

Papel funcional de los subtipos de receptores para angiotensina II en el control hidromineral y en la facilitación de la actividad simpática

*Anita Israel, y **María Cierco,

*Facultad de Farmacia, Laboratorio de Neuropéptidos, Universidad Central de Venezuela. **Facultad de Medicina, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda, Coro-Venezuela

RESUMEN

Se ha establecido la existencia del Sistema Renina-Angiotensina (SRA) cerebral. La presencia en el cerebro de todos los componentes del SRA sugiere un papel funcional del mismo en la regulación hidromineral y en el control de la presión arterial.

La estimulación del SRA cerebral, mediante la administración central de renina (R) o de angiotensina II (ANG), produce un incremento en la conducta estereotipada de bebida y en la excreción urinaria de sodio, así como una reducción en el volumen urinario. En el SNC existen dos subtipos de receptores para ANG, el AT₁ y el AT₂. Se evaluó la participación de los mismos en los efectos renales secundarios a la administración central de renina (R). El pretratamiento central con el antagonista del receptor AT₁, losartan, o del AT₂, el PD 123319, demostró la participación del receptor AT₁ en la modulación de la secreción de vasopresina y de ambos subtipos de receptores en las acciones dipsogénicas y natriuréticas de la ANG. Se estudió la participación de los subtipos de receptores para ANG en la

facilitación simpática inducida por la ANG, empleando el estímulo eléctrico plantar (EEP), como modelo experimental que estimula la actividad del eje simpatoadrenal y que se refleja en incrementos de la frecuencia cardíaca (FC) y de la presión arterial media (PAM). El bloqueo periférico del receptor AT₁ con losartan, inhibió el incremento de la PAM inducida por EEP, sin afectar el aumento de la FC. El bloqueo del receptor AT₂ con PD 123319 no alteró la respuesta hemodinámica al EEP. Estos hallazgos indican la participación del receptor AT₁ en la acción facilitatoria de la actividad simpática secundaria al EEP. La falla del losartan en inducir bloqueo del incremento de la PAM producido por la administración exógena de norepinefrina sugiere la contribución de los receptores AT₁ presinápticos en la acción facilitatoria de la ANG. El losartan no sólo inhibió el aumento de la PAM por EEP, sino que produjo un efecto hipotensor marcado. La administración periférica conjunta de losartan y PD 123319 eliminó este efecto hipotensor del losartan, lo que sugiere un papel del receptor AT₂ en la vasodilatación inducida por ANG.

Palabras claves:

Losartan, PD 123319, Natriuresis, Dipsogenia, Antidiuresis, Estrés plantar.

El sistema renina angiotensina (SRA) es considerado en la actualidad como uno de los sistemas hormonales más importantes que participan en la regulación de la presión arterial y del balance de los fluidos y electrolitos. La administración exógena de renina (R) o de angiotensina II (ANG) dentro del sistema nervioso central (SNC) afecta marcadamente el estado de hidratación corporal. En efecto, la infusión de ANG a ratas conscientes incrementa la ingesta de agua, la excreción de sodio y disminuye la concentración plasmática de sodio y el volumen urinario (Brooks y Malvin, 1979). Esto ha sugerido que el SRA cerebral se encuentra relacionado en forma recíproca con el SRA renal y por lo tanto defiende al organismo contra los estados de hipernatremia. El mecanismo del efecto natriurético inducido por la administración central de R o de ANG no ha sido establecido hasta el presente.

La ANG es un péptido circulante que ejerce algunas de sus acciones a través de la estimulación de receptores cerebrales accesibles desde la circulación (Dzau y Pratt, 1986; Sealey y Laragh, 1990). Se han identificado receptores específicos de alta afinidad para la ANG en áreas localizadas del SNC, observándose las mayores concentraciones en regiones tales como el órgano subfornical (OSF), núcleo mediano, el septúm, el núcleo motor dorsal del vago, el área postrema, el núcleo del tracto solitario (NTS) y el órgano vascular de la lámina terminal (OVLT) (Israel y col., 1984). Mediante el desarrollo de nuevos bloqueantes no peptidérgicos, como el losartan y el PD 123,177 se ha podido demostrar que el cerebro contiene dos subtipos de receptores para la ANG: el AT₁ y el AT₂. Los sitios de unión sensibles a agentes reductores como el ditiotretol (DTT), desde los cuales el losartan desplaza a la ANG, se consideran como receptores AT₁. Por otra parte, los sitios de unión para ANG insensibles al DTT y desde los cuales la ANG es desplazada por compuestos como el GCP 42112A o PD 123,177 se han clasificado como del tipo

AT₂. La mayoría de las áreas cerebrales expresan fundamentalmente uno de los dos tipos de receptores (Leung y col., 1991; Tsutsumi y Saavedra, 1991a,b,c). La distribución anatómica selectiva de los subtipos de receptores para ANG en el SNC habla en favor de un papel fisiológico específico. Efectivamente, los receptores AT₁ están en áreas como el OSF y el NTS, estructuras localizadas fuera de la barrera hematoencefálica y que participan en el control de la presión arterial y del balance de los fluidos y electrolitos. Los receptores AT₁ se encuentran también presentes en áreas cerebrales dentro de la barrera hematoencefálica como el núcleo paraventricular (NPV) (Leung y col., 1991; Tsutsumi y Saavedra, 1991b), área relacionada con la regulación de la liberación de vasopresina.

Ahora bien, es conocido que la estimulación de los receptores para ANG en el SNC produce una respuesta compleja en la conducta, la función cardiovascular y endocrina. En efecto, la administración central de ANG o de renina induce una respuesta presora, dipsogenia y liberación de vasopresina desde la glándula pituitaria (Sterling y col., 1980; Severs y col., 1970; Fitzsimons, 1980).

Se ha demostrado la posible participación del receptor AT₁ en la respuesta presora (Wong y col., 1990b,c). De hecho, la administración periférica de losartan a ratas hipertensas espontáneas (SHR) o hipertensas renales, inhibe la respuesta presora a la administración i.v. de ANG, sugiriendo que, al menos en parte, los receptores AT₁ localizados en las estructuras circunventriculares, accesibles a la ANG circulante, juegan un papel fisiológico en la regulación de la presión arterial.

Receptores AT₁ y AT₂ en las acciones renales Inducidas por la administración central de renina.

Además de los efectos conocidos de la

ANG intracerebroventricular (ICV), se ha observado que la inyección central de ANG, a dosis inferiores a la dosis presora umbral, en ratas conscientes, produce un efecto natriurético inmediato y sostenido y la liberación de vasopresina (Sterling y col., 1980; Kapsha y Severs, 1981; Sealey y col., 1990).

Los estudios iniciales de Wong y col. en 1990 (a,b,c), sugirieron que una dosis única de losartan, administrada por vía oral, no atraviesa la barrera hematoencefálica, por lo que no ejerce acciones en el SNC. Sin embargo, resultados posteriores de Song y col. (1991) y Li (1993) demuestran que la inyección intravenosa de losartan es capaz de inhibir la unión de la ANG a sus receptores en áreas específicas del SNC. En efecto, la administración i.v. de losartan inhibe la respuesta de neuronas del núcleo paraventricular (NPV) y el órgano subfornical (OSF) ante la aplicación local de ANG (Li y col., 1993). Los resultados del presente

estudio apoyan este concepto e indican que, a diferencia de los antagonistas peptidérgicos y los inhibidores de la enzima convertidora de la ANG (IECA), el losartan y/o sus metabolitos activos podrían ejercer una inhibición potente y selectiva de los receptores AT_1 , tanto fuera como dentro de la barrera hematoencefálica. Igualmente, el hecho que la administración periférica del losartan reduce el incremento de la excreción de sodio urinario e inhibe la acción antidiurética de la renina administrada centralmente (Figura 1) sugiere un papel funcional del receptor AT_1 en estas acciones de la ANG. Nuestros hallazgos de un efecto inhibitorio del losartan sobre la acción renal de la R-ICV (Figura 1) parecen indicar que los receptores AT_1 , en los órganos circunventriculares y/o en los localizados en áreas del SNC podrían estar implicados en la regulación de la liberación de vasopresina y de la excreción de sodio. De las estructuras circunventriculares, el OVLT es un área

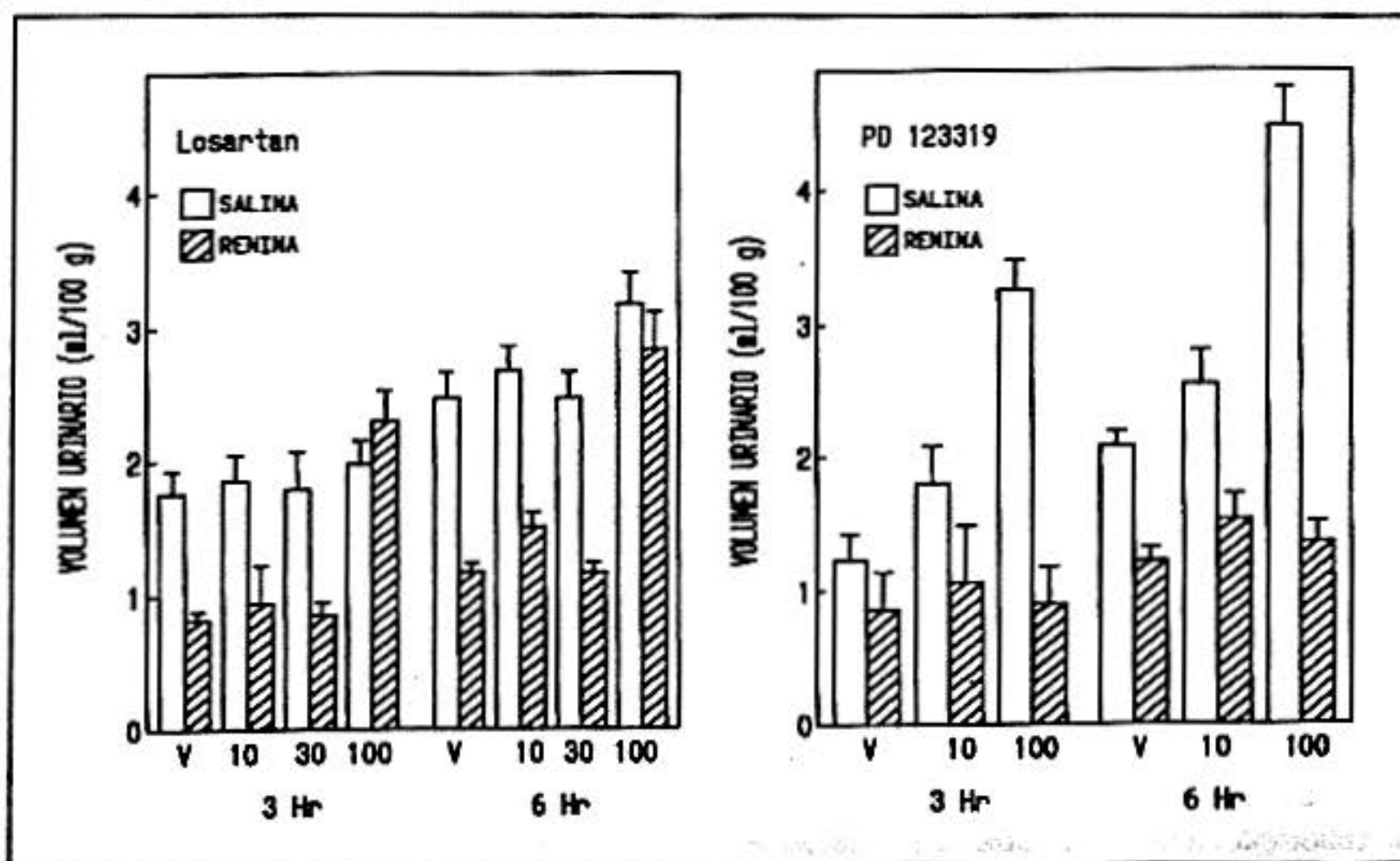


Figura 1. Efecto de la administración central de losartan o de PD 123,319, sobre la diuresis inducida por la administración intracerebro-ventricular de renina. Diuresis inducida por renina-icv (10 mGU/5 μ l) en presencia de pretratamiento central, media hora antes, con losartan en dosis crecientes de 10, 30, 100 μ g/100 μ l, o con PD 123,319 en dosis de 10 y 100 μ g/100 μ l. Se muestra la media $\pm$ E.S. $p < 0,01$ (ANOVA de dos vías) para V, 10 y 30.

cerebral que puede ser alcanzada tanto desde la circulación como desde el líquido cefalorraquídeo. Se ha propuesto que, al menos en la rata, el OVLT constituye uno de los sitios de acción importantes para la ANG de origen sanguíneo o del líquido cefalorraquídeo (Landas y col., 1980).

En cuanto a la participación del receptor AT_2 en los efectos renales inducidos por la administración central de renina, los hallazgos de una acción inhibitoria selectiva del antagonista PD 123,319 sobre la acción natriurética (Figura 2) indican que la regulación central de la excreción de sodio también es mediada a través de un receptor AT_2 . La falla del PD 123,319 en prevenir el efecto antidiurético secundario a la R-ICV (Figura 1) indica un papel selectivo del receptor AT_1 en la regulación de la liberación

de vasopresina. Es posible, sin embargo, que el PD 123,319 administrado centralmente sólo tenga acceso a sitios cerebrales tales como el OSF y el OVLT, estructuras relacionadas con la regulación central de la excreción de sodio, no siendo capaz de penetrar estructuras cerebrales dentro de la barrera hematoencefálica, en cantidades suficientes como para afectar las áreas relacionadas con la regulación de la liberación de vasopresina.

Receptores AT_1 Y AT_2 en la conducta estereotipada de bebida inducida por la administración central de renina

Se ha demostrado que la administración de ANG o de R estimula la ingesta de agua

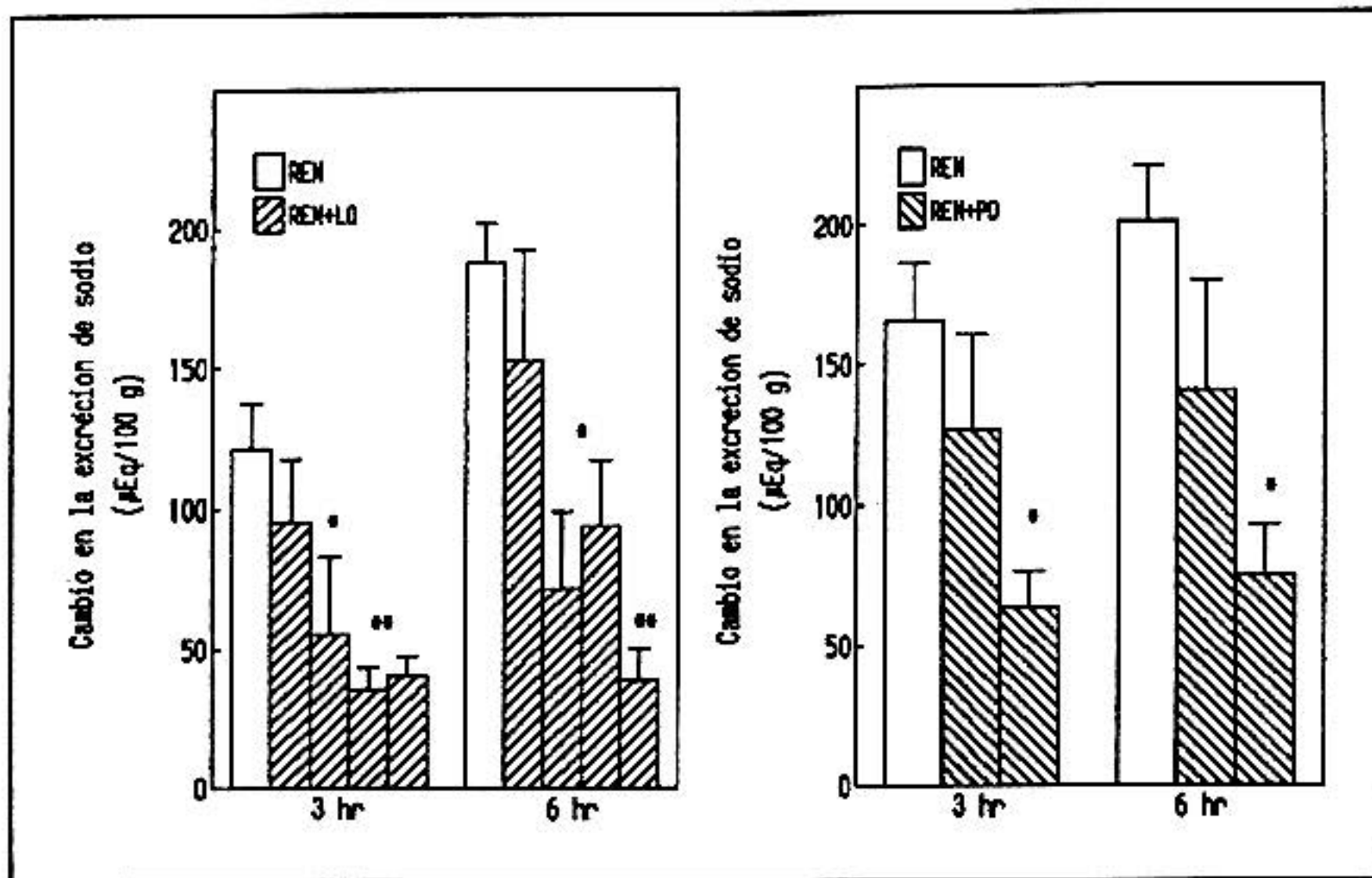


Figura 2. Efecto de la administración central de losartan o de PD 123,319 sobre la natriuresis inducida por la administración intracerebro ventricular de renina. Excreción de sodio urinario secundaria a la administración de renina-icv (10 mGU/5 µl) en ratas pretratadas icv, media hora antes, con losartan en dosis crecientes de 1, 10, 30, 100 µg/100 µl, o con PD 123,319 en dosis de 10 y 100 µg/100 µl. Se presentan las medias $\pm$ E.S. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, comparando con el efecto de la renina sola.

en varias especies animales (Severs y col., 1970; Fitzsimons, 1980) (menos de 2,5 minutos después de la administración central de renina). Este efecto es mediado por diferentes estructuras cerebrales diencefálicas (Swanson y Sharpe, 1973), a través de receptores específicos ubicados en estructuras como el OSF, el órgano vasculoso de la lámina terminal (OVLT) y el área anteroventral del tercer ventrículo (AV3V), sitios comunes a la respuesta dipsógena colinérgica osmolar (Swanson y Sharpe, 1973). El núcleo principal involucrado en la conducta dipsogénica es el OSF, que al encontrarse fuera de la barrera hematoencefálica responde a los niveles de ANG circulante. La aplicación local de ANG dentro de esta estructura causa dipsogenia con dosis mas bajas que las requeridas para inducir la misma respuesta en estructuras circundantes a este núcleo. La sección de las vías neurales rostral y ventral al OSF

reduce marcadamente la respuesta dipsogénica inducida por la administración i.v. de ANG. Este hecho involucra a otras estructuras circunvecinas, especialmente el núcleo mediano preóptico (MnPO), a través de eferencias que parten del OSF (Tanaka y Nomura, 1993). La administración central de losartan retarda significativamente el inicio de la conducta de bebida y reduce el volumen de agua ingerido (Figura 3A). Nuestros resultados confirman observaciones previas (Hogarty y col., 1992; Koepke y col., 1990; Fregly y Rowland, 1991, Rowland y Fregly, 1993) y sugieren que los receptores AT_1 posiblemente localizados en las estructuras circunventriculares estarían implicados en la respuesta dipsogénica a la ANG. Adicionalmente, la administración ICV del antagonista no peptidérgico PD 123,319, inhibe la conducta estereotipada de bebida (Figura 3B), indicando que el receptor AT_2 .

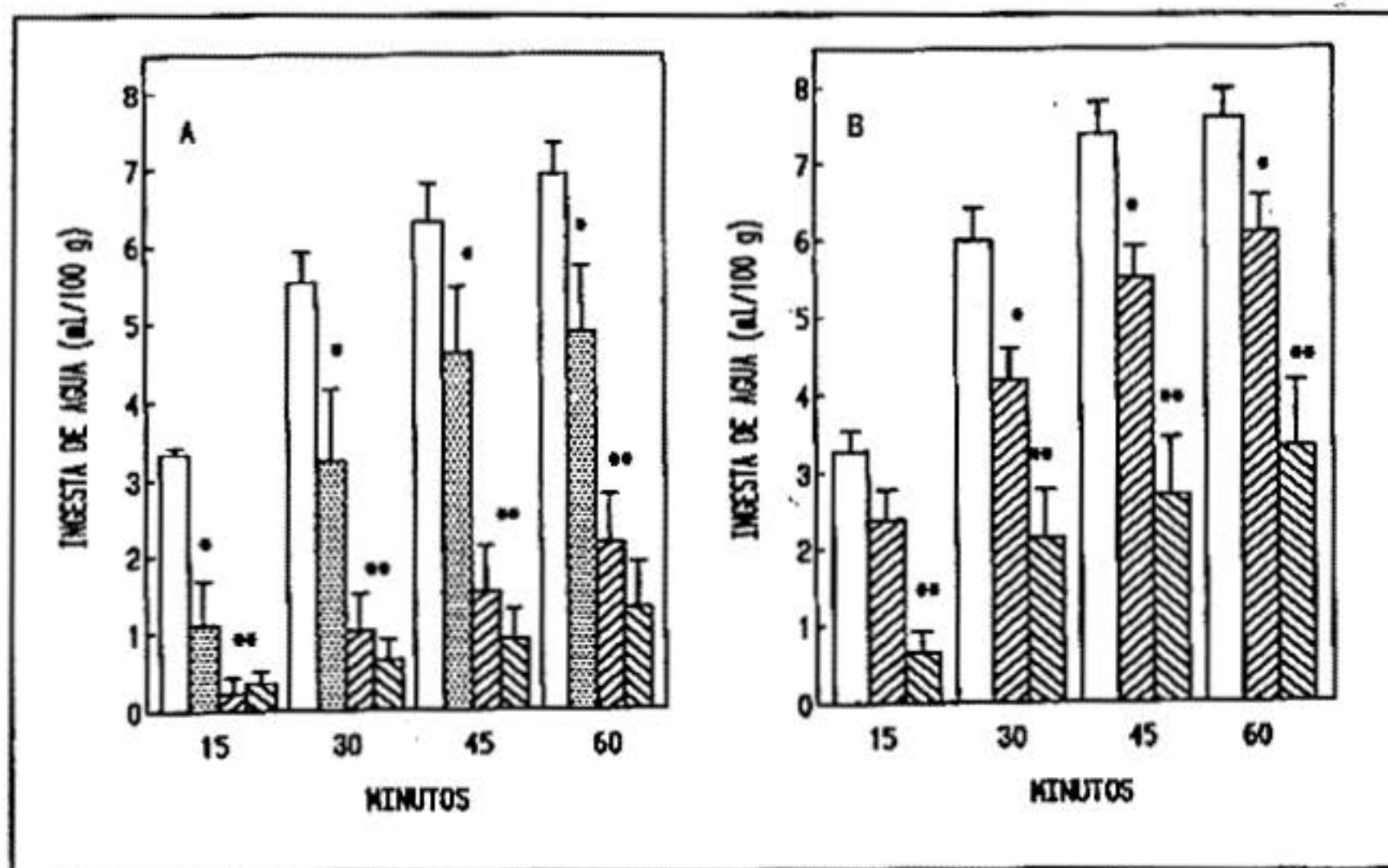


Figura 3. Ingesta acumulativa de agua secundaria a la administración central de renina en presencia del pretratamiento periférico con losartan o con PD 123319. Efecto de la administración periférica, una hora antes, de A) losartan (3, 6 y 10 mg/kg, s.c.); B) PD 123,319; sobre la ingesta acumulativa de agua inducida por la administración central de renina (10 mGU/5 µl). Barra vacía, efecto de la renina sola. Se presentan los promedios ± E.S. * $p<0,01$ y ** $p<0,001$ comparando con el grupo control tratado con renina.

conjuntamente con los receptores AT_1 , participa en la respuesta de bebida a la ANG.

Receptores AT_1 Y AT_2 en la facilitación de la actividad simpática secundaria la estimulación eléctrica plantar (EEP).

El estrés agudo inducido por la EEP induce la activación del eje simpático-suprarrenal y el consecuente incremento de la presión arterial y la frecuencia cardíaca (Lee y col., 1989, Figura 4A). La administración subcutánea del bloqueante selectivo del receptor AT_2 PD 123,319, no afecta la respuesta hemodinámica al estímulo eléctrico plantar (Figura 4A). Por el contrario, el bloqueo del receptor AT_1 con losartan atenúa significativamente la respuesta

presora a la estimulación simpática. Esta reducción parece depender exclusivamente de la reducción del incremento de la resistencia periférica, ya que el incremento en la frecuencia cardíaca no es modificado. Esto sugiere un papel funcional del receptor AT_1 en la facilitación de la transmisión noradrenérgica inducida por el EEP. Igualmente, estos resultados, junto con el efecto inhibitorio del captopril sobre los incrementos de la PAM inducida por el estrés (Figura 4B), parecen indicar que en condiciones en las que el SRA se encuentra activado, como sucede durante el EEP, la vasoconstricción adrenérgica se encuentra marcadamente intensificada por la angiotensina endógena. Efectos semejantes se observan en las ratas hipertensas, en las cuales el SRA se encuentra activado (Faria y Salgado, 1992), ya sea debido a un efecto facilitatorio o a una disminución en la

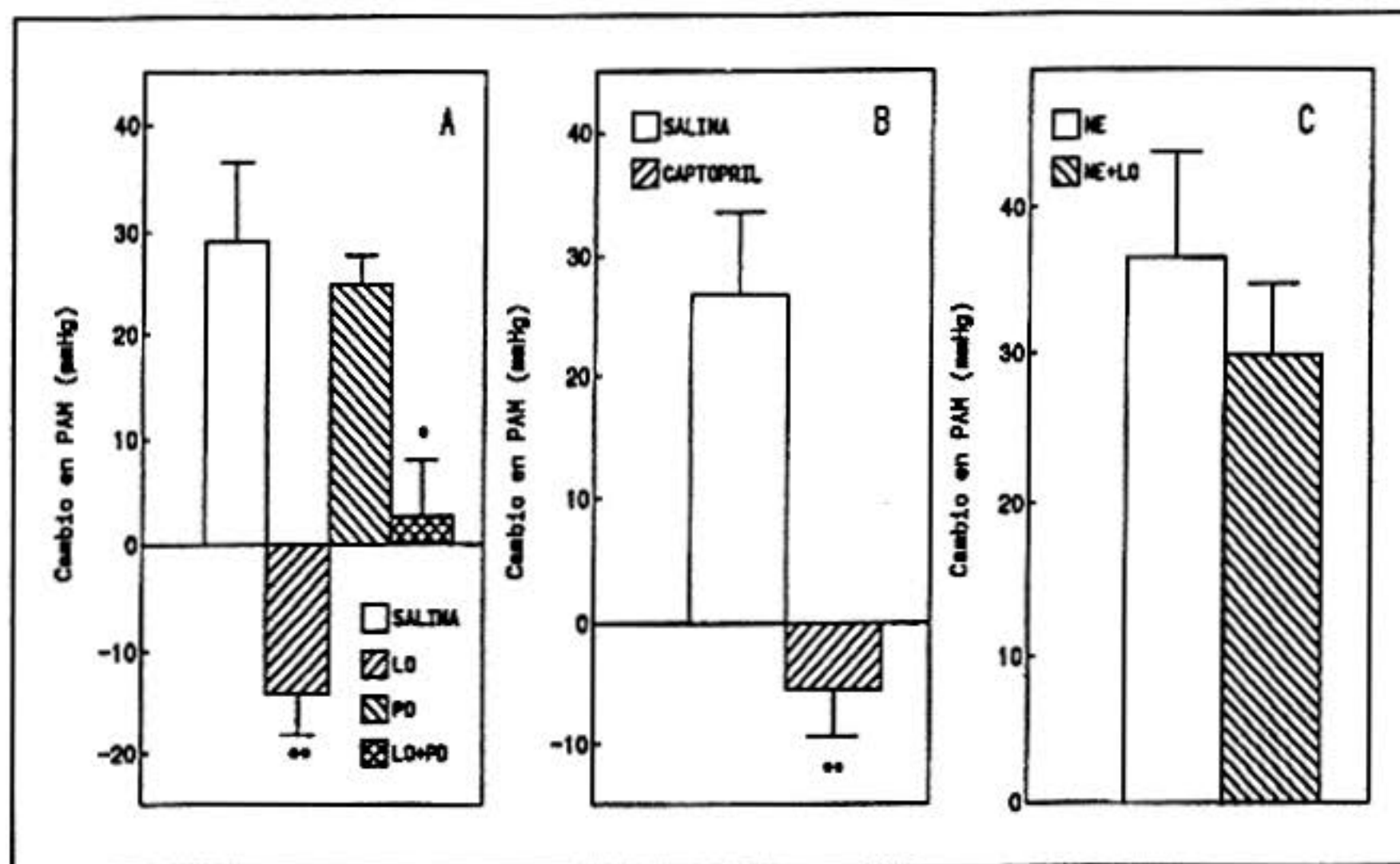


Figura 4. Efecto de la administración periférica de los antagonistas losartan, PD 123319 ó captopril, sobre el incremento de la presión arterial media secundaria al estímulo eléctrico plantar (EEP) o a la administración intramuscular de noradrenalina.

A. Incremento de la PAM al EEP, 2 Hz/100 V/10 mseg, en ratas pretratadas s.c. con: salina, losartan (10 mg/kg), PD 123319 (20 mg/kg) o LO+PD. B. Incremento de la PAM al EEP en ratas pretratadas con el inhibidor de la enzima convertidora de ANG, captopril (10 mg/kg, s.c.). C. Respuesta presora a la noradrenalina exógena (8 µg/kg, i.m.) en ratas pretratadas con losartan.

modulación inhibitoria de la transmisión adrenérgica. Existen numerosas evidencias del efecto intensificador de la ANG sobre la respuesta de los vasos sanguíneos y otros órganos a la estimulación de los nervios simpáticos, así como también la sensibilización del sistema cardiovascular ante la aplicación de catecolaminas exógenas (Sumners y Phillips, 1983; Papas y col., 1990). El receptor AT_1 involucrado en el efecto permisivo de la ANG podría estar localizado en múltiples sitios del sistema nervioso simpático: en el ganglio cervical superior (Strömberg y col., 1991), en la médula suprarrenal (Chiu y col., 1989) y en el cerebro (Tsutsumi y Saavedra, 1991a,b). Además, el receptor AT_1 que participa en el efecto facilitatorio de la respuesta vasopresora neurogénica podría estar localizado a nivel presináptico, en las fibras nerviosas postganglionares simpáticas de los vasos de resistencia; su activación incrementaría la liberación de norepinefrina. En efecto, se ha señalado que los receptores presinápticos para ANG localizados en la vasculatura de la rata descerebrada y a nivel renal en perros anestesiados son del tipo AT_1 (Wong y col., 1991, 1992).

Nuestros resultados muestran que la administración exógena de norepinefrina produce un incremento significativo en la PAM, el cual no es inhibido, por la administración subcutánea de losartan (Figura 4C). El hecho que la respuesta presora producida por el EEP, y no la producida por la norepinefrina exógena, sea reducida por el losartan, sugiere que la facilitación de la transmisión sináptica noradrenérgica parece depender de los receptores AT_1 de tipo presináptico. La ANG endógena además podría contribuir a la respuesta presora a través de la acción sobre receptores AT_1 postsinápticos. Cuando los receptores AT_1 son bloqueados, una respuesta depresora es develada (Figura 4A). Esta respuesta depresora es revertida al bloquear simultáneamente los receptores AT_1 y AT_2 . Así, el bloqueo específico combinado AT_1 y AT_2 elimina

completamente la respuesta presora y depresora al EEP. Nuestros resultados se corresponden con los obtenidos por Scheuer y Perrone (1993), quienes demostraron que la administración exógena de ANG, en presencia del bloqueo del receptor AT_1 , produce una consistente disminución de la presión arterial por debajo del basal, efecto que es inhibido durante el bloqueo combinado de los receptores AT_1 y AT_2 , demostrando así, que el receptor AT_2 media una respuesta depresora a la ANG.

Los mecanismos mediante los cuales el receptor AT_2 induce la respuesta depresora al EEP pueden ser explicados a través de una disminución de la resistencia vascular periférica. La respuesta vasodilatadora a la ANG ha sido demostrada «in vitro» en diferentes estudios: en lecho arterial mesentérico (Fleming y Joshua, 1984), en anillos de arteria renal de perro y en el lecho vascular del músculo esquelético en la rata (Toda y Miyazaki, 1981). El efecto vasodilatador también se ha observado «in vivo» en preparaciones de arteriolas de cerebro de ratas anestesiadas que fueron inyectadas con ANG II y ANG III (Haberl y col., 1990) y en el presente estudio (Figura 4). La vasorrelajación secundaria a la ANG puede ser debida a la liberación de sustancias dilatadoras provenientes del endotelio, efecto inducido por la estimulación del receptor AT_2 . Además, se ha demostrado que la vasorrelajación en diferentes preparaciones experimentales es bloqueada por inhibidores de la síntesis de prostaglandinas (Fleming y Joshua, 1984), o por azul de metileno, un inhibidor de la guanilil ciclasa soluble, lo que sugiere la posible participación del sistema guanilil-ciclasa-óxido nítrico (Haberl y col., 1990). El mecanismo exacto de la vasorrelajación por ANG y la relevancia fisiológica de las acciones depresoras mediadas por el receptor AT_2 esperan por nuevas investigaciones.

REFERENCIAS

- Brooks, V.L. y Malvin, R. (1982). Intraventricular infusions of angiotensin II increases sodium excretion. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 169, 532-537.
- Chiu, A.T., Herblin, W.F., McCall, D.E., Ardecky, R.J., Carinu, D.J., Duncia, J.V., Pease, L.J., Wong, P.C., Wexler, R.R., Johnson, A.L. y Timmermans, P.B.M.W.M. (1989a). Identification of angiotensin II receptor subtypes. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 165, 196-203.
- Dzu, V.J. y Pratt, R.E. (1986). Renin-angiotensin system: biology physiology and pharmacology. In Haber E., Morgan, M., Katz, A., Fozard, H., ed. *Handbook of Experimental Cardiology*. pp. 1631- 1661. New York: Raven Press.
- Faria, F. y Salgado, M., (1992). Facilitation of noradrenergic transmission by angiotensin in hypertensive rats. *Hypertension*, 19, II-30-II-35.
- Fitzsimons, J.T. (1980). Angiotensin stimulation on the central nervous system. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, 87, 117-167.
- Fleming, J. y Joshua, I. (1994). Mechanism of biphasic arteriolar response to angiotensin II. *Am J. Physiol.*, 247, H88-H94.
- Fregly, M.J. y Rowland, N.E. (1991). Effect of a nonpeptide angiotensin II Receptor antagonist, DuP 753, on angiotensin- related water intake in rats. *Brain Res. Bull.*, 27, 97-100. Haberl, R., Anneser, F., Völlringer, A. y Einhüpf, K. (1990). Angiotensin II induces endothelium-dependent vasodilatation of rat cerebral arterioles. *Am. J. Physiol.*, 258, H1840-H1846.
- Hogarty, D., Speakman, E., Puig, V. y Phillips, M. (1992). The role of angiotensin, AT₁ and AT₂ receptors in the pressor, drinking and vasopressin response to central angiotensin. *Brain Res.*, 586, 289-294.
- Israel, A., Correa, F.M.A., Niwa, M. y Saavedra, J.M. (1984). Quantitative determination of angiotensin II binding sites in rat brain and pituitary gland by radioautography. *Brain Res.*, 322, 341-345.
- Kapsha, J.H. y Severs, W.B. (1982). Sodium excretion after central administration of angiotensin II. In Buckley P.J., Ferrario, C.H., ed. *Central Nervous System Mechanism in Hypertension*. pp. 351-361. Raven Press, New York.
- Koepke, J.P., Bovy, P.R., McMahon, E.G., Olins, G.M., Reitz, D.B., Salles, K.S., Schuh, J.R., Trapani, A.J. y Blaine, E.H. (1990). Central and peripheral actions of a nonpeptidic Angiotensin II receptor antagonist. *Hypertension*, 15, 841-847.
- Landas, S., Phillips, M.I., Stamler, J.F. and Raizada, M.K. (1980). Visualization of specific angiotensin II binding sites in the brain by fluorescent microscopy. *Science*, 210, 791-793.
- Lee, J., Konarska, M. y McCarty, R. (1989). Physiological responses to acute stress in alloxan and streptozotocin diabetic rats. *Physiol. Behav.*, 45, 483-489.
- Leung, K.H., Smith, R.D., Timmermans, P.B.M.W.M. y Chiu, A.T. (1991). Regional distribution of the two subtype of angiotensin II receptor in rat brain using selective nonpeptide antagonists. *Neurosci. Lett.*, 123, 95-98.
- Li, Z., Bains, J. y Ferguson, A. (1993). Functional evidence that the angiotensin antagonist losartan crosses the blood-brain barrier in the rat. *Brain Res. Bull.*, 30, 33-39.
- Papas, S., Smith, P. y Ferguson, A. (1990). Electrophysiological evidence that systemic angiotensin influences rat area postrema neurons. *Am. J. Physiol.*, 258, R70-R76.
- Rowland, N. y Fregly, M. (1993). Brain angiotensin AT₂ receptor antagonism and water intake. *Brain Res. Bull.*, 32, 391-394.

Sealey, J.E. y Laragh, J.H., (1990). The renin-angiotensin-aldosterone system for normal regulation of blood pressure and sodium and potassium homeostasis. In J.H. Laragh and B.H. Brenner (Eds.), *Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management*, pp. 1987-1317. New York: Raven Press.

Severs, W.B., Summy-Long, J., Taylor, J.S., Connor, J.D. (1970). A central effect of angiotensin: release of pituitary pressor material. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 174, 27-34.

Scheuer, D. y Perrone, M. (1993). Angiotensin type 2 receptors mediate depressor phase of biphasic pressure to angiotensin. *Am J. Physiol.*, 264, R917-R923.

Sterling, G.H., Chee, O., Riggs, R.V. y Keil, L.C. (1980). Effect of chronic intracerebroventricular angiotensin II infusion on vasopressin release in rats. *Neuroendocrinology*, 31, 82-188.

Strömberg, Ch., Tsutsumi, K., Viswanathan, M. y Saavedra, J.M. (1991). Angiotensin AT₁ receptors in rat superior cervical ganglia: characterization and stimulation of phosphoinositide hydrolysis. *Eur. J. Pharmacol.*, 208, 331-336.

Song, K., Zhuo, J. y Mendelshon, F.A.O. (1991). Access of peripherally administered DuP 753 to rat brain angiotensin II receptors. *Br. J. Pharmacol.*, 104, 771-772.

Sumners, C. y Phillips, M.I. (1989) Central injection of angiotensin II alters catecholamine activity in rat brain. *Am. J. Physiol.*, 13, R257-R263.

Swanson, L. y Shaper, L. (1973). Centrally induced drinking: comparison of angiotensin II and charbacol-sensitives in rats. *Am. J. Physiol.*, 225, 566-573.

Tanaka, J. y Nomura, M. (1993). Involvement of neurons sensitive to angiotensin II in the median preoptic nucleus in the drinking response induced

by angiotensin II activation of subfornical organs in rats. *Exp. Neurol.*, 119, 235-239.

Toda, N. y Miyazaki, M. (1981). Angiotensin-induced relaxation in isolated dog renal and cerebral arteries. *Am. J. Physiol.*, 240, H247-H254.

Tsutsumi, K. y Saavedra, J.M. (1991a). Characterization and development of angiotensin II receptor subtypes (AT₁ and AT₂) in rat brain. *Am. J. Physiol.*, 261, R209-R216.

Tsutsumi, K. y Saavedra, J.M. (1991b). Angiotensin II receptor subtypes in median eminence and basal forebrain areas involved in regulation of pituitary function. *Endocrinology*, 129, 3001-3008.

Wong, P.C., Price, W.A., Chiu, A.T., Duncia, J.V., Carini, D.J., Wexler, R.R., Johnson, A.L. y Timmermans, P.B.M.W.M. (1990a). Nonpeptide angiotensin II receptor antagonists. Studies with EXP9270 and DuP 753. *Hypertension*, 15, 823-834.

Wong, P.C., Price, W.A., Chiu, A.T., Duncia, J.V., Carini, D.J., Wexler, R.R., Johnson, A.L. y Timmermans, P.B.M.W.M. (1990b). Nonpeptide angiotensin II receptor antagonists. VIII. Characterization of functional antagonism displayed by DuP 753, an orally active antihypertensive agent. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 252, 719-725.

Wong, P.C., Price, W.A., Chiu, A.T., Duncia, J.V., Carini, D.J., Wexler, R.R., Johnson, A.L. y Timmermans, P.B.M.W.M. (1990c). Hypotensive action of DuP 753, an angiotensin II antagonist, in spontaneously hypertensive rats. Nonpeptide angiotensin II receptor antagonist: X. *Hypertension*, 15, 459-468.