

Artículo Original

Actividad del sistema dopaminérgico renal en ratas con distinto contenido de sodio en la dieta

¹Verónica De Luca Sarobe, ¹Luis Di Ciano, ¹Andrea M. Carranza, ²Gloria Levin, ¹Elvira E. Arrizurieta, ¹Fernando R. Ibarra

¹Laboratorio de Riñón, Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires,

²Laboratorio de Catecolaminas, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, CEDIE-CONICET, Buenos Aires

RESUMEN

La dopamina (DA) renal modula la excreción de sodio y agua y la presión arterial por medio de receptores D1 (D1R) y D2 y es degradada por las enzimas monoamino-oxidasa (MAO) y catecol-O-metiltransferasa (COMT). Nuestro propósito es estudiar el patrón de excreción urinaria de DA (UDAV) y la actividad de MAO y COMT durante el consumo de dietas con distinto contenido de sodio. Para ello, ratas Wistar macho, divididas en 4 grupos, recibieron dieta normosódica (NS, NaCl 0.24%), hiposódicas (BS, NaCl 0.02%) e hipersódicas (HS, NaCl 1%) durante 5 días. El 4to grupo, NS, BS e HS, recibió SCH 23390 (antagonista D1R, 1 mg/kg SC) los últimos 3 días. Observamos que UDAV (ng/d/100gPC) en BS fue más baja que NS: 571.2 ± 30.3 vs. 730 ± 45 , $p < 0.01$, y aumentó en HS: 1443 ± 203.2 , $p < 0.01$ vs. NS. En BS la actividad de MAO (nmol/mg/hora) aumentó en corteza (C) 9.44 ± 0.55 respecto a NS, 7.66 ± 0.52 , $p < 0.05$. COMT, (pmol/mg/hora) aumentó en C, 15.67 ± 1.23 vs. 11.4 ± 0.93 , $p < 0.05$ vs. NS y disminuyó en médula (M) 7.79 ± 0.33 vs. 9.84 ± 0.31 , $p < 0.01$ vs. NS. En HS MAO disminuyó en C: 6.3 ± 0.25 vs. 7.66 ± 0.52 , $p < 0.05$ vs. NS; en tanto COMT disminuyó algo en M. No hubo cambios en la presión arterial sistólica (PAS) basal entre los grupos. El tratamiento con SCH 23390 disminuyó la natriuresis en HS y NS, y aumentó significativamente la PAS en BS. En conclusión, DA y natriuresis, exhiben una correlación positiva frente a modificaciones en la ingesta de sodio, respuesta modulada por MAO y COMT y mediada por D1R.

Palabras clave: dopamina, sodio, MAO, COMT, receptores D1.

ABSTRACT

Renal dopamine (DA) regulates water and sodium

excretion and, doing so, controls blood pressure. Renal epithelial cells produce DA by decarboxylation of filtered l-dopa and inactivate DA by monoamine-oxidase (MAO) and catechol-O-methyl transferase (COMT). Dopamine interacts with specific receptors (D1R and D2R). The aim of this work is to study urinary DA excretion (UDA*V) and MAO and COMT activities in rats under different sodium intake. Four groups according to Na⁺ intake and treatment were studied: Normal (NS, NaCl 0.24%), Low (BS, 0.02%) and High sodium (HS, 1%) for 5 days. In group four, NS, BS and HS rats received SCH 23390 (1 mg/kg SC), D1R antagonist, the last three days.

Results: UDA*V (ng/d/100g bwt) was lower in BS 571 ± 30 vs NS 730 ± 45 , $p < 0.01$ and was increased in HS to 1443 ± 203 $p < 0.01$ vs NS and $p < 0.001$ vs BS. In BS rats MAO activity (nmol/mg/h) increased in renal cortex to 9.44 ± 0.55 vs NS 7.66 ± 0.52 , $p < 0.05$, while MAO decreased in HS cortex to 6.3 ± 0.25 , $p < 0.05$ vs NS.

COMT activity (pmol/mg/h), increased in cortex of BS rats to 15.67 ± 1.23 vs 11.04 ± 0.13 in NS group, $p < 0.05$. Regardless Na⁺ intake, MAO was always higher in cortex than in renal medulla, while COMT did not show differences between cortex and medulla.

SCH 23390 markedly decreased diuresis and natriuresis in HS rats and Na⁺ excretion in NS and increased systolic pressure in BS.

Conclusion: dopamine and Na⁺ excretion are positively related to Na⁺ intake. MAO and COMT are involved in this response mainly mediated by D1R stimulation.

Keywords: dopamine, sodium, MAO, COMT, D1 receptors

INTRODUCCIÓN

Las interrelaciones entre los factores natriuréticos y

antinatriuréticos representan un importante mecanismo que regula la excreción renal de sodio y agua. La dopamina renal (DA) es uno de los componentes fundamentales que modulan la excreción de sodio por el riñón y la presión arterial¹. La DA es sintetizada en las células del túbulo proximal (TP) en el riñón, independientemente de la actividad neural. Así la DA excretada en la orina deriva exclusivamente de la DA intrarrenal². La síntesis de DA renal es realizada a partir de la L-dopa filtrada libremente en el glomérulo, la cual es captada por las células del TP en cotransporte con sodio en la membrana apical. La descarboxilasa de aminoácidos aromáticos (DAA) convierte la L-dopa en dopamina, la cual es liberada tanto hacia el lado basolateral como hacia la luz tubular³. La carga filtrada de L-dopa, entonces, influencia la producción de DA en las células del TP, ya que la administración aguda de L-dopa o gludopa resulta en natriuresis⁴.

Los efectos de la DA están mediados por dos tipos de receptores: D1 (subtipos D1 y D5) y D2 (subtipos D2, D3 y D4). El D1 está presente en la mayoría de los segmentos tubulares de la nefrona⁵ y cumple un importante rol mediando la respuesta natriurética de la DA⁶. Los efectos sobre la presión arterial y la natriuresis de la DA renal se deben, al menos en parte, a la reducción en el transporte de sodio, al inhibir diferentes sistemas de transporte de Na⁺, principalmente la Na⁺/K⁺ ATPasa, el intercambiador Na⁺/H⁺ y otros transportadores de sodio a lo largo del nefrón⁷. La DA puede ser degradada a metabolitos inactivos por las enzimas mono aminoxidasa (MAO) y catecol-O-metil transferasa (COMT) en las células de los túbulos renales. A su vez, la desaminación por MAO es una de las principales vías metabólicas de la DA renal⁸. Asimismo, el riñón es uno de los órganos con mayor actividad de MAO (principalmente MAOA)⁹.

En estudios anteriores mostramos que MAO es la principal vía de metabolización de la DA en el TP, cuya actividad enzimática muestra un metabolismo desaminativo tónico de DA¹⁰. Por otro lado, la inhibición de COMT produce un incremento significativo en la excreción de sodio, la cual es inhibida por los antagonistas D1R y acompañada por la disminución en la actividad de NKA¹¹. El sistema dopaminérgico renal es más activo bajo condiciones de expansión de volumen^{12,13,14} y ante un incremento en la ingesta de sodio^{15,16}. La respuesta natriurética al aumento en la carga de sodio fue revertida al bloquear el D1R^{14,15}.

La excreción urinaria de DA puede ser usada como índice de producción renal. Numerosos estudios realizados en distintos grupos étnicos, han demostrado

que la excreción de DA en orina responde a la carga de sodio, esto ha sido observado en individuos sanos y en individuos hipertensos^{17,18}. Se le atribuyen dos defectos dopaminérgicos renales tanto a la hipertensión humana como a la generada en modelos experimentales, los que están involucrados en el desarrollo de esta patología, estos son: disminución de la producción de DA intrarrenal y defectos del D1R¹. A su vez, estudios realizados en ratones knockout para receptores dopaminérgicos, resultaron en el desarrollo de hipertensión y retención de sodio¹⁹.

Así, la actividad del sistema dopaminérgico renal contribuye a la homeostasis del balance de sodio, regulando el volumen del líquido extracelular y por ende la presión arterial.

El propósito del presente estudio es evaluar el comportamiento del sistema dopaminérgico renal y la homeostasis hidroelectrolítica, en respuesta al consumo crónico de dietas con distinto contenido de sodio.

Materiales y Métodos

Para realizar este estudio se utilizaron ratas Wistar machos, de peso corporal 250-350g, criadas en el bioterio del Instituto de Investigaciones Médicas A. Lanari y alimentadas ad libitum con alimentos balanceados (Cargill, Buenos Aires, Argentina), con libre acceso al agua de bebida y ciclo luz-oscuridad 12:12hs y temperatura de 24°C. Se siguieron las reglas del comité local para el cuidado de animales de experimentación.

Los animales fueron asignados en grupos específicos de acuerdo a la ingesta de sodio y tratamiento experimental:

1. Normosódico (NS, n=26): dieta estándar (NaCl 0.24%) y agua de bebida ad libitum
2. Bajo sodio (BS, n=6): dieta deficiente en sodio (Sodium Deficient Diet, Based on AIN-76A, código 960364, Rats & Mice; ICN Biomedicals) (NaCl 0.02%) y agua de bebida ad libitum
3. Hipersódica (HS, n=20): dieta estándar (NaCl 0.24%) y agua conteniendo NaCl 1% ad libitum.
4. NS, HS y BS más SCH 23390, antagonista específico D1R subcutáneo, últimos 3 días del estudio, en la mitad de los animales de cada grupo estudiado (n=26).

Todos los grupos se alojaron en jaulas metabólicas por 5 días para recolección de orina 24hs. Las muestras de orina se recolectaron en viales conteniendo 0.5ml de HCl 6N para evitar la degradación de las catecolaminas y sus metabolitos. En estas muestras el sodio urinario se determinó por fotometría de llama y

la diuresis por gravimetría.

La presión arterial sistólica (PAS) fue medida mediante una técnica indirecta que involucra la oclusión de la circulación en la cola de la rata con un manguito anular, en tanto que, la detección del pulso en el manguito es detectada utilizando un Fisiógrafo Mk III S (Narco Biosystem, Austin, TX, USA). La PAS considerada resulta de al menos 10 registros obtenidos a cada tiempo.

Luego de 5 días de colección urinaria, las ratas fueron anestesiadas con Fenobarbital sódico (20 mg/kg i.p.) y preparadas para determinar volumen de filtrado glomerular (VFG) y flujo plasmático renal (FPR). Seguidamente, se realizó una traqueotomía, se colocaron catéteres en la arteria carótida, vena yugular y vejiga. Se utilizaron cantidades suficientes de inulina (Inutest, Linz, Austria) para asegurar concentraciones plasmáticas de 0.2 mg/ml, la misma fue administrada en solución salina isotónica en infusión continua a una velocidad de 0.025 ml/min a través de la vena yugular por medio de una bomba Harvard n° 944. Se tomaron muestras blanco de sangre y orina y luego de 45 minutos de equilibrio se tomaron 3 muestras de orina recolectadas durante 30 minutos y tres muestras de sangre de 0.4 mL que fueron tomadas de la arteria carótida en la mitad de la colección de los períodos de orina. El volumen de las muestras de sangre y los fluidos perdidos durante la cirugía fueron reemplazados por las correspondientes cantidades de solución salina isotónica. La inulina plasmática y en orina fue determinada por el método de la antrona²⁰. El FPR se midió con Sodio y dopamina

Paraaminohipurato (PAH), administrando una cantidad suficiente para asegurar una concentración plasmática de 0.02 mg/ml, dicho estudio se realizó en forma simultánea con la inulina. La determinación de PAH se realizó por los métodos convencionales²¹. Posteriormente, los riñones fueron removidos quirúrgicamente, (n=20: NS=10, BS=5, HS=5) separando corteza y médula externa, en fragmentos de alrededor de 80 mg los cuales fueron homogeneizados y conservados a -70°C para la posterior determinación de las actividades de MAO y COMT.

El 4to grupo experimental recibió SCH 23390 (Sigma, St. Louis, MO, USA), antagonista específico de D1R, subcutáneo, los últimos 3 días del estudio, a dosis de 1mg/kg dividido en dos aplicaciones diarias.

Determinaciones Analíticas

Las catecolaminas fueron parcialmente purificadas por un proceso de extracción por alumina, separadas por

fase reversa con cromatografía líquida de alta presión y detección electroquímica (HPLC-ECD) utilizando una columna Zorbax SB-C18 (Agilent Technologies, USA) de 4.6 x 250mm. La recuperación por medio de la extracción con alumina fue en promedio 70-80% para la DA y 40% para el ácido 3,4- dihidroxifenilacético (DOPAC). Las concentraciones de catecolaminas en cada muestra fueron corregidas con el estándar interno, dihidroxibencilamina (DHBA). El límite de detección fue de 15pg/vol para cada catecolamina.

Determinación de la actividad de las enzimas

Las actividades de MAO y COMT fueron determinadas radiométricamente²².

La actividad de MAO (A+B) fue determinada en homogenatos de corteza y médula externa. La mezcla de la reacción formada por 20 µl de homogenato, 100µl de 100 mmol/L de buffer fosfato y 10 µl de [14C]-tiramina (actividad específica 58.9 mCi/mmol; NEM-DuPont), fue llevada a una concentración final de 80 µM. Luego de 30 minutos de incubación a 37°C, la reacción fue detenida con la adición de 100 µl de 2 N HCl. El producto formado fue extraído dentro de una mezcla de tolueno-etilacetato (1:1) y la radioactividad determinada mediante un contador de centelleo. La actividad fue expresada en nanomoles de sustrato metabolizado por miligramo de tejido por hora.

La actividad de COMT fue también determinada en homogenatos de corteza renal y médula externa. Alícuotas de los homogenatos fueron incubadas con una mezcla que contiene noradrenalina (concentración final 1mM) y [3H]-S-adenosilmetionina (actividad específica 15Ci/mmol; NEM-Dupont) (concentración final 100µM). El metabolito radioactivo formado, normetanefrina, fue extraído de una muestra de tolueno- alcohol isoamílico (7:3) y luego vuelto a extraer junto a 0.1 M HCl y la medición radioactiva determinada por contador de centelleo. La actividad fue expresada como picomoles de sustrato metabolizado por miligramo de tejido por hora.

Evaluación estadística

Los resultados, analizados con el programa Graph Pad Instant (San Diego, CA, USA), fueron expresados como media ± ESM de los valores para el número indicado de determinaciones. Para la comparación entre dos grupos se utilizó t de student. Cuando se compararon más de dos grupos se utilizó ANOVA con pruebas post hoc de Tuckey. Fue considerada como significativa una p<0.05. Cuando fue necesario se utilizó el coeficiente de correlación r de Pearson.

Resultados

La tabla 1 muestra la diuresis y natriuresis para todos los grupos estudiados. En el grupo NS los valores de ambas variables fueron semejantes a lo largo de los 5 días de estudio. En contraste, en las dietas con bajo sodio se observa una disminución significativa en la diuresis a partir del 2° día con respecto a NS cayendo aún más hacia el 5to día de estudio. En tanto que la excreción urinaria de sodio para BS disminuye significativamente a partir del 3er día, alcanzando al 5to día su valor más bajo comparado con NS.

En contraste, en el grupo que recibió dieta con alto contenido de sodio, observamos que tanto la diuresis como la natriuresis, fueron mayores a lo largo de todo el estudio comparado con el grupo NS.

El VFG mostró una tendencia a la disminución luego de la ingesta de dietas HS y una tendencia al aumento en dietas BS, con referencia a las NS; originándose, de esta manera, una diferencia significativa en el VFG del grupo BS respecto al grupo HS. No se observaron diferencias entre los grupos en los niveles plasmáticos de sodio y potasio, así como tampoco hay cambios significativos en la PAS (tabla 2).

	Días				
	1	2	3	4	5
<i>Diuresis ml/d/100gPC</i>					
NS (n=26)	3.69±0.20	3.85±0.26	3.89±0.26	3.45±0.21	3.32±0.11
BS (n=6)	3.31±0.09	2.59±0.22**	2.68±0.22+	2.43±0.32+	2.01±0.13***
HS (n=20)	11.00±0.70#	12.63±1.25#	12.40±2.2 #	11.14±0.48#	11.67±1.50#
<i>Natriuresis mEq/d/100gPC</i>					
NS (n=26)	0.06±0.01	0.05±0.01	0.06±0.01	0.07±0.02	0.06±0.01
BS (n=6)	0.07±0.02	0.04±0.01^	0.02±0.01x	0.02±0.01x	0.01±0.01x^^
HS (n=20)	3.15±0.43&	3.75±0.34&	3.51±0.62&	3.54±0.53&	3.98±0.44&

Los valores se expresan como media ± ESM
 * p<0.01 vs dial. ** p<0.001 vs dia 1 y p<0.03 vs dia 2. + p<0.01 vs NS x p<0.01 vs. NS.
 ^ p<0.03 vs dial y ^^ p<0.004 vs dia 1 # p<0.001 vs NS & p<0.001 vs NS

Tabla 1: Diuresis y natriuresis en ratas durante el consumo de dietas normosódica, hiposódica e hipersódica.

	P _{Na+} (mEq/L)	P _{K+} (mEq/L)	VFG (ml/min/100gPC)	FPR (ml/min/100gPC)	Fracción Filtración	PAS (mmHg)
NS	139.5±1.5	3.2±0.05	0.60±0.08	2.37±0.28	0.25±0.01	111.6±2.9
BS	140.5±1.2	3.8±0.21	0.69±0.06*	2.61±0.03	0.26±0.01	113.3±3.7
HS	142.3±1.9	3.7±0.36	0.49±0.02	2.13±0.30	0.23±0.02	94.3±2.5

Los valores se expresan como media ± ESM
 P_{Na+}: sodio plasmático; P_{K+}: potasio plasmático; VFG: volumen de filtrado glomerular; FPR: flujo plasmático renal;
 PAS: presión arterial sistólica.
 * p<0.05 vs hipersódica

Tabla 2: Electrolitos en plasma, parámetros hemodinámicos renales y sistémicos, en ratas con dietas normosódica, hiposódica e hipersódica.

Posteriormente se evaluó la actividad del sistema dopaminérgico renal en cada uno de los grupos estudiados (figura 1a).

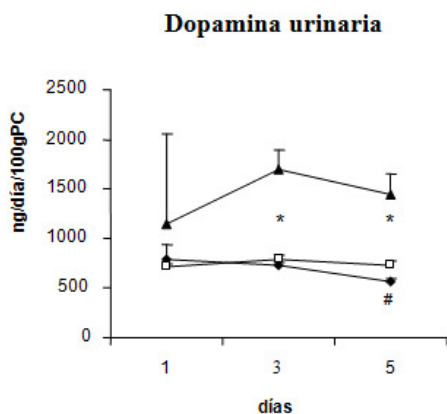


Figura 1a. Excreción urinaria de dopamina luego del consumo de dietas normosódicas (□), hiposódicas (◆), e hipersódicas (▲).

Los valores se expresan como media ± ESM

* p<0.01 HS vs. NS, # p<0.01 BS vs. NS

La excreción urinaria de dopamina al finalizar el estudio en el grupo BS, disminuye significativamente respecto al grupo NS. En contraste, en el grupo HS aumentó en forma significativa la excreción urinaria de dopamina respecto a NS. En respuesta al diferente contenido de sodio ingerido, los niveles de dopamina en la orina y la excreción urinaria de sodio muestran una correlación positiva y significativa, que pone en evidencia el incremento de la actividad dopaminérgica luego del aumento en la ingesta de sodio (figura 1b).

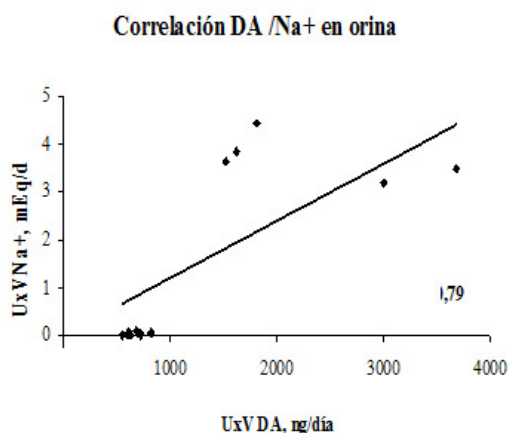


Figura 1b. Correlación entre excreción urinaria de dopamina y natriuresis.

r=0.79, p<0.05.

Por otro lado, la ingesta de dietas con bajo contenido de sodio no modifica la excreción urinaria de L-dopa, en tanto que el consumo crónico de dietas hipersódicas provocó que la excreción urinaria de L-dopa a lo largo del estudio sea mayor respecto al grupo NS. Los resultados obtenidos el día 5 fueron: 95.96 ± 17.6 vs 33.47 ± 2.9 ng/d/100g PC respectivamente, $p < 0.05$. El análisis de la relación DOPAC/DA, como medida indirecta de la actividad de MAO, mostró que la misma permanece sin cambios a lo largo del estudio en el grupo NS: 5.71 ± 0.27 , 5.52 ± 0.01 , 5.07 ± 0.11 , 5.12 ± 0.57 y 5.3 ± 1.34 del 1er día al 5to día respectivamente; por otro lado el grupo BS mostró durante los mismos días las siguientes relaciones DOPAC/DA: 2.22 ± 0.65 , 3.56 ± 0.44 , 4.13 ± 0.06 , 4.13 ± 0.3 y 4.08 ± 0.36 observándose que dicha relación aumentó de manera significativa desde el 3° día de dieta hiposódica ($p < 0.05$).

Asimismo en el grupo HS, la relación DOPAC/DA disminuyó significativamente al finalizar el estudio de 5.31 ± 1.8 a $0.18 \pm .22$, días 1 y 5 respectivamente, $p < 0.05$.

Al finalizar el período de estudio, se procedió a determinar en homogenatos de corteza y médula renal externa, la actividad de las enzimas que degradan la dopamina. Así, se pudo observar que el consumo de dietas con bajo contenido de sodio, aumentó la actividad de MAO en la corteza renal con respecto al grupo NS, mientras que la actividad en médula permaneció sin cambios. En tanto, COMT muestra un aumento significativo de su actividad en corteza en el grupo BS, mientras que en médula disminuye (figura 2).

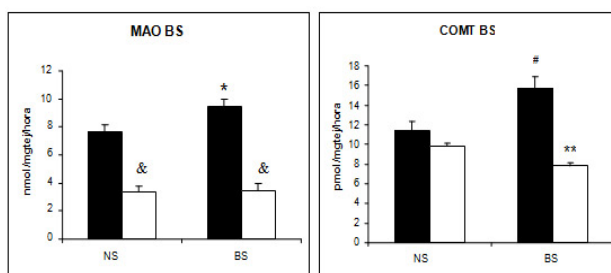


Figura 2. Actividad de MAO y COMT en corteza (columnas negras) y médula (columnas vacías) luego del consumo de dietas hiposódicas.

Los valores se expresan como media ± ESM

* p<0.05 vs. NS. # p<0.05 vs. corteza NS. ** p<0.01 vs. médula NS.

& p<0.01 vs. corteza, en ambos grupos.

En el grupo HS, la actividad de MAO disminuye en corteza respecto al grupo NS, no se observaron cambios en la actividad de MAO en médula, para ninguno de los dos grupos. En conjunto, la actividad de MAO muestra que independientemente del contenido de sodio en la dieta, la actividad de la enzima es mayor en corteza que en médula, lo que indicaría que MAO tiene un patrón de actividad predominante en corteza renal.

La actividad de COMT no muestra diferencias significativas entre la dieta HS y el grupo NS, sin embargo puede observarse una menor actividad en la médula del grupo HS respecto a la corteza del mismo grupo, situación que no sucede en el grupo NS (figura 3).

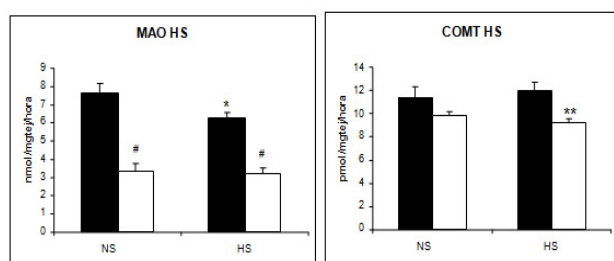


Figura 3. Actividad de MAO y COMT en corteza (columnas negras) y médula (columnas vacías) luego del consumo de dietas hipersódicas.

Los valores se expresan como media ± ESM

* p<0.05 vs. NS. # p<0.01 vs. Corteza, en ambos grupos.

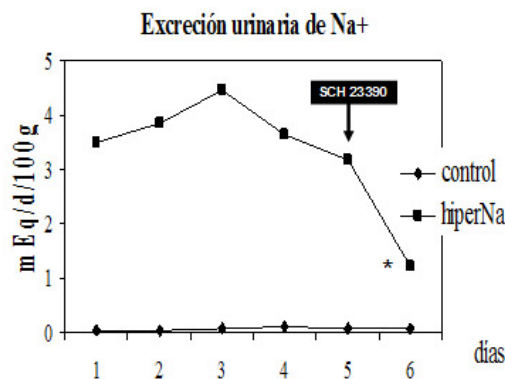
** p<0.01 vs. corteza HS

Para el grupo que recibió SCH 23390, antagonista de receptores D1, la excreción urinaria de sodio disminuyó en los grupos NS (datos no mostrados) y HS (figura 4), en tanto que en el grupo BS, no hubo cambios en la natriuresis. Asimismo, en el grupo BS, luego del tratamiento con SCH 23390 la PAS aumenta de 113.3 ± 3.7 a 132.1 ± 3.4 mmHg, $p < 0.01$. En el resto de los grupos la PAS no se modificó de manera significativa: grupo NS 111.6 ± 2.9 vs 101.9 ± 4.2 y grupo HS 94.3 ± 2.5 vs 94.6 ± 1.7 pre y post tratamiento respectivamente.

Figura 4. Excreción urinaria de sodio con dietas hipersódicas antes y después de la administración de SCH 23390.

Los valores se expresan como media ± ESM

• p<0.01 vs pre SCH 23390



Discusión

La importancia de la dopamina renal como hormona natriurética se basa en su capacidad para inhibir el transporte de sodio en la mayor parte del sistema tubular de la nefrona²³. En acuerdo con esto las dietas hipersódicas mostraron un aumento en la excreción urinaria de DA y en la excreción de sodio. El efecto natriurético de la DA es más pronunciado luego del aumento en la ingesta de sodio y prácticamente indetectable luego de la restricción salina. Existe de este modo, una correlación positiva entre la DA urinaria y la excreción de sodio. Asimismo, la administración de SCH 23390, provocó una importante reducción en la excreción urinaria de sodio en animales HS, apoyando el concepto que D1R participa mediando los efectos natriuréticos de la DA.

En las células del TP, la L-dopa es rápidamente decarboxilada a DA por la DAA, cuya actividad es regulada en más con dietas altas en sodio²⁴. En los grupos que recibieron dieta hipersódica, se observó un incremento en la excreción urinaria de L-dopa; este evento podría ser precedido por un aumento en la oferta de L-dopa al TP que provocaría una mayor síntesis tubular de DA y esto redundaría en diuresis y natriuresis.

Sumado a los cambios en la dinámica del sistema dopaminérgico para los grupos HS y BS, también observamos que en las dietas HS, el VFG tiende a disminuir con respecto a dietas BS. Esto podría ser explicado en parte, por el aumento en la carga filtrada de sodio a los segmentos distales de la nefrona, que activaría el mecanismo de feed-back tubuloglomerular, disminuyendo por lo tanto, el filtrado, quizás como medio para evitar la pérdida excesiva de sodio y agua por la orina.

En estudios anteriores²⁵, se ha demostrado que la restricción de sodio incrementa la actividad de MAO y disminuye la DA urinaria, en tanto que, el bloqueo de AT1R normaliza la actividad de MAO y la excre-

ción urinaria de DA. La desaminación de la DA por MAO en las células tubulares y en segmentos tubulares aislados, es un proceso tiempo dependiente que ocurre tempranamente luego de la descarboxilación de L-dopa, siendo de esta forma MAO, la ruta más importante en el metabolismo de la DA 7. En nuestros estudios, la actividad de MAO mostró ser mayor en corteza que en médula renal independientemente de las dietas, sugiriendo un nivel tónico de actividad enzimática, en concordancia con lo observado para MAO en segmentos microdisecados de la nefrona 10. Así, MAO muestra modificaciones especialmente en corteza renal disminuyendo o aumentando su actividad en respuesta al elevado o bajo contenido de sodio en la dieta, respectivamente; pudiendo cumplir un papel regulatorio en la disponibilidad de dopamina a los segmentos medulares del riñón. En este aspecto, la inhibición farmacológica de COMT es acompañada por un incremento en la natriuresis 11,26. En nuestros estudios, las dietas hiperosmóticas disminuyeron la actividad de COMT en médula, lo cual coincidió con un importante efecto natriurético. Sin embargo el papel de COMT frente a dietas hiposódicas no parece ser claro. En suma, la acción coordinada de ambas enzimas, donde el sodio podría cumplir un rol en su regulación, modularía la oferta de dopamina intrarenal disponible para ejercer sus funciones diuréticas y natriuréticas 27.

Finalmente, la PAS se mantuvo sin cambios a pesar de las variaciones de sodio en la dieta. Sin embargo, la administración de SCH 23390, produjo un aumento significativo de la PAS en el grupo con dieta hiposódica. Se podría especular que, este cambio se debería a una interacción entre el D1R y el receptor AT1 de la angiotensina 28, los cuales forman unidades heterodiméricas que se antagonizan entre sí 29.

En conclusión, este diseño experimental muestra que los cambios en la ingesta de sodio modifican la actividad del sistema dopaminérgico renal, y que éste incrementa su potencial diurético y natriurético ante el aumento en la oferta de sodio, efectos indispensables para el mantenimiento del balance hidrosalino. La síntesis proximal de dopamina sería rápidamente modulada por MAO, la cual condicionaría la disponibilidad de DA para COMT regulando el efecto natriurético final de la dopamina, mediado por el receptor D1. La disponibilidad de la dopamina intrarenal sería entonces regulada por las enzimas que la metabolizan y estos cambios en el tono dopaminérgico renal exhiben una correlación positiva en respuesta a modificaciones en la ingesta de sodio.

De esta forma, el sistema dopaminérgico renal resulta ser un requisito indispensable para el mantenimiento de la homeostasis hidroelectrolítica y los niveles normales de presión arterial, lo que nos permite considerar a los factores responsables de dicha regulación, como potenciales blancos para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas en condiciones de retención de sal e hipertensión.

Bibliografía

1. Carey RM, Fólter RA, Jose PA. The renal dopamine system: paracrine regulator of sodium homeostasis and blood pressure. *Hypertension* 2001; 38:297-302.
2. Lee MR. Dopamine and the kidney: 10 years on. *Clin Sci*. 1993; 84:357-375.
3. Soares da-Silva P, Fernández MH, Pintado-O PC. Cell inward transport of L-DOPA and 3-O-methyl-L-DOPA in rat renal tubules. *Br J Pharmacol*. 1994; 112(2):611-615.
4. Worth DP, Harvey JN, Brown, Worrall A, Lee MR. Domperidone treatment in man inhibits the fall in plasma renin activity induced by intravenous γ -L-glutamyl-L-dopa. *Br J Clin Pharmacol*. 1986; 21:497-502
5. Amenta F, Barili P, Bronzetti E, Ricci A. Dopamine D1-like receptor subtypes in the rat kidney: a microanatomical study. *Clin. Exp. Hypertens*. 1999; 21(1-2):17-23.
6. José PA, Asico LD, Eisner GM, Pocchiari F, Semeraro C, Fólter RA. Effects of costimulation of dopamine D1-andD2-like receptor on renal function. *Am. J. Physiol*. 1998; 275(4):R986-94.
7. Aperia AC. Intrarenal dopamine: a key signal in the interactive regulation of sodium metabolism. *Annu Rev Physiol* 2000; 62:621-47.
8. Guimaraes JT, Soares-da-Silva P. The activity of MAO A and B in rat renal cells and tubules. *Life Sci*. 1998; 62(8):727-37.
9. Fernández MH & Soares-da-Silva P. Type A and B monoamine oxidase activities in the human and rat kidney. *Acta Physiol Scand* 1992;145, 363-367.
10. Ibarra F, Armando I, Nowicki S, Carranza A, De Luca Sarobe V, Arrizurieta E, Barontini M. Dopamine is metabolised by different enzymes along the rat nephron. *Pflügers Archiv* 2005; 450:185-91.
11. Ekl of A-C, Holt back U, Sunde of M, Chen S, Aperia A. Inhibition of COMT induces dopamine -dependent natriuresis and inhibition of proximal tubular Na⁺, K⁺-ATPase. *Kidney Int*. 1997; 52:742-47.
12. De Luca Sarobe V, Di Ciano L, Carranza A, Levin G, Arrizurieta E, Ibarra FR. Patterns of renal dopamine release to regulate diuresis and natriuresis during volume expansion. Role of renal monoamine-oxidase. *Medicina (Buenos Aires)* 2010; 70:60-64.
13. Costa ML, Loria A, Marchetti M, Balaszczuk AM, Arranz CT. Effects of dopamine and nitric oxide on arterial pressure and renal function in volume expansion. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2002; 29:772-776.
14. Vyas SJ, Jadhav AL, Eichberg J, Lokhandwala MF. Dopamine receptor-mediate activation of phospholipase C is associated with natriuresis during high salt intake. *Am J Physiol* 1992; 262:F494-F498.

15. Hansell P, Fasching A. The effect of dopamine receptor blockade on natriuresis is dependent on the degree of hypervolemia.
16. Wang ZQ, Siragy HM, Földes RA, Carey RM. Intrarenal dopamine production and distribution in the rat: physiological control of sodium excretion. *Hypertension* 1997; 29:228-34.
17. Critchley JAJH, Lee MR. Salt-sensitive hypertension in West Africans: an uncoupling of the renal sodium-dopamine relation. *Lancet* 1986;ii:460.
18. Sowers JR, Zemel MB, Zemel P, Beck FWJ, Walsh MF, Zawada ET. Salt sensitivity in blacks: Salt intake and natriuretic substances. *Hypertension* 1988;12:485-90.
19. Zeng C, Armando I, Luo Y, Eisner GM, Felder RA, Jose PA. Dysregulation of dopamine-dependent mechanisms as a determinant of hypertension: studies in dopamine receptor knockout mice. *Am J Physiol Circ.* 2008; 294:H551-H569.
20. Young MK Jr, Raisz LG. An anthrone procedure for determination of inulin in biological fluids. *Proc Soc Exp Biol Med* 1952; 80:771-774.
- 21a. Smith, H.W., Finkelstein, N., Aliminos, L., Crawford, B. & Graber, M. The renal clearances of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dog and man. *J Clin Invest* 1945; 24:388.
22. Armando I, Nowicki S, Aguirre J, Barontini M. A decreased uptake of dopa results in defective renal dopamine production in aged rats. *Am J Physiol* 1995; 268:F1087-F1092.
23. Aperia A, Holtback U, Syren M-L, Svensson L-B, Fryckstedt J, Greengard P. Activation/deactivation of renal Na⁺, K⁺-ATPase: A final common pathway for regulation of natriuresis. *FASEB J.* 1994; 8:436-39.
24. Seri I, Kone BC, Gullans SR, Aperia A, Brenner BM, Ballermann BJ. Influence of Na⁺ intake on dopamine-induced inhibition of renal cortical Na⁺, K⁺ ATPase. *Am. J. Physiol.* 1990; 258:F52-60.
25. De Luca Sarobe V, Nowicki S, Carranza A, Levin G, Barontini M, Arrizurieta E, Ibarra F. Low sodium intake induces an increase in renal monoamine oxidase activity in the rat. Involvement of an angiotensin II dependent mechanism. *Acta Physiol Scand* 2005; 185, 1-7.
26. Odland C, Göransson V, Reenilä I, Hansell P. Regulation of dopamine-induced natriuresis by the dopamine-metabolizing enzyme catechol-O-methyltransferase. *Exp Nephrol* 1999; 7:314-322.
27. Ibarra FR, De Luca Sarobe VA. Modulación de niveles endógenos de dopamina renal. *Medicina (Buenos Aires)* 2006; 66: 81-5.
28. Crambert S, Holtbäck U, Eklöf A-C, Di Ciano LA, Arrizurieta EE, Ibarra FR, Aperia A. Heterodímeros de AT1R-D1R. Rol en la hipertensión renal. LIV Reunión Científica Anual SAIC. *Medicina (Buenos Aires)* 2009; 69: 262.
29. Farah K, Špicarová Z, Zelenin S, Holtbäck U, Scott L, Aperia A. Negative reciprocity between angiotensin II type 1 and dopamine D1 receptors in rat renal proximal tubule cells. *Am J Physiol.* 2008; 295:F1110-F1116.

Recibido en su forma original: 17 de septiembre de 2010

En su forma corregida: 04 de octubre de 2010

Aceptación Final: 13 de octubre de 2010

Dra. Verónica De Luca Sarobe

Laboratorio de Riñón, Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo

Lanari, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

Avda. Combatientes de Malvinas 3150 –C1427ARO- Ciudad de Buenos

Aires –Argentina

e-mail:eldisi@yahoo.com.ar