

# Reactividad vascular a la noradrenalina del mesenterio de rata perfundido durante el desarrollo de hipertensión arterial

**NORMA R. RISLER, ALBERTO BINIA\*, MONICA B. DELUGAN, RAUL E. ORTEGO**

Cátedra de Fisiología Patológica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza.

\* Miembro de la Carrera del Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

Dirección para separatas: Dr. Alberto Binia, Cátedra de Fisiología Patológica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Casilla de Correo 33, (5500) Mendoza, Argentina.

*La hiperreactividad vascular a las acciones vasoconstrictoras es un mecanismo postulado para explicar el aumento de la resistencia periférica en la hipertensión arterial. Para estudiar esta posibilidad se investigó la respuesta constrictora de la arteria mesentérica a la noradrenalina, en ratas con hipertensión experimental tipo Goldblatt 1 clip-2 riñones. Se utilizaron animales en distintos períodos de evolución de la hipertensión: 48 horas, 7 a 10 días, 28 a 30 días, 67 a 71 días y 97 a 115 días después de la operación. En ellos se controló peso corporal, presión arterial en la cola por método pletismográfico y peso de ambos riñones. En el mesenterio aislado de estas ratas hipertensas, perfundido con solución salina, se hicieron curvas dosis-respuesta a noradrenalina (4 nanog a 40 microg). Simultáneamente se hicieron experimentos en preparados de animales normotensos, con operación ficticia. En las curvas dosis-respuesta se analizaron la dosis umbral y la pendiente, comparando entre sí los resultados obtenidos en ratas hipertensas y normotensas. En general no hubo cambios en lo que se refiere a umbral y pendiente de las curvas dosis-respuesta. Se concluye que, al menos en el territorio vascular mesentérico, no se observa hiperreactividad a la noradrenalina exógena; por lo tanto, este mecanismo no contribuiría al mantenimiento del aumento de la resistencia vascular en este tipo de hipertensión experimental.*

La hiperreactividad del músculo liso vascular ha sido invocada para explicar el incremento de la resistencia periférica total que se encuentra en estados hipertensivos clínicos o experimentales. Este aumento de la reactividad vascular puede ser producido por dos mecanismos diferentes. Puede ser debido a una verdadera supersensibilidad, cuando la misma dosis submáxima de un agonista pro-

duce un grado de acortamiento mayor del músculo liso vascular que en el tejido normal. En tejidos arteriales aislados esta supersensibilidad se evidencia por un desplazamiento paralelo de la curva dosis-respuesta hacia la izquierda de la curva control, con una dosis umbral menor y sin cambio en la respuesta máxima.<sup>1</sup> Por otro lado, puede haber hiperreactividad secundaria a la alteración de la relación pared/luz de las arteriolas en la hipertensión. Este cambio se evidencia, en lechos arteriales aislados, por una curva dosis-respuesta con mayor pendiente, sin modificación de la dosis umbral y con aumento de la respuesta máxima.<sup>2,3</sup> Las investigaciones previas sobre reactividad, en preparaciones vasculares perfundidas, han dado resultados contradictorios, lo que podría depender de la amplia variedad de preparados y tipos de hipertensión experimental estudiados.<sup>4</sup>

Este trabajo describe experimentos realizados en ratas con hipertensión renal tipo Goldblatt 1 clip-2 riñones, en las cuales se estudió la respuesta a la noradrenalina (NA) de la arteria mesentérica perfundida, en distintos tiempos de evolución de la hipertensión.

## MATERIAL Y METODO

Se utilizaron ratas Wistar machos de 80 a 100 g de peso, a las que se les colocó un clip de plata de 0,22 mm en la arteria renal izquierda, dejando el riñón contralateral intacto (ratas hipertensas). Simultáneamente se prepararon ratas controles con operación ficticia (ratas normotensas). La cirugía fue llevada a cabo con anestesia por éter. A partir de la operación se les tomó la presión sistólica por el método pletismográfico y se midió el peso corporal una vez por semana.

Las ratas fueron sacrificadas y se realizó la perfusión del lecho vascular mesentérico en distintos

momentos de evolución después de la colocación del clip: 48 horas, 7 a 10 días, 28 a 30 días, 67 a 71 días y 97 a 115 días.

La arteria mesentérica fue perfundida, de acuerdo con la técnica descrita por Mc Gregor,<sup>5</sup> con solución salina de pH 7,45 conteniendo (en mEq/l): Na<sup>+</sup> 134; K<sup>+</sup> 5,0; Cl<sup>-</sup> 137; Ca<sup>2+</sup> 2,2; PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub><sup>-</sup> y PO<sub>4</sub>H<sup>2-</sup> 4,0; D (+) glucosa 5,5 mmol/l, previamente gasificada con O<sub>2</sub> al 100% y mantenida a 37°C durante el experimento. La perfusión se realizó con una bomba peristáltica Cole Parmer, con flujo constante de 5 ml/min; y los cambios de la presión de perfusión fueron registrados a través de un transductor de presión Statham P-23 Ac, en un registrador Heath modelo IR-18 M. Luego de la canulación de la arteria mesentérica se esperaron 60 minutos para estabilización del preparado. La noradrenalina, usada como agente agonista, fue inyectada en bolo en un volumen de 50 microl. Los cambios de resistencia vascular mesentérica fueron medidos por el aumento de la presión de perfusión, dado que el caudal se mantuvo constante. En cada experimento se hizo una curva dosis-respuesta a la NA, con dosis entre 4 nanog y 40 microg, inyectando cada dosis por duplicado. En cada curva obtenida se calculó la pendiente y la dosis umbral promedio. Se definió la dosis umbral como aquella que, en cada experimento, dio respuesta distinta de cero.

Las pendientes de las curvas obtenidas en mesenterios de ratas hipertensas y de controles normotensas fueron comparadas por análisis de varianza y los umbrales correspondientes por la prueba de t para datos independientes. En el caso de las curvas obtenidas en el grupo de 97-115 días se calculó el desplazamiento entre las curvas y su significación estadística con la prueba de t.

RESULTADOS

En la Fig. 1 están graficados los datos de presión arterial sistólica, peso de ambos riñones y peso corporal de las ratas hipertensas y normotensas en los distintos períodos de evolución a partir de la operación. La presión arterial sistólica fue mayor en las ratas hipertensas en todos los períodos, pero esta diferencia fue estadísticamente significativa recién a partir de un mes de evolución. El peso del riñón izquierdo de las ratas hipertensas fue siempre menor que el del derecho correspondiente, aunque esta diferencia no alcanzó niveles de significación. En el caso de las ratas normotensas no hubo diferencias entre ambos riñones. La evolución del peso corporal fue prácticamente idéntica en ambos grupos de ratas.

La presión de perfusión basal, como índice de la resistencia de los preparados en máxima vasodilatación, no presentó diferencias significativas en ningún momento de la evolución entre ratas hipertensas y normotensas. Los valores de presión de perfusión basal de los preparados mesentéricos (promedio ± error standard), para 48 horas, 7-10 días, 28-30 días, 67-71 días y 97-115 días fueron, para las ratas hipertensas: 22,0±4,6, 20,2±5,8, 11,2±0,5, 13,7±2,9 y 9,3±0,9 mmHg, y para las ratas normotensas: 21,6±2,1, 14,2±1,3, 14,3±1,8, 14,2±2,0 y 13,4±1,7 mmHg.

La Fig. 2 muestra las curvas dosis-respuesta obtenidas con NA 48 horas después de la operación. No hubo diferencias significativas entre los preparados obtenidos de ratas hipertensas y normotensas, ni en la dosis umbral ni en la pendiente. Tampoco hubo diferencias en las dosis umbrales y en las pendientes de los períodos de 7-10 días, 28-30 días (Fig. 3) y 67-71 días. En el caso de los resultados obtenidos en el estadio más crónico, 97-115

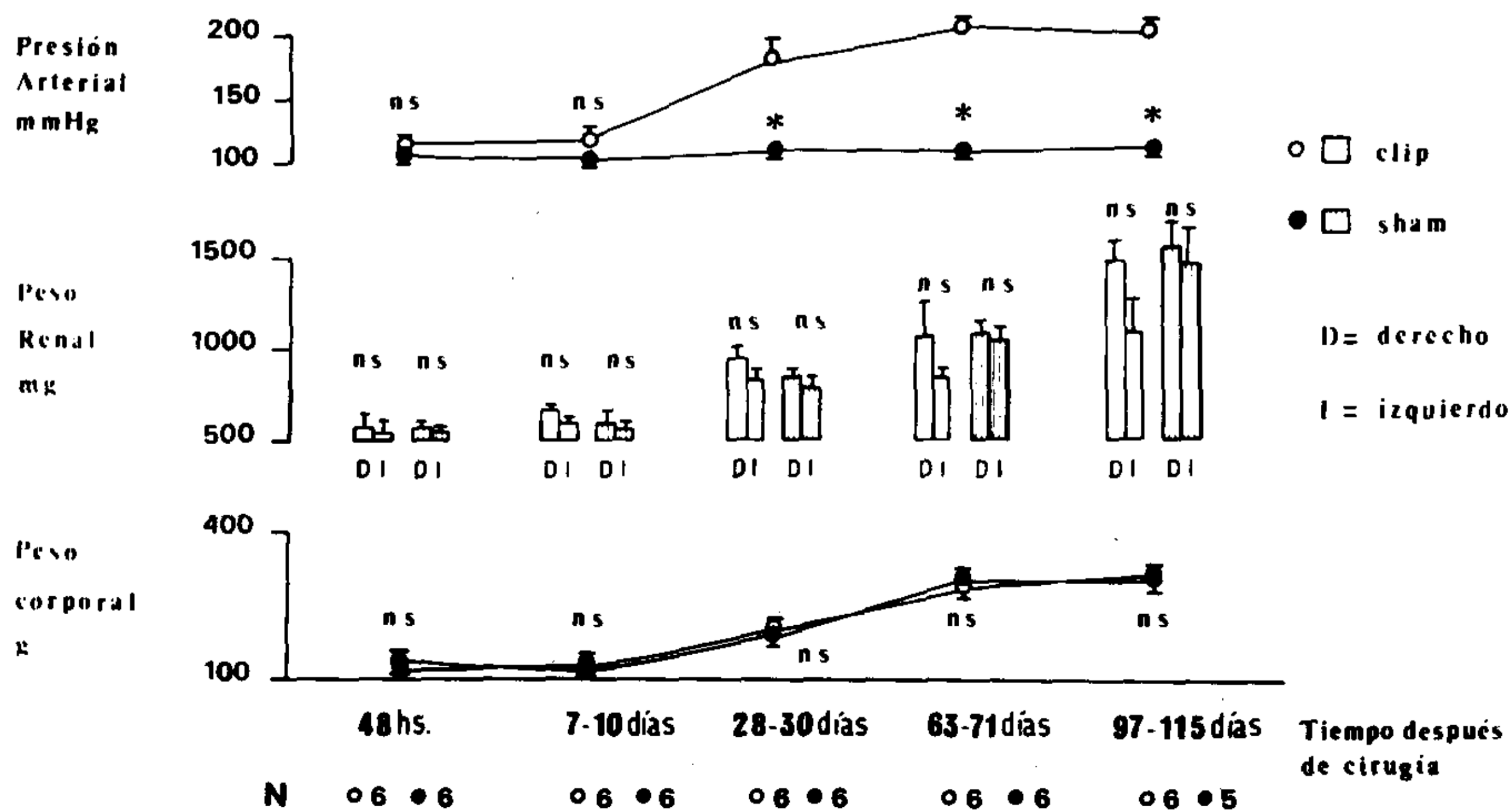


Fig. 1. Evolución de las ratas hipertensas (○—○ y □) y normotensas (●—● y □) a distintos tiempos de la operación. El panel superior representa los valores de presión arterial sistólica, en mmHg; el medio representa el peso de los riñones (D=derecho; I=izquierdo), en miligramos, y el inferior representa el peso corporal en gramos. Los datos están expresados como promedio ± error standard. Las diferencias estadísticamente significativas están indicadas por asteriscos.



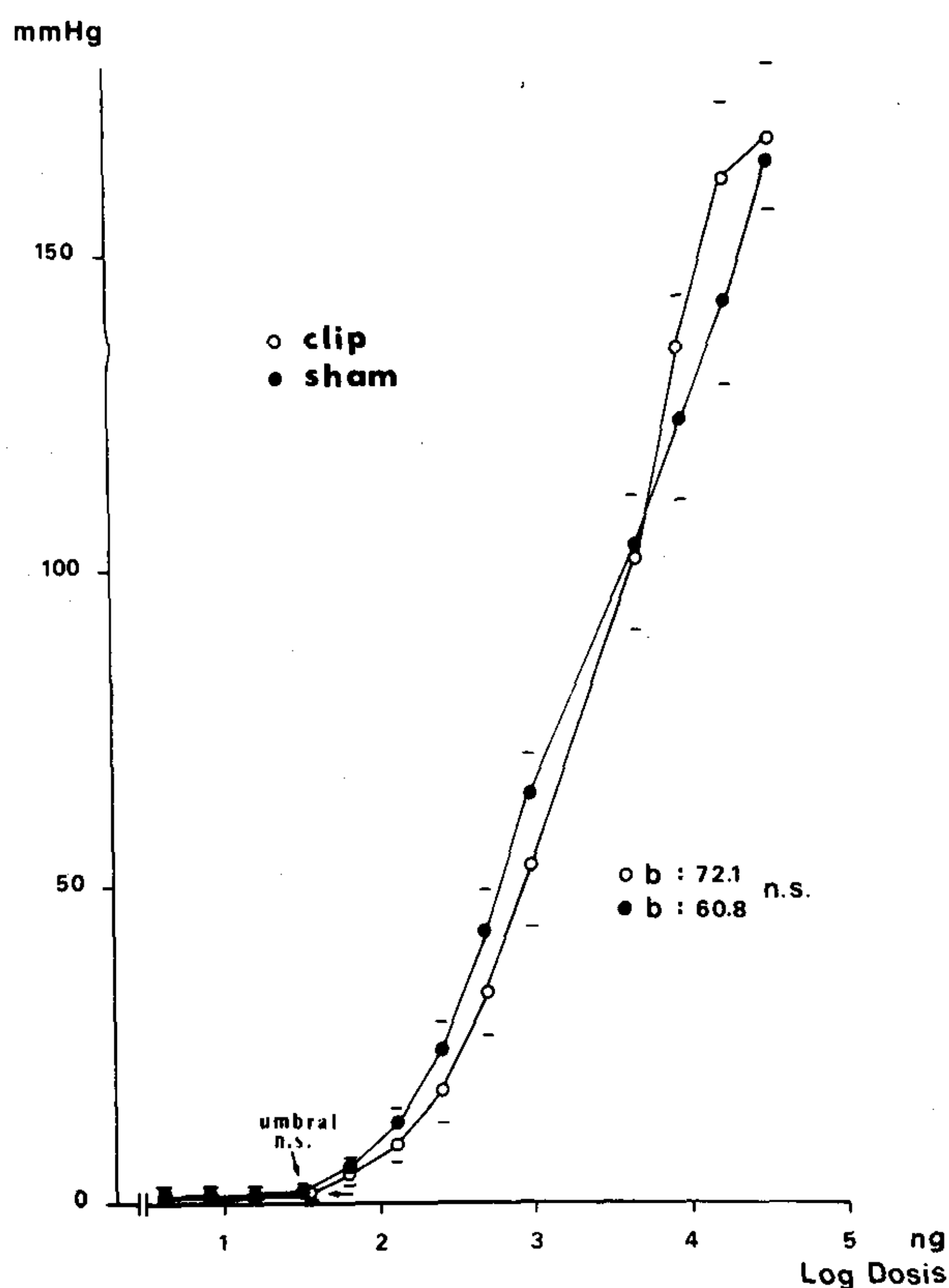


Fig. 2. Curvas dosis-respuesta a la NA obtenidas en el lecho vascular mesentérico, 48 horas después de la operación, de ratas hipertensas (o-o) ( $n=6$ ) y normotensas (●-●) ( $n=6$ ). Los símbolos y líneas horizontales indican la respuesta (promedio  $\pm$  error standard) a cada dosis de NA.  $b$  indica el valor de la pendiente.

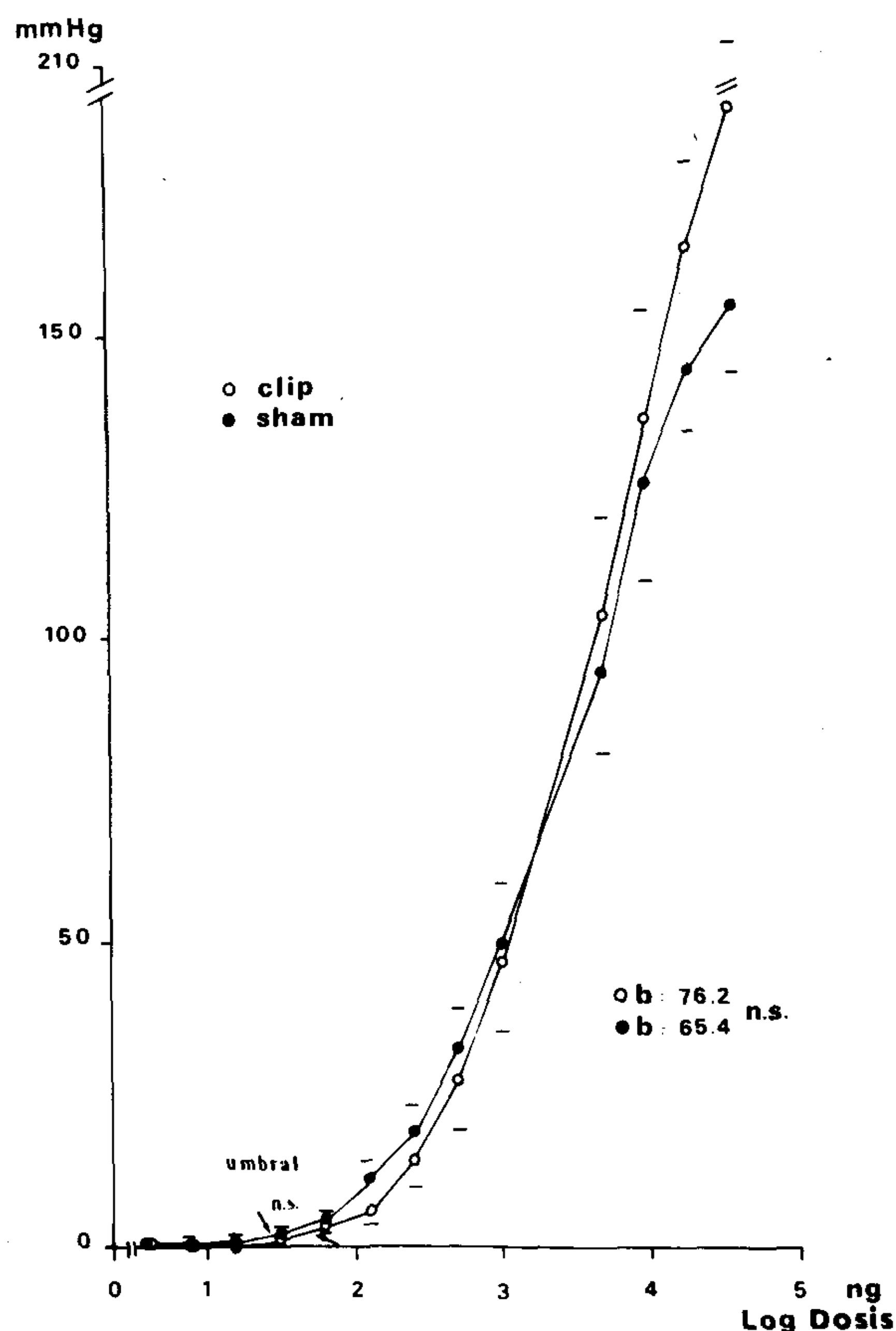


Fig. 3. Curvas dosis-respuesta a la NA obtenidas en lecho vascular mesentérico, 28-30 días después de la operación, de ratas hipertensas (o-o) ( $n=6$ ) y normotensas (●-●) ( $n=6$ ).

días (Fig. 4), no hubo diferencias significativas en los valores de dosis umbral ni en los de pendiente. Sin embargo, la curva obtenida en preparados de ratas hipertensas estuvo desplazada hacia la derecha con respecto a la curva obtenida en preparados de ratas normotensas, aunque esta desviación no fue estadísticamente significativa.

#### DISCUSION

Los mecanismos hemodinámicos por los cuales las cifras tensionales están elevadas en la hipertensión arterial pueden ser un aumento del volumen minuto cardíaco (VMC) o un aumento de la resistencia periférica total (RPT). La mayoría de los autores coinciden en que el aumento del VMC como factor único no es responsable de ningún tipo de hipertensión y participaría sólo como factor patogénico en algunas etapas de la instalación de la enfermedad. Esto significa que en la mayoría de los casos de hipertensión arterial la presión está elevada por un aumento de la RPT. De todos los factores de los cuales depende la RPT: radio de los vasos, lon-

gitud del sistema y viscosidad sanguínea, prácticamente el único variable es el primero, y se coincide en atribuir a este mecanismo, reducción del calibre vascular, el papel fundamental como factor de elevación de la RPT en la hipertensión. A su vez son varios los factores que han sido postulados como responsables de las modificaciones del calibre vascular. Una de las posibilidades es que el lecho vascular esté expuesto a concentraciones aumentadas de sustancias vasoconstrictoras o a concentraciones disminuidas de sustancias vasodilatadoras. En algunas formas secundarias de hipertensión se han encontrado cantidades aumentadas de sustancias circulantes que pueden directa o indirectamente, causar hipertensión; por ejemplo, catecolaminas en el feocromocitoma o el sistema renina-angiotensina en algunos tipos de hipertensión renal. Sin embargo, en un gran número de casos, y en especial en la hipertensión esencial no complicada, la participación del aumento de sustancias presoras en la sangre no ha sido demostrada. Otras posibilidades son que haya cambios estructurales de

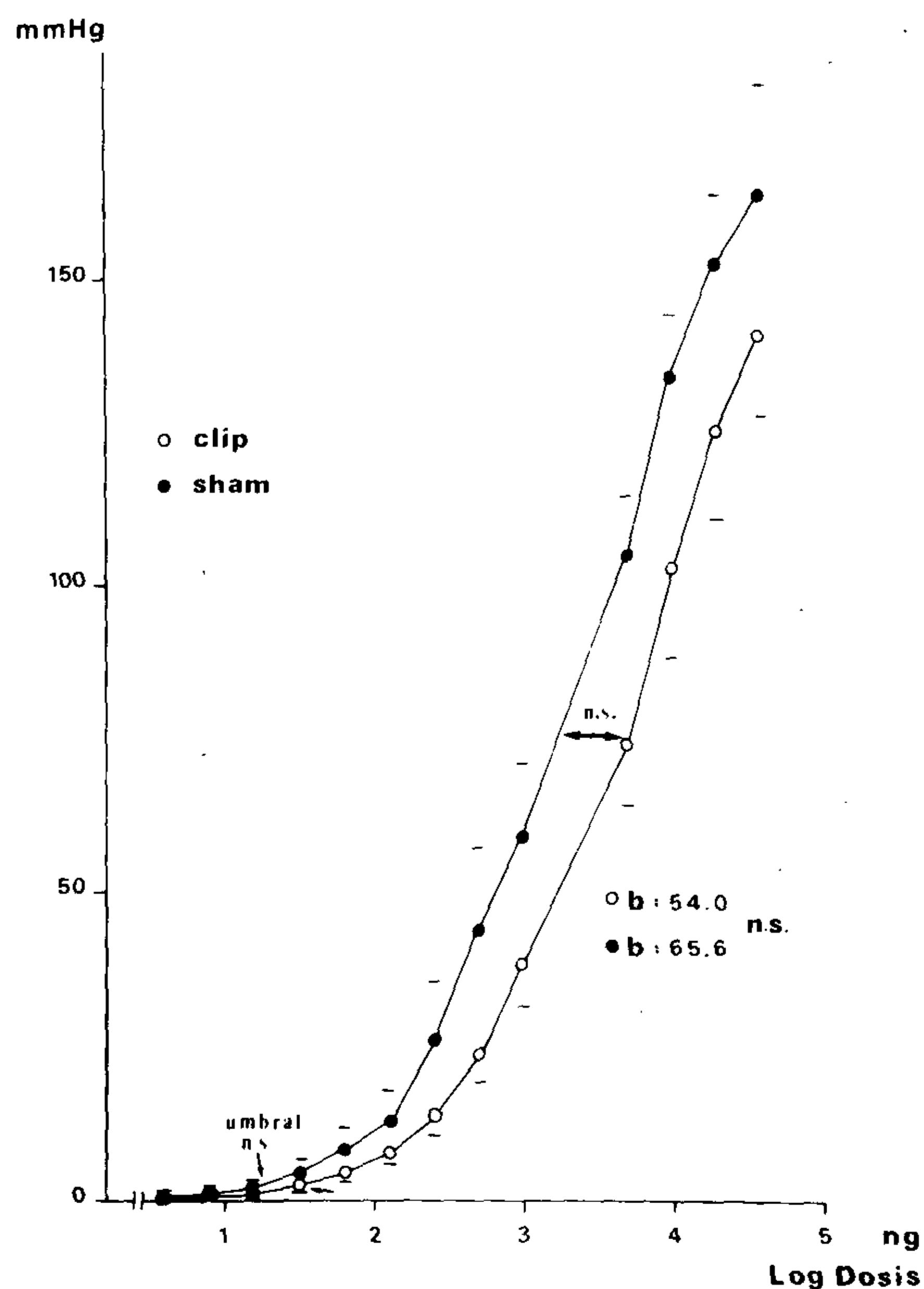


Fig. 4. Curvas dosis-respuesta a la NA obtenidas en lecho vascular mesentérico, 97-115 días después de la operación, de ratas hipertensas (○—○) (n=6) y normotensas (●—●) (n=5). La flecha horizontal entre ambas curvas indica el desplazamiento correspondiente, que no fue estadísticamente significativo.

los vasos, o cambios intrínsecos en la reactividad del músculo liso vascular.

Folkow y colaboradores postulan que en la hipertensión, la hipertrofia de la túnica media de la pared vascular con aumento de la relación pared/luz, es capaz de aumentar la resistencia basal y la respuesta a agonistas vasoconstrictores.<sup>2</sup> En tejidos arteriales perfundidos este cambio se manifiesta por una curva dosis-respuesta con mayor pendiente, respuesta máxima elevada y sin modificación del umbral. Por otro lado, el músculo liso vascular puede ser directamente más sensible a los agentes vasoconstrictores. Esta supersensibilidad se evidencia por un desplazamiento paralelo hacia la izquierda de la curva dosis-respuesta obtenida en vasos de animales hipertensos, con menor dosis umbral e igual respuesta máxima.<sup>1</sup> Numerosos autores han intentado comprobar si hay efectivamente cambios en la reactividad vascular, y si estos cambios, en caso de existir, preceden o aparecen con posterioridad al aumento de las cifras tensionales. Los resultados son contradictorios, lo que po-

dría obedecer a los distintos preparados usados y al tipo de hipertensión experimental estudiado. Collis y colaboradores encontraron que el lecho vascular mesentérico de ratas con hipertensión renal (por el método de Grollman) y sobrecarga salina, perfundido con solución salina, presentaba supersensibilidad precoz a la NA y angiotensina pero no al cloruro de potasio; y que más tarde se encontraba hiperreactividad a las tres sustancias.<sup>6</sup> Resultados similares fueron obtenidos en ratas con el mismo tipo de hipertensión pero sin sobrecarga salina.<sup>7</sup>

En el mismo preparado, durante el desarrollo de hipertensión renal tipo Goldblatt 1 clip, 2 riñones, Eikenburg y colaboradores no encontraron cambios en la respuesta a NA ni al estímulo nervioso en etapas precoces ni tardías del desarrollo de la hipertensión.<sup>8</sup> Cuando el preparado mesentérico fue perfundido *in situ* con sangre, los mismos autores encontraron una potenciación de la respuesta a la NA, precoz y tardía, y un aumento en la respuesta al estímulo nervioso sólo en la etapa crónica.<sup>9</sup>

En este trabajo hemos estudiado la reactividad vascular a la NA del lecho vascular mesentérico perfundido con solución salina, en ratas con hipertensión tipo Goldblatt 1 clip, 2 riñones, en distintos momentos de la evolución de la hipertensión: desde 48 horas hasta tres meses después de la colocación del clip. Comparando los datos de dosis umbral y pendiente de las curvas dosis-respuesta a la NA obtenidos en ratas hipertensas y controles normotensas, no encontramos cambios significativos en ninguno de los períodos estudiados. Los mismos resultados fueron encontrados al analizar las curvas dosis-respuesta al cloruro de potasio y a la vasopresina (observaciones no publicadas).

En base a nuestros resultados podemos concluir que en el desarrollo de la hipertensión renovascular en la rata no aparece hiperreactividad en los vasos mesentéricos. Si así sucediera en el resto del lecho arterial sistémico, este mecanismo no sería el responsable del aumento de resistencia periférica en este tipo de hipertensión experimental.

#### SUMMARY

*Increase in vascular reactivity to vasoconstrictor agonists is one of the postulated mechanisms to explain the elevated peripheral resistance in arterial hypertension. The objective of the present investigation was to study the constrictor response to noradrenaline, utilizing the saline perfused mesenteric artery, in rats with two-kidneys, one clip Goldblatt hypertension. Animals were used at different times in the development of hypertension:*



48 hours, 7-10 days, 28-30 days, 67-71 days and 97-115 days after surgery. Systolic blood pressures via the tail cuff plethysmographic method, corporal weight and both kidney's weight were measured. Dose-response curves to noradrenaline (4 nanog to 40 microg) were obtained in the perfused mesenteric vessels of renal hypertensive rats. Simultaneously, experiments were made in preparations from normotensive sham operated rats. Threshold doses and slopes of the curves were calculated and the results from hypertensive and normotensive rats were compared. There were no significant differences in the vascular reactivity, evaluated by threshold and slope of the dose-response curves to noradrenaline. Also, there were differences in the resistance to flow at maximal dilatation between hypertensive and control rats at any stage. It is concluded that there is no increase in vascular reactivity to noradrenaline in the mesenteric vessels. In consequence, this mechanism does not contribute to the maintenance of the elevated vascular resistance in this type of experimental hypertension.

#### AGRADECIMIENTO

Agradecemos al Dr. Carlos Soler, de la Cátedra de Física Biológica, Facultad de Ciencias Médica, Universidad Nacio-

nal de Cuyo, por su colaboración en el tratamiento estadístico realizado.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Haeusler G, Finch L: Vascular reactivity to 5-hydroxy tryptamine and hypertension in the rat. *Nauyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol* 272: 101, 1972.
2. Folkow B, Grimby G, Thulesius O: Adaptative structural changes of the vascular walls in hypertension and their relation to the control of the peripheral resistance. *Acta Physiol Scand* 44: 255, 1958.
3. Sivertsson R: The hemodynamic importance of structural vascular changes in essential hypertension. *Acta Physiol Scand* (Suppl 343), 1970.
4. Somlyo AP, Somlyo AV: Vascular smooth muscle. Pharmacology of normal and hypertensive vessels. *Pharmacol Rev* 22: 249, 1970.
5. McGregor DD: The effect of sympathetic nerve stimulation on vasoconstrictor responses in perfused mesenteric blood vessels of the rat. *J Physiol (Lond)* 177: 21, 1965.
6. Collis MG, Alps BJ: Vascular reactivity to noradrenaline, potassium chloride, and angiotensin II in the rat perfused mesenteric vasculature preparation, during the development of renal hypertension. *Cardiovasc Res* 9: 118, 1975.
7. Collis MG, Alps BJ: Mesenteric vasculature reactivity to noradrenaline during the development of renal hypertension in the rat. *Blood Vessels* 14: 189, 1977.
8. Eikenburg DC, Ekas RD, Lodhandwala MF: Alterations in prejunctional responsiveness to angiotensin II during the development of 2-kidney, 1-clip Goldblatt hypertension in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 223: 766, 1982.
9. Eikenburg DC, Lokhandwala MF: Effects of captopril on vascular noradrenergic transmission during the development of two-kidney, one clip Goldblatt hypertension in rats. *Journal of Hypertension* 1: 115, 1983.