al., 2003). La angiotensina II (Ang II) es un octapéptido formado a partir de la angiotensina I por división enzimática. Los efectos de la Ang II incluyen vasoconstricción, incremento de la transmisión adrenérgica simpática, acciones mitogénicas y tróficas en la vasculatura, así como estimulación de la liberación de vasopresina, catecolaminas y aldosterona de la hipófisis, la médula y la corteza suprarrenal, respectivamente (Saavedra, Op cit). Debido a ésta última acción, la Ang II tiene también efectos antidiuréticos. Por la combinación de estas acciones, la Ang II participa de manera importante en la regulación de la presión arterial, del volumen de líquido extracelular, de la función cerebral, y en el control del crecimiento celular (Barnes et al., 1992).

La disponibilidad de ligandos peptídicos y no peptídicos permitió la caracterización de por lo menos dos tipos de receptores a la Ang II, denominados AT<sub>1</sub> y AT<sub>2</sub>. Las principales acciones de la Ang II se explican fundamentalmente por su interacción con los receptores AT<sub>1</sub> (Saavedra, Op cit), ya que este receptor regula casi todos los efectos fisiológicos conocidos de la Ang II en el sistema nervioso central y periférico. La estimulación del receptor AT<sub>1</sub> en los riñones produce retención de sodio, vasoconstricción, decremento de la tasa de filtración glomerular y, bajo ciertas condiciones, generación de daño (Häuser et al., 1998; Armando et al., 2002). Por otro

lado, se cree que el receptor  $AT_2$  desempeña un papel en las etapas tempranas del desarrollo dado que su expresión es elevada únicamente en la vida fetal o neonatal temprana y no se encuentra involucrado en la fisiología normal del adulto (Griendling et al., 1996). Sin embargo, recientemente se ha demostrado que una baja cantidad de receptores  $AT_2$  están expresados en el glomérulo del riñón en adulto, así como en el tubulo y células corticales intersticiales (Ozono et al 1997). Asimismo, se reportó que el receptor  $AT_2$  esta involucrado en la regulación rápida de la natriuresis (Bautista et al., 2001) y que la Ang II estimula en el riñón un incremento en la formación de prostaglandina  $PGF_{2\alpha}$  vía la activación del receptor  $AT_2$ ; esto, a su vez, produce un efecto inhibitorio en la secreción de renina, lo cual sugiere que el receptor  $AT_2$  media de manera indirecta un proceso de vasodilatación. (Siragy et al., 1999). Finalmente, existe evidencia que sugiere que, durante el bloqueo del receptor  $AT_1$ , los receptores  $AT_2$  estimulan el sistema de bradicinina/NO en aorta de ratas espontáneamente hipertensas, lo cual promociona la producción de GMPc y vasodilatación. (Gigante et al., 1998).

## **Sistema Nervioso Simpático**

La adrenalina y la noradrenalina (NA), también denominadas como catecolaminas, son los principales mediadores de la actividad del sistema nervioso simpático y desempeñan un papel crucial en el control inmediato de la presión arterial (Hoffman, 2001). Bajo condiciones de estimulación simpática (durante la reacción de pelea o huida, por ejemplo), se produce aumento de la frecuencia cardiaca, la contractilidad miocárdica y la presión sanguínea; también se presenta sudoración en pies y manos, y vasoconstricción de arteriolas y venas cutáneas y viscerales, contracción de los esfínteres anal y vesical, e incremento del metabolismo energético para hacer frente a la demanda de energía, entre otros (Conn y Gebhart, 1991; Hoffman, 2001). Estos efectos se explican por la unión de las catecolaminas con sus sitios receptores localizados en la membrana de las células efectoras.

Los sitios receptores, conocidos como receptores adrenérgicos, son proteínas con características estructurales particulares y se dividen en los dos tipos principales  $\alpha$  y  $\beta$  (Katzung, 1986). Los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos se dividen a su vez en los tipos  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$ , mientras que los receptores  $\beta$  se dividen en los tipos  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  y  $\beta_3$  (Bylund et al., 1994). Finalmente, los receptores  $\alpha_1$  se dividen en los subtipos  $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$  y  $\alpha_{1D}$ , mientras que los receptores  $\alpha_2$  se dividen en los subtipos  $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$  y  $\alpha_{2C}$  (Bylund Op cit; Docherty, 1998). Las características generales de los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos se ilustran en la Tabla 1.

**Tabla 1. Características generales de los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos**

<b>Receptor</b>	<b>Localización</b>	<b>Función</b>	<b>Principal sistema efector</b>	<b>Agonistas</b>	<b>Antagonistas</b>
$\alpha_1$	Músculo liso: vascular	Contracción	Activación de fosfolipasa C fosfolipasa D fosfolipasa A2 vía proteína Gq	A $\geq$ NA>>Iso Fenilefrina Metoxamina	Prazosina
	gastrointestinal	Contracción			
	genitourinario	Hiperpolarización y relajación			
	Hígado	Glucogenólisis; Gluconeogénesis			
	Corazón	Aumento de la fuerza de contracción			
$\alpha_2$	Islotes pancreáticos (células B)	Disminución de secreción de insulina	Inhibición de adenilato ciclasa vía proteína Gi	A $\geq$ NA>>Iso Clonidina BHT-920	Rauwolscina
	Plaquetas	Agregación			
	Terminaciones Nerviosas	Disminución de la descarga de NA			
	Músculo liso Vascular	Contracción			

En el sistema cardiovascular los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos se encuentran localizados primordialmente en el músculo de las paredes de los vasos sanguíneos y su activación se asocia generalmente con vasoconstricción. El análisis regional de la distribución de los distintos subtipos de receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos en la vasculatura sistémica indica que los tres subtipos participan en la contracción vascular (Dóda, 1997; Guimaraes y Moura, 2001; Zhong y Minneman, 1999); sin embargo, los subtipos  $\alpha_{1A}$  y  $\alpha_{1D}$  parecen tener un papel predominante en la respuesta contráctil causada por el agonista NA en muchos lechos vasculares *in vitro* (Kenny et al., 1995; Buckner et al., 1996). Así, estudios *in vitro* han demostrado que la contracción inducida por la NA y varios fármacos agonistas  $\alpha_1$ -adrenérgicos en aorta de rata es mediada principalmente por el subtipo  $\alpha_{1D}$ -adrenérgico (Buckner Op cit; Kenny Op cit; Yamamoto y Koike, 2001). Estudios *in vivo* han demostrado también una participación importante de los receptores  $\alpha_{1A}$ - y  $\alpha_{1D}$ -adrenérgicos en los incrementos de presión arterial inducidos por la administración intravenosa (i.v.) de fármacos agonistas  $\alpha_1$ -adrenérgicos (Tanoue et al., 2002; Zhou y Vargas, 1996) y por la estimulación eléctrica de la cadena simpática preganglionar (Castillo et al., 1998). Asimismo, se ha demostrado que la expresión de los receptores  $\alpha_{1D}$ -adrenérgicos aumenta con la edad (Ibarra et al., 1997) y que esta proteína se expresa en la vasculatura de resistencia de animales pre-hipertensos e hipertensos, lo cual sugiere su posible participación en el desarrollo y mantenimiento de la hipertensión arterial (Villalobos-Molina et al., 1999).



## ANTECEDENTES PARTICULARES

Diversos estudios han demostrado que la Ang II tiene interacciones de tipo sinérgico con otras sustancias vasoactivas endógenas. Así, se ha demostrado que la Ang II es capaz de amplificar las respuestas vasoconstrictoras producidas por la NA tanto *in vitro* (Laher et al., 1990) como *in vivo* (Clough et al., 1983; Reams y Bauer, 1987), y que la inhibición farmacológica de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) con captopril (CAP) inhibe las respuestas presoras inducidas por los agonistas  $\alpha$ -adrenérgicos en la rata descerebrada y desmedulada (De Jonge et al., 1982,1983; Grant y McGrath, 1988; Tabrizchi y Triggle, 1994). Asimismo, se reportó que la infusión de dosis subpresoras de Ang II amplificó las respuestas presoras inducidas por el agonista  $\alpha_1$ -adrenérgico, fenilefrina (FEN), en ratas anestesiadas intactas y simpatectomizadas, y que éste efecto fue bloqueado selectivamente por un antagonista de los receptores AT<sub>1</sub> (Marano y Argiolas, 1994). Con base en estas observaciones, y considerando que la acción principal del CAP es la de inhibir la síntesis de Ang II, es posible que la acción amplificadora de este péptido se deba a su interacción indirecta con los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos, mediante la liberación de catecolaminas y/o con sus vías de señalización (Henrion et al., 1992). Alternativamente, puede concebirse que tal efecto de la Ang II se deba a una acción indirecta que incluya la formación de productos secundarios. Con respecto a esta última posibilidad, se ha demostrado que la activación del receptor AT<sub>1</sub> en el riñón genera prostaglandinas (PGs) vasodilatadoras (E<sub>2</sub> e I<sub>2</sub>) que contrarrestan los efectos vasoconstrictores predominantes de la Ang II (Attallah et al., 1982). Asimismo, la estimulación del receptor AT<sub>2</sub> se ha asociado con la activación de un mecanismo vasodilatador muy importante que incluye la generación de bradicinina, óxido nítrico

(NO) y GMP cíclico (Carey et al., 2000; Siragy y Carey, 1996). El NO contribuye a la regulación del flujo sanguíneo regional y es sintetizado en el endotelio vascular para mantener la resistencia y el tono vascular (Zanzinger et al., 1996; Sigmon y Beierwaltes, 1993).

## **JUSTIFICACIÓN**

A la fecha, no se tiene información acerca de la posible participación de los mediadores secundarios formados a partir de la activación de receptores a la Ang II en los fenómenos de amplificación vascular. El estudio de este tipo de interacciones se justifica ampliamente puesto que la capacidad de la Ang II para amplificar las respuestas vasoconstrictoras inducidas por otras sustancias, entre las cuales destacan las catecolaminas, ha sido enfatizada como un mecanismo posiblemente relevante en la generación y/o mantenimiento de la presión arterial elevada.

## **HIPÓTESIS**

La Ang II tiene una interacción amplificadora con los receptores adrenérgicos  $\alpha_1$  en la vasculatura sistémica de la rata anestesiada. Esta interacción puede involucrar la participación de productos secundarios (PGs y NO, entre otros) derivados de la activación de los receptores a la Ang II.

## **OBJETIVO GENERAL**

Analizar el efecto de la Ang II sobre las respuestas presoras inducidas por estimulación de los receptores adrenérgicos  $\alpha_1$  en la rata anestesiada, y determinar la participación de productos secundarios en esta interacción.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

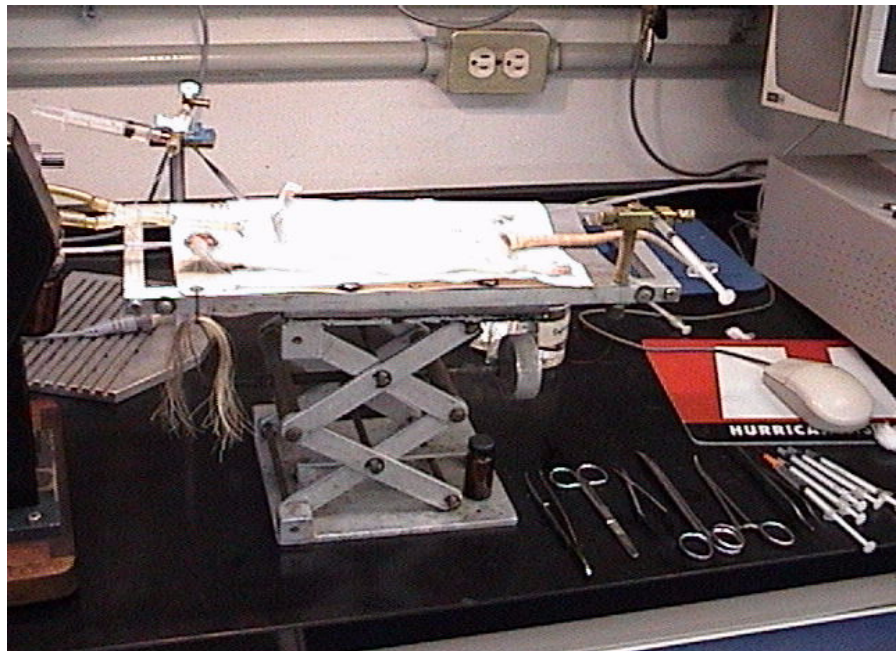
- 1) Analizar el efecto del CAP, un inhibidor de la ECA, sobre las respuestas presoras inducidas por la NA y la FEN en la rata anestesiada.
- 2) Determinar el efecto de una infusión de Ang II exógena sobre las respuestas producidas por ambos agonistas.
- 3) Dado que la Ang II produjo una inhibición de las respuestas presoras a la NA y la FEN, se investigó la posible participación de las PGs y del NO en éste efecto.

Para propósitos de comparación, se analizó el efecto del CAP y de la infusión de Ang II sobre las respuestas presoras inducidas por el agonista selectivo adrenérgico  $\alpha_2$ -adrenérgico, BHT-933.

## MATERIALES Y METODOS

Para la realización de los experimentos se utilizaron ratas Wistar macho de 250-350g de peso corporal, las cuales fueron anestesiadas con pentobarbital sódico a una dosis de 50 mg/kg administrado por vía intra-peritoneal (i.p.). Luego se insertó una cánula de polietileno en la tráquea para facilitar la respiración espontánea. Con el objeto de eliminar las variaciones reflejas de la presión arterial y la frecuencia cardiaca, ambos nervios vagos fueron seccionados. Posteriormente, se insertaron catéteres de polietileno en la arteria carótida izquierda y en las venas femorales para el registro de la presión arterial y frecuencia cardiaca y la administración de fármacos, respectivamente. En la Figura 1 se muestra el modelo experimental de la rata anestesiada empleado en este trabajo.

**Figura 1.** Modelo experimental de rata anestesiada. Una cánula de polietileno se inserta en la tráquea para permitir la respiración espontánea de los animales. La arteria carótida izquierda y una o dos venas femorales se canulan para el registro de la presión arterial y la administración de fármacos, respectivamente.



## **PROTOSCOLOS EXPERIMENTALES**

Una vez concluido el montaje de los animales, y después de un periodo de estabilización de 10-15 min posteriores a los tratamientos farmacológicos, (Diagrama 1) se construyó una curva dosis-respuesta (D-R) a la NA o a la FEN en grupos distintos de animales. De manera contraria a lo reportado previamente en la rata descerebrada y desmedulada, el tratamiento con CAP (5 mg/kg, i.v.) produjo una facilitación de las respuestas presoras a la NA, aunque no aquellas producidas por la FEN. Considerando que el posible efecto amplificador del CAP sobre las respuestas presoras a la FEN fuera enmascarado por una actividad refleja remanente, el efecto del fármaco sobre las respuestas presoras a NA y FEN se analizó en otro grupo de animales tratado con el bloqueador ganglionar hexametonio (HXM; 10 mg/kg, i.v.). Dado que en animales tratados con HXM, el CAP produjo una amplificación aparente de las respuestas presoras inducidas por ambos agonistas, los experimentos ulteriores fueron realizados en animales tratados sistemáticamente con HXM.

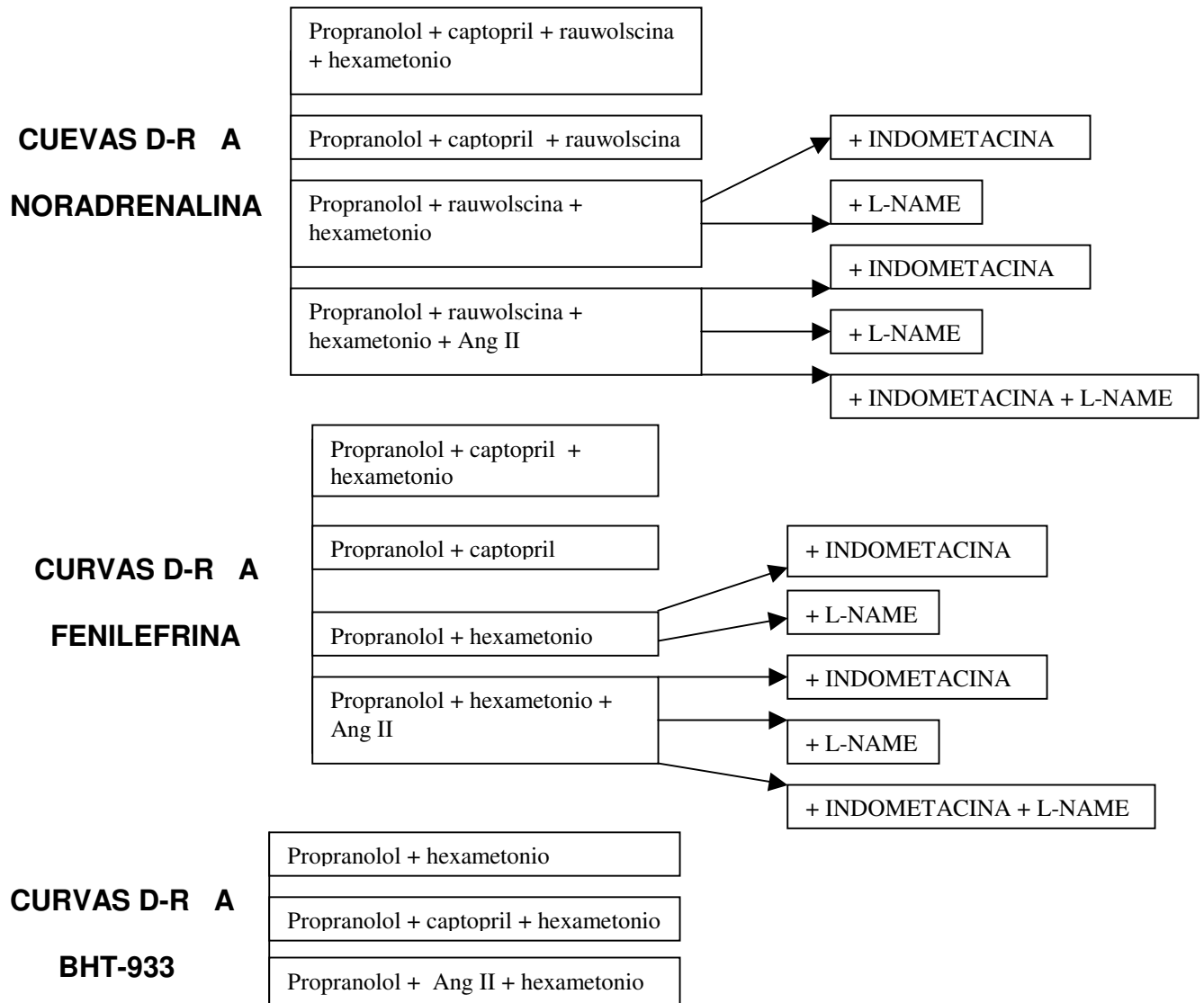
En otros grupos de animales se analizó el efecto de una infusión continua de Ang II, a una dosis que no modifica significativamente la presión arterial (50 ng/kg/min, i.v.; Grant y McGrath, 1988), sobre las respuestas presoras producidas por la NA y la FEN. Dado que la infusión de Ang II inhibió significativamente las respuestas presoras a la NA y la FEN, en otros grupos de animales se evaluó el efecto del inhibidor no selectivo de las ciclo-oxigenasas (COXs), indometacina (IND; 5 mg/kg, i.v.), y del inhibidor de la sintasa del NO, L-NAME (10 mg/kg, i.v.), sobre las respuestas presoras inducidas por ambos agonistas en presencia de la infusión continua de Ang II (50 ng/kg/min, i.v.). Finalmente, con el objeto de determinar la participación de las PGs y del NO en el

efecto inhibitorio de la Ang II de origen endógeno, en otros grupos de animales se analizó el efecto de la IND y del L-NAME sobre las respuestas presoras a NA y FEN.

En todos los experimentos con NA, los animales fueron tratados sistemáticamente con los antagonistas adrenérgicos, propranolol (PRP) y rauwolscina (RW) (1 mg/kg, i.v., ambos), con el fin de evitar los efectos derivados de la activación de los receptores  $\beta$ - y  $\alpha_2$ -adrenérgicos, respectivamente. En el caso de los experimentos con FEN, los animales fueron tratados con PRP (1 mg/kg, i.v.). Con fines comparativos, también se investigó el efecto del CAP, así como de la infusión continua de Ang II, sobre las respuestas presoras inducidas por el agonista  $\alpha_2$ -adrenérgico selectivo, BHT-933 (Timmermans y Van Zwieten, 1980). Las curvas D-R a NA y FEN fueron construidas después de un periodo mínimo de 10-15 min posterior a los tratamientos farmacológicos (Figura 2).

## CURVAS D-R A NORADRENALINA Y FENILEFRINA CON CADA TRATAMIENTO

### APLICADO

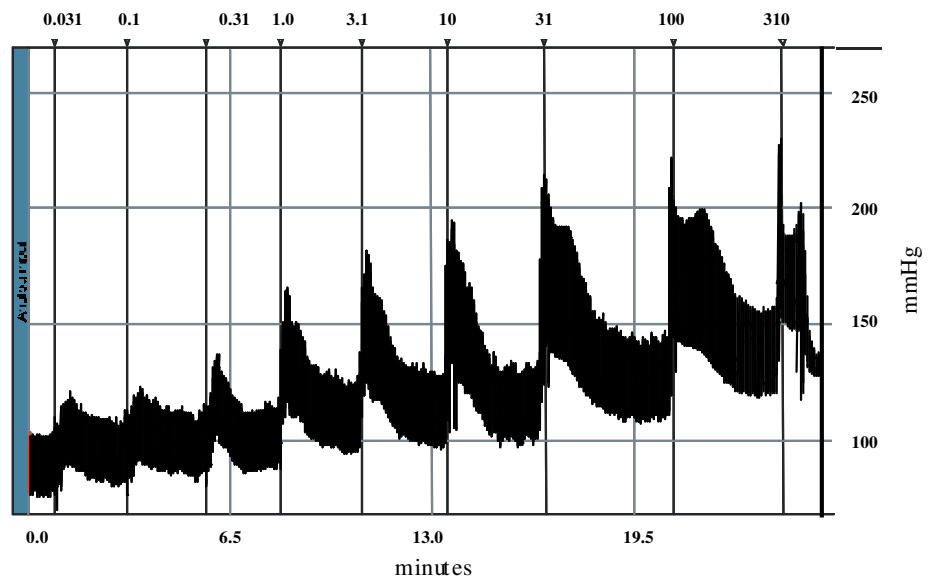


**Diagrama 1.** Protocolos experimentales realizados en los diferentes grupos de animales. Los cuadros indican el tratamiento particular aplicado a grupos de 4-6 ratas (n=4-6). Los cuadros con letra minúscula indican tratamientos con los cuales se evaluó las respuestas del grupo control, así como el efecto del captopril o de la Ang II. Los cuadros con letra mayúscula indican tratamientos que se aplicaron para evaluar la posible participación de PGs, NO o ambos en algunos casos como limitante de las respuestas presoras inducidas por cada agonista

## COLECCIÓN DE DATOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los valores de presión arterial media fueron colectados mediante un sistema de arranque MP100 (Biopak) acoplado a una computadora y posteriormente analizados con el programa Acqknowledge 3.7.0 (Biopak) (Fig. 2). Los valores de presión arterial diastólica y de frecuencia cardiaca fueron derivados a partir del registro original. En todos los casos se determinaron los valores de ambas variables antes y después de la administración de los tratamientos farmacológicos. Los datos fueron tabulados y graficados con los programas MS Excel 7.0 y Prism GraphPad 2.0, respectivamente.

**Figura 2.**  
Registro original  
de la presión  
arterial mostrando  
los efectos  
presores inducidos  
por la  
administración i.v.  
de NA.



El análisis de las curvas D-R a los agonistas en ausencia y presencia de los tratamientos se realizó mediante un análisis de variancia de dos vías para medidas repetidas (two-way RM ANOVA) con el programa SigmaStat 2.03. Asimismo, los valores basales de presión arterial diastólica y de frecuencia cardiaca antes y después de los tratamientos fueron comparados estadísticamente utilizando una prueba de *t* pareada. En todos los casos, las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando el nivel de significancia *p* fue menor a 0.05 ( $p < 0.05$ ).



## RESULTADOS

### *Efecto de los tratamientos farmacológicos sobre los valores basales de presión arterial y frecuencia cardiaca*

En las tablas 1 y 2 se muestran los valores de presión arterial y frecuencia cardiaca, antes y después de la administración de los tratamientos, correspondientes a los grupos de animales tratados con NA y FEN, respectivamente. Como se puede observar (Tabla 1), en todos los casos, excepto en los grupos tratados con L-NAME o L-NAME + infusión de Ang II, los tratamientos produjeron un descenso significativo de la presión arterial. Todos los tratamientos ocasionaron un descenso significativo de la frecuencia cardiaca (Tabla 1).

**Tabla 1.** Valores de presión arterial diastólica (PAD) y frecuencia cardiaca (FC) antes y después de los tratamientos farmacológicos empleados correspondientes a los grupos tratados con NA: PRP, propranolol; RW, rauwolscina; CAP, captopril; HXM, hexametonio; ANG II, angiotensina II; IND, indometacina. \*  $p < 0.05$

	PAD (mmHg)		FC (lpm)	
	<i>Antes</i>	<i>Después</i>	<i>Antes</i>	<i>Después</i>
PRP + RW	121 ± 3.4	110 ± 6.5	423 ± 18.8	297 ± 19.2 *
PRP + RW + CAP	113 ± 7.2	71 ± 7.9 *	383 ± 12	272 ± 10.1 *
PRP + RW + HXM	117 ± 2.4	77 ± 2.4 *	440 ± 30	253 ± 18.8 *
PRP + RW + HXM + ANG II	122 ± 2.4	72 ± 9.4 *	453 ± 9.7	277 ± 11.5 *
PRP + RW + HXM + CAP	84 ± 11.7	47 ± 4.9 *	447 ± 0.1	250 ± 18.3 *
PRP + RW + HXM + IND	102 ± 4.2	59 ± 2.1 *	431 ± 4.9	274 ± 23.7 *
PRP + RW + HXM + IND + ANG II	124 ± 7.8	73 ± 8.9 *	423 ± 25.1	259 ± 13.2 *
PRP + RW + HXM + L-NAME	130 ± 4.3	116 ± 8.3	460 ± 12.1	270 ± 12.2 *
PRP + RW + HXM + L-NAME + ANG II	121 ± 7	114 ± 2.4	436 ± 12.6	267 ± 9.6 *
PRP + RW + HXM + IND + L-NAME + ANG II	132 ± 5.3	81 ± 7.4 *	431 ± 4.8	257 ± 5.6 *

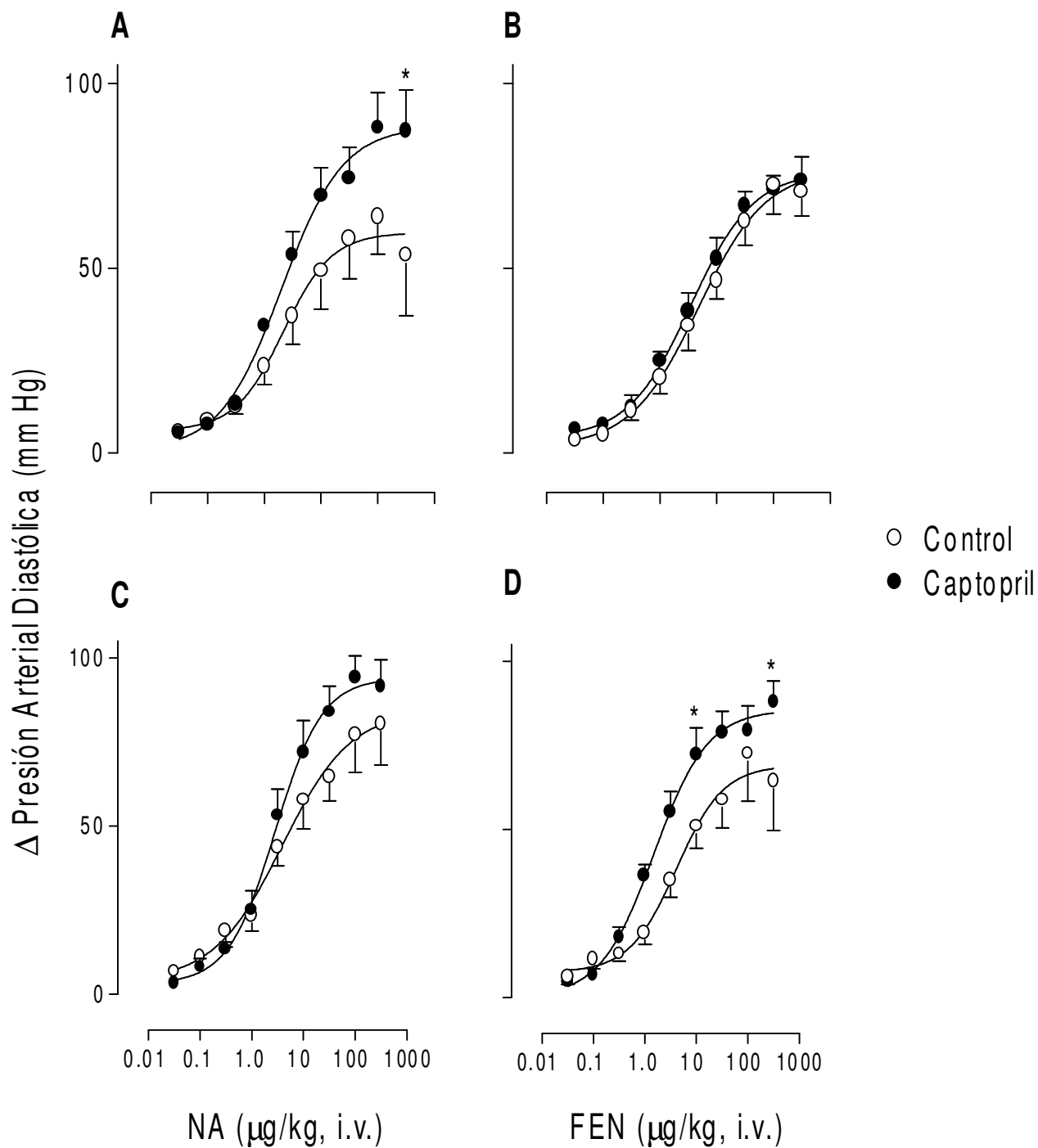
En los grupos de animales de FEN (Tabla 2), los tratamientos produjeron descensos significativos de la presión arterial excepto en los grupos tratados con PRP solo, PRP + HXM + IND + ANG II, PRP + HXM + L-NAME y PRP + HXM + L-NAME +ANG II. Al igual que en los grupos de NA, todos los tratamientos produjeron una disminución significativa de la frecuencia cardiaca (Tabla 2).

**Tabla 2.** Valores de presión arterial diastólica (PAD) y frecuencia cardiaca (FC) antes y después de los tratamientos farmacológicos empleados correspondientes a los grupos tratados con FEN: PRP, propranolol; CAP, captopril; HXM, hexametonio; ANG II, angiotensina II; IND, indometacina. \*  $p < 0.05$

	PAD (mmHg)		FC (lpm)	
	<i>Antes</i>	<i>Después</i>	<i>Antes</i>	<i>Después</i>
PRP	112 ± 5.5	85 ± 12.6	414 ± 8.5	268 ± 13.6 *
PRP + CAP	117 ± 6.2	85 ± 10.2 *	428 ± 14.6	305 ± 13.4 *
PRP + HXM	119 ± 8.1	81 ± 8.3 *	453 ± 8.9	302 ± 10.7 *
PRP + HXM + ANG II	125 ± 6.4	111 ± 4.9	413 ± 13.1	283 ± 3.4 *
PRP + HXM + CAP	119 ± 5.6	76 ± 8.3 *	388 ± 12.1	269 ± 17.4 *
PRP + HXM + IND	125 ± 3.5	66 ± 15.1 *	468 ± 11.4	281 ± 14.1 *
PRP + HXM + IND + ANG II	118 ± 6	67 ± 14.1	399 ± 14.4	268 ± 13.5 *
PRP + HXM + L-NAME	128 ± 5.1	108 ± 21.2	426 ± 15.6	269 ± 11.2 *
PRP + HXM + L-NAME + ANG II	119 ± 1.6	121 ± 1.7	417 ± 7.6	270 ± 16.1 *
PRP + HXM + IND + L-NAME + ANG II	139 ± 3.9	74 ± 7.3 *	477 ± 16.2	275 ± 16.2 *

### ***Efecto del CAP sobre las respuestas presoras inducidas por NA y FEN***

En los paneles A y B de la figura 3, se muestra el efecto del CAP sobre los incrementos de presión arterial diastólica inducidos por NA y la FEN. Como se puede observar, el CAP produjo una clara tendencia a aumentar las respuestas presoras producidas por la NA, pero no aquellas inducidas por la FEN, con respecto de la curva control. Este hallazgo contrasta con resultados previos en ratas descerebradas y desmeduladas donde el tratamiento con CAP inhibió significativamente las respuestas presoras evocadas por estimulación eléctrica de la cadena simpática preganglionar y por la administración de NA exógena (Clough et al., 1982). De manera interesante, en animales tratados con el bloqueador ganglionar, HXM, el CAP produjo una tendencia potenciadora de las respuestas presoras inducidas tanto por la NA como por la FEN (Figura 3B y 3D, en ausencia y presencia de HXM, respectivamente). No obstante, la potenciación por CAP de las respuestas presoras a NA en animales tratados con HXM no fue estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ). Con base en estos e hallazgo, el resto de los experimentos se realizaron en animales tratados sistemáticamente con HXM.



**Figura 3.** Efecto del captopril (5 mg/kg, i.v.) sobre las respuestas presoras inducidas por la noradrenalina (NA; panel A y C) y la fenilefrina (FEN; panel B y D) en ratas anestesiadas y vagotomizadas en ausencia (A y B) y presencia de tratamiento con el bloqueador ganglionar, hexametonio (10 mg/kg, i.v.; C y D). Cada punto representa la media y las barras verticales denotan el error estándar de la media de 4-6 observaciones.

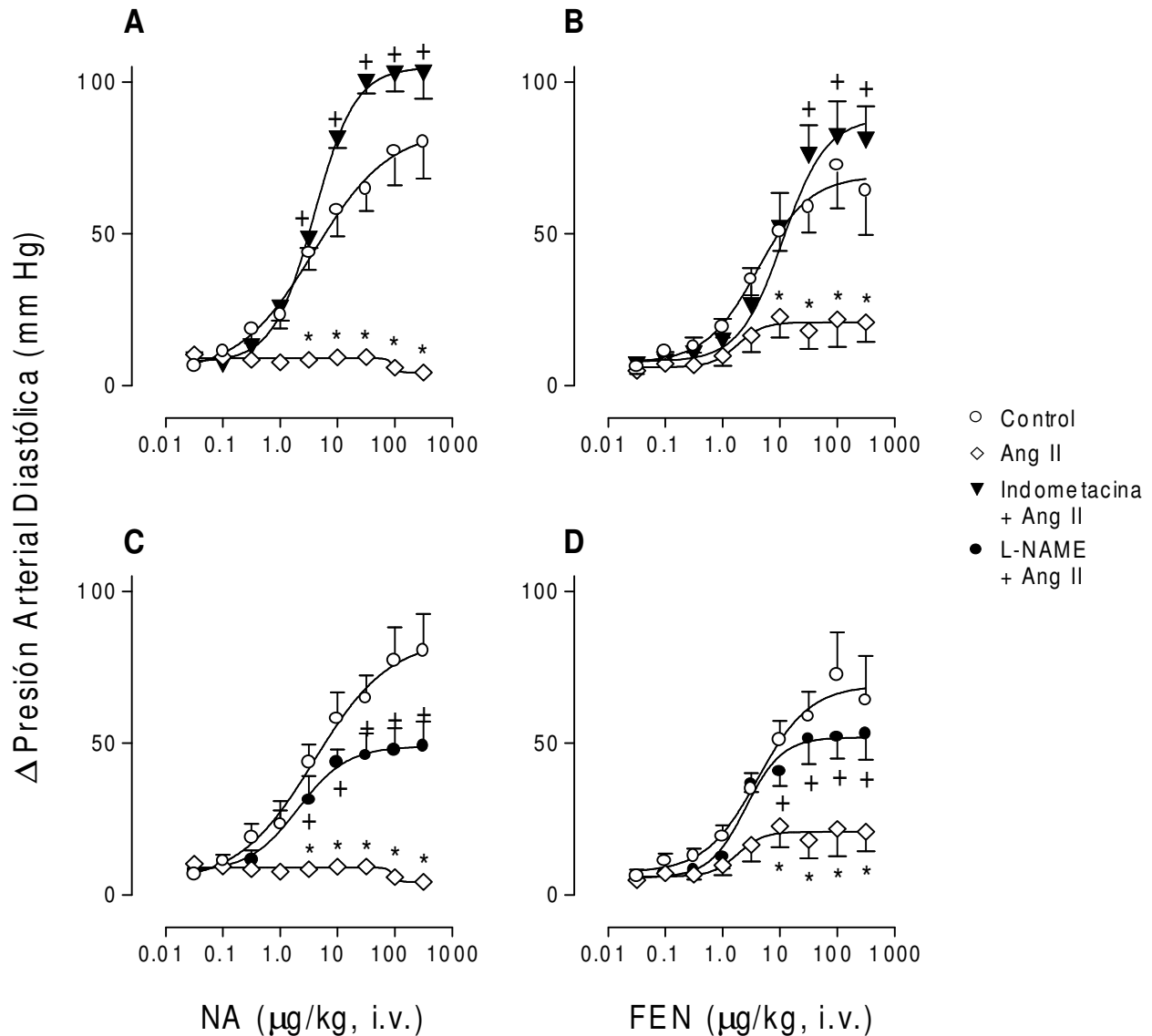
### ***Efecto de Ang II exógena sobre las respuestas presoras a NA y FEN***

Dado que el tratamiento con CAP tiende a amplificar las respuestas presoras a la NA y la FEN, lo cual sugiere que la Ang II endógena ejerce un efecto inhibitor sobre dichas respuestas, se procedió a investigar el efecto de una infusión continua de Ang II sobre las respuestas presoras de ambos agonistas. Como se puede observar en la figura 4, la infusión de Ang II exógena, a una dosis de 50 ng/kg/min (i.v.), inhibió de manera muy importante y significativa las respuestas vasopresoras a la NA y la FEN, siendo el efecto inhibitorio más pronunciado sobre las respuestas a la NA. Estos resultados contrastan con aquellos reportados por Marano y Argiolas (1994) en donde la infusión de Ang II aumentó significativamente el efecto presor de la FEN en ratas intactas.

### ***Efecto de la IND y del L-NAME sobre la inhibición por Ang II de las respuestas presoras a NA y FEN***

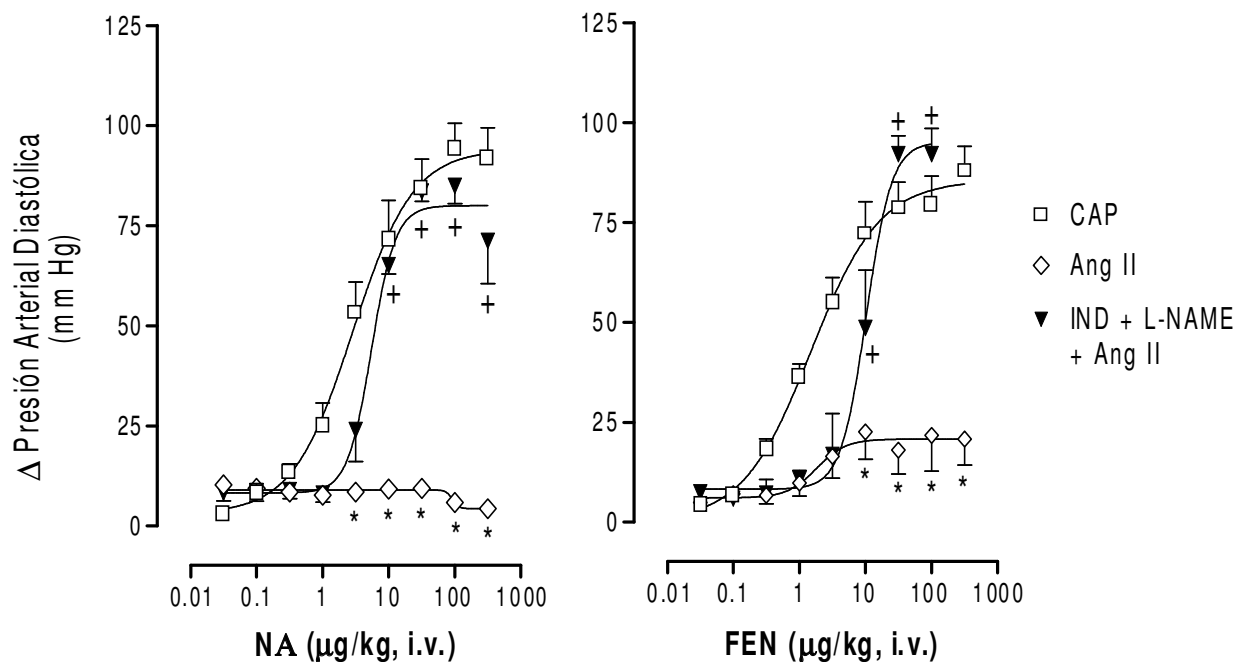
Con el fin de determinar la posible participación de productos secundarios de naturaleza prostanoide, así como de NO, en la modulación de las respuestas presoras a NA y FEN por Ang II administrada exógenamente, se evaluaron los efectos de la inhibición farmacológica de las COXs y de la sintasa de NO, con IND y L-NAME, respectivamente, sobre los efectos presores producidos por NA y FEN en presencia de una infusión continua de Ang II. Como se muestra en los paneles A y B de la figura 4, la IND revirtió completamente el efecto inhibitorio de la Ang II sobre las respuestas presoras a ambos agonistas. En el caso de NA, las respuestas vasoconstrictoras obtenidas bajo estas condiciones fueron virtualmente idénticas a aquellas observadas después del tratamiento con CAP. En los animales tratados con L-NAME se observó una reversión parcial, pero significativa, de los efectos inhibitorios de la Ang II sobre las respuestas

presoras a NA y FEN (paneles C y D de la figura 4). A juzgar por los resultados con IND y L-NAME, la participación de NO en el efecto inhibitorio de la Ang II parece ser menor que la de las PGs (Figura 4).



**Figura 4.** Efecto de la indometacina (5 mg/kg, i.v.; panel A y B) y del L-NAME (10 mg/kg, i.v.; panel C y D) sobre las respuestas presoras inducidas por la noradrenalina (NA; panel A y C) y la fenilefrina (FEN; panel B y D) obtenidas en presencia de una infusión continua de Ang II (50 ng/kg/min, i.v.) en ratas anestesiadas y vagotomizadas tratadas con hexametonio (10 mg/kg, i.v.). Cada punto representa la media, y las barras verticales denotan el error estándar de la media de 3 observaciones. \*  $p < 0.01$  vs control; +  $p < 0.01$  vs Ang II.

Finalmente, con el objeto de investigar si la inhibición simultánea de la síntesis de PGs y NO pudiera revertir el efecto inhibitorio de la Ang II en mayor grado que la inhibición individual de esos mecanismos, en otros grupos de animales se evaluó la capacidad del tratamiento combinado de IND y L-NAME para revertir el efecto inhibitorio de la Ang II sobre las respuestas presoras a NA y FEN. Como se muestra en la Figura 5, el tratamiento con ambos inhibidores revirtió significativamente el efecto inhibitorio de la Ang II. Sin embargo, la magnitud de las respuestas presoras a los agonistas fue menor que la observada en animales tratados con IND o L-NAME solos (Figura 4), o con CAP en ausencia de infusión de Ang II (Figura 3 y 5).



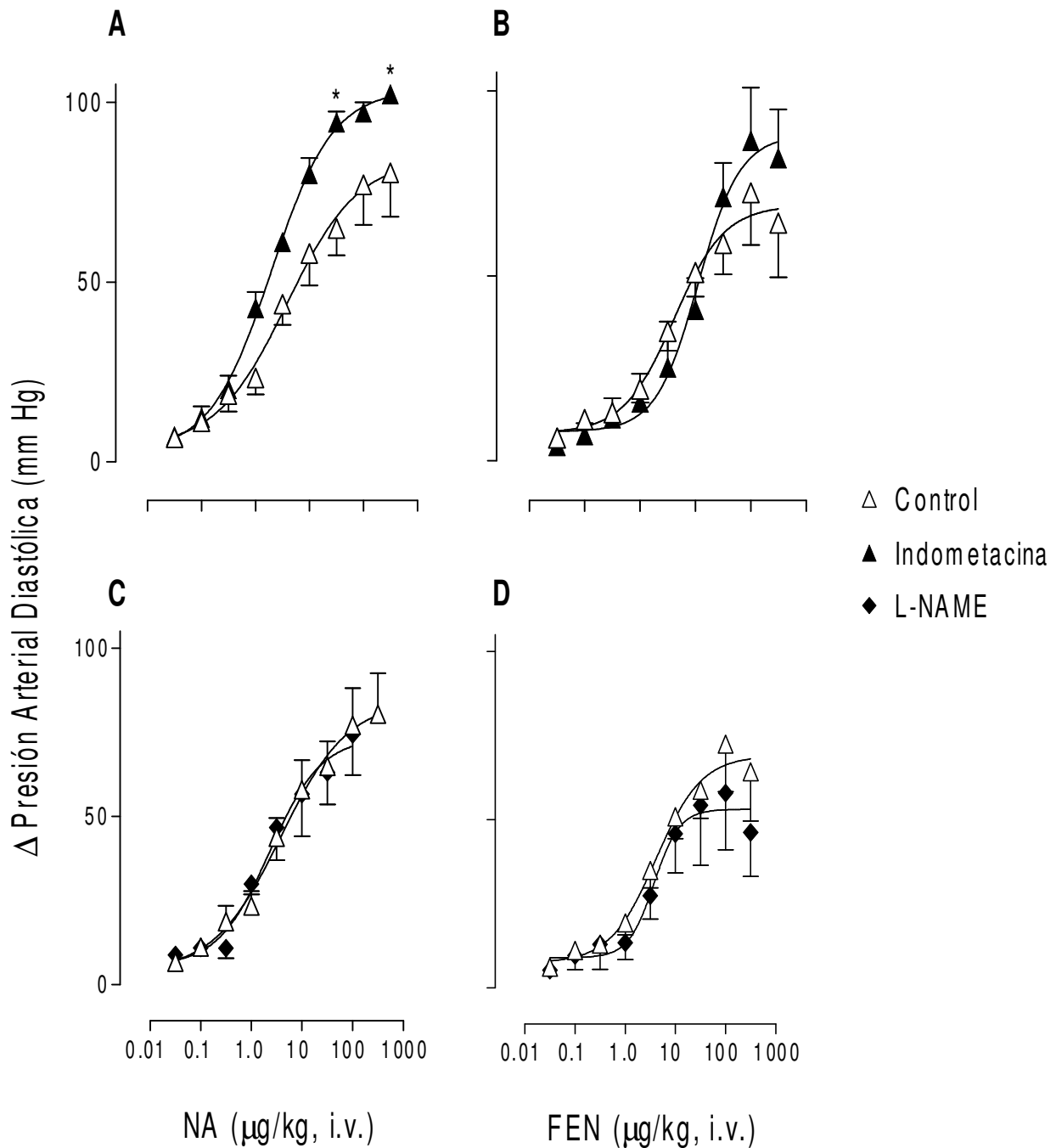
**Figura 5.** Análisis del tratamiento combinado de indometacina (IND; 5 mg/kg, i.v.) y L-NAME (10 mg/kg, i.v.) para revertir el efecto inhibitorio de la angiotensina II (Ang II; 50 ng/kg/min, i.v.) sobre las respuestas presoras inducidas por la noradrenalina (NA; panel izquierdo) y la fenilefrina (FEN; panel derecho) en ratas anestesiadas y vagotomizadas tratadas con hexametonio (10 mg/kg, i.v.). Cada punto representa la media y las barras verticales denotan el error estándar de la media de 5 observaciones. \*  $p < 0.01$  vs control (no se muestra con fines de claridad); +  $p < 0.01$  vs Ang II.

***Efecto de IND y L-NAME sobre las respuestas presoras a NA y FEN en ausencia de Ang II exógena***

Con base en la capacidad del CAP de facilitar los efectos presores de NA y FEN (Figura 3), y de la infusión de Ang II de inhibir estos efectos vía la producción de PGs y NO (Figura 4), se procedió a determinar si el posible efecto inhibitorio de la Ang II de origen endógeno se produce igualmente a través de la producción de prostanoïdes y/o de NO. De este modo, se analizaron las respuestas presoras a NA y FEN en animales tratados con IND y L-NAME, en ausencia de la infusión continua de Ang II. Como se muestra en el panel A de la Figura 6, la IND produjo una potenciación de la respuesta presora a NA muy similar a la que se observa en los animales tratados con CAP (Figura 3). La IND no tuvo efecto significativo sobre la respuesta presora a FEN (Figura 6, panel B).

Por otro lado, en concordancia con las observaciones en presencia de la infusión continua de Ang II, a partir de las cuales se sugiere una menor participación del NO en la inhibición de las respuestas presoras adrenérgicas, el tratamiento con L-NAME no modificó significativamente las respuestas presoras evocadas por la NA y la FEN (véase panel C y D de la Figura 6).

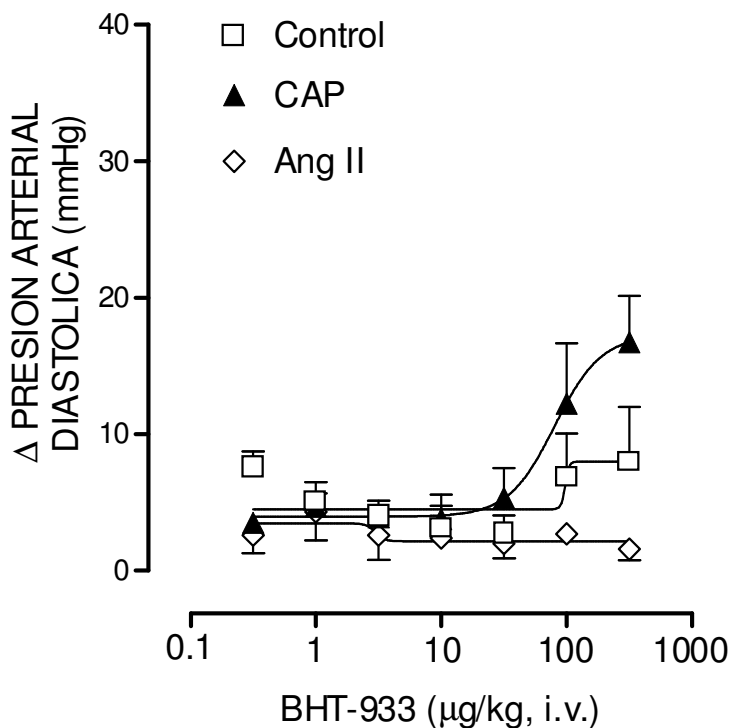




**Figura 6.** Efecto de la indometacina (5 mg/kg, i.v.; panel A y B) y del L-NAME (10 mg/kg, i.v.; panel C y D) sobre las respuestas presoras inducidas por la noradrenalina (NA; panel A y C) y la fenilefrina (FEN; panel B y D) en ratas anestesiadas y vagotomizadas sometidas a bloqueo ganglionar con hexametonio (10 mg/kg, i.v.; C, D.). Cada punto representa la media, mientras que las barras verticales denotan el error estándar de la media de 5-6 observaciones. \* $p < 0.01$  vs control.

### **Efecto de CAP y de Ang II exógena sobre las respuestas presoras inducidas por el BHT-933**

Con fines comparativos, se analizó el efecto del tratamiento con CAP y de la infusión de Ang II (50 ng/kg/min, i.v.) sobre las respuestas presoras producidas por el agonista selectivo  $\alpha_2$ -adrenérgico, BHT-933 (Timmermans y Van Zwieten, 1980). Como se muestra en la Figura 7, el tratamiento con CAP indujo una facilitación, mientras que la infusión de Ang II una inhibición, de las respuestas presoras al BHT-933. Estos efectos son muy similares a los observados en los experimentos con NA y FEN (Figura 3 y 4). Estos resultados se encuentran en contraposición de aquellos publicados por Grant y McGrath (1988) pues estos autores reportaron que la respuesta presora inducida por el agonista preferencial  $\alpha_2$ -adrenérgico, clonidina, fue atenuada por el CAP en ratas descerebradas y desmeduladas.



**Figura 7.** Efecto del captopril (CAP; 5 mg/kg, i.v.) y de una infusión continua de angiotensina II (Ang II; 50 ng/kg/min, i.v.) sobre las respuestas presoras inducidas por el BHT-933 en ratas anestesiadas y vagotomizadas sometidas a bloqueo de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos con propranolol (1 mg/kg, i.v.) y de los ganglios autónomos con hexametonio (10 mg/kg, i.v.). Cada punto representa la media y las barras verticales denotan el error estándar de la media de 3 observaciones. +  $p < 0.05$  vs Ang II; \*  $p < 0.05$  vs control

## DISCUSION

Los resultados del presente estudio sugieren que la Ang II participa de manera importante en la modulación de la respuesta presora mediada por los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos en la vasculatura sistémica de la rata anestesiada, y que esta modulación esta dada en función de productos secundarios que incluyen PGs y, en menor grado, el NO. Contrariamente a lo observado en la rata descerebrada y desmedulada, modelo en el cual la Ang II produce amplificación de las respuestas vasoconstrictoras  $\alpha_1$ -adrenérgicas, el octapéptido ejerce un efecto inhibitorio de estas respuestas en la rata anestesiada. El fenómeno de inhibición por Ang II no se circunscribe únicamente a las respuestas presoras  $\alpha_1$ -adrenérgicas, sino también a aquellas mediadas por el receptor  $\alpha_2$ -adrenérgico. Estos resultados pueden tener importantes implicaciones en vista del concepto generalmente aceptado de que la Ang II puede favorecer el aumento de la presión arterial a través de un efecto amplificador de las respuestas vasoconstrictoras mediadas por otros agentes vasoactivos, tales como las catecolaminas.

### ***Inhibición de la ECA en la modulación de las respuestas presoras mediadas por el receptor $\alpha_1$ -adrenérgico***

Estudios previos en la rata descerebrada y desmedulada han demostrado que la inhibición de la ECA con fármacos como el captopril y el teprotide deprime las respuestas presoras inducidas por agonistas  $\alpha_1$ -adrenérgicos como la cirazolina (De Jonge et al., 1982; Tabrizchi y Triggle, 1994), la FEN y la NA (Grant y McGrath, 1988), así como aquellas evocadas por los agonistas selectivos  $\alpha_2$ -adrenérgicos, B-HT-920 (De Jonge Op cit) y BHT-933 (Grant y McGrath, Op cit). En concordancia con estos

hallazgos, el efecto atenuador del teprotide sobre las respuestas presoras  $\alpha_1$ - y  $\alpha_2$ -adrenérgicas fue revertido por una infusión de Ang II en animales tratados con el inhibidor de las COXs, flurbiprofen, mientras que el antagonista no selectivo de los receptores a Ang II, saralasin, deprimió significativamente (y de manera equivalente al teprotide) las respuestas presoras inducidas por los agonistas  $\alpha_1$ - y  $\alpha_2$ -adrenérgicos (Grant y McGrath, 1988). Asimismo, la infusión de dosis subpresoras de Ang II en ratas intactas y simpatectomizadas aumentó significativamente los efectos presores producidos por la FEN, y éste efecto facilitador de la Ang II fue abolido por el antagonista selectivo AT<sub>1</sub>, valsartán, pero no por el antagonista selectivo AT<sub>2</sub>, PD-123319, sugiriendo así que el efecto amplificador del péptido es mediado por los receptores AT<sub>1</sub> (Marano y Argiolas, 1994).

En contraste con estas observaciones, los presentes resultados con CAP sugieren que la Ang II endógena es capaz de ejercer una influencia inhibitoria sobre las respuestas presoras mediadas por los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos, dado que el tratamiento con este fármaco produjo una clara tendencia hacia la facilitación de dichas respuestas. Las razones de la discrepancia de nuestros resultados con los citados estudios son desconocidas, pero pueden incluir diferencias en los modelos experimentales utilizados, las condiciones empleadas y/o la dosis de Ang II administrada como infusión continua. Con relación a los modelos experimentales, debe resaltarse que los estudios donde se demuestra un efecto inhibitorio de los inhibidores de la ECA sobre las respuestas presoras  $\alpha$ -adrenérgicas (De Jonge y et al., 1982; Grant y McGrath, Op cit; Tabrizchi y Triggle, 1994) fueron realizados en ratas descerebradas y desmeduladas, mientras que el presente estudio fue realizado en ratas anestesiadas. Asimismo, los animales fueron

vagotomizados y tratados con un bloqueador ganglionar (HXM), un antagonista  $\beta$ -adrenérgico (PRP) y, en el caso de los grupos de NA, un antagonista  $\alpha_2$ -adrenérgico (RW). En el caso del estudio reportado por Marano y Argiolas (1994) en ratas anestesiadas, en el cual la Ang II potenció los efectos presores de la FEN, los animales no fueron vagotomizados ni tratados con algún agente bloqueador de los ganglios autónomos o de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos. Adicionalmente, la dosis empleada de Ang II fue de 10 ng/kg/min (i.v.), mientras que nosotros utilizamos una dosis de 50 ng/kg/min (i.v.) reportada previamente por Grant y McGrath (1988).

***Modulación por Ang II de las respuestas presoras mediadas por los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos: papel de las PGs y del NO***

Con el objeto de investigar si la facilitación por CAP de las respuestas presoras inducidas por la NA y, en menor grado, la FEN (Figura 3) podría ser explicada por la inhibición de la formación de Ang II, se realizaron experimentos en los que se analizó el efecto de una infusión continua de Ang II sobre los efectos presores de ambos agonistas adrenérgicos. En apoyo de un posible efecto inhibitorio de la Ang II, la infusión del octapéptido a una dosis de 50 ng/kg/min (i.v.; Grant y McGrath, Op cit), deprimió o abolió las respuestas presoras a la FEN y la NA, respectivamente (Figura 4). Estos resultados contrastan con los reportes de otros investigadores en cuanto a que la infusión i.v. de Ang II revirtió el efecto inhibitorio producido por inhibidores de la ECA sobre los efectos presores a diversos agonistas adrenérgicos como la NA, la FEN, la indanidina, la xylazina y el BHT-933 en la rata descerebrada y desmedulada (Grant y McGrath, Op cit).

La capacidad de la IND para revertir el efecto inhibitorio de la Ang II sobre las respuestas presoras a la NA y la FEN (Figura 4) es consistente con el hecho reportado de que la Ang II estimula la síntesis de PGs vasodilatadoras, tales como la prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) y la prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) (Attallah et al., 1982; Rowe y Nasjletti, 1983; Schwieler et al., 1994; Toda y Miyasaki, 1981), vía la estimulación del receptor AT<sub>1</sub> (Siragy y Carey, 1996; Kimura et al., 2001). En apoyo de esta posibilidad, Clayton et al. (1998) demostraron en ratas anestesiadas que la respuesta hemodinámica renal a la infusión directa de Ang II (a una dosis moderadamente menor (30 ng/kg/min, i.v.) que la empleada en nuestros experimentos (50 ng/kg/min, i.v.), fue modulada de manera significativa por PGs y NO. En este mismo contexto, se sabe que la inhibición de las COXs con IND atenúa los efectos hipotensores del CAP y del losartán (Cachofeiro et al., 1995; Conlin et al., 2000) sugiriendo así que la inhibición de la ECA y/o el bloqueo de los receptores AT<sub>1</sub> se acompaña de la liberación de PGs vasodilatadoras. El posible papel antagónico de las PGs sobre las respuestas presoras inducidas por agonistas adrenérgicos ya ha sido sugerido en los experimentos publicados por Grant y McGrath (Op cit) utilizando ratas descerebradas y desmeduladas. Estos autores demostraron que la inhibición de la ECA con teprotide (10 mg/kg, i.v.) deprimió significativamente la respuesta presora a la NA y la FEN, y que la infusión de Ang II revirtió el efecto inhibitorio del teprotide, sólo en aquellos animales que habían sido tratados con flurbiprofeno, un inhibidor de las COXs. En consecuencia, la capacidad inhibitoria de la Ang II sobre las respuestas presoras a NA y FEN en nuestros experimentos podría ser explicada por la generación de PGs vasodilatadoras. Resulta interesante, en este sentido, que la hipo-reactividad a NA y otros agentes vasoconstrictores en el modelo de hipertensión portal de la rata con ligación de la vena

porta se revierte mediante el tratamiento con inhibidores de la COX-1 y COX-2, y que los niveles del metabolito estable de la prostaciclina, 6-ceto-PGF<sub>1α</sub>, así como la expresión de ambas enzimas, se encuentran elevados en este modelo (Potenza et al., 2002). Estos hallazgos ponen de manifiesto la capacidad de las PGs vasodilatadoras para inhibir las respuestas vasoconstrictoras mediadas por los receptores α-adrenérgicos y proporcionan apoyo al posible papel inhibitorio de sustancias prostanoideas en nuestros experimentos.

Con relación a la posible participación del NO en los efectos inhibitorios de la Ang II sobre la respuesta presora a NA y FEN, este no parece desempeñar un papel importante salvo en los experimentos en que se empleó la infusión de Ang II, donde el tratamiento con L-NAME revirtió parcial, pero significativamente, el efecto inhibitorio de la Ang II (Figura 4). No obstante, en ausencia de la infusión de Ang II el L-NAME no tuvo efecto sobre los efectos presores a NA o FEN (Figura 6), lo cual sugiere que, bajo nuestras condiciones experimentales, el NO generado en condiciones basales (en parte quizás a través de la Ang II endógena vía la activación de sus receptores) no ejerce un papel modulador sobre las respuestas presoras adrenérgicas. Por el contrario, los resultados en animales tratados con una infusión de Ang II sugieren que el NO participa en la acción inhibitoria de la Ang II sobre las respuestas presoras a NA y FEN. Al respecto, numerosas evidencias sugieren que el NO ejerce un efecto inhibitorio sobre las respuestas vasoconstrictoras inducidas por agonistas adrenérgicos y otros agentes vasoactivos.

Con respecto del mecanismo receptor involucrado en los efectos inhibitorios de la Ang II, nuestros datos no nos permiten discernir el subtipo de receptor involucrado

(AT<sub>1</sub> vs AT<sub>2</sub>) pero diversas evidencias indican que la activación del receptor AT<sub>1</sub> se encuentra acoplado a la producción de PGE<sub>2</sub>, mientras que la del AT<sub>2</sub> da lugar a la síntesis de cininas, PGs y NO (Carey et al., 2000; Israel et al., 2000; Maeso et al., 1996; Sosa-Canache et al., 2000).



## CONCLUSIÓN

Los datos del presente trabajo sugieren que la Ang II ejerce una influencia inhibitoria sobre los efectos presores inducidos por estimulación de los receptores  $\alpha_1$ - y  $\alpha_2$ -adrenérgicos. Este efecto de la Ang II, al menos en el caso de las respuestas presoras mediadas por los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos, se explica fundamentalmente por la generación de PGs y, en menor grado, de NO. Estas observaciones en ratas anestesiadas contrastan con resultados previos en ratas descerebradas y desmeduladas y resaltan, de hecho, importantes diferencias entre los dos modelos experimentales. En este sentido, De Jonge et al. (1984) reportaron que el tratamiento con CAP inhibió la respuesta presora a la NA en gatos descerebrados y desmedulados, pero no en gatos anestesiados, y que el CAP fue más efectivo como agente hipotensor en los primeros con respecto de los segundos. Dado que el proceso de descerebración y desmedulación se vio asociado con un incremento en la actividad plasmática de renina en estos animales (De Jonge Op cit), es posible que el modo de interacción de la Ang II con las respuestas presoras adrenérgicas dependa de los niveles endógenos del péptido y/o sus metabolitos.

## REFERENCIAS

- Armando I, Jezova M, Juorio AV, Terrón JA, Falcon-Neri A, Semino-Mora C, Imboden H, Saavedra JM. (2002). Estrogen upregulates renal angiotensin II AT(2) receptors. *Am J Physiol (Renal Physiol.)*, 283, 934-943.
- Attallah AA, Stalh RA, Bloch DL, Lee JB. (1982). Renal prostaglandin E<sub>2</sub> biosynthesis: dependence on Angiotensin II. *Am J Cardiol*, 49, 1521-1523.
- Barnes JM, Barnes NM, Costall B, Coughlan J, Kelly ME, Naylor RJ, Tomkins DM, Williams TJ. (1992). Angiotensin-converting enzyme inhibition, angiotensin, and cognition. *J Cardiovasc Pharmacol.*, 19, S63-S71.
- Buckner, SA. Oheim KW., Morse PA., Knepper SM., Hancock AA.  $\alpha_1$ -adrenoceptor-induced contractility in rat aorta is mediated by the  $\alpha_{1D}$  subtype. *Eur J Pharmacol*, 297, 241-248.
- Bylund DB., Eikenberg DC., Hieble JP., Langer SZ., Lefkowitz JR., Minneman KP., Molinoff PB., Ruffolo RR. And Trendelenburg U. International union of pharmacology nomenclature of adrenoceptors. *Pharmacol. Rev.* 1994 Jun; 46 (2): 121-136
- Cachofeiro V, Maeso R, Rodrigo E, Navarro J, Ruilope LM, Lahera V. (1995). Nitric oxide and prostaglandins in the prolonged effects of losartan and ramipril in hypertension. *Hypertension*, 26, 236-243.
- Carey RM, Jin X, Wang Z, Siragy HM. (2000). Nitric oxide: a physiological mediator of the type 2 (AT2) angiotensin receptor. *Acta Physiol Scand.*, 168, 65-71.
- Carey RM, Wang Z, Siragy HM. (2000). Role of the Angiotensin Type 2 receptor in the regulation of blood pressure and renal function. *Hypertension*, 35, 155-163.

- Castillo EF, Lopez RM, Rodriguez-Silverio J, Bobadilla RA, Castillo C. (1998). Alpha 1D-adrenoceptors contribute to the neurogenic vasopressor response in pithed rats. *Fundam Clin Pharmacol*, 12, 584-589.
- Clayton JS, Clark KL, Johns EJ, Drew GM. (1998). Effects the prostaglandins and nitric oxide on the renal effects of angiotensin II in the anaesthetized rat. *Br J Pharmacol*, 124, 1467-1474.
- Clough DP, Collis MG, Conway J, Hatton R, Keddie JR. (1982). Interaction of angiotensin-converting enzyme inhibitors with the function of the sympathetic nervous system. *Am J Cardiol*, 49, 1410-1414.
- Clough DP, Mulroy SC, Angell D, Hatton R. (1983). Interference by inhibitors of the renin-angiotensin system with neurogenic vasoconstriction. *Clin Exp Hypertens*, 5, 1287-1299.
- Conn PM, Gebhart GF. (1991). *Principios de farmacología*. Ed. Manual moderno. México D.F.
- Conlin PR, Moore TJ, Swartz SL, Barr E, Gazdick L, Fletcher C, DeLucca P, Demopoulos L. (2000). Effect of indomethacin on blood pressure lowering by captopril and losartan in hypertensive patients. *Hypertension*, 36, 461-465.
- De Jonge A, Knape JThA, Wilffert B, Kalkman HO, Meel JC, Thoolen MJ, Timmermans PB, Van zwieten PA. (1982). Effect of converting enzyme inhibition and angiotensin receptor blockade on the vasoconstriction mediated by  $\alpha_1$  and  $\alpha_2$ -adrenoceptor stimulation in pithed normotensive rats. *Arch Pharmacol*, 321, 309-313.
- De Jonge A, Knape JThA, Wilffert B, Kalkman HO, Meel JC, Thoolen MJ, Van Brummelen PB, Timmermans PB, Van zwieten. (1983). Effect of Captopril on

- sympathetic neurotransmission in pithed normotensive rats. *Eur J Pharmacol*, 88, 231-240.
- De Jonge A, Davidesko D, Mathy MJ, Thoolen MJ, Wilffert B, van Brummelen P, Timmermans PB, van Zwieten PA. (1984). Effect of pithing on the postjunctional sympatho-inhibitory action of captopril in cats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 328, 30-32.
- Docherty JR. (1998). Subtypes of functional alpha1- and alpha2-adrenoceptors. *Eur J Pharmacol*, 361, 1-15.
- Grant TL, McGrath JC. (1988). Interactions between Angiotensin II and  $\alpha$ -adrenoceptor agonists mediating pressor responses in the pithed rat. *Br J Pharmacol*, 95, 1229-1240.
- Gigante B, Piras O, De Paolis P, Porcellini A, Natale A, Volpe M. (1998). Role the angiotensin II AT<sub>2</sub>-subtype receptors in the blood pressure-lowering effect of losartan in salt-restricted rats. *J Hypertension*, 16, 2039-2043
- Griendling KK, Lassegae B, Alexander RW. (1996). Angiotensin receptors and their therapeutic implications. *Ann Rev Pharmacol*, 36, 281-306
- Guimaraes S, Moura D. (2001). Vascular adrenoceptors: An Update. *Pharmacol Rev*, 53, 319-356.
- Häuser W, Jöhren O, Saavedra JM. (1998). Characterization and distribution of angiotensin II receptor subtypes in the mouse brain. *Eur J Pharmacol*, 348, 101-114.
- Henrion D, Laher I, Laporte R, Bevan JA. (1992). Angiotensin II amplifies arterial contractile response to norepinephrine without increasing Ca<sup>++</sup> influx: role of protein kinase C. *J Pharmacol Exp Ther*, 261, 835-840.

- Hoffman BB. (2001). Catecholamines, sympathomimetic drugs, and adrenergic receptor antagonists. En Goodman & Gilman. The pharmacological basis of therapeutics. Hardman JG and Limbird LE (Eds). 10th edition, McGraw-Hill, pp.215-268
- Ibarra M, Terrón JA, López-Guerrero JJ, Villalobos-Molina R. (1997). Evidence for an age-dependent functional expression of  $\alpha_{1D}$ -adrenoceptors in the rat vasculature. Eur J Pharmacol, 322, 221-224.
- Israel A, Cierco M. Sosa B. (2000). Angiotensin AT<sub>2</sub> receptors mediate vasodepressor response to footshock in rats: role of kinins, nitric oxide and prostaglandins. Eur J Pharmacol, 394, 103-108.
- Katzung BG. (1986). Farmacología básica y clínica. Ed. El manual moderno. 2<sup>a</sup> ed. México D.F.
- Kenny BA, Chalmers DH, Philpott PC, Naylor AM. (1995). Characterization of the  $\alpha_{1D}$ -adrenoceptor mediating the contractile response of the rat aorta to noradrenaline. Br J Pharmacol, 115, 981-986.
- Kimura T, Toda N, Noda Y, Okamura T. (2001). Mechanisms of relaxation induced by angiotensin II in isolated canine and human uterine arteries. J Cardiovasc Pharmacol, 37, 585-595.
- Laher I, Thompson LP, Gagne L. (1990). Protein Kinase C as a modulador of response amplification in vascular smooth muscle. Blood Vessels, 27, 333-340.
- Maeso R, Navarro-Cid J, Muñoz-García R, Rodrigo E, Ruilope LM, Lahera V, Cachofeiro V. (1996). Losartan reduces phenylephrine constrictor response in aortic rings from spontaneously hypertensive rats. Role of nitric oxide and angiotensin II type 2 receptors. Hypertension, 28, 967-972.

- Marano G, Argiolas L. (1994). Postjunctional regulation by Angiotensin II of  $\alpha_1$ -adrenoceptor-mediated pressor responses in the rat. *Eur J Pharmacol*, 261, 121-126.
- Potenza MA, Botrugno OA, De Salvia MA, Lerro G, Nacci C, Marasciulo FL, Andriantsitohaina R, Mitolo-Chieppa D. (2002). Endothelial COX-1 and -2 differentially affect reactivity of MVB in portal hypertensive rats. *Am J Physiol (Gastrointest Liver Physiol)*, 283, G587-G594.
- Ramaha A, Celerier J, Patston PA. (2003). Characterization of different high molecular weight angiotensinogen forms. *Am J Hypertens*, 16(6), 478-783
- Reams GP, Bauer JH. (1987). Angiotensin II potentiates the vasoconstrictive effect of norepinephrine in normotensive and hypertensive man. *J Clin Hypertens*, 3, 610-616.
- Rowe BP, Nasjletti A. (1983). Biphasic blood pressure response to angiotensin II in the conscious Rabbit: relations to prostaglandins. *J Pharmacol Exp Ther*, 225, 559-563.
- Saavedra JM. (1999). Emerging features of brain angiotensin receptors. *Regul Pept*, 85, 31-45.
- Schwieler JH, Kahan T, Nussberger J, Hjendahl P. (1994). Participation of prostaglandins and bradykinin in the effects of angiotensin II and converting enzyme-inhibition on sympathetic neurotransmission in vivo. *Acta Physiol Scand*, 152, 83-91.
- Sigmon DH, Beierwaltes WH. (1993). Angiotensin II: nitric oxide interaction and distribution of blood flow. *Am J Physiol*, 265, R1276-R1283.
- Siragy HM, Carey RM. (1996). The subtype ( $AT_2$ ) angiotensin receptor regulates renal cyclic guanosine 3', 5'-monophosphate and  $AT_1$  receptor-mediated prostaglandin  $E_2$  production in conscious rats. *J Clin Invest*, 97, 1978-1982.

- Siragy MH, Senbonmatsu T, Ichiki T, Inagami T. (1999). Increased renal vasodilator prostanoids prevent Hypertension in mice lacking the angiotensin subtype-2 receptor. *J Clin Invest*, 104, 181-188
- Sosa-Canache B, Cierco M, Gutierrez CI, Israel A. (2000). Role of bradykinins and nitric oxide in the AT2 receptor-mediated hypotension. *J Hum Hypertens*, 14, S40-S46.
- Tabrizchi R, Triggle CR. (1994). Pressor responses to the  $\alpha_1$ -adrenoceptor agonist cirazoline: effects of the captopril, phenoxybenzamine and nifedipine. *J Physiol*, 93, 15-20.
- Tanoue A, Nasa Y, Koshimisu T, Shinoura H, Oshikawa S, Kawai T, Sunada S, Takeo S, Tsujimoto G. (2002). The  $\alpha_{1D}$ -adrenergic receptor directly regulates arterial blood pressure via vasoconstriction. *J Clin Invest*, 109, 765-775.
- Timmermans PB, Van Zwieten PA. (1980). Postsynaptic alpha 1- and alpha 2-adrenoceptors in the circulatory system of the pithed rat: selective stimulation of the alpha 2-type by B-HT 933. *Eur J Pharmacol*, 63, 199-202.
- Toda N, Miyazaki M. (1981). Angiotensin-induced relaxation in isolated dog renal and cerebral arteries. *Am J Physiol*, 240, H247-H254.
- Villalobos-Molina R, Lopez-Guerrero JJ, Ibarra M. (1999). Functional evidence of alpha 1D-adrenoceptors in the vasculature of young and adult spontaneously hypertensive rats. *Br J Pharmacol*, 126, 1534-1536.
- Yamamoto Y, Koike K. (2001). Characterization of the  $\alpha_1$ -adrenoceptor-mediated contraction in the mouse thoracic aorta. *Eur J Pharmacol*, 424, 131-140.

Zanzinger J, Czachurski J, Seller H. (1996). Role of the Calcium-dependent K<sup>+</sup> channels in the regulation of arterial and venous tone by nitric oxide in Pigs. *Eur J Physiol*, 432, 671-677.

Zhong H, Minneman KP. (1999).  $\alpha_1$ -adrenoceptor subtypes. *Eur J Pharmacol*, 375, 261-276.

Zhou L, Vargas HM. (1996). Vascular alpha 1D-adrenoceptors have a role in the pressor response to phenylephrine in the pithed rat. *Eur J Pharmacol*, 305, 173-176.