

Inhibición de la biosíntesis, utilización y velocidad de recambio de la noradrenalina por el factor natriurético atrial

MARCELO S. VATTA, MARTIN RODRIGUEZ FERMEPIN, GABRIELA DURANTE, LILIANA G. BIANCIOTTI, BELISARIO E. FERNANDEZ

RESUMEN

En trabajos anteriores demostramos que el factor natriurético atrial (ANF) **modifica** la captación y la liberación de noradrenalina (NA) **en el sistema nervioso central. Estas modificaciones pueden** estar asociadas con cambios en la síntesis y la velocidad **de recambio de** la amina. **En virtud de** estos antecedentes, el objetivo del presente trabajo fue el de estudiar, en el hipotálamo de la rata, los efectos del ANF sobre el contenido endógeno, la utilización **y** la velocidad de recambio de la NA, la activación de la tirosina hidroxilasa (TH) **y la formación de segundos mensajeros.**

Los resultados muestran que el ANF (100 ng/ μ l, intracerebrovascular) **incrementó el contenido endógeno de NA (45%)** y disminuyó la utilización de la amina y la velocidad **de recambio (53%)**. Asimismo, el ANF (10 nM) **inhibió la actividad basal e inducida de la enzima THA (30% y 64%, respectivamente)**. Por otra parte, el ANF 10 nM **incrementó los niveles de GMPc (110%)** sin modificar la acumulación de AMPc o la hidrólisis de los fosfoinosítidos.

Estos resultados sugieren que el ANF tendría un papel importante **en la transmisión noradrenérgica** actuando como modulador putativo **y que estaría involucrado en la regulación de diversos procesos fisiológicos tanto centrales como periféricos, por ejemplo, la actividad cardiovascular, la homeostasis hidrosalina y la síntesis endocrina y neuroendocrina entre otros.** REV ARGENT CARDIOL 1999; 67: 625-630.

Palabras clave Factor natriurético atrial - Biosíntesis de noradrenalina - Hipotálamo - Actividad de tirosina hidroxilasa - AMPc - GMPc - Hidrólisis **de fosfoinosítidos**

INTRODUCCION

El factor natriurético atrial (ANF) es una hormona peptídica que participa en la regulación de las funciones cardiovasculares y renales. (1, 2) Posee propiedades diuréticas, natriuréticas y vasodilatadoras. (1, 2) Se sintetiza y almacena principalmente en las aurículas y se libera en respuesta a la distensión de las aurículas, la endotelina 1 y la estimulación α_1 -adrenérgica. (1-4) Existen fuentes extracardíacas de producción de ANF en los pulmones, el sistema nervioso central (SNC), el tracto gastrointestinal y la médula adrenal. (1, 5, 7)

Se describieron RNAmensajero y receptores para el ANF en regiones y áreas específicas del SNC relacionadas estrechamente con el control de la función cardiovascular, la homeostasis hidrosalina y las secreciones endocrinas y neuroendocrinas. (5, 6) En trabajos anteriores demostramos que el ANF modula el metabolismo de la noradrenalina (NA) en el SNC a través del incremento en la captación neuronal y de la disminución de la liberación, tanto basal como inducida, de la amina en el bulbo raquídeo y en el hipotálamo, así como en diversos núcleos y áreas del SNC de la rata. (7-11)

Con el objeto de determinar si estas modificaciones están relacionadas con alteraciones en la síntesis y la velocidad de recambio de NA, en el presente trabajo se estudió en el hipotálamo de la rata el efecto del ANF sobre el contenido endógeno, la utilización y la velocidad de recambio de NA y la actividad de la enzima tirosina hidroxilasa TH (paso limitante en la biosíntesis de NA). Asimismo, se estudiaron los efectos sobre la acumulación de AMP y GMP cíclicos y la hidrólisis de los fosfoinosítidos (PI), con el objeto de determinar los posibles mecanismos y señales intracelulares involucrados.

MATERIAL Y METODO

Se utilizaron ratas Wistar macho (250-300 g) del bioterio de la Cátedra de Fisiopatología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, hospedadas a 22 °-25°C con un ciclo luz/oscuridad cada 12 horas. Los animales se alimentaron con purina comercial y agua *ad libitum*.

Utilización y contenido endógeno de NA

Se colocaron las ratas en un estereotáxico (Davis Kops 900) y se canuló el ventrículo lateral derecho bajo anestesia, siguiendo las coordenadas del atlas de Paxinos y Watson (12) (1,3 mm posterior al bregma, 2,0 mm lateral a la línea media y 4,0 mm ventral a la superficie de los parietales). La cánula adherida a un dispositivo plástico se sujetó al cráneo con acrílico dental. Los animales se mantuvieron en cajas individuales durante una semana para permitir que se recuperaran de la cirugía.

Se estudiaron los siguientes grupos: a) controles, inyectados con líquido cefalorraquídeo artificial (LCRA), b) ANF (9-33, Península Lab., Belmont, USA), c) (x-metil-p-tirosina (MT, Sigma Chem. Co., St. Louis, MO, USA) y d) MT y ANF.

Los animales de los grupos "c" y "d" se inyectaron intraperitonealmente (ip) con MT (200 mg/kg) 24 y 4 horas antes de los experimentos para inhibir la síntesis de catecolaminas y los de los grupos "a" y "b" con solución salina (vehículo). Los animales se anestesiaron posteriormente con uretano (1,3 mg/kg ip) y se conectó la cánula icv a una jeringa Hamilton; los grupos "b" y "d" recibieron 100 ng de ANF (1 µl/min) y los grupos "a" y "c", LCRA (1 µl/min). Luego de 60 minutos se sacrificaron los animales y se extrajeron y disecaron rápidamente los hipotálamos. La NA se extrajo por cromatografía en albúmina (13) y se dosó por fluorimetría. (14) La recuperación de NA fue del 70%. Los resultados se expresan en µg / g de tejido fresco ± ESM.

Actividad de tirosina hidroxilasa

La actividad de TH se determinó según Hendry e Iversen (15) y Zigmond y Chalazonitis. (16) Los

hipotálamos se incubaron durante 60 minutos a 37°C en una solución de Krebs modificada, pH 7,40 con burbujeo de carbógeno con el siguiente protocolo: a) control, b) 100 nM ANF, c) 25 mM KCl y d) 100 nM ANF + 25 mM KCl. La concentración de ANF utilizada se obtuvo a partir de estudios dosis-respuesta realizados previamente y es una concentración que modifica la captación y la liberación de NA. (7, 10) Las proteínas se determinaron por el método de Lowry y colaboradores. (17) Los resultados se expresan como porcentajes de variación de la actividad de TH respecto del grupo control ± ESM.

Velocidad de recambio de NA

Los animales se trataron previamente con MT (200 mg/kg, ip) 24 y 2 horas antes de ser sacrificados. Los hipotálamos se incubaron posteriormente en presencia de 1,25 µCi/ml de ³H-NA (actividad específica 15 Ci/mmol, New England, Boston, MA, USA) más MT e HC (100 tM para inhibir la captación extraneuronal de NA) en solución de Krebs (control) o Krebs + ANF 100 nM (experimentales) durante 0 (basal, sin ANF), 30, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos a 37°C. La actividad de tritio se determinó en los sobrenadantes por métodos convencionales de centellografía líquida. Los resultados se expresan en dpm/g de tejido fresco. La comparación de las pendientes (k) se realizó mediante el análisis de regresión lineal entre los grupos control y experimental.

Niveles de AMPc y GMPc e hidrólisis de fosfoinosítidos (PI)

Para los dosajes de AMPc y GMPc, los tejidos se incubaron de acuerdo con lo descrito para la determinación de TH y se efectuaron RIAs utilizando equipos (*kits*) comerciales (Amersham, Arlington Heights, Ill). Los resultados se expresan como pmol de AMPc o GMPc/g de tejido fresco.

Para evaluar la hidrólisis de los PI, los tejidos se incubaron durante 2 horas con Krebs bicarbonato que contenía 2 µCi/500 µl de myo-(²³ H) inositol (como trazador) y LiCl 10 mM. Treinta minutos antes del final de la incubación se agregaron ANF 10 nM y el mismo volumen de KBS/LiCl a los grupos control y experimental, respectivamente. La separación de los PI se realizó según la técnica descrita por Berridge y colaboradores (18) y la actividad se determinó por centellografía líquida.

Los resultados (de la fracción que representa la actividad de fosfolipasa C) se expresan como porcentaje de variación con respecto al control.

Análisis estadístico

Los resultados se expresan como media ± ESM. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba

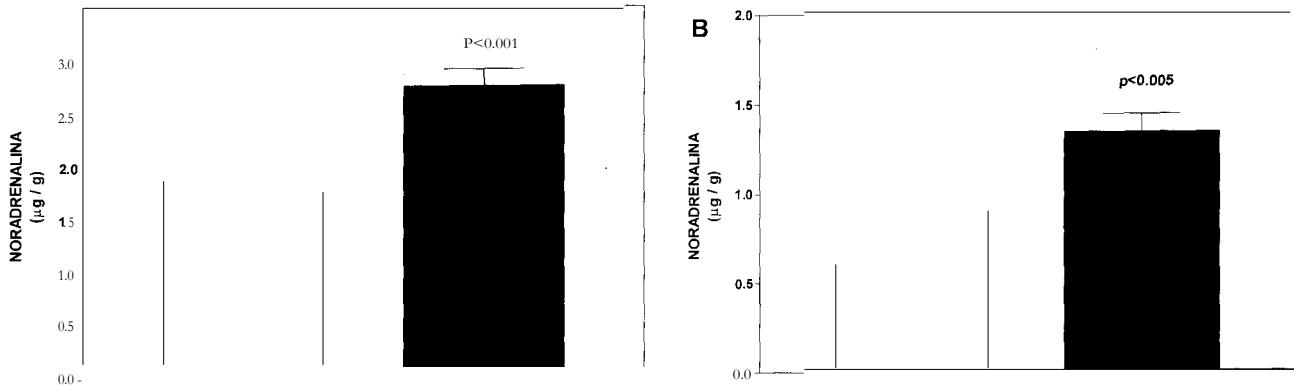


Fig. 1. A. Efectos del ANF sobre el contenido endógeno de NA. O: control inyectado icv con LCRA (n = 12). ∩: inyectado icv con ANF (100 ng/µl, n = 10). B. Efectos del ANF sobre la utilización de NA en ratas pretratadas con MT. O: control inyectado icv con LCRA (n = 6); ∩: inyectados icv con ANF (100 ng/µl, n = 9). Los resultados se expresan como la media ± ESM.

de la t de Student para los resultados de velocidad de recambio de NE, generación de AMPc y GMPc e hidrólisis de fosfoinosítidos. Para la actividad de TH, contenido endógeno y utilización de NA se realizó el análisis de la varianza y la prueba de la t modificada por Bonferroni. (43) En todos los casos, valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

RESULTADOS

Contenido endógeno y utilización de NA

La Figura 1A muestra que el ANF (100 ng/µl) administrado centralmente incrementó el contenido endógeno de NA en el hipotálamo de rata. Por otra parte, en la Figura 1B se ilustra que el ANF (100 ng/µl min) también administrado icv en ratas pretratadas con MT disminuyó la utilización de NA con respecto a los controles. En estos animales, la síntesis de NA se encuentra inhibida por efecto de la MT. Por lo tanto, el contenido endógeno a un tiempo determinado (30 minutos) es el resultado del balance entre la captación y la liberación de NA por los tejidos durante el tiempo transcurrido. La diferencia de concentración correspondiente a NA en el contenido endógeno entre los grupos control y experimental se denominó con el término "utilización" por Sumners y Phillips. (19) En este caso, en los tejidos de rata tratados con ANF el contenido de NA es mayor que en los controles pues la utilización de NA fue menor (la diferencia entre la liberación y la captación de NA con su síntesis inhibida fue menor). La utilización da una imagen de recambio de NA a un tiempo determinado. La velocidad de recambio establecida por métodos radiactivos da una imagen de la dinámica del proceso de recambio de la amina.

Actividad de TH

La actividad de la TH se estudió en condiciones

basales e inducidas para evaluar los efectos del ANF sobre la biosíntesis de las catecolaminas. El ANF 10 nM disminuyó la actividad basal de TH (Figura 2). Cuando se indujo la actividad de la enzima con KCl 25 mM, su actividad aumentó. Sin embargo, en presencia de ANF se observa que la actividad enzimática se revierte a valores basales, inhibiendo el incremento inducido por el KCl. La actividad de la enzima se puede inducir mediante la utilización de soluciones despolarizantes con alto contenido de potasio. Para apreciar los efectos de un sistema preferentemente inhibitorio como en el caso del ANF, en muchas ocasiones es conveniente estimular el proceso con anterioridad. Como sucedió en este caso, la inhibición de la actividad de la TH fue mayor en el sistema estimulado.

Velocidad de recambio de NA

Los efectos del ANF se estudiaron sobre la velo-

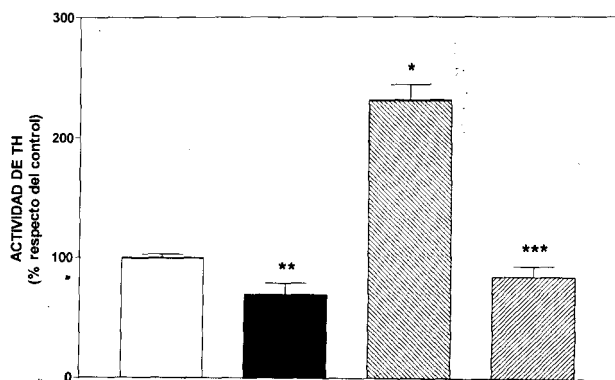


Fig. 2. Efectos del ANF sobre la actividad de la tirosina hidroxilasa basal e inducida por KCl 25 mM. O: control (actividad basal, n = 9). ∩: incubado con ANF 10 nM (n = 7); ⊗: incubado con KCl 25 mM (actividad inducida, n = 9); ⊙: incubado con ANF 10 nM y KCl 25 mM (n = 9). *: $p < 0,001$; **: $p < 0,01$ versus control. ***: $p < 0,001$ versus KCl 25 mM. Los resultados se expresan como la media ± SEM.

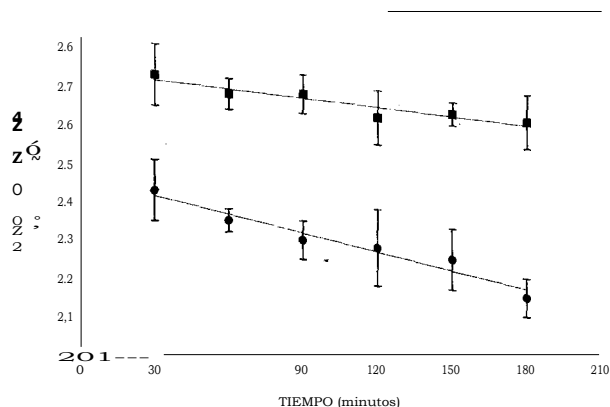


Fig. 3. Efectos del ANF sobre la velocidad de recambio de NA. ~ : controles (n = 6); -■- incubados con ANF 10 nM (n = 6). La pendiente (k) de la recta de regresión lineal representa la velocidad de recambio. Coeficientes de correlación: control: 0,97; ANF: 0,94; k: control: -16,4 ± 1,9 versus ANF: -7,7 ± 0,1, p < 0,01; n: número de casos.

idad de recambio de NA con el objeto de confirmar que el ANF disminuye la disponibilidad de NA en el espacio sináptico. Para determinar la velocidad de recambio de NA, previamente se inhibe la biosíntesis de NA con MT. De esta manera, los cambios de radiactividad en los tejidos corresponden al balance entre la captación y la liberación de NA (recambio de la amina). La pendiente de la curva de regresión lineal mide la velocidad con que se efectúa ese recambio. En la Figura 3 se observa que el ANF disminuyó la velocidad de recambio de la NA, representado por la pendiente de la recta de regresión lineal. Coeficientes de correlación: control 0,97, ANF 0,94; k: control -16,4 ± 1,9 versus ANF -7,7 ± 0,1, p < 0,01. Los niveles de NA a tiempo cero no fueron estadísticamente diferentes (control 2,5 ± 0,2 versus ANF 2,7 ± 0,2).

Niveles de AMPc, GMPc, e hidrólisis de PI

Con el objeto de estudiar las vías intracelulares involucradas en los efectos del ANF se analizaron los efectos del péptido sobre los niveles de AMPc, GMPc y la hidrólisis de fosfatidilinositol en el hipotálamo.

En la Figura 4A se observa que la acumulación de AMPc no se modificó (control 1,37 ± 0,14 versus ANF 1,77 ± 0,22 pmol/g de tejido fresco). Por otra parte (Figura 4B), el ANF incrementó significativamente los niveles hipotalámicos de GMPc (control 40,8 ± 4,8 versus ANF 86,0 ± 10,0 pmol/g de tejido fresco, p < 0,001).

La Figura 5 muestra los efectos del ANF sobre la hidrólisis de los PI. Se observa que el ANF no afecta la hidrólisis de los PI en el hipotálamo, lo cual indica que el factor atrial no ejercería sus efectos biológicos a nivel hipotalámico mediante la estimulación

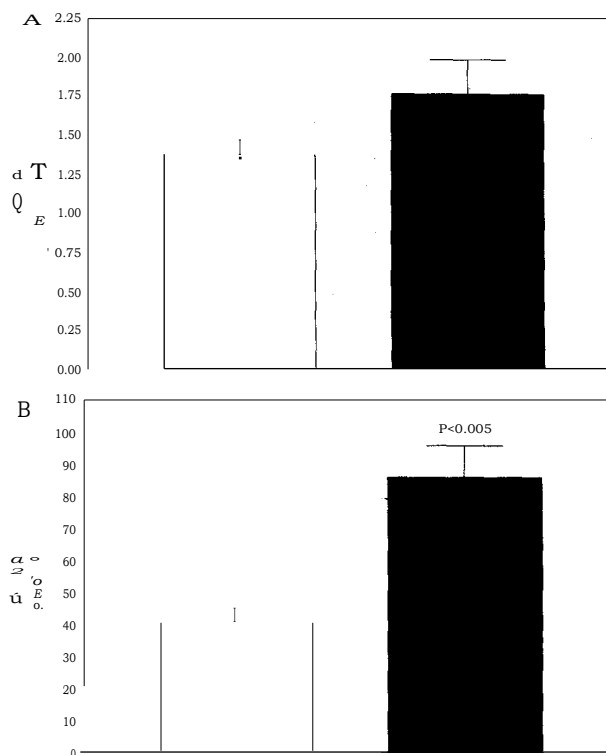


Fig. 4. A. Efectos del ANF sobre los niveles de AMPc en el hipotálamo de la rata. 11: control; ~ : incubado con ANF 10 nM. Los resultados se expresan como media ± ESM. Número de casos: 5-7. B. Efectos del ANF sobre los niveles de GMPc en el hipotálamo de la rata. O : control; ~ : incubados con ANF 10 nM. Los resultados se expresan como media ± ESM. Número de casos: 5-7.

de esta vía (control 100% ± 20% versus ANF 10 nM 113% ± 5%).

DISCUSION

El ANF es un antagonista fisiológico del sistema renina-angiotensina, con efectos opuestos tanto en el SNC (sobre la sed y las secreciones de vasopresina,

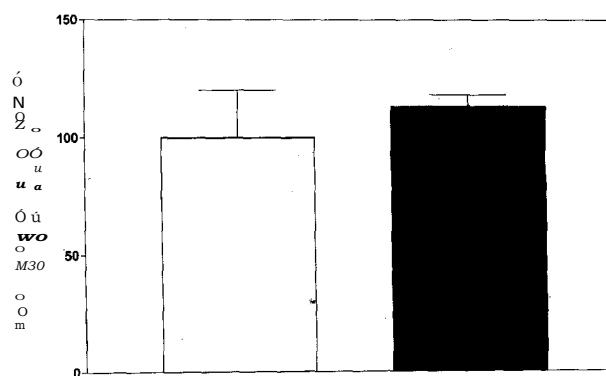


Fig. 5. Efectos del ANF sobre la hidrólisis del fosfatidilinositol. O: control (n = 7). ~ : incubados con ANF 10 nM (n = 8). Los resultados se expresan como media ± ESM; n: número de casos.

CRF y NA) como periféricamente (sobre la musculatura lisa vascular, la diuresis y la natriuresis y las secreciones de aldosterona y NA). (21, 22)

Las angiotensinas II y III modulan el metabolismo noradrenérgico a nivel de la terminal presináptica en el SNC incrementando la actividad simpática. Tanto la angiotensina II como la III aumentan la actividad de la TH y la hidrólisis de los PI (datos aún no publicados). Por lo tanto, ambas angiotensinas incrementan la actividad noradrenérgica a nivel de las terminaciones nerviosas presinápticas en el SNC de la rata y sus efectos son opuestos a los inducidos por el ANF.

En el presente trabajo hemos observado que el ANF aumenta el contenido endógeno de NA en el hipotálamo. Esto podría ser el resultado de: a) incremento de la captación neuronal de NA, (7-9,12) b) reducción de la liberación neuronal (8-10) y c) un catabolismo no alterado. (24) Estos mecanismos conducen a una mayor disponibilidad de NA en la terminal sináptica que provoca un incremento del contenido endógeno de la amina.

La TH es el paso enzimático limitante de la síntesis de las catecolaminas y es un marcador específico para las neuronas catecolaminérgicas. (25, 26) Los resultados indican que el ANF disminuyó la actividad basal e inducida (por 25 mM de KCl) de TH en un 30% y 64%, respectivamente. La actividad de la TH es regulada por diferentes mecanismos: a) mediado por la cinética clásica, inhibición reversible de la enzima, actúa como sensor de la concentración local de catecolaminas, b) por un secuestro de TH en una forma menos activa pero estable, (25, 26) c) por una modulación alostérica por polianiones y d) por fosforilación de la enzima, con pasos AMPc y calcio-dependientes. (25, 26) Los resultados muestran que el ANF incrementó los niveles de GMPc sin afectar los de la AMPc ni la hidrólisis de los PI. En trabajos anteriores demostramos que el ANF inhibe la captación de $^{45}\text{Ca}^{++}$ estimulada por soluciones de alto contenido de potasio en sinaptosomas de hipotálamo a través de un mecanismo que involucra al GMPc. (27) Los resultados que se obtuvieron en el presente trabajo nos permiten concluir que, en el hipotálamo de la rata, la inhibición de la síntesis de catecolaminas inducida por el ANF podría ser el resultado del clásico mecanismo de regulación por producto final, considerando que el ANF incrementa el contenido endógeno de NA. No obstante, no se puede excluir que el ANF tenga un efecto directo sobre la enzima modificando su fosforilación o bien la disponibilidad de calcio intracelular.

El ANF también disminuyó la utilización y la velocidad de recambio de la NA. Esto se correlaciona con los efectos del ANF sobre la captación neuronal, la liberación, la síntesis y el contenido endógeno de

NA. El ANF aumenta la captación neuronal, (7-9,12) así como el contenido endógeno de NA y disminuye su síntesis y liberación; (8, 10) por lo tanto, todos estos efectos en conjunto podrían resultar en la disminución en la utilización y la velocidad de recambio de la NA.

Los efectos del ANF en los distintos tejidos están mediados principalmente por la generación de GMPc que se forma a partir de la estimulación de los receptores acoplados a la enzima guanilatoclasa. No obstante, varios estudios demostraron que el ANF induce diversos efectos biológicos mediados por la inhibición de la formación de AMPc o la generación de inositol trifosfato y diacilglicerol, productos de la hidrólisis de los PI. (28) Los resultados del presente trabajo indican que el GMPc sería el mediador intracelular de los efectos del ANF a nivel del hipotálamo ya que el ANF no modificó los otros segundos mensajeros estudiados. Los receptores de los factores natriuréticos acoplados a la guanilatoclasa son de dos tipos: A y B. Los de tipo B son los que se encuentran mayoritariamente a nivel del SNC. Por lo tanto, en función de los resultados del presente trabajo es posible concluir que los efectos del ANF a nivel del hipotálamo estarían mediados por el receptor de tipo B.

En conclusión, todos los resultados concuerdan en que: a) si está inhibida la biosíntesis, b) aumentada la recaptación y c) inhibida la liberación de NA, por consecuencia tiene que estar: a) aumentado el contenido endógeno, b) disminuida la utilización y c) disminuida la velocidad de recambio de la NA. Por consiguiente, el ANF disminuye la disponibilidad de NA en el espacio sináptico, actuando como un modulador negativo de la neurotransmisión noradrenérgica a nivel de la neurona presináptica e inhibiendo la actividad sináptica postsináptica.

SUMMARY

ATRIAL NATRIURETIC FACTOR INHIBITS OF NORADRENALINE BIOSYNTHESIS, UTILIZATION AND TURNOVER RATE

We have previously reported changes in norepinephrine (NE) uptake and release induced by atrial natriuretic factor (ANF). These modifications may be associated with modifications in the synthesis and turnover of the amine. On these basis the aim of the present work was to study the effects of atrial natriuretic factor (ANF) on the endogenous content, utilization and turnover of NE, tyrosine hydroxylase (TH) activity, and second messenger generation in the rat hypothalamus.

Results showed that ANF (100 ng/ μl , intracerebroventricular administration) increased the en-

ogenous content of NE (by 45%) and diminished the amine utilization and turnover (53%). In addition, the ANF (10 nM) inhibited both basal as well as KCl-evoked TH activity (30% and 64% respectively). On the other hand, 10 nM ANF increased cGMP levels (110%), without modifying either cAMP accumulation or phosphatidylinositol hydrolysis.

These results suggest that ANF may play an important role in the hypothalamic noradrenergic neurotransmission as a putative modulator. Thus, the atrial factor may be involved in the regulation of several central and peripheral physiological processes such as, the cardiovascular activity, electrolyte and fluid homeostasis, endocrine and neuroendocrine synthesis.

Keywords Atrial natriuretic factor - Norepinephrine biosynthesis - Hypothalamus - **Tyrosine hydroxylase activity - cAMP - cGMP - Phosphatidylinositol hydrolysis**

Agradecimientos

Este trabajo se realizó con subsidios otorgados por la Universidad de Buenos Aires (UBACYT FA 134), el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas (CONICET, PID 3235) y la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCYT, PICT 116).

BIBLIOGRAFIA

- Brenner BM, Ballermann RJ, Gunnalong MB, Zeldel ML. Diverse biological actions of atrial natriuretic peptide. *Physiol Rev* 1980; 70: 665-699.
- De Bold AJ, Bruneau BG, Kuroski De Bold MI. Mechanical and neuroendocrine regulation of the endocrine heart. *Cardiovasc Res* 1996; 31: 7-18.
- Mangat H, De Bold AJ. Stretch-induced atrial natriuretic factor release utilized a rapidly depleting pool of newly synthesized hormone. *Endocrinology* 1993; 133: 1398-1403.
- Bruneau BG, De bold AJ. Selective changes in natriuretic peptide and early response gene expression. In isolated rat atrial following stimulation by stretch or endothelin 1. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 1519-1525.
- Anand-Srivastava MB, Trachte GJ. Atrial natriuretic factor receptors and signal transduction mechanism. *Pharmacol Rev* 1993; 45: 455-497.
- Langub MC, Watson RE, Herman JP. Distribution of natriuretic peptide precursor mRNAs in the rat brain. *J Comp Neurol* 1995; 356: 183-199.
- Fernández BE, Vatta MS, Bianciotti LG, Martínez Seeber A. Atrial natriuretic peptide: Effects on uptake and intracellular distribution of norepinephrine in hypothalamus. *Pharmacology (Life Sci Adv)* 1990; 9: 525-533.
- Vatta MS, Bianciotti LG, Fernández BE. Atrial natriuretic peptide effects on spontaneous and evoked 3H-norepinephrine release in medulla oblongata of the rat. *Med Sci Res* 1990; 18: 433-434.
- Vatta MS, Bianciotti LG, Papouchado ML, Locatelli A, Fernández BE. Effects of atrial natriuretic peptide and angiotensin III on the uptake and intracellular distribution of norepinephrine in the medulla oblongata of the rat. *Comp Biochem Physiol* 1991; 99C: 293-297.
- Vatta MS, Papouchado ML, Locatelli AS, Bianciotti LG, Fernández BE. Effects of atrial natriuretic factor on norepinephrine release in the rat hypothalamus. *Regul Pept* 1993; 43: 177-184.
- Vatta MS, Rodríguez Fermepin M, Bianciotti LG, Perazzo JC, Monserrat A, Fernández BE. Atrial natriuretic factor enhances norepinephrine uptake in circumventricular organs, locus coeruleus and nucleus tractus solitarius of the rat. *Neurosci Lett* 1995; 197: 29-32.
- Paximos G, Watson CH. The rat brain in stereotaxic coordinates. Australia, Academic Press 1986.
- Von Enler VS, Lishajko F. The estimation of catecholamines in urine. *Acta Physiol Scand* 1959; 45: 122-132.
- Cohen G, Goldenberg M. The simultaneous fluorometric characteristics of adrenaline and noradrenaline on their simultaneous in mixtures. *J Neurochem* 1957; 2: 58-70.
- Hendry TV, Iversen LL. Effect of nerve growth factor and its antiserum on tyrosine hydroxylase in mouse superior cervical sympathetic ganglion. *Brain Res* 1971; 29:159-162.
- Zigmond RE, Chalazonitis A. Long-term effects of preganglionic nerve stimulation on tyrosine hydroxylase activity in the cat superior cervical ganglion. *Brain Res* 1979; 164: 137-152.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
- Berridge R, Downes CP, Hauley MR. Lithium amplifies agonist-dependent phosphatidylinositol response in brain and salivary glands. *Biochem J* 1982; 206: 587-595.
- Summers C, Phillips MI. Central injection of angiotensin II alters catecholamine activity in rat brain. *Am J Physiol* 1988; 244: R257-R263.
- Wallestein S, Zucker C, Fleiss JC. Some statistical methods in circulation research. *Circ Res* 1980; 47: 1-9.
- Ganong WE Blood pituitary and brain renin angiotensin system and regulation of secretion of anterior pituitary gland. *Front Neuroendocrinol* 1993; 14: 233-249.
- Sealey JE, Laragh JH; The renin-angiotensin-aldosterone system for normal regulation of blood arterial pressure and sodium and potassium homeostasis. *En: Laragh JH, Bretler BM. Hypertension: Pathophysiology, diagnosis and management.* New York, Raven Press Ltd 1995; pp 1763-1796.
- Papouchado M, Vatta MS, Zarrabeirtfa V, Domínguez AE, Fernández BE. Effects of angiotensin III on noradrenergic neurotransmission in the rat hypothalamus. *Am J Hypert* 1994; 7: 139 A.
- Vatta MS, Rubio M, Bianciotti LG, Fernández BE. Atrial natriuretic peptide does not affect norepinephrine catabolism in rat hypothalamus and adrenal medulla. *Neurosci Lett* 1998; 253: 151-154.
- Icaro-Liepkalns C, Berrard S, Faucon-Biguier N y col. Tyrosine hydroxylase regulation in neurotransmission and neuroplasticity *J Physiol (Paris)* 1993; 87: 153-157.
- Kumer SC, Vrana KW. Intricate regulation of tyrosine hydroxylase activity and gene expression. *J Neurochem* 1996; 67: 443-462.
- Fernández BE, Alvarez-Maubecin V, Zabarreitía V y col. Effect of A and C types natriuretic peptide (ANF and CNP) on synaptosomes Ca²⁺ uptake and on P and N types calcium channel mediated norepinephrine release. *FASEB J* 1996; 10: A 159 (abstract).
- Anand-Srivastava MB, Trachte GJ. Atrial natriuretic factor receptors and signal transduction mechanisms. *Pharmacol Rev* 1993; 45: 455-497.