

Distribución de la vasopresina, la tirosina-hidroxilasa y la dopamina- β hidroxilasa en los núcleos supraóptico y arcuato. Un estudio comparativo entre las cabras de costa y la de corral

Maria Soto-Viera, Cecilia Guzmán-Bistone, Natalia Évora-Soto, Anna Redondo-Prat, Leila Ramos-Casquero, Clara Sánchez-González, Maria del Mar Ramón-Barríos, Olivia González-León, Marta Pérez-Vadillo, Manuela Castañeyra-Martín.

Departamento de Biotecnología, Instituto de Investigación y Ciencias de Puerto del Rosario, Fuerteventura, Islas Canarias.

Resumen

Distribución de la vasopresina, la tirosina-hidroxilasa y la dopamina- β hidroxilasa en los núcleos supraóptico y arcuato. Un estudio comparativo entre las cabras de costa y la de corral.

El núcleo supraóptico (SPO) participa en el balance hídrico a través de la secreción de vasopresina (A-V), también la A-V parece modular el control reflejo cardiovascular del sistema nervioso simpático. La tirosina-hidroxilasa (TH) y la dopamina β -hidroxilasa (DBH) están presentes en las neuronas catecolaminérgicas localizadas en los núcleos hipotalámicos como: el SPO, el núcleo arcuato (NA) y la eminencia media (EM), y en áreas cerebrales relacionadas con la regulación cardiovascular. El propósito del presente trabajo es estudiar la vasopresina y catecolaminas en el hipotálamo de la cabra "majorera" (Variación de la *Capra hircus*), comparando la cabra de corral con la cabra de costa, una cabra que viene en condiciones extremas del clima árido de la zona marítima de Fuerteventura. Hemos usado cabras adultas machos y hembras divididas en dos grupos: un grupo de corral (bien alimentadas) y un grupo de costa (alimentada de forma natural en el clima árido de la costa), para el estudio inmunocitoquímico se usaron anticuerpos contra la A-V, TH y DBH. Hemos encontrado que la vasopresina-ir (ADH) estaba principalmente incrementada en el SPO de la cabra de costa comparándola con la de corral. La DBH-ir y la TH-ir estaba aumentadas en el NA, el SPO y la EM en la cabra de costa al compararla con la de corral. Podríamos concluir que la disminución de de ADH, DBH y TH en el hipotálamo de la cabra de costa podría ser la expresión de retención de agua, ya que este tipo de cabras la bebida de agua diaria es escasa.

Palabras clave

Vasopresina, TH, DBH, núcleo supraóptico, núcleo arcuato, cabra.

Summary

Vasopressin, tyrosine-hydroxylase and dopamine β -hydroxylase distribution in supraoptic and arcuate nucleus. A comparative study between farmer and cost goat

The supraoptic nucleus (SPO) participates in the salt-water balance through of vasopressin (A-V) secretion, also the A-V appears to modulate the cardiovascular reflex control of the sympathetic nervous system. The tyrosine-hydroxylase (TH) and dopamine β -hydroxylase (DBH) are present in the catecholaminergic neurons located in the hypothalamus nucleus such as: the SPO. The arcuate nucleus (NA), and in brain areas related with the vascular regulation. The purpose of the present work is to study vasopressin and catecholamines in the hypothalamus of the "majorera" goat (*Capra hircus* variation), comparing the farmer goat with cost goat, a goat that live in extreme condition of the arid climate in Fuerteventura island sea size. We have used adult male and female goats divided in two groups: a farmer group (well feeding) and a cost groups (feeding in natural way in the arid climate of the cost), for immunocytochemistry study antibodies against the A-V, TH, DBH were used. We have found the vasopressin-ir (ADH) was mainly increased in SPO of the farmer goat comparing to cost goat. DBH-ir and TH-ir were also augmented in the NA, the SPO and the EM of the cost goat comparing to the farmer goat. We could conclude that the increases of ADH, DBH and TH in the hypothalamus of the cost goat could be the expression of the water retention, since in this kind of goat the daily drinking water is scarce.

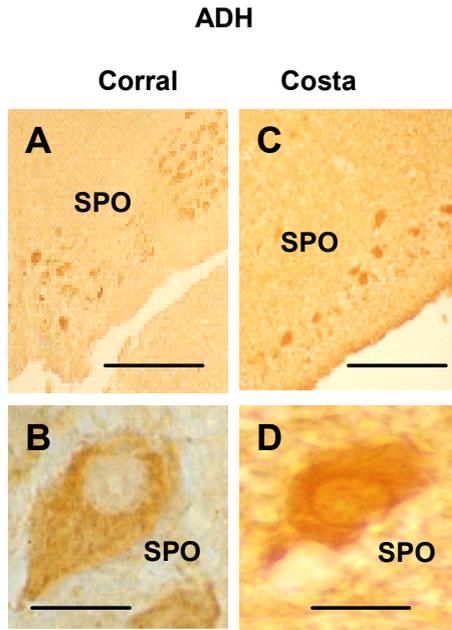
Key words

Vasopressin, TH, DBH, supraoptic nucleus, arcuate nucleus, goat.

Introducción

La hormona vasopresina es conocida por sus efectos presores y antidiuréticos, es sintetizada principalmente en las neuronas magnocelulares del núcleo supraóptico y otras estructuras hipotalámicas y la neurohipófisis [7,10]. El núcleo supraóptico participa en el balance hídrico corporal mediante la secreción de vasopresina, también la vasopresina parece modular el control cardiovascular reflejo del sistema nervioso ortosimpático [1,3,6]. La tirosina-hidroxilasa y la dopamina β -hidroxilasa están presentes en las neuronas catecolaminérgicas localizadas en el hipotálamo y áreas cerebrales relacionadas con la regulación cardiovascular [7]. La

Fig. 1



SO= núcleos supraóptico
 Barra: A y C= 250µm,
 B, D= 30 µm

secreción de vasopresina por el núcleo supraóptico es controlada, al menos en parte, por estímulos angiotensinérgicos que provienen del órgano subfornical [4]. El propósito del presente trabajo es estudiar la expresión de la vasopresina y ciertas catecolaminas en el hipotálamo de la cabra “majorera” (variación *Capra hircus*), comparando la cabra de corral con la cabra que vive en condiciones extremas de bebida de clima árido en la costa de la isla de Fuerteventura

Material y métodos

Hemos usado un total de seis cabras adultas hembras y machos divididas en dos grupos: un grupo formado por tres de cabras de corral, bien alimentadas, dos machos una hembra 4, 5 y 3 años de respectivamente y el grupo de cabras de costa formado por tres cabras, alimentadas de forma natural en el clima árido de la costa, de sexo y edad similares a lo de la cabra de corral. Los cerebros se fijaron por inmersión en formol al 20%, se tallaron los hipotálamos y se postfijaron en bouin durante 24 horas, y por ultimo se deshidrataron y se incluyeron en parafina. Los hipotálamos se cortaron en 4 series paralelas (A,B,C,D) de 10 µm de espesor, la serie A se tiñó con el método de Klüver-Barrera y el resto de las series se uso para el estudio inmunohistoquímico. Los cortes se incubaron durante 12h, a temperatura ambiente con los anticuerpos primarios (anti-TH a 1:8000, anti-DBH a 1:1000 y anti-A-V (1:2000). Después de los lavados en TBS y se incubaron con el anticuerpo secundario biotinilado (Goat anti-rabbit/mouse, DAKO) a una dilución de 1:100 durante 30 min., se lavaron con TBS y se incubaron en una solución a 1:100 de Streptavidina/Peroxidasa

biotinilada (Kit ABC DAKO) 30 min. Por ultimo se revelaron con una solución de TBS con 0,05 % de 3-3' diaminobenzidina (DAB, Sigma) a pH= 7.5.

Resultados

Vasopresina

En el núcleo supraóptico se han observado gran cantidad de neuronas que contiene vasopresina inmunoreactiva (ir) tanto en la cabra de costa como la de corral, estando su intensidad ligeramente incrementada en la cabra de corral (Fig.1). Un número más pequeño de células y fibras vasopresinérgicas se han encontrado en la eminencia media mayormente concentradas en la zona palizada interna y unas pocas fibras en la zona externa de la eminencia media, al comparar la cabra de corral con la de costa parece que hay un ligero incremento en la intensidad de la reacción la cabra de costa (Fig. 2 A,B,E,F). En el núcleo arcuato se aprecia también algunas neuronas y fibras vasopresina-ir positivas pero sin diferencias entre ambos grupos de cabras (Fig. 2 A,B,C,D).

Dopamina-β-hidroxilasa

La DBH-ir se encuentra claramente distribuida en neuronas tanto en el núcleo arcuato como en el núcleo supraóptico, así como en algunas fibras de la eminencia media pero la presencia en sus células es escasa (Fig.3). Al comparar la cabra de corral con la cabra de costa no se observan variaciones en la EM pero si un ligero incremento de la DBH-ir en las neuronas del NA (Fig.3 C,D) y un importante aumento en la neuronas del SO en la cabra de costa con respecto a la de corral (Fig.3 E,F,G,H).

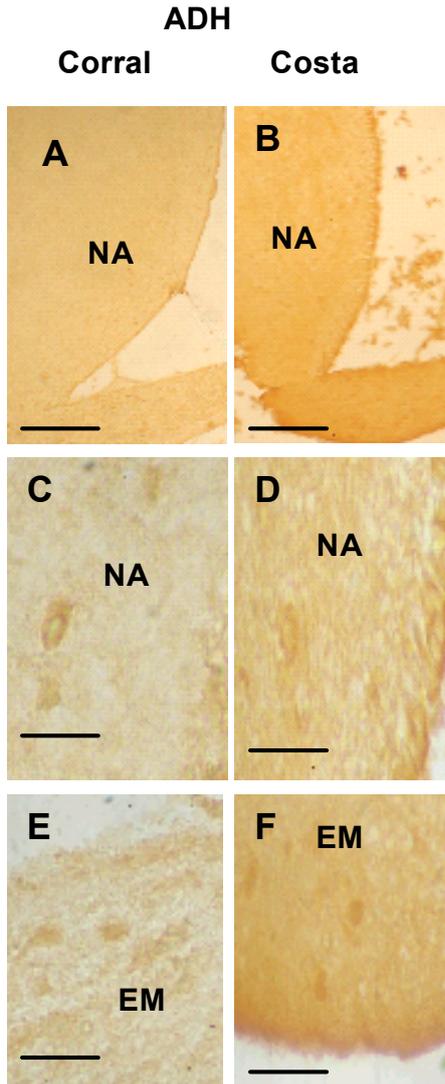
Tirosina-hidroxilasa

La TH-ir se encontró en fibras y algunas células de la eminencia media y en el núcleo arcuato, observándose un claro incremento del material inmunoreactivo en el NA un aumento ligero la zona interna de la EM en la cabra de costa con respecto a la de corral (Fig.4). La TH-ir también se observó claramente en otras áreas diencefálicas, concretamente en neuronas y fibras de la Zona inserta (Fig.5), no apreciándose variaciones al comparar la cabra de costa con la de corral.

Discusión

Escasos son los trabajos que describen la presencia de material inmunoreactivo para la TH y la DBH en el citoplasma de las neuronas de la parte ventrolateral del hipotálamo en especies distintas a los animales usados para investigación (rata, ratón, etc.). Así, se ha descrito TH y DBH concretamente en la parte retroquiasmática del núcleo supraóptico del hipotálamo de bovinos y porcinos, donde también se describe alguna neurona marcada con ADH y oxitocina. La mayor cantidad de neuronas conteniendo vasopresina y oxitocina se observan en la parte más importante del núcleo supraóptico, pero

ambas partes del NSO contienen fibras y



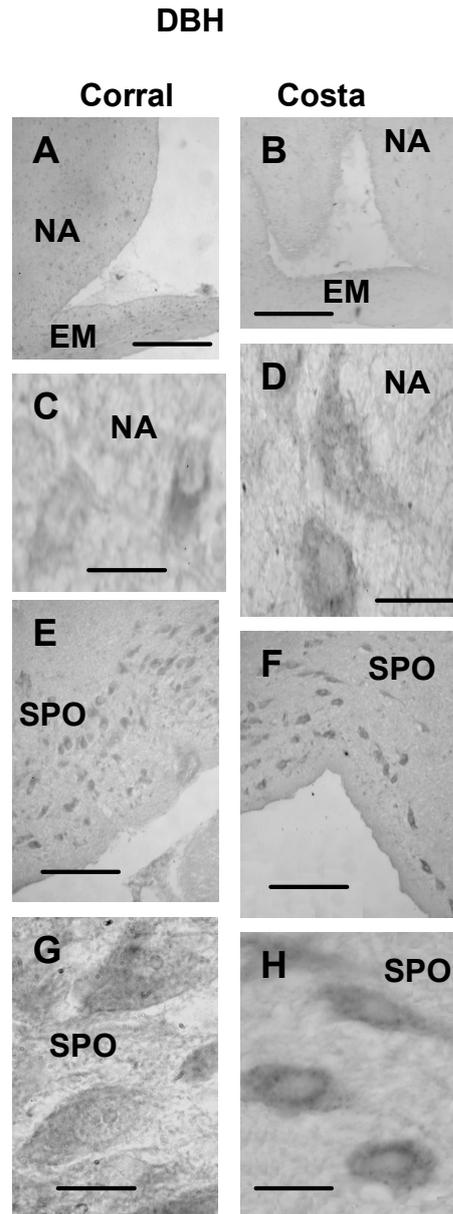
NA= núcleo arcuato
EM= eminencia media
 Barra 250µm A, B
 Barra 80µm C,D,E,F

Fig.2

varicosidades DBH y TH positivas [5]. En nuestros resultados, hemos encontrado que la vasopresina y la tirosina-hidroxilasa tienen una distribución muy parecida a la descrita en otros mamíferos, aunque en el núcleo arcuato la tirosina-hidroxilasa es menos manifiesta que en otros animales, [2,4,5]. Comparando en los dos grupos de cabras la expresión los anticuerpos contra la vasopresina, la tirosina-hidroxilasa y la dopamina-β-hidroxilasa, la cabra de corral en general mostró un incremento del material inmunoreactivo para los tres anticuerpos estudiados, así la ADH estaba principalmente incrementado en SOP y la TH en el NA y la EM y la DBH en el NA y el SOP. En cuanto al estudio de la tirosina-hidroxilasa y la dopamina-β-hidroxilasa y la vasopresina, hay muy pocos trabajos realizados en el cerebro de cabra, solamente en la bibliografía se

encuentra algunos trabajos relacionado la ADH, adrenalina y noradrenalina en el plasma de cabra en ciertas condiciones de hipoxia o cierto tipos de estrés [8,9].

Podemos concluir que el incremento de material inmunoreactivo para la vasopresina, de la tirosina-hidroxilasa y la dopamina-β-hidroxilasa en el hipotálamo de los animales de costa podría ser debido a una retención de agua, ya que en este tipo de cabra la ingesta de agua diaria es escasa y muy salobre



Barra: A,B = 259 µm
 C,D,G,H= 60 µm
 E,F= 150 µm

Fig.3

Agradecimientos

Este trabajo ha sido subvencionado por el proyecto INIPRO. Referencia: N 04/07

Bibliografía

1. Abrão Saad W, Antonio De Arruda Camargo L, Sérgio Cerri P, Simões S, Abrão Saad W, Garcia G, Izabel Gutierrez L, Guarda I, Saad Guarda R. Influence of arginine vasopressin receptors and angiotensin receptor subtypes on the water intake and arterial blood pressure induced by vasopressin injected into the lateral septal area of the rat. *Auton Neurosci.* 2004;111(1):66-70.

2. Alexander N, Morris M. Effects of chronic sinoaortic denervation on central vasopressin and catecholamine systems. *Am J Physiol.* 1988; 255:R768-73.

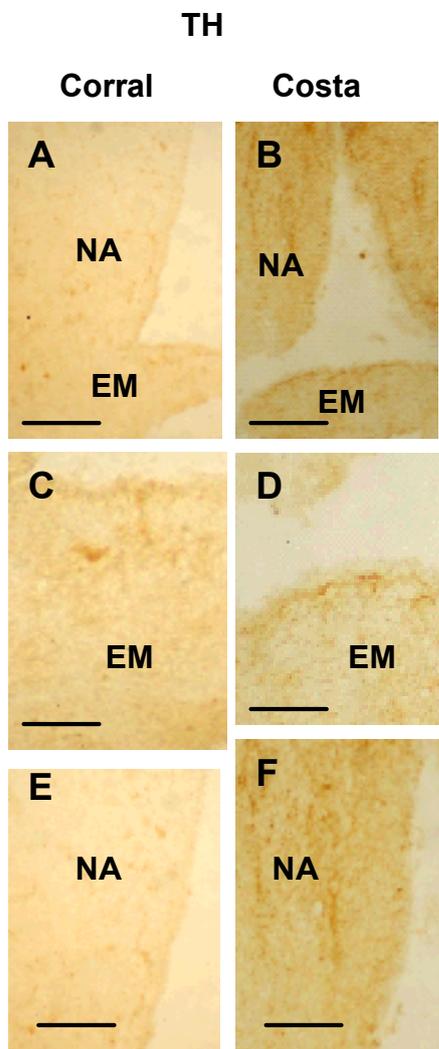
3. BraLeshin LS, Kraeling RR, Kiser TE, Barb CR, Rampacek GB. Catecholaminergic region A15 in the bovine and porcine hypothalamus. *Res Bull.* 1995;37(4):351-8.

4. Carmona-Calero EM, Perez-Gonzalez H, Martinez-Peña-Valenzuela I, Gonzalez-Marrero I, Perez-Garcia C G, Marrero-Gordillo N, Ormazabal-Ramos C, Castañeyra-Perdomo A, Ferres-Torres R. Effect of the arterial hypertension and captopril treatment on the angiotensin II content in the subfornical organ. A study in SHR rats. *Histol Histopathol* 2005; 20: 135-138.

5. Leshin LS, Kraeling RR, Kiser TE, Barb CR, Rampacek GB. Catecholaminergic region A15 in the bovine and porcine hypothalamus. *Brain Res Bull.* 1995; 37(4):351-8.

6. Moore RY, Card JP Neurotransmitter histochemistry: comparison of fluorescence and immunohistochemical methods *Methods Enzymol.* 1983;103:619-30.

7. Panayotacopoulou MT, Malidelis YI, Fliers E, Bouras C, Ravid R, Swaab DF Neuroendocrinology. Increased expression of tyrosine hydroxylase immunoreactivity in paraventricular and supraoptic neurons in illnesses with prolonged osmotic or nonosmotic stimulation of vasopressin release. 2002; 76(4):254-66.



Barra: A,B = 250 µm
C,D,E,F= 100 µm

Fig. 4

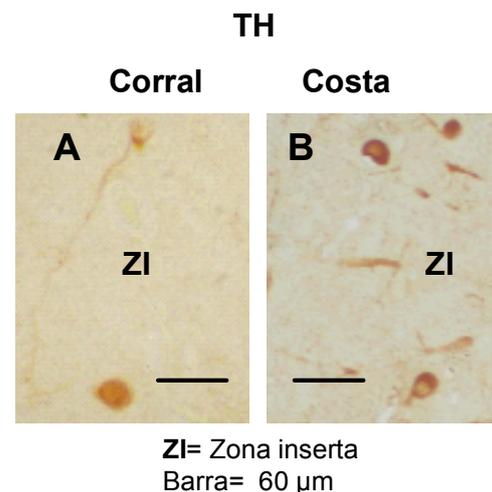


Fig.5

8. Sameshima H, Ikenoue T, Kamitomo M, Sakamoto H. Vasopressin and catecholamine responses to 24-hour, steady-state hypoxemia in fetal goats. *J Matern Fetal Med.* 1996;5(5):262

9. Sameshima H, Tanaka S, Kamitomo M, Ikenoue T, Sakamoto H . Magnesium sulfate and fetal plasma concentrations of epinephrine, norepinephrine, and vasopressin in response to acute hypoxemia in goats J Soc Gynecol Investig. 2000;7(6):328-32.
10. Stricker EM, Huang W, Sved AF. Early osmoregulatory signals in the control of water intake and neurohypophyseal hormone secretion. *Physiol Behav.* 2002; 76(3):415-21