UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

El área postrema y otros órganos circunventriculares ante la hipertensión y su tratamiento con captopril. Un estudio en ratas SHR

Autor: Martínez de la Peña y Valenzuela, Isabel

Directores: Agustín Castañeyra Perdomo,
Emilia Carmona Calero
y Herminia Pérez González

Departamento de Anatomía, Anatomía Patológica e Histología

DOÑA EMILIA CARMONA CALERO, PROFESOR TITULAR DE ANATOMÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

CERTIFICA:

Que Doña Isabel Martínez de la Peña y Valenzuela ha trabajado bajo mi dirección, en el Departamento de Anatomía, Anatomía Patológica e Histología, habiendo obtenido y estudiado personalmente el material de su Tesis Doctoral, titulada "EL ÁREA POSTREMA Y OTROS ÓRGANOS CIRCUNVENTRICULARES ANTE LA HIPERTENSIÓN Y SU TRATAMIENTO CON CAPTOPRIL. UN ESTUDIO EN RATAS", estudio que termina con todo el aprovechamiento en el día de la fecha, habiendo revisado la que suscribe la presente Tesis Doctoral y estando conforme con su presentación para ser juzgada.

La Laguna, a 31 de Julio de 2001

DOÑA HERMINIA PÉREZ GONZÁLEZ, PROFESOR TITULAR DE ANATOMÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

CERTIFICA:

Que Doña Isabel Martínez de la Peña y Valenzuela ha trabajado bajo mi dirección, en el Departamento de Anatomía, Anatomía Patológica e Histología, habiendo obtenido y estudiado personalmente el material de su Tesis Doctoral, titulada "EL ÁREA POSTREMA Y OTROS ÓRGANOS CIRCUNVENTRICULARES ANTE LA HIPERTENSIÓN Y SU TRATAMIENTO CON CAPTOPRIL. UN ESTUDIO EN RATAS", estudio que termina con todo el aprovechamiento en el día de la fecha, habiendo revisado la que suscribe la presente Tesis Doctoral y estando conforme con su presentación para ser juzgada.

La Laguna, a 31 de Julio de 2001

DON AGUSTÍN CASTAÑEYRA PERDOMO, CATEDRÁTICO DE ANATOMÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

CERTIFICA:

Que Doña Isabel Martínez de la Peña y Valenzuela ha trabajado bajo mi dirección, en el Departamento de Anatomía, Anatomía Patológica e Histología, habiendo obtenido y estudiado personalmente el material de su Tesis Doctoral, titulada "EL ÁREA POSTREMA Y OTROS ÓRGANOS CIRCUNVENTRICULARES ANTE LA HIPERTENSIÓN Y SU TRATAMIENTO CON CAPTOPRIL. UN ESTUDIO EN RATAS", estudio que termina con todo el aprovechamiento en el día de la fecha, habiendo revisado el que suscribe la presente Tesis Doctoral y estando conforme con su presentación para ser juzgada.

La Laguna, a 31 de Julio de 2001

EL AREA POSTREMA Y OTROS ÓRGANOS CIRCUNVENTRICULARES ANTE LA HIPERTENSION Y SU TRATAMIENTO CON CAPTOPRIL. UN ESTUDIO EN RATAS SHR

Isabel Martínez de la Peña y Valenzuela

Quiero hacer público mi agradecimiento a los profesores Doctores Doña Emilia Carmona Calero, a Doña Herminia Pérez González y a Don Agustín Castañeyra Perdomo por su constante entrega y dedicación en la dirección de esta Tesis Doctoral.

Además, a la profesora Doctora Doña Emilia Carmona Calero, quiero agradecerle especialmente el valioso apoyo, así como su constante interés en mi trabajo que me ha brindado a lo largo de estos años.

Igualmente, hago extensivo mi agradecimiento al profesor Doctor Don Romualdo Ferres Torres y a la profesora Doctora Doña Gundela Meyer, así como a los demás miembros del Departamento de Anatomía, en cuyo ambiente de trabajo e investigación he encontrado apoyo para la realización de este estudio.

A mis padres, a mi hermano, a toda mi familia, a Alfredo, a Carlos y a mis amigos por su entusiasmo y constante ayuda, sin cuyo apoyo no hubiera sido posible realizar esta tesis.

ÍNDICE

INDICE

- INTRODUCCION …… 10

I.- Hipertensión arterial. Generalidades…….…… 11
II.- Sistema Renina- Angiotensina…… 16
III.- Inhibidores de la enzima (IECA)…… 24
IV.- El Area Postrema como Organo Circunventricular……. 38
1.- Recuerdo Histórico…….. 41
2.- Estructura…….…… 42
3.- Conexiones…….. 49
4.- Funciones……. 54
5.- Relación del Area Postrema con la Hipertensión…… 61

- PLANTEAMIENTOS Y OBJETIVOS……79

- MATERIAL Y METODOS…….81

A.- MATERIAL……...….. …..82
B.- METODOS……..……84

- RESULTADOS……...… 98

A.- Peso…….… 99
B.- Bebida……. 101
C.- Tensión arterial……... 107
D.- Frecuencia cardiaca…… 112
E.- Estudio Cualitativo……... 114
F.- Estudio Cuantitativo: Morfometría…….. 122
1.- Región Rostral Neuronas…….. 122
2.- Región Rostral Epéndimo…… 128
3.- Región Caudal Neuronas…… 135
4.- Región Caudal Epéndimo…….. 140
G.- Estudio Electroforético…….. 147
H.- Inmunohistoquímia…… 149

- RESUMEN DE RESULTADOS…… 208

- TABLAS…… 220

- DISCUSION…… 288

- CONCLUSIONES……..…… 352

-BIBLIOGRAFÍA..... 357

I N T R O D U C C I O N

INTRODUCCIÓN

I-HIPERTENSION ARTERIAL. GENERALIDADES.

La Hipertensión Arterial (HTA) es, junto con la hipercolesterolemia y el consumo de tabaco, uno de los tres principales factores de riesgo de la cardiopatía isquémica, y el principal factor de riesgo de los accidentes vasculares cerebrales, tanto hemorrágicos como aterotrombóticos, Liga Española para el control de la HTA, 1990 (LECHTA). Tanto por su elevada prevalencia como por su intensa participación en el conjunto de la morbimortalidad vascular, la HTA es uno de los problemas sanitarios más importantes del mundo occidental y por ello, uno de los motivos más frecuentes de consulta médica. (LECHTA). Se trata de una afección crónica que afecta, aproximadamente, al 20% de la población adulta (Laragh y Brenner, 1990; LECHTA, 1990), es decir, un conjunto de individuos de edades comprendidas entra los 18 y los 65 años, de tal forma que, a partir de los 65 años, se produce un incremento importante en su prevalencia llegando a estimarse entre un 30 y un 50% según las diferentes series publicadas. (Serie Grupos de trabajo I, 1990). Se ha estimado que hasta un 8-10% de la mortalidad total en los paises occidentales puede atribuirse, razonablemente, a la elevación tensional persistente.

La HTA se define como la elevación persistente de la tensión arterial (TA) por encima de unos límites establecidos como normales. Así, en un adulto se establece el diagnóstico de HTA con la demostración de cifras iguales o mayores de 130/85 mmHg (W. Yanez, 2000). A su vez, en un niño cuando sus cifras de TA superen el percentil 95, y en una embarazada cuando la presión diastólica sea mayor de 80 mmHg. (LECHTA, 1990).

La enfermedad constituye pues, uno de los problemas sanitarios más trascendentes en la actualidad en nuestro país, por su elevada tasa de prevalencia, su deficiente grado de control por la elevada morbimortalidad cardíaca y, sobre todo, cerebrovascular que ocasiona y por la tendencia demográfica hacia el envejecimiento de la población, que hace que no cese de aumentar el número de ancianos hipertensos. (LECHTA, 1990).

La HTA se clasifica, en función de su etiología, en:

a) HTA esencial, que se define como la elevación mantenida de la TA de causa desconocida. Es la que afecta al 95% de los hipertensos y su diagnóstico se obtiene por exclusión.

b) HTA secundaria, que se define como la elevación mantenida de la TA provocada por alguna enfermedad.

También puede clasificarse según los niveles de TA, que recoge en mayor medida el riesgo poblacional, y clinicamente según el grado de repercusión visceral, que recoge el riesgo individual de cada sujeto. (LECHTA, 1990).

La HTA puede ser clasificada según la intensidad de la elevación de las cifras de TA. También pueden clasificarse en estadíos del I al III según la repercusión sobre los órganos diana, pero tiene mayor utilidad clínica la descripción del daño visceral. Actualmente se considera a la HTA esencial como una enfermedad hetrogénea y de origen multifactorial, hablándose de síndrome hipertensivo. (Neutel et al, 1999).

Las mediciones de la tensión arterial deben ajustarse a la metodología recomendada por la OMS, cuyos requisitos fundamentales son: que se realicen en condición de reposo, en decúbito o sedestación y con un manguito apropiado al diámetro del brazo (los manguitos pequeños sobrestiman la medición). Sólo debe considerarse hipertenso al paciente que presente cifras elevadas de TA en , al menos, 3 visitas distintas, salvo elevaciones importantes. (Braun, 1999).

Entre las causas de esta afección parecen intervenir factores genéticos o hereditarios y asímismo, factores ambientales. (Shatara et al, 2000; Melander et al, 1999).

Los primeros aún no han sido bien caracterizados, de forma que algunos autores dan mayor importancia a un manejo renal del sodio inadecuado y otros a alteraciones en el transporte iónico a través de membranas celulares. (Shatara et al,1999).

La realidad es que no todos los pacientes hipertensos son claramente sensibles al consumo excesivo de sodio en la dieta, que junto al estrés constituyen los dos factores ambientales a los que se ha prestado mayor atención. En dichos pacientes, el aporte de sal produciría un incremento del volumen sanguíneo circulante y del gasto cardíaco que, en combinación con trastornos en la regulación autonómica de las resistencias periféricas, ocasionaran la elevación de la TA (Chrysant,1999).

A su vez, la activación de algunos mecanismos compensadores podría contribuír a su mantenimiento. La liberación de un factor natriurético, distinto del péptido atrial, inhibiría la Na+/K+ ATPasa produciendo un incremento del calcio intracelular e hiperreactividad vascular (Willenbrock, 1999). Los sistemas de autorregulación local encaminados a evitar una hiperperfusión tisular producirían cambios estructurales en los vasos, que causarán la HTA de forma definitiva (Boutouyrie,1999).

Otros factores ambientales como la obesidad, la dieta con bajo contenido en calcio, potasio y magnesio inducen, por diferentes mecanismos bioquímicos, alteraciones estructurales de los receptores vasculares y ayudan a que se mantengan aumentadas las resistencias vasculares. (Weir, 1999; Minami et al, 1999).

En las fases precoces de la enfermedad hipertensiva la elevación de presión suele deberse a un gasto cardíaco aumentado, aunque en su evolución la aparición de lesiones vasculares con elevación

de las resistencias periféricas son las que mantienen la elevación de presión y finalmente se desarrolla una arteriosclerosis generalizada. (O´Brien et al, 1999; Khattar et al, 1999).

CONSECUENCIAS DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

La HTA se asocia con alta morbilidad y mortalidad relacionadas con la afectación de los órganos diana: arterias, corazón, cerebro y riñón. (Nakao et al, 1999).

En las arterias se produce disfunción endotelial, proliferación de músculo liso e intersticio. Estas alteraciones precipitan la arteriosclerosis, sobre todo si se asocian a otros factores como diabetes o hiperlipidemia. (Reneland et al, 1999). La afectación arterial puede presentar distintas manifestaciones y diferente repercusión según la localización. A nivel aórtico puede dar lugar a aneurismas y disección. (Lajemi, 1999; Narkiewicz et al, 1997).

La afectación cardíaca en la HTA es secundaria a la hipertrofia ventricular y a las anomalías del flujo coronario, es decir, arteriosclerosis coronaria y enfermedad de pequeño vaso (Schillaci et al, 2000).

La hipertrofia se asocia con alto riesgo de morbimortalidad cardiovascular. Se desencadena por la sobrecarga de la presión y su mantenimiento acaba produciendo insuficiencia cardíaca por disfunción sistólica y/o diastólica, así como isquemia por la combinación del aumento del consumo de oxígeno y la enfermedad coronaria, arritmias y muerte súbita. (Franklin, 1999). La mayor parte de las muertes en la HTA son por insuficiencia cardíaca o infarto de miocardio.

La disfunción diastólica cardíaca está relacionada con la rigidez por la hipertrofia pero, también, por la fibrosis y alteración de la cinética del calcio.

A nivel neurológico, la HTA produce retinopatía y cambios en el sistema nervioso central (SNC), (Reaux et al, 1999). Por ello, se ha podido comprobar que el examen de la retina permite evaluar la afectación vascular de la HTA. (Cugini et al, 1998-99).

Las alteraciones más importantes en el SNC son hemorragia, infarto y encefalopatía. La hemorragia cerebral se relaciona con la elevada PA y la formación de microaneurismas. El infarto cerebral es secundario a la arteriosclerosis (Suzuki et al, 2000).

No se conoce la patogénesis de la encefalopatía; en algunos casos puede ser debida a infartos o hemorragias (Huang, 1999).

Por último, la complicación renal más importante en la HTA es la insuficiencia renal. El aumento de la resistencia a nivel arteriolar produce un aumento de la presión de filtración y proteinuria, dando lugar a glomeruloesclerosis y finalmente, al fallo renal (Gatzka et al, 1999).

ESQUEMA DE TRATAMIENTO

Existen cinco grupos de fármacos hipotensores que en la actualidad deben ser considerados como de primera elección: diuréticos, beta-bloqueantes, calcioantagonistas, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA), y alfa-bloqueantes (Klungel et al, 2000).

Cualquiera de ellos puede ser una opción válida inicialmente, aunque la elección puede depender de la existencia de determinados condicionantes, como la edad o una patología asociada (Genes et al, 1999). En caso de un control negativo, es preferible experimentar con otro fármaco antes de optar por la asociación de dos diferentes (Braun, 1999).

II-SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA

El Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona forma parte de un mecanismo regulador neurohormonal que, en respuesta a una disminución del volumen de sangre, mantiene la TA y el volumen extracelular por medio de la vasoconstricción y la retención de sodio y agua (Rossi, 1999; Mervaala et al, 1999). Los componentes de este sistema son la renina, el angiotensinógeno, la angiotensina I, la enzima convertidora de la angiotensina I (ECA), la angiotensina II y, por último, la aldosterona (Hollenberg, 1990; Klett et al, 1993).

La RENINA es una peptidasa que procede de un precursor inactivo denominado prorrenina, sintetizada por las células yuxtaglomerulares de la pared de las arteriolas aferentes renales, donde se almacena en forma de gránulos. Esta enzima proteolítica, de 40.000 daltons de peso molecular, es sintetizada, almacenada y secretada por las células epitelioides de la arteriola aferente (Hollenberg, 1990). Su secreción viene regulada principalmente por tres mecanismos:

1) Por un mecanismo barorreceptor activado por la disminución de la presión de perfusión de la arteriola aferente.

2) Por un aumento de la actividad del Sistema Nervioso Simpático a través de la estimulación de los beta-receptores del aparato yuxtaglomerular.

3) Por el mecanismo de la mácula densa que evita la pérdida excesiva de sodio reduciendo la tasa de filtración glomerular. (Edwards y Padfield, 1985; Düsing et al, 1987; Haber, 1984). Los quimiorreceptores de la mácula densa son sensibles a los cambios de composición del líquido intraluminal aunque se discute todavía si es la concentración de sodio que está presente en la mácula

densa, lo que constituye el estímulo de los quimiorreceptores (Davisson et al, 1998). Estudios recientes, sin embargo, demuestran que es el ión cloro, y no el sodio, el factor estimulador de la mácula densa.

4) Los receptores beta-adrenérgicos intrarrenales intervendrían en la respuesta al ortostatismo, al ejercicio físico, etc. Las catecolaminas circulantes también estimulan estos receptores beta (Wang et al, 1996).

También otros factores como la prostaglandina E2 y la prostaciclina (Pg I2) estimulan la secreción de renina, que es suprimida por la vasopresina y el péptido atrial natriurético (Zusman, 1987; Swartz y Williams, 1982). Así, los péptidos de bajo peso molecular (vasopresina, angiotensina II, péptidos natriuréticos atriales, endotelina) disminuyen la liberación de renina (Reaux et al, 1999). La propia angiotensina II constituye un mecanismo de inhibición de la secreción de renina. La PGI 2 y la PGE 2, por su parte. estimulan la liberación de renina y actúan como mediadores de tal liberación. Además, muchos de los estímulos que aumentan la liberación de renina aumentan también las prostaglandinas. La indometacina, un inhibidor de la síntesis de prostaglandinas, provoca también una disminución de la actividad renina plasmática (Philips, 1995). Otras sustancias que disminuyen la actividad de la renina plasmática serían la somatostatina, mineralocorticoides, fenobarbital y ciertos hipotensores como la reserpina, metildopa y clonidina (Hackenthal et al, 1993). Las sustancias que incrementan la actividad de la renina son, a su vez, el glucagón, estrógenos, glucocorticoides, ACTH, hormona paratiroidea, anestésicos, clorpromazina, cafeína, teofilina y muchos fármacos hipotensores como los diuréticos, inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina, vasodilatadores, bloqueadores alfa-adrenérgicos, espironolactona, etc, (Hackenthal et al, 1993). También influyen las concentraciones plasmáticas de varios electrólitos. La administración de potasio y la hiperpotasemia inhiben la secreción de renina y bloquean, además, la

respuesta a la depleción de sodio. Los efectos de la natremia sobre la liberación dela renina son escasos (Phillips, 1995). La actividad de la renina plasmática desciende de forma inversamente proporcional a la edad.

La renina no tiene un efecto fisiológico directo, sino que actúa sólo sobre su sustrato, que es una alfa-2 glucoproteína circulante producida por el hígado, para generar el decapéptido angiotensina I (Cruz et al, 1993). La renina tiene una vida media en plasma de 10 a 15 minutos y es aclarada por el hígado, mientras que la de la angiotensina II es de sólo 1-2 minutos y es aclarada por destrucción enzimática y por captación tisular (Danser et al,1998).

La primera indicación de que la renina también se sintetiza fuera de los riñones se descubrió en pacientes que habían sufrido nefrectomía bilateral. Así, la renina ha sido aislada en el cerebro, médula y corteza suprarrenal, miocardio, pulmones, hígado, bazo, músculo esquelético, útero y líquido amniótico (Hollenberg, 1990; Edwards y Padfield, 1985).

La principal función de la renina es convertir el angiotensinógeno en la angiotensina I, mediante la separación de 10 aminoácidos.

Las concentraciones de renina en la hipertensión esencial siguen una curva de distribución continua, con un predominio de los valores bajos, a causa de una mayor proporción de pacientes de edad avanzada en la población hipertensa y, de hecho, en el resto de la población (Heymes et al, 1994).

El ANGIOTENSINOGENO es una alfa2-globulina sintetizada en el hígado que actúa como sustrato de la renina. Encontramos concentraciones elevadas en el embarazo, tras la nefrectomía bilateral y también después de la administración de estrógenos o de ACTH. También suelen aparecer niveles elevados en el síndrome de Cushing. Las concentraciones más bajas se observan en

diferentes patologías hepáticas y tras la hepatectomía (por disminución de su síntesis), en el síndrome nefrótico (por aumento de la pérdida de proteinas), y también tras la adrenalectomía y la hipofisectomía. De todos modos, las concentraciones bajas no afectan a la síntesis de angiotensina I por la renina, ya que el angiotensinógeno se produce en exceso (Haber, 1984; Wyvratt y Patchett, 1985).

La ANGIOTENSINA I es un decapéptido, cuyo efecto biológico es poco conocido en humanos, que está generado por la acción de la renina sobre su sustrato, el angiotensinógeno, y sobre el que va a actuar la enzima conversora de la angiotensina I para formar el octapéptido biológicamente activo angiotensina II (Williams, 1988; Perico, 1998).

La ENZIMA CONVERSORA DE LA ANGIOTENSINA I (ECA) es una dipeptidil carboxipeptidasa con baja especificidad por el sustrato que realiza la hidrólisis de la angiotensina I. La enzima es idéntica a la quininasa II que cataliza la ruptura de la bradiquinina (un vasodilatador con características diuréticas y natriuréticas) en productos de degradación inactivos (Johnston et al, 1982; Zusman, 1987). Así, la enzima de conversión de la angiotensina puede aumentar indirectamente la presión arterial por formación de angiotensina II e inactivación de las bradiquininas (vasodilatadores). La ECA se halla primariamente en el endotelio vascular pulmonar, por lo que tanto la conversión de la angiotensina I en angiotensina II como la inactivación de la bradiquinina tienen lugar, principalmente, en la circulación pulmonar. Pero la ECA también está presente en la mayor parte de los tejidos periféricos tales como paredes vasculares, riñón, glándula suprarrenal, corazón y cerebro (Phillips, 1987).

La ANGIOTENSINA II es, como se ha señalado con anterioridad, un octapéptido biológicamente activo y un potente vasoconstrictor arteriolar que actúa directamente sobre receptores específicos, AT1, de la musculatura lisa vascular (Fukamizu et al, 1993). Sus principales acciones son:

-Es una de las hormonas vasoconstrictoras más potentes. Actúa sobre el músculo liso de los vasos de resistencia (las arteriolas) aumentando, por tanto, la resistencia vascular periférica.

-Suprime directamente la liberación de renina.

-Induce retención de sodio en los túbulos proximales ya sea directamente, estimulando el transporte tubular de sodio, o indirectamente a través de cambios de la hemodinámica intrarrenal (fuerzas de Starling), (Hollenberg, 1985).

-Estimula la síntesis y secreción de aldosterona en la zona glomerular de la corteza suprarrenal. La aldosterona induce, a su vez, un aumento de la reabsorción de sodio en los túbulos distales y de la secreción de iones hidrógeno y potasio. Por lo tanto, este mecanismo es el responsable del aumento del volumen extracelular, con una tendencia concomitante a la hipokaliemia y a la alcalosis metabólica (Williams y Dluhy, 1983).

-Estimula el Sistema Nervioso Simpático, favoreciendo la neurotransmisión simpática mediante el aumento de la secreción de noradrenalina en las terminaciones nerviosas, y la inhibición de su recaptación secundaria.

-Estimula la secreción de vasopresina. (Hollenberg, 1990).

Una dieta hiposódica hace que disminuya el efecto presor de la angiotensina II. En cambio, en la glándula suprarrenal, la restricción sódica y la sobrecarga de potasio provocan un aumento del número de receptores AT1, con la estimulación de la síntesis de aldosterona (Soyannwo, 1996). Es

precisamente esta modulación de la respuesta suprarrenal y vascular a la angiotensina II, la que se encuentra alterada en el 30-50% de los pacientes con hipertensión esencial. (Chai et al, 1993).

La angiotensina II ejerce un papel primordial en la fisiología renal. El efecto predominante sobre la arteriola eferente es esencial para la autorregulación del filtrado glomerular. Además, ejerce sobre este órgano un efecto diverso; a pequeñas dosis produce retención de sodio y agua, con descenso del flujo plasmático renal; a grandes dosis, provoca un aumento de la excreción renal de sodio y agua (Hopkins et al, 1996). Es probable que esto se deba al efecto local (circulación renal) de la angiotensina II, en contraposición al efecto sistémico sobre la presión arterial (Romero, 1999).

La angiotensina II (péptido que no cruza la barrera hematoencefálica), puede actuar sobre el área postrema (libre de dicha barrera), la cual está en íntima conexión con el hipotálamo, estimulando el centro de la sed y la secreción de ACTH y de vasopresina, y aumentando el tono adrenérgico periférico (Castañeyra-Perdomo et al, 1999). Además, la angiotensina II puede estimular las catecolaminas suprarrenales y aumentar la síntesis de prostaglandinas (Luchner et al, 1998). La importancia de la angiotensina II en el mantenimiento de la presión arterial está en relación inversa al balance de sodio (Nishida et al, 1998).

La angiotensina II es la principal hormona efectora del sistema renina-angiotensina-aldosterona (Rossi, 1999). Una serie de aminopeptidasas convierte la angiotensina II en péptidos con menor número de aminoácidos, biológicamente inactivos (De Teresa, 1993). Sólo el heptapéptido des-Asp-angiotensina II (angiotensina III) desempeña cierto papel, aunque discutible, sobre la secreción de aldosterona por parte de la corteza suprarrenal, con mucha menos acción vasoconstrictora que la angiotensina II (Reaux et al, 1999). La angiotensina III puede formarse directamente a partir de la angiotensina I (Reaux et al, 1999).

Los efectos de la angiotensina II están mediados por receptores específicos, de los que hasta ahora se han identificado dos tipos. El AT1 es una proteína de membrana acoplada a una proteina G y constituye el receptor clásico de angiotensina II, cuyo gen y secuencia proteica son bien conocidos; muy similar a éste es el receptor AT2. Ambos receptores muestran una distribución hística específica y ejercen funciones potencialmente diferentes (Chiu et al, 1989; Whitebread et al, 1989). El DTT, un agente sulfhidrilo reductor, aumenta la afinidad de los receptores AT2 por sus ligandos, pero anula la unión a los receptores AT1 (Whitebread et al, 1989; Tsutsumi y Saavedra, 1991). Los receptores AT1 tienden a disminuir los niveles de AMPc, a estimular la vida media del fosfatidil-inositol y la síntesis de prostaglandinas, mientras que los receptores AT2 actúan activando la fosfotirosina-fosfatasa mediante la inhibición de la guanilciclasa lo que provoca la disminución de los niveles de GMPc intracelular (Bottari et al, 1992; Sumners et al, 1991; Steckelings et al, 1992).

Los AT1 son los que se encuentran, principalmente, en la mayoría de las áreas involucradas en la regulación cardiovascular como el Organo Subfornical, el Organo Vasculoso de la Lámina Terminalis, la Eminencia Media, el Núcleo Supraóptico, el Núcleo Paraventricular, el Núcleo del Tracto Solitario, el Area Postrema, el Núcleo Motor Dorsal del Vago y el Núcleo Periventricular del Hipotálamo. Estos receptores actúan de mediadores en la mayoría de las acciones centrales conocidas de la Angiotensina II, tanto en la regulación de la presión sanguínea como en el balance de agua y electrolitos. Su número aumenta en modelos experimentales o genéticos de hipertensión arterial, estrés y deshidratación. El receptor AT2 es el subtipo predominante en Tálamo, Oliva Inferior, Septum Lateral, Núcleo Subtalámico, Locus Ceruleus, Geniculado Medial y Amigdala Medial, y se encuentra en solitario en el cerebelo. La localización de los AT2 en el tálamo y en áreas cerebrales que procesan información sensorial sugiere un nuevo papel modulador para la Angiotensina II. No se observan modificaciones de su número durante la hipertensión arterial.

(Gehlert et al, 1991; Tsutsumi y Saavedra, 1991; Obermüller et al, 1991; Steckelings et al, 1992). Los receptores AT1 son los que predominan en el cerebro adulto, mientras que los AT2 son los dominantes en fetos y animales experimentales jóvenes. Esto indica que los AT2 pueden jugar un papel en la diferenciación y desarrollo del tejido neuronal así como en la estructura vascular del cerebro (Tsutsumi et al, 1991; Tsutsumi y Saavedra, 1991; Steckelings et al, 1992).

La función clásica del Sistema Renina-Angiotensina es mantener la tensión arterial y regular el equilibrio hidrosalino, así como el volumen sanguíneo. Sin embargo, existen datos que sugieren que este mecanismo puede ser algo más complejo, no limitándose al sistema endocrino. Por ejemplo, se ha demostrado la actividad persistente de Renina y Angiotensina II en el plasma de individuos anéfricos (Campbell et al, 1991); igualmente se han demostrado efectos beneficiosos de la inhibición farmacológica de la ECA que no guardan relación con la potencia y duración de la inhibición de dicha enzima en el plasma (Unger et al, 1985). Estos y otros hallazgos han conducido a la investigación y demostración de Sistemas Renina-Angiotensina a nivel hístico en diversos órganos y tejidos, con función paracrina y autocrina. Se ha demostrado la presencia de expresiones genéticas con diferentes mecanismos reguladores de Sistemas Renina-Angiotensina tisulares en modelos animales de hipertensión (Campbell y Habener, 1986), y también se ha podido detectar la síntesis de los diversos componentes del sistema en riñón, lecho vascular, corazón, glandula suprarrenal, cerebro, testículo, etc. (Lee et al, 1993). Aunque está por aclarar en qué magnitud la eficacia de la inhibición de la ECA se debe a sus acciones sobre el metabolismo de la bradiquinina, parece que la disociación temporal entre la inhibición plasmática de la ECA y los efectos farmacologicos de sus inhibidores apunta hacia una implicación directa de los Sistemas Renina-Angiotensina hísticos locales (De Teresa, 1993).

III-INHIBIDORES DE LA ENZIMA DE CONVERSION DE LA ANGIOTENSINA I (IECA)

Los IECA constituyen una de las innovaciones más importantes en terapéutica cardiovascular de los últimos años. Actualmente, estan considerados como fármacos de primera elección en el tratamiento de la hipertensión arterial ya que reúnen muchas de las condiciones exigibles al antihipertensivo ideal.

Su historia comienza con la observación de un extracto del veneno de la serpiente brasileña *Bothrops jararaca* (denominado "factor potenciador de la bradiquinina" porque aumentaba las acciones farmacológicas de la bradiquinina), que era capaz de inhibir la ECA (Ng y Vane, 1970). Esta actividad biológica fue atribuida a los polipéptidos. La secuencia de aminoácidos de estos polipéptidos fue identificada y uno de ellos, SQ 20881 (teprotide), fue sintetizado (Ondetti et al, 1971), siendo el primer inhibidor de la ECA, y uno de los primeros agentes capaces de bloquear especificamente el sistema renina-angiotensina, ayudando a identificar el papel que juega este sistema en la hipertensión arterial.

CAPTOPRIL

El primer inhibidor oralmente activo, el **Captopril,** (2S)-1-(3-mercapto-2-metilpropionil)-1-prolina, fue obtenido a mediados de los años 70 (Cushman et al, 1977; Rubin et al, 1978). En la actualidad, existen numerosos inhibidores de la ECA disponibles que tienen en común la molécula 2-metil propanolol-L-prolina de importancia crítica en el bloqueo de la ECA, y que difieren en la naturaleza de la adhesión de la molécula al lugar activo en el enzima (grupo sulfhidrilo, fosforilo o carboxilo), y en la forma en la que el agente es administrado (profármaco o activo), (Williams,

1988). El Captopril se une al enzima por el grupo sulfhidrilo y se administra en forma activa. Después de su administración oral es rápidamente absorbido con un pico plasmático a los 30-90 minutos. Aproximadamente el 75% de la dosis administrada es asimilada rápidamente, pero la comida en el tracto gastrointestinal reduce su absorción en un 30-40%. Se distribuye rápidamente a la mayoría de los tejidos, excepto al Sistema Nervioso Central, aunque un 30% se liga a proteinas plasmáticas. Se metaboliza también rápidamente y su vida media es menor de 2 horas. La excreción renal, que es la principal via de eliminación, es rápida (el 50% aparece en orina a las 4 horas y el 95% a las 24 horas). De ahí se deduce la breve duración de su acción, aunque como es dosis-dependiente, altas dosis (75 mg) tienen efectos que persisten durante 12 horas. La excreción está relacionada con el aclaramiento de creatinina, por lo que pacientes con insuficiencia renal tendran mayores picos de concentración plasmática que pacientes con función renal normal (Vidt et al, 1982; Williams, 1988).

1-MECANISMO DE ACCIÓN

Su principal mecanismo antihipertensivo se ejerce a través del bloqueo del paso de Angiotensina I a Angiotensina II (Matsuda et al, 1999) reduciendo, en definitiva, la actividad del Sistema Renina-Angiotensina (SRA), aunque no es el único. Hay datos que sugieren que diferentes sistemas hormonales son modificados por los IECA y que la participación de cada sistema varía con el ambiente y los factores hereditarios. Si el efecto hipotensor de los IECA es debido fundamentalmente a su acción sobre la angiotensina II circulante o sobre la generada a nivel tisular es todavía una incógnita (Miyajima et al, 1999).

Si consideramos el hecho de la existencia del Sistema Renina-Angiotensina en diferentes tejidos (Dzau, 1989; Campbell, 1987) es posible pensar que la acción antihipotensora de los IECA puede ser no sólo debida al bloqueo de la formación de Angiotensina II circulante, sino también al bloqueo local de este sistema en órganos diana de la hipertensión, como son el corazón, el lecho vascular, el riñón y el cerebro (Fabris et al, 1990; Dzau, 1987). Así, cuando se administra un IECA, la disminución de la presión sanguínea se correlaciona mejor con el grado de inhibición del SRA tisular que con el SRA circulante (Dzau, 1987; Unger et al, 1984; Cohen y Kurz, 1982). Esto es particularmente evidente en la respuesta hipotensora en animales con bajos niveles de Renina-Angiotensina circulante (Williams, 1988). Numerosos estudios han confirmado la relación de la respuesta aguda de la presión sanguínea con la actividad renina plasmática inicial (MacGregor et al, 1979; Sullivan et al, 1979; Thurston y Swales, 1978). Cuando la terapia es continuada, esta correlación tiende a ser menor, y a largo plazo la respuesta no parece ser dependiente o relacionada con el alto nivel de actividad de renina plasmática antes del tratamiento (Gavras et al, 1978; Sullivan et al, 1979).

Todos los IECA aumentan la Renina y disminuyen los niveles de Angiotensina II y Aldosterona al menos a corto plazo (Vidt et al, 1982; Tood y Heel, 1986; Brunner et al, 1985; Gómez et al, 1987; Ball y Robertson, 1987; Rakhit et al, 1986; Onoyama et al, 1986; Schaller et al, 1985; Lane et al, 1999). La respuesta hipotensora inicial, después de la administración de una dosis de IECA es directamente proporcional a los niveles de actividad renina plasmática (ARP) previos al tratamiento. No obstante, durante su administración prolongada, el descenso de la PA es independiente de los niveles de ARP. Ello hace pensar que en el efecto hipotensor de los IECA, el bloqueo de la síntesis de angiotensina II a escala tisular vascular tiene mayor importancia que la inhibición de la angiotensina II circulante (Nelissen-Vrancken et al, 1998). Adicionalmente, en

presencia de IECA, la infusión de Angiotensina I provoca una pequeña respuesta presora (Gavras et al, 1978; Given et al, 1984). La necesidad de altos niveles de Angiotensina II para restaurar la presión sanguínea tras la administración de un IECA (Swartz et al, 1979), se basa en la demostración de que estos fármacos no sólo disminuyen la Hipertensión renovascular (donde la secreción de Renina está aumentada) sino también la Hipertensión esencial y la Hipertensión experimental como en la rata espontáneamente hipertensa (Frohlich, 1989; Williams, 1988), donde el SRA no está activado, y sugieren que, en la acción hipotensora de los IECA pueden estar implicados otros mecanismos dilatadores que la sola inhibición de la formación sistémica y/o local de Angiotensina-II (Cachofeiro et al, 1993).

Así, se ha sugerido que una parte importante del efecto hipotensor de los IECA puede estar mediado por un aumento de los niveles endógenos de quininas, que son péptidos con acción vasodilatadora (Johnston et al, 1982; Williams, 1988). Asimismo, las quininas estimulan la síntesis de óxido nítrico, un potente vasodilatador que finalmente va a participar también en la acción hipotensora de los IECA, bien directamente o bien indirectamente, interaccionando con la acción vasoconstrictora de la Angiotensina II (Cachofeiro et al, 1993). Se conoce cada vez mejor el efecto de los IECA sobre el metabolismo de los péptidos vasodilatadores como la bradiquinina (Lei et al, 1998). La ECA es prácticamente idéntica a la kininasa II, enzima que cataboliza la bradikinina, un potente péptido vasodilatador.

Por otro lado, no parece estar claro el papel que pueden jugar las prostaglandinas en la acción depresora de los IECA aunque, en general, se acepta que sería un efecto indirecto mediado por la inhibición de la degradación de las quininas lo que provoca el aumento de la prostaciclina y la prostaglandina E2 (ambas vasodilatadoras) (Swartz y Williams, 1982; Zusman, 1987; Wiemer et al, 1991).

La inhibición de la ECA también provoca la supresión de la secreción de aldosterona, influyendo por tanto en el balance de sodio, el cual también se ve afectado al limitar la acción de la Angiotensina II sobre el riñón (Williams y Dluhy, 1983).

En la acción de los IECA, pueden participar sus efectos sobre el Sistema Nervioso adrenérgico periférico y, posiblemente, también sobre el central (Düsing et al, 1987).

Los IECA son actualmente considerados fármacos de primer escalón en el tratamiento de la HTA. Utilizados en monoterapia, son capaces de normalizar las cifras de PA entre el 40% y el 60% de los pacientes hipertensos esenciales (Frisbee et al, 1999). En algunos pacientes puede producirse una atenuación del efecto antihipertensivo de los IECA con el tiempo, aunque una de sus ventajas consiste en la capacidad de mantener un control satisfactorio de la PA durante años (Foss et al, 1999).

Los IECA pueden administrarse de manera segura en la mayoría de las situaciones en las que la HTA va acompañada de otras patologías asociadas (Hansson, 1999). Los IECA están especialmente indicados en la HTA asociada a las diabetes mellitus, ya que mejoran la resistencia a la insulina y reducen la filtración glomerular, disminuyendo la proteinuria por encima de lo que cabría esperar por la simple reducción tensional, previniendo la aparición de la nefropatía diabética (Ametov et al, 1999; Sharma et al, 1999).

Por último, los IECA suprimen la secreción de vasopresina, y, por tanto, su actividad vasoconstrictora y de retención de agua (Williams, 1988; Hollenberg, 1990).

En resumen, tras la administración oral de un IECA, cada uno de los componentes del Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona se afecta de la siguiente forma:

1) Aumentan los niveles de Renina debido a la disminución de la tensión arterial, a la ausencia de supresión de la secreción de Renina inducida por la Angiotensina II y a los cambios de volumen mediados por la disminución de Aldosterona.

2) Incremento de la Angiotensina I provocado por la disminución de su degradación.

3) Decrecimiento de la actividad ECA.

4) Disminución de la Angiotensina II, que induce un descenso de la aldosterona, debido a una menor liberación de la misma en la corteza suprarrenal.

5) Reducción de la degradación de bradiquinina, que probablemente induce el aumento de producción de ácido araquidónico, precursor de las Prostaglandinas vasoactivas (Williams, 1988; Hollenberg, 1990).

2-EFECTOS HEMODINAMICOS

Todos los IECA disminuyen las resistencias periféricas, y causan pequeños cambios en la frecuencia cardiaca, el gasto cardiaco y en la presión pulmonar en cuña, en sujetos normales o hipertensos (Vidt et al, 1982; Todd y Heel, 1986; Gómez et al, 1987). No modifican la respuesta cardiovascular a reflejos autonómicos (Heavey y Reid, 1978; Fouad et al, 1983; Reid et al, 1983; Guidicelli et al, 1985; Hunter et al,1999). No tienen efecto en la respuesta de la frecuencia cardiaca o presión sanguínea al ejercicio isométrico, a la maniobra de Valsalva o al test frío-estrés.

Es interesante la ausencia de taquicardia refleja, a pesar de la disminución de las resistencias vasculares periféricas y de la presión sanguínea, tras la administración del IECA por tres razones al menos: reduce la eficacia o anula la sensibilidad de reflejos barorreceptores (Guidicelli et al, 1985);

venodilatación inducida por los IECA; modificación de la actividad parasimpática (Ajayi et al, 1985; Sakata et al, 1999).

Los IECA parecen tener un efecto cardioprotector en relación con la mejora del índice cardíaco (reducen la postcarga y mejoran la precarga), y del flujo coronario; la reversión de la hipertrofia ventricular izquierda demostrada por ecografía y radionúclidos (Dunn et al, 1984; Nakashima et al, 1984); la prevención de la mayor tendencia de trastornos del ritmo cardíaco de los hipertensos, debida al exceso de catecolaminas circulantes, a la hipertrofia ventricular izquierda y a la frecuente presencia de hipokaliemia. Además, a este efecto cardioprotector parece contribuir un barrido de radicales libres superóxidos resultantes de la isquemia tisular, especialmente importante en caso de necrosis miocárdica (Hansson, 1999).

Los IECA aumentan el flujo renal usualmente sin modificar la tasa de filtración glomerular, con algún efecto vasodilatador, que es mayor en la arteriola eferente que en la aferente. En el glomérulo incrementan el flujo sanguíneo renal, aumentan el coeficiente de ultrafiltración, disminuyen la proteinuria y la proliferación mesangial; y en el túbulo reducen la reabsorción proximal de los iones sodio y bicarbonato así como la amoniogénesis (Knauss y Dunn, 1991; Simko et al, 1999).

Bioquímicamente no afectan negativamente a ningún parámetro hidroelectrolítico o metabólico, a excepción de la posibilidad de producir hiperkaliemia cuando se administran en dosis inadecuadas al grado de función residual en pacientes con insuficiencia renal.

3-USO CLÍNICO EN LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

Inicialmente se reservaron para el tratamiento de la HTA severa, resistente o HTA renovascular, para el tratamiento de algunos pacientes con HTA asociada a Insuficiencia Renal o Esclerodermia y para el estudio y control de pacientes con estenosis de la arteria renal. En la actualidad, se sabe que los IECA son efectivos en todo tipo de HTA, independientemente del grado de repercusión visceral y la actividad de renina plasmática; o del tipo de HTA ya sea simple o asociada a Insuficiencia Renal, Diabetes, Insuficiencia cardiaca, Hipercolesterolemia, Gota, Bronconeumopatía crónica, o edad senil. Se recomienda considerarlos en el primer escalón terapeútico junto con betabloqueantes y diuréticos para el tratamiento de la HTA leve a moderada (Joint National Committee, 1988).

Este cambio de actitud puede estar relacionado con el reconocimiento de la dosis apropiada y la ausencia de efectos metabólicos adversos sobre la glucemia, lípidos, calcio y ácido úrico (Williams, 1988).

El Captopril, al igual que el resto de los IECA, es eficaz tanto en monoterapia como en politerapia. Es tan efectivo o incluso más que los diuréticos (Sassano et al, 1987; Weinberger, 1985; Vidt, 1984), que los beta-bloqueantes (Andren et al, 1985; Helgeland et al, 1986; Van Schaik et al, 1986; Zachariah et al, 1987) y que los antagonistas del calcio (Morlin et al, 1987; Sakata et al, 1999). La dosis del captopril es de 25mg dos o tres veces al día hasta un máximo de 150 mg y puede utilizarse junto con betabloqueantes

Entre los diferentes IECA, el que más se ha comparado con el Captopril ha sido el Enalapril. Mientras que unos estudios no muestran diferencias en la respuesta de la presión sistólica (Vlasses et

al, 1986), otros aseguran que el Enalapril es un algo mejor que el Captopril para disminuir la presión sanguínea (Thind et al, 1985, Foss et al, 1999). El Enalapril está indicado en el tratamiento de todos los grados de hipertensión esencial, y también en la hipertensión renovascular. Puede emplearse como tratamiento inicial solo o concomitante con otros agentes antihipertensivos, especialmente diuréticos; en cambio, el captopril está indicado en pacientes con insuficiencia renal, especialmente aquellos afectados con trastornos del colágeno vascular, y debe reservarse para los hipertensos que han desarrollado efectos adversos inaceptables con otros fármacos o que no han respondido, satisfactoriamente, a las combinaciones medicamentosas. Además de esto, el captopril se emplea en pacientes que han sufrido infarto de miocardio, que hayan presentado insuficiencia cardíaca o que padezcan disfunción ventricular izquierda (Yasunaga et al, 2000).

4-EFECTOS SECUNDARIOS.

La frecuencia de efectos secundarios del Captopril (neutropenia, síndrome nefrótico, alteraciones del gusto, rash, angioedema y tos) disminuyen drásticamente con la reducción de la dosis (Vidt et al, 1982; Coulter y Edwards, 1987; DiBianco, 1986; Jenkins et al, 1985; Erslev et al, 1982). El más frecuente para el Captopril es el rash (4%), que está relacionado con la dosis (Edwards et al, 1987; Goodfield y Millard, 1985).

Los efectos secundarios de los IECA en general son la aparición, en algunos pacientes, de la tos seca no productiva, cuyo mecanismo es en la actualidad desconocido, aunque podría estar relacionado con la liberación de la bradiquinina (Yasunaga et al, 2000). También se han descrito casos aislados de angioedema, el cual aparece con las primeras dosis y refleja, probablemente, cierto nivel de hipersensibilidad (Rossi et al, 1999). En pacientes con insuficiencia renal puede producir un

deterioro transitorio de la función renal debido a la disminución en la presión de filtración (Nakao et al, 1999). Otros efectos secundarios descritos en la literatura tales como la neutropenia, glomerulonefritis por depósito de inmunocomplejos, rash cutáneo y ageusia, parecen estar más relacionados con dosis excesivas administradas al inicio de la utilización del captopril, ya que su incidencia con las dosificaciones empleadas habitualmente es prácticamente nula (Stojic, 1999).

En general, el efecto secundario más común es la tos, que además es común con los IECA de larga duración (enalapril, lisinopril, ramipril). El rash y las alteraciones del gusto ocurren con más frecuencia con Captopril.

5-CALIDAD DE VIDA.

En diversos estudios se muestra que el Captopril mejora la calidad de vida. Zubenko y Nixon (1984) describen un aumento del humor en pacientes deprimidos tratados con Captopril, que podría ser secundario a la alteración de la síntesis de angiotensina II en el cerebro o a la alteración del metabolismo de las encefalinas. (Das et al, 1982). Se obtienen datos similares con Enalapril (Cohen et al, 1984). Los IECA también pueden tener otros efectos sobre el SNC, como aumentar el estado de alerta (Olajide y Lader, 1985), y ciertas reacciones depresivas (McMahon, 1985).

Como se ha mencionado con anterioridad, una de las mayores ventajas de los IECA es que pueden administrarse en la HTA, que va acompañada de otras patologías asociadas. Los IECA reducen la hipertrofia ventricular izquierda y el tono simpático del miocardio en respuesta al descenso tensional (Mckelvie et al, 1999).

Diversos estudios muestran, además, una clara mejoría de la supervivencia en pacientes con infarto de miocardio y disfunción ventricular tras el tratamiento con IECA (Kalkman et al, 1999). Los IECA han revolucionado el tratamiento de la insuficiencia cardíaca congestiva en la última

década, demostrando una mejoría de la supervivencia en los pacientes tratados con dichos fármacos (ver referencias de Castañeyra-Perdomo et al, 1999).

Además, los IECA mejoran la presión de los grandes vasos, y parecen tener un efecto antiarteriosclerótico en animales de experimentación (Kalkman et al, 1999).

En la enfermedad cerebrovascular y en la arteriopatía periférica reducen la PA sin disminuír el flujo cerebral o periférico (Cachofeiro et al, 1993; Suzuki et al, 2000).

LOSARTAN.

El **Losartan** es hoy el primer medicamento de una nueva clase de agentes antihipertensivos, como antagonistas de la Angiotensina II, no como inhibidor de la ECA. Losartan es una droga que ha venido a llenar un vacío para el tratamiento de pacientes que requerían de los efectos benéficos de los inhibidores de la ECA, y que no los toleraban o presentaban una destacada contraindicación.

Al no inhibir la ECA, enzima degradante de la bradiquinina, Losartan no produce tos. Es un medicamento en general bien tolerado, aunque ocasionalmente puede observarse un leve aumento del potasio sérico.

Este medicamento bloquea en forma específica los receptores de la angiotensina II. En el organismo encontramos dos tipos de estos receptores como ya indicamos: AT1 y AT2. Los receptores AT1 son los más importantes en la homeostasis cardiovascular (vasoconstricción, liberación de aldosterona, proliferación de las fibras musculares lisas), y estos se encuentran fundamentalmente en el corazón, pulmón, músculo liso, hígado, cerebro, riñón y glándula suprarrenal.

Como droga antihipertensiva, Losartan tiene un efecto moderado; su acción es de inicio gradual, lográndose estabilizar la PA al cabo de 3-4 semanas. Su administración es una toma diaria y su efecto se mantiene 24 horas. La dosis habitual es de 50-100mg. Se elimina vía renal y biliar. En la insuficiencia cardíaca Losartan disminuye en forma leve la frecuencia cardíaca, mejora el índice cardíaco, disminuye la presión en la aurícula derecha y la presión de enclavamiento en el pulmón. Este medicamento se encuentra ya aprobado como droga antihipertensiva (Ruiz-Gayo et al, 2000; Saji et al, 2001).

Cabe destacar que el Losartan disminuye la presión arterial en ratas cuya dieta tiene exceso de sal, y que esta disminución es menor en las ratas cuya AP está lesionada (Collister y Osborn, 1998). Estas últimas tenían una presión arterial más baja y las respuestas al losartán eran menores que ratas control alimentadas ad libitum. Así pues, el AP tiene efectos hipotensores, a largo plazo, frente al losartán en las ratas alimentadas con exceso de sal, y en las ratas cuya AP está lesionada este efecto hipotensor aparece atenuado (Collister y Osborn, 1998).

Asímismo, el sistema renina-angiotensina juega un papel importante en la regulación del flujo coronario y en la función y estructura cardíaca, en condiciones normales y patológicas tales como la isquemia (Barsotti et al, 2001). El losartan-potasio (MK-954) como antagonista del receptor de la angiotensina II tipo 1 (AT1), en la disfunción endotelial pos-isquémica y en la expresión del mRNA que codifica para las enzimas óxido nítrico sintetasas (NOS), inducible (iNOS) y endotelial (eNOS), manifiesta determinados efectos en el corazón de las ratas. Así, en las ratas tratadas con losartán se puede observar una reducción en la disfunción contráctil pos-isquémica, además de una disminución de la liberación de creatín-kinasa y una reducción en el daño de la ultraestructura del miocardio. En consecuencia, el tratamiento con losartán antes de la isquemia y durante la reperfusión del corazón, es capaz de producir una reducción en la disfunción mecánica y microcirculatoria y una disminución

de la necrosis, mejorando la ultraestructura cardíaca y la protección endotelial, probablemente inducida por la sobre-expresión de la enzima eNOS, y reduciendo la hiperpermeabilidad pos-isquémica de la microcirculación coronaria. En resumen, MK-954 (losartan potasio) ejerce una protección endotelial en el daño coronario, debido a una sobreexpresión del mRNA que codifica para la enzima óxido nítrico sintetasa endotelial, después de una isquemia global (Barsotti et al, 2001).

Por otro lado, se ha visto que el losartan provoca efectos tóxicos en el feto (Saji et al, 2001). La exposición materna al losartan durante las 20-31 semanas de gestación, producen en el feto efectos tóxicos tales como la disminución de líquido amniótico, hipoplasia pulmonar fetal y muerte fetal. Esta serie de anomalías es similar a las observadas en la exposición a los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina, durante la gestación (Saji et al, 2001).

El losartan frente al enalapril en el tratamiento del edema cerebral y en la proteinuria de ratas hipertensas, puso de manifiesto que reducen el edema cerebral (Blezer et al, 2001). Así pues, ratas espontaneamente hipertensas expuestas a altas concentraciones de NaCl en la bebida, mostraron hipertensión severa, daños en los órganos y muerte temprana y pudo observarse que el tratamiento preventivo con antagonistas del receptor de la angiotensina II tipo 1 (AT1) resultó efectivo en estos casos. Previamente se pudo comprobar que la inhibición de la enzima convertidora de la angiotensina reducía el edema cerebral cuando se iniciaba el tratamiento, después de la manifestación de la proteinuria o del propio edema cerebral. El estudio de estos autores (Blezer et al, 2001), manifestó que el bloqueo de los receptores AT1 tenía un efecto superior a la inhibición de la enzima convertidora de la angiotensina. Con la administración de losartan y enalapril se incrementó la supervivencia de las ratas hipertensas; ambos productos disminuían el edema cerebral y la proteinuria. La supervivencia se prolongó significativamente con ambos tratamientos, tanto si se producía inmediatamente antes o después del desarrollo del edema cerebral. En las ratas en las que el

tratamiento se iniciaba después de la manifestación del edema cerebral, reaparecían tanto el edema como la proteinuria a pesar de continuar el tratamiento. Por ellos se ha sugerido (Blezer et al, 2001), que cuando la hipertensión es sostenida, la reaparición de la afectación de los órganos podría no depender totalmente de la angiotensina.

El tratamiento crónico con losartan disminuye la liberación de noradrenalina en la arteria caudal de ratas espontáneamente hipertensas (Ruiz-Gayo et al, 2000). En la arteria caudal de la rata, la actividad simpática es modulada por la angiotensina II. En la rata espontáneamente hipertensa, esta arteria recibe una inervación simpática más densa que en la rata normotensa, y el tratamiento crónico con losartán, aunque apenas aumenta los niveles pos-sinápticos de noradrenalina, suprime el papel de la angiotensina II de cara a posibilitar la liberación de noradrenalina (Ruiz-Gayo et al, 2000).

IV- EL AREA POSTREMA COMO ORGANO CIRCUNVENTRICULAR

LOS ORGANOS CIRCUNVENTRICULARES

Los Órganos Circunventriculares según Höfer (1958), constituyen antiguas regiones mediales del SNC que poseen capacidad de transducción y pueden servir para integrar sangre, cerebro y líquido céfalo-raquídeo. Estas áreas antiguas a lo largo de la porción medial del cerebro y que poseen sorprendentes semejanzas en su organización neural, glial y vascular (Weindl, 1972), son corrientemente conocidas como sistema de órganos circunventriculares. Según Palkovits (1987),puede asumirse que los órganos circunventriculares son una compleja familia con actividades funcionales comunes, más que estructuras cerebrales simples con ciertas características comunes. Los órganos circunventriculares poseen las siguientes características:

-Están compuestos de epéndimo especializado con pinocitosis activa.

-Están localizados en la porción media del cerebro, en una posición estratégica de la superficie ventricular.

-Posee una abundante red de capilares.

-Salvo el órgano subcomisural (OSC), carecen de barrera hematoencefálica.

-Existe un espacio pericapilar tipo laberinto que rodea los capilares fenestrados, excepto en el OSC.

-Se observan uniones impermeables entre la porción apical de las células ependimarias (tanicitos), dando origen a una barrera al líquido céfalo-raquídeo.

-En algunos órganos hay pequeñas células nerviosas que contienen vesículas secretoras y que dan origen a finas redes neuronales entre los órganos.

-Las aferencias neuronales pueden estar en contacto con células propias de los órganos circunventriculares y también pueden terminar en la membrana basal del espacio perivascular.

Pertenecen, pues, a los órganos circunventriculares, la Eminencia Media (Knigge y Scott, 1970; Carmona-Calero, 1991), la Cresta Supraóptica u Órgano Vasculoso de la Lámina Terminalis (Wislocki y King, 1936; Campos-Ortega y Ferres-Torres, 1965), el Órgano Subcomisural (Dendy y Nichols, 1910; Castañeyra-Perdomo et al, 1980), el Area Postrema (King, 1937, Bañuelos-Pineda, 1995), el Órgano Subfornical (Pines, 1926; Akert et al, 1961; Höfer, 1965; Hernandez-Rodriguez,1992; Puchades-Company, 1996) y el Órgano Paraventricular (Ariens-Kappers, 1920; Legait, 1942).

Palkovits (1987) ofrece una clasificación de los órganos circunventriculares basándose en su posible significado fisiológico y a su participación en mecanismos específicos en el SNC. Así, el Organo Subcomisural parece ser una estructura secretora que posee un papel esencial en la regulación del balance de agua corporal. El Órgano Subfornical juega un papel crucial en la regulación de la ingesta de agua, la natriuresis y la secreción de vasopresina como respuesta a la deshidratación. El Área Postrema está en relación con la presión sanguínea, la respiración, la respuesta emética y el peso corporal. El Órgano Vasculoso de la Lámina Terminalis es similar histológicamente a la Eminencia Media: neuronas neurosecretoras terminan en el espacio pericapilar de sus capilares fenestrados. Este Órgano es también rico en neuropéptidos, pero sus concentraciones son mucho menores que en la Eminencia Media. Además, está muy vascularizado y, al contrario que la Eminencia Media, la corriente sanguínea alcanza la circulación sistémica, no comunicando con la Eminencia Media y con el sistema hipofisario portal.

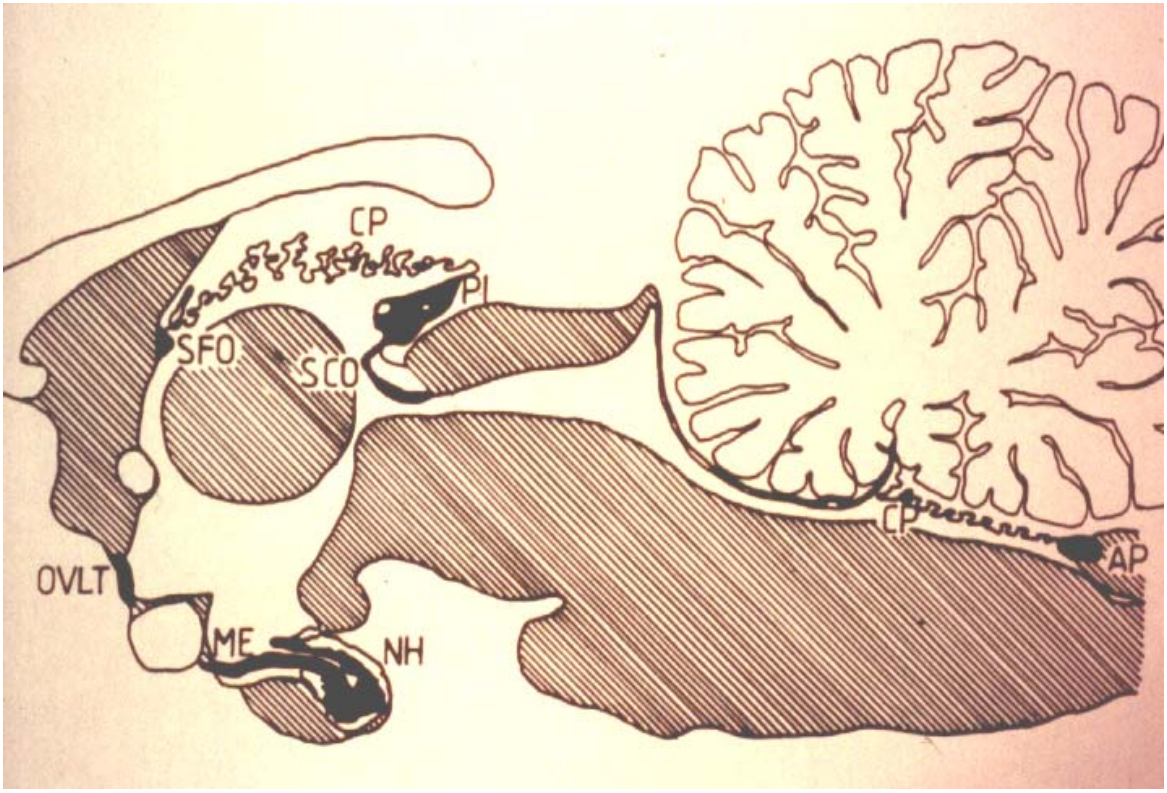


Fig. 1. Dibujo esquemático de una sección media sagital del cerebro del gato. En negro: órganos circunventriculares del III y IV ventriculo. ME= Eminencia Media. NH= Neurohipófisis. PI= Cuerpo Pineal. SCO= Organo Subfornical. OVLT= Organo Vasculoso de la Lámina Terminalis. AP= Area Postrema. CP= Plexos Coroideos (Fuente:Weindl y Joynt, 1972).

1- AREA POSTREMA RECUERDO HISTÓRICO

El Área Postrema (AP) fue descrita por Retzius en el año 1896. Forma parte de los órganos circunventriculares (OCVs).

En la rata, el área postrema es una estructura medial que se localiza en la parte caudal del IV ventrículo, ocupando la parte ventral del óbex. Pero en carnívoros y algunos otros mamíferos superiores, aparece de forma diferente. En éstos surge de dos montículos muy vascularizados que cierran la luz del cuarto ventrículo en la región del cálamus scriptorium, a cada lado de la línea media, formando la raíz de la extensión más rostral del canal central de la médula espinal (Chernicki et al., 1980). De esta manera el AP se encuentra orientada hacia los vasos y fluído cerebro-espinales.

Asimismo, carece de una verdadera barrera hematoencefálica (Dempsey, 1973), ya que la línea ependimaria que bordea el AP es bastante débil y su red capilar tiene numerosas fenestraciones, careciendo de uniones estrechas entre sus células endoteliales. Todo esto da lugar a que los elementos neurales tengan acceso a factores circulantes y, además, a que el fluído cerebroespinal pueda alcanzar facilmente su interior (Krisch et al., 1978; Gotow y Hashimoto,1979).

Por otro lado, su vecindad con el núcleo del tracto solitario (NTS) y núcleo medial dorsal del vago (NMDV) le sitúa en el punto de entrada y salida para la información víscero-sensorial y los impulsos motores vegetativos, con capacidad para monotorizar factores vasculares y ventriculares (Gross,1987).

2-ESTRUCTURA

El componente neuronal del AP, estudiado con microscopía electrónica, presenta una única población de pequeñas neuronas. El soma neuronal tiende a ser pequeño, mide aproximadamente de 8 a 15um de diámetro y tiene pocas dendritas proximales. Posee un núcleo ovoideo con un nucleolo, y se caracteriza por presentar profundas invaginaciones en la membrana nuclear; solamente un fino borde de citoplasma rodea el núcleo. Los componentes citoplasmáticos incluyen pequeñas cantidades de cuerpos de Nilss, abundantes cuerpos yuxtaglomerulares de Golgi y un número intermedio de otras organelas celulares.

Los somas neuronales tienden a estar dispersos de forma homogénea en el parénquima del AP, si bien se han descrito en el perro tres tipos distintos de neuronas (Chernicky et al. 1980). Estos autores usando el método Golgi Cox describen neuronas bipolares, de 10 a 15um de diámetro en una capa periventricular, neuronas estrelladas de diámetro similar en una zona central, y neuronas muy pequeñas estrelladas (5-8um), en la profundidad de la zona límite del AP que linda con el núcleo del tracto solitario (Castañeyra-Perdomo A. et al, 1992).

En estudios realizados con técnicas similares a las de Morest (1960), en el gato, el conejo, el ratón, el hamster y la chinchilla, se aprecian pequeñas neuronas en el núcleo del tracto solitario (NTS), que envían arborizaciones dendríticas dorsalmente dentro del AP. Un estudio de microscopía electrónica de estas neuronas del NTS (Gwyn y Wolstencroft, 1968) indica que su ultraestructura es muy similar a la de las neuronas del AP (Leslie et al. 1982).

Lucchi en 1989, describe en las neuronas del AP del cordero, RER y polirribosomas agrupados en pequeños cuerpos de Nissl dispersos en el citoplasma electroclaro. Los cuerpos densos son

numerosos en el área de Golgi, que está localizada frente al polo celular del que proceden los procesos citoplásmicos. El núcleo presenta uno o dos nucleolos bien desarrollados. Las neuronas reciben sinapsis en sus procesos y también sobre el soma. Tanto en las sinapsis axosomáticas como en las axodendríticas, las varicosidades axonales contienen vesículas de núcleo claro y de núcleo denso; estas últimas, sin embargo, son menos numerosas. También se han observado neuronas piriformes grandes en la parte del parénquima del AP cercana al tegmentum medular, con cuerpos de Nissl más prominentes, y además la presencia de neurotúbulos y de neurofilamentos en su citoplasma (Leslie, 1986).

En la rata, las dendritas de las neuronas del AP tienen procesos espinosos que reciben la información sináptica desde las varicosidades axonales. Estas varicosidades axonales del AP adquieren generalmente la forma de pequeños perfiles que poseen diminutas vesículas centro-claras. Ocasionalmente se observan varicosidades más grandes llenas de grandes vesículas centro-densas, pero resulta poco frecuente detectarlas estableciendo contactos sinápticos y/o sinapsis axosomáticas. No existen antecedentes en la literatura especializada de la existencia de sinapsis electrotónicas (uniones huecas), sinapsis axosonales o perfiles dendríticos actuando como elementos presinápticos (Leslie, 1986).

La ultraestructura de este órgano es marcadamente uniforme entre las especies. Un hecho destacable del AP, reconocible con el ME de barrido, es la casi ausencia de kinocilios en la superficie ventricular de sus células ependimarias. Existen, sin embargo, muchas microvellosidades en las superficies apicales de estas células. Éstas pueden situarse en la perifería de las células de forma tal que marcan los límites entre las células adyacentes. A menudo se distinguen penachos de microvellosidades filiformes, ocupando posiciones centrales en las superficies apicales de algunas de estas células ependimarias. Estas, frecuentemente se encuentran en aposición a los perfiles de los

elementos vasculares dentro del parénquima del órgano. En ocasiones se detecta la presencia de las células supraependimarias envolviendo estas microvellosidades filiformes (Leslie et al, 1978). Tales elementos supraependimarios, semejan las células de Kolmer (Kolmer, 1921; Leslie et al, 1979) que conectan la superficie epitelial a los plexos coroideos. Se ha visto, además, que funcionan como macrófagos pues captan los marcadores macromoleculares cuando se introducen en el líquido cefalorraquídeo ventricular. Otros elementos descritos en la superficie del AP tienen la apariencia de procesos neuronales donde se ha demostrado por inmunohistoquimia la presencia de serotonina (Leslie y Osborne, 1984).

Lucchi et al, en 1989, en estudios realizados en el cordero encontraron en secciones semifinas, una capa ependimaria de células aplanadas sin cilios, cuyos núcleos se localizan a diferentes niveles. En el parénquima del AP se aprecian neuronas, células gliales y un gran número de vasos sanguíneos rodeados por amplios espacios perivasculares. Dentro de los espacios perivasculares pueden hallarse pericitos, fibroblastos y mastocitos.

En secciones ultrafinas, las células ependimarias no ciliadas del AP, miran al cuarto ventrículo, tienen superficies apicales planas y atraviesan el parénquima del AP con tenues procesos basales ricamente dotados de microfilamentos. En las superficies apicales de las células ependimarias del AP pueden observarse microvellosidades en número y forma variables, independientemente de dónde se localice la célula en la superficie ventricular del AP. El núcleo muestra un perfil mellado y un nucleolo prominente (Lucchi et al, 1989). Las superficies laterales de las células se encuentran unidas por zonas de unión de tipo adherente, y existen además, lugares de estrecha aposición entre las membranas adyacentes, muestran una laguna entre las membranas de 2-3nm (por ejemplo, se encuentran uniones huecas en la superficie ventricular o intercaladas entre las uniones de tipo adherente), que pueden aparecer como aposiciones puntuales de membrana o zonas extensas entre

las membranas adyacentes. Sin embargo, las uniones huecas no están presentes en secciones seriadas. El citoplasma apical de las células ependimarias del AP contiene mitocondrias, rosetas de ribosomas, una débil red de microfilamentos, alguna cisterna de retículo endoplasmático rugoso y un aparato de Golgi bien desarrollado (Borison et al, 1975; Lucchi et al, 1989; Pashchenko et al, 2000).

Los espacios perivasculares están delimitados por una lámina basal externa y una lámina basal interna que rodea los vasos sanguíneos. Algunos espacios perivasculares se encuentran en yuxtaposición a la superficie ventricular. Por lo tanto, algunas células ependimarias del AP mantienen conexiones tanto con la superficie ventricular como con el espacio perivascular, siendo este contacto dual característico de unas células ependimarias especializadas, los tanicitos (Lucchi et al, 1989). Los procesos basales de estos tanicitos llegan a la lámina basal del espacio perivascular y forman el revestimiento perivascular. Algunos procesos basales de los tanicitos poseen microfilamentos y una matriz citoplasmática electroclara que contiene ribosomas, y algunas estructuras electrodensas vesiculares o tubulares (Lucchi et al, 1989).

El AP en el hamster, al igual que en otras especies (Borison, 1974), se caracteriza por un rico plexo de capilares sanguíneos delimitados por células endoteliales fenestradas. Alrededor de estos vasos hay grandes espacios perivasculares. Estos se encuentran limitados por una lámina basal externa y otra interna endotelial que contienen pericitos, fibroblastos y fibras colágenas (Manni et al, 1982). Las células ependimarias del AP son escamosas, lo que también las diferencia de las células ependimarias cuboidales que delimitan al resto de la superficie ventricular del cuarto ventrículo. Estas células del AP pueden tener grandes procesos basales que lindan con espacios perivasculares dentro del parénquima del AP. Así, son muy semejantes a los tanicitos que han sido descritos en la eminencia media (Akamayev y Popov 1977). Mientras que algunos autores describen la existencia de una escasa variación en la morfología celular ependimaria en el AP del gato (Leslie et al, 1978),

otros estudios muestran que ocurren variaciones regionales en células ependimarias en otros animales. Por ejemplo, el AP de la rata puede diferenciarse en una subdivisión anterior y posterior basada en la morfología de las céulas ependimarias (Torack y Finke, 1971; Gotow y Hashimoto 1979). Ello puede explicarse por la diferente posición que tiene el AP en el ventrículo (teniendo en cuenta su relación con el canal central) en las dos especies (Gotow y Hashimoto 1979; Castañeyra-Perdomo, et al,1992).

Mientras la superficie dorsal del AP del gato, perro, vaca o humano está totalmente expuesta a la luz del ventrículo, la superficie posterior del AP de la rata está cubierta de píamadre. Las células ependimarias del hamster, que cubren la superficie del AP, son lisas y se disponen en más de una capa celular. Su superficie ventricular carece de cilios y está relativamente desprovista de microvellosidades. Las superficies celulares laterales muestran zónulas adherentes y numerosos procesos interdigitantes. En algunas células se encuentran cuerpos lisosomales densos asociados con el área de Golgi. Algunas células ependimarias miran a la superficie ventricular y también se extienden por el espacio perivascular con procesos similares a pies, en los que aparece un grueso manojo fibrilar y perfiles de retículo endoplásmico liso (Leslie, 1986: Manni et al, 1982).

Las prolongaciones citoplasmáticas que descansan sobre la lámina basal externa del espacio perivascular, muestran una electrodensidad incrementada. Estas células ependimarias especializadas del AP son similares a los tanicitos descritos en otras regiones circunventriculares, principalmente en la pared del III ventrículo, que están relacionados con la actividad secretora. Numerosos axones no mielinizados pasan por la base de las células ependimarias del AP y entre los procesos interdigitantes. Se ven asímismo, escasos axones finos mielinizados (Manni et al, 1982; Castañeyra-Perdomo et al, 1992).

Pese a algunas publicaciones en las que se manifiesta que algunos órganos circunventriculares, incluyendo el AP, están cubiertos con células ependimarias enlazadas con uniones intercelulares especializadas cerradas apicalmente (Brighman y Reese, 1969), estudios posteriores han indicado que ello probablemente no es válido para el AP de la rata o el gato. Proteínas trazadoras introducidas, bien intratecal o intravascularmente, han puesto en evidencia que la célula ependimaria que delimita el AP de la rata es relativamente permeable (Torack y Fincke, 1971; Gotow y Hashimoto 1979; Pashchenko et al,2000).

Estudios en el gato han dado resultados similares. Sin embargo, las uniones apicales del AP son peculiares, apareciendo al microscopio electrónico de transmisión como aposiciones puntuales de membrana, semejando uniones estrechas. Con microscopía de alta resolución se visualiza un estrecho hueco entre las prolongaciones citoplasmáticas adyacentes de aproximadamente 2nm. Mediante criofractura se ha visto que las membranas apicales de las células ependimarias del AP de la rata, así como las células ependimarias que revisten el resto del ventrículo, muestran patrones que no son exactamente de unión gruesa sino de otro tipo, que no está bien definido. Por el contrario, mediante criofractura, las células epiteliales de los plexos coroideos muestran uniones cerradas de características bien definidas (Gotow y Hashimoto, 1979).

En el AP, células gliales parecidas a astrocitos se interponen entre las neuronas organizadas en racimos. Estas células gliales perineuronales muestran un citoplasma electro-opaco, dotado con microfilamentos, cisternas de RER, rosetas de ribosomas y mitocondrias. Cerca del núcleo, se encuentra un prominente complejo de Golgi, así como vacuolas, túbulos y vesículas con un contenido electrodenso. Esporádicamente se ve un cilio o una profunda identación de la superficie celular. Se encuentran asímismo, contactos axogliales con las características morfológicas de una unión sináptica; las varicosidades axonales contienen vesículas dispersas de núcleo denso y vesículas

claras. Células gliales perivasculares descansan sobre la lámina basal externa del espacio perivascular y forman una continuidad de dicho espacio perivascular con sus cuerpos celulares o con procesos que se introducen entre las prolongaciones citoplasmáticas. La membrana de la célula glial que descansa sobre la lámina basal externa de los espacios perivasculares, semeja la de los procesos tanicíticos; pueden hallarse uniones huecas a lo largo de extensas zonas de procesos gliales perivasculares adyacentes. A menudo puede verse una célula glial delimitando una neurona muy cerca del espacio perivascular. No se hallaron estructuras neuronales junto al espacio perivascular. Las células gliales perivasculares se asemejan a las perineuronales en su contenido de organelas; sin embargo, algunos de sus procesos que se extienden al espacio perivascular, muestran una matriz citoplasmática electrolúcida en la que se encuentran pequeños microfilamentos, mitocondrias y cuerpos densos. En algunos casos pueden hallarse lisosomas (Lucchi et al, 1989; Cunningham, Miselis, Sawchenko,1994).

3-CONEXIONES

A través de conexiones neuronales, el AP mantiene firmes relaciones con los componentes del complejo vagal dorsal (Shapiro y Miselis, 1985; van der Kooy y Koda, 1983; Morest, 1967), el núcleo parabraquial lateral (Loewy y Burton, 1978), con los grupos de células catecolaminérgicas del sistema tegmental lateral y dorsal (Shapiro y Miselis, 1985), y con el hipotálamo (Shapiro y Miselis, 1985; van der Kooy y Koda, 1983; Hosoya y Matsushita, 1981; Cunningham et al, 1994).

Esta conectividad neural coloca claramente al AP dentro de una red de estructuras cerebrales que intervienen en funciones viscerales. Igualmente, otros OCVs están ampliamente conectados a las mismas estructuras y forman un aparente neuroeje visceral (Miselis, 1987).

Distribución de terminales del AP en el NTS:

El AP proyecta al núcleo del tracto solitario (NTS), que es el área primaria de recepción para las fibras aferentes glosofaríngeas y vagal viscerales. Estas proyecciones no penetran en todos los subnúcleos del NTS de igual forma. Gran cantidad de proyecciones van inmediatamente a los componentes más cercanos del NTS constituídos por los subnúcleos dorsolateral, comisural y medial. El subnúcleo dorsolateral parece ser la zona terminal homóloga para aferencias barorreceptoras identificadas en otras especies animales y recibe abundantes proyecciones del AP. Caudalmente tiene moderadas proyecciones a través del subnúcleo comisural al cruce espinomedular, y, rostralmente, a lo largo del borde dorsomedial del NTS hacia la extensión superior más rostral (límite anterior) del subyacente núcleo motor dorsal del nervio vago. En adición a las conexiones del AP con el NTS, que recibe proyecciones sensitivas viscerales, el AP por sí misma es

receptora de aferencias de los nervios vago, glosofaríngeo e incluso del trigémino (Barnes y Ferrario, 1980; Kalia y Mesulam, 1982; Becktead y Norgren, 1979; Contreras et al, 1982). Por lo tanto, lo anterior sugiere una firme interacción entre el AP y proyecciones aferentes viscerales indicativas de modulación de información visceral ascendente (Silva-Carvalho et al, 1998).

Influencia en el tono motor parasimpático:

Fibras eferentes del AP llegan al NMDV, aunque son más reducidas en número que las del NTS. Sin embargo, las motoneuronas del NMDV tienen extensas dendritas que penetran en el NTS y son especialmente prominentes justo bajo el AP, en la parte medial y lateral del NTS comisural y las cuales se extienden junto con fibras postremofugales. Esto favorece claramente la posibilidad de contactos directos entre terminales del AP y neuronas motoras del NMDV. Además, el AP proyecta al interior de columnas de neuronas del núcleo ambiguo, de este modo tiene acceso a modular dos fuentes rostrales de neuronas motoras parasimpaticolinérgicas (Gross, 1987).

Proyecciones al Puente Dorsolateral:

Las proyecciones más largas del AP están bien definidas. Compactos haces de fibras eferentes emergen desde el borde caudolateral del AP y pasan entre el NMDV y el tracto solitario, antes de cursar ventrolateralmente a través de la formación reticular y en paralelo con las fibras eferentes del NMDV. Estas fibras también pasan a través del grupo de células catecolaminérgicas A1 y núcleo ambiguo. Una porción de fibras continúa hacia la superficie del tronco del encéfalo y después a la unión tronco-protuberancial, para luego dirigirse al péndulo cerebeloso superior y entrar al núcleo parabraquial lateral (NPL), en la mitad de su extensión rostro caudal, y acabar formando una prominente y densa área terminal. Luego, dos pequeños grupos de fibras emergen medialmente de esta área terminal; uno que pasa por el pedúnculo cerebeloso superior y termina en el interior del

núcleo mesencefálico del trigémino, adyacente al polo rostral de la división dorsal del locus cerúleo, y las fibras restantes continúan al interior del cerebelo, pero se desvanecen antes de alcanzar una terminación identificable. El segundo grupo de fibras en una pequeña área compacta de la parte más medial y dorsal del NPL, aunque algunas fibras se continúan para alcanzar las partes ventrolaterales de la sustancia gris periacueductal, dentro de la misma región de neuronas catecolaminérgicas A6 de la extensión mesencefálica del locus ceruleo (Shapiro y Miselis, 1985).

Las proyecciones al NPL están acompañadas por muchas fibras del NTS, lo que indica una posible e importante influencia del AP y NTS sobre el NPL (Shapiro y Miselis, 1985).El AP, y en general el CVD, tienen algunas vías neurales y humorales comunes con el vago e hipotálamo, lo que sugiere que la conexión neural entre el AP, los restantes núcleos del CVD y el NPL sirve para definir el comienzo de un neuroeje visceral (van der Kooy et al, 1984). El NPL proyecta a algunos lugares del prosencéfalo que son parte del sistema límbico, hipotálamo, tálamo y corteza. Estas regiones, en algunos casos, reciben proyecciones de OCVs localizados rostralmente, y proyectan a la eminencia media u otras estructuras involucradas en la modulación de la glándula pituitaria, sistema autonómico y comportamiento (Miselis, 1987).

Proyecciones a través de los grupos de células catecolaminérgicas pontomedulares:

Las fibras postremofugales pasan a través del conocido grupo de células catecolaminérgicas del sistema pontomedular. La proyección rostral, que cruza el núcleo solitario medial, es coincidente con las neuronas C2 que contienen adrenalina, mientras que, la mayor proyección ascendente del AP, pasa a través de los grupos celulares A2, A1, C1 y A5, a todo lo largo de su trayectoria hacia el NPL. Adicionales extensiones internas de esta proyección alcanzan la proximidad del grupo A6 del locus ceruleo (Shapiro y Miselis, 1985).

El AP es potencialmente capaz de influír sobre el sistema catecolaminérgico el cual, por una parte, proyecta extensamente a casi todo el cerebro y médula espinal e influye ampliamente sobre los mecanismos viscerales y fundamentales de la función cerebral (Gross, 1987; Castañeyra-Perdomo, et al, 1995).

2. *Aferencias del Area Postrema*.

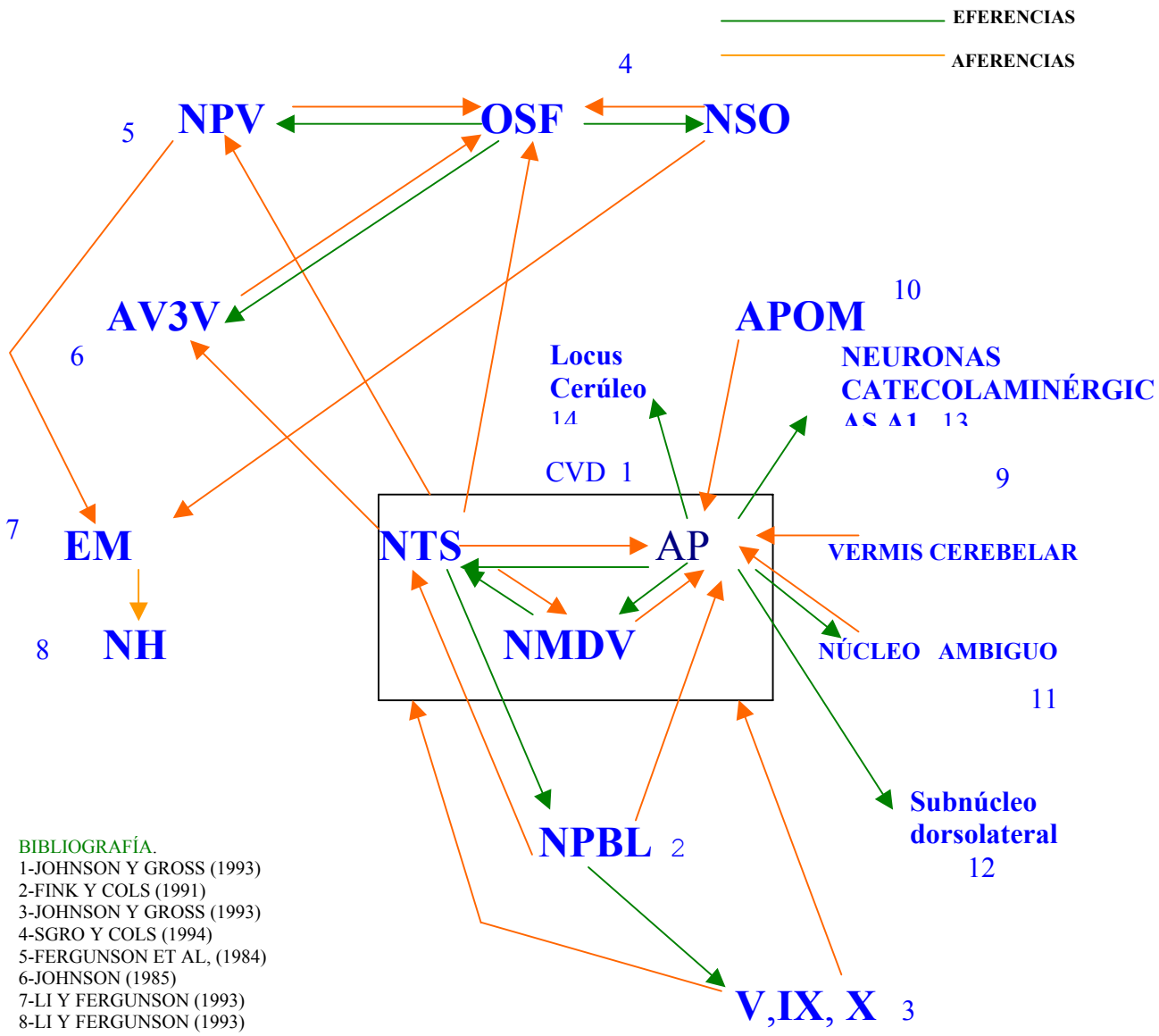
Mediante el transporte retrógrado en el AP, es posible observar algunas células marcadas en las porciones subyacentes inmediatas del NTS (Shapiro y Miselis, 1987; van der Kooy y Koda, 1983). Sin embargo, estas no son numerosas en comparación a la gran cantidad de proyecciones eferentes al NTS. De forma similar, el NPL tiene algunas células marcadas retrogradamente y encontradas siempre en los mismos lugares. Lo disperso de las células marcadas en NPL y NTS indica menor efecto recíproco que, anatómicamente, influye sobre el AP desde esos lugares (Shapiro y Miselis, 1985).

En contraste a las anteriores influencias aferentes sobre el AP, el hipotálamo tiene variadas e importantes proyecciones al AP (Shapiro y Miselis, 1985; Hosoya y Matsushita, 1981). Estas son paralelas a las proyecciones del hipotálamo a otras áreas del CVD (Shapiro y Miselis, 1985). Células marcadas retrógradamente están distribuídas en el interior del subnúcleo lateral parvocelular del núcleo paraventricular del hipotálamo (NPV), área perifornical dorsal del hipotálamo lateral, núcleo anterior dorsomedial (NAD) y el estrato periventricular, entre el NPV y NAD. Estas neuronas tienen prominentes arborizaciones dendríticas de tal manera que rodean una porción del área dorsal hipotalámica llamada núcleo parvocelular (Akmayev et al, 1977).

CONEXIONES

DEL

ÁREA POSTREMA



BIBLIOGRAFÍA.
1-JOHNSON Y GROSS (1993)
2-FINK Y COLS (1991)
3-JOHNSON Y GROSS (1993)
4-SGRO Y COLS (1994)
5-FERGUNSON ET AL, (1984)
6-JOHNSON (1985)
7-LI Y FERGUNSON (1993)
8-LI Y FERGUNSON (1993)
9-SHAPIRO Y MISELIS (1985)
10-CASTAÑEYRA-PERDOMO ET AL, (1992),
11-SHAPIRO Y MISELIS (1985).
12-SILVA-CARVALHO ET AL, (1998)
13-MISELIS (1986).
14-SHAPIRO Y MISELIS. (1985).

NOMENCLATURA.

AP- ÁREA POSTREMA
NTS- NÚCLEO DEL TRACTO SOLITARIO
NMDV- NÚCLEO MOTOR DORSAL DEL VAGO
NPBL- NÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL
OSF- ÓRGANO SUBFORNICAL
NSO- NÚCLEO SUPRAÓPTICO
NPV- NÚCLEO PARAVENTRICULAR
AV3V- REGIÓN ANTEROVENTRAL DEL III VENTRÍCULO
EM- EMINENCIA MEDIA
NH- NEUROHIPÓFISIS
APOM- ÁREA PREÓPTICA MEDIAL
V,IX,X- NERVIOS CRANEALES

4- FUNCIONES DEL AREA POSTREMA.

EMESIS Y SABOR

El AP es probablemente la estructura quimiorreceptora más importante en la aparición de la emesis en respuesta a la ingesta de tóxicos o al estímulo farmacológico (Borison y Brizzee, 1951; Andrews et al, 2000). Sin embargo, la rata no vomita y, por tanto, este es un papel improbable para el AP en esta especie. La rata, en cambio, desarrolla aversiones condicionadas al sabor, las cuales presumiblemente dependen de la detección de un factor circulante capaz de producir náusea. Se ha observado que ciertas lesiones del AP interfieren con el desarrollo de aversiones al sabor, ante ciertas drogas o por la gamma-radiación empleadas para causar la náusea (Ritter et al, 1980; Coil y Norgren, 1981; Ossenkopp, 1983; Andrews et al, 2000). El hecho de que el AP reciba proyecciones viscerales aferentes, así como que interaccione y proyecte al interior del NTS, sugiere que este último puede ser el lugar del proceso neural para la modulación del sabor como consecuencia postingestional del alimento (Cunningham et al,1994; Pashchenko y Sukhoterin, 2000).

En la función gastrointestinal concerniente a las vías centrales eméticas, se ha estudiado la citoarquitectura y la distribución de 8 vías neuroquímicas en el complejo vagal dorsal (CVD) del hurón: área postrema, núcleo del tracto solitario -NTS- y el núcleo motor dorsal del vago (Boissonade et al, 1996). Las características citoarquitectónicas de esta región en el hurón fueron similares a las observadas en otras especies. La citoarquitectura del CVD del hurón es más similar al gato que a la rata, especialmente con respecto al área postrema y los subnúcleos gelatinosos del NTS. En cualquier caso, el hurón posee un subnúcleo gelatinoso particularmente largo y diferente del NTS. Se encontraron densos puntos de calcitonina en los subnúcleos gelatinosos, intersticial y subnúcleo comisural del NTS, con menor cantidad en otras regiones del CVD. En todo el CVD se

encontró inmunorreactividad a la encefalina de densidades variables. Se observó una moderada inmunorreactividad a la galanina a través del CVD, con excepción del subnúcleo gelatinoso del NTS, donde estuvo virtualmente ausente. Se observó además, una densa inmunorreactividad al neuropéptido Y en el subnúcleo gelatinoso y en el subnúcleo intersticial, y moderada inmunoreactividad en otras regiones del CVD. La inmunorreactividad a la neurotensina estuvo muy esparcida o ausente. La de la serotonina apareció distribuída por todo el CVD. Se observó inmunorreactividad moderada a la somatostatina en una larga porción del CVD, pero estuvo prácticamente ausente en el subnúcleo gelatinoso y en el intersticial. La distribución de sustancias neuroactivas fue muy similar a otras especies; las diferencias estuvieron presentes, particularmente, en los modelos de inmunorreactividad para la encefalina, serotonina, neuropéptido Y y somatostatina (Boissonade et al, 1996).

INGESTA DE ALIMENTO Y PESO CORPORAL

Se ha descrito que las lesiones del AP que involucran inevitablemente a componentes subyacentes del NTS (subnúcleo comisural), afectan profundamente la regulación del peso corporal y el control de la ingesta de alimento. Así, tras una lesión por aspiración de este área hay un inmediato período de extrema hipofagia y pérdida subsecuente de peso. Usualmente, entre dos y tres semanas después de la lesión, retorna la normofagia y la estabilización del peso corporal (Hyde y Miselis, 1983).

En respuesta a la glucoprivación, las ratas con lesión en el AP no tienen una respuesta hiperfágica normal. Durante el período de hipofagia y pérdida de peso corporal hay una completa ausencia de la respuesta alimentaria; sin embargo, cuando las ratas lesionadas han recuperado su

normofagia y se encuentran en una nueva curva de crecimiento, existe una respuesta alimentaria a la glucoprivación, tras un período de latencia (Hyde y Miselis, 1983).

La ausencia de respuesta alimentaria durante el período de pérdida de peso e hipofagia puede representar una normal desensibilización del control alimentario, mientras que es opuesta cuando ocurre por otros mecanismos causantes de pérdida de peso. Aún más, esta respuesta hiperglicémica a la glucoprivación es también normal si el agente glucoprívico es dado central o periféricamente.

El análisis de la composición corporal ha demostrado que la pérdida de tejido adiposo, particularmente del paquete de grasa retroperitoneal y epididimal, contribuye más significativamente a la pérdida total de peso causada por la lesión en el AP (Hyde y Miselis, 1983). Ratas controles forzadas a la pérdida de peso corporal por alimentación restringida, mostraron el mismo patrón de reducción de tejido adiposo, indicando que la hipofagia y sus consecuencias, más que algunos otros disturbios metabólicos primarios, es suficiente para producir este patrón de cambios en el tejido adiposo. Sin embargo, hay algunas evidencias que indican que la lesión induce a una transitoria hipofagia (Gross, 1987).

El AP y el subnúcleo comisural del NTS (scNTS), como ya se dijo, reciben importantes proyecciones sensitivas viscerales de los órganos abdominales. Después que la lesión destruye esta área, es probable que la pérdida de sensación visceral y las proyecciones interactivas del AP contribuyen a la transitoria hipofagia.

Respecto a la relación entre el área postrema y la grasa corporal, se determina la distribución de la grasa corporal, la obesidad, la presión sanguínea, y la prevalencia de la hipertensión. Se analizaron un total de 10.303 sujetos (4387 hombres de edades entre 40-65, y 5916 mujeres de edades entre 35-65). Las medidas antropométricas fueron el índice de masa corporal (BMI=body mass index), radio de la cintura-cadera (WHR=waist-hip ratio) e índice métrico (MIX), como una medida de la silueta

corporal que es derivada de la relación de la caja torácica y anchura y estatura. Se obtuvo la presión sistólica y diastólica, usando aparatos oscilométricos automáticos. La conclusión que se obtuvo fue que las medidas de obesidad general (BMI), de obesidad central (WHR) y de estructura ósea (MIX) estuvieron independientemente asociadas con la prevalencia de la hipertensión. Los mecanismos biológicos que relacionan la medida de la masa corporal con la hipertensión, sin embargo, están aún en fase de investigación y necesitan más explicación (Kroke et al, 1998).

HOMEOSTASIS DE FLUÍDOS

La lesión del AP y scNTS causa algunos cambios permanentes en el balance de fluidos (Hyde y Miselis, 1983; Ferrario, 1986). Así, se ha visto que inmediatamente después de la lesión de éste órgano hay un corto período de hipodipsia que acompaña la hipofagia, aunque es necesario señalar que esta hipodipsia es, en realidad, una relativa hiperdipsia si se compara en proporción a la comida ingerida. La ingesta reducida de agua favorece una hiperdipsia mantenida, leve y relativa, la cual es secundaria a la pérdida urinaria de agua. En comparación con ratas pseudooperadas, las ratas lesionadas presentan pérdida continua de orina cuando el acceso a la toma de agua se prolonga 24 horas en pruebas de total deprivación (Hyde y Miselis, 1983). Trabajos más recientes, han demostrado que la leve hiperdipsia está también presente en ratas con yugo alimentario, indicativo que la alteración del fluído corporal puede ser consecuencia de la subalimentación y/o pérdida de peso corporal (Arima et al, 1998; Ganong et al, 2000).

En respuesta a cambios agudos en el balance de agua, como pueden ser la respuesta a angiotensina II, hipovolemia (Edwards y Ritter, 1981), deprivación de agua durante la noche y deshidratación intracelular (Hyde y Miselis, 1983), ratas con lesión de AP y NTS subcomisural responden bebiendo excesivamente.

En el caso de deprivación de toma de agua durante la noche, la toma excesiva de los animales lesionados es algo errónea. Cuando los experimentos son hechos en jaulas metabólicas y controlando el balance de agua, está claro que la pérdida renal de agua es también excesiva y las ratas lesionadas no mejoran la reducción de su balance negativo de agua (Hyde y Miselis, 1983; Ferguson et al, 1994).

Las ratas lesionadas responden a la deshidratación celular, causada por inyección de solución salina hipertónica, con un aumento rápido en la ingestión de la bebida, continuando así durante 8 horas, pero luego se compensa bebiendo menor cantidad durante las siguientes 16 horas en comparación a los animales control. La excesiva ingesta inicial no puede ser explicada por la excesiva duración de la condición hiperosmótica dada por la retención renal de sodio. Las ratas controles y lesionadas excretan la carga de sodio en la misma proporción durante las primeras 8 horas. Sin embargo, durante las siguientes 16 horas, las ratas lesionadas son más natriuréticas que las ratas controles (Miselis et al., 1987).

Bajo condiciones de acceso ad libitum a comida, agua y solución salina, las ratas lesionadas también tienen una excesiva ingesta de sal o elevado apetito a la sal (Hyde y Miselis, 1983; Collister y Osborn, 1998). Esto aparece secundariamente a la pérdida renal de sal debido a la continua natriuresis de las ratas lesionadas cuando se sometieron a nulo acceso de comida, agua o solución salina (Hyde y Miselis, 1983).

Con respecto a los fluídos, hay una tendencia general hacia la excesiva respuesta de las ratas con lesión de AP/scNTS, presentando leve polidipsia, sobreingesta de agua mediada por la angiotensina II, deprivación de agua y deshidratación intracelular. Esto sugiere que el AP y/o sus terminaciones aferentes periféricas, actúan como importantes receptores para la retroalimentación fisiológica, la cual reduce la pérdida renal y tal vez las respuestas de comportamiento.

En algunos casos la excesiva ingesta de agua se da en gran medida por la pérdida renal primaria. Sin embargo, la respuesta a la angiotensina II es un buen ejemplo de sobreingesta que también sirve para enfatizar la importancia de la interconexión del neocircuito visceral de los OCVs. Se sabe que la angiotensina II circulante estimula la acción de beber porque actúa sobre el órgano subfornical (OSF) (Simpson, 1981), y que las proyecciones eferentes del OSF son las mediadoras de la respuesta, por lo que, microtransecciones de estas proyecciones, eliminan la respuesta de beber ocasionada por la angiotensina II (Eng y Miselis, 1981).

Por otro lado, lesiones del AP/scNTS y del NPL causan una elevada respuesta a la bebida por la angiotensina II. En estos lugares, el NPL puede antagonizar los efectos de la angiotensina II sobre la bebida, los cuales son mediados por el OSF. En suma, el daño causado a consecuencia de la lesión del AP/scNTS a otros de los neurocircuitos sensitivos tiene que ser considerado, particularmente, como implicaciones que involucran otros sistemas funcionales (Gross, 1987).

REGULACIÓN CARDIOVASCULAR

En el perro, la angiotensina II circulante aparentemente obliga al AP a causar una respuesta en la presión (Gildenberg et al, 1973; Joy,1970; Joy,1971; Barnes y Ferrario, 1984), la cual es mediada por una vía simpático-facilitatoria (Barnes y Ferrario, 1980). En la rata, la destrucción del AP no elimina la fase aguda del efecto de la presión mediada centralmente de la angiotensina II (Fink et al., 1986; Lowes y Ferguson, 1994), sin embargo, sí reduce la fase crónica de la presión sanguínea elevada en respuesta a la continua administración de angiotensina II (Fink et al., 1986; Fink,1997).

En el conejo, hay datos que sugieren que el AP puede ser una estructura receptora de la vasopresina, que se retroalimenta centralmente para aumentar el reflejo barorreceptor (Undesser et al., 1985). Así mismo, el AP tiene una importante proyección al área barorreceptora del NTS

(Shapiro y Miselis, 1985; Boissonade 1996; Ganong 2000) y al núcleo motor que inerva al corazón, es por lo tanto razonable que sea un receptor para factores circulantes que afectan a la presión sanguínea (Castañeyra-Perdomo et al, 1993).

5. RELACION DEL AP CON LA HIPERTENSIÓN .

La *angiotensina **II***, AII, es una neurohormona implicada en la regulación de la homeostasis y en la función cardiovascular (Phillips, 1987). La angiotensina II ejerce un papel predominante sobre la arteriola eferente que es esencial para la autorregulación del filtrado glomerular. A pequeñas dosis produce retención de sodio y agua, con descenso del flujo plasmático renal; a grandes dosis provoca un aumento de la excreción renal de sodio y agua (Hopkins et al, 1996). Es un producto fisiológicamente activo del sistema renina-angiotensina y juega un papel importante en la regulación hemodinámica (Page, 1987). La AII no atraviesa la barrera hematoencefálica por lo que actúa sobre los órganos circunventriculares con el fin de acceder a los receptores cerebrales (Mark y Farmer, 1984). Actúa directamente sobre receptores específicos de la musculatura lisa de los vasos sanguíneos (receptores AT1), Fukamizu et al, 1993. La AII actúa sobre el AP, (libre de la barrera hematoencefálica) estructura que está íntimamente ligada al hipotálamo, estimulando el centro de la sed y la secreción de ACTH y vasopresina, aumentando además, el tono adrenérgico periférico.

La angiotensina II (AII) se produce al escindir dos aminoácidos carboxiterminales de la angiotensina I (AI) por medio de la acción de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA) Kininasa II (Soffer, 1976). La enzima se halla, principalmente, a lo largo de la superficie apical del endotelio capilar en el pulmón y en otros órganos periféricos. Se cree que la AII produce varios efectos fisiológicos que son mediados, al menos en parte, por una acción directa de la hormona sobre el sistema nervioso central (Brody y Johnson, 1980; Ramsay, 1982; Reid, 1984). Tales efectos

incluyen la ingesta de agua, el incremento de la presión arterial, la secreción de vasopresina y la secreción de la hormona adrenocorticotropa (Bruner et al 1985).

Por otro lado, durante un tiempo de hiperosmolaridad, se producen respuestas fisiológicas como son, la ingesta de líquidos, la retención de agua y la excresión de sodio. Todos estos efectos son el resultado de las acciones de la AII sistémica sobre el SNC (Simpson et al, 1978). En condiciones de deshidratación, las células en el OSF y AP, captan señales periféricas tales como el incremento de los niveles de AII y la hipertonicidad plasmática, induciendo la sed, el apetito de sodio y la secreción de vasopresina a través de un elaborado circuito neuronal que conecta los sistemas motor y límbico, los núcleos viscerales sensoriales, la región preóptica, el hipotálamo, el tronco del encéfalo y la médula espinal. Estas estructuras pueden afectar a los centros autonómicos para modular la inervación simpática de los vasos periféricos (Simpson, 1981; Swanson y Mogenson, 1981; Miselis et al, 1987). Se admite también el papel de la AII en la regulación de la respuesta al estrés. El estrés por inmovilización incrementa la actividad de la renina plasmática (Jindra et al, 1980), lo que indica una activación del sistema renina-angiotensina periférico.

Se ha sugerido que la AII estimula la secreción de ACTH, incrementando la secreción de ACTH-RF desde el hipotálamo o potenciando los efectos de la ACTH-RF en el lóbulo anterior hipofisario (Phillips, 1987), existiendo una elevada concentración de lugares de unión para AII tanto en el PVN (Saavedra et al 1986), como en el lóbulo anterior hipofisario (Israel et al, 1984; Castañeyra-Perdomo et al, 1999).

La AII cerebral parece trabajar en conexión con el sistema periférico renina-angiotensina para regular la presión sanguínea y la homeostasis de fluídos. La angiotensina II es la principal hormona del sistema renina-angiotensina-aldosterona (Rossi, 1999). Tanto en la perifería como en el sistema nervioso central, la AII actúa a través de receptores de membrana (Fukamizu et al, 1993). Se ha

propuesto a los órganos circunventriculares como los sensores neurales para la AII libre en sangre. Los receptores de la angiotensina en los órganos circunventriculares, tales como el OSF y el AP, son sensibles a los péptidos circulantes y a los de localización central, mientras que aquellos receptores situados en otras áreas cerebrales, se encuentran dentro de la barrera hematoencefálica y solamente pueden ser estimulados por AII endógena cerebral.

La ***vasopresina***, es una hormona localizada en el hipotálamo, en el cual existen núcleos formados por neuronas magnocelulares cuyos axones forman dos tractos que van desde el hipotálamo a la hipófisis, a través del tallo hipofisario, y que terminan en el lóbulo posterior de la hipófisis. Uno estaría constituído por el sistema de fibras supraóptico hipofisario que libera la vasopresina (Harding et al, 1995). La vasopresina se sintetiza en la región supraóptica y en el núcleo paraventricular y su función es capital en la conservación del líquido corporal. La vasopresina es un péptido de nueve aminoácidos que se sintetiza en la región supraóptica junto a una proteína encargada de su transporte, la neurofisina, que la transporta a lo largo de los axones neuronales, dentro de los gránulos secretores hasta alcanzar el lóbulo posterior de la hipófisis donde queda almacenada. (Ferris et al, 1995). En condiciones normales, la presión osmótica del plasma y el volumen sanguíneo circulante son los factores más importantes en la regulación de la secreción de vasopresina. La secreción de vasopresina se incrementa por la administración central, y quizás también, por la administración periférica de AII. La administración central de AII estimula la secreción de vasopresina desde la neurohipófisis (Castren y Saavedra, 1989).

Las acciones de la vasopresina son las siguientes:

-*Osmoregulación*: la osmolaridad del plasma se mantiene constante dentro de unos límites extremos; modificaciones tan pequeñas como las de un 1% de la osmolaridad plasmática originan cambios en las concentraciones de la hormona antidiurética (ADH) vasopresina. La osmolaridad

normal es de 282 mOsm/kg; cuando se eleva a 287mOsm/kg aparece un aumento de la secreción de la vasopresina, constituyendo este umbral osmótico. Los diferentes solutos del plasma estimulan en grados diversos a los osmorreceptores, siendo el sodio el que mayor estímulo ejerce sobre la secreción de ADH a través de los osmorreceptores.

-*Cambios de volumen*: sus variaciones influyen en la secreción de vasopresina. Las disminuciones de volumen o las hemorragias estimulan su secreción, aún cuando su sensibilidad es mucho menor que la que presentan las variaciones osmóticas plasmáticas. En la aurícula izquierda, el arco aórtico y el seno carotídeo hay receptores que controlan el volumen plasmático y, a través de fibras aferentes, llegan al tronco cerebral por los nervios vago y glosofaríngeo y, en último término, alcanzan los núcleos hipotalámicos magnocelulares.

-*Cambios en la presión arterial*: los barorreceptores del seno carotídeo y de la aorta, en respuesta a cambios de la tensión sanguínea, modifican la secreción de la vasopresina. La hipotensión intensa induce su liberación exagerada que, por las elevadas concentraciones de ADH que se alcanzan, puede producir una vasoconstricción que ayuda a elevar la presión arterial.

El estrés y el dolor producen un efecto estimulante sobre la vasopresina, posiblemente por su acción sobre el área postrema (Arima et al, 1998).

Algunos fármacos estimulan su liberación, como la clorpropamida (sulfonilurea), la nicotina y la morfina. El alcohol inhibiría su liberación (Bañuelos-Pineda et al, 1995), así como de forma más compleja los corticoides, por lo que en la insuficiencia suprarrenal existe aumento relativo de vasopresina que produce hiponatremia.

En la rata, la AII circulante ejerce muchas de sus acciones centrales mediante la estimulación de receptores en el OSF y AP, habiendo sido demostrada en estudios in vitro (Sirett et al, 1977), una

elevada concentración de receptores para la AII en el OSF, y, en estudios in vivo, una elevada afinidad de los receptores para la AII libre en sangre o en LCR (Van Houten et al, 1980, 1983).

Se ha señalado que la AII circulante actúa en el OSF de ratas para provocar sed, y una respuesta presora mediada centralmente. La función del AP se relaciona también con el efecto de la AII y la vasopresina en la regulación cardiovascular (Saavedra et al, 1986).

Como hemos mencionado con anterioridad, la angiotensina de origen periférico estimula los receptores en el sistema nervioso central, para la iniciación de reacciones compensatorias a la pérdida de líquidos. Mientras el AP es un receptor importante en muchas especies, parece ser de menor importancia en la rata (Simpson, 1981). En este animal, el OSF podría ser el lugar donde se encuentran los receptores centrales para la angiotensina circulante (Lind y Johnson, 1982).

Algunos autores han establecido que la inyección de AII produce cambios en la actividad neuronal en el AP en gatos (Borison et al 1975; Stebbins et al, 1998), pero carece de efecto sobre la actividad de las neuronas del AP de la rata (Brooks et al, 1983; Ferguson et al, 1990). En concordancia con estos estudios electrofisiológicos, otros autores refieren que el AP media los efectos cardiovasculares de la AII en el gato, pero no en la rata (Simpson, 1981).

Muchos investigadores (Gildenberg et al, 1973; Joy, 1971; Joy y Lowe, 1970; Szilagy y Ferrario, 1980 y 1981; Stebbins et al, 1998), han demostrado que la AII administrada en las arterias vertebrales, actúa específicamente a nivel del AP para facilitar la actividad simpática vasomotora. También Barnes y Ferrario (1980), han demostrado que la estimulación eléctrica del AP del perro produce una gran respuesta presora que se acompaña de un aumento en la frecuencia cardiaca, simulando los efectos de la AII. A su vez, Szilagy y Ferrario (1981), demuestran que el antagonista específio Naloxona, reduce significativamente la respuesta presora a la AII mientras que la morfina mejora la respuesta del Area Postrema a la Angiotensina II.

Además la AII sistémica se une a receptores específicos en el OSF (Van Houten et al 1983), influyendo sobre las neuronas del OSF que proyectan a los núcleos hipotalámicos supraóptico y paraventricular (Tanaka et al, 1985; Fink, 1997), incrementando así la actividad de las neuronas secretoras de vasopresina en esas regiones (Ferguson y Renaud, 1986; Hasser et al, 2000).

Debido a que tanto el OSF como la neurohipófisis contienen altas concentraciones de angiotensina (Saavedra et al, 1982), y además el OSF tiene una elevada densidad de receptores para la AII (Mendelsohn et al, 1984), es posible que la AII circulante estimule directamente los mecanismos angiotensín-sensitivos en estas dos estructuras. Un estímulo neural, que alcanza el OSF durante la administración de AII, podría dar como resultado la utilización de la glucosa en el lóbulo neural, ya que estas dos estructuras están anatómicamente conectadas (Knepel et al 1982). Así, alteraciones en su actividad pueden influír en la secreción de vasopresina desde la neurohipófisis (Keil et al 1975). Además, el OSF y la neurohipófisis podrían ser los lugares para una interacción entre los sistemas periféricos y central de la angiotensina (Gross et al 1985; Fink, 1997). Por otro lado, la AII es una potente hormona vasoactiva que, además de su efecto sobre el SNC, actúa sobre el sistema vascular, el riñón, el intestino y el sistema nervioso autónomo.

Estudios electrofisiológicos han mostrado que existen grupos de neuronas que responden, específicamente, a la AII localizada en el órgano subfornical, en el área septal y en las áreas supraóptica y preóptica (Félix et al, 1982; Krstew et al, 1998). Esto se ha demostrado mediante la inyección microiontoforética de AII en estas regiones, que generalmente causa excitación de la actividad neuronal, siendo este efecto dosis-dependiente e inhibido por la iontoforesis simultánea del antagonista específico de la AII, saralasín (Félix et al, 1982).

Existen considerables evidencias que sugieren que la AII periférica, que no cruza la barrera hematoencefálica, activa los receptores localizados en los órganos circunventriculares, que carecen

de esta barrera (Phillips et al 1977). De hecho, estudios anteriores han mostrado que la inyección de AII dentro del OSF produce sed (Simpson y Routtenberg, 1973; Castañeyra-Perdomo et al, 1999), e incrementos de la presión sanguínea (Romero, 1999). Las lesiones electrolíticas del OSF anulan el efecto dipsogénico y atenúan la acción hipertensora (Mangiapane y Simpson, 1980; Lippoldt et al, 1993).

Por otro lado, se ha encontrado dentro del cerebro renina endógena, la enzima convertidora de la Angiotensina, receptores de AII (Brownfield et al 1982), aceptándose por tanto, que el cerebro tiene su propio sistema renina-angiotensina (Ganten et al 1983; Reaux et al, 1999). Existe una densa concentración de receptores para la AII (Mendelsohn et al 1984; Fukamizu et al, 1993) en el OSF y ésto, unido a la elevada actividad de la enzima convertidora de la angiotensina en esta estructura (el OSF), sugiere la posibilidad de que la AII formada localmente esté implicada en el metabolismo del órgano subfornical (Saavedra et al 1982).

La AII circulante produce respuestas coordinadas, tanto en la perifería, donde origina contracción arteriolar y secreción de aldosterona desde la corteza adrenal, como en el cerebro, donde parece interacturar con las neuronas en el órgano subfornical que a su vez estimulan la secreción de vasopresina y de ACTH que inducen la ingesta de líquidos (Simpson, 1981; Castañeyra-Perdomo et al, 1999). Además la AII circulante y la AII en vías neurales específicas convergen en el OSF, para producir respuestas que intervienen en la regulación del balance hidrosalino en la rata (Lind et al 1984b). Por otro lado, independientemente de este efecto anterior, el péptido natriurético atrial inhibe la secreción de renina y aldosterona produciendo natriuresis que se asocia a una elevación de la tasa de filtración glomerular y a una disminución de la presión arterial.

La explicación de que la AII sistémica actúa en el OSF para incrementar la concentración CRH en el plasma hipofisario portal y, asímismo, que la estimulación eléctrica en el OSF incrementa

significativamente las concentraciones plasmáticas de ACTH (Ferguson y Plotsky, 1987; Lippoldt et al, 1993), indican que la AGII circulante está implicada en la secreción de dicha hormona hipotalámica mediante una acción primaria dentro del OSF (Ferguson, 1988).

La angiotensina II intraventricular es un potente estímulo para la secreción de vasopresina (Mow et al 1971; Fink, 1997). También la inyección de AII directamente dentro del OSF incrementa la secreción de vasopresina (Eng y Miselis, 1981). Las neuronas en el núcleo supraóptico (Miselis, 1981), el órgano subfornical (Félix y Akert, 1974), y la región ánteroventral del III ventrículo (Gronan y York, 1978), son excitadas cuando se inyecta la AII iontoforéticamente dentro del núcleo supraóptico (NSO) (Simonnet et al 1979; Zhang et al, 1992), y del OSF (Simpson, 1981). Además dichas inyecciones producen un incremento de arginina-vasopresina plasmática (Van Houten et al, 1980, Zhang et al, 1992).

En resumen, podemos decir que tanto el órgano subfornical como el área postrema son dos de las estructuras cerebrales más relacionadas con la angiotensina II (AII), la angiotensina I (AI), la vasopresina (VP) y también con la enzima convertidora de angiotensina I en angiotensina II (ECA).

No se ha llegado a conclusiones finales que manifiesten si el Area Postrema (AP) está implicada en la regulación de la actividad cardiovascular en ratas.

Se ha sugerido que la Arginina-Vasopresina (AVP) interacciona con el sistema nervioso central vía Area Postrema (AP), dando lugar a la supresión del estímulo renal simpático en estudios a corto plazo (Nishida et al, 1997). Si este efecto simpático-inhibitorio dura mucho tiempo, la interacción neurohumoral podría incrementar la excreción urinaria por la supresión de la salida neurogénica de sodio y agua. Estudios en conejos intactos (Int), y en conejos con el AP lesionada (APX) cateterizados crónicamente, a los que se les inyectó arginina-vasopresina (AVP) intravenosa (0.1mUkg-1min-1) durante 5 días consecutivos, demostró que el volumen de orina y las tasas de

excresión urinaria de sodio en conejos intactos fueron más bajos que en los conejos APX, durante la administración de AVP. La menor producción de orina en conejos Int se confirmó también en el balance diario de agua y sodio y en el peso corporal, en la concentración plasmática de sodio y en valores de osmolaridad plasmática. La presión arterial media no se alteró en ninguno de los grupos de conejos, mientras que la velocidad del corazón disminuyó en los conejos intactos. Estos datos sugieren que el AP, por medio de la acción de la AVP, aumenta la retención de agua y mantiene la bradicardia a largo plazo (Nishida et al, 1997).

Diversos autores han estudiado la función del AP en la regulación de la presión sanguínea basal en condiciones normales y experimentales (estrés al frío) en ratas Sprague-Dawley. Los animales estresados fueron expuestos al frío de forma intermitente (2 grados C, 3h/día durante 14 días). Los resultados mostraron que no existían diferencias significativas entre la presión sistólica sanguínea medida, antes y después de lesionarse el AP. El grupo con el AP lesionada tuvo una presión sanguínea sistólica similar a los grupos expuestos al frío, así como al grupo control bajo condiciones ambientales normales. Sin embargo, se encontró que el estrés al frío producía un significativo incremento en la presión sanguínea sistólica en ratas con AP lesionadas, pero no en las ratas en las que se simuló la lesión, durante dos semanas. Además, no hubo diferencias significativas entre las presiones sanguíneas de las ratas en las que se simuló la lesión con o sin estrés al frío, y el grupo control. Estos resultados sostienen que el AP juega un papel importante en el mantenimiento de la presión sanguínea basal bajo condiciones normales, e indica que el AP es importante en el mantenimiento de la presión sanguínea normal bajo condiciones de estrés (frío). (Quiam y Koon 1998).

Otros trabajos sobre el AP señalan que la arginina-vasopresina (AVP) circulante puede aumentar la vía barorrefleja en el AP (Stebbins et al, 1998). Se estudió la hipótesis de que la AVP actúa en el

AP para incrementar la función barorrefleja durante la contracción estática. La presión arterial y la velocidad cardiaca (HR), durante 30 segundos de estimulación eléctrica de la extremidad distal, se comparó antes y después de microinyecciones bilaterales de 200nl del antagonista del receptor V1 de la AVP: V1X. Este protocolo se repitió en animales a los cuales se les realizó la denervación del seno aórtico (SAD). La inyección de V1X en el AP no tuvo efectos en la presión sanguínea o en la velocidad cardíaca (HR). Las respuestas de la velocidad cardíaca a la contracción estática estuvieron aumentadas. La contracción estática incrementó la AVP del plasma. En los gatos SAD las microinyecciones de V1X no tuvieron efectos en la contracción inducida. Estos resultados sugirieren que el barorreflejo de la respuesta cardiovascular a la contracción estática es incrementada por la acción de la AVP en el AP (Stebbins et al, 1998).

Por otro lado, se han utilizado ratas transgénicas (Tg +) que llevan el gen de ratón Ren-2d (mRen-2d)-27 (son una reciente forma monogenética estabilizada de la hipertensión experimental). Para determinar si el AP contribuye al desarrollo de la hipertensión en las ratas mRen-2 Tg+ se eliminó el órgano circunventricular en el IV ventrículo a las ratas Tg+ de cinco semanas de vida. Desde la 4ª semana a la 9ª, la presión sistólica se midió semanalmente por un tensiómetro de cola Aunque la presión sistólica en ratas Tg+ se elevó marcadamente, el incremento de la presión sistólica estaba significativamente atenuado en las ratas Tg+ con el AP lesionada. La presión Arterial Media (PAM) en ratas Tg+ con el AP lesionada fue significativamente menor ($P<0.1$), que las ratas pseudolesionadas (171+/- y 132.+/-5mmHg, respectivamente). No hubo diferencias significativas en la sensibilidad del reflejo barorreceptor entre los dos grupos. Se usó pentolinium intravenoso (5mg/kg) para producir bloqueo ganglionar simpático y causó descensos significativos en la presión arterial media en ambos grupos. De todas formas, la reducción de PAM en el grupo no lesionado fue significativamente mayor ($P<0.05$), que en el grupo de ratas del AP lesionada. Estos resultados

sugieren que la extirpación del AP atenúa el desarrollo de la hipertensión en m-Ren-2d de ratas Tg+, y esta atenuación puede ser atribuída al descenso del flujo simpático (Averill et al, 1996).

Otro caso estudiado es el de la hipertensión causada por estrechamiento luminal de una arteria renal (hipertensión renovascular). El mecanismo primario por el cual la AngII aumenta la presión sanguínea es cuestionado.

Como elemento clave puede confirmarse la contracción vascular, los efectos en la excreción renal de sodio y agua o las acciones tróficas en estructuras cardiovasculares. Existen evidencias de que la angiotensina II influye en la presión sanguínea modulando la actividad del sistema nervioso autónomo. La modulación puede ocurrir en ambos aspectos, periférico y central, del sistema autónomo. Las investigaciones experimentales y clínicas confirman las hipótesis de que los efectos de la presión mediada simpáticamente, se incrementan por la AngII circulante y por la derivada en el cerebro en la hipertensión. Trabajos recientes señalan específicamente a las neuronas simpáticas premotoras en la médula ventrolateral -rostral (RVLM) como un lugar de acción de la AngII cerebral en animales normotensos e hipertensos. Estas neuronas parecen ser un importante relevo en la respuesta simpatoexcitatoria a la circulación de AngII iniciada en órganos circunventriculares, particularmente en el AP. La AngII tiene importantes efectos en la respuesta barorrefleja. Estas no median la simpatoexcitación causada por la AngII circulante, pero enmascaran su expresión. Datos circunstanciales confirman la hipótesis de que las concentraciones sanguíneas incrementadas de AngII, en la hipertensión renovascular elevan la presión sanguínea por vasoconstricción mediada a través del AP y RVLN (Fink, 1997).

La Aminopeptidasa A es una metaloproteasa de zinc unida a membrana que fragmenta la angiotensina II en angiotensina III. Usando un nuevo y específico inhibidor de la Aminopeptidasa A

(EC33), se evalúa su actividad enzimática en varios núcleos cerebrales, implicados en el control de las funciones cardiovasculares y en la pituitaria. Comparando la distribución de éste y de la enzima convertidora de la angiotensina I en angiotensina II, se detecta que la Aminopeptidasa A estaba heterogéneamente distribuída. La pituitaria y los órganos circunventriculares eran las fuentes más ricas de la enzima (la eminencia media, el área postrema y los plexos coroideos), y también el hipotálamo (el núcleo supraóptico, el núcleo arcuato y el núcleo paraventricular). No se encontró ningún paralelismo entre las distribuciones de la Aminopeptidasa A y la enzima convertidora de la Angiotensina I. Se examinaron ambas actividades enzimáticas en los núcleos cerebrales de ratas espontáneamente hipertensas. La actividad de la Aminopeptidasa A era más alta en las ratas espontáneamente hipertensas que en las ratas control Wistar Kyoto, y también fue más alta en varios núcleos cerebrales implicados en la regulación de la presión sanguínea; en contraste, no hubo diferencias en la actividad de la enzima convertidora de la angiotensina I en las mismas regiones. La correspondencia entre la distribución de la actividad de la aminopeptidasa A y los receptores de la angiotensina y terminales nerviosos en el cerebro, asociada con la observación de la actividad de la aminopeptidasa A, fue más activa en las ratas espontáneamente hipertensas, lo que sugiere que esta enzima podría contribuír, por lo menos en parte, a la regulación de las funciones cardiovasculares por su habilidad para convertir angiotensina II en angiotensina III (Zini et al 1997).

El papel del área postrema en el control a largo plazo de la homeostasis del fluído corporal y de la presión arterial, bajo condiciones de dietas ricas en sal, está aún en proceso de investigación. Se propone un modelo en el cual la actividad simpática es suprimida cuando la dieta de sal se incrementa. En esta hipótesis el área postrema actúa como un lugar de integración esencial de la parte posterior del cerebro. Un componente primordial de esta hipótesis, es que los niveles basales de angiotensina II circulante, mantienen la presión arterial en animales que consumen una dieta

normal en sal, actuando en el AP para llevar a cabo la actividad simpática. Este modelo se apoya en la observación de que, a largo plazo, la respuesta hipotensora al losartán, el antagonista del receptor AT1, está atenuada en ratas con el AP lesionado (APx). La infusión de sal hipertónica intragástrica incrementa el plasma venoso portal, pero no el plasma sistémico, aumenta también la osmolaridad y la inmunorreactividad en el AP, núcleo del tracto solitario y el supraóptico, núcleo paraventricular y núcleo parabraquial lateral. Otros estudios han mostrado que la estimulación de esos receptores disminuye la actividad simpática renal. La hipótesis plantea que el AP es esencial en el control a largo plazo de la presión arterial y en la homeostasis del fluído corporal, bajo condiciones de alteración de la sal en la dieta. Las respuestas de la presión arterial, y del balance de sodio y agua, a los cambios salinos de la dieta se midieron en ratas intactas y en ratas Apx. Contrariamente a la hipótesis anterior, las ratas APx no exhibieron regulación defectuosa de la presión arterial o del balance hídrico. De cualquier modo, las ratas APx demostraron una dificultad para excretar sodio cuando la sal era elevada. Según estas observaciones, se concluye que el AP es importante en el control del balance de sodio, pero no en la presión arterial cuando la dieta en sal está alterada (Osborn et al, 2000).

El control preciso del sistema cardiovascular requiere la integración de señales humorales y neurales relacionadas con el volumen y la presión sanguíneos. Las señales humorales interaccionan con sistemas neurales, modulando su control sobre los mecanismos eferentes que determinan finalmente el nivel de presión y el volumen. Hormonas peptídicas, como la angiotensina II y la arginina-vasopresina, actúan a través de los órganos circunventriculares para influír en la regulación cardiovascular. El área postrema al menos, algunas de las acciones centrales de esos péptidos. La vasopresina parece actuar en el área postrema y causar inhibición simpática, así como un cambio en el control barorreflejo del sistema nervioso simpático para reducir la presión. Esos efectos de la

arginina-vasopresina en el área postrema, parecen ser mediados por el alfa2-adrenoceptor y por mecanismos glutamatérgicos en el núcleo del tracto solitario. En contraste con la arginina-vasopresina, los efectos de la angiotensina II en el AP son el control barorreflejo del latido cardíaco y la simpatoexcitación. Los efectos de la angiotensina II crónica, para incrementar la actividad del sistema nervioso simpático, pueden ser debidos a la activación del área postrema dependiente de neuronas en la médula ventrolateral rostral (Hasser et al, 2000).

El estudio autoradiográfico in vitro con (3H)DPCPX, para visualizar la presencia de receptores A1 de adenosina, en el nódulo ganglionar de la rata que contiene los somas de neuronas vagales que proyectan al núcleo del tracto solitario, se vio que los receptores A1 de adenosina están sujetos al flujo axoplásmico a lo largo del nervio vago de la rata, por acumulación de (3H)DPCPX. Se utilizaron ensayos de radioligandos unidos para caracterizar las propiedades de los receptores A1 de adenosina en el complejo vagal dorsal (núcleo del tracto solitario, área postrema y núcleo dorsal motor del vago) de ratas normotensas, crías y adultas (WKY), y ratas espontáneamente hipertensas (SHR). La saturación de las uniones indicó que la afinidad (KD) de (3H)DPCPX y la densidad de los lugares de unión no eran diferentes entre los adultos de WKY y SHR, aunque las crías de SHR tuvieron valores KD más bajos que las crías de ratas WKY. Con respecto a la hipertensión, la afinidad del agonista de la adenosina selectiva A1, ciclohexiladenosina (CHA), estaba marcadamente reducida en las membranas de SHR comparada con WKY (Krstew et al, 1998).

Por otro lado, se administró la hormona gamma 2-MSH (gamma 2-melanocito-estimulante), vía intravenosa, a ratas anestesiadas. La hormona, una melanotropina derivada del péptido precursor pro-opiomelanocortin (POMC), produce variaciones de presión combinadas con taquicardia. Se pensó que el posible lugar de acción podría ser, por ejemplo, el núcleo del tracto solitario (NTS), o bien el área postrema (AP). Obedeciendo a la hipótesis que postula que la gamma 2-MSH actúa

internamente sobre esas regiones del cerebro, se inyectó el péptido en varias partes del NTS y en el AP de ratas anestesiadas, y se midió la presión sanguínea y el latido cardíaco. La inyección de gamma 2-MSH (100-500pmol) en el NTS produjo una disminución en la presión sanguínea, así como en el latido en las ratas conscientes y en las anestesiadas. Con respecto a los efectos de bradicardia, la melanotropina fue mucho más potente cuando se inyectó en el pars commisuralis que en la parte medial del NTS. Cuando se inyectó en el AP las respuestas fueron máximas después de los 3-4 minutos, y pasados 15 minutos la gamma 2-MSH no tuvo efectos. Cabe destacar que se encuentre un efecto hipotensor y bradicardia, por la gamma 2-MSH, en ratas anestesiadas con pentobarbital por vía intravenosa. Por tanto, se concluye que también a la respuesta de presión y taquicardia, la gamma 2-MSH puede crear un efecto opuesto por interacción con estructuras apartadas del NTS, como la pars commisuralis (De Wildt et al, 1994).

Por otro lado, la distribución de las estructuras inmunorreactivas a la hormona alfa-MSH se estudiaron en el tronco del encéfalo del gato, usando la técnica de la inmunoperoxidasa indirecta. La inmunorreactividad se observó en varios núcleos del tronco del encéfalo del gato. Se detectaron fibras inmunorreactivas en el núcleo central inferior, el núcleo motor del trigémino, el núcleo coclear anteroventral, el núcleo retrofacial, el núcleo vestibular superior, lateral, inferior y medial, el núcleo cuneatus, el núcleo del rafe, el núcleo de la oliva, el núcleo ruber, la sustancia negra y el AP entre otros (Covenas, 2000).

La distribución de la sustancia P, (leu)-encefalina, colecistoquinina, neurotensina, polipéptido pancreático del ave y la hormona estimuladora de los melanocitos fue estudiada en el núcleo del tracto solitario de la rata por el método de inmunofluorescencia indirecta. La densidad de la inmunorreactividad varió marcadamente en relación a los neuropéptidos, conteniendo la mayor densidad el núcleo medial y el comisural. La sustancia P y la (Leu)-encefalina, estaban distribuídas

desordenadamente en el núcleo del tracto solitario y en el núcleo comisural y medial, detectándose una alta densidad de fibras inmunorreactivas en el subnúcleo ventral, dorsolateral e intermedio. Además de las fibras inmunoreactivas, también fue identificado un grupo de células sobre el NTS. Estos hallazgos sugieren que la sustancia P y la (Leu)-encefalina estarían implicadas no sólo en la función cardiovascular, sino también en otras funciones como la respiración, por lo menos en la rata. El área postrema, particularmente su porción lateral, contiene varios neuropéptidos, sustancia P, (Leu)-encefalina, colecistoquinina y neurotensina, en neuronas y fibras inmunoreactivas; polipéptido pancreático del ave y gamma-MSH en fibras inmunoreactivas (Yamazoe et al,1984).

Asimismo, se ha visto el efecto de la estimulación de la neurohipófisis en la secreción de vasopresina y oxitocina de las ratas cuya AP estaba lesionada. Se observó que al inyectar una solución de NaCl 1M (2ml/h durante 6 horas) en estas ratas, los niveles de ambas hormonas de la pituitaria sufrían bruscos ascensos en los niveles plasmáticos. En contraste, la vasopresina y la oxitocina del plasma ascendían de manera normal en las ratas con incremento equivalente en la osmolaridad plasmática, resultante de la inyección de una solución equiosmótica de manitol 1M y NaCl 0.5M. Además, las lesiones en el área postrema no influían en los incrementos de vasopresina y oxitocina producidos por el déficit del volumen plasmático, ni perturbaban la secreción de oxitocina estimulada por la inyección intravenosa de colecistoquinina. Esto sugiere que el AP juega un papel importante en la secreción de vasopresina y oxitocina en respuesta a la carga de NaCl, pero no como reacción a una carga equiosmótica que no causa hipernatremia sustancial, ni tampoco en respuesta a otros estímulos de la secreción de hormonas neurohipofisarias. Así, lesiones en el área postrema dañarían la regulación del Na+ en las ratas. (Huang, 2000).

El AP, por otro lado, tiene un papel fundamental en la supresión de la hipoglucemia inducida por la generación hipotalámica del factor liberador de gonadotropina (GnRH), y de la hormona luteinizante (LH) en ratas (Cates et al, 2000).

Estudios de unión autorradiográfica usando el radioligando receptor 5HT3 (5-hydroxitriptamina-3) con (3H)-(S)-zacopride 0.5nM, permitió identificar una distribución heterogénea de lugares específicos de unión por todo el cerebro humano. La mayor densidad de receptores radiomarcados 5-HT3 se detectó dentro del tronco cerebral (Núcleo del Tracto Solitario, Área Postrema, Núcleo del trigémino), con menores niveles de expresión en la parte anterior (ej.: hipocampo, núcleo acumbens, putamen, caudado). Dentro de la formación del hipocampo se distribuyeron diferencialmente receptores 5HT3, con mayores niveles en la capa de células granulares del girus dentado. Estudios de saturación con 3(H)-(S)-zacopride indicaron que (3H)-(S)-zacopride marcado une, aparentemente, una población homogénea de lugares de unión (Parker et al, 1996). De la misma forma, para determinar el papel de los receptores 5-HT2A (que se unen a la serotonina, 5-HT) se realiza un mapa inmunohistoquímico de la distribución de los mismos en el cerebro de la rata, poniendo de manifiesto áreas muy marcadas como el núcleo motor dorsal del vago, el trigémino, el hipogloso, el facial... etc. y sin embargo, no aparecían neuronas marcadas en el área postrema (Fay y Kubin, 2000).

El punto donde opera el barorreflejo arterial parece ser un factor importante, implicado en la determinación del flujo simpático. La acción de la angiotensina II de incrementar el flujo del sistema nervioso simpático, relacionado con la presión sanguínea, puede contribuír a elevar la presión arterial durante la hipertensión, al igual que a mantener la presión arterial durante estadíos de sodio bajos. En la mayoría de los casos, cuando hay concentraciones elevadas de angiotensina II periférica son dependientes del área postrema. Aunque se ha definido el mecanismo central del barorreflejo

arterial para diferentes presiones, el área postrema parece suministrar un mecanismo aparte, según el cual los factores humorales podrían modular los puntos de acción del barorreflejo arterial. (Bishop y Sanderford, 2000).

La inyección intravenosa de angiotensina II aumenta el reflejo barorreceptor en ratas espontáneamente hipertensas (SHRs). Para investigar el papel del AP en la modulación del control barorreflejo por el receptor AT1, se experimentó en ratas espontáneamente hipertensas, y con el AP lesionada y sin lesionar, el efecto de la inyección intravenosa de CV-11974 (antagonista del receptor AT1), en el control barorreflejo de la actividad simpática renal y el latido cardíaco. La presión arterial fue similar en ambos grupos. Sin embargo, el latido cardíaco fue significativamente más bajo ($p<0.01$) en las SHRs con el área postrema lesionada que en las SHRs con el área postrema no lesionada (307+/-11 y 365+/-10 latidos por minuto respectivamente). La inyección de CV-11974 (0.05mg/Kg) disminuyó la presión arterial significativamente; sin embargo, no cambió el latido cardíaco ni la actividad simpática renal en ambos grupos. Los cambios reflejos en la actividad simpática renal y en el latido cardíaco se lograban por la inyección intravenosa de fenilefrina o sodio, antes y después de la inyección de CV-11974, el cual incrementaba el control barorreflejo de la actividad simpática renal y también el latido cardíaco en las SHRs no lesionadas. De todas formas, el CV-11974 no logró alterar la sensibilidad barorrefleja en las SHRs con el área postrema lesionadas. Esto sugiere que el AP no juega un papel crucial en el mantenimiento de la presión sanguínea alta en SHRs adultas, y que la mejora del control barorreflejo de la actividad simpática renal y del latido cardíaco por CV-11974 intravenoso, es mediado vía AP en SHRs (Matsumura et al,1999).

PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS

PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS

A pesar de que el AP esta ampliamente descrita por diferentes autores, y teniendo encuenta la relación que existe entre el AP y el SRA cerebral, no hemos encontrado trabajos especificos sobre las variaciones del AP ante la hipertensión y su tratamiento con captopril.

El propósito del trabajo que nos ocupa ha sido valorar los efectos de la hipertensión y su tratamiento con captopril, en ratas controles y espontáneamente hipertensas, sus parámetros fisiológicos y parámetros morfométricos específicos del AP como el área nuclear, el perímetro nuclear y el factor forma. Además de los parámetros fisiológicos y morfométricos, otro de los objetivos será poner de manifiesto la presencia de material inmunorreactivo, contra la vasopresina, angiotensina I y II, enzima convertidora de la angiotensina I y alfa-MSH en el AP y otros órganos circunventriculares de ratas hipertensas y normotensas.

Asimismo, hemos querido valorar la composición proteica del LCR de ratas hipertensas y de ratas controles para determinar si la hipertensión provoca alguna alteración en la síntesis de proteínas que se vierten al LCR.

Los objetivos planteados fueron los siguientes:

Objetivos generales

Hacer un estudio de los cambios morfológicos, cualitativos y cuantitativos que pueden producirse en las neuronas y en el epéndimo que integran las diferentes regiones del AP de las ratas control e hipertensas al someterlas al tratamiento crónico con captopril.

Objetivos particulares

1-Desde el punto de vista cualitativo, analizaremos el tamaño global del AP así como las diferentes partes del órgano, y la distribución de sus componentes con el fin de detectar la presencia de cambios cualitativos con la cepa, y tratamiento con captopril.

2-Estudiar los efectos cariométricos de la edad, de la hipertensión arterial genética y del tratamiento con captopril sobre el epéndimo y las neuronas del AP.

3-Determinar la presencia de material inmunorreactivo, fundamentalmente en relación con el AP y otros órganos circunventriculares de ratas hipertensas.

4-Analizar cualitativamente la composición proteica del LCR de ratas hipertensas y normotensas, y establecer alguna relación entre la hipertensión y la síntesis de proteínas de los OCVs.

5-Mediante la creación de anticuerpos contra las posibles proteínas del LCR de las ratas hipertensas y mediante inmunohistoquimia, determinar qué estructuras cerebrales producirán estas proteínas.

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL Y MÉTODOS

A-MATERIAL

1. Animal experimental

2. Grupos de experimentación

1. Animal experimental.

En nuestro estudio hemos empleado como animal de experimentación la rata por la mayor disponibilidad de la cepa SHR (spontaneously hypertensive) por la utilización de estos animales en la mayoría de los estudios existentes sobre el tema en cuestión y por su relativamente fácil adquisición.

El experimento se llevó a cabo con un total de 40 ratas macho: 20 ratas control Wistar-Kyoto (WKY) y 20 ratas genéticamente hipertensas (SHR).

2. Grupos de experimentación.

En este trabajo se han analizado cuatro grupos de animales, a saber;

GRUPO 1. CONTROL NO TRATAMIENTO (CONTROL NO TTO).

GRUPO 2. CONTROL TRATAMIENTO (CONTROL TTO).

GRUPO 3. HIPERTENSAS NO TRATAMIENTO (HTA NO TTO).

GRUPO 4. HIPERTENSAS TRATAMIENTO (HTA TTO).

Las edades estudiadas fueron: 10 y 15 semanas, porque la hipertensión arterial comienza a manifestarse aproximadamente entre la octava y la décima semana.

Los grupos 1 y 3 (Control no tto y hta no tto) están representados en las dos edades estudiadas con 5 ratas por edad y por grupo. Los grupos 2 y 4 (control tto y hta tto) están representadas a las edades de 10 y 15 semanas, con también 5 animales por edad y grupo.

Los cinco miembros de cada subgrupo compartían la misma jaula y, con ello, las mismas condiciones.

Los animales disponían de alimento seco y bebida "ad libitum". Se les ofrecía agua corriente y solución salina 0.3M NaCl simultáneamente desde el principio de su manejo, lo que venía a corresponder aproximadamente a las 7 semanas de vida. La posición de los fluídos se alternaba diariamente para reducir el desarrollo de preferencias por la posición (Thunhorst y cols,1987). En el caso de los grupos a los que se les administraba el tratamiento, el captopril (Sigma Chemical CO) se añadía en los fluidos a una doisis de 0.1mg/ml, la cual no provocaba un gusto aversivo (Thunhorst y cols, 1987).Todas las soluciones eran preparadas diariamente.

El tratamiento comenzó a administrarse a las 8 semanas, después del sacrificio de los dos subgrupos de dicha edad, control e hipertenso, y se prolongó hasta las 15 semanas, fecha en la que se sacrificaron los últimos animales de estudio.

Semanalmente se pesaban las ratas y se les tomaba la presión arterial en el rabo mediante una técnica indirecta que detectaba la presión sistólica, la presión diastólica y la frecuencia cardiaca.

Las ratas eran sacrificadas a las edades de 10 y 15 semanas, pesándolas y midiendo la tensión arterial previamente.

CUADRO DE EDADES

NUMERO DE ANIMALES

EDAD	GRUPO 1 CONTROL NO TTO	GRUPO 2 CONTROL TTO	GRUPO 3 HTA NO TTO	GRUPO 4 HTA TTO
10 semanas	5 animales	5 animales	5 animales	5 animales
15 semanas	5 animales	5 animales	5 animales	5 animales

B-MÉTODOS

I-Técnica de fijación

a) Anestesia

b) Fijación

II-Deshidratación

III-Inclusión en parafina

IV-Cortes

V-Tinción

VI-Técnicas de cuantificación nuclear

VII-Técnicas para el estudio de la tensión arterial, control de

la bebida y peso.

VIII-Estudio estadístico

IX-Electroforesis.

X-Obtención de antígenos.

XI-Obtención de anticuerpos.

XII-Inmunohistoquimia.

1. Técnica de fijación.

a**) Anestesia**

Los animales fueron anestesiados profundamente por vía inhalatoria con dietiléter.

b**) Fijación**

La técnica elegida para la fijación, deshidratación e inclusión fue la misma para todos los animales con el fin de evitar que esta pudiera influír sobre la cuantificación de los parámetros nucleares.

Una vez anestesiado, se procedió a la apertura de la caja torácica del animal mediante una toracotomía media con el propósito de acceder al corazón y realizar una perfusión intracardiaca para fijar el cerebro. Para ello, se intrudujo una cánula biselada del calibre 22 en el ventrículo izquierdo mientras que, simultáneamente, se cortaba la aurícula derecha. Por la citada cánula se perfundía en primer lugar una solución lavadora de suero fisiológico durante 4 minutos aproximadamente, para obtener un desangramiento del sistema circulatorio a través del corte practicado en la aurícula

derecha. Una vez comprobado que únicamente emanaba suero fisiológico por la aurícula derecha se procedió a llevar a cabo el siguiente paso, consistente en la perfusión del líquido fijador.

El líquido fijador utilizado fue el BOUIN cuya composición es la siguiente:

* Quince partes de ácido pícrico en solución saturada.

* Cinco partes de formalina y

* Una parte de ácido acético puro.

Posteriormente, cuando se lograba la óptima fijación del animal (coloración amarillenta en piel y mucosas, acompañada de un aumento generalizado de la consistencia del animal), se procedía a la decapitación y extracción del cerebro por descalotamiento con pinzas quirúrgicas.

El cerebro así extraído, era inmerso durante 24 horas en la misma solución fijadora de Bouin. El volumen de la solución en la que se introdujo era diez veces superior al volumen de la masa cerebral.

2. Deshidratación.

La pieza cerebral se deshidrata para conseguir su endurecimiento y aumentar así la consistencia, y para permitir la posterior inclusión en parafina.

De cara a obtener un mejor resultado en la deshidratación, tal como indica H.C. Burck (1969), se empleó alcohol etílico a concentraciones crecientes:

*Alcohol de 70 grados: Se realizaron dos pases en 24 horas. Además, con el fin de conseguir una mejor coloración del líquido Bouin, se le añadió al primer pase una gota de amoniaco por cada 100ml.de solución.

*Alcohol de 80 grados: Pase de 24 horas.

*Alcohol de 90 grados: Pase de 24 horas.

*Alcohol de 96 grados: Pase de 24 horas.

*Alcohol de 100 grados: Pase de 24 horas.

3. **Inclusión en parafina.**

Para una buena inclusión, es preciso la completa eliminación del alcohol de las piezas. Con ese fin utilizamos los llamados "líquidos intermediarios" que son:

*Benzoato de metilo, donde se dejan las piezas hasta que se hundan.

*Benzol, con dos pases de 15 minutos cada uno.

*Mezcla de Benzol-Parafina a partes iguales, donde permaneció durante 30 minutos.

La inclusión se realiza en Parafina líquida a una temperatura de 60ºC durante 24 horas, luego se lleva a cabo un segundo pase por Parafina de 24 horas para que desaparezca el benzol. A continuación se procedió a la formación de los bloques de Parafina en moldes de plomo.

4. Cortes.

La pieza fue seccionada con un microtomo (Minot Leitz 1212) en cortes seriados de 10 micras de espesor, recogiendo los cortes en series alternas A, B y C.

5. Tinción.

El método de tinción empleado fue el de Klüver-Barrera (1953), siguiéndose el proceso a continuación expuesto:

*Desparafinación de los cortes.

*Alcohol de 96 grados.

*Coloreado en "solución A" (luxol-fast-blue) a 56ºC durante 24 horas.

*Se dejan enfriar y a continuación se lavan con alcohol de 96º para suprimir el exceso de colorante.

*Se lavan en agua destilada.

*Diferenciación en solución acuosa de carbonato de litio (0´05%).

*Diferenciación en alcohol de 70 grados.

*Lavado en agua destilada.

*Coloreado en "solución B" (kresyl violeta) a 57ºC por espacio de 10 minutos.

*Diferenciación en alcohol de 96 grados, al que se le añade una gota de ácido acético por cada 100 cc de alcohol.

*Varios pases hasta llegar a alcohol absoluto.

*Aclarado con xilol-terpinol.

*Último pase por xilol.

El montaje en portaobjetos se realizó con Eukitt.

6. Técnicas de cuantificación nuclear.

El análisis mocroscópico morfométrico de las diferentes subregiones estudiadas del AP se realizó con la ayuda del sistema analizador de imágenes "MAGISCAN JOYCE LOEBL" (Programa GENIAS). Con él se realizaron las determinaciones de los siguientes parámetros nucleares:

a) De forma semiautomática:

-Área nuclear: área carioplasmática inserta dentro del perímetro nuclear.

-Perímetro nuclear: expresión de la longitud de proyección de la membrana nuclear en la sección.

-Factor forma: índice de la relación perímetro/área que expresa la aproximación de la forma nuclear a un círculo perfecto, siendo el valor máximo la unidad. Las desviaciones en la forma son expresadas por valores menores que la unidad.

Se efectuó una media de 30 a 40 mediciones para obtener un alto índice de fiabilidad

7. Técnicas para el estudio de la tensión arterial, control de la bebida y peso.

La tensión arterial fue tomada en el rabo de los animales mediante un método indirecto semanalmente y siempre a la misma hora para evitar posibles variaciones que no estuvieran ocasionadas por las condiciones experimentales.

La ingesta de fluídos, tanto agua como solución salina, era registrada diariamente mediante un cilindro graduado en milímetros.

El estudio del desarrollo ponderal se llevó a cabo mediante la medida de forma sistemática del peso de todos los animales semanalmente e inmediatamente antes de ser sacrificados.

8. Estudio estadístico.

Para la evaluación estadística de los datos obtenidos tanto del estudio fisiológico como morfométrico se utilizaron dos pruebas estadísticas. La primera, un análisis de varianza (ANOVA) con el propósito de hacer un estudio lineal de cada uno de los grupos y, por otro lado, un test de Bon Ferroni para hacer un estudio transversal por grupos de edades.

9. Electroforesis

Electroforesis en geles de poliacrilamida-SDS

Los pesos moleculares de la mayoría de las proteínas pueden ser determinados midiendo la movilidad en geles de poliacrilamida con el detergente dodecil sulfato sódico (SDS, "sodium dodecyl sulfate"). A pH neutro, con SDS al 1% y mercaptoetanol 0.1M, la mayoría de las proteínas multicatenarias se unen al SDS y se disocian, los puentes disulfuro se abren gracias al mercaptoetanol, por lo que en definitiva se pierde la estructura secundaria, y los complejos formados por las subunidades proteicas con el SDS aumentan su configuración de ovillo estadístico. Las proteínas tratadas de esta manera se comportan como si tuvieran una forma similar y una relación carga/masa idéntica. Esto se debe a que la cantidad de SDS unido por unidad de peso de proteína es constante: 1,4 g de SDS/g de proteína; de hecho, la carga viene determinada más por el SDS que por la carga intrínseca de los aminoácidos. Todo ello da como resultado que la movilidad efectiva esté únicamente relacionada con el peso molecular de la proteína a causa de la acción del gel como tamiz molecular. Si una serie de proteínas de peso molecular conocido son sometidas a electroforesis en

gel, se separan en una serie de bandas y la representación gráfica de la distancia recorrida en función del logaritmo del peso molecular de una línea recta. De este modo, si una proteína de peso molecular desconocido es sometida a una electroforesis de este tipo junto con otras dos de peso molecular conocido, el de aquélla puede ser calculado con una exactitud variable entre el 5 y 10%. Debe hacerse notar que esta técnica también pone de manifiesto la presencia de puentes disulfuro en la proteína, ya que la movilidad va a depender de la presencia de agentes reductores tales como el mercaptoetanol.

La electroforesis en geles de policrilamida-SDS, se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Laemmli (1970). Se utilizaron geles de poliacrilamida: un gel en placa (19x17 cm y grosor 1.5 mm) con un gel espaciador al 5% y un gel separador en gradiente lineal del 5 al 15%. Cada gel se forma "in situ" por la polimerización del monómero de acrilamida en una disolución que contiene el monómero, catalizadores de la polimerización y un tampón al pH deseado. Esta reacción de polimerización se inicia por la formación de radicales libres en el medio, lo que se logra mediante la adición de iniciadores del proceso, tales como el persulfato amónico, que al disolverlo en agua en presencia de una base débil se disocia originando un radical libre. Se añade además una amina que favorece la formación de radicales libres. Se empleó la N,N,N',N' tetrametiletilendiamina (TEMED). La polimerización de la acrilamida sola no origina un gel, sino una disolución muy viscosa de largas cadenas lineales de poliacrilamida. Para que se forme un gel propiamente dicho es necesario que se creen uniones covalentes entre esas cadenas; para ello se añade al medio una molécula capaz de formar puentes cruzados, la N,N'metilén-bis-acrilamida (BIS). Son geles completamente inertes, mecánicamente estables y transparentes, lo que facilita tanto su manejo como la detección de las moléculas separadas en ellos. La técnica se conoce como PAGE (acrónimo de PolyAcrylamide Gel Electrophoresis). Se sembró por surco un volumen de LCR equivalente a 60ug

de proteinas totales más 50ul de TRIS-CLH 0.250 M (pH 6.8) conteniendo además glicerol 20%, beta-mercaptoetanol 4% y SDS 4% (tampon de muestra para electroforesis en geles de policrilamida-SDS). Para identificar el frente iónico, se utilizó 3ul de azul de bromo-fenol al 0.2%. La solución tampón de electrodos contenía TRIS-CLH 0.025 M, (pH 8.3), glicina 0.192 M y SDS 0.1%. Concluída la electroforesis el gel fue teñido con azul brillante de coomassie (colorante aniónico que se une a proteínas básicas). Como marcadores de masa molecular fueron usados: Miosina m 205.000 kDa; beta-Galactosidasa, m 116.000 kDa; Fosforilasa B, m 97.400 kDa; Albúmina, 66.000 kDa; Ovoalbúmina, m 45.000 kDa; Anhidrasa carbónica, 29.000 kDa.

Después de la electroforesis se fijó el gel porque las proteínas, solubles, difunden y las zonas en que aparecen se ensanchan disminuyendo la resolución. Para evitar esto se inmovilizaron en el gel mediante la fijación en una solución que contenía isopropanol 25% (v/v) y ácido acético 10% (v/v) durante 2-4 horas, cambiando varias veces la solución, y se tiñó posteriormente en una solución de azul brillante de coomassie R-250 0.1% (p/v) , metanol 50% (v/v) y ácido acético 7.5% (v/v), y finalmente se lavó en metanol 30% (v/v) y ácido acético 10% (v/v) para quitar el exceso de colorante.

En resumen, la muestra inicial de LCR que se carga en cada pocillo del gel y que contiene una mezcla de proteínas, se transforma en una colección de isómeros de tamaño. Esto se consigue mediante su tratamiento con el detergente aniónico dodecil-sulfato sódico (SDS) que se asocia a elevada concentración al esqueleto de la cadena polipeptídica (1 molécula de SDS por cada dos aminoácidos). De esta asociación resultan dos efectos: las proteínas se desnaturalizan completamente, con lo que todas las cadenas polipeptídicas adquieren una conformación similar y la relación carga/radio se iguala en todos los polipéptidos de la mezcla, ya que la gran cantidad de cargas negativas que se asocian enmascaran las cargas eléctricas debidas a los aminoácidos del

propio polipéptido; con esto la densidad de carga resulta sensiblemente igual para todas las moléculas de la muestra. La técnica electroforética es pues, una técnica de separación de partículas cargadas basada en la distinta velocidad que alcanzan en el campo eléctrico y los resultados se obtienen, finalmente, mediante una relación lineal entre el logaritmo del peso molecular y la movilidad de las cadenas polipeptídicas.

10. Obtención del antígeno.

Proteínas del LCR.

El líquido céfaloraquídeo (LCR) se extrajo de ratas hipertensas (SHR) y de ratas Wistar-Kyoto (WKY) de 10 y 15 semanas de vida en ambos casos (5 por edad). Como control tambien se extrajo suero.

La extracción del LCR se realizó de la siguiente manera: Se anestesiaron las ratas con hidrato de cloral a una concentración de 1unidad de insulina (20 microlitros) por cada 10 gramos de peso. El hidrato de cloral se preparó inicialmente a una concentración de trabajo de 0.16g de hidrato de cloral por 1ml de agua destilada. Una vez anestesiada la rata se fijó cuidadosamente en un marco estenotáxico de tal manera que la cabeza quedara firme y la zona occipital dirigida hacia nosotros. A continuación se realizó un corte en la piel, se separó la musculatura de la región posterior del cuello por el rafe medio, para luego acceder a la cisterna magna, entre el atlas y el occipital, y extraer, mediante una inyección de insulina sujeta al marco, el LCR. Se extrajo de cada rata 5 U.I. aproximadamente, al cabo de unas tres horas. Posteriormente se extrajo sangre de la rata, directamente del corazón, se lavó con suero fisiológico y se perfundió con bouin.

El LCR posee una concentración proteica de 300ug/ml y dichas proteínas se separaron mediante electroforesis, al igual que las proteínas del suero de las ratas cuya concentración proteica es mayor (60.000μg/ml). En cada pocillo del gel de electroforesis había que cargar, como mínimo, 30 μg de proteínas, tanto para el LCR como para el suero. Una vez obtenidas las disoluciones objeto de estudio(1.0mg de proteína, por gel, en un volumen total de 1.5ml, conteniendo 0.5ml de solución de muestra para electroforesis y 0.1 ml de azul de bromofenol al 0.2%) se cargaron en cada pocillo del gel para separar las proteínas que contenían. Las disoluciones contenían, además del suero o del LCR de las ratas, SDS que se une a los aminoácidos y beta-mercaptoetanol que rompe los puentes disulfuro contenidos en las proteínas.

En 10 geles se sembró LCR procedente de las ratas WKY y de las ratas SHRs, así como suero de las mismas, independientemente. Una vez finalizada la electroforesis, los geles fueron teñidos con solución azul brillante de coomassie y fueron utilizados para obtener los diferentes antígenos. Las bandas de los geles destinadas para inmunizar se nombraron según el orden de aparición; así, la primera banda que apareció de mayor peso molecular, que procedía del LCR de ratas SHRs, la denominamos banda-1 y a la última banda, que había tenido una migración mayor, banda-5. Asímismo, se halló el peso molecular de cada banda encontrada respecto a las bandas de peso molecular conocido que usamos como referencia, utilizando el parámetro movilidad relativa de cada banda, que se lleva a una recta de regresión para el cálculo del peso molecular de la misma. Las bandas fueron seleccionadas de acuerdo a lo siguiente: 1-la ausencia de estas bandas en las ratas WKY, que aparecían en las ratas SHRs, 2-la ausencia de estas bandas en muestras de suero. Las bandas así seleccionadas se cortaron y se guardaron a –20ºC.

11. Obtención de anticuerpos

Antígenos procedentes de bandas proteicas de geles de electroforesis.

Las bandas (de un mismo peso molecular) equivalentes a 10 geles se cortaron, se reunieron y maceraron en un pequeño volumen de PBS, utizando un homogenizador de teflon tipo "potter Evelhein" e inoculadas en ratón siguiendo el siguiente protocolo: se emulsionaron con coadyuvante completo de Freund (1:1) y se inyectaron intracutáneamente en 5 ó 10 lugares del lomo del ratón. Se utilizó las siguientes cantidades: -primera inmunización, en el lomo del ratón, de 100µl conteniendo el equivalente a cuatro bandas del gel, del mismo peso molecular, mezclado con coadyuvante completo de Freund 1:1; -segunda inmunización, realizada 21 días después, en la que se usó la cantidad equivalente a dos bandas del gel mezclado a una proporcion 2:1 con coadyuvante incompleto de Freund, también inyectado en el lomo del ratón; -tercera inmunización, a los 14 días de la segunda inmunización, con la cantidad equivalente a dos bandas de un gel macerado en PBS sin la utilización de coadyuvante y esta vez mediante inyección intraperitoneal. Una semana después se sacrificó el animal y se sangró totalmente. La sangre de cada sangría, correspondiente a las diferentes bandas con las que se había inmunizado a los ratones para la inducción de los anticuerpos, se mantuvo a temperatura ambiente durante 8 horas y una vez extraído el coágulo, se obtuvo el suero centrifugando a 800g durante 10 min. Todos los sueros se alicuotaron y guardaron a –20ºC.

12. Inmunohistoquimia.

Se usó el método de la inmunoperoxidasa (Sternberger y cols 1970), el método de la avidina-biotina y el de la estreptoavidina-biotina. Los cortes de tejido que contenían el área postrema y otros órganos circunventriculares tales como el órgano subcomisural, el órgano subfornical, la eminencia

media y los núcleos supraóptico y paraventricular, de ratas hipertensas y normotensas, se incubaron durante 24 horas en los diferentes anticuerpos primarios obtenidos y diluídos a concentraciones diferentes, según el anticuerpo objeto de estudio. Los anticuerpos primarios utilizados fueron:

-Los anticuerpos obtenidos de los sueros de ratones inmunizados con las bandas proteicas de los geles que actuaban como antígenos.

-Otros anticuerpos primarios tales como: anti-angiotensina II, anti-ECA, anti-vasopresina, anti-alfaMSH y anti-ACTH.

Posteriormente, los cortes de tejidos se incubaron durante dos horas en el segundo anticuerpo (en el caso del anti-alfa MSH y del anti-vasopresina, el segundo anticuerpo utilizado fue IgG de conejo, en el caso del anti-ECA se utilizó IgG de ratón a una dilución de 1:50). Todos los anticuerpos se diluyeron en tampón TRIS-FOSFATO, pH 7.8, conteniendo 0.7% de lambda carragenina (Sigma) y 0.5% de Triton X-100. El producto de la reacción de la peroxidasa se visualizó mediante la reacción de la diaminobencidina.

Método de Sternberger (Sternberger y cols. 1970):

Se usó el método de la inmunoperoxidasa. Los cortes que contenían los tejidos objeto de estudio se incubaron durante 24 horas en los diferentes anticuerpos primarios obtenidos, diluídos a diferentes concentraciones, según el anticuerpo. Se ha usado el anticuerpo policlonal hallado en ratón contra la angiotensina II (MAAII) como primer anticuerpo. Todas las muestras de las ratas hipertensas y las controles fueron manipuladas simultáneamente e incubadas en el mismo recipiente que contenía MAAII disuelto al 1:100. Se mantuvo durante 24 horas a temperatura ambiente. Como segundo anticuerpo se utiliza el anticuerpo de ratón IgG marcada con peroxidasa a una concentración de

1:100 y durante 2 horas a temperatura ambiente. La reacción producida por la peroxidasa fue visualizada a través de la reacción de la diaminobencidina. Ambos anticuerpos fueron disueltos en un buffer Tris a un pH de 7.8 que contenía un 0.7% de lambda carragenina, 0.5% de Triton X-100 y 0.1% de ácido sódico.

El método de la avidina-biotina emplea como anticuerpos secundarios IgG comerciales de la casa Sigma, ligados a las moléculas avidina y biotina, al igual que su variante estreptoavidina-biotina.

Todos los antígenos y anticuerpos eran policlonales. Los anticuerpos anti-vasopresina, anti-alfa-MSH y anti-ECA eran anticuerpos comerciales de la casa Sigma o ICN. Los anticuerpos anti-bandas proteicas y anti-angiotensina II se obtuvieron en el Departamento de Anatomía de la Universidad de La Laguna, mediante inmunización.

RESULTADOS

RESULTADOS

A-PESO

GRUPO CONTROL NO TTO

La gráfica que representa el valor medio del peso de las ratas del grupo control no tto muestra un aumento continuado del peso desde las 8 semanas hasta las 15 semanas ($p<0.01$).

GRUPO CONTROL TTO

También los animales control a los que se les administró el tratamiento aumentaron de peso progresivamente entre las 10 y 15 semanas ($p<0.01$).

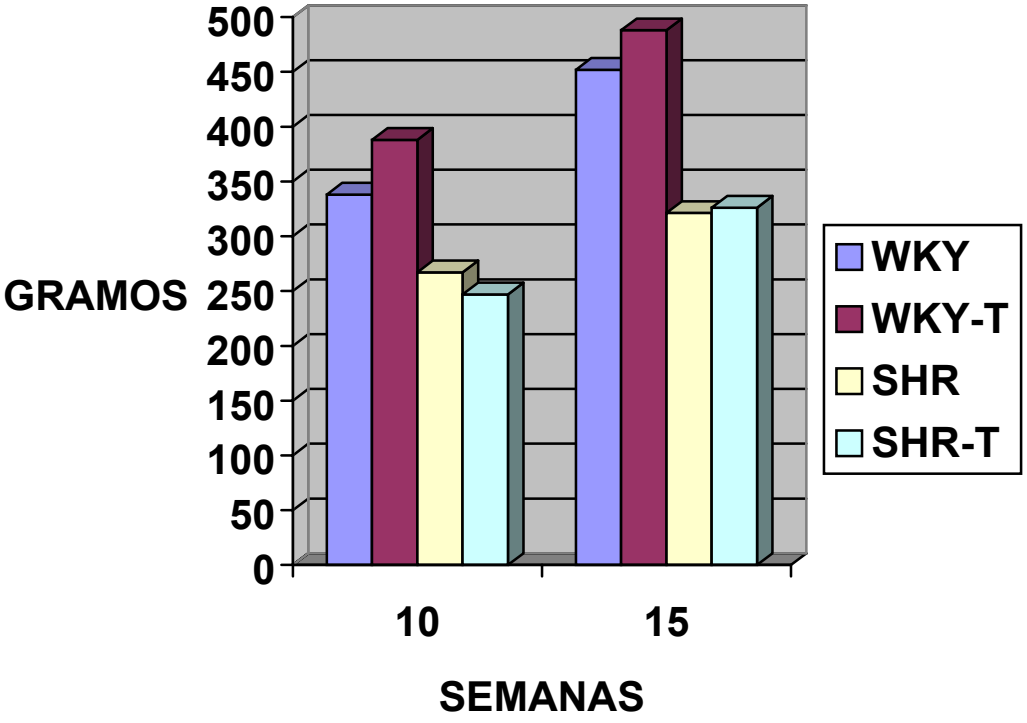
GRUPO HTA NO TTO

En el caso de las ratas hipertensas no tratadas se observa un incremento significativo del peso desde las 8 hasta las 10 y 15 semanas, aunque el aumento es menor.

GRUPO HTA TTO

Del mismo modo, los animales hipertensos tratados con captopril vieron incrementado su peso desde las 10 a las 15 semanas ($p<0.01$).

PESO


500
450
400
350
300
GRAMOS 250
200
150
100
50
0
10
15
SEMANAS
WKY
WKY-T
SHR
SHR-T

ESTUDIO COMPARATIVO A LAS 10 SEMANAS

A esta edad el peso fue significativamente mayor en los animales control, tratados y no tratados, que en los hipertensos, con y sin tratamiento, con una $p<0.01$ en todos los casos. Entre los dos grupos control también hubo diferencias significativas a favor de las tratadas que pesaron más ($p<0.01$); sin embargo, no hubo diferencias entre las hipertensas.

ESTUDIO COMPARATIVO A LAS 15 SEMANAS

Al igual que en el resto de las edades, pesaron más las ratas control que las hipertensas independientemente del tratamiento ($p<0.01$)

Comparando los grupos control, el peso fue significativamente mayor en el que recibió tratamiento con captopril ($p<0.01$). Esta diferencia no se observó en el caso de las ratas genéticamente hipertensas.

B-BEBIDA

GRUPO CONTROL NO TTO

El consumo de agua fue en aumento de manera progresiva encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre las 8 y 15 semanas y no significativas en el resto.

El apetito por la sal no se vio modificado por la edad.

GRUPO CONTROL TTO

Las cantidades de agua y de salino que tomaron las ratas del grupo control tto fueron similares a las edades analizadas.

GRUPO HTA NO TTO

El agua consumida resultó ser mayor a las 8 que a las 10 y 15 semanas, con una $p<0.05$. No encontramos diferencias apreciables entre las 10 y 15 semanas de vida.

El apetito de la sal también resultó similar en las edades estudiadas.

GRUPO HTA TTO

El aumento en el consumo tanto de agua como de salino entre las 10 y las 15 semanas de vida no resultó ser estadísticamente significativo.

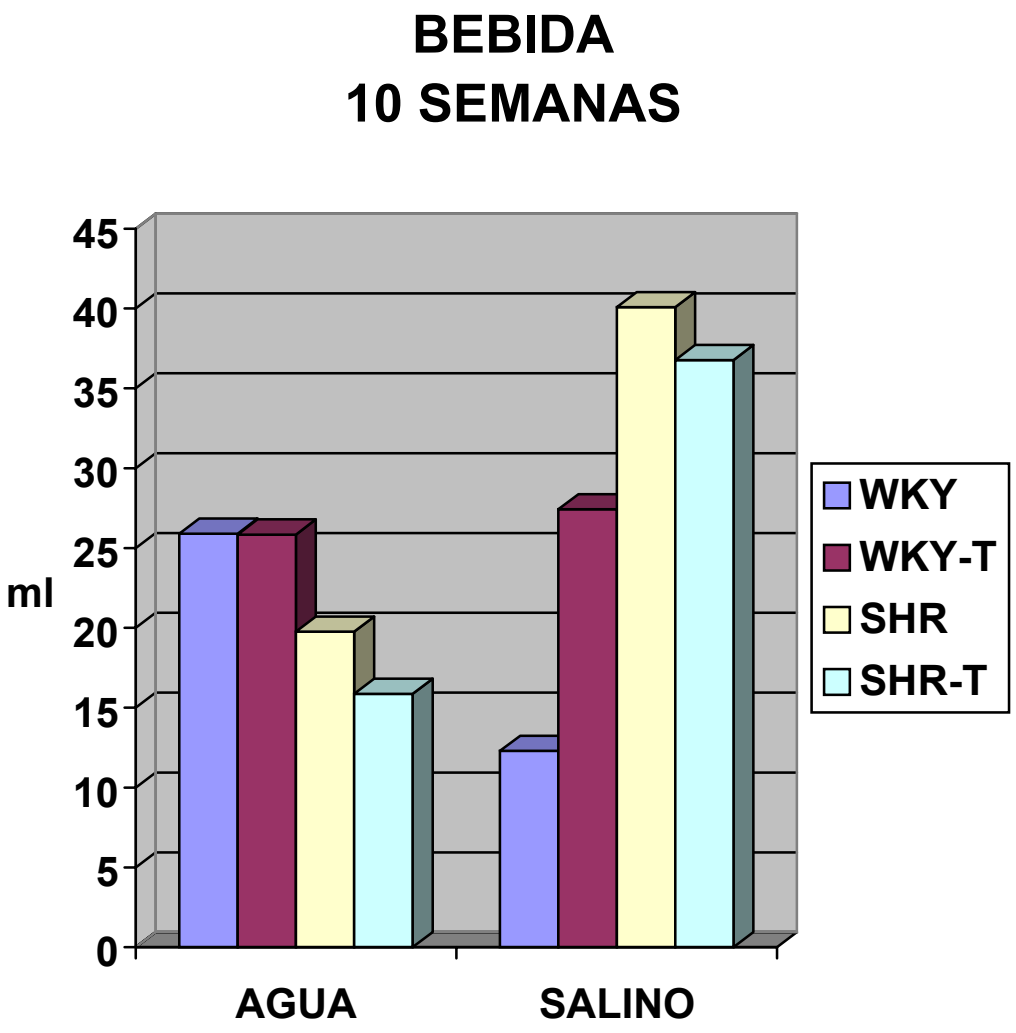
ESTUDIO COMPARATIVO A LAS 10 SEMANAS

Los animales pertenecientes al grupo control no tto consumieron significativamente más agua que salino ($p<0.01$). Sin embargo, las ratas control tto bebieron prácticamente la misma cantidad de ambos fluídos. Así, encontramos diferencias significativas ($p<0.01$) entre ambos grupos control a favor del grupo tratado en cuanto al salino pero no hay diferencias en cuanto al agua.

Las ratas control, con y sin tratamiento, bebieron mayor cantidad de agua que las hipertensas que no fueron tratadas ($p<0.05$) y que las hipertensas tratadas ($p<0.01$). Por el contrario, en lo referente al salino se invirtieron las preferencias y así, ambos grupos de animales hipertensos

consumieron más cantidad de salino con una $p<0.01$. Encontramos una excepción importante: a las 10 semanas la diferencia en cuanto al consumo de salino entre los grupos hta tto y control tto no resultó significativa.

Las ratas genéticamente hipertensas independientemente del tratamiento consumieron más salino que agua ($p<0.01$). No hubo diferencias entre los dos grupos de animales hipertensos en ninguno de los fluídos.


BEBIDA
10 SEMANAS
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
ml
AGUA
SALINO
WKY
WKY-T
SHR
SHR-T

ESTUDIO COMPARATIVO A LAS 15 SEMANAS

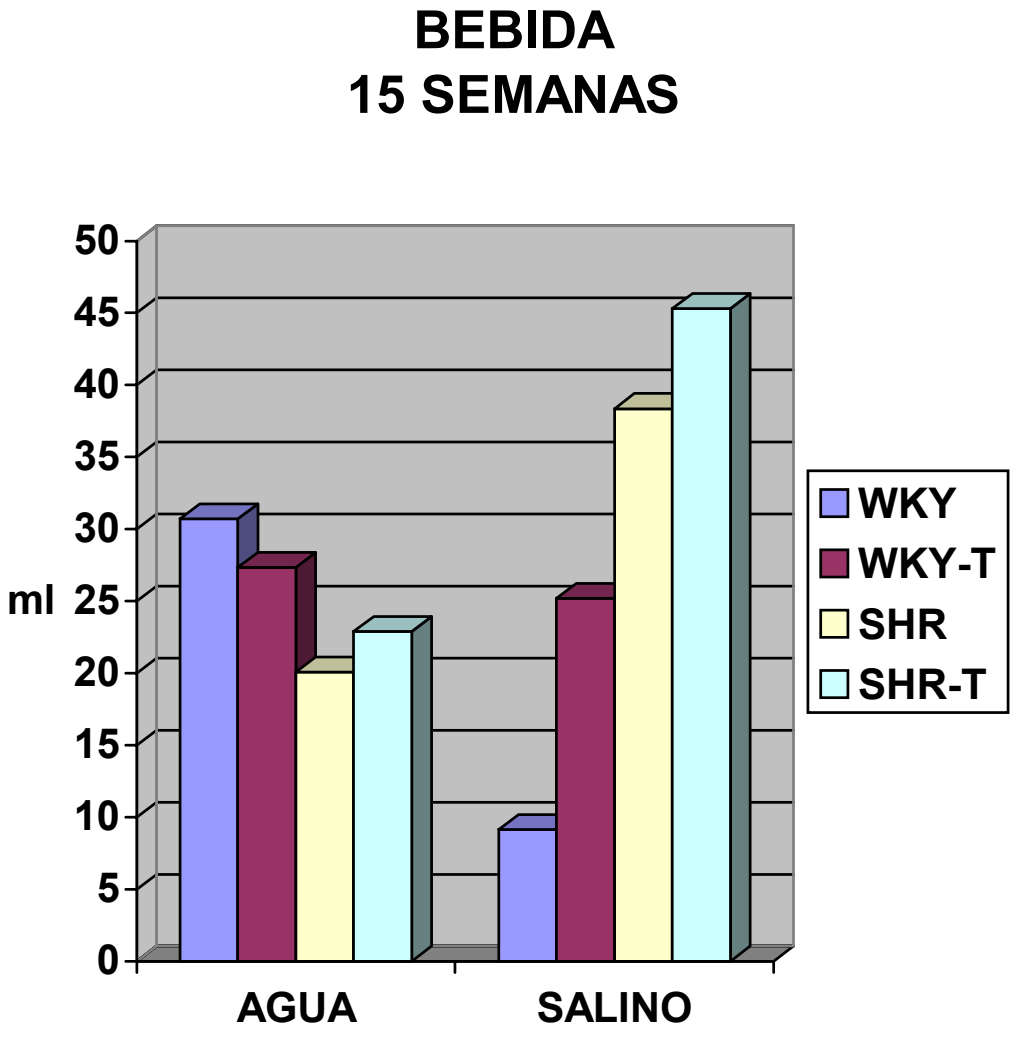
El grupo control no tto bebió más cantidad de agua que de salino con diferencias estadísticamente significativas ($p<0.01$).

Al igual que en la edad anterior, tampoco hubo una diferencia apreciable entre el consumo de agua y de salino en el caso de las ratas control tto.

Al comparar los grupos control vemos cómo prácticamente no hay diferencias en lo referente al agua pero sí en cuanto al consumo de salino que fue superior en las ratas tratadas ($p<0.01$).

Ambos grupos control bebieron más agua y menos salino que los hipertensos con una significación de $p<0.01$. Únicamente en el caso del agua las diferencias entre los grupos control tto y hta tto no resultaron ser estadísticamente significativas.

No encontramos diferencias valorables entre las ratas hipertensas tratadas y no tratadas en el consumo de fluídos. Ambas preferían el salino sobre el agua ($p<0.01$).


BEBIDA
15 SEMANAS
50
45
40
35
30
ml 25
20
15
10
5
0
AGUA
SALINO
WKY
WKY-T
SHR
SHR-T

C-TENSIÓN ARTERIAL

GRUPO CONTROL NO TTO

La tensión arterial sistólica, diastólica y media fue comparable entre las 8 y 10 semanas y entre las 10 y 15 semanas. Se observan diferencias significativas entre las 8 y 15 semanas ($p<0.01$).

GRUPO CONTROL TTO

Las ratas del grupo control que recibieron tratamiento con captopril tienen una tensión arterial similar, de forma que no hay diferencias significativas entre las 10 y 15 semanas.

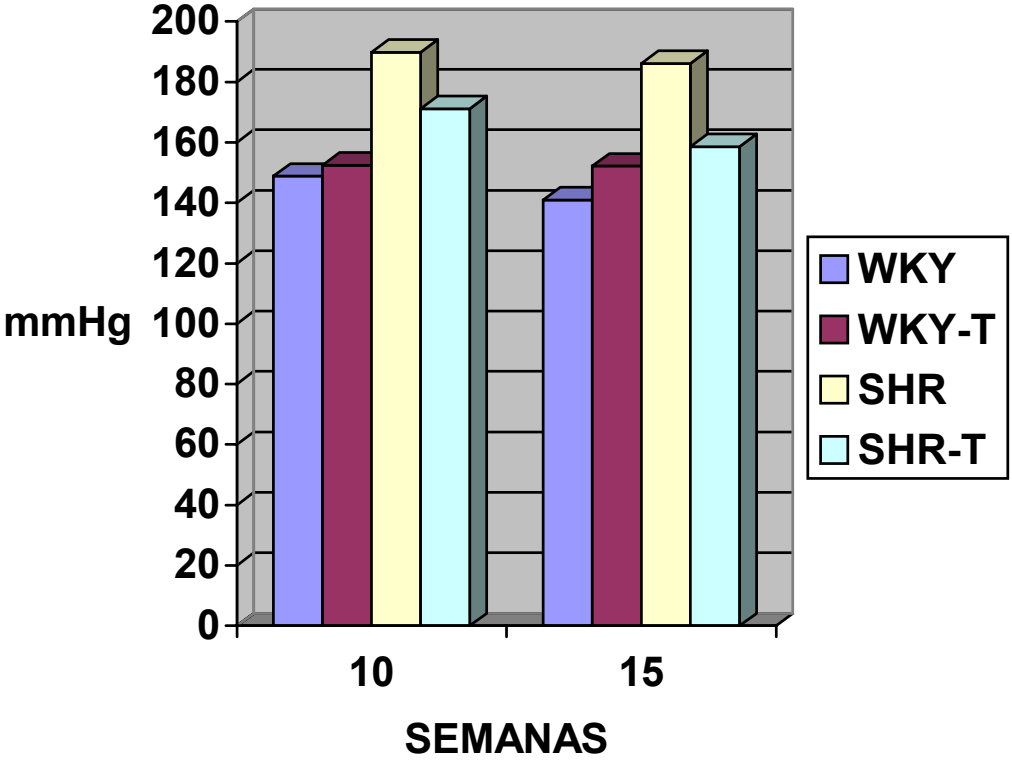
GRUPO HTA NO TTO

La tensión arterial sistólica, diastólica y media es mayor a las 10 que a las 8 semanas con una $p<0.05$, manteniéndose posteriormente a un nivel similar entre las 10 y las 15 semanas. No encontramos diferencias importantes entre las 8 y las 15 semanas en cuanto a la tensión arterial sistólica. Por el contrario, tanto la tensión arterial diastólica como la media de las ratas hipertensas no tratadas fue superior a las 15 semanas con respecto a las 8 semanas ($p<0.01$).

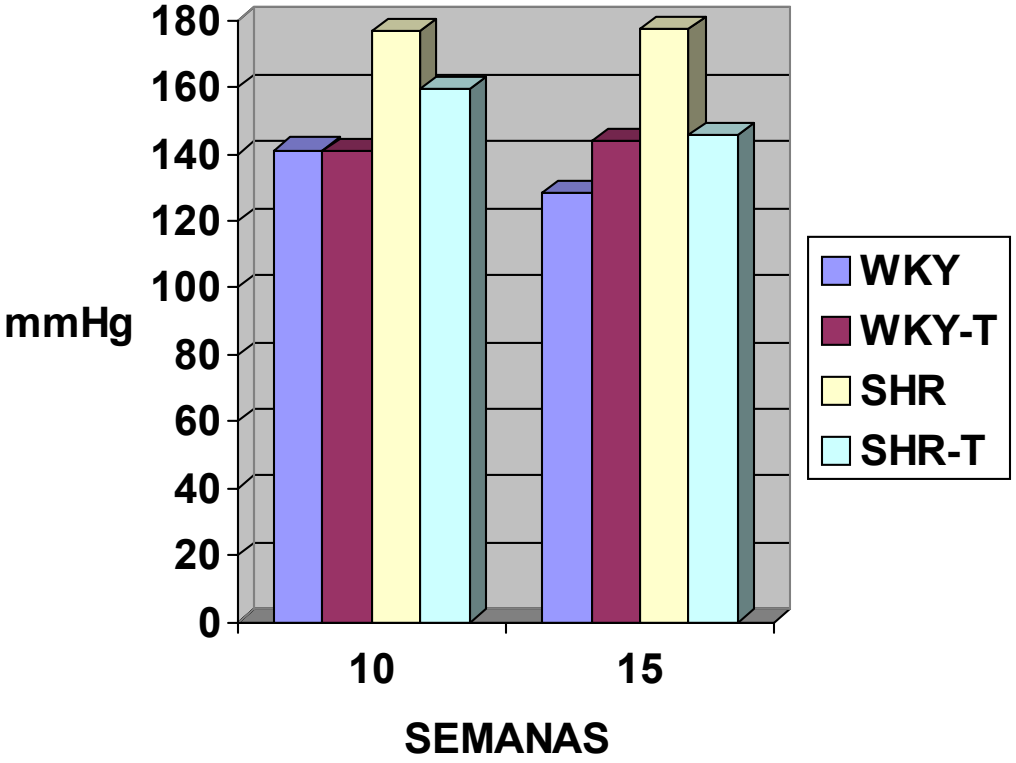
GRUPO HTA TTO

La tensión arterial de los animales del grupo hta tto si bien disminuye de forma inversamente proporcional a la edad no llega a ser estadísticamente significativo.

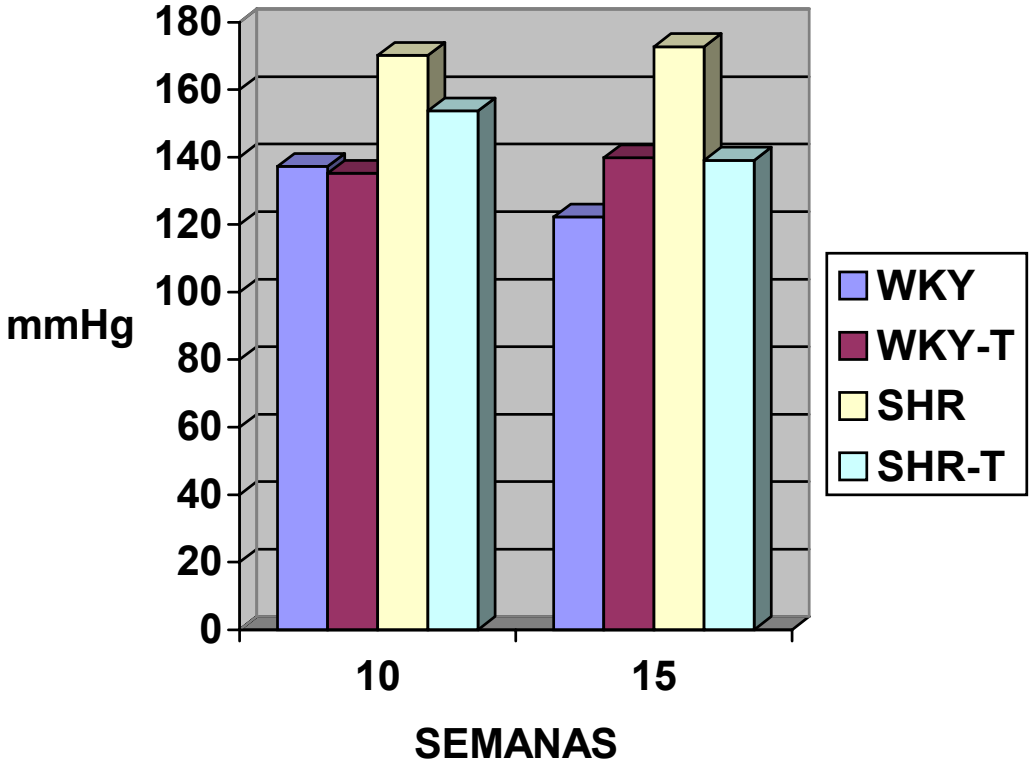
TENSIÓN ARTERIAL SISTÓLICA



TENSIÓN ARTERIAL MEDIA



TENSIÓN ARTERIAL DIASTÓLICA



ESTUDIO COMPARATIVO A LAS 10 SEMANAS

Los grupos control, independientemente del tratamiento recibido, presentan una tensión arterial similar.

Las ratas genéticamente hipertensas que no fueron tratadas tienen la mayor tensión arterial del experimento. La diferencia fue significativa con respecto a los grupos control no tto y control tto ($p<0.01$) y casi significativa en el caso del grupo hta tto ($p=2.67$ para la sistólica y $p=2.43$ para la diastólica y la media). Se observa como las diferencias entre los dos grupos de hipertensas comienzan a ser significativas a partir de la semana 12 y son claramente evidentes en la semana 15.

La tensión arterial sistólica de los animales hipertensos que recibieron tratamiento resultó ser mayor ($p<0.05$) que la del grupo control no tto, pero no que la del grupo control tto. Esta diferencia se vuelve no significativa a partir de la semana 11. En el caso de la tensión arterial diastólica y media la diferencia no resultó significativa desde un principio.

ESTUDIO COMPARATIVO A LAS 15 SEMANAS

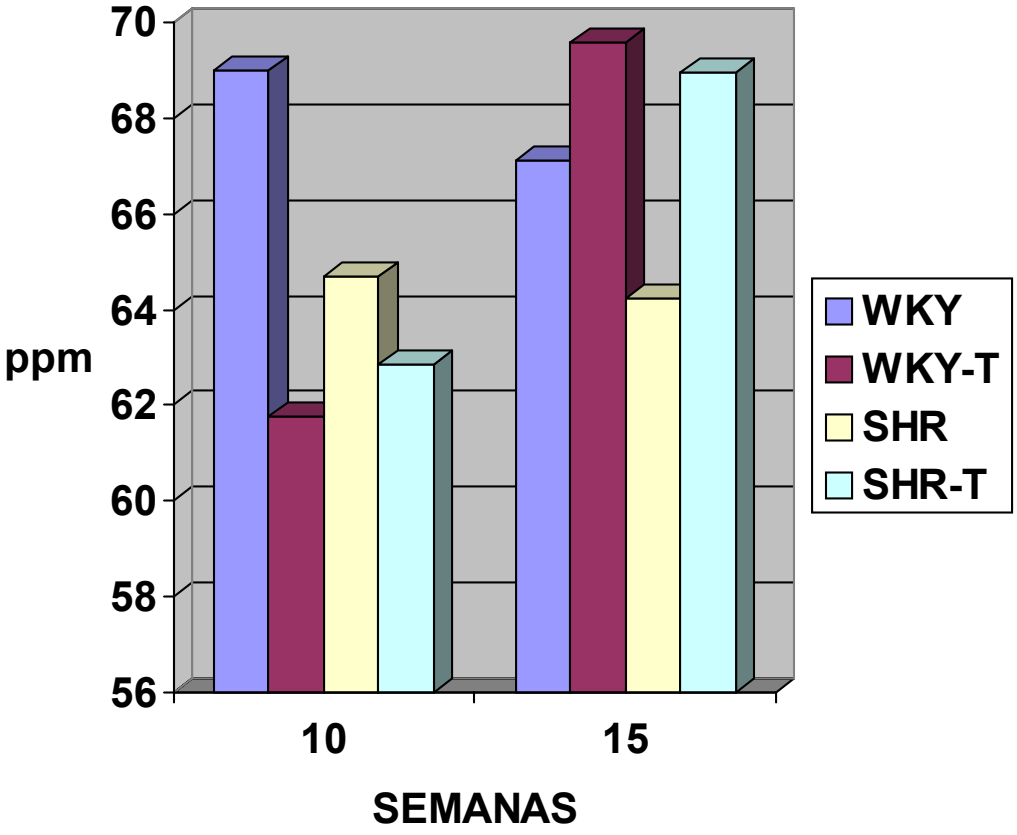
Al igual que en la edad anteriormente estudiada, la tensión arterial de los grupos control no tto y control tto es equiparable. A esta edad, también la tensión arterial de las ratas hipertensas tratadas es comparable a la de las controles. Así, no hay diferencias estadísticamente significativas entre la tensión arterial de los grupos control no tto, control tto e hta tto.

En todos los casos, la tensión arterial sistólica, diastólica y media de los animales hipertensos a los que no se les dio tratamiento fue mayor, con una $p<0.01$, que la de los grupos control no tto, control tto e hta tto.

D-FRECUENCIA CARDÍACA

La variable frecuencia cardíaca no se vió afectada ni por la edad (es comparable a las 8, 10 y 15 semanas) ni por el grupo estudiado, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los grupos control no tto, control tto, hta no tto e hta tto.

FRECUENCIA CARDÍACA



E-ESTUDIO CUALITATIVO

REGIONES DEL AP:

En este estudio hemos dividido el AP en dos regiones según el eje rostro-caudal: región rostral y región caudal.

-Región rostral.

La región rostral se caracteriza porque sus componentes ependimarios (células ependimarias e hypendimarias) se encuentran localizados medialmente, asímismo en la parte más rostral de esta región, las células ependimarias llegan a tapizar su parte medio dorsal. Por su parte, las neuronas, los vasos y la glía están dispuestos dorsolateralmente, por lo que a esta región la hemos subdividido en una parte medial y dos partes laterales.

Las células ependimarias presentan núcleos redondeados u ovalados, con varios nucleólos y algunos cilios. Las neuronas son de diferentes tamaños (mediano y pequeño), con un núcleo ovalado que posee un nucleólo prominente (Lucchi et al, 1989). Esta región del AP, además de estos componentes ependimarios y neuronales, es una zona ricamente vascularizada en la que se encuentra una abundante cantidad de luces capilares tapizadas de endotelio, rodeadas de fibras nerviosas, así como diferentes tipos de células de glía, tal y como describe Lucchi y cols. en 1989. Esta parte vascular, fibrosa y de células gliales, se encuentra localizada fundamentalmente en las partes laterales.

La región rostral tiene forma triangular en un corte transversal del tejido respecto al eje rostro-caudal, cuyo vértice apunta hacia el epéndimo. Esta zona triangular es mayor en la región rostral que en la caudal, donde aparece más reducido. El AP posee una importante presencia neuronal comparable a la densidad del órgano subfornical. Los somas neuronales del AP en su región rostral, tienden a ser pequeños y se disponen de forma homogénea en el parénquima del AP. Miden de 8 a 15 μm de diámetro, su núcleo es ovoide y presenta un nucleólo prominente (Chernicky et al, 1980).

Las células ependimarias de la región rostral del AP se distribuyen en pocas capas y son células redondeadas (Leslie, 1986). Aparecen muy teñidas con los métodos de tinción convencionales de Klüver-Barrera. El canal ependimario es notable en la región rostral y generalmente adquiere forma de curz; en su región dorsal aparece el AP.

-Región caudal.

En la región caudal del área postrema vemos que las neuronas son muy abundantes y ocupan la mayor parte de esta región, es decir, su zona central y dorsal. La zona más ventral está ocupada por células ependimarias e hypendimarias y la zona dorsal está provista de fibras, vasos y células gliales. Esta región caudal está recubierta dorsalmente por la membrana pial. En los grupos experimentales hemos encontrado también estos componentes sin variación aparente con respecto al grupo control.

Las neuronas del AP en su región caudal se disponen formando un triángulo más reducido que las células de la región rostral. Asímismo las neuronas aparecen más apretadas unas contra otras. Las células del canal ependimario en esta región se distribuyen formando un círculo y se pierde la forma de cruz de la región rostral.

En general, cualitativamente hablando, el AP de los grupos controles e hipertensas presenta una distribución de sus componentes: células gliales, fibras nerviosas, neuronas y vascularización similar, independientemente del tratamiento y de la edad estudiada.

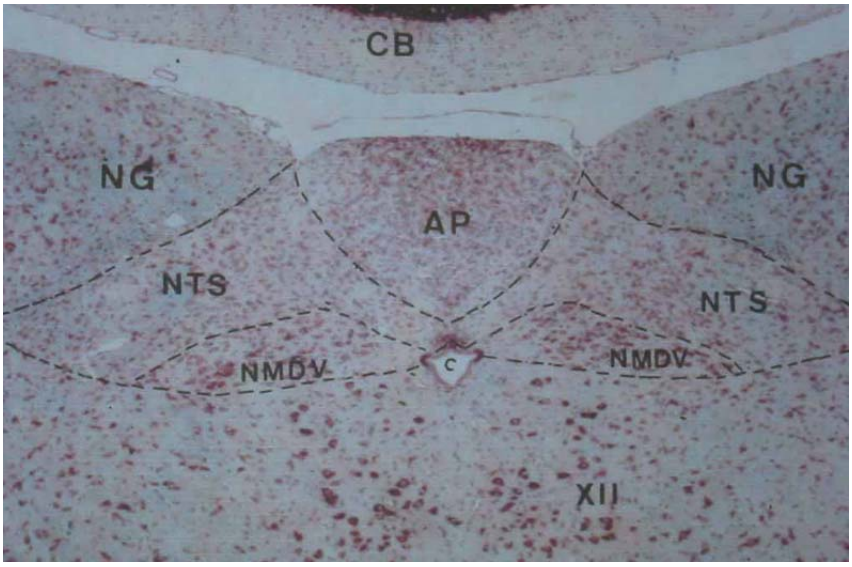


FIG. A

CORTE FRONTAL DEL AREA POSTREMA.

TINCIÓN KLÜVER - BARRERA 4X 1.25 X 10 AUMENTOS

AP	AREA POSTREMA
CB	CEREBELO
C	CANAL CENTRAL
NTS	NÚCLEO DEL TRACTO SOLITARIO
NMDV	NÚCLEO MOTOR DORSAL DEL VAGO
NG	NÚCLEO GRACIL
XII	NÚCLEO DEL HIPOGLOSO

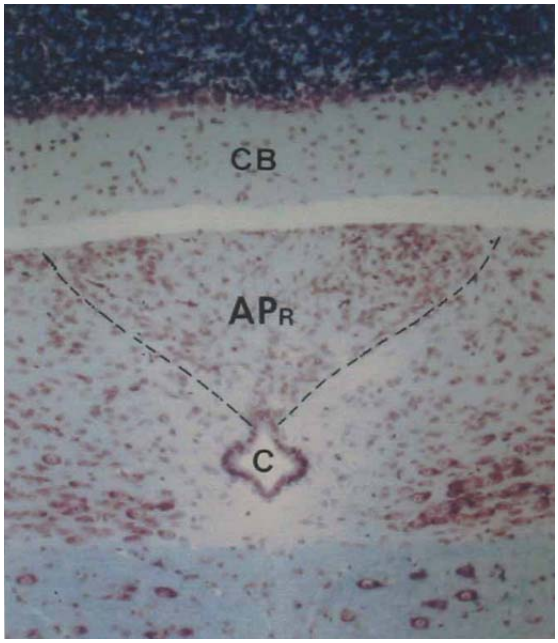


FIG. B

CORTE FRONTAL DEL AREA POSTREMA.REGION ROSTRAL

TINCIÓN KLÜVER - BARRERA 4X 2 X 10 AUMENTOS

APR AREA POSTREMA ROSTRAL

CB CEREBELO

C CANAL CENTRAL

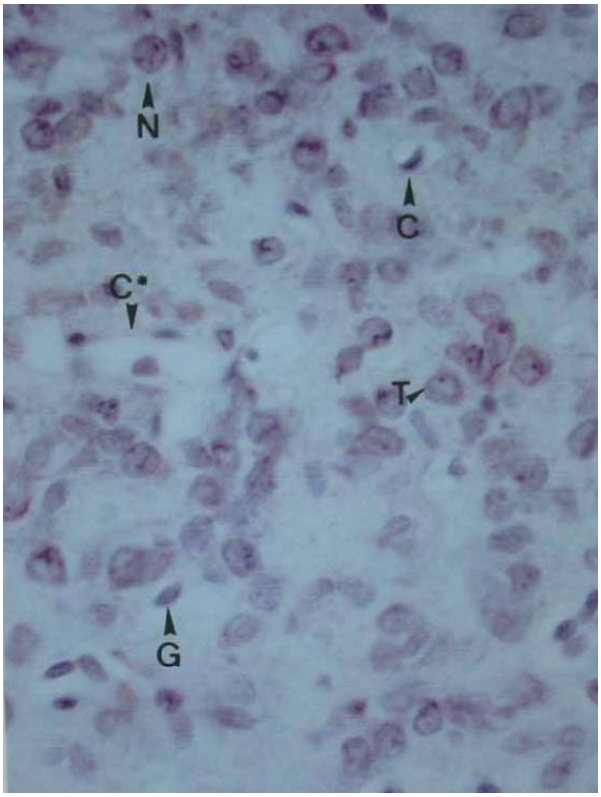
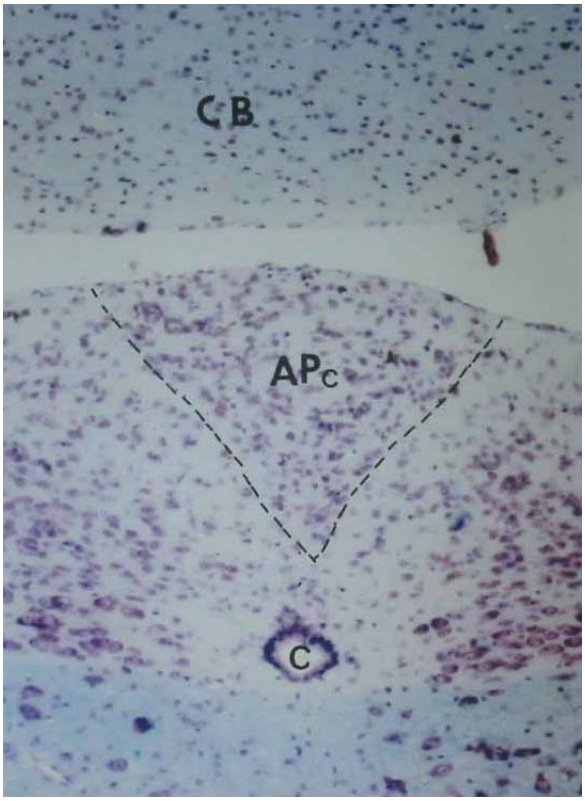


FIG. C

DETALLE DEL AREA POSTREMA.REGION ROSTRAL

TINCIÓN KLÜVER - BARRERA 25 X 2 X 10 AUMENTOS

C	CAPILAR
C*	CAPILAR SINUSOIDAL
N	NEURONA
T	TANICITO
G	CELULA GLIAL



F IG. D

CORTE FRONTAL DEL AREA POSTREMA.REGION CAUDAL

TINCIÓN KLÜVER - BARRERA 4X 2 X 10 AUMENTOS

APC AREA POSTREMA CAUDAL

CB CEREBELO

C CANAL CENTRAL

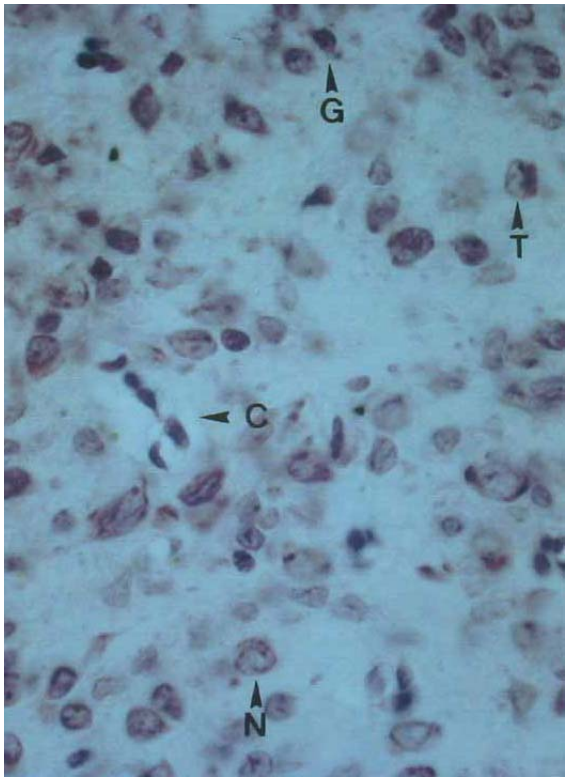


FIG. D

CORTE FRONTAL DEL AREA POSTREMA.

REGION CAUDAL.

TINCIÓN KLÜVER - BARRERA 4X 2 X 10 AUMENTOS

APC	AREA POSTREMA CAUDAL
CB	CEREBELO
C	CANAL CENTRAL

F-ESTUDIO CUANTITATIVO: MORFOMETRÍA

1.REGIÓN ROSTRAL. Neuronas.

GRUPO CONTROL NO TTO

El **área nuclear** de las neuronas del grupo control no tratado disminuye con la edad, de manera que encontramos diferencias entre las 10 y 15 semanas. En estos casos, el nivel de signinficación fue de 0.01.

Respecto al **perímetro neuronal**, también presentó diferencias valorables con respecto a las dos edades estudiadas, siendo menor en las ratas de 15 semanas que en las ratas de 10 semanas de edad ($p<0.01$).

El **factor forma** fue similar a las 10 y a las 15 semanas, sin diferencias significativas.

GRUPO CONTROL TTO

El **área nuclear** neuronal del grupo control que recibió tratamiento disminuye entre las 10 y 15 semanas con una $p<0.05$.

El **perímetro neuronal** registra una disminución con una $p<0.05$, desde las 10 a las 15 semanas.

La **circularidad** o **factor forma** no se vio afectada por la edad.

GRUPO HTA NO TTO

El **área nuclear** de los elementos neuronales ofrece valores diferentes al comparar las ratas de 10 semanas con las de 15 semanas teniendo éstas últimas unos valores significativamente mayores que las de 10 semanas $p<0.05$.

El **perímetro nuclear** asímismo, presenta valores incrementados en las ratas de 15 semanas con respecto a las ratas de 10 semanas $p<0.05$.

Respecto al **factor forma** no hubo diferencias signuficativas entre ambas edades.

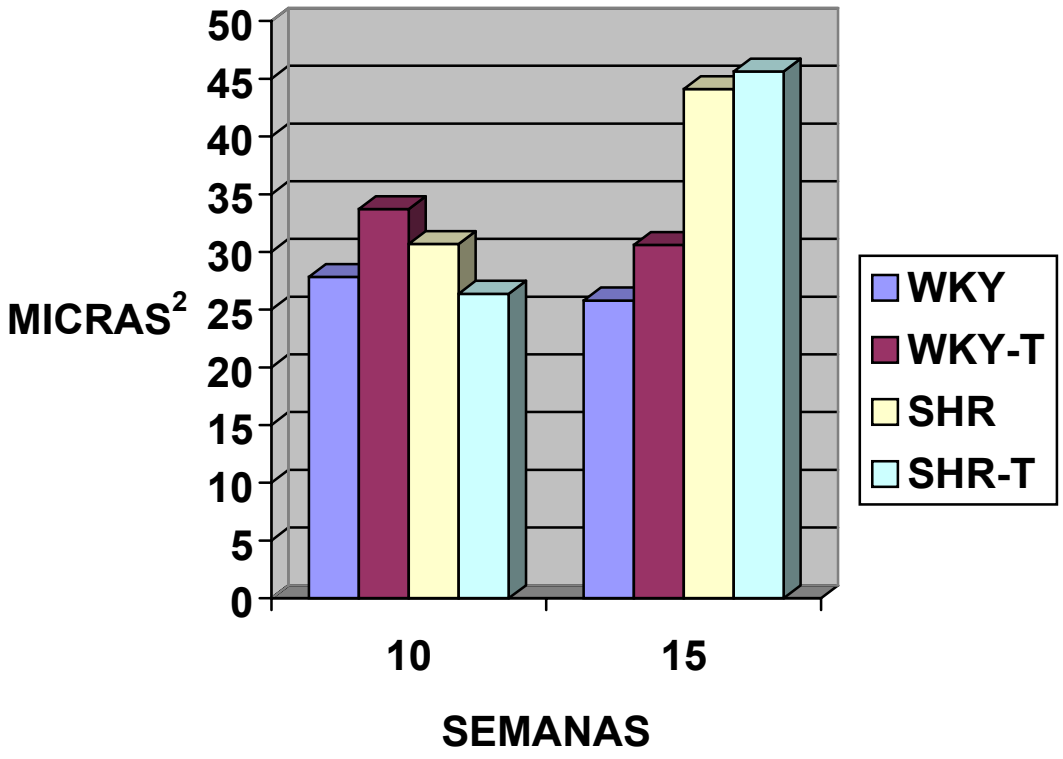
GRUPO HTA TTO

Las ratas hipertensas que recibieron tratamiento con captopril experimentaron un aumento de su **área nuclear** con la edad, así las ratas hipertensas tratadas con captopril de 10 semanas presentaron valores más reducidos que las de 15 semanas, $p<0.05$.

El **perímetro nuclear** también se ve afectado y las ratas de 15 semanas manifestaron valores mayores que las ratas de 10 semanas, $p<0.05$.

La **forma neuronal** de las neuronas a nivel rostral no experimentó variaciones significativas con el aumento de la edad.

AREA POSTREMA ROSTRAL
AREA NUCLEAR NEURONAL



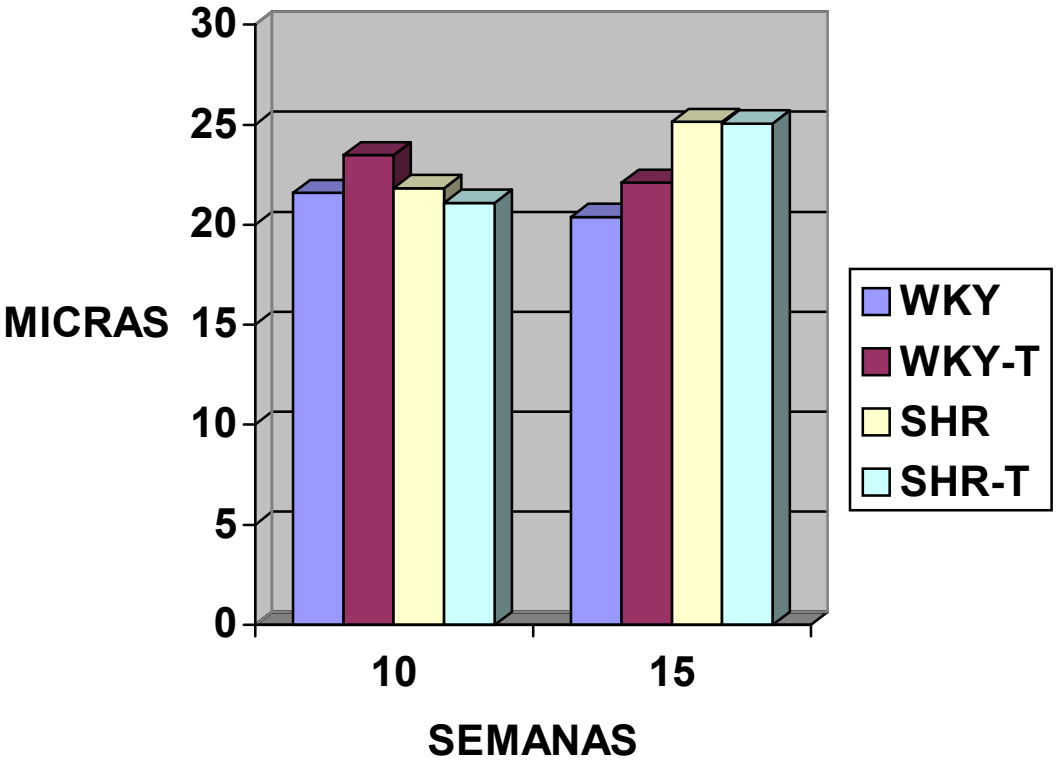
ESTUDIO COMPARATIVO A LAS 10 SEMANAS.

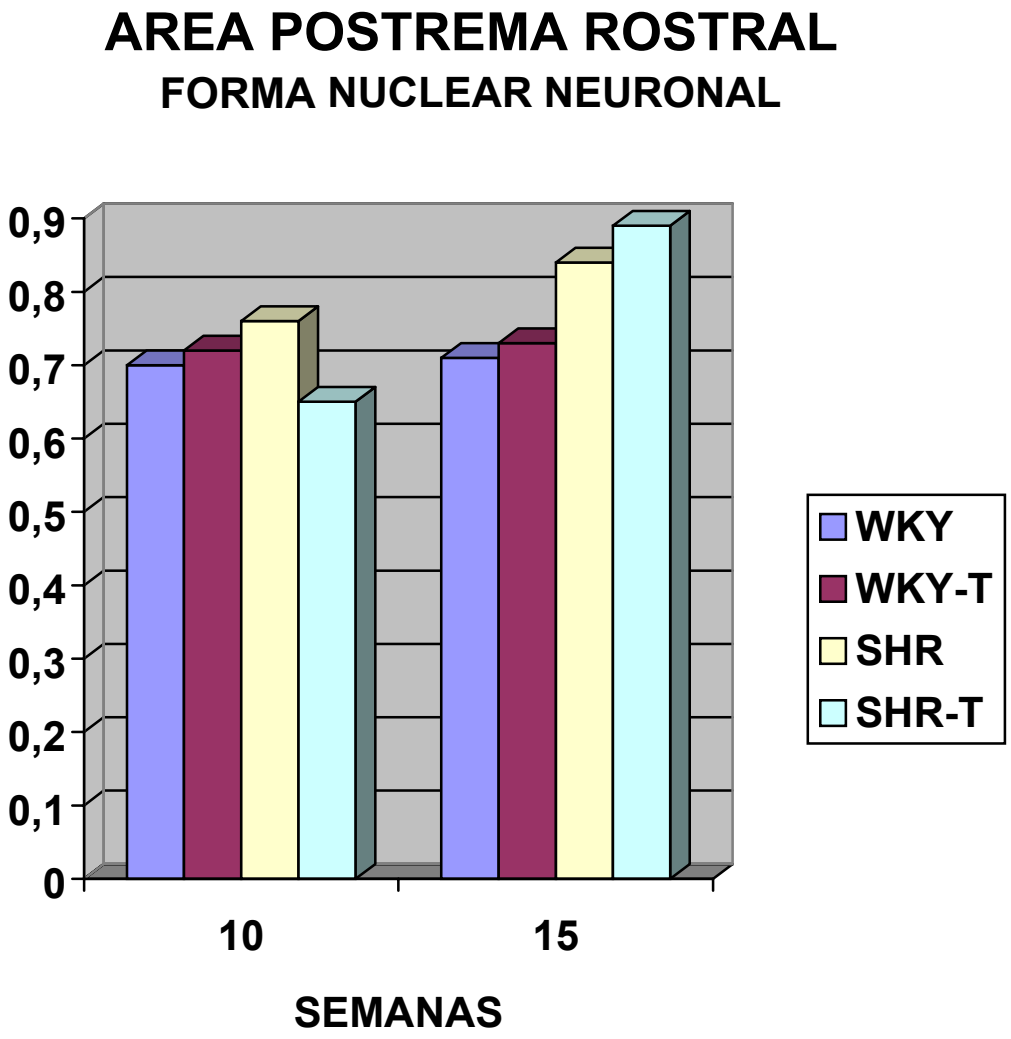
Los valores que presentan las neuronas de la región rostral del AP en cuanto al **área nuclear** son diferentes en los cuatro grupos estudiados, presentando un mayor valor el grupo control tratado seguido del hipertenso no tratado, $p<0.01$. El grupo control no tratado posee valores del área nuclear más pequeños que el hipertenso no tratado y finalmente el grupo hipertenso tratado es el que tiene el valor más bajo del área neuronal.

Cuando comparamos el **perímetro neuronal** de las neuronas de la región rostral del AP observamos que no hay diferencias importantes entre los cuatro grupos estudiados, siendo este valor sólo un poco mayor en el grupo control tratado.

Respecto a la **forma nuclear** observamos que no hay diferencias significativas entre los cuatro grupos estudiados.

AREA POSTREMA ROSTRAL
PERIMETRO NUCLEAR NEURONAL




AREA POSTREMA ROSTRAL
FORMA NUCLEAR NEURONAL
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
10
15
SEMANAS
WKY
WKY-T
SHR
SHR-T

ESTUDIO COMPARATIVO A LAS 15 SEMANAS.

A las 15 semanas las ratas hipertensas tratadas presentaron un **área nuclear** significativamente mayor que las ratas controles no tratadas y controles tratadas, $p<0.05$. En el grupo de ratas hipertensas tratadas este parámetro fue mayor que en el grupo de hipertensas no tratadas aunque esta vez no fue significativamente valorable.

El **perímetro neuronal** mostró valores equiparables en los grupos de ratas hipertensas tratadas y no tratadas. Los grupos controles tratados y no tratados también presentaron valores similares siendo un poco más altos en el grupo control tto. Por el contrario, sí hubo diferencias significativas al comparar los grupos hipertensos con los controles, teniendo estos últimos valores más bajos. $P<0.01$.

El **factor forma** no puso de manifiesto diferencias entre los grupos estudiados siendo la esfericidad similar en todos ellos.

2.REGIÓN ROSTRAL. Epéndimo.

El análisis morfométrico de esta población celular se realizó en las células ependimarias que tapizan la luz del canal ependimario.

GRUPO CONTROL NO TTO

Los valores medios del **área nuclear** de los ependimocitos de la región rostral del AP en los animales controles no tratados no presentan variación estadísticamente significativa relacionada con la edad.

El **perímetro nuclear** de los ependimocitos de la región rostral del AP permanece relativamente constante con el paso del tiempo.

La **forma nuclear** de las ratas control es menor a las 15 semanas que a las 10 semanas, $p<0.01$.

GRUPO CONTROL TTO

El **área nuclear** de los ependimocitos se mantuvo con valores muy similares entre las 10 y las 15 semanas.

El desarrollo cariométrico del **perímetro nuclear** apenas presenta un ligero cambio con la edad, no significativo.

La **forma nuclear** de las células ependimarias del AP rostral de los animales control tratados con captopril, es mayor a las 15 semanas que a las 10 semanas, $p<0.01$.

GRUPO HTA NO TTO

El **área nuclear** de los ependimocitos a nivel rostral del grupo experimental de animales hipertensos no tratados no ofrece cambios importantes estadísticamente significativos entre las 10 y 15 semanas.

En estas ratas, no encontramos diferencias en los valores medios del **perímetro nuclear** entre las 10 y 15 semanas.

Los ependimocitos apenas sufren modificaciones en su **forma** al pasar de una edad a otra, permaneciendo relativamente constante su forma esférica.

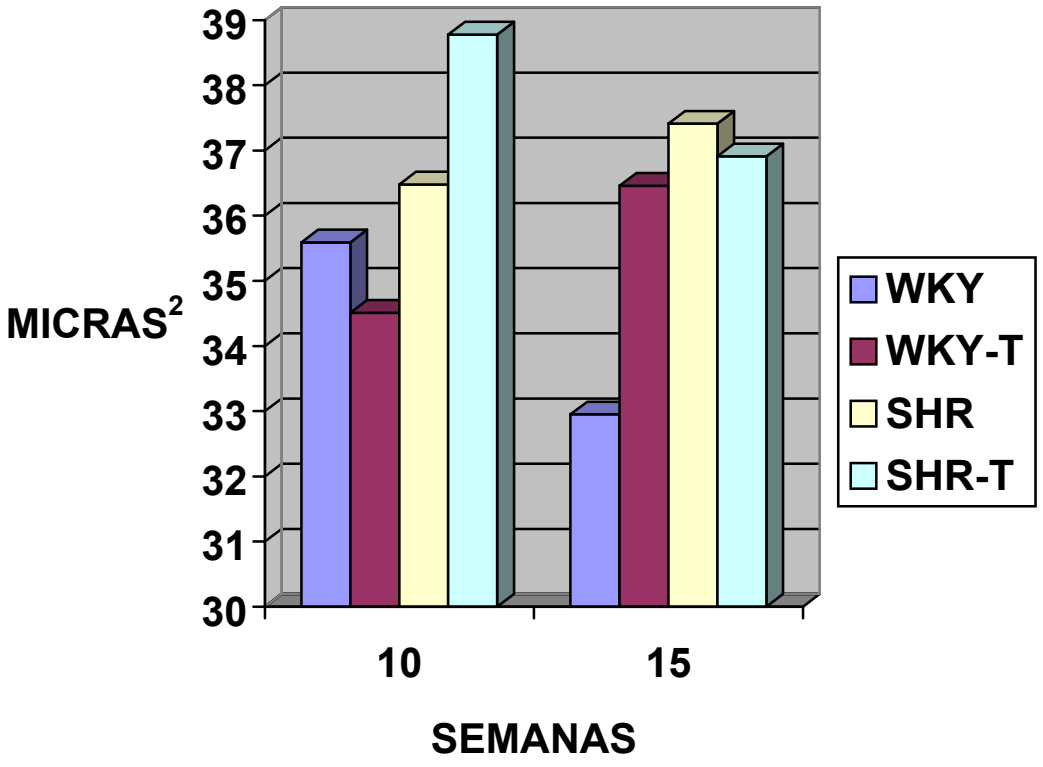
GRUPO HTA TTO

El desarrollo del **área nuclear** de las células ependimarias rostrales de las ratas hipertensas tratadas muestra una evolución similar a la seguida por el resto de los grupos estudiados. Así, no observamos diferencias apreciables entre las 10 y 15 semanas.

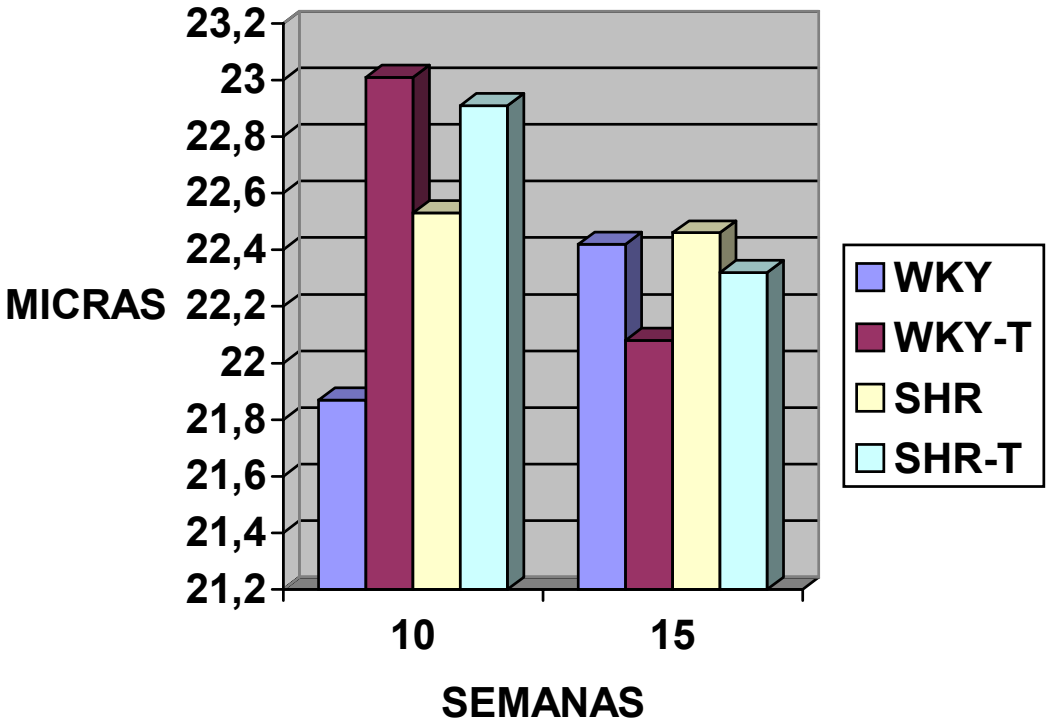
Tampoco el parámetro **perímetro nuclear** se ve modificado con la edad.

El factor **forma** de los animales hipertensos que recibieron tratamiento presenta una mayor tendencia a la esfericidad a las 15 que a las 10 semanas ($p<0.05$).

AREA POSTREMA ROSTRAL
AREA NUCLEAR EPÉNDIMO



AREA POSTREMA ROSTRAL
PERÍMETRO NUCLEAR EPÉNDIMO



ESTUDIO COMPARATIVO A LAS 10 SEMANAS

El estudio comparativo entre los grupos controles e hipertensos refleja que el **área nuclear** es mayor en el grupo hipertenso tratado, y el menor valor lo presenta el grupo control tratado, $p<0.05$.

El desarrollo cariométrico del **perímetro nuclear** de los ependimocitos de la región rostral no ofrece variaciones importantes entre los diferentes grupos a las 10 semanas.

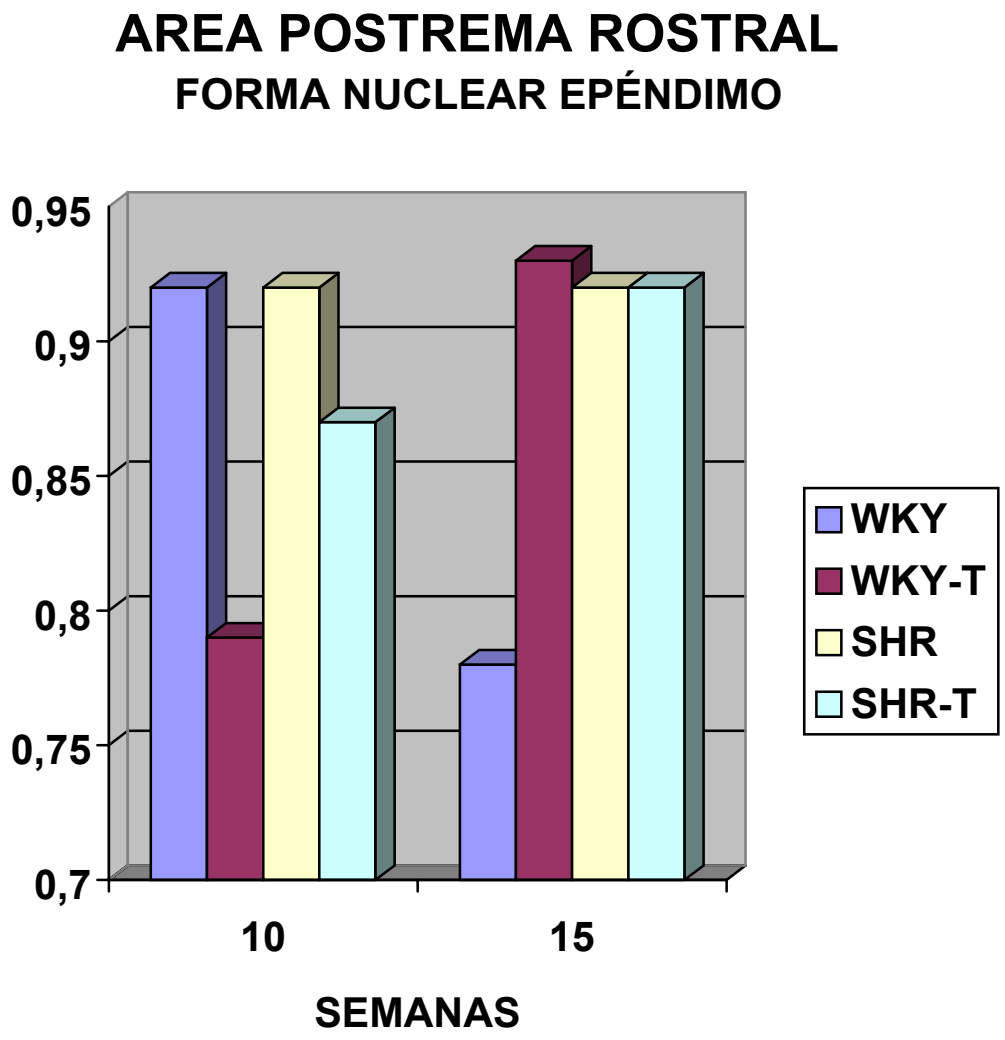
La **circularidad** es mayor en las ratas controles que en las controles tratadas, y fue comparable en las hipertensas.

ESTUDIO COMPARATIVO A LAS 15 SEMANAS

El **área nuclear** es mayor en el grupo de las hipertensas en comparación con las controles, y el grupo control no tratado es el que presenta el menor valor.

El **perímetro nuclear** no varía considerablemente entre los grupos seleccionados para el experimento.

El **factor forma** de los animales del grupo control tratado se acerca al valor máximo, la unidad, con diferencias significativas con respecto al control no tratado.


AREA POSTREMA ROSTRAL
FORMA NUCLEAR EPÉNDIMO
0,95
0,9
0,85
0,8
0,75
0,7
10
15
SEMANAS
WKY
WKY-T
SHR
SHR-T

3.REGIÓN CAUDAL. Neuronas.

GRUPO CONTROL NO TTO.

El **área neuronal** de los animales control no tratados sí presenta diferencias significativas relacionadas con la edad.

El **perímetro neuronal** no presenta diferencias significativas comparando las edades.

El parámetro morfométrico **forma nuclear** no pone de manifiesto diferencias estadísticamente significativas al comparar las edades; las ratas de 10 semanas muestran una forma neuronal más cercana a la unidad mientras que a las 15 semanas este valor ha descendido levemente.

GRUPO CONTROL TTO

Los valores medios del **área neuronal, perímetro neuronal y factor forma** en los animales control a los que se les administró captopril no presentan ninguna variación entre las edades recogidas en el experimento.

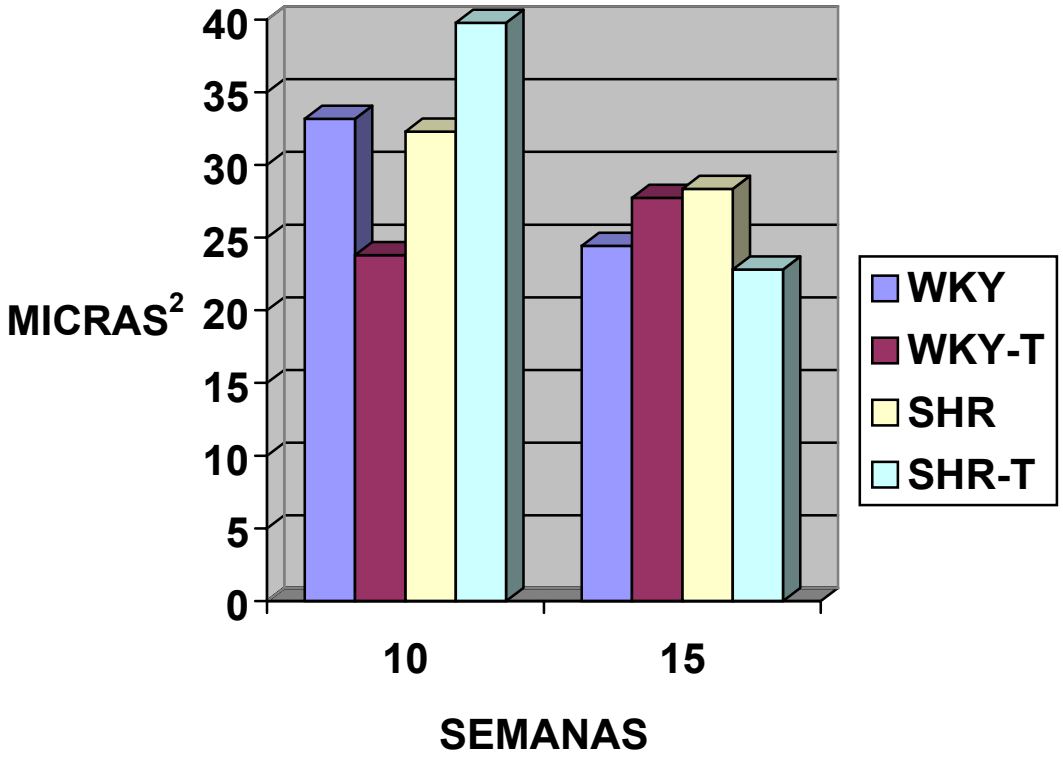
GRUPO HTA NO TTO

En el **área neuronal** no hay diferencias significativas al comparar las edades de las ratas hipertensas no tratadas con captopril.

El **perímetro neuronal** tampoco presenta variaciones importantes entre las 10 y 15 semanas.

La **forma neuronal** pone de manifiesto que a las 10 semanas se acerca más a la unidad disminuyendo posteriormente a las 15 semanas. $P<0.01$.

AREA POSTREMA CAUDAL
AREA NUCLEAR NEURONAL



GRUPO HTA TTO

El **área neuronal** de los animales hipertensos tratados sí manifiesta diferencias significativas al comparar las dos edades estudiadas, $p<0.01$.

El **perímetro neuronal** no pone de manifiesto variaciones significativas.

La **forma neuronal** en este grupo refleja una diferencia significativa al comparar las ratas de 10 y 15 semanas, siendo en las primeras más cercana a la unidad y disminuyendo este valor con la edad presentando a las 15 semanas una reducción notable. $P<0.01$.

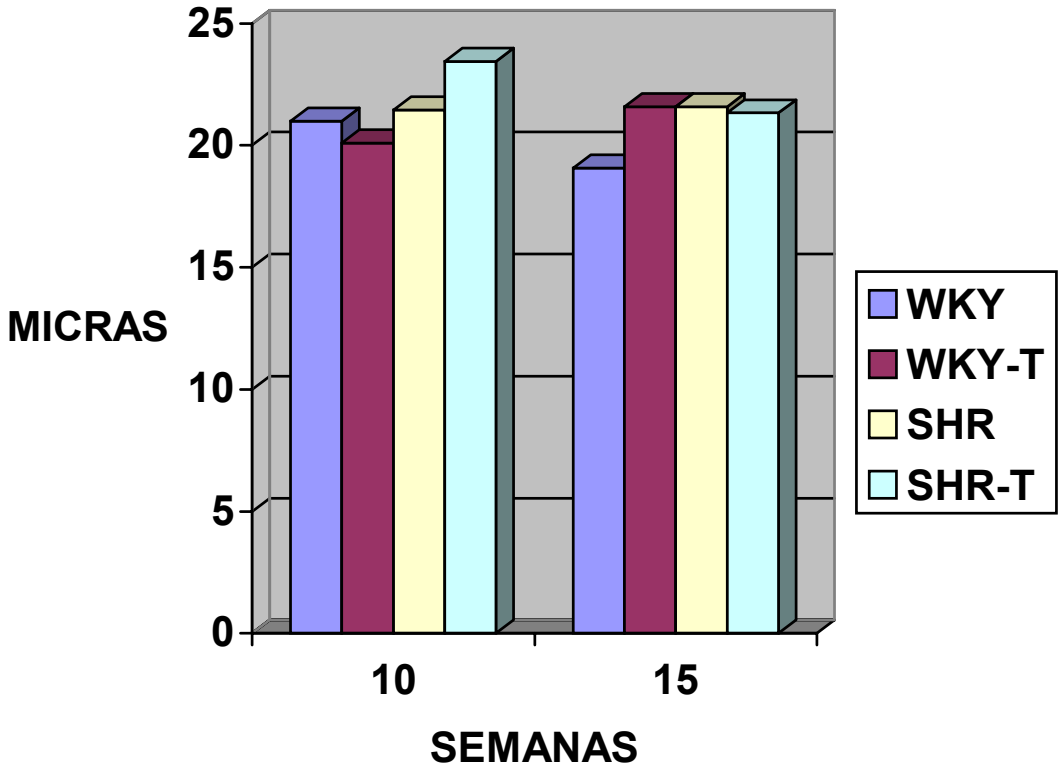
ESTUDIO COMPARATIVO A LAS 10 SEMANAS

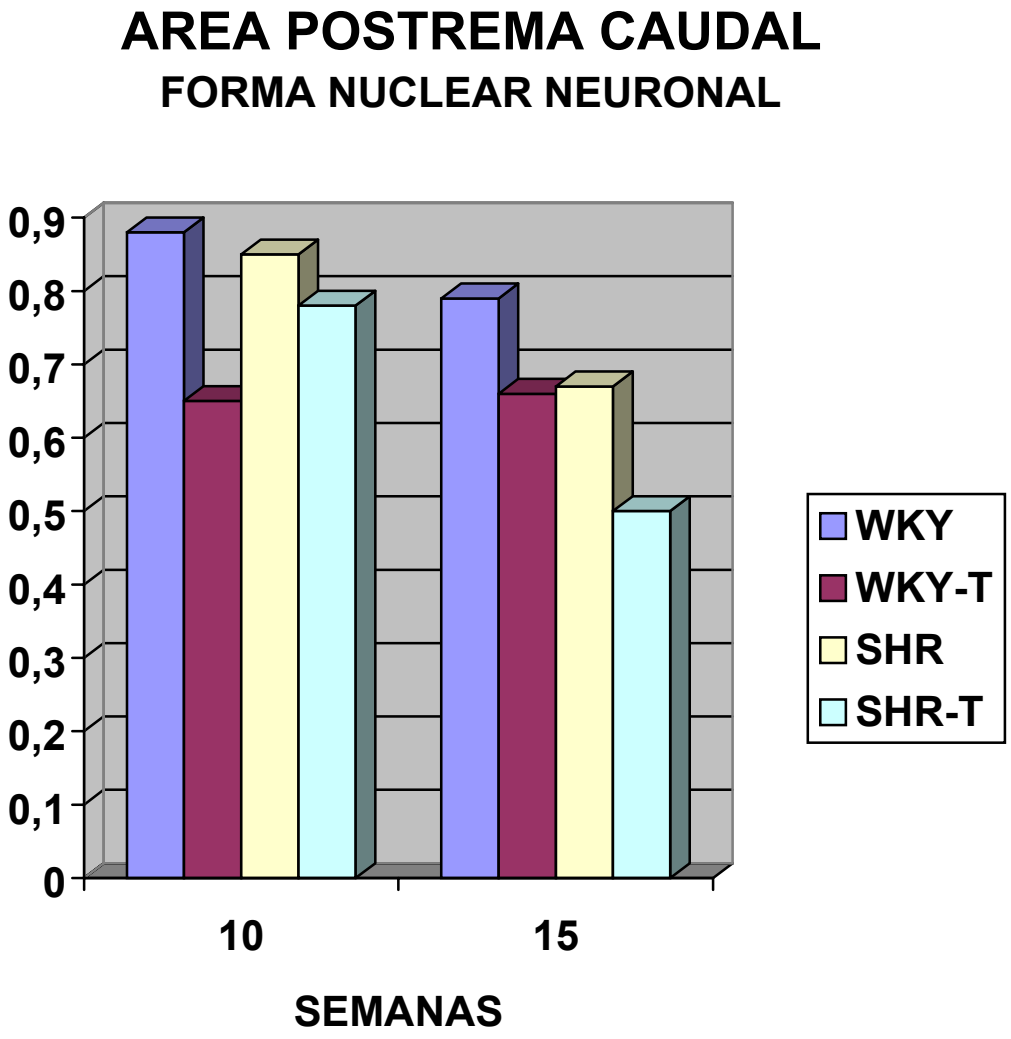
Al comparar el **área neuronal** de los diferentes grupos estudiados observamos que hay diferencias significativas entre el grupo hipertenso tratado y el control tratado, $p<0.05$.

La gráfica relativa al **perímetro neuronal** no manifiesta diferencias significativas al comparar los cuatro grupos estudiados.

En lo que se refiere al **factor forma** observamos que el grupo de las ratas control tratadas con captopril experimenta una disminución respecto al grupo de las ratas control no tratadas, $p<0.01$. Los grupos de las ratas hipertensas, tratadas y no tratadas, no muestran diferencias en este valor aunque en el grupo de las ratas hipertensas no tratadas dicho valor aparece incrementado pero sin diferencias significativas. Los grupos de las ratas control no tratadas, hipertensas no tratadas e hipertensas tratadas poseen una circularidad más cercana a la unidad que el grupo de las control tratadas.

AREA POSTREMA CAUDAL
PERIMETRO NUCLEAR NEURONAL




AREA POSTREMA CAUDAL
FORMA NUCLEAR NEURONAL
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
10
15
SEMANAS
WKY
WKY-T
SHR
SHR-T

ESTUDIO COMPARATIVO A LAS 15 SEMANAS

No hubo diferencias significativas respecto al **área neuronal** en todos los grupos estudiados.

El estudio comparativo entre los diferentes animales muestra cómo el **perímetro neuronal** no varía entre los diferentes grupos estudiados a la edad de 15 semanas.

Respecto a la **forma neuronal** vemos que la mayor tendencia a la circularidad, lo presenta el grupo control no tratado al igual que ocurría a las 10 semanas. El grupo hipertenso tratado posee la circularidad más reducida en comparación con el resto de los grupos mientras que el grupo hipertenso no tratado tiene una circularidad mayor que el anterior. Asímismo el grupo control tratado tiene una circularidad más baja que el control no tratado. $P<0.1$.

4.REGION CAUDAL. Epéndimo.

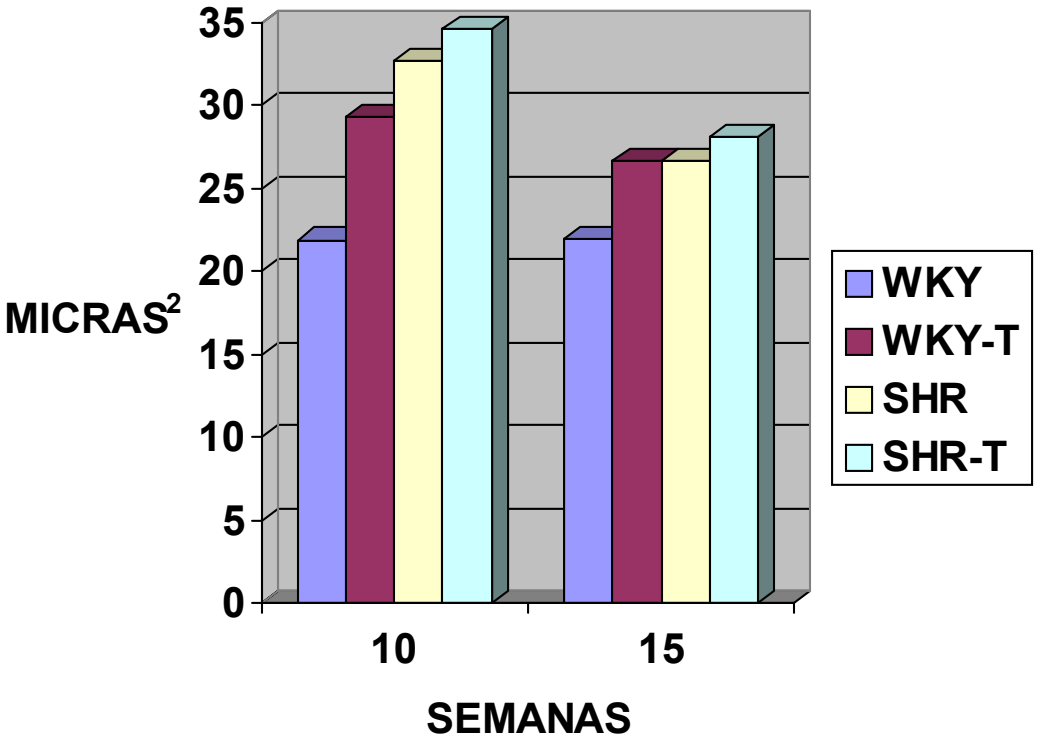
GRUPO CONTROL NO TTO

Las células ependimarias caudales de los animales controles no tratados ofrecen un **área** celular sin diferencias significativas relacionadas con la edad.

El **perímetro** celular sí presenta variaciones significativas con la edad; a las 10 semanas el perímetro es mayor que a las 15 semanas. $P<0.05$.

El **factor forma** no pone de manifiesto diferencias relacionadas con la edad.

AREA POSTREMA CAUDAL
AREA NUCLEAR EPÉNDIMO



GRUPO CONTROL TTO

El **área** de las células ependimarias caudales de los animales controles tratados no presenta diferencias significativas con la edad.

El **perímetro** celular no manifiesta diferencias con la edad, sólo experimenta una ligera reducción a las 15 semanas de vida.

El **factor forma** de este grupo no pone de manifiesto diferencias significativas al comparar ambas edades.

GRUPO HTA NO TTO

El parámetro **área** disminuye con la edad, $P<0.05$. El **perímetro** no presenta diferencias significativas, y el **factor forma** es mayor a las 10 semanas que a las 15 semanas.

GRUPO HTA TTO

En las ratas hipertensas tratadas, el **área nuclear** disminuye significativamente con la edad, siendo menor a las 15 semanas que a las 10 semanas, $P<0.05$.

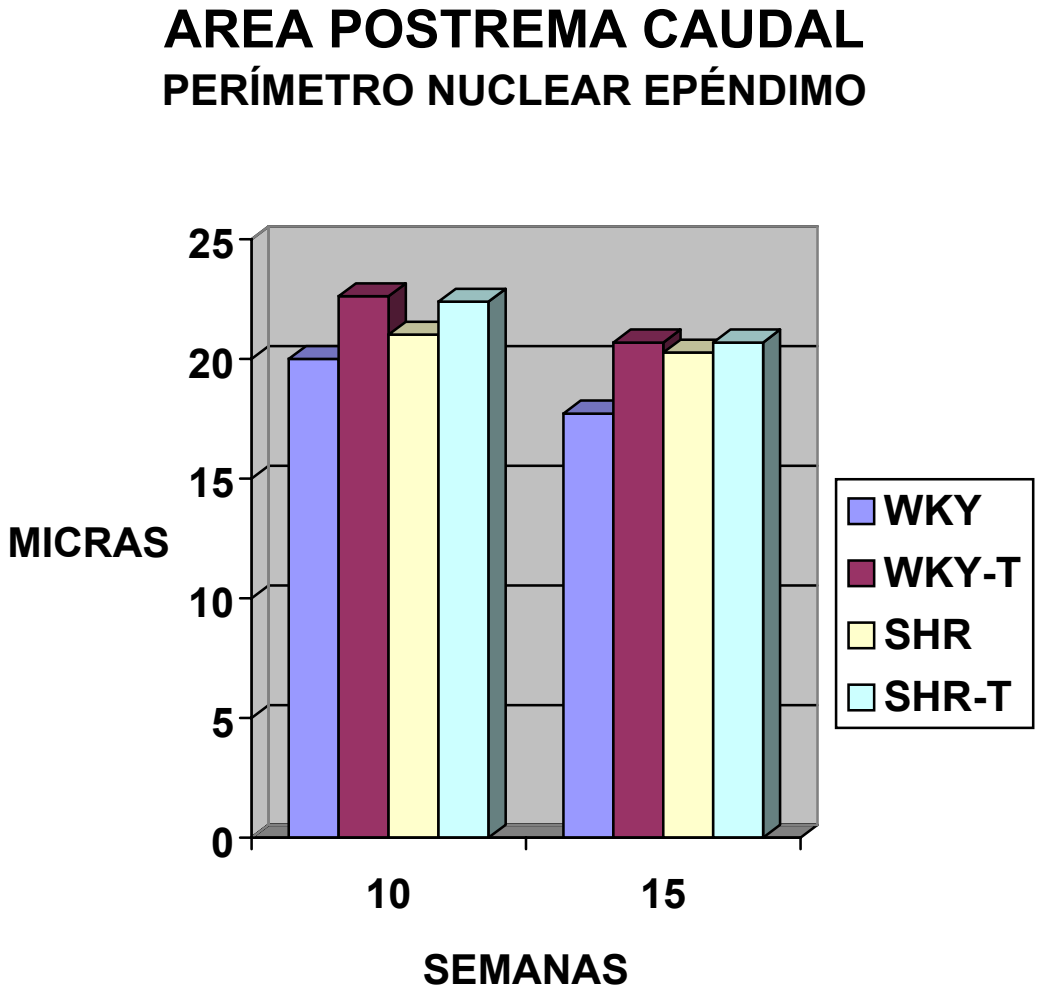
El **perímetro** y el **factor forma** no presentan diferencias significativas con la edad.

ESTUDIO COMPARATIVO A LAS 10 SEMANAS

El **área** de las células ependimarias caudales a las 10 semanas de desarrollo ofrece variaciones entre los grupos seleccionados, sobre todo en el grupo control no tratado y el grupo hipertenso tratado, $p<0.05$.

Al comparar el **perímetro** de las células ependimarias caudales se pone de manifiesto que el grupo control tratado con captopril posee el mayor valor para este parámetro, seguido por el grupo de ratas hipertensas tratadas, que a su vez tiene un valor más alto que el grupo de ratas hipertensas no tratadas. El valor más bajo lo presenta el grupo control no tratado, sin diferencias estadísticamente significativas.

En el estudio comparativo del **factor forma** apreciamos que no hay diferencias estadísticamente significativas en la esfericidad de las células entre los grupos controles. Entre los grupos hipertensos, el mayor valor lo presenta el grupo hipertenso no tratado, $p<0.05$.

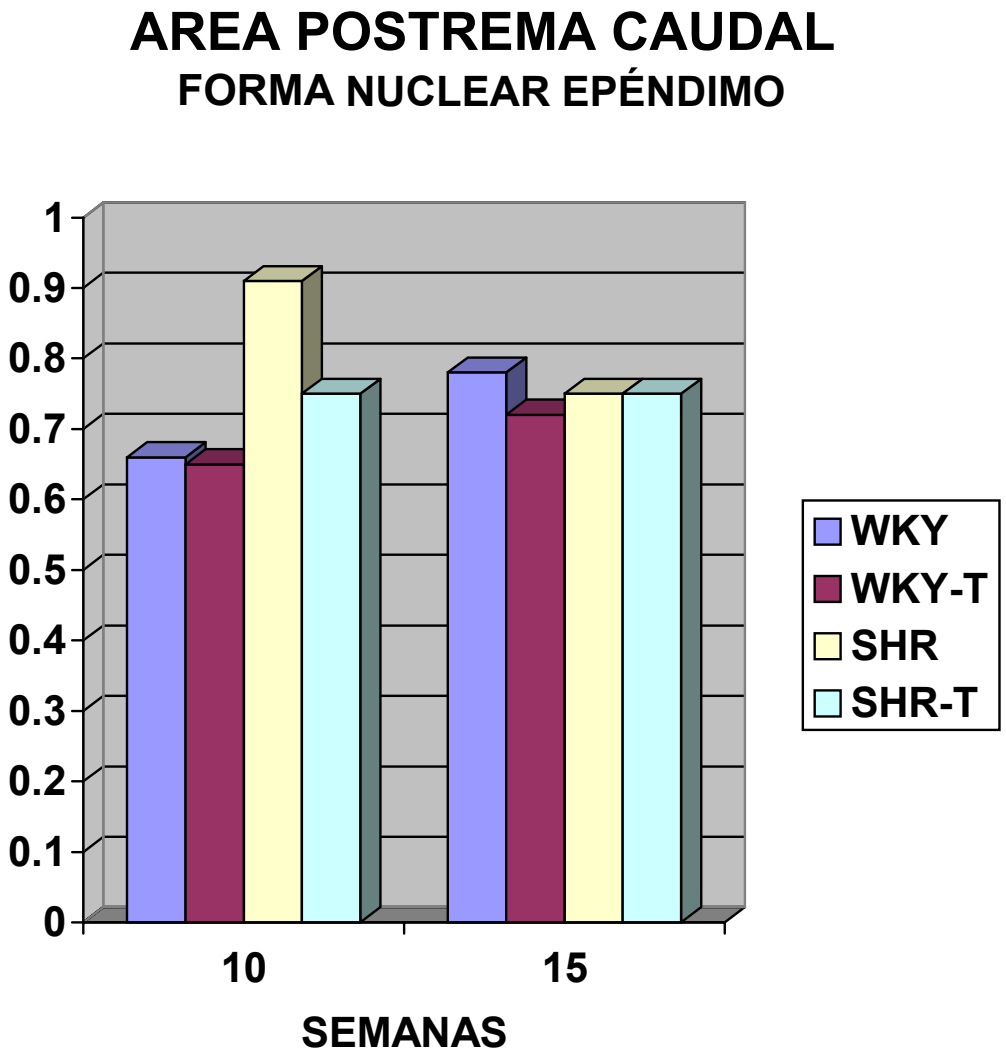

AREA POSTREMA CAUDAL
PERÍMETRO NUCLEAR EPÉNDIMO
MICRAS
25
20
15
10
5
0
10
15
SEMANAS
WKY
WKY-T
SHR
SHR-T

ESTUDIO COMPARATIVO A LAS 15 SEMANAS

Los resultados obtenidos en el estudio morfométrico del **área** son similares al comparar los diferentes grupos, y es el grupo control no tratado el que posee el menor valor, y el grupo hipertenso tratado, el mayor, sin ser estadísticamente significativo.

El **perímetro** tiene el mismo valor en los grupos de ratas hipertensas tratadas y controles tratadas y es mayor, aunque no significativamente diferente, en comparación con el grupo hipertenso no tratado. El valor más bajo para este parámetro lo tiene el grupo control no tratado con captopril. El **factor forma** no presenta diferencias estadísticamente significativas.

En resumen, en el **estudio morfométrico** cabe destacar que los valores del área neuronal de las neuronas de la región rostral del AP son significativamente mayores en las ratas hipertensas e hipertensas tratadas con captopril respecto a las ratas controles y controles tratadas, $p<0.05$. En la región caudal del AP, en cambio, no hay variaciones significativas a esta edad. Por otro lado, a las 15 semanas, los valores del perímetro neuronal de las neuronas de la región rostral del AP, ponen de manifiesto cambios significativos; las ratas hipertensas tratadas y no tratadas obtienen valores mayores que las ratas controles tratadas y no tratadas con captopril, $p<0.05$. No se observan variaciones significativas en el perímetro neuronal de la región caudal del AP. Los ependimocitos no manifiestan cambios.

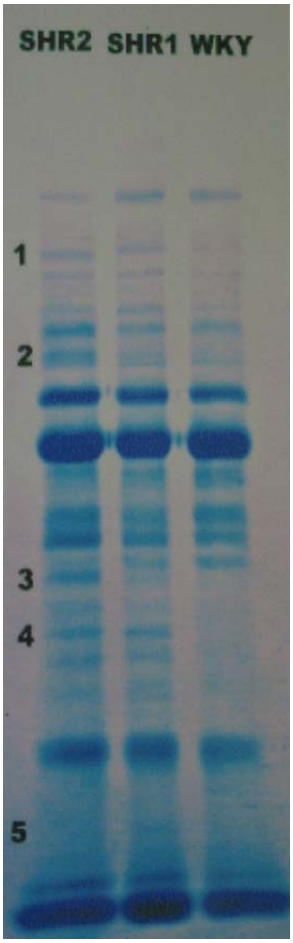

AREA POSTREMA CAUDAL
FORMA NUCLEAR EPÉNDIMO
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
10
15
SEMANAS
WKY
WKY-T
SHR
SHR-T

G-ESTUDIO ELECTROFORÉTICO

La electroforesis del LCR de las ratas dio como resultado la aparición de cinco bandas correspondientes al LCR de las ratas SHR que no aparecían en el LCR de las ratas WKY. La banda-1 tuvo un peso molecular de 141kDa. La banda-2, un peso molecular de 117.5 kDa. La banda-3 correspondía a una proteína menor, capaz de migrar más lejos, cuyo peso molecular fue de 48 kDa. El peso molecular de la banda-4 fue de 43.5 kDa y finalmente la banda-5, que contenía la proteína de un tamaño menor que las demás, dio un peso molecular de 20 kDa.

Estas bandas aparecían en el LCR de las SHRs pero no en el LCR de las WKYs. El resto de las bandas, sin embargo, se repetían al comparar ambos grupos. Estas cinco bandas procedentes de las SHRs, se recortaron del gel para la posterior inmunización de ratones, de forma independiente.

Además, también se puede destacar que el resultado de la electroforesis del suero de las ratas SHRs comparadas con las WKYs, puso de manifiesto la presencia de bandas, de diferentes pesos moleculares, en el suero de las hipertensas que no aparecían en el suero de las controles. De igual forma, aparecían bandas en el suero de las ratas WKYs que no se encontraban en las SHRs.


SHR2 SHR1 WKY
1
2
3
4
5

H-INMUNOHISTOQUIMIA

En el **estudio inmunohistoquímico** se pone de manifiesto que:

1- Los anticuerpos primarios, anti-bandas, procedentes del suero de ratones inmunizados con las bandas proteicas, obtenidas por electroforesis del LCR de las ratas SHRs, marcaron algunos órganos circunventriculares en ratas normotensas e hipertensas, como el órgano subfornical, el órgano subcomisural, la eminencia media y el área postrema.

H-INMUNOHISTOQUIMIA

En el **estudio inmunohistoquímico** se pone de manifiesto que:

1- Los anticuerpos primarios, anti-bandas, procedentes del suero de ratones inmunizados con las bandas proteicas, obtenidas por electroforesis del LCR de las ratas SHRs, marcaron algunos órganos circunventriculares en ratas normotensas e hipertensas, como el órgano subfornical, el órgano subcomisural, la eminencia media y el área postrema.

-ANTICUERPO **Antibanda**-1:

El anticuerpo contra la banda-1, obtenido por la inmunización de ratones con dicha banda, marcó las siguientes estructuras en la reacción inmunohistoquímica:

-**OSC**: Fig.: OSC-1 (*1,2,3)*: En rata WKY aparece marcado parcialmente el epéndimo del OSC aunque no se observa material inmunoreactivo en el

hypéndimo. El epéndimo subyacente presenta material inmunoreactivo distribuído de forma generalizada.

En un detalle de la anterior, observamos una reacción generalizada del epéndimo del OSC y del subyacente, en la rata WKY, observándose material inmunoreactivo en las regiones apical y subapical e intermedia de las células ependimarias del OSC.

En la rata SHR, a diferencia de lo que ocurre en la rata WKY, se observa material inmunoreactivo en todo el OSC, tanto en el estrato ependimario como en el hypendimario.

En el detalle, a mayor aumento se observa claramente que hay marcaje en el polo apical de la célula ependimaria, así como en la región periventricular, tanto de las células hypendimarias como de las ependimarias.

Epéndimo subyacente: Tanto en la rata SHR como en la rata WKY, se obseva marcaje regularmente distribuido por todas las células ependimarias, sin variaciones entre ambos grupos control e hipertenso.

-EM: Fig.: EM-1 *(1,2,3)* En la EM de la rata WKY, con el anticuerpo contra la banda-1, se observa un ligero marcaje en las fibras de la zona interna. Además, se observó una ligera cantidad de material inmunoreactivo en el epéndimo adyacente al núcleo arcuato, e incluso en algunas neuronas del núcleo periventricular.

En las ratas hipertensas, se observa un ligero marcaje en las células del epéndimo. Con este anticuerpo, a mayor aumento pueden observarse fibras marcadas en la rata SHR que no aparecen en la WKY.

-OSF: Fig.: OSF-1 *(1,2,3)* En una visión panorámica del OSF de la rata WKY, aparece una reacción inmunohistoquímica generalizada del parénquima, y una reacción más intensa en el epéndimo de éste.

Se observa marcaje en la región ependimaria del OSF de la rata control, así como en el parénquima en el que se aprecia una reacción generalizada con marcaje destacado en la región perinuclear de algunas neuronas.

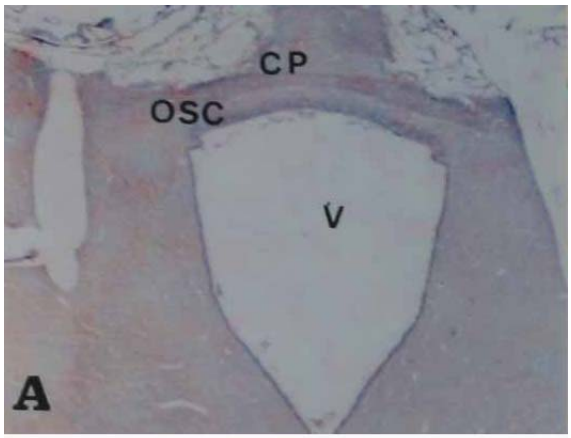
En la rata SHR apenas se aprecia material inmunoreactivo en el OSF.

-AP: Fig.: AP-1 *(1,2,3,4)* El AP de la rata control con el anticuerpo contra la banda-1, pone de manifiesto una reacción generalizada del parénquima del AP, con un marcaje más intenso en la región subpial. En la región próxima al canal central, hay una mayor intensidad del material inmunoreactivo sobre todo en la región perivascular.

El anticuerpo antibanda-1 reaccionó ligeramente con la membrana pial que limita con el tejido del AP de las ratas hipertensas, y se aprecian algunas células marcadas que se corresponden con neuronas de pequeño y mediano tamaño.

-PLEXOS COROIDEOS:

Se observó además, un ligero marcaje de los plexos coroideos del III y IV ventrículo, en ambos grupos de animales.



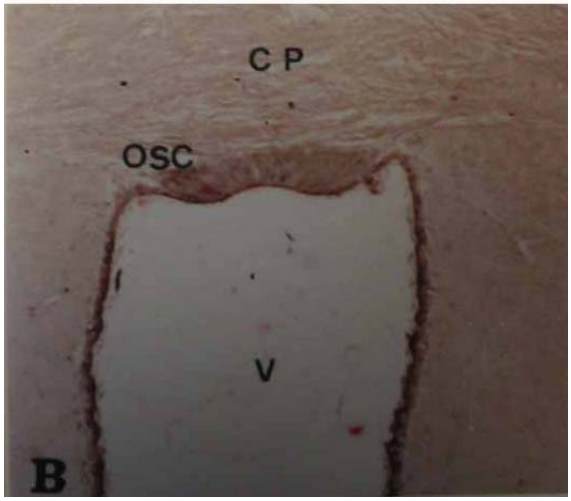


FIG. OSC-1-(1)

ÓRGANO SUBCOMISURAL

A. RATA WKY 15 SEMANAS 4 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 10 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-1

V III Ventriculo

CP Comisura Posterior

OSC Organo Subcomisural

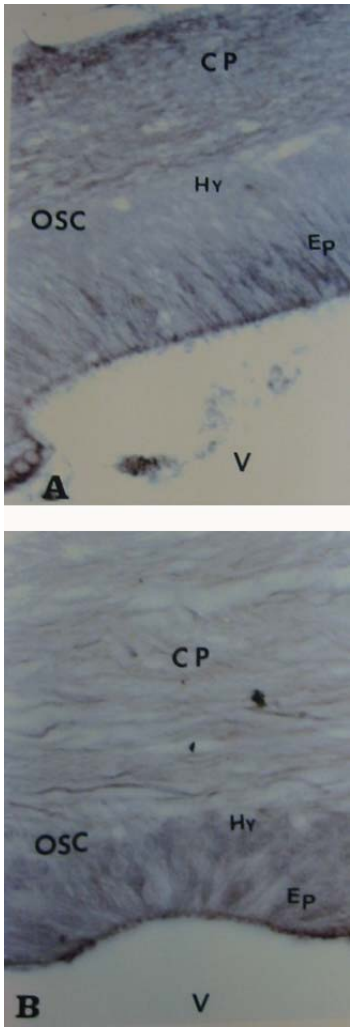


FIG. OSC-1-(2)

ÓRGANO SUBCOMISURAL

A. RATA WKY 15 SEMANAS 25 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 40 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-1

V III Ventriculo

CP Comisura Posterior

OSC Organo Subcomisural

Ep Epéndimo

Hy Hypéndimo

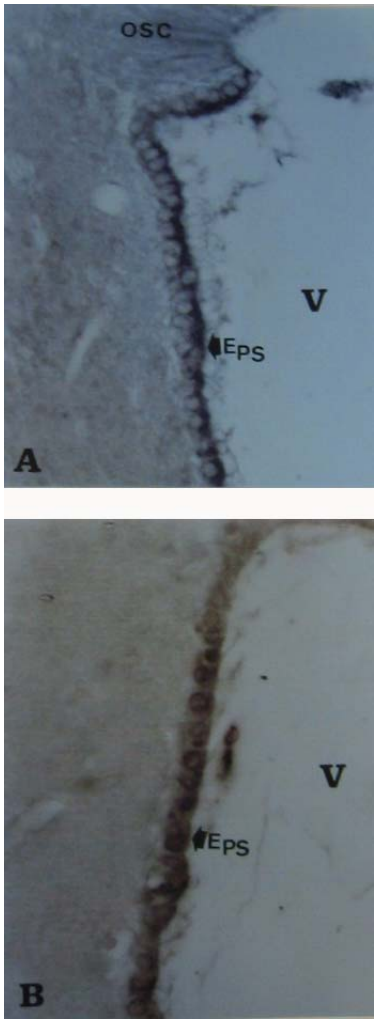


FIG. OSC-1-(3)

ÓRGANO SUBCOMISURAL

A. RATA WKY 15 SEMANAS 25 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 40 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-1

V III Ventriculo

Eps Epéndimo Subyacente

OSC Organo Subcomisural

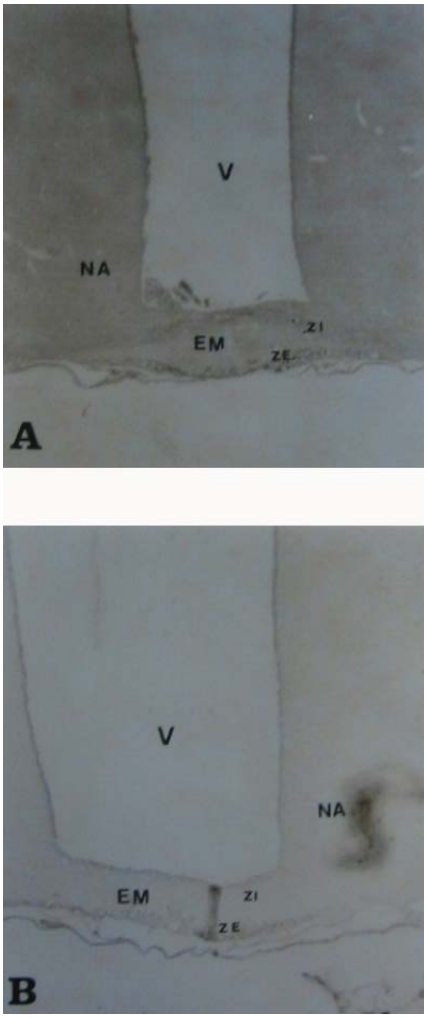


FIG. EM-1-(1)

EMINENCIA MEDIA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 4 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 4 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-1

EM Eminencia Media

V III Ventrículo

ZI Zona Interna

ZE Zona Externa

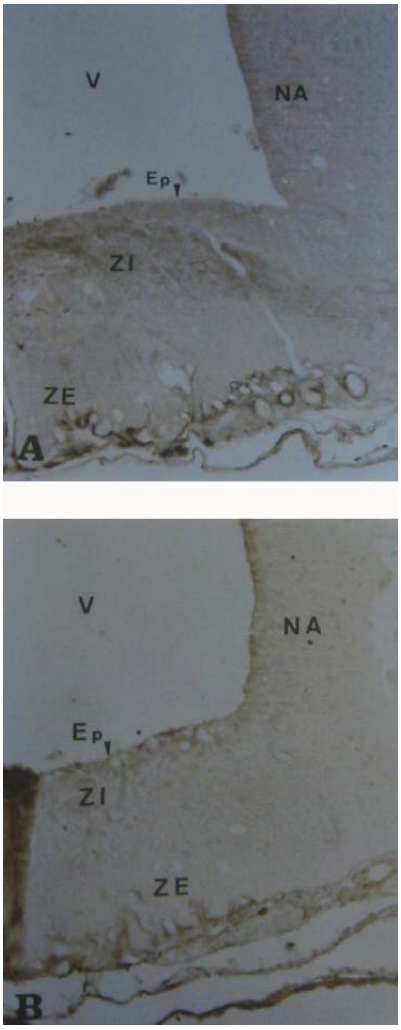


FIG. EM-1-(2)

EMINENCIA MEDIA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 10 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 10 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-1

NA Núcleo Arcuato

V III Ventrículo

ZI Zona Interna

ZE Zona Externa

Ep Epéndimo

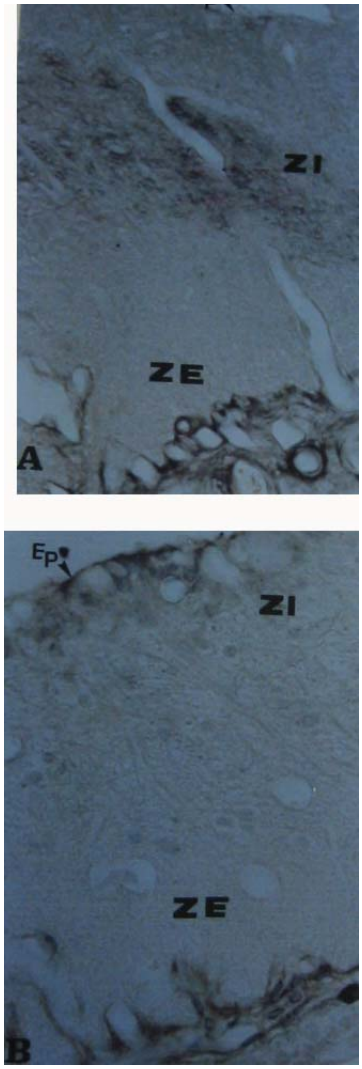


FIG. EM-1-(3)

EMINENCIA MEDIA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 25 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 25 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-1

ZI Zona Interna

ZE Zona Externa

Ep Epéndimo

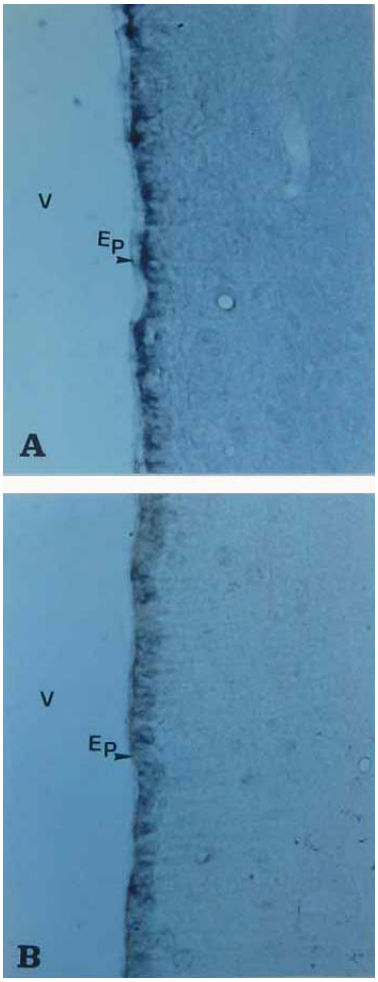


FIG. EM-1-(4)

EMINENCIA MEDIA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 25 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 25 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-1

V III Ventrículo

Ep Epéndimo

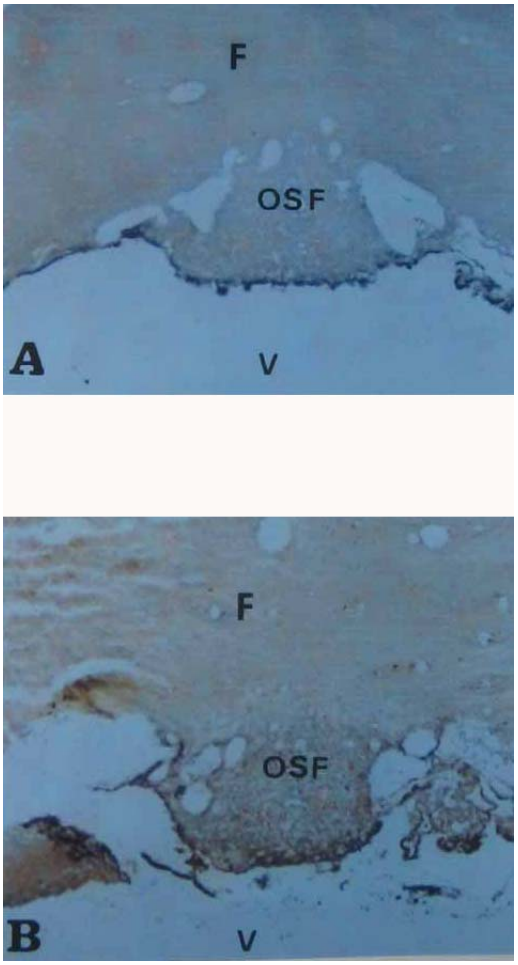


FIG. OSF-1-(1)

ORGANO SUBFORNICAL

A. RATA WKY 15 SEMANAS 4 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 4 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-1

F Fornix

V III Ventrículo

OSF Organo Subfornical

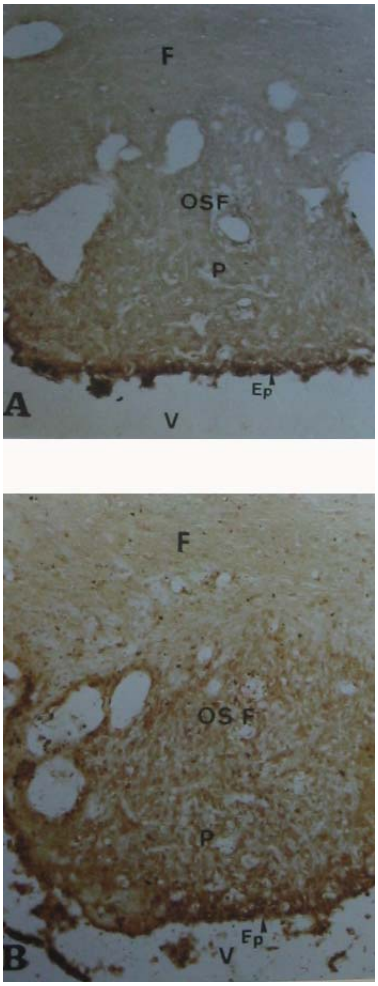


FIG. OSF-1-(2)

ORGANO SUBFORNICAL

A. RATA WKY 15 SEMANAS 10 x 1 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 10 x 1 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-1

Ep Epéndimo

P Parénquima

OSF Organo Subfornical

F Fórnix

V III Ventrículo

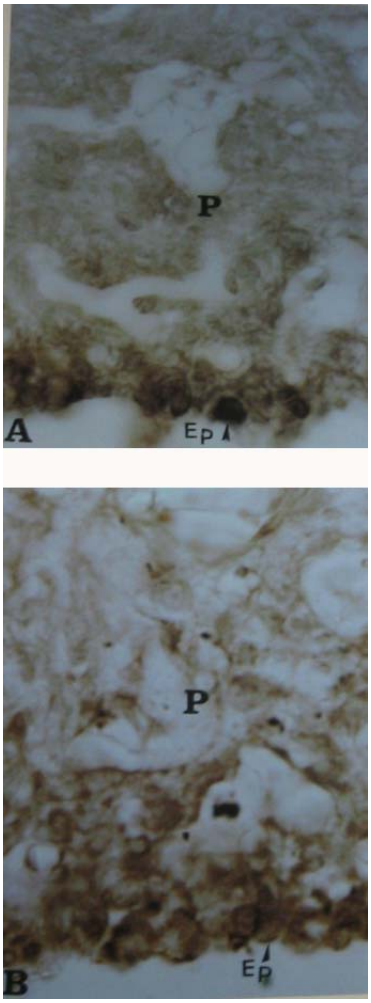


FIG. OSF-1-(3)

ORGANO SUBFORNICAL

A. RATA WKY 15 SEMANAS 40 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 40 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-1

Ep Epéndimo

P Parénquima

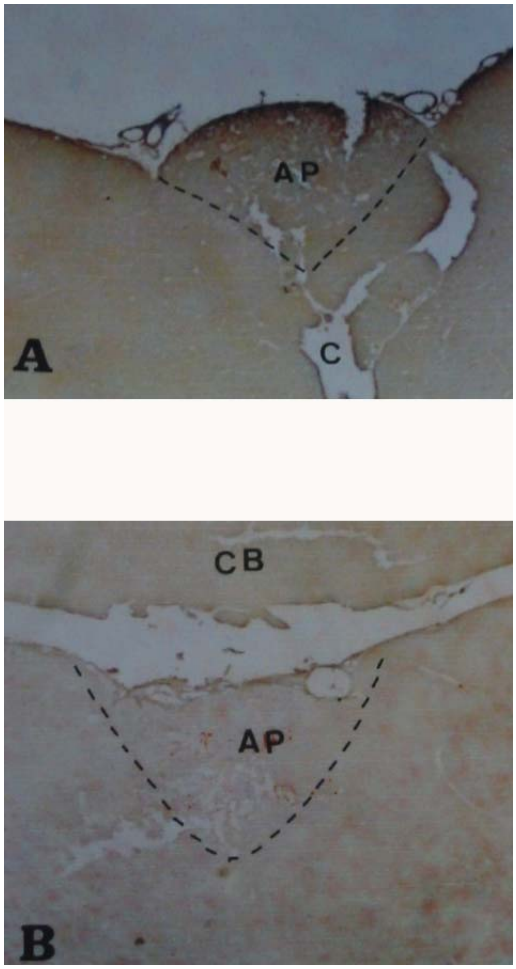


FIG. AP-1-(1)

AREA POSTREMA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 4 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 4 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-1

C Canal Central

AP Area Postrema

CB Cerebelo

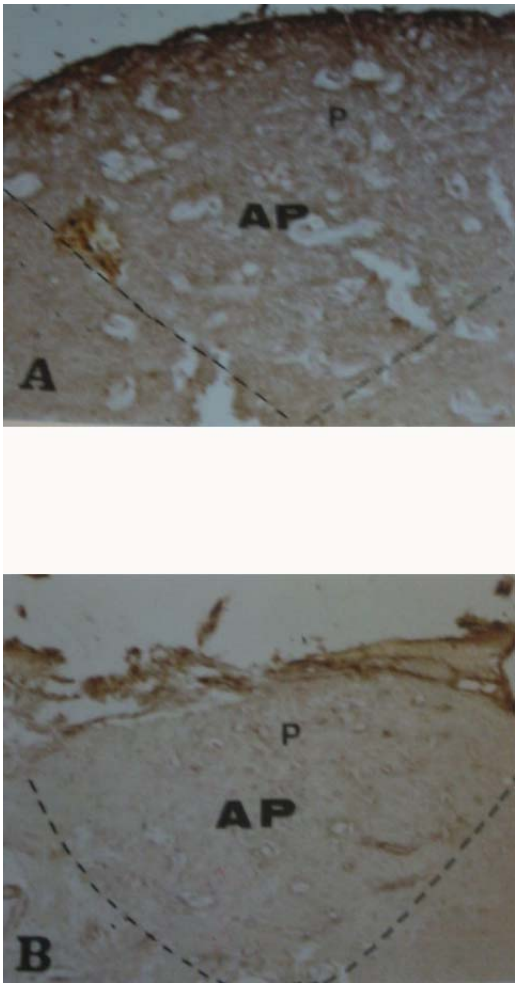


FIG. AP-1-(2)

AREA POSTREMA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 10 x 1 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 10 x 1 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-1

P Parénquima

AP Area Postrema

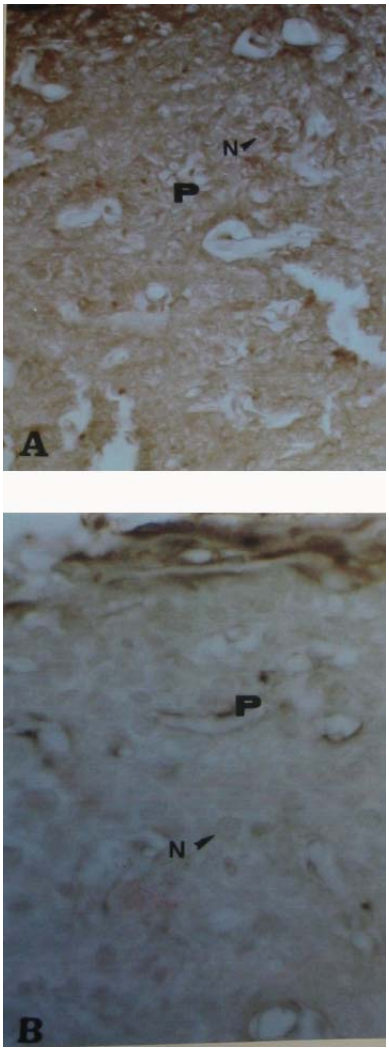


FIG. AP-1-(3)

AREA POSTREMA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 25 x 1 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 40 x 1 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-1

P Parénquima

N Neurona

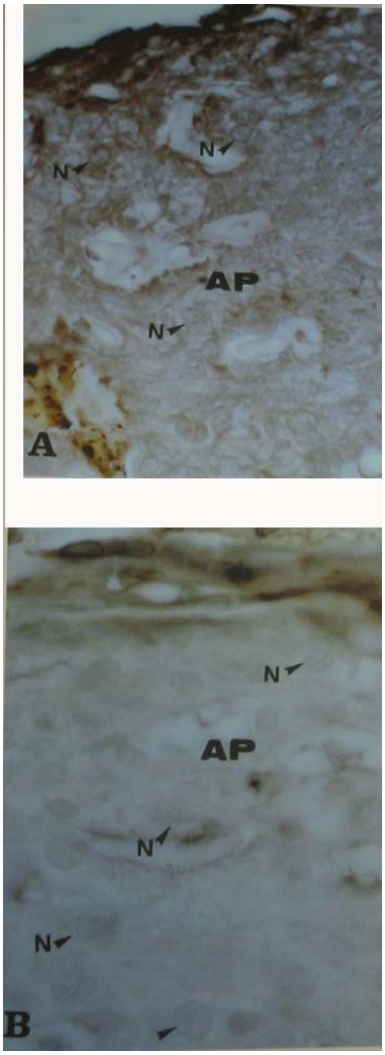


FIG. AP-1-(3)

AREA POSTREMA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 40 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 40 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-1

N Neurona

AP Parénquima

-ANTICUERPO **Antibanda**-2:

-**OSC**: Fig.: OSC-2 *(1,2,3)* En una visión panorámica se observa material inmunoreactivo en el epéndimo subyacente al OSC y en la capa ependimaria de dicho órgano, así como en el polo apical de la capa ependimaria del OSC de la rata WKY. También se aprecia en todo el OSC una mayor intensidad de material inmunoreactivo con respecto a los tejidos adyacentes.

En un detalle de la anterior, vemos a mayor aumento que el material inmunoreactivo aparece en las células ependimarias del OSC de la rata control.

En una visión panorámica del OSC de la rata hipertensa, apreciamos material inmunoreactivo en las diferentes partes del órgano, así como en el epéndimo subyacente.

En el OSC de las ratas hipertensas, con el anticuerpo antibanda-2, se observa material inmunoreactivo en el polo apical de las células ependimarias, en la zona infranuclear de dichas células, y en las células hypendimarias.

El epéndimo subyacente presenta material inmunoreactivo distribuido regularmente en el polo apical y en la zona perivascular.

-**EM**: Fig.EM-2 *(1,2,3,4)*: En la EM de la rata WKY con el anticuerpo antibanda-2, observamos la presencia de material inmunoreactivo en la zona externa y en la zona interna de la capa subependiamaria. También se observa material inmunoreactivo en el epéndimo adyacente al núcleo arcuato.

A mayor aumento observamos que el material inmunoreactivo se encuentra en las células, prolongaciones y terminales nerviosas. En las partes laterales de la EM, se observa también una ligera cantidad de material inmunoreactivo en algunas terminales de los tanicitos.

En la EM rostral de la rata SHR con el anticuerpo contra la banda-2, obsrvamos en una visión panorámica un marcaje difuso con mayor intensidad del material inmunoreactivo en el epéndimo de la EM y del adyacente del III ventrículo. Hay una mayor intensidad en la capa subpial y perivascular de la EM.

A mayor aumento, podemos observar el marcaje del polo apical de la capa ependimaria de la EM y ligeramente marcadas las prolongaciones basales. También observamos material inmunoreactivo en algunas células de la zona interna.

En el epéndimo supradyacente de la rata hipertensa, con el anticuerpo contra la banda-2, se marcó las células del epéndimo adyacente al núcleo arcuato, encontrándose en el polo apical la mayor concentración de material inmunoreactivo, aunque también hay marcaje en la zona perinuclear y en algunas de las prolongaciones basales. También se observó material inmunoreactivo en algunas neuronas de pequeño tamaño de la zona subependimal.

-OSF: Fig.: OSF-2 *(1,2,3)* Con el anticuerpo contra la banda-2, se observa en las ratas controles una leve reacción en el parénquima del órgano que aumenta en intensidad según nos acercamos a la capa ependimaria a este mismo aumento, y en la rata hipertensa se aprecia una mayor intensidad de material inmunoreactivo en todo el tejido del Organo Subfornical que aumenta en intensidad según nos acercamos a la capa ependimaria.

A mayor aumento se observa mayor intensidad de marcaje de la rata SHR al compararla con la rata WKY, detectándose marcaje en alguna neurona.

-**AP**: Fig.: AP-2 *(1,2,3)* En una visión coronal del AP de la rata control, con el anticuerpo contra la banda-2, observamos un ligero marcaje en la región subpial del AP, en la membrana pial. En la parte ventral se ve un ligero marcaje en alguna neurona.

En un detalle, podemos observar en la parte lateral del AP de la rata control, un marcaje del anticuerpo antibanda-2, en la membrana pial y en un grupo de neuronas. A mayor aumento vemos material inmunoreactivo en el AP de la rata control, en las neuronas pequeñas y de mediano tamaño de la zona láterodorsal.

En el AP de la rata SHR, con el anticuerpo antibanda-2, no se aprecia una reacción positiva clara, acumulándose material inmunoreactivo en la membrana pial y en algún espacio perivascular, así como un ligero marcaje en las neuronas y en las células localizadas en el parénquima del AP, bajo la membrana pial.

-PLEXOS COROIDEOS:

Se observó además, un ligero marcaje de los plexos coroideos del III y IV ventrículo, en ambos grupos.

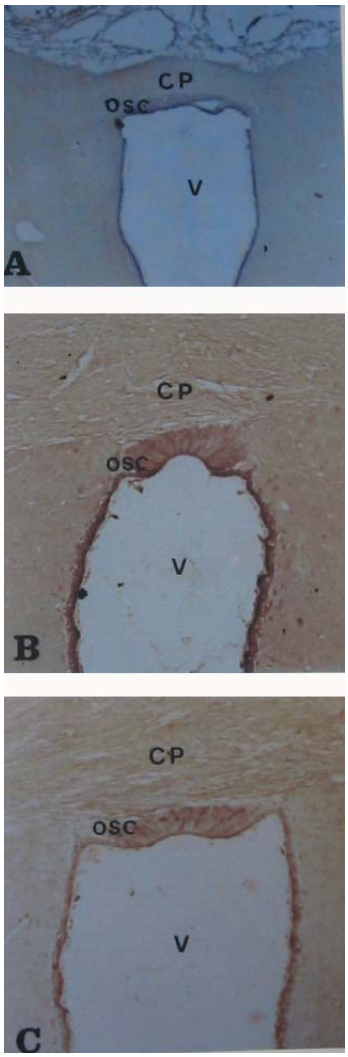


FIG. OSC-2 (1)

ÓRGANO SUBCOMISURAL

A. RATA WKY 15 SEMANAS 4 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 10 x 1 x 10 Aumentos

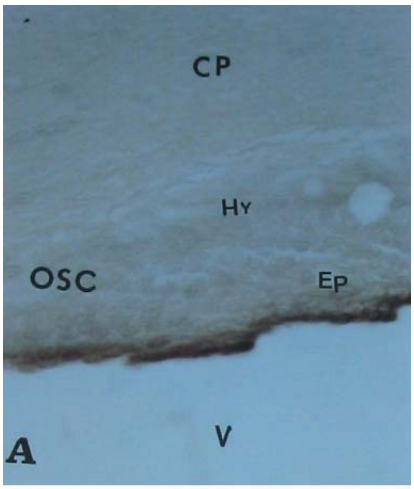
C. RATA SHR 15 SEMANAS 10 x 1 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-2

V III Ventrículo

CP Comisura Posterior

OSC Organo Subcomisural



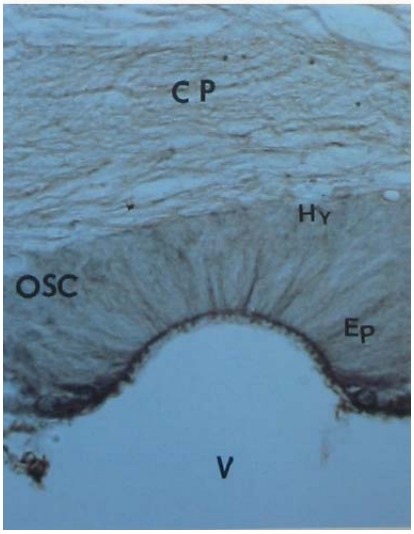


FIG. OSC-2 (2)

ÓRGANO SUBCOMISURAL

A. RATA WKY 15 SEMANAS 25 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 40 x 1 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-2

V III Ventrículo

CP Comisura Posterior

OSC Organo Subcomisural

Ep Epéndimo

Hy Hypéndimo

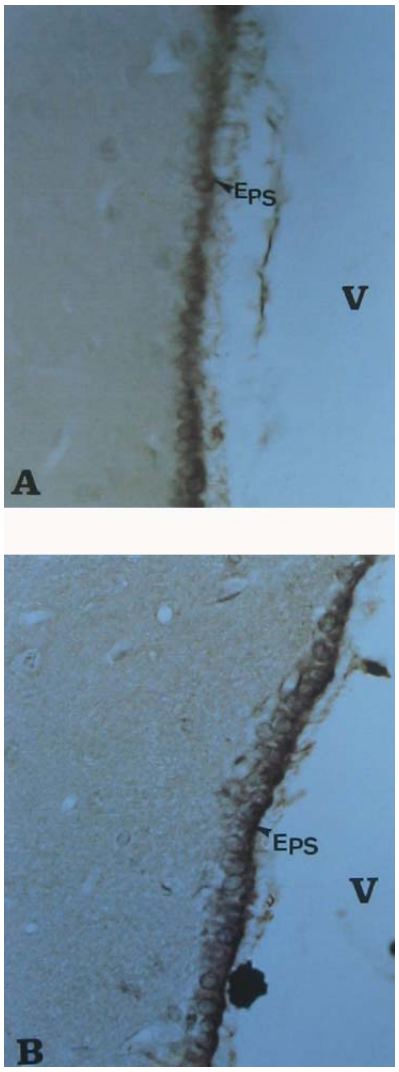


FIG. OSC-2 (3)

ÓRGANO SUBCOMISURAL

A. RATA WKY 15 SEMANAS 25 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 40 x 1 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-2

V III Ventrículo

Eps Epéndimo Subyacente

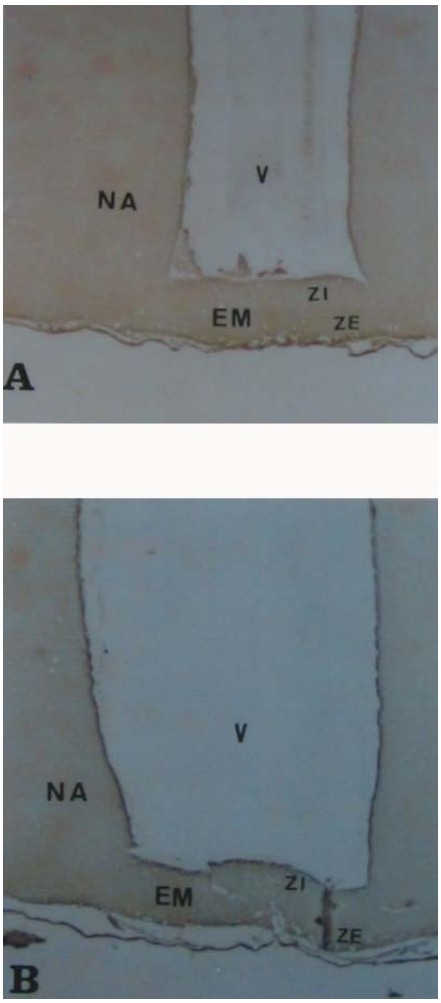


FIG. EM-2 (1)

EMINENCIA MEDIA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 4 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 4 x 1 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-2

EM Eminencia Media

NA Núcleo Arcuato

V III Ventrículo

ZI Zona Interna

ZE Zona Externa

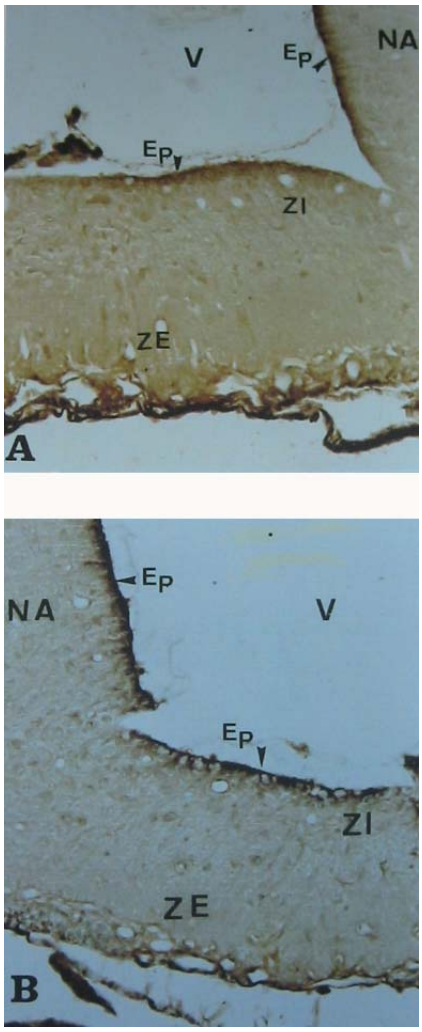


FIG. EM-2 (2)

EMINENCIA MEDIA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 10 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 10 x 1 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-2

NA Núcleo Arcuato

V III Ventrículo

ZI Zona Interna

ZE Zona Externa

Ep Epéndimo

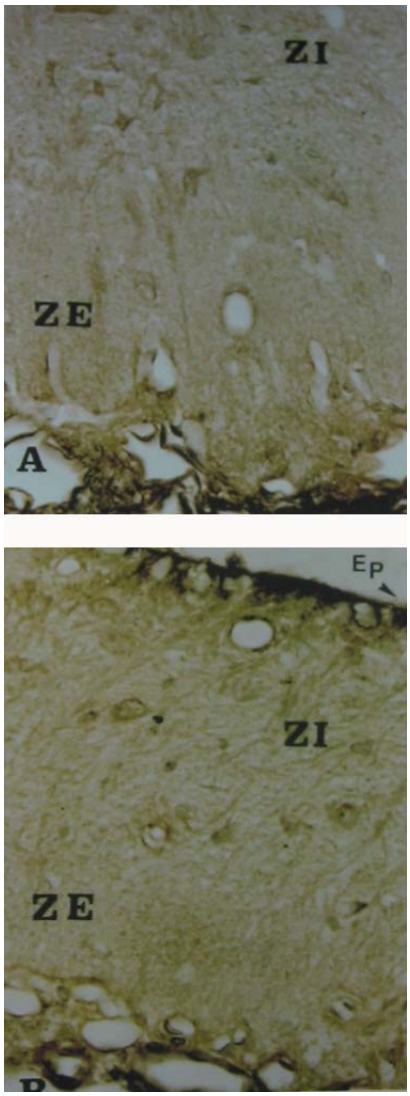


FIG. EM-2 (3)

EMINENCIA MEDIA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 25 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 25 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-2

ZI Zona Interna

ZE Zona Externa

Ep Epéndimo

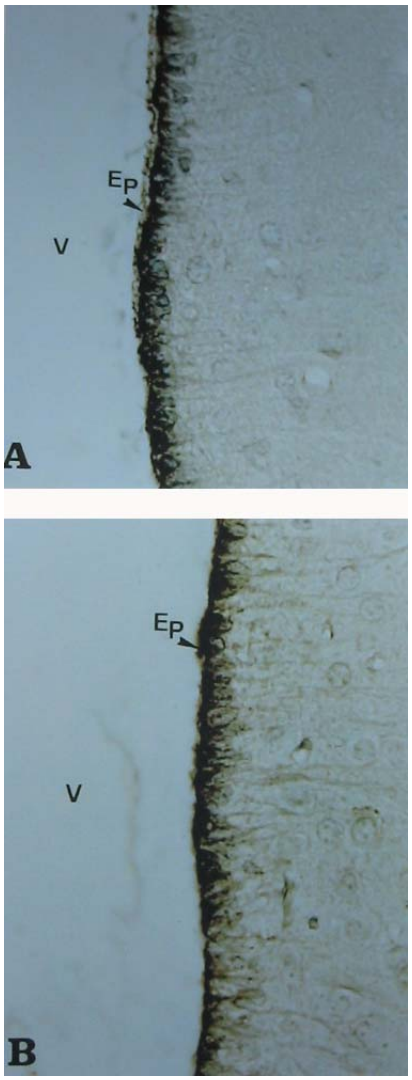


FIG. EM-2 (4)

EMINENCIA MEDIA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 25 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 25 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-2

V III Ventrículo

Ep Epéndimo

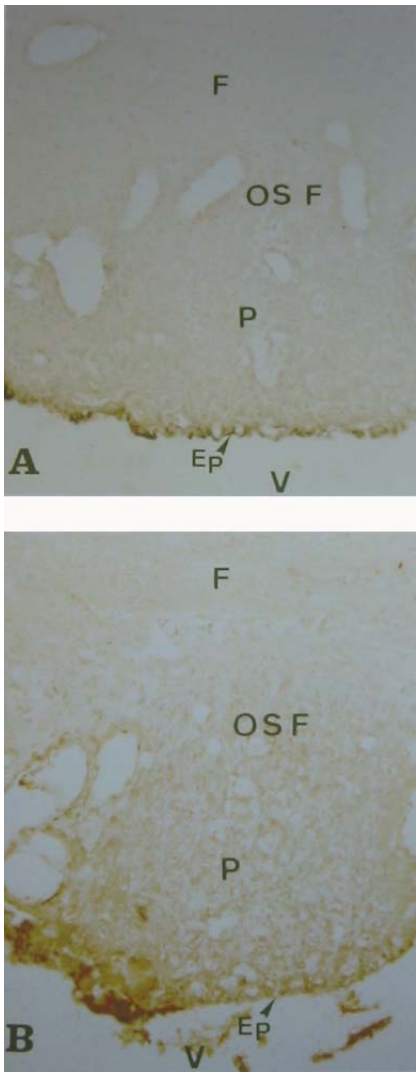


FIG. OSF-2 (1)

ORGANO SUBFORNICAL

A. RATA WKY 15 SEMANAS 10 x 1 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 10 x 1 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-2

F Fornix

V III Ventrículo

OSF Organo Subfornical

Ep Epéndimo

P Parénquima

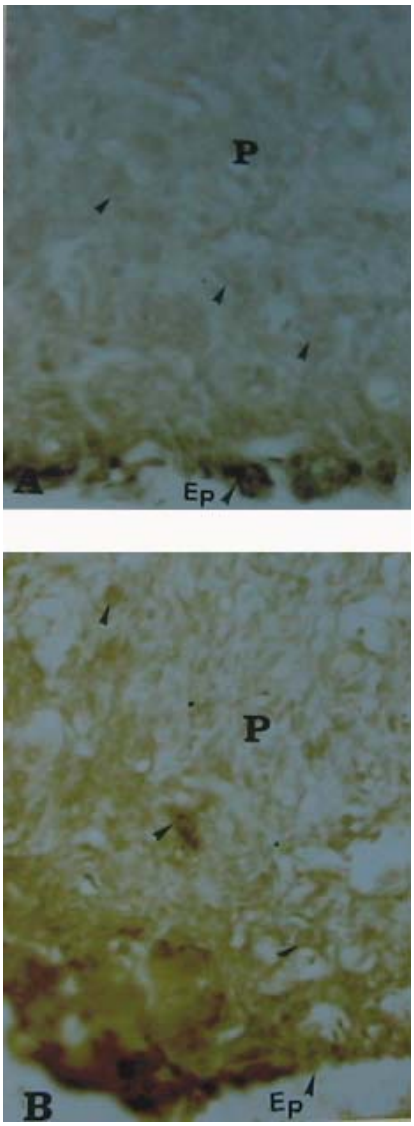


FIG. OSF-2 (2)

ORGANO SUBFORNICAL

A. RATA WKY 15 SEMANAS 25 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 25 x 1 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-2

Ep Epéndimo

P Parénquima

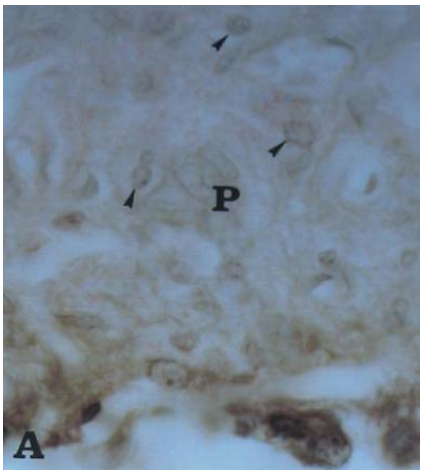


FIG. OSF-2 (3)

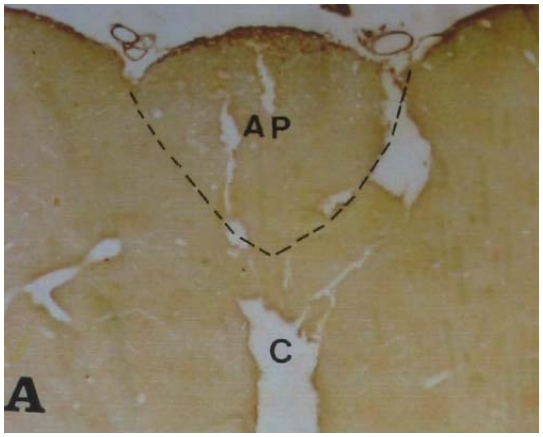
ORGANO SUBFORNICAL

A. RATA WKY 15 SEMANAS 40 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 40 x 1 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-2

P Parénquima



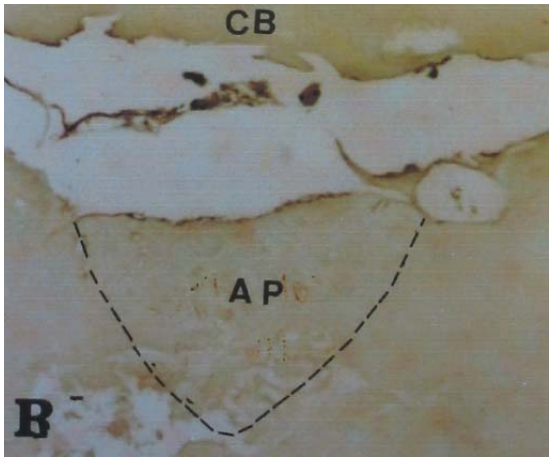


FIG. AP-2(1)

AREA POSTREMA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 4 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 4 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-2

C Canal Central

AP Area Postrema

CB Cerebelo

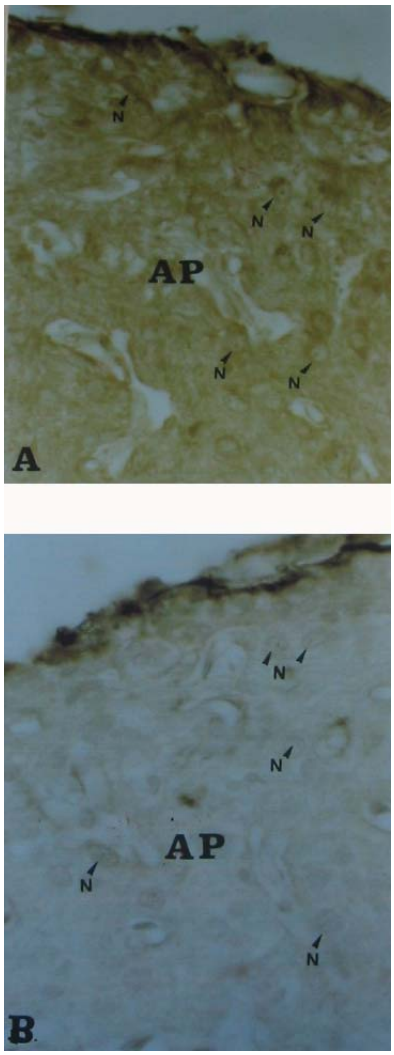


FIG. AP-2(2)

AREA POSTREMA

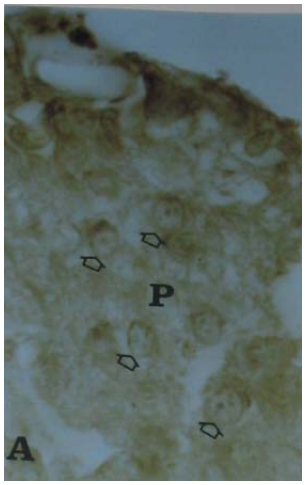
A. RATA WKY 15 SEMANAS 40 x 1 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 40 x 1 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-2

N Neurona

AP Area Postrema



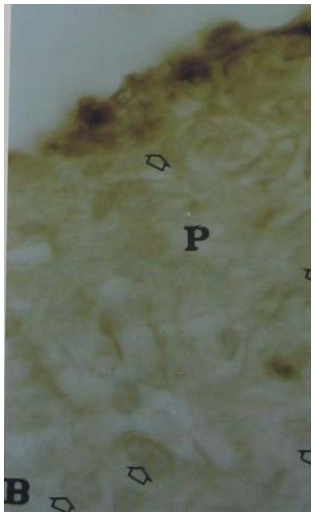


FIG. AP-2 (3)

AREA POSTREMA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 40 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 40 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-2

P Parénquima

-ANTICUERPO **Antibanda**-3:

-**OSC**: Fig.: OSC-3 *(1,2,3)* Con la banda-3, en el OSC de la rata control, WKY, se aprecia material inmunoreactivo disperso en el OSC, encontrándose marcaje de forma generalizada y de ligera intensidad en el epéndimo subyacente y de forma similar en el OSC de la rata hipertensa, SHR, se observa material inmunoreactivo disperso en el OSC y también en el epéndimo subyacente. Al comparar el OSC del grupo SHR con el control, no se encontraron cualitativamente diferencias destacables.

-**EM**: Fig. EM-3 *(1,2,3)* En la rata control, en una visión panorámica de la EM de la rata, aparece una zona marcada de fribras que pasan por la zona interna de la EM. También se observa un ligero marcaje en la la zona interna que limita con la membrana pial.

En el detalle de la EM de la rata control, se confirma el marcaje de las fibras de la zona interna con el anticuerpo antibanda-3 y cerca de la membrana pial en la zona externa.

Observamos muy poco marcaje, solamente destacar una mayor intensidad en la zona externa limitando con la membrana pial. A mayor aumento, observamos que la mayor cantidad de material inmunoreactivo aparece en la zona perivascular y se aprecia además un ligero marcaje en la parte central de la zona interna.

En una visión panorámica de la EM de la rata SHR, podemos observar que con el anticuerpo contra la banda-3, no se observa marcaje en el parénquima, observándose una ligera cantidad de material inmunoreactivo en la capa ependimaria y en la zona externa de la EM.

En un detalle de la anterior, observamos que en el parénquima apenas hay marcaje, apareciendo sólo en la zona ependimaria.

-**OSF**: Fig.: OSF-3 *(1,2,3,4,5)* En la rata control, el OSF presenta una cantidad muy leve de material inmunoreactivo al utilizar el anticuerpo contra la banda-3, que se extiende por

el parénquima del OSF, observándose a mayor aumento cierto marcaje en algunos cuerpos neuronales, así como en el epéndimo que limita con el III ventrículo.

En la rata hipertensa, observamos gran cantidad de material inmunoreactivo en todo el parénquima del OSF y específicamente en algunas neuronas de pequeño y mediano tamaño de este órgano. También se observa un ligero marcaje en el epéndimo del OSF y del epéndimo ventricular adyacente, así como en los plexos coroideos.

En la rata hipertensa, observamos gran cantidad de material inmunoreactivo en todo el parénquima del OSF y específicamente en algunas neuronas de pequeño y mediano tamaño de este órgano. También se observa un ligero marcaje en el epéndimo del OSF y del epéndimo ventricular adyacente, así como en los plexos coroideos.

Al comparar las ratas controles con las hipertensas, observamos que cualitativamente existe una mayor intensidad de la reacción inmunohistoquímica, exclusivamente en el OSF de los animales hipertensos al compararlos con los controles.

-**AP**: Fig.: AP-3 *(1,2,3,4,5,6)* En la rata WKY el AP no se marca con el anticuerpo contra la banda-3 y sólo se aprecia una ligera cantidad de material inmunoreactivo en el epéndimo que tapiza el canal central.

En la rata SHR, al igual que en la rata WKY, no se observa material inmunoreactivo en el AP con el anticuerpo antibanda-3, y sólo se aprecia un ligero marcaje en el epéndimo del canal central, y a mayor aumento, se puede apreciar algunas neuronas marcadas.

Al comparar ambos grupos, no se aprecian diferencias cualitativas.

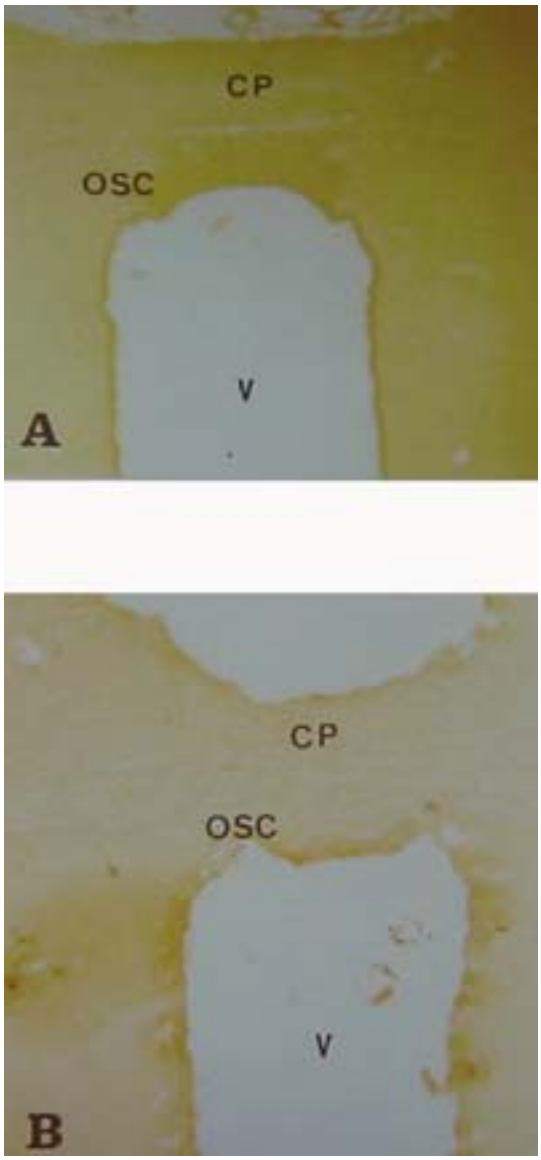


FIG. OSC-3 (1)

ORGANO SUBCOMISURAL

A. RATA WKY 15 SEMANAS 4 x 2 x10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 4 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-3

V III Ventriculo

CP Comisura Posterior

OSC Organo Subcomisural

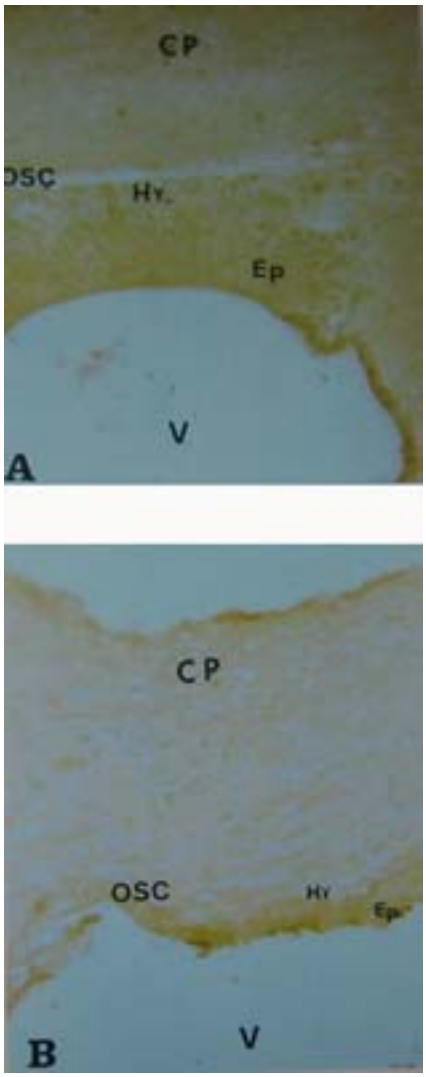


FIG. OSC-3 (2)

ORGANO SUBCOMISURAL

A. RATA WKY 15 SEMANAS 20 x 2 x10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 10 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-3

V III Ventriculo

CP Comisura Posterior

OSC Organo Subcomisural

Ep Epéndimo

Hy Hypéndimo

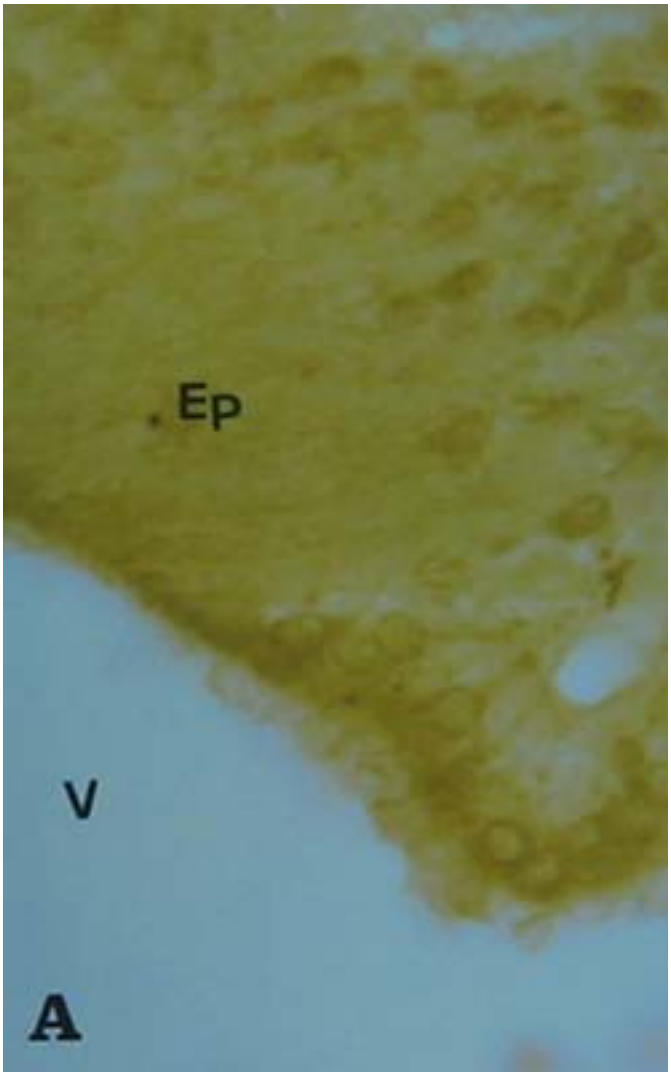


FIG. OSC-3 (2)

ORGANO SUBCOMISURAL

A. RATA WKY 15 SEMANAS 40 x 2 x10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-3

V III Ventriculo

Ep Epéndimo

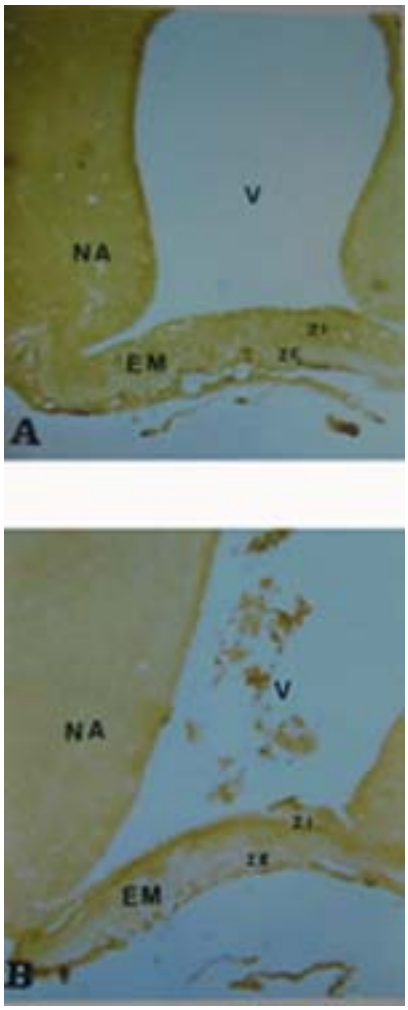


FIG. EM-3 (1)

EMINENCIA MEDIA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 4 x 2 x10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-3

EM Eminencia Media

NA Núcleo Arcuato

V III Ventriculo

ZI Zona Interna

ZE Zona Externa

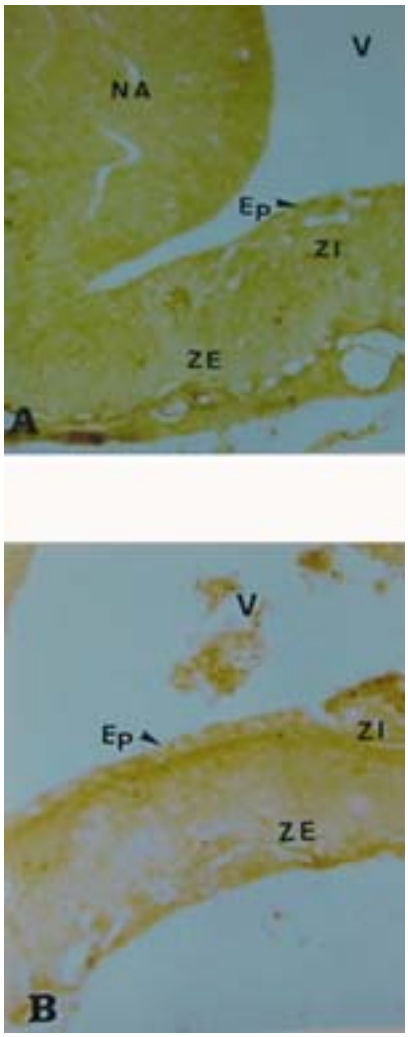


FIG. EM-3 (2)

EMINENCIA MEDIA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 10 x 2 x10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-3

NA Núcleo Arcuato

V III Ventriculo

ZI Zona Interna

ZE Zona Externa

EP Epéndimo

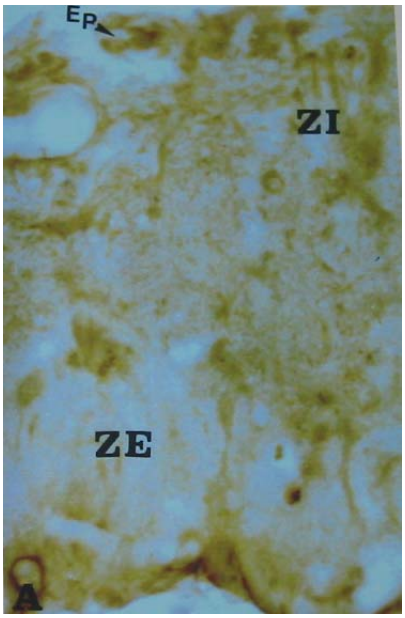


FIG. EM-3 (3)

EMINENCIA MEDIA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 40 x 2 x10 Aumentos

ZI Zona Interna

ZE Zona Externa

EP Epéndimo

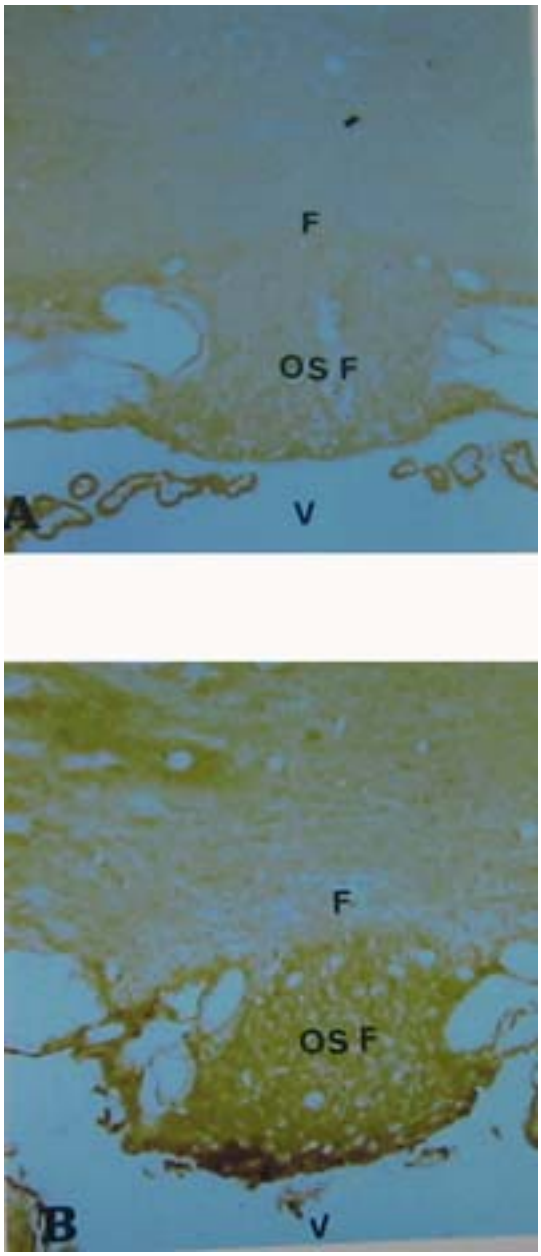


FIG. OSF-3 (1)

ORGANO SUBFORNICAL

A. RATA WKY 15 SEMANAS 4x 2 x10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 4x 2 x10 Aumentos

F Fornix

V III Ventrículo

OSF Organo Subfornical

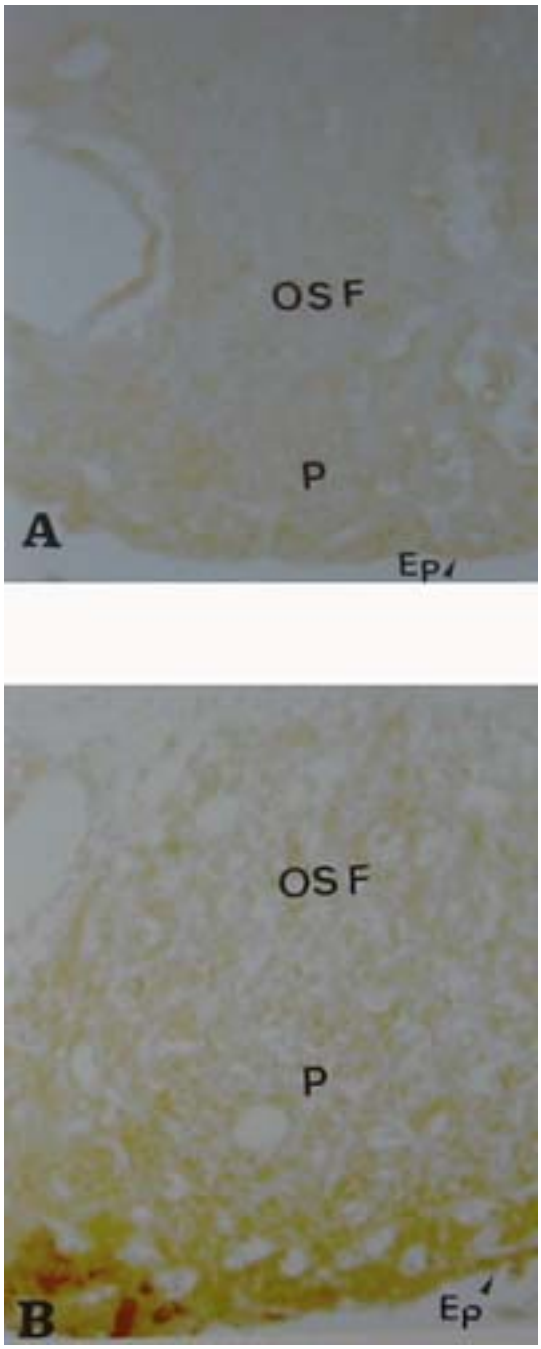


FIG. OSF-3 (2)

ORGANO SUBFORNICAL

A. RATA WKY 15 SEMANAS 10 x 2 x10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 10 x 2 x10 Aumentos

Ep Epéndimo

P Parénquima

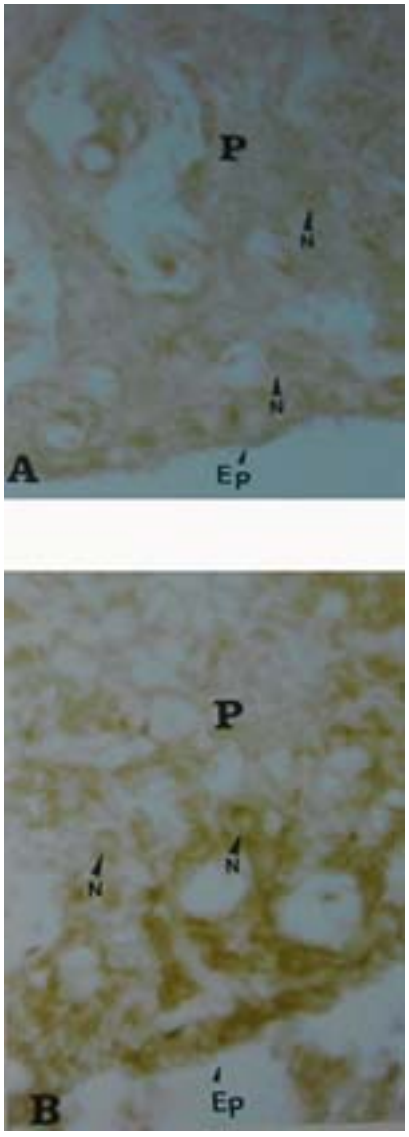


FIG. OSF-3 (3)

ORGANO SUBFORNICAL

A. RATA WKY 15 SEMANAS 20 x1.25 x10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 10 x1.25 x10 Aumentos

P Parénquima

Ep Epéndimo

N Neurona

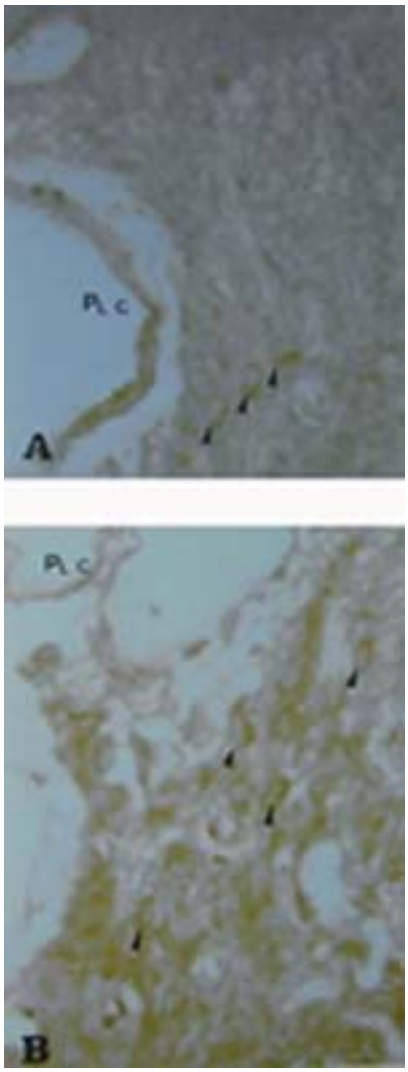


FIG. OSF-3 (4)

ORGANO SUBFORNICAL

A. RATA WKY 15 SEMANAS 20 x2 x10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 20 x2 x10 Aumentos

P Parénquima

Ep Epéndimo

Plc Plexos Coroideos

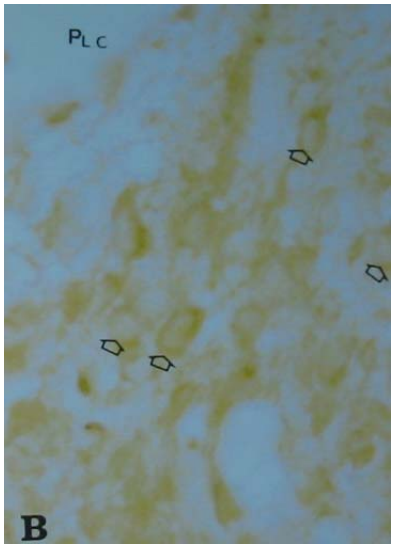


FIG. OSF-3 (5)

ORGANO SUBFORNICAL

B. RATA SHR 15 SEMANAS 40 x2 x10 Aumentos

Plc Plexos Coroideos

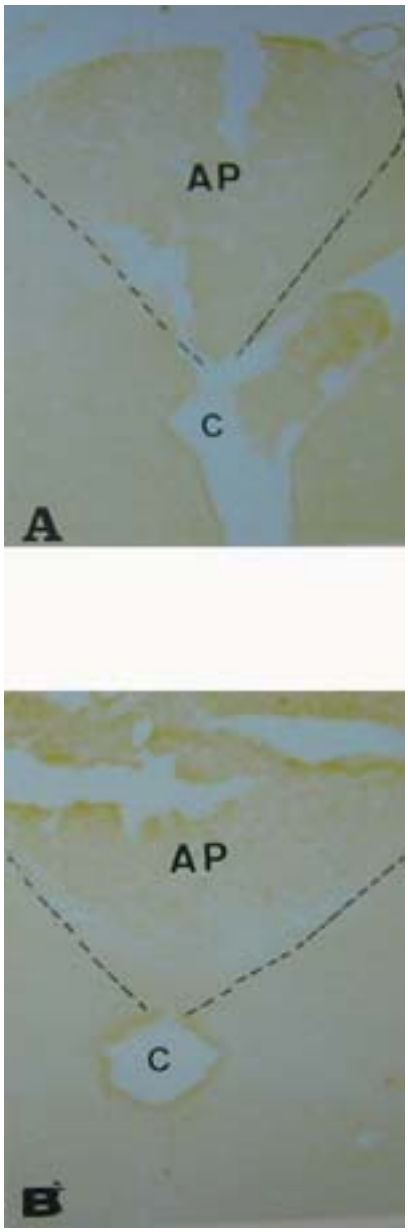


FIG. AP-3 (1)

AREA POSTREMA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 4 x2 x10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 4 x2 x10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-3

C Canal Central

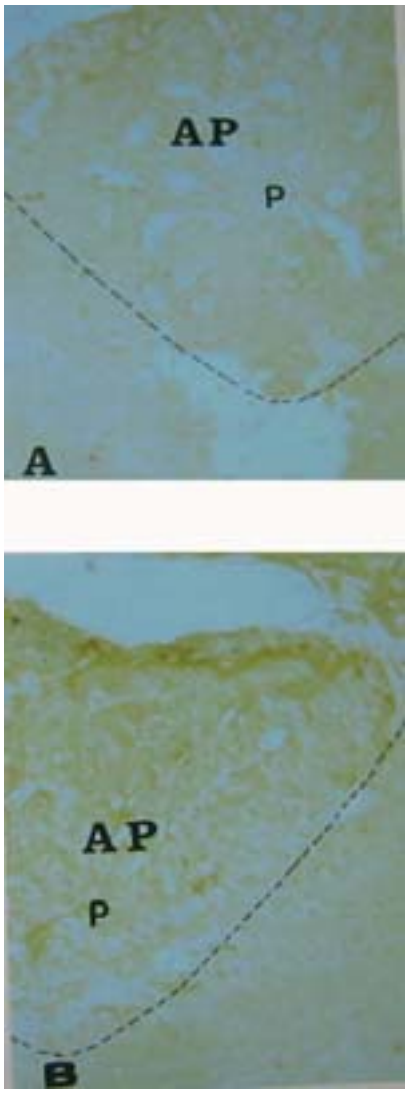


FIG. AP-3 (2)

AREA POSTREMA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 10 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 10 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-3

P Parénquima

AP Area Postrema

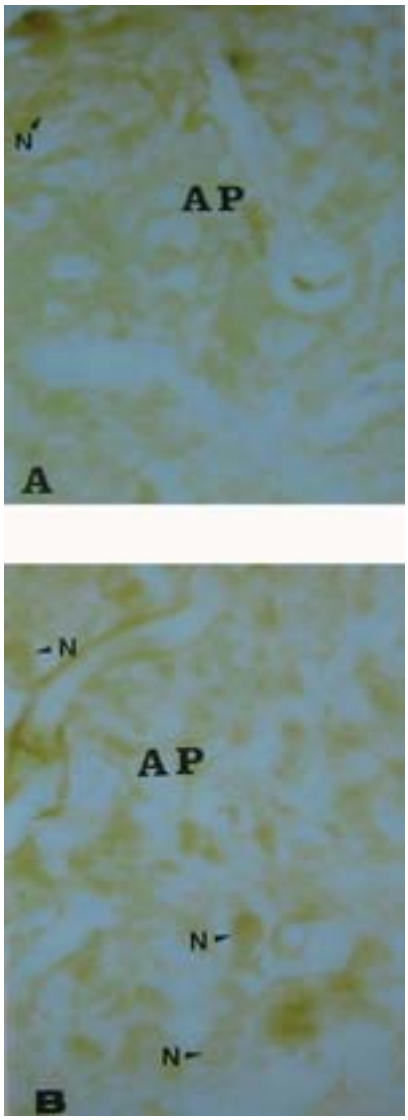


FIG. AP-3 (3)

AREA POSTREMA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 40 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 40 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-3

AP Area Postrema

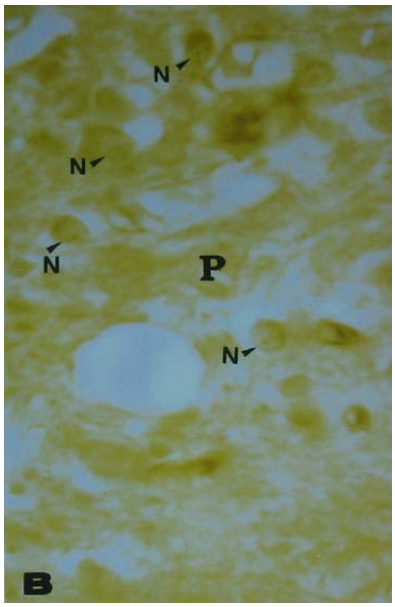


FIG. AP-3 (4)

AREA POSTREMA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 40 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 40 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-3

P Parénquima

N Neurona

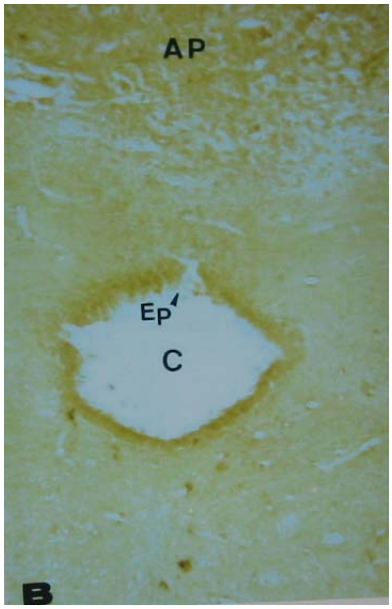


FIG. AP-3 (5)

AREA POSTREMA

B. RATA SHR 15 SEMANAS 10 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-3

C Canal Central

Ep Epéndimo

AP Area Postrema

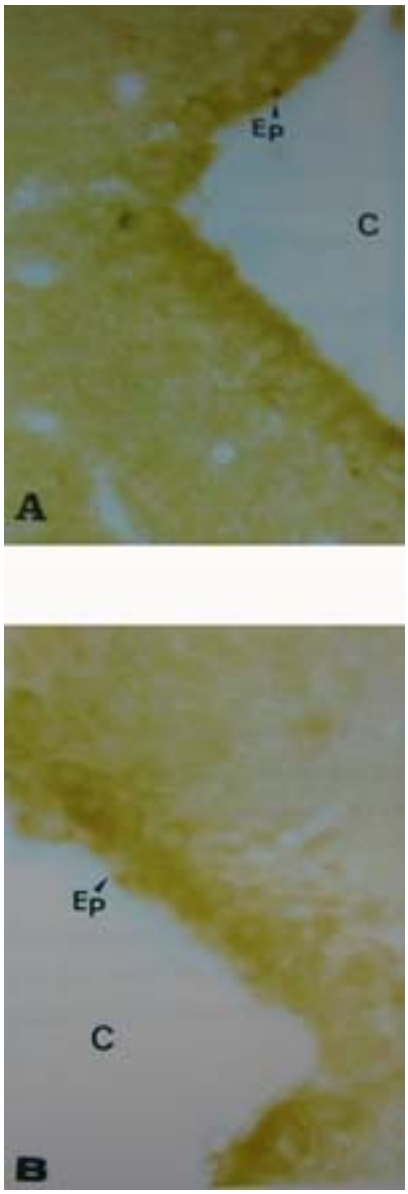


FIG. AP-3 (6)

AREA POSTREMA

A. RATA WKY 15 SEMANAS 40 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 40 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-3

C Canal Central

Ep Epéndimo

-**Otras estructuras que se marcan con la banda-3** en el grupo control:

Con el anticuerpo contra la banda-3 se apreció marcaje neuroanl en algunas neuronas del núcleo periventricular hipotalámico (**NpeV**) y múltiples células en los núcleos magnocelulares, paraventricular (**NPV**) y supraóptico (**NSO**) hipotalámicos del grupo control.

En cambio, en los animales hipertensos no se observó marcaje ni en el núcleo paraventricular ni en el supraóptico, sólo se observó marcaje en alguna neurona aislada en el núcleo periventricular hipotalámico.

-PLEXOS COROIDEOS:

También aparecieron marcados los plexos coroideos del III y IV ventrículo, de ambos grupos de animales.

-ANTICUERPO **Antibanda**-4:

No se pudo obtener este anticuerpo al inmunizar los ratones con la banda-4 obtenida de la electroforesis del LCR de la rata hipertensa, ya que la mayor parte de los ratones inmunizados murieron, y del suero de los que sobrevivieron, no logramos visualizar la reacción inmune con dicho anticuerpo, en ninguno de los órganos que hemos estudiado.

-ANTICUERPO **Antibanda**-5:

Al igual que ocurrió con el antibanda-4, el anticuerpo antibanda-5 no pudimos visualizarlo ya que la mayor parte de los ratones murieron.

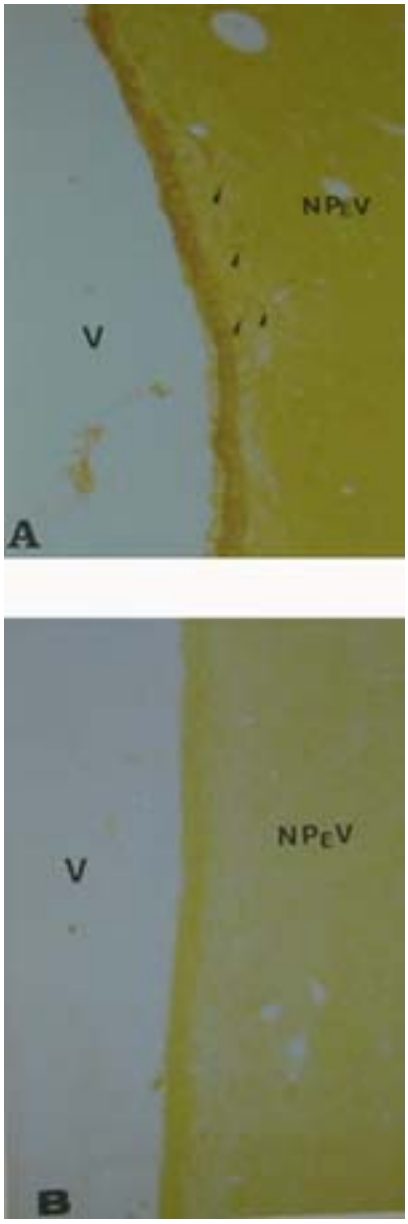


FIG. NpeV-3(1)

NUCLEO PERIVENTRICULAR

A. RATA WKY 15 SEMANAS 10 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 10 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-3

V III Ventrículo

NpeV Núcleo Periventricular

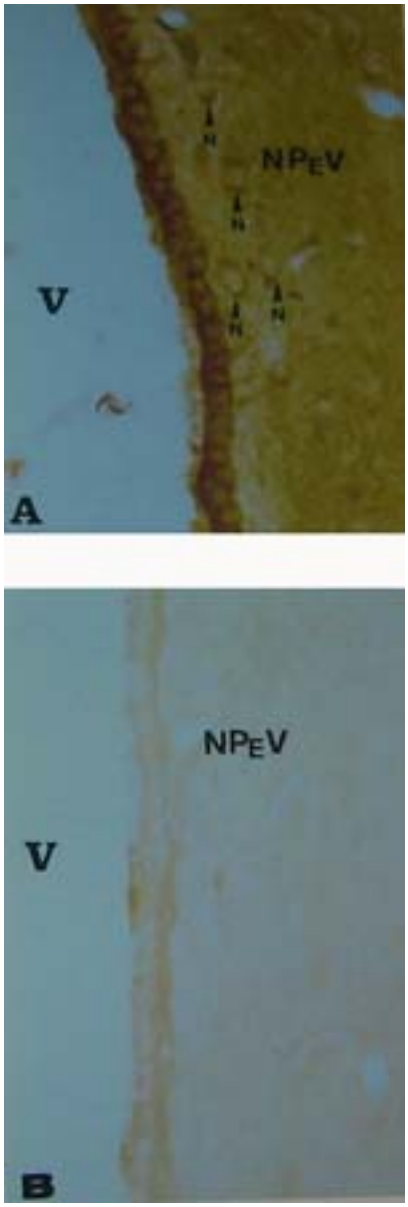


FIG. NpeV-3(2)

NUCLEO PERIVENTRICULAR

A. RATA WKY 15 SEMANAS 40 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 40 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-3

V III Ventrículo

NpeV Núcleo Periventricular

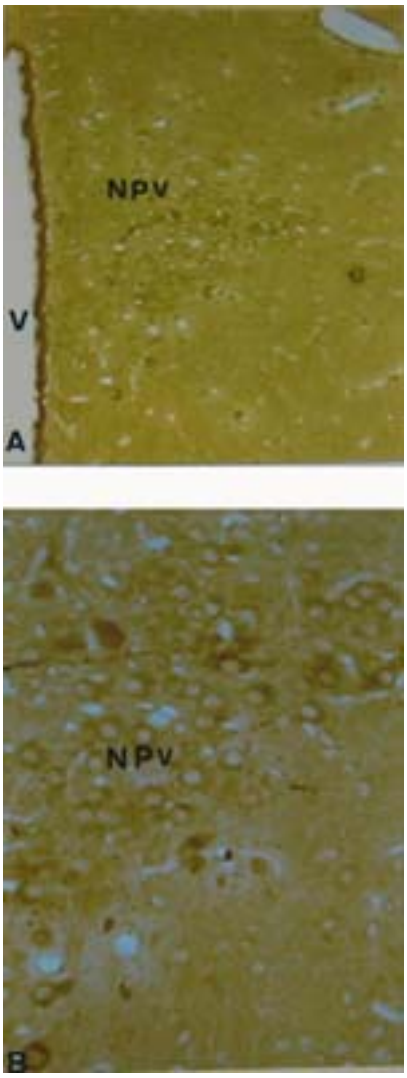


FIG. NPV-3(1)

NUCLEO PARAVENTRICULAR

A. RATA WKY 15 SEMANAS 10 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA SHR 15 SEMANAS 10 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-3

V III Ventrículo

NPV Núcleo Paraventricular

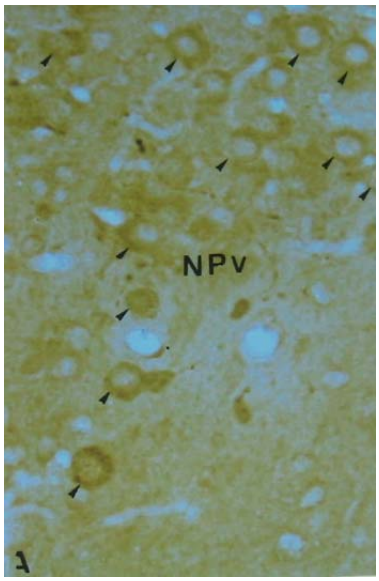


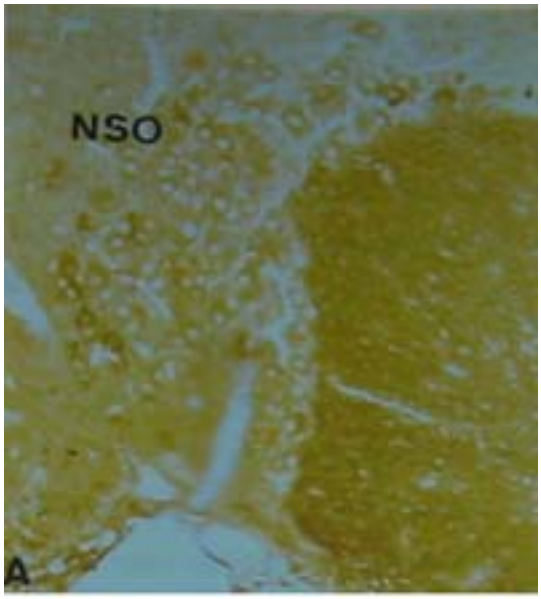
FIG. NPV-3(2)

NUCLEO PARAVENTRICULAR

A. RATA WKY 15 SEMANAS 25 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-3

NPV Núcleo Paraventricular



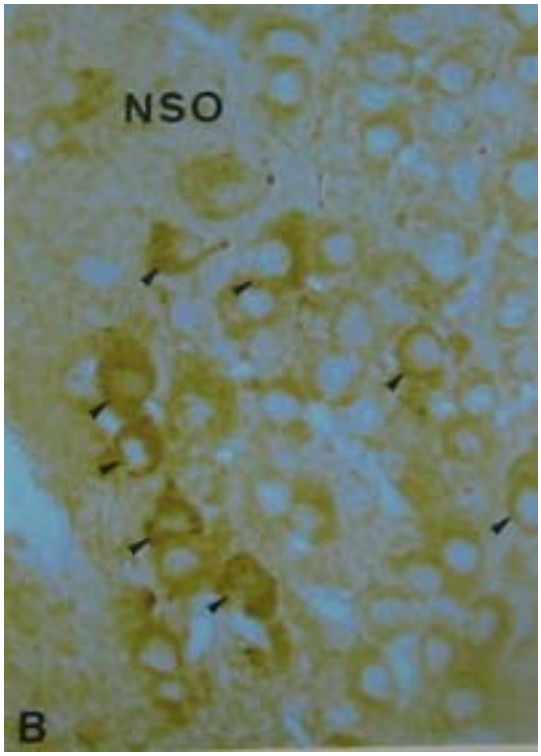


FIG. NSO-3(1)

NUCLEO SUPRAOPTICO

A. RATA WKY 15 SEMANAS 10 x 2 x 10 Aumentos

B. RATA WKY 15 SEMANAS 20 x 2 x 10 Aumentos

ANTICUERPO ANTIBANDA-3

2-Otros anticuerpos utilizados como anti-vasopresina, anti-angiotensina II, anti-ECA y anti-alfaMSH, no marcaron las neuronas del AP de ratas WKYs y ratas SHRs, según los métodos de Sternberger et al, (1977), el método de la Avidina-Biotina y de la Estreptoavidina-Biotina.

Aunque en el AP no detectamos, por inmunohistoquimia, angiotensina II, vasopresina, ECA o alfa-MSH, en otras estructuras, en cambio, sí observamos inmunoreactividad al emplear los mismos anticuerpos y métodos. Estos órganos fueron; el órgano subfornical, la eminencia media, núcleo supraóptico, núcleo paraventricular y órgano subcomisural.

RESUMEN DE RESULTADOS

A-PESO

En todos los grupos hay una ganancia ponderal relacionada con el crecimiento. A todas las edades, las ratas control tratadas con captopril pesaron más que las control no tratadas, y ambas, a su vez, pesaron más que las ratas hipertensas, tanto tratadas como no tratadas entre las cuales no hay diferencias importantes. $P<0.01$.

B-BEBIDA

Tanto el consumo de agua como de salino tienden a ascender ligeramente, aunque de forma no significativa en la mayoría de los casos, con la edad, aunque sí encontramos diferencias estadísticamente significativas en cuanto al consumo de agua en el grupo hta no tto entre las 10 y 15 semanas. $P<0.05$.

A las 10 y 15 semanas, las ratas control con tratamiento y sin tratamiento bebieron mayor cantidad de agua que las hipertensas tratadas y no tratadas. Por el contrario, los animales hipertensos consumieron mayor cantidad de salino que los controles. El grupo control no tto consumió significativamente más agua que salino, mientras que el grupo control tto bebió prácticamente la misma cantidad de ambos fluídos por lo que encontramos variaciones significativas entre ambos grupos control a favor del grupo tratado en cuanto al consumo de salino, pero no hay diferencias en cuanto al agua. Ambos grupos de ratas hipertensas consumieron más salino que agua, no hallándose diferencias entre ellas.

C-TENSIÓN ARTERIAL

La tensión arterial tanto sistólica como diastólica y media de los animales control tratados y no tratados, no muestra diferencias significativas entre las 10 y 15 semanas.

En el caso del grupo hta no tto, la tensión arterial no presenta diferencias significativas entre las 10 y las 15 semanas, como tampoco las hay en el grupo hta tto aunque en este caso tiende a disminuír.

Los grupos control, independientemente del tratamiento recibido, presentan una tensión arterial similar a todas las edades. Las ratas genéticament hipertensas que no fueron tratadas tienen una tensión arterial superior a la de los grupos control, tanto a las 10 como a las 15 semanas. También es superior a la que presentan las ratas hipertensas tratadas con captopril, aunque esta diferencia entre los dos grupos de hipertensas comienza a ser significativa a partir de la semana 12 y es claramente evidente en la semana 15. La tensión arterial de las ratas hipertensas tratadas es comparable a la de las controles. Así, no hay diferencias estadísticamente significativas entre la tensión arterial de los grupos control no tto, control tto e hta tto a las 15 semanas.

D-FRECUENCIA CARDÍACA

La variable frecuencia cardíaca no se vió afectada ni por la edad ni por el grupo estudiado, presentando valores comparables entre todos ellos.

E-ESTUDIO CUALITATIVO

Todos los grupos incluídos en el estudio, controles y experimentales, presentan una distribución de sus componentes (células gliales, fibras nerviosas, neuronas) y una vascularización similar.

F-ESTUDIO CUANTITATIVO

1. REGIÓN ROSTRAL. Neuronas.

El **área neuronal** disminuye proporcional y significativamente con la edad en los grupos de ratas controles y controles tratadas con captopril, sin embargo, en los grupos de las ratas hipertensas e hipertensas tratadas, el área neuronal experimenta un aumento progresivo desde las 10 semanas hasta las 15 semanas, sobre todo en el grupo de las ratas hipertensas tratadas en las que aumenta notablemente con la edad.

Respecto al tratamiento, el grupo control tto obtuvo un valor mayor del área neuronal que el grupo control no tto y en el caso de las ratas hipertensas tratadas, el área neuronal fue mayor que en el grupo de las ratas hipertensas no tratadas.

El **perímetro neuronal** de los grupos control y control tto disminuye con la edad mientras que en los grupos hipertensa e hipertensa tto aumenta con la edad. Asímismo, las ratas hipertensas, tratadas y no tratadas, tienen un perímetro neuronal mayor que las ratas controles, tratadas y no tratadas. El grupo de las ratas control tto tiene mayor perímetro neuronal que el grupo control no tto pero el grupo de las ratas hipertensas no presentan diferencias significativas en cuanto al perímetro neuronal.

El **factor forma** no presentó variaciones significativas entre los cuatro grupos estudiados y según las edades.

2. REGIÓN ROSTRAL. Epéndimo.

El **área nuclear** de los ependimocitos de la región rostral presenta unos valores similares al comparar los grupos a las dos edades estudiadas. Así, los resultados obtenidos del estudio morfométrico a la edad de 15 semanas son superponibles a los obtenidos a las 10 semanas y no varían considerablemente entre los grupos seleccionados para el experimento.

El desarrollo cariométrico del **perímetro nuclear** permanece relativamente constante con el paso del tiempo en los grupos control, control tto e hipertenso tto y en el grupo hipertenso no tto, sin diferencias en los valores del perímetro nuclear entre las 10 y 15 semanas. En general, el perímetro nuclear no varía significativamente entre los grupos seleccionados para el experimento.

La **forma nuclear** no presenta cambios significativos en los cuatro grupos entre las 10 y las 15 semanas. Atendiendo a los grupos estudiados, a las 10 semanas, la circularidad es mayor en las ratas controles no tratadas que en las controles tratadas y fue comparable en las ratas hipertensas tratadas y no tratadas. A las 15 semanas, el factor forma de los animales del grupo control tto, se acerca a la unidad, con diferencias significativas con respecto al grupo control no tto. Es similar entre los grupos de hipertensas.

3. REGIÓN CAUDAL. Neuronas.

El **área neuronal** no presenta diferencias significativas al comparar los grupos objeto de estudio a las 15 semanas. A las 10 semanas se establecen diferencias entre el grupo hipertenso tratado y el control tratado.

Respecto al **perímetro neuronal** no hay variaciones entre las edades recogidas en el experimento ni diferencias significativas al comparar los cuatro grupos estudiados.

El **factor forma**, tanto a las 10 semanas como a las 15 semanas, es mayor en el grupo de las ratas control no tratadas con captopril en comparación con el resto de los grupos. El grupo hipertenso tratado posee la circularidad más reducida a las 15 semanas.

4. REGIÓN CAUDAL. Epéndimo.

El **área** de los ependimocitos de la región caudal es similar en los grupos estudiados a las 15 semanas.

El **perímetro** a las 15 semanas es menor que a las 10 semanas, en los cuatro grupos estudiados. El perímetro mayor lo alcanza el grupo control tratado con captopril y el valor más bajo lo presenta el grupo de ratas control no tratadas.

El **factor forma** no presenta variaciones significativas con la edad y la esfericidad es similar en los cuatro grupos estudiados.

G-ESTUDIO ELECTROFORÉTICO

La electroforesis del LCR de ratas SHRs y de ratas WKYs, dio como resultado la aparición de cinco bandas de diferentes pesos moleculares procedentes del LCR de las primeras que no aparecían en las ratas controles. El resto de las bandas, al comparar el patrón de bandas de ambos grupos, fue similar. Estas cinco bandas se utilizaron para la inducción de anticuerpos tras la inmunización de ratones, cada ratón inmunizado con una banda diferente.

Cabe destacar que la electroforesis del suero de las ratas SHRs y de las ratas WKYs, puso de manifiesto la presencia de bandas diferentes en el suero de las hipertensas que no se encontraban en las WKYs.

H-INMUNOHISTOQUIMIA

Como ya hemos mencionado, las bandas obtenidas de la electroforesis del LCR de SHR se utilizaron para inmunizar ratones y de éstos se obtuvieron anticuerpos que marcaron, mediante el método de la peroxidasa, algunos órganos circunventriculares de ratas normotensas e hipertensas, como el órgano subfornical, el órgano subcomisural, la eminencia media y el área postrema, además de estructuras hipotalámicas como el núcleo paraventricular y el supraóptico. Los anticuerpos obtenidos de esta forma marcaron diferencialmente las estructuras de las ratas SHR y WKY. Los anticuerpos fueron los siguientes: antibanda-1, antibanda-2, antibanda-3, antibanda-4 y antibanda-5.

-Anticuerpo **Antibanda-1**:

-OSC:

El anticuerpo **antibanda-1** marcó el epéndimo del OSC de la rata WKY, encontrándose material inmunoreactivo en las regiones apical y subapical e intermedia de las células ependimarias del OSC.

En la rata SHR se observa material inmunoreactivo en todo el OSC, al contrario de lo que ocurre en la rata WKY.

En ambas cepas se observa marcaje distribuido por todas las células ependimarias.

-EM:

La rata WKY presenta un ligero marcaje en las fibras de la zona interna. La rata SHR presenta un ligero marcaje en las células del epéndimo y aparecen fibras marcadas en la rata hipertensa que no aparecen en la control.

-OSF:

En la rata WKY, se pone de manifiesto un marcaje en la región ependimaria del OSF y en algunas neuronas del parénquima.

En la rata SHR apenas se observa material inmunoreactivo en el OSF.

-AP:

En la rata WKY aparece marcada la región subpial del AP y la región próxima al canal central, sobre todo la región perivascular.

En la rata SHR, se pone de manifiesto una reacción inmunohistoquímica débil en la membrana pial que limita con el AP.

-Anticuerpo **Antibanda-2**:

-**OSC**:

En la rata WKY el material inmunoreactivo apareció en todo el OSC y en las células ependimarias del mismo.

En la rata SHR, el material inmunoreactivo apareció en diferentes zonas del OSC, sobre todo en el polo apical de las células ependimarias y en la zona infranuclear de dichas células. El epéndimo subyacente presenta material inmunoreactivo distribuído regularmente.

-EM:

La rata WKY presentó material inmunoreactivo en la zona externa e interna de la capa subependimaria y en el epéndimo adyacente al Núcleo Arcuato. El marcaje aparece en las células, prolongaciones de los tanicitos y en las terminales nerviosas.

La rata SHR mostró material inmunoreactivo en la zona del epéndimo de la EM y del adyacente del III ventrículo. Aparece marcaje en el polo apical de la capa ependimaria de la EM y ligeramente en las prolongaciones basales.

-OSF:

La rata WKY presenta un ligero marcaje en el parénquima del OSF que aumenta en intensidad a medida que nos aproximamos a la capa ependimaria.

La rata SHR presenta una mayor cantidad de material inmunoreactivo con el antibanda-2 en todo el tejido del OSF.

Al comparar la rata SHR con la WKY, apreciamos una mayor intensidad del marcaje en el OSF de la rata SHR que en la rata WKY.

-AP:

La rata WKY con el antibanda-2, presentó ligero marcaje en la parte lateral del AP, en la membrana pial y un ligero marcaje en la región subpial del AP.

En el AP de la rata SHR no se aprecia una reacción positiva nítida. Se acumula material inmunoreactivo en la membrana pial, y se aprecia un ligero marcaje en las neuronas y en las células del parénquima del AP, bajo la membrana pial.

-Anticuerpo **Antibanda-3**:

-OSC:

La rata WKY presentó material inmunorectivo disperso en el OSC, encontrándose marcaje deligera intensidad en el epéndimo subyacente.

Con el anticuerpo antibanda-3 se aprecia material inmunoreactivo disperso en el OSC y en el epéndimo subyacente de la rata SHR. No hubo diferencias cualitativas al comparar la reacción inmunohistoquímica producida en el OSC de las ratas WKY y las SHR.

-EM:

La rata WKY presenta material inmunoreactivo en la zona interna de la EM y un ligero marcaje en a zona externa que limita con la membrana pial. La mayor cantidad de material inmunoreactivo aparece en la zona perivascular.

La rata SHR no presenta marcaje en el parénquima de la EM, observándose ligera cantidad de material inmunoreactivo en la capa ependimaria y la zona externa de la EM.

-OSF:

En la rata WKY el parénquima del OSF aparece marcado, así como el epéndimo que limita con el III ventrículo.

En la región de los plexos coroideos se aprecia mayor marcaje.

En la rata SHR hubo gran cantidad de material inmunoreactivo en todo el parénquima del OSF y específicamente en algunas neuronas de pequeño y mediano tamaño. Hay además, un liegro marcaje en el epéndimo del OSF y en el epéndimo ventricular adyacente, así como en los plexos coroideos. Al comparar las ratas WKY con las SHR observamos que cualitativamente existe una mayor intensidad de la reacción inmunohistoquímica en el OSF de las ratas SHR.

-AP:

El AP de la rata WKY no manifestó reacción inmunohistoquímica con este anticuerpo. Sólo hubo una ligera cantidad de material inmunoreactivo en el epéndimo que tapiza el canal central.

En la rata SHR, al igual que en la WKY, no se observa material inmunoreactivo en el AP, sólo se manifiesta en el epéndimo del canal central.

En las ratas SHR y WKY no hay material inmunoreactivo destacable y al comparar ambos grupos no se aprecian diferencias cualtivativas en esta zona y con el anticuerpo antibanda-3.

Con el anticuerpo antibanda-3, en el grupo de las ratas control, se aprecia marcaje en neuronas del núcleo periventricular hipotalámico y en múltiples células de los núcleos magnocelulares, paraventricular y supraóptico hipotalámicos.

En las ratas hipertensas no se aprecia marcaje en el núcleo paraventricular ni en el supraóptico, sólo en algunas neuronas del núcleo periventricular hipotalámico.

Cabe destacar que los plexos coroideos del III y del IV ventrículo aparecieron marcados con los tres anticuerpos mencionados, tanto en el grupo control como en el experimental.

-<u>Anticuerpo **Antibanda-4**:</u>

No se obtuvieron anticuerpos contra la banda-4.

-<u>Anticuerpo **Antibanda-5**:</u>

No se obtuvieron anticuerpos contra la banda-5.

Otros Anticuerpos:

Las neuronas del área postrema de ratas hipertensas y de ratas normotensas, no presentan marerial inmunoreactivo frente a los anticuerpos primarios: anti-vasopresina, anti-angiotensina II, anti-ECA y anti-alfaMSH, según el método de la avidina-biotina, estreptoavidina-biotina y el método de Sternberger et al, (1977).

Aunque en el AP no detectamos, por inmunohistoquimia, angiotensina II, vasopresina, ECA o alfa-MSH, en otras estructuras, en cambio, sí observamos inmunoreactividad al emplear los mismos anticuerpos y métodos. Estos órganos fueron; el órgano subfornical, la eminencia media, núcleo supraóptico, núcleo paraventricular y órgano subcomisural.

TABLAS

TABLA DE PESOS

GRUPO CONTROL NO TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARC16	315 grs.	
ARC17	340 grs.	MEDIA: 338 grs.
ARC18	350 grs.	DESV. STANDAR: 23.61
ARC19	315 grs.	ERROR STANDAR: 10.56
ARC20	370 grs.	

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARC21	440 grs.	
ARC22	455 grs.	MEDIA: 452 grs.
ARC23	455 grs.	DESV. STANDAR: 25.64
ARC24	490 grs.	ERROR STANDAR: 11.47
ARC25	420 grs.	

TABLA DE PESOS

GRUPO CONTROL TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARC6	390 grs.	
ARC7	400 grs.	MEDIA: 388 grs.
ARC8	420 grs.	DESV. STANDAR: 34.21
ARC9	400 grs.	ERROR STANDAR: 15.30
ARC10	330 grs.	

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARC11	480 grs.	
ARC12	500 grs.	MEDIA: 488 grs.
ARC13	500 grs.	DESV. STANDAR: 15.25
ARC14	465 grs.	ERROR STANDAR: 6.82
ARC15	495 grs.	

TABLA DE PESOS

GRUPO HTA NO TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARH6	255 grs.	
ARH7	260 grs.	MEDIA: 267 grs.
ARH8	260 grs.	DESV. STANDAR: 12.04
ARH9	280 grs.	ERROR STANDAR: 5.39
ARH10	280 grs.	

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARH16	340 grs.	
ARH17	350 grs.	MEDIA: 321.25 grs.
ARH18	310 grs.	DESV. STANDAR: 29.55
ARH19 murió a las 13 s.		ERROR STANDAR: 14.77
ARH20	285 grs.	

TABLA DE PESOS

GRUPO HTA TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARH11	260 grs.	
ARH12	230 grs.	MEDIA: 247 grs.
ARH13	255 grs.	DESV. STANDAR: 12.04
ARH14	250 grs.	ERROR STANDAR: 5.39
ARH15	240 grs.	

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARH21	315 grs.	
ARH22	310 grs.	MEDIA: 326 grs.
ARH23	340 grs.	DESV. STANDAR: 17.82
ARH24	350 grs.	ERROR STANDAR: 7.97
ARH25	315 grs.	

BEBIDA

GRUPO CONTROL NO TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

DIA	**AGUA**/ml	**SALINO**/ml
57	40.4	14.0
58	22.4	10.2
59	22.8	10.4
60	25.4	8.6
61	25.4	13.0
62	26.6	6.6
63	24.6	11.8
64	25.6	12.0
65	23.2	18.8
66	23.2	18.8
67	25.6	8.0
68	25.0	13.0
69	26.2	12.4
70	26.2	14.6

MEDIA: 25.90 ml	MEDIA: 12.30 ml
DESV. STAN.: 4.39	DESV. STAN.: 3.58
ERROR STAN.: 1.17	ERROR STAN.: 0.96

ANIMALES DE 15 SEMANAS

DIA	**AGUA**/ml	**SALINO**/ml
57	26.0	14.0
58	21.6	14.2
59	21.8	14.4
60	29.6	5.8
61	28.2	6.6
62	30.4	4.0
63	46.4	5.6
64	29.6	6.0
65	13.8	6.6
66	13.8	6.6
67	28.4	4.0
68	30.8	6.8
69	29.8	5.8
70	31.2	8.8
71	30.0	9.8
72	28.4	7.2
73	30.0	4.0
74	23.6	7.0
75	38.4	6.4
76	25.6	8.4
77	34.6	12.2
78	35.6	11.0

79	31.8	8.4
80	31.8	8.4
81	26.4	10.2
82	33.6	15.0
83	30.8	7.2
84	34.0	12.4
85	38.4	4.6
86	29.6	9.5
87	29.6	9.5
88	30.0	9.2
89	26.4	9.2
90	35.8	12.4
91	28.6	12.0
92	36.4	11.6
93	32.7	6.9
94	32.7	6.9
95	33.2	11.6
96	29.8	13.2
97	30.8	9.8
98	31.2	14.8
99	36.0	9.6
100	38.4	8.8
101	38.4	8.8

102	30.8	13.2
103	35.4	11.6
104	33.2	8.0
105	31.0	9.6

MEDIA: 30.71 ml	MEDIA: 9.13 m
DESV. STAN.: 5.72	DESV. STAN.: 3.0
ERROR STAN.: 0.8	ERROR STAN.: 0.43

BEBIDA

GRUPO CONTROL TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

DIA	**AGUA**/ml	**SALINO**/ml
57	25.8	27.4
58	25.8	27.4
59	28.6	11.2
60	32.6	26.2
61	35.0	25.8
62	26.0	29.0
63	26.0	29.0
64	25.2	26.2
65	19.0	29.0
66	19.0	29.0
67	26.0	23.8
68	23.0	29.4
69	24.8	35.6
70	25.0	35.0

MEDIA: 25.85 ml	MEDIA: 27.43 ml
DESV. STAN.: 4.68	DESV. STAN.: 6.18
ERROR STAN.: 1.3	ERROR STAN.: 1.78

ANIMALES DE 15 SEMANAS

DIA	**AGUA**/ml	**SALINO**/ml
57	27.3	25.2
58	27.3	25.2
59	28.4	12.2
60	36.0	26.6
61	34.4	27.0
62	28.0	26.4
63	28.0	26.4
64	25.2	28.8
65	21.0	31.4
66	21.0	31.4
67	24.0	27.4
68	22.6	30.8
69	26.6	36.6
70	17.0	25.2
71	26.0	29.2
72	23.2	28.2
73	23.2	28.2
74	28.0	24.0
75	24.8	22.6
76	22.0	17.2
77	32.0	24.2
78	32.4	21.8
79	27.0	18.8
80	27.0	20.0

81	24.8	24.0
82	29.2	19.2
83	24.0	24.0
84	28.4	27.6
85	27.6	32.0
86	29.0	20.6
87	29.0	20.6
88	25.4	26.6
89	31.8	22.6
90	27.4	28.6
91	27.0	24.8
92	31.4	26.8
93	28.0	25.6
94	28.0	25.6
95	24.8	23.0
96	30.0	18.4
97	28.0	22.6
98	37.4	21.0
99	24.0	19.6
100	30.8	23.6
101	30.8	23.6
102	26.8	29.4
103	25.2	28.0
104	29.0	31.0
105	29.0	31.0

MEDIA: 27.33 ml	MEDIA: 25.20 ml
DESV. STAN.: 3.90	DESV. STAN.: 4.62
ERROR STAN.: 0.57	ERROR STAN.: 0.67

BEBIDA

GRUPO HTA NO TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

DIA	**AGUA**/ml	**SALINO**/ml
57	19.7	40.0
58	19.7	40.1
59	18.8	60.8
60	27.2	51.0
61	14.2	25.0
62	20.6	46.0
63	20.6	34.8
64	25.0	34.8
65	16.0	41.2
66	16.0	41.2
67	18.0	38.2
68	22.4	45.2
69	22.0	35.6
70	16.4	27.2

MEDIA: 19.77 ml MEDIA: 40.08 ml

DESV. STAN.: 3.94 DESV. STAN.: 9.93

ERROR STAN.: 1.1 ERROR STAN.: 2.87

ANIMALES DE 15 SEMANAS

DIA	**AGUA**/ml	**SALINO**/ml
57	20.1	38.3
58	20.1	38.3
59	19.0	46.2
60	18.8	25.2
61	21.2	24.8
62	22.0	38.8
63	22.0	38.8
64	14.4	39.2
65	14.6	28.6
66	14.6	28.6
67	17.6	17.4
68	19.8	36.0
69	22.0	39.2
70	14.4	31.2
71	18.6	18.8
72	26.0	25.6
73	26.0	25.6
74	19.0	37.2
75	20.0	33.0
76	20.0	33.0
77	17.8	26.6
78	33.2	39.4
79	18.6	38.4
80	20.4	39.4
81	15.4	37.4

82	20.4	53.2
83	22.4	47.8
MEDIA:	20.08 ml	MEDIA: 38.36 ml
DESV. STAN.:	3.50	DESV. STANDAR: 10.69
ERROR STAN.:	0.5	ERROR STANDAR: 1.56
84	22.8	56.0
85	16.8	37.6
86	20.6	58.8
87	20.6	58.8
88	18.0	51.8
89	22.0	64.8
90	21.6	41.6
91	17.5	29.0
92	18.5	32.0
93	20.2	48.7
94	20.2	48.7
95	23.0	28.0
96	12.5	50.0
97	18.5	35.5
98	19.5	28.0
99	23.0	44.0
100	21.5	40.7
101	21.5	40.7
102	20.2	37.7
103	23.0	50.0
104	22.0	35.2
105	22.0	36.0

BEBIDA

GRUPO HTA TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

DIA	**AGUA**/ml	**SALINO**/ml
57	15.8	36.7
58	15.9	36.8
59	17.4	36.0
60	19.0	43.4
61	15.6	31.0
62	17.0	38.0
63	17.0	38.0
64	16.2	33.6
65	12.0	36.2
66	12.0	36.2
67	17.8	26.4
68	16.8	34.8
69	17.0	55.0
70	12.6	32.8

MEDIA: 15.87 ml
DESV. STAN.: 2.36
ERROR STAN.: 0.68

MEDIA: 36.78 ml
DESV. STAN.: 7.08
ERROR STAN.: 2.04

ANIMALES DE 15 SEMANAS

DIA	**AGUA**/ml	**SALINO**/ml
57	22.9	45.3
58	22.9	45.3
59	20.8	31.8
60	24.0	29.2
61	25.6	25.2
62	20.0	34.0
63	20.0	34.0
64	18.8	28.4
65	18.0	35.0
66	18.0	35.0
67	11.0	51.8
68	16.6	55.4
69	15.6	41.0
70	13.0	40.8
71	18.0	30.6
72	21.4	41.0
73	21.4	41.0
74	24.8	41.2
75	19.6	58.4
76	24.0	42.0
77	21.6	46.4
78	23.4	38.6
79	32.0	30.0
80	28.2	30.6

81	28.2	44.0
82	27.6	53.8

MEDIA: 22.89 ml MEDIA: 45.32 ml

DESV. STAN.: 5.29 DESV. STAN.: 13.03

ERROR STAN.: 0.7 ERROR STAN.: 1.90

83	21.6	52.8
84	15.8	47.6
85	29.8	30.4
86	28.0	48.8
87	28.0	48.8
88	24.8	39.2
89	24.2	54.2
90	27.0	49.0
91	26.0	49.6
92	26.0	52.6
93	16.6	70.4
94	16.6	70.4
95	16.8	55.8
96	20.4	66.0
97	25.0	58.8
98	20.2	33.6
99	25.2	48.4
100	27.0	51.8
101	27.0	51.8
102	22.0	40.0

103	23.6	58.0
104	21.6	62.0
105	25.8	76.2

TENSION ARTERIAL

SISTOLICA

GRUPO CONTROL NO TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARC16	157.2 mmHg	
ARC17	137.8 mmHg	MEDIA: 148.80 mmHg
ARC18	154.2 mmHg	DESV. STANDAR: 7.54
ARC19	146.2 mmHg	ERROR STANDAR: 3.37
ARC20	148.6 mmHg	

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARC21	133.0 mmHg	
ARC22	135.2 mmHg	MEDIA: 141.0 mmHg
ARC23	149.4 mmHg	DESV. STANDAR: 6.87
ARC24	145.4 mmHg	ERROR STANDAR: 3.07
ARC25	142.0 mmHg	

TENSION ARTERIAL

SISTOLICA

GRUPO CONTROL TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARC6	188.5 mmHg	
ARC7	145.0 mmHg	MEDIA: 152.45 mmHg
ARC8	128.3 mmHg	DESV. STANDAR: 23.07
ARC9	159.8 mmHg	ERROR STANDAR: 10.32
ARC10	140.7 mmHg	

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARC11	117.2 mmHg	
ARC12	162.2 mmHg	MEDIA: 152.16 mmHg
ARC13	148.2 mmHg	DESV. STANDAR: 21.02
ARC14	169.0 mmHg	ERROR STANDAR: 9.40
ARC15	164.2 mmHg	

TENSION ARTERIAL SISTOLICA

GRUPO HTA NO TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARH6	203.6 mmHg	
ARH7	159.0 mmHg	MEDIA: 189.92 mmHg
ARH8	206.6 mmHg	DESV. STANDAR: 22.67
ARH9	172.4 mmHg	ERROR STANDAR: 10.14
ARH10	208.0 mmHg	

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARH16	175.8 mmHg	
ARH17	187.8 mmHg	MEDIA: 186.2 mmHg
ARH18	199.2 mmHg	DESV. STANDAR: 9.96
ARH19 murió a las 13 sem.		ERROR STANDAR: 4.98
ARH20	182.0 mmHg	

TENSION ARTERIAL SISTOLICA

GRUPO HTA TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARH11	170.5 mmHg	
ARH12	172.0 mmHg	MEDIA: 171.20 mmHg
ARH13	168.3 mmHg	DESV. STANDAR: 9.43
ARH14	185.7 mmHg	ERROR STANDAR: 4.22
ARH15	159.5 mmHg	

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARH21	160.6 mmHg	
ARH22	148.2 mmHg	MEDIA: 158.68 mmHg
ARH23	174.2 mmHg	DESV. STANDAR: 12.46
ARH24	144.2 mmHg	ERROR STANDAR: 5.57
ARH25	166.2 mmHg	

TENSION ARTERIAL DIASTOLICA

GRUPO CONTROL NO TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARC16	148.4 mmHg	
ARC17	126.2 mmHg	MEDIA: 137.24 mmHg
ARC18	140.8 mmHg	DESV. STANDAR: 8.46
ARC19	132.2 mmHg	ERROR STANDAR: 3.78
ARC20	138.6 mmHg	

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARC21	110.6 mmHg	
ARC22	115.4 mmHg	MEDIA: 122.24 mmHg
ARC23	135.0 mmHg	DESV. STANDAR: 9.53
ARC24	124.2 mmHg	ERROR STANDAR: 4.26
ARC25	126.0 mmHg	

TENSION ARTERIAL DIASTOLICA

GRUPO CONTROL TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARC6	162.5 mmHg	
ARC7	138.7 mmHg	MEDIA: 135.23 mmHg
ARC8	106.0 mmHg	DESV. STANDAR: 20.36
ARC9	136.0 mmHg	ERROR STANDAR: 9.11
ARC10	128.0 mmHg	

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARC11	102.0 mmHg	
ARC12	154.0 mmHg	MEDIA: 139.72 mmHg
ARC13	134.0 mmHg	DESV. STANDAR: 22.84
ARC14	155.2 mmHg	ERROR STANDAR: 10.21
ARC15	153.4 mmHg	

TENSION ARTERIAL DIASTOLICA

GRUPO HTA NO TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARH6	184.2 mmHg	
ARH7	144.8 mmHg	MEDIA: 170.09 mmHg
ARH8	184.2 mmHg	DESV. STANDAR: 18.20
ARH9	156.8 mmHg	ERROR STANDAR: 8.14
ARH10	180.5 mmHg	

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARH16	162.6 mmHg	
ARH17	179.0 mmHg	MEDIA: 172.70 mmHg
ARH18	187.0 mmHg	DESV. STANDAR: 12.33
ARH19 murió a las 13 sem.		ERROR STANDAR: 6.17
ARH20	162.2 mmHg	

TENSION ARTERIAL DIASTOLICA

GRUPO HTA TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARH11	156.8 mmHg	
ARH12	150.3 mmHg	MEDIA: 153.72 mmHg
ARH13	148.0 mmHg	DESV. STANDAR: 7.98
ARH14	166.3 mmHg	ERROR STANDAR: 3.57
ARH15	147.3 mmHg	

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARH21	144.0 mmHg	
ARH22	137.4 mmHg	MEDIA: 139.04 mmHg
ARH23	157.6 mmHg	DESV. STANDAR: 12.39
ARH24	127.0 mmHg	ERROR STANDAR: 5.54
ARH25	129.2 mmHg	

TENSION ARTERIAL

MEDIA

GRUPO CONTROL NO TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARC16	151.3 mmHg	
ARC17	130.1 mmHg	MEDIA: 141.09 mmHg
ARC18	145.3 mmHg	DESV. STANDAR: 8.10
ARC19	136.9 mmHg	ERROR STANDAR: 3.62
ARC20	141.9 mmHg	

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARC21	118.1 mmHg	
ARC22	122.0 mmHg	MEDIA: 128.49 mmHg
ARC23	139.8 mmHg	DESV. STANDAR: 8.58
ARC24	131.3 mmHg	ERROR STANDAR: 3.84
ARC25	131.3 mmHg	

TENSION ARTERIAL

MEDIA

GRUPO CONTROL TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARC6	171.2 mmHg	
ARC7	140.8 mmHg	MEDIA: 140.97 mmHg
ARC8	113.4 mmHg	DESV. STANDAR: 20.93
ARC9	143.9 mmHg	ERROR STANDAR: 9.36
ARC10	132.2 mmHg	

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARC11	107.1 mmHg	
ARC12	156.7 mmHg	MEDIA: 143.86 mmHg
ARC13	138.7 mmHg	DESV. STANDAR: 22.21
ARC14	159.8 mmHg	ERROR STANDAR: 9.93
ARC15	157.0 mmHg	

TENSION ARTERIAL

MEDIA

GRUPO HTA NO TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARH6 190.7 mmHg

ARH7 149.5 mmHg MEDIA: 176.70 mmHg

ARH8 191.7 mmHg DESV. STANDAR: 19.64

ARH9 162.0 mmHg ERROR STANDAR: 8.78

ARH10 189.7 mmHg

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARH16 167.0 mmHg

ARH17 181.9 mmHg MEDIA: 177.20 mmHg

ARH18 191.1 mmHg DESV. STANDAR: 11.39

ARH19 murió a las 13 sem. ERROR STANDAR: 5.69

ARH20 168.8 mmHg

TENSION ARTERIAL

MEDIA

GRUPO HTA TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARH11	161.3 mmHg	
ARH12	157.5 mmHg	MEDIA: 159.54 mmHg
ARH13	154.8 mmHg	DESV. STANDAR: 8.25
ARH14	172.8 mmHg	ERROR STANDAR: 3.69
ARH15	151.3 mmHg	

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARH21	149.5 mmHg	
ARH22	141.0 mmHg	MEDIA: 145.58 mmHg
ARH23	163.1 mmHg	DESV. STANDAR: 11.47
ARH24	132.7 mmHg	ERROR STANDAR: 5.13
ARH25	141.5 mmHg	

FRECUENCIA CARDIACA

GRUPO CONTROL NO TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARC16	59.0 ppm	
ARC17	67.8 ppm	MEDIA: 69.0 ppm
ARC18	71.0 ppm	DESV. STANDAR: 6.08
ARC19	73.8 ppm	ERROR STANDAR: 2.72
ARC20	73.4 ppm	

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARC21	51.6 ppm	
ARC22	70.4 ppm	MEDIA: 67.12 ppm
ARC23	62.2 ppm	DESV. STANDAR: 11.15
ARC24	69.6 ppm	ERROR STANDAR: 4.99
ARC25	81.8 ppm	

FRECUENCIA CARDIACA

GRUPO CONTROL TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARC6	73.5 ppm	
ARC7	57.3 ppm	MEDIA: 61.77 ppm
ARC8	63.0 ppm	DESV. STANDAR: 7.21
ARC9	60.0 ppm	ERROR STANDAR: 3.22
ARC10	55.0 ppm	

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARC11	60.8 ppm	
ARC12	70.4 ppm	MEDIA: 69.60 ppm
ARC13	76.2 ppm	DESV. STANDAR: 7.20
ARC14	63.8 ppm	ERROR STANDAR: 3.22
ARC15	76.8 ppm	

FRECUENCIA CARDIACA

GRUPO HTA NO TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARH6	60.2 ppm	
ARH7	68.0 ppm	MEDIA: 64.71 ppm
ARH8	62.0 ppm	DESV. STANDAR: 3.66
ARH9	68.6 ppm	ERROR STANDAR: 1.64
ARH10	64.8 ppm	

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARH16	69.0 ppm	
ARH17	65.6 ppm	MEDIA: 64.25 ppm
ARH18	63.8 ppm	DESV. STANDAR: 4.34
ARH19 murió a las 13 sem		ERROR STANDAR: 2.17
ARH20	58.6 ppm	

FRECUENCIA CARDIACA

GRUPO HTA TTO

ANIMALES DE 10 SEMANAS

ARH11	63.0 ppm	
ARH12	59.3 ppm	MEDIA: 62.85 ppm
ARH13	65.7 ppm	DESV. STANDAR: 4.31
ARH14	68.3 ppm	ERROR STANDAR: 1.93
ARH15	58.0 ppm	

ANIMALES DE 15 SEMANAS

ARH21	70.4 ppm	
ARH22	63.6 ppm	MEDIA: 68.96 ppm
ARH23	68.2 ppm	DESV. STANDAR: 6.00
ARH24	67.0 ppm	ERROR STANDAR: 2.68
ARH25	75.6 ppm	

ANIMALES DE 10 SEMANAS

GRUPO CONTROL NO TTO

REGION ROSTRAL

AREA NUCLEAR

ARC16	30.8 um2	MEDIA: 28.07 um2
ARC17	21.88 um2	DESV. STANDAR: 5.20
ARC18	31.54 um2	ERROR STANDAR: 3.05

PERIMETRO NUCLEAR

ARC16	20.55 um	MEDIA: 21.6 um
ARC17	21.7 um	DESV. STANDAR: 1.0037
ARC18	22.55 um	ERROR STANDAR: 0.59

FACTOR FORMA

ARC16	0.84	MEDIA: 0.69
ARC17	0.468	DESV. STANDAR: 0.2122
ARC18	0.773	ERROR STANDAR: 0.124

ANIMALES DE 10 SEMANAS

GRUPO CONTROL NO TTO

REGIÓN CAUDAL

ÁREA NUCLEAR

ARC 16	27.51um2	MEDIA: 32.18um2
ARC 17	33.69 um2	DESV. ESTÁNDAR: 4.13
ARC 18	35.36 um2	ERROR ESTÁNDAR: 2.38

PERÍMETRO NUCLEAR

ARC 16	18.96 um	MEDIA: 20.99um2
ARC 17	21.75 um	DESV. ESTÁNDAR:1.77
ARC 18	22.26 um	ERROR ESTÁNDAR: 1.02

FACTOR FORMA

ARC 16	0.9206	MEDIA: 0.88
ARC 17	0.866	DESV. ESTÁNDAR: 0.032
ARC 18	0.873	ERROR ESTÁNDAR: 0.018

ANIMALES DE 15 SEMANAS

GRUPO CONTROL NO TTO

REGION ROSTRAL

AREA NUCLEAR

ARC21	13.37 um2	MEDIA: 25.79 um2
ARC22	25.92 um2	DESV. STANDAR: 12.36
ARC23	38.10 um2	ERROR STANDAR: 7.27

PERIMETRO NUCLEAR

ARC21	18.77 um	MEDIA: 20.39 um
ARC22	19.09 um	DESV. STANDAR: 2.54
ARC23	23.33 um	ERROR STANDAR: 1.49

FACTOR FORMA

ARC21	0.420	MEDIA: 0.719
ARC22	0.877	DESV. STANDAR: 0.25
ARC23	0.860	ERROR STANDAR: 0.14

ANIMALES DE 15 SEMANAS

GRUPO CONTROL NO TTO

REGIÓN CAUDAL

ÁREA NUCLEAR

ARC 21	28.36 um2	MEDIA: 24.43 um2
ARC 22	24.07 um2	DESV. ESTÁNDAR: 3.7
ARC 23	20.88 um2	ERROR ESTÁNDAR: 2.1

PERÍMETRO NUCLEAR

ARC 21	19.45 um	MEDIA: 19.07 um
ARC 22	18.00 um	DESV. ESTÁNDAR: 0.93
ARC 23	19.76 um	ERROR ESTÁNDAR: 0.53

FACTOR FORMA

ARC 21	0.922	MEDIA: 0.79
ARC 22	0.909	DESV. ESTÁNDAR: 0.20
ARC 23	0.567	ERROR ESTÁNDAR: 0.11

ANIMALES DE 10 SEMANAS

GRUPO CONTROL TTO

REGION ROSTRAL

AREA NUCLEAR

ARC6	31.32 um2	MEDIA: 33.27 um2
ARC7	34.50 um2	DESV. STANDAR: 1.71
ARC8	34.01 um2	ERROR STANDAR: 1

PERIMETRO NUCLEAR

ARC6	23.80 um	MEDIA: 23.49 um
ARC7	22.97 um	DESV. STANDAR: 0.45
ARC8	23.71 um	ERROR STANDAR: 0.26

FACTOR FORMA

ARC6	0.664	MEDIA: 0.736
ARC7	0.772	DESV. STANDAR: 0.05
ARC8	0.773	ERROR STANDAR: 0.029

ANIMALES DE 10 SEMANAS

GRUPO CONTROL TTO

REGIÓN CAUDAL

ÁREA NUCLEAR

ARC 6	35.57 um2	MEDIA: 23.80 um2
ARC 7	26.19 um2	DESV ESTÁNDAR: 14.48
ARC 8	28.22 um2	ERROR ESTÁNDAR: 8.36

PERÍMETRO NUCLEAR

ARC 6	22.63 um	MEDIA: 20.09 um
ARC 7	15. 58 um	DESV. ESTÁNDAR: 3.91
ARC 8	22. 07 um	ERROR ESTÁNDAR: 2.26

FACTOR FORMA

ARC 6	0.863	MEDIA: 0.65
ARC 7	0.4	DESV. ESTÁNDAR: 0.20
ARC 8	0. 661	ERROR ESTÁNDAR: 0.11

ANIMALES DE 15 SEMANAS

GRUPO CONTROL TTO

REGION ROSTRAL

AREA NUCLEAR

ARC11	23.86 um2	MEDIA: 30.70 um2
ARC12	33.75 um2	DESV. STANDAR: 5.84
ARC13	34.21 um2	ERROR STANDAR: 3.43

PERIMETRO NUCLEAR

ARC11	22.14 um	MEDIA: 22.10 um
ARC12	21.27 um	DESV. STANDAR: 0.82
ARC13	22.91 um	ERROR STANDAR: 0.47

FACTOR FORMA

ARC11	0.516	MEDIA: 0.73
ARC12	0.907	DESV. STANDAR: 0.19
ARC13	0.774	ERROR STANDAR: 0.111

ANIMALES DE 15 SEMANAS

GRUPO CONTROL TTO

REGIÓN CAUDAL

ÁREA NUCLEAR

ARC 11	30.25 um2	MEDIA: 27.74 um2
ARC 12	39.86 um2	DESV. ESTÁNDAR: 13.55
ARC 13	13.11 um2	ERROR ESTÁNDAR: 7.8

PERÍMETRO NUCLEAR

ARC 11	20.96 um	MEDIA: 21.59 um
ARC 12	24.21 um	DESV. ESTÁNDAR: 2.3
ARC 13	19.62 um	ERROR ESTÁNDAR: 1.32

FACTOR FORMA

ARC 11	0.845	MEDIA: 0.665
ARC 12	0.802	DESV. ESTÁNDAR: 0.27
ARC 13	0.35	ERROR ESTÁNDAR: 0.15

ANIMALES DE 10 SEMANAS

GRUPO HTA NO TTO

REGION ROSTRAL

AREA NUCLEAR

ARH 6	38.97 um2	MEDIA: 30.69 um2
ARH 7	32.15 um2	DESV. STANDAR: 9.09
ARH 8	20.96 um2	ERROR STANDAR: 5.25

PERIMETRO NUCLEAR

ARH 6	23.99 um	MEDIA: 21.83 um
ARH 7	24.24 um	DESV. STANDAR: 3.95
ARH 8	17.27 um	ERROR STANDAR: 2.28

FACTOR FORMA

ARH 6	0.822	MEDIA: 0.76
ARH 7	0.625	DESV. STANDAR: 0.125
ARH 8	0.849	ERROR STANDAR: 0.07

ANIMALES DE 10 SEMANAS

GRUPO HTA NO TTO

REGIÓN CAUDAL

ÁREA NUCLEAR

ARH 6	28.29 um2	MEDIA: 32.29 um2
ARH 7	42.27 um2	DESV. ESTÁNDAR: 8.69
ARH 8	26.32 um2	ERROR ESTÁNDAR: 5.0

PERÍMETRO NUCLEAR

ARH 6	20.04 um	MEDIA: 21.46 um
ARH 7	25.08 um	DESV. ESTÁNDAR: 3.15
ARH 8	19.27 um	ERROR ESTÁNDAR: 1.8

FACTOR FORMA

ARH 6	0.868	MEDIA: 0.856
ARH 7	0.83	DESV. ESTÁNDAR: 0.02
ARH 8	0.872	ERROR ESTÁNDAR: 0.011

ANIMALES DE 15 SEMANAS

GRUPO HTA NO TTO

REGION ROSTRAL

AREA NUCLEAR

ARH16	46.56 um2	MEDIA: 44.11 um2
ARH17	44.97 um2	DESV. STANDAR: 2.97
ARH18	40.80 um2	ERROR STANDAR: 1.71

PERIMETRO NUCLEAR

ARH16	25.64 um	MEDIA: 25.14 um
ARH17	25.90 um	DESV. STANDAR: 1.09
ARH18	23.89 um	ERROR STANDAR: 0.63

FACTOR FORMA

ARH16	0.87	MEDIA: 0.841
ARH17	0.78	DESV. STANDAR: 0.0517
ARH18	0.873	ERROR STANDAR: 0.02

ANIMALES DE 15 SEMANAS

GRUPO HTA NO TTO

REGIÓN CAUDAL

ÁREA NUCLEAR

ARH 16	33.54 um2	MEDIA: 28.35 um2
ARH 17	15.07 um2	DESV. ESTÁNDAR: 11.59
ARH 18	36.44 um2	ERROR ESTÁNDAR: 6.6

PERÍMETRO NUCLEAR

ARH 16	21.73 um	MEDIA: 21.59
ARH 17	19.25 um	DESV. ESTÁNDAR: 2.27
ARH 18	23.79 um	ERROR ESTÁNDAR: 1.31

FACTOR FORMA

ARH 16	0.879	MEDIA: 0.67
ARH 17	0.367	DESV. ESTÁNDAR: 0.27
ARH 18	0.778	ERROR ESTÁNDAR: 0.15

ANIMALES DE 10 SEMANAS

GRUPO HTA TTO

REGION ROSTRAL

AREA NUCLEAR

ARH11	29.14 um2	MEDIA: 26.37 um2
ARH12	18.50 um2	DESV. STANDAR: 6.9
ARH14	31.48 um2	ERROR STANDAR: 3.9

PERIMETRO NUCLEAR

ARH11	21.86 um	MEDIA: 21.09 um
ARH12	19.54 um	DESV. STANDAR: 1.34
ARH14	21.89 um	ERROR STANDAR: 0.77

FACTOR FORMA

ARH11	0.682	MEDIA: 0.658
ARH12	0.516	DESV. STANDAR: 0.1383
ARH14	0.784	ERROR STANDAR: 0.075

ANIMALES DE 10 SEMANAS

GRUPO HTA TTO

REGIÓN CAUDAL

ÁREA NUCLEAR

ARH 11	59.30 um2	MEDIA: 39.78 um2
ARH 12	33.12 um2	DESV. ESTÁNDAR: 17.18
ARH 14	26.93 um2	ERROR ESTÁNDAR: 9.9

PERÍMETRO NUCLEAR

ARH 11	28.10 um	MEDIA: 23.44 um
ARH 12	21.87 um	DESV. ESTÁNDAR: 4.1
ARH 14	20.36 um	ERROR ESTÁNDAR: 2.3

FACTOR FORMA

ARH 11	0.89	MEDIA: 0.78
ARH 12	0.803	DESV. ESTÁNDAR: 0.12
ARH 14	0.647	ERROR ESTÁNDAR: 0.069

ANIMALES DE 15 SEMANAS

GRUPO HTA TTO

REGION ROSTRAL

AREA NUCLEAR

ARH21	51.01 um2	MEDIA: 45.62 um2
ARH22	48.21 um2	DESV. STANDAR: 7.04
ARH23	37.65 um2	ERROR STANDAR: 4.06

PERIMETRO NUCLEAR

ARH21	26.39 um	MEDIA: 25.07 um
ARH22	25.99 um	DESV. STANDAR: 1.94
ARH23	22.84 um	ERROR STANDAR: 1.121

FACTOR FORMA

ARH21	0.908	MEDIA: 0.896
ARH22	0.887	DESV. STANDAR: 0.0107
ARH23	0.894	ERROR STANDAR: 0.006

ANIMALES DE 15 SEMANAS

GRUPO HTA TTO

REGIÓN CAUDAL

ÁREA NUCLEAR

ARH 21	21.74 um2	MEDIA: 22.80 um2
ARH 22	23.31 um2	DESV. ESTÁNDAR: 0.92
ARH 23	23.36 um2	ERROR ESTÁNDAR: 0.53

PERÍMETRO NUCLEAR

ARH 21	24.25 um	MEDIA: 21.33 um
ARH 22	19.51 um	DESV. ESTÁNDAR: 2.56
ARH 23	20.23 um	ERROR ESTÁNDAR: 1.47

FACTOR FORMA

ARH 21	0.37	MEDIA: 0.507
ARH 22	0.616	DESV. ESTÁNDAR: 0.125
ARH 23	0.535	ERROR ESTÁNDAR: 0.07

ANIMALES DE 10 SEMANAS

GRUPO CONTROL NO TTO

EPENDIMO ROSTRAL

AREA NUCLEAR

ARC16	34.97 um2	MEDIA: 35.59 um2
ARC17	34.06 um2	DESV. STANDAR: 1.91
ARC18	37.74 um2	ERROR STANDAR: 1.10

PERIMETRO NUCLEAR

ARC16	21.77 um	MEDIA: 21.87 um
ARC17	21.25 um	DESV. STANDAR: 0.686
ARC18	22.61 um	ERROR STANDAR: 0.39

FACTOR FORMA

ARC16	0.923	MEDIA: 0.926
ARC17	0.941	DESV. STANDAR: 0.015
ARC18	0.915	ERROR STANDAR: 0.008

ANIMALES DE 15 SEMANAS

GRUPO CONTROL NO TTO

EPENDIMO ROSTRAL

AREA NUCLEAR

ARC21	25.58 um2	MEDIA: 32.95 um2
ARC22	36.33 um2	DESV. STANDAR: 6.39
ARC23	36.96 um2	ERROR STANDAR: 3.69

PERIMETRO NUCLEAR

ARC21	23.00 um	MEDIA: 22.42 um
ARC22	22.05 um	DESV. STANDAR: 0.508
ARC23	22.21 um	ERROR STANDAR: 0.29

FACTOR FORMA

ARC21	0.48	MEDIA: 0.781
ARC22	0.933	DESV. STANDAR: 0.2615
ARC23	0.932	ERROR STANDAR: 0.15

ANIMALES DE 10 SEMANAS

GRUPO CONTROL TTO

EPENDIMO ROSTRAL

AREA NUCLEAR

ARC6	28.09 um2	MEDIA: 34.51 um2
ARC7	39.28 um2	DESV. STANDAR: 5.774
ARC8	36.16 um2	ERROR STANDAR: 3.33

PERIMETRO NUCLEAR

ARC6	20.83 um	MEDIA: 23.01
ARC7	24.59 um	DESV. STANDAR: 1.95
ARC8	23.61 um	ERROR STANDAR: 1.127

FACTOR FORMA

ARC6	0.841	MEDIA: 0.796
ARC7	0.770	DESV. STANDAR: 0.039
ARC8	0.777	ERROR STANDAR: 0.0225

ANIMALES DE 15 SEMANAS

GRUPO CONTROL TTO

EPENDIMO ROSTRAL

AREA NUCLEAR

ARC11	34.98 um2	MEDIA: 36.46 um2
ARC12	39.49 um2	DESV. STANDAR: 2.62
ARC13	34.91 um2	ERROR STANDAR: 1.15

PERIMETRO NUCLEAR

ARC11	21.73 um	MEDIA: 22.08 um
ARC12	22.75 um	DESV. STANDAR: 0.57
ARC13	21.78 um	ERROR STANDAR: 0.32

FACTOR FORMA

ARC11	0.924	MEDIA: 0.932
ARC12	0.954	DESV. STANDAR: 0.0186
ARC13	0.920	ERROR STANDAR: 0.010

ANIMALES DE 10 SEMANAS

GRUPO HTA NO TTO

EPENDIMO ROSTRAL

AREA NUCLEAR

ARH6	37.7 um2	MEDIA: 37.81 um2
ARH7	37.86 um2	DESV. STANDAR: 2.25
ARH8	37.88 um2	ERROR STANDAR: 1.3

PERIMETRO NUCLEAR

ARH6	22.67 um	MEDIA: 22.53 um
ARH7	22.73 um	DESV. STANDAR: 0.29
ARH8	22.20 um	ERROR STANDAR: 0.16

FACTOR FORMA

ARH6	0.916	MEDIA: 0.932
ARH7	0.916	DESV. STANDAR: 0.028
ARH8	0.964	ERROR STANDAR: 0.016

ANIMALES DE 15 SEMANAS

GRUPO HTA NO TTO

EPENDIMO ROSTRAL

AREA NUCLEAR

ARH16	34.99 um2	MEDIA: 37.41 um2
ARH17	41.49 um2	DESV. STANDAR: 3.55
ARH18	35.76 um2	ERROR STANDAR: 2.05

PERIMETRO NUCLEAR

ARH16	21.85 um	MEDIA: 22.46 um
ARH17	23.73 um	DESV. ESTÁNDAR: 1.1
ARH18	21.80 um	ERROR ESTÁNDAR: 0.06

FACTOR FORMA

ARH16	0.915	MEDIA: 0.92
ARH17	0.919	DESV. ESTÁNDAR: 0.0117
ARH18	0.937	ERROR ESTÁNDAR : 0.006

ANIMALES DE 10 SEMANAS

GRUPO HTA TTO

EPENDIMO ROSTRAL

AREA NUCLEAR

ARH11	36.01 um2	MEDIA: 38.78um2
ARH12	41.06 um2	DESV. STANDAR: 2.56
ARH14	39.28 um2	ERROR STANDAR: 1.47

PERIMETRO NUCLEAR

ARH11	22.74 um	MEDIA: 22.91 um
ARH12	23.23 um	DESV. STANDAR: 0.27
ARH14	22.77 um	ERROR STANDAR: 0.15

FACTOR FORMA

ARH11	0.74	MEDIA: 0.879
ARH12	0.951	DESV. STANDAR: 0.12
ARH14	0.947	ERROR STANDAR: 0.069

ANIMALES DE 15 SEMANAS

GRUPO HTA TTO

EPENDIMO ROSTRAL

AREA NUCLEAR

ARH21	37.33um2	MEDIA: 36.91 um2
ARH22	34.75 um2	DESV. STANDAR: 1.992
ARH23	38.67 um2	ERROR STANDAR: 1.15

PERIMETRO NUCLEAR

ARH21	22.48 um	MEDIA: 22.32 um
ARH22	21.70 um	DESV. STANDAR: 0.55
ARH23	22.78 um	ERROR STANDAR: 0.31

FACTOR FORMA

ARH21	0.924	MEDIA: 0.925
ARH22	0.923	DESV. STANDAR: 0.0038
ARH23	0.930	ERROR STANDAR: 0.0021

ANIMALES DE 10 SEMANAS

GRUPO CONTROL NO TTO

EPENDIMO CAUDAL

AREA NUCLEAR

ARC16	14.52 um2	MEDIA: 21.89 um2
ARC17	33.05um2	DESV. STANDAR: 9.82
ARC18	18.12 um2	ERROR STANDAR: 5.67

PERIMETRO NUCLEAR

ARC16	18.84 um	MEDIA: 20.00 um
ARC17	21.05 um	DESV. STANDAR: 1.10
ARC18	20.12 um	ERROR STANDAR: 0.63

FACTOR FORMA

ARC16	0.431	MEDIA: 0.66
ARC17	0.923	DESV. STANDAR: 0.24
ARC18	0.640	ERROR STANDAR: 0.13

ANIMALES DE 15 SEMANAS

GRUPO CONTROL NO TTO

EPENDIMO CAUDAL

AREA NUCLEAR

ARC21	17.90 um2	MEDIA: 21.93 um2
ARC22	23.98 um2	DESV. STANDAR: 3.49
ARC23	23.91 um2	ERROR STANDAR: 2.01

PERIMETRO NUCLEAR

ARC21	15.62 um	MEDIA: 17.72 um
ARC22	17.54 um	DESV. STANDAR: 2.20
ARC23	20.01 um	ERROR STANDAR: 1.27

FACTOR FORMA

ARC21	0.906	MEDIA: 0.78
ARC22	0.908	DESV. STANDAR: 0.20
ARC23	0.55	ERROR STANDAR: 0.11

ANIMALES DE 10 SEMANAS

GRUPO CONTROL TTO

EPENDIMO CAUDAL

AREA NUCLEAR

ARC6	31.92 um2	MEDIA: 29.29 um2
ARC7	15.95 um2	DESV. STANDAR: 12.23
ARC8	40.0um2	ERROR STANDAR: 7.09

PERIMETRO NUCLEAR

ARC6	22.50 um	MEDIA: 22.62 um
ARC7	21.79 um	DESV. STANDAR: 0.89
ARC8	23.57 um	ERROR ESTÁNDAR: 0.51

FACTOR FORMA

ARC6	0.755	MEDIA: 0.65
ARC7	0.326	DESV. STANDAR: 0.29
ARC8	0.895	ERROR STANDAR: 0.16

ANIMALES DE 15 SEMANAS

GRUPO CONTROL TTO

EPENDIMO CAUDAL

AREA NUCLEAR

ARC11	29.44 um2	MEDIA: 26.67 um2
ARC12	36.96 um2	DESV. STANDAR: 11.91
ARC13	13.62 um2	ERROR STANDAR: 6.8

PERIMETRO NUCLEAR

ARC11	20.11um	MEDIA: 20.69 um
ARC12	22.34 um	DESV. STANDAR: 1.44
ARC13	19.63 um	ERROR STANDAR: 0.83

FACTOR FORMA

ARC11	0.91	MEDIA: 0.719
ARC12	0.91	DESV. STANDAR: 0.33
ARC13	0.339	ERROR STANDAR: 0.19

ANIMALES DE 10 SEMANAS

GRUPO HTA NO TTO

EPENDIMO CAUDAL

AREA NUCLEAR

ARH6	36.82 um2	MEDIA: 32.7 um2
ARH7	34.97 um2	DESV. STANDAR: 5.59
ARH8	26.33 um2	ERROR STANDAR: 3.23

PERIMETRO NUCLEAR

ARH6	22.24 um	MEDIA: 21.02 um2
ARH7	22.02 um	DESV. STANDAR: 1.92
ARH8	18.80 um	ERROR STANDAR: 1.1

FACTOR FORMA

ARH6	0.928	MEDIA: 0.918
ARH7	0.894	DESV. STANDAR: 0.021
ARH8	0.934	ERROR ESTÁNDAR: 0.01

ANIMALES DE 15 SEMANAS

GRUPO HTA NO TTO

EPENDIMO CAUDAL

AREA NUCLEAR

ARH16	30.07 um2	MEDIA: 26.64 um2
ARH17	13.21 um2	DESV. STANDAR: 12.09
ARH18	36.66 um2	ERROR STANDAR: 6.9

PERIMETRO NUCLEAR

ARH16	19.91 um	MEDIA: 20.27 um
ARH17	18.26 um	DESV. STANDAR: 2.21
ARH18	22.65 um	ERROR STANDAR: 1.27

FACTOR FORMA

ARH16	0.945	MEDIA: 0.75
ARH17	0.434	DESV. STANDAR: 0.28
ARH18	0.891	ERROR STANDAR: 0.16

ANIMALES DE 10 SEMANAS

GRUPO HTA TTO

EPENDIMO CAUDAL

AREA NUCLEAR

ARH11	41.59 um2	MEDIA: 34.56 um2
ARH12	34.35 um2	DESV. STANDAR: 6.9
ARH14	24.74 um2	ERROR STANDAR: 3.9

PERIMETRO NUCLEAR

ARH11	23.54 um	MEDIA: 22.39 um2
ARH12	22.11 um	DESV. STANDAR: 1.03
ARH14	21.52 um	ERROR STANDAR: 0.59

FACTOR FORMA

ARH11	0.938	MEDIA: 0.7597
ARH12	0.877	DESV. STANDAR: 0.25
ARH14	0.464	ERROR STANDAR: 0.144

ANIMALES DE 15 SEMANAS

GRUPO HTA TTO

EPENDIMO CAUDAL

AREA NUCLEAR

ARH21	32.55 um2	MEDIA: 28.07 um2
ARH22	32.92 um2	DESV. STANDAR: 8.07
ARH23	18.76 um2	ERROR STANDAR: 4.66

PERIMETRO NUCLEAR

ARH21	21.78 um	MEDIA: 20.69 um
ARH22	21.14 um	DESV. STANDAR: 1.36
ARH23	19.17 um	ERROR STANDAR: 0.78

FACTOR FORMA

ARH21	0.905	MEDIA: 0.749
ARH22	0.844	DESV. STANDAR: 0.219
ARH23	0.498	ERROR STANDAR: 0.12

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

A-PESO

En nuestro trabajo, detectamos que en todos los grupos hay una ganancia ponderal relacionada con la edad. Además, las ratas control tratadas con captopril, pesaron más que las ratas control no tratadas. Asímismo, las ratas controles ganaron más peso con la edad que las ratas hipertensas, tanto tratadas como no tratadas.

Según los autores Hyde y Miselis (1983) y Kroke (1998), la regulación del peso corporal y el control de la ingesta de alimento dependen de las lesiones en el AP e involucran componentes adyacentes del NTS. Una lesión de esta área produce un inmediato período de extrema hipofagia y pérdida de peso (Gross, 1987). El AP y el subnúcleo comisural del NTS (scNTS) reciben importantes proyecciones sensitivas viscerales de los órganos abdominales y si se produce una lesión que destruya esta área, es probable que la pérdida de sensación visceral y las proyecciones interactivas del AP contribuyan a la hipofagia (Gross, 1987; Kroke, 1998). Además, en las ratas con lesión en el AP y NTS, hay una tendencia general hacia la sobreingesta de agua mediada por la angiotensina II, (Eng y Miselis, 1981). Como hemos mencionado, la excesiva ingesta de agua se debe a la pérdida renal primaria, y la respuesta a la angiotensina II pone de manifiesto la importancia de la interconexión del circuito visceral de los órganos circunventriculares. La angiotensina II circulante estimula la acción de beber porque actúa sobre el OSF (Simpson, 1981) y lesiones en el AP o NTS causan una elevada respuesta a la bebida por la angiotensina II. Así, la lesión en estas zonas implicaría el daño a otros neurocircuitos sensitivos y se implicarían otros sistemas funcionales (Gross, 1987). De esta forma, nuestro trabajo está en concordancia con los hallazgos de estos autores, ya que las ratas hipertensas tendrían alterada esta

interconexión de los neurocircuitos sensitivos, si consideramos que el OSF de dichas ratas estuviera lesionado.

Nosotros pensamos que las ratas controles tienen un peso mayor que las ratas hipertensas debido al cambio metabólico que experimentan las ratas hipertensas en cuanto a la homeostasis del volumen celular y a la cantidad de sodio que ingieren, ya que dichas ratas presentan gran avidez por la sal (Castañeyra-Perdomo et al, 1997).

B-BEBIDA.

El AP es una estructura circunventricular a la que se le han atribuído numerosos procesos fisiológicos, entre otros, el control de la presión sanguínea (Joy, 1971; Barnes et al, 1979; Fink et al,1986; Fink, 1997); la osmorrecepción sanguínea (Andrew y Taylor, 1958; Ferrario, 1987; Ferguson et al,1994); el control de la ingesta de sodio y alimentos (Edwards y Ritter, 1981; Hyde y Miselis, 1984; Miselis, 1986) y el control de la función renal (Wise y Ganong, 1960; Snyder y Sutin, 1961; Hyde y Miselis, 1985; Miselis et al, 1986; Gross, 1987; Bishop et al, 1990).

El AP es un órgano muy vascularizado que dispone de un sistema porta de capilares o elementos vasculares sanguíneos semejantes a sinusoides. Carece de una verdadera barrera hematoencefálica (Dempsey, 1973) ya que el epéndimo que bordea el AP es bastante débil y su red capilar tiene numerosas fenestraciones, careciendo de uniones estrechas entre sus células endoteliales. Todo esto da lugar a que los elementos neurales tengan acceso a factores circulantes y a que el fluído cerebroespinal pueda alcanzar facilmente su interior (Krisch et al, 1978; Gotow y Hashimoto, 1979; Ferrario, 1986; Osborn, 2000).

El AP mantiene firmes relaciones con los componentes del complejo vagal-dorsal a través de conexiones neuronales, (Morest, 1969; van der Kooy y Koda, 1983; Shapiro y Miselis, 1985; Boissonade et al, 1996), con el núcleo parabraquial lateral (Loewy y Burton, 1978; De Wildt, 1994), con los grupos de células catecolaminérgicas del sistema tegmental lateral y dorsal (Shapiro y Miselis, 1985) y con el hipotálamo (Hosoya y Matsushita, 1981; Shapiro y Miselis, 1985; Krstew, 1998). Esta conectividad neural coloca claramente al AP dentro de una red de estructuras cerebrales que intervienen en las funciones viscerales. (Miselis, 1986; Osborn, 2000). Como mencionamos con anterioridad, el AP proyecta al núcleo del tracto solitario (NTS), el cual recibe las aferencias glosofaríngeas y vagales viscerales. El subnúcleo dorsolateral del NTS parece ser la zona terminal homóloga para aferencias barorreceptoras, y recibe numerosas proyecciones del AP (Barnes y Ferrario, 1981; De Wildt, 1994; Boissonade et al, 1996; Krstew, 1998). Así pues, hay una firme interacción entre el AP y las proyecciones aferentes viscerales indicativas de la modulación de la información visceral (Barnes y Ferrario, 1981; Kalia y Mesulam, 1982; Contreras et al, 1982; Bishop, 1990). El AP, y en general el CVD, tienen algunas vías neurales y humorales comunes con el vago e hipotálamo, lo que sugiere que la conexión neural entre el AP, los restantes núcleos del CVD y el núcleo parabraquial lateral (NPL), sirve para definir el comienzo de un neuroeje visceral (van der Kooy et al, 1984; Boissonade et al, 1996). El NPL proyecta a algunos lugares del prosencéfalo que forman parte del sistema límbico, hipotálamo, tálamo y corteza, los cuales van a estar involucrados en la modulación de la glándula pituitaria, sistema autónomo y el comportamiento (Miselis, 1986; De Wildt, 1994). La lesión en el AP y en el NTS (subnúcleo comisural) causa algunos cambios permanentes en el balance de los fluídos (Hyde y Miselis, 1983, 1984; Osborn, 2000). Inmediatamente después de la lesión hay un breve período de hipodipsia. La ingesta reducida de

agua favorece una hiperdipsia mantenida y leve, la cual es secundaria a la pérdidad urinaria de agua. Las ratas lesionadas presentan una pérdida continua de orina cuando el acceso a la toma de agua se prolonga 24 horas en aquellas pruebas de total deprivación (Hyde y Miselis, 1985; Osborn, 2000). Otros trabajos han demostrado que la leve hiperdipsia está también presente en ratas expuestas a yugo alimentario, lo que indica que la alteración del fluído corporal puede ser consecuencia de la subalimentación y/o pérdida de peso corporal (Flyn et al, 1985; Kroke, 1998). Por otro lado, las ratas con lesión en el AP y en el NTS responden bebiendo excesivamente, en respuesta a cambios agudos del balance de agua, como la respuesta a la angiotensina II, hipovolemia (Edwards y Ritter, 1982), deprivación de agua durante la noche y deshidratación intracelular (Hyde y Miselis, 1984). En el caso de los animales lesionados sometidos a deprivación de agua durante la noche, la pérdida renal de agua es excesiva y las ratas lesionadas no mejoran la reducción de su balance negativo de agua (Hyde y Miselis, 1984; Hasser 2000).

Los trabajos de Nishida y colaboradores (1997) en conejos, sugieren que el AP, por la acción de la arginina-vasopresina (AVP) a largo plazo, aumenta la retención de agua y mantiene la bradicardia, ya que la AVP interacciona con el sistema nervioso central, vía área postrema, suprimiendo el estímulo renal simpático, y si este efecto simpático-inhibitorio dura mucho tiempo, se incrementa la salida urinaria por la supresión de la salida neurogénica de sodio y agua.

Si se inyecta solución salina hipertónica a las ratas lesionadas, éstas responden a la deshidratación celular, con un aumento rápido en la ingestión de la bebida, continuando así durante 8 horas, pero luego se compensa bebiendo menor cantidad durante las siguientes 16 horas en comparación con los animales control. La excesiva ingesta de agua inicial no puede ser explicada por la excesiva duración de la condición hiperosmótica dada por la retención renal de sodio. Las ratas controles y las lesionadas excretan la carga de sodio en la misma proporción

durante las primeras 8 horas, sin embargo, en las siguientes 16 horas las ratas lesionadas son más natriuréticas que las ratas controles (Miselis et al, 1986; Hasser, 2000).

Bajo condiciones de acceso al agua y a solución salina ad libitum, las ratas con el AP lesionadas tienen una excesiva ingesta de sal (Hyde y Miselis, 1984; Contreras y Stetson, 1981; Hasser, 2000). Esto aparece secundario, nuevamente, a la pérdida renal de sal, debido a la continua natriuresis de las ratas lesionadas cuando se sometieron a nulo acceso de agua o solución salina (Hyde y Miselis, 1984). El AP y las terminaciones aferentes periféricas, actúan como importantes receptores para reducir la pérdida renal (Gross, 1987) ya que con respecto a los fluídos, hay una tendencia general hacia la excesiva respuesta de las ratas con lesión de AP o de NTS (subnúcleo comisural), presentando leve polidipsia, sobreingesta de agua mediada por la angiotensina II y deshidratación intracelular. Sin embargo, la respuesta a la angiotensina II es un buen ejemplo de sobreingesta que pone de manifiesto la importancia de la interconexión del neocircuito visceral de los OCVs.

Por otro lado, lesiones del AP y del NTS causan una elevada respuesta a la bebida por la angiotensina II. En estos lugares, el NPL puede antagonizar los efectos de la angiotensina II sobre la bebida, los cuales son mediados por el OSF, ya que se conoce que la angiotensina II circulante estimula la acción de beber porque actúa sobre el órgano subfornical (Simpson, 1981; Bishop, 1990) y que las proyecciones eferentes del OSF son las mediadoras de la respuesta, por lo que, microtransecciones de estas proyecciones, eliminan la respuesta de beber ocasionada por la angiotensina II (Eng y Miselis, 1981; Bishop, 1990). Así pues, el daño causado por la lesión del AP/NTS a otros neurocircuitos sensitivos trae consigo implicaciones que involucran a otros sistemas funcionales (Gross, 1987; Osborn, 2000).

El AP proyecta eferencias al NTS, y las neuronas de éste proyectan directamente al OSF (Tanaka y Seto, 1988; Krstew, 1998). Más de las dos terceras partes de las neuronas que proyectan al OSF en la región del NTS, responden a la activación baroreceptora, y estas neuronas pueden actuar transmitiendo la información baroreceptora periférica al OSF (Ferguson y Renaud, 1984; Krstew, 1998). Así, las vías directas desde el NTS al OSF juegan un papel importante en la regulación cardiovascular y el balance corporal de fluídos (Tanaka y Seto, 1988; Osborn, 2000). Tanto la información neural como la humoral son probablemente procesadas en el OSF durante el déficit de agua y el balance electrolítico, y esto tiene lugar gracias a los impulsos desde osmoreceptores y baroreceptores (Kadekaro y Gross, 1985; De Wildt, 1994).

La angiotensina II produce respuestas eléctrica, dipsogénica, presora y hormonal desde el OSF (Fitzsimons, 1979; Knepel et al, 1982; Li y Ferguson, 1993). Estos efectos se transmiten por un circuito de estructuras cerebrales que tienen conexiones con el OSF, y tal estímulo tiene como resultado el establecimiento de la homeostasis de fluídos a través de una respuesta cerebral que consiste en estimular la sed, aumentar el apetito por la sal, excretar vasopresina y adrenocorticotropina e inhibir la pérdida de fluídos por el riñón y vascularización periférica (Fitzsimons, 1979; Simpson, 1981;Knepel et al, 1982; Li y Ferguson, 1993; Hasser, 2000). Así pues, en condiciones de deshidratación, las células en el OSF y en el AP, captan señales periféricas tales como el incremento de los niveles de angiotensina II y la hipertonicidad plasmática, induciendo la sed, el apetito de sodio y la secreción de vasopresina a través de un elaborado circuito neural que conecta los sistemas motor y límbico, los núcleos viscerales sensoriales, la región preóptica, el hipotálamo, el tronco del encéfalo y la médula espinal. Ambas estructuras pueden afectar los centros autónomos para modular la inervación simpática de los vasos periféricos (Simpson, 1981; Swanson y Mogeson, 1981; Miselis et al, 1987; Hasser, 2000).

Junto a los estudios bioquímicos e inmunocitoquímicos que han establecido la existencia de muchas sustancias en el AP, algunos estudios electrofisiológicos han demostrado que muchos de estos compuestos como la angiotensina II o la vasopresina, cuando se inyectan iontoforéticamente tienen efectos excitatorios sobre las neuronas del AP (Carpenter et al, 1983).

El componente más importante, involucrado en los procesos que regulan el balance de fluídos, es el agua. Los solutos disueltos en el agua, también son esenciales porque contribuyen en los mecanismos de distribución del agua entre los diferentes compartimientos corporales. El sodio es el soluto iónico más esencial y su concentración en el fluído extracelular determina la distribución del agua entre el compartimiento celular y extracelular. El potencial que existe a nivel de la membrana plasmática se mantiene mediante una bomba Na^+ -K^+, gracias a la ATP-asa de sodio-potasio de la membrana plasmática de todas las células animales, que utiliza la energía de hidrólisis del ATP para bombear sodio hacia el exterior y potasio hacia el interior de la célula. Esta ATP-asa ayuda a controlar el volumen celular mediante el control de la concentración de solutos dentro de las células y por consiguiente, controlar las fuerzas osmóticas que tenderían a hacer que la célula se hinchara o se retrayese (Alberts et al, 1997). Como la perfusión local de los tejidos corporales está directamente influenciada por el balance total de los fluídos, los animales tienen numerosas estrategias para distribuír las alteraciones en el balance de agua y sodio. En el caso de déficit de agua y/o sodio, se ponen en marcha tres mecanismos simultáneamente para restaurar la homeostasis (Navarro, 1996). En primer lugar, se activan los mecanismos para reducir al mínimo las pérdidas desde el riñón y la piel. En segundo lugar, los cambios hemodinámicos intervienen optimizando la distribución del agua disponible a los tejidos críticos. En tercer lugar, se movilizan los mecanismos conductuales de la sed y el apetito

por la sal para restablecer el agua y el sodio. De la misma forma, en condiciones de exceso de agua y sodio, la conducta normal en la bebida y en la ingesta de sal está inhibida, la respuesta hemodinámica redistribuye los fluídos y tiene lugar un aumento de la excreción renal de agua y sodio (Johnson y Gross, 1993; Hasser, 2000).

En varios experimentos, se observa cómo la administración periférica de un IECA aumenta tanto la ingesta de agua como de salino en las ratas control (Elfont et al, 1984; Moe et al, 1984). Thunhorst y colaboradores, (1987) demuestran que durante el tratamiento con captopril, cuando el único fluído disponible es el agua, las ratas control beben más agua, y cuando las ratas disponen de agua y salino, beben más salino.

En nuestro estudio, al igual que Thunhorst y a diferencia de los autores anteriores, tras el tratamiento con captopril, no observamos diferencias en el consumo de agua de las ratas control pero sí en el consumo de salino que aumenta significativamente. Esta discrepancia se explica porque desde el inicio del experimento, nuestros animales tenían libre acceso a ambos fluídos. También consideramos la posibilidad de que el aumento del consumo de salino pueda deberse a un intento del organismo por compensar la pérdida de potasio por el riñón originada por el tratamiento con captopril, coincidiendo en esto con los trabajos de Elfont y colaboradores (1984).

Thunhorst (1987) observa durante el tratamiento con captopril, cómo las lesiones del OSF incrementan la ingesta de salino pero no la de agua. Así, la angiotensina II actuaría en el OSF para producir la ingesta de agua pero no de salino. Altas concentraciones de ECA en el OSF convierten a la angiotensina I en angiotensina II, la cual provoca la acción de beber mediante la estimulación de los receptores de angiotensina II (Thunhorst et al, 1987), por lo tanto, ante el

captopril periférico, la ECA en el OSF es responsable de la acción de beber (Thunhorst et al, 1989).

En nuestro estudio, las ratas genéticamente hipertensas, independientemente del tratamiento, bebieron menor cantidad de agua y mayor cantidad de salino que las ratas control, lo que apoya los estudios anteriormente citados que presentan al OSF como la localización crítica para la ingesta de agua pero no de salino. La diferencia en el consumo de salino entre el grupo de las hipertensas tratadas y las no tratadas a favor de las primeras, al igual que ocurría en las ratas controles, se debería a la hipokaliemia provocada por el tratamiento con captopril y a la probable interrupción del circuito angiotensinérgico entre el OSF y el NPV con lo que se reduciría la liberación de vasopresina.

Tanaka y Nomura (1993) proponen que la respuesta de bebida que se ocasiona al activar las neuronas del OSF por la administración local o sistémica de angiotensina II está mediada, en parte, por la vía neural angiotensinérgica desde el OSF al núcleo preóptico medial. Estudios que utilizan técnicas inmunohistoquímicas, revelan proyecciones angiotensinérgicas desde el OSF al núcleo preóptico medial (Lind et al, 1984; 1985; Boissonade, 1996), un lugar, como ya hemos visto, involucrado en el control de la conducta de bebida ante la angiotensina II sistémica (Lind y Johnson, 1982; Gardiner y stricker, 1985; Hasser, 2000). Una parte de las neuronas del núcleo preóptico medial, que tiene proyecciones ascendentes al núcleo paraventricular, puede recibir impulsos inhibidores desde baroreceptores periféricos y desde centros troncoencefálicos como el AP y el NTS, estructuras altamente implicadas en la regulación cardiovascular y presoceptiva (Castañeyra-Perdomo et al, 1992; Bañuelos-Pineda, 1993). De esta forma, los impulsos neurales desde baroreceptores periféricos y elementos osmosensibles pueden converger en el núcleo preóptico medial que proyecta al núcleo paraventricular, lo que apoya la descripción realizada

por Tanaka (1993) acerca del papel integrador de estas neuronas en la regulación de la liberación de vasopresina desde la pituitaria posterior.

La evidencia histoquímica demuestra la existencia de conexiones neurales directas entre el AP y neuronas del núcleo supraóptico que secretan vasopresina. Estos hallazgos neuroanatómicos confirman estudios morfológicos previos (Shapiro y Miselis, 1985; Tribollet et al, 1985; Krstew, 1998) que muestran que proyecciones eferentes del AP, conectan directamente neuronas neurosecretoras magnocelulares del hipotálamo anterior, lo que sugiere que esta vía formaría parte del sistema que controla la homeostasis de los fluídos en las ratas (Iovino et al, 1988; Osborn, 2000).

En nuestro trabajo, la menor ingesta de agua y el mayor apetito por la sal de las ratas hipertensas se debería también a una interrupción de esta vía angiotensinérgica, entre el OSF y el núcleo preóptico medial, con la consiguiente disminución de los impulsos neurales hacia el núcleo paraventricular y, por lo tanto, la alteración de la síntesis de vasopresina.

Como ya se ha mencionado, la angiotensina II de origen periférico estimula los receptores en el sistema nervioso central para la iniciación de reacciones compensatorias a las pérdidas de líquidos. El AP es un receptor importante en muchas especies, pero tiene una menor importancia en la rata (Simpson, 1981; Krstew, 1998; Matsumura, 1999). En este animal, el OSF parece ser el lugar donde se encuentran los receptores angiotensinérgicos para la angiotensina circulante (Lind y Johnson, 1982). Algunos autores han establecido que la inyección de angiotensina II produce cambios en la actividad neuronal en el AP de gatos (Borison et al, 1975; Stebbins, 1998) pero no interfiere en la actividad de las neuronas del AP de la rata (Brooks et al, 1983; Hasser, 2000).

Otros trabajos sugieren que la angiotensina II es una hormona que influye en la generación del apetito por la sal. Además, los niveles de angiotensina II están altos durante el déficit de sodio y las infusiones de angiotensina II tanto periféricas (Findlay y Epstein, 1980; Hasser, 2000) como centrales (Bryant et al, 1980, Hasser, 2000) causan apetito por la sal. Por otro lado, dosis de mineralocorticoides insuficientes para producir apetito por la sal, son potenciadas con bajas dosis de angiotensina II (Fluhart y Epstein, 1983; Hasser, 2000). La aplicación de saralasina, un antagonista de la angiotensina II, y captopril (Buggy y Jonklaas, 1984; Weiss et al, 1986,) en los ventrículos cerebrales puede reducir el apetito por la sal.

Nuestros resultados muestran cómo la ingesta crónica de salino no sólo no desciende sino que aumenta en ambos grupos de ratas hipertensas. Si consideramos que los animales hipertensos actúan como si el OSF estuviera lesionado o alterado en su función, ya que se produce una modificación del área nuclear (Castañeya-Perdomo et al, 1993), este núcleo no mediaría los efectos de la angiotensina II sobre el apetito por la sal directamente, sino que tendría lugar a través de sus conexiones neurales angiotensinérgicas, en particular con el NPV. Nuestros resultados irían a favor de la hipótesis formulada por Iovino y Steardo (1984), dado que, si consideramos que el OSF está lesionado, los niveles de vasopresina estarían mantenidos por la angiotensina II central que actuaría directamente sobre el NPV. Por otro lado, como mencionamos anteriormente, la angiotensina II es un factor que contribuye en la generación del apetito por la sal e infusiones de angiotensina II, tanto periféricas como centrales (Findlay y Epstein, 1980; Bryant et al, 1980) causan apetito por la sal. Sin embargo, no hay evidencias de que el OSF medie estos efectos de la angiotensina II circulante o central sobre el apetito por la sal; las lesiones en el OSF no afectan a la ingesta de sal sino a la excreción de sodio y potasio. Ratas con lesiones del OSF excretan más electrolitos que las ratas control durante la

rehidratación después de 24 horas de deprivación de agua y cuando hay salino disponible, después de la deprivación de agua, estos animales tienen una mayor excreción de sodio que los controles. Esto sugiere que el OSF participa en el control urinario del balance electrolítico, lo que concuerda con el papel del OSF en el mantenimiento del volumen extracelular (Simpson et al, 1978; Thunhorst et al, 1987; 1990). Así pues, nuestros resultados se explican apoyando las observaciones de estos últimos, de esta forma, las ratas hipertensas tendrían el OSF lesionado, por lo que excretarían más electrolitos que las ratas control e intentarían compensarlo consumiendo más cantidad de salino.

A las 10 y 15 semanas de edad, ambos grupos de ratas controles bebieron mayor cantidad de agua que las ratas hipertensas, tratadas y no tratadas. Esto también apoya los resultados de Thunhorst (1990) y Simpson (1978). Por el contrario, los animales hipertensos consumieron mayor cantidad de salino que los controles. El grupo control no tratado consumió más agua que salino, mientras que el grupo control tratado bebió la misma cantidad de ambos fluídos; así, el grupo control tratado consumió más salino en comparación con el control no tratado. Estos resultados apoyan los trabajos de Elfont, Moe y colaboradores. (1984), en los que observan que la administración de un IECA aumentaría la ingesta de agua y de salino en ratas control.

C-TENSIÓN ARTERIAL

La angiotensina II cerebral, parece trabajar en concierto con el sistema periférico renina-angiotensina para regular la presión sanguínea y la homeostasis de fluídos (Fink et al, 1986; Ferrario, 1987; Gross, 1987; Ferguson et al, 1994; Stebbins, 1998). Como mencionamos anteriormente, tanto en la periferia como en el sistema nervioso central, la angiotensina II actúa a

través de receptores de membrana, y son los órganos circunventriculares los sensores neurales para la angiotensina II de la sangre (Fink, 1997). Los receptores de la angiotensina II de los órganos circunventriculares, tales como el AP o el OSF, son sensibles a los péptidos circulantes y a los de localización central, mientras que aquéllos en otras áreas cerebrales que se encuentran dentro de la barrera hematoencefálica, sólo pueden ser estimulados por angiotensina II endógena cerebral. La administración de angiotensina II, central y periférica, incrementa la secreción de la vasopresina. Si se administra centralmente angiotensina II, tiene lugar el estímulo de la secreción de vasopresina desde la hipófisis posterior (Castren y Saavedra, 1989; Stebbins, 1998).

Uno de los procesos fisiológicos que se le han atribuído al AP es el del control de la presión sanguínea (Joy, 1971; Barnes et al, 1979; Ferrario, 1987; Fink, 1997). Además, al no existir una barrera celular entre el LCR ventricular y el parénquima del AP (Torack y Finke, 1971; Gotow y Hashimoto, 1979; Ferrario, 1987), es posible que elementos neuronales u otros elementos celulares del AP, estén influenciados por las sustancias libres en sangre y, probablemente, por sustancias disueltas también en LCR subaracnoideo (Leslie, 1986; Stebbins et al, 1998). Así, las sustancias encontradas en el AP incluyen un gran porcentaje de productos neurotransmisores y neuromoduladores como la serotonina (Newton et al, 1983), enzima limitante de la síntesis de noradrenalina (Armstrong et al, 1981), encefalinas (Newton et al, 1983), neurotensina etc. Por otro lado, junto a los estudios bioquímicos e inmunocitoquímicos que han establecido la existencia de muchas de estas sustancias en el AP, algunos estudios electrofisiológicos han demostrado que cuando se inyectan algunos compuestos sobre las neuronas del AP, se producen efectos excitatorios sobre ellas. Estos compuestos incluyen la noradrenalina, la serotonina, la neurotensina, la leu-encefalina, el polipéptido intestinal vasoactivo, la sustancia P, el glutamato, la histamina, la dopamina, la apomorfina, la

angiotensina II y la vasopresina (Carpenter et al, 1983). Algunos autores han establecido que la inyección de angiotensina II produce cambios en la actividad neuronal del AP en gatos (Borison et al, 1975) pero carece de efecto sobre la actividad de las neuronas del AP de rata (Brook et al, 1983). En concordancia con estos estudios electrofisiológicos, otros autores refieren que el AP media los efectos cardiovasculares de la angiotensina II en el gato, pero no en la rata (Simpson, 1981).

En el perro, la angiotensina II circulante aparentemente obliga al AP a generar una respuesta en la presión (Gildenberg et al, 1973; Brook, 1983; Fink, 1997) que es mediada por una vía simpática (Ferrario, 1980). En la rata, la destrucción del AP no elimina el efecto sobre la presión mediada centralmente por la angiotensina II (Fink, 1986), pero reduce la fase crónica de la presión sanguínea elevada, en respuesta a la continua administración de angiotensina II (Fink et al, 1986). Asímismo, el AP tiene una importante proyección a la homóloga área barorreceptora del NTS (Shapiro y Miselis, 1985) y al núcleo motor que inerva al corazón, por lo que es un receptor para los factores circulantes que afectan a la presión sanguínea.

El punto donde opera el barorreflejo arterial parece ser un factor importante, implicado en la determinación del flujo simpático. La acción de la angiotensina II de incrementar el flujo del sistema nervioso simpático, relacionado con la presión sanguínea, puede contribuír a elevar la presión arterial durante la hipertensión, al igual que a mantener la presión arterial durante estadíos de sodio bajos. En la mayoría de los casos, cuando hay concentraciones elevadas de angiotensina II periférica son dependientes del área postrema. Aunque se ha definido el mecanismo central del barorreflejo arterial para diferentes presiones, el área postrema parece suministrar un mecanismo aparte, según el cual los factores humorales podrían modular los puntos de acción del barorreflejo arterial. (Bishop y Sanderford, 2000).

La inyección intravenosa de angiotensina II aumenta el reflejo barorreceptor en ratas espontáneamente hipertensas (SHRs). Para investigar el papel del AP en la modulación del control barorreflejo por el receptor AT1, se experimentó en ratas espontáneamente hipertensas, y con el AP lesionada y sin lesionar, el efecto de la inyección intravenosa de CV-11974 (antagonista del receptor AT1), en el control barorreflejo de la actividad simpática renal y el latido cardíaco. La presión arterial fue similar en ambos grupos. Sin embargo, el latido cardíaco fue significativamente más bajo ($p<0.01$) en las SHRs con el área postrema lesionada que en las SHRs con el área postrema no lesionada. La inyección del antagonista del AT1 disminuyó la presión arterial significativamente; sin embargo, no cambió el latido cardíaco ni la actividad simpática renal en ambos grupos. Los cambios reflejos en la actividad simpática renal y en el latido cardíaco se lograban por la inyección intravenosa de fenilefrina o sodio, antes y después de la inyección del antagonista, el cual incrementaba el control barorreflejo de la actividad simpática renal y también el latido cardíaco en las SHRs no lesionadas. De todas formas, el CV-11974 no logró alterar la sensibilidad barorrefleja en las SHRs con el área postrema lesionadas. Esto sugiere que el AP no juega un papel crucial en el mantenimiento de la presión sanguínea alta en SHRs adultas, y que la mejora del control barorreflejo de la actividad simpática renal y del latido cardíaco por CV-11974 intravenoso, es mediado vía AP en SHRs (Matsumura et al,1999).

Como ya hemos visto, el OSF es también uno de los lugares más importantes para la angiotensina II circulante o cerebral (Simpson, 1981; Fink, 1997), es rico en receptores para la angiotensina II (Saavedra et al., 1986) y participa en el aumento de la presión sanguínea en respuesta a dicho neurotransmisor (Lind et al, 1983; Fink, 1997). Además, la administración

periférica de angiotensina II puede incrementar la presión sanguínea a través de la estimulación de los receptores de angiotensina II del OSF (Simpson, 1981), o aumentar la actividad metabólica del OSF, medida por la tasa de utilización de la glucosa (Gross et al, 1985). Las lesiones en el OSF reducen la hipertensión inducida por la angiotensina II, cuando este péptido se inyecta agudamente (Mangiapane y Simpson, 1980; Fink et al, 1997). Así pues, el AP y el OSF son dos de las estructuras cerebrales más relacionadas con la angiotensina II, la angiotensina I, la vasopresina y la ECA y es por lo que se las relaciona con la regulación cardiovascular y la presión arterial.

Nuestros resultados, en lo que se refiere a la presión sistólica, son comparables a los obtenidos por Webb et al, (1986) en ratones y por Nazarali et al, (1989) en ratas. Estos autores también diseñaron cuatro grupos: control no tratados (CONTROL), control tratados (CONTROL TTO), hipertensos no tratados (HTA) e hipertensos tratados (HTA TTO), a los que se les administró un IECA, captopril en el primer caso y enalapril en el segundo, en el agua de bebida durante un período variable en cada caso. La tensión arterial sistólica medida con una técnica indirecta, es significativamente mayor en los animales hipertensos tratados y no tratados que en ambos grupos control al comienzo del tratamiento. Al final del mismo, la tensión arterial sistólica del grupo hta tto disminuye hasta acercarse a la de los grupos control, mientras que la del gupo hta no tto continúa aumentando con diferencias significativas con respecto al grupo tratado. El tratamiento no alteró significativamente la tensión arterial en los animales control.

A diferencia de nuestros resultados y de los dos trabajos anteriormente citados, Grichois y colaboradores (1992) encuentran diferencias significativas ($p<0.05$) entre ratas WKY no tratadas y tratadas, de forma que las WKY que recibieron tratamiento con enalapril en el agua de bebida tuvieron una tensión arterial, tanto sistólica como diastólica, menor y una mayor

frecuencia cardíaca. Los autores lo explican por la reducción del flujo simpático al músculo liso vascular.

En lo que se refiere a las ratas genéticamente hipertensas (SHR), nuestro experimento concuerda básicamente con el de otros autores. Asi, Velkov y colaboradores (1986) tratan con captopril, intraperitonealmente, a dos grupos de ratas SHR de 4 y 32 semanas durante 77 y 23 días respectivamente. En ambos grupos, tanto la tensión sistólica como la diastólica disminuyen de forma significativa con respecto al grupo no tratado. Este descenso es más acusado en la tensión diastólica (36%) en comparación con la tensión sistólica (27%), un hecho explicable por el mecanismo hipotensor del captopril que reduce el tono vascular. Tampoco encuentran diferencias significativas en lo que respecta a la frecuencia cardíaca.

De forma similar, Jablonskis y colaboradores (1992) encuentran que la presión arterial media, medida directamente, disminuye un promedio de 30 mmHg en SHR tratadas con enalapril intracerebroventricular durante 2 semanas que en las no tratadas. Shaver y colaboradores (1990) también obtienen una presión media significativamente menor cuando tratan, esta vez de forma aguda, con captopril intraperitoneal a ratas Long-Evans y Brattleboro.

Por lo tanto, según nuestros resultados y los de otros autores, vemos cómo el tratamiento, sobre todo crónico, con un IECA, fundamentalmente captopril y enalapril que han sido los más estudiados, e independientemente de la vía utilizada, es muy efectivo para disminuír la presión sanguínea en las ratas genéticamente hipertensas. Por el contrario, la tensión arterial no se ve modificada cuando se le administra el tratamiento a las ratas control. En nuestro estudio, la frecuencia cardíaca permanece más o menos constante en todos los animales, destacando la ausencia de taquicardia refleja a pesar de la disminución de las resistencias vasculares periféricas y de la presión sanguínea tras la administración del captopril. Como ya hemos visto, este

mantenimiento de la frecuencia cardíaca puede deberse a la disminución de la eficacia o a la anulación de la sensibilidad de reflejos barorreceptores (Guidicelli et al, 1985; Fink et al, 1997), a la venodilatación inducida por el captopril y/o a la modificación de la actividad parasimpática (Ajayi et al, 1985; Stebbins et al, 1998).

Como destacamos anteriormente, el número de receptores de angiotensina II del OSF está aumentado en ratas SHR no tratadas, y juegan un papel importante en la génesis de la hipertensión (Saavedra et al, 1986; Nazarali et al, 1989; Fink, 1997). El tratamiento con enalapril sistémico provoca la alteración de los receptores de la angiotensina II sólo en un área cerebral: el OSF de las ratas SHR, produciendo una profunda disminución (del orden del 50%) en su número, significativamente menor que en animales WKY normotensos. No hay cambios significativos en los receptores de angiotensina II tras el tratamiento con enalapril en ninguna área cerebral de las ratas WKY y en ninguna área cerebral de las ratas SHR que no sea el OSF, ni siquiera en el área postrema (Nazarali et al, 1989; Matsumura et al, 1999).

Todas estas observaciones implican al OSF y a los receptores de la angiotensina II de esta estructura, en el control central de la presión sanguínea. La hipertensión esencial podría tener su origen en el OSF con un aumento en el número de receptores para la angiotensina II. Los IECA, mediante la disminución del número de receptores centrales para la angiotensina II en el OSF, pueden reducir la respuesta central a la angiotensina II circulante en SHR. De cualquier modo, los mecanismos moleculares para esta disminución de los receptores de angiotensina II en el OSF de las ratas SHR tras el tratamiento con captopril no se conocen (Nazarali et al, 1989; Matsumura, 1999). Tras la administración de captopril, las ratas hipertensas de nuestro experimento ven reducida su área neuronal con respecto a las no tratadas. Estos resultados

pueden explicar la reducción del número de receptores centrales para la angiotensina II en el OSF provocado por el IECA.

Otros autores han estudiado la implicación del AP en la presión arterial y han sugerido que la extirpación del AP atenúa el desarrollo de la hipertensión en la rata, y esta atenuación puede ser atribuída al descenso del flujo simpático (Averill et al, 1996).

Por otro lado, la concentración sanguínea incrementada de angiotensina II en la hipertensión renovascular, eleva la presión sanguínea debido a la vasoconstricción mediada a través del AP y de las neuronas simpáticas premotoras de la médula ventrolateral-rostral (Fink, 1997).

Otros estudios ponen de manifiesto que la aminopeptidasa-A (enzima que rompe la angiotensina II en angiotensina III), se distribuye sobre todo en el área postrema, los plexos coroideos, la eminencia media, el núcleo supraóptico y el núcleo paraventricular. Así, hay una correspondencia entre la actividad de la aminopeptidasa-A y las ratas SHR en las que esta enzima es más activa, lo que sugiere que podría contribuír a la regulación de las funciones cardiovasculares por su habilidad para convertir angiotensina II en angiotensina III (Zini et al, 1997). La angiotensina III desempeña cierto papel en la secreción de aldosterona por parte de la corteza suprarrenal y posee cierta acción vasoconstrictora, aunque menor que la angiotensina II (Reaux et al, 1999). Así, los resultados encontrados por Zini y colaboradores (1997) señalan que la actividad de la aminopeptidasa A es más alta en las SHR que en las WKY y también es más alta en varios núcleos cerebrales implicados en la regulación de la presión sanguínea.

Otros autores sostienen que el AP, en estudios realizados en ratas, juega un papel importante en el mantenimiento de la presión sanguínea basal bajo condiciones normales, y que

este órgano es relevante en el mantenimiento de la presión sanguínea normal bajo condiciones estresantes tales como el frío (Quiam y Koon, 1998).

El AP de la rata parece ser un centro importante donde actúa la hormona gamma-2-melanocito estimulante, 2-MSH, (Yamazoe et al, 1984) y la inyección de dicha melanotropina en esta área, produce una disminución de la presión sanguínea y de la frecuencia cardíaca (De Wildt et al, 1994). Así pues, esta hormona produce un efecto hipotensor y bradicardia tanto si se inyecta en el pars commisuralis del NTS como en el AP, aunque las respuestas en esta última son máximas, sobre todo después de los 3 minutos (De Wildt et al, 1994).

Los trabajos de Osborn y colaboradores (2000) en ratas con el AP lesionada, sugieren que el AP es importante en el control del balance de sodio pero no en la presión arterial cuando la dieta en sal está incrementada. En cambio, durante estadíos de sodio bajos, la acción de la angiotensina II de incrementar el flujo del sistema nervioso simpático, relacionado con la presión sanguínea, puede mantener la presión arterial (Bishop y Sanderford, 2000). Cuando hay concentraciones elevadas de angiotensina II periférica, en la mayoría de los casos, es dependiente del AP ya dicho órgano parece suministrar un mecanismo separado, según el cual, los factores humorales puedan modular los puntos de acción barorefleja arterial (Bishop y Sanderford, 2000).

Hasser y colaboradores (2000) señalan que el AP hace de mediador de algunas acciones producidas por la angiotensina II y la arginina-vasopresina. La vasopresina parece actuar en el AP y causar inhibición simpática además de reducir la presión arterial.

Matsumura y colaboradores (1999) sugieren que el AP no juega un papel relevante en el mantenimiento de la presión sanguínea alta en SHR y que la mejora del control baroreflejo de la actividad simpática renal y del latido cardíaco, por inyección de antagonistas del receptor AT1,

es mediado vía área postrema en ratas SHR, ya que los antagonistas de AT1 no logran alterar la sensibilidad barorefleja en la rata SHR con el AP lesionada.

Los niveles de angiotensina I y la actividad de la renina plasmática, no difieren en las ratas SHR no tratadas en comparación con las WKY no tratadas. La disminución de la presión sanguínea en SHR como consecuencia del tratamiento con un IECA va asociado con un descenso significativo de la actividad de la ECA plasmática, un aumento de los niveles de angiotensina I en plasma y un aumento de la actividad de la renina plasmática (Unger et al, 1987; Zimmerman et al, 1987). La inhibición de la actividad de la ECA disminuye la conversión de la angiotensina I en angiotensina II. La disminución de la concentración plasmática de angiotensina II después del tratamiento con enalapril está bien documentada (Unger et al, 1983). Esta disminución de la angiotensina II reduce la vasoconstricción, con lo que desciende la presión sanguínea (Vallotton, 1987; Fink, 1997). Como la angiotensina II participa en la retroacción negativa inhibiendo la liberación de renina, una caída de sus niveles produce un aumento de la actividad renina plasmática y de la angiotensina I (Unger et al, 1983; Vallotton, 1987; Fink, 1997). Aunque se observan alteraciones bioquímicas periféricas similares en las ratas WKY tratadas, la presión sanguínea no se ve alterada, lo que indica la existencia de diferencias en los mecanismos reguladores de la presión sanguínea en las dos cepas (Nazarali et al, 1989). Estas observaciones concuerdan totalmente con las nuestras, de forma que la tensión arterial de las ratas control tratadas con captopril tampoco se ve modificada. Uno de estos mecanismos reguladores podría radicar a nivel central, en la conexión angiotensinérgica existente entre el OSF y el NPV que participa en la regulación de la síntesis y la liberación de la vasopresina y además, estar en

relación con los resultados de Hasser y colaboradores (2000) por los cuales, el AP media algunas acciones de la angiotensina II y de la arginina-vasopresina.

Los IECA pueden actuar de forma directa y localizada en el sistema renina-angiotensina (SRA) cerebral a nivel del OSF modulando directamente el número de receptores de angiotensina II o inhibiendo la formación local de angiotensina II. El OSF es rico en ECA (Saavedra y Chevillard, 1982). El ECA del OSF es accesible a inhibidores circulantes, y el tratamiento con captopril, a pesar de que no atraviesa la barrera hematoencefálica, inhibe el ECA en esta área que carece de la misma. Parte de la respuesta a la angiotensina II administrada periféricamente puede deberse a la acción central del péptido en los OCV (Gross et al, 1985; Simpson, 1981; Ferguson, 1994). La actividad del SRA central está aumentada en SHR (Ganten et al, 1983), mostrando una sensibilidad incrementada ante el aumento de la presión sanguínea producida por la administración de angiotensina II central (Hoffman et al, 1977; Fink, 1997) o periféricamente (Wright et al, 1988; Ferguson, 1994).

El efecto antihipertensivo de los IECA es mayor cuando se administran central que periféricamente (Stamler et al, 1980; Fink, 1997). Es posible que la administración intracerebroventricular de IECA, teniendo acceso a los OCV, reduzca la presión sanguínea en SHR disminuyendo la unión de la angiotensina II a sus receptores en el OSF, los cuales conectan esta estructura con áreas reguladoras de la presión sanguínea en el hipotálamo anterior. Diversos estudios muestran cómo la administración central de captopril atenúa significativamente el desarrollo de la HTA en SHR jóvenes (Berecek et al, 1983; Berecek et al, 1984; Okuno et al, 1983; Fink et al, 1997), mientras que la administración de la misma dosis periféricamente no tiene ningún efecto en el desarrollo de la HTA en SHR. Esto refuerza la idea de que el captopril tenga una acción central. Así, Berecek y Shier (1986) demuestran cómo la administración

crónica intracerebroventricular de captopril disminuye significativamente la presión arterial y la resistencia vascular renal en mayor medida, que cuando se administra intravenosa o se administra un vehículo intraventricular como control. Estas ratas muestran una atenuación de la reactividad vascular a los agentes vasoactivos: noradrenalina, vasopresina y angiotensina. La administración central de captopril no tiene ningún efecto sobre la presión arterial media de ratas WKY, ni hay diferencias en la resistencia vascular renal. Todos estos datos sugieren que el captopril a través de una acción central, inhibiendo el SRA cerebral a través de la conexión angiotensinérgica entre el OSF y el NPV, atenúa el desarrollo de la HTA. Al recibir el tratamiento a partir de las 8 semanas de vida, las ratas genéticamente hipertensas de nuestro estudio ven disminuído el desarrollo de la HTA pero no prevenido como describen Wu y Berecek (1993). Esta diferencia puede deberse a que estos autores ya comienzan el tratamiento en la fase intrauterina y lo prolongan hasta los 2 y 3 meses de edad.

También observamos cómo la administración crónica de captopril a ratas hipertensas causa un mayor descenso de la presión arterial que cuando se administra de forma aguda. Nuestros resultados muestran cómo la tensión arterial va disminuyendo de forma proporcional al aumento de la edad y, por lo tanto, a la cronicidad del tratamiento. Wallace y colaboradores (1985) opinan que esta circunstancia podría estar causada por diferentes mecanismos: procesos lentos secundarios a través de la acción central de la angiotensina II, baroreceptores actuando directamente o a través de la aldosterona para causar retención de sodio y agua, alterando estructural y progresivamente la pared del vaso y produciendo un aumento de la respuesta a agentes vasoconstrictores como la angiotensina II, a través de la bradiquinina y de la renina vascular.

Otros mecanismos que contribuirían al efecto antihipertensivo de los IECA independientemente del SRA podrían ser los sistemas vasoreguladores como el de las kininas (Thurston y Swales, 1978; Hilgers et al, 1993) y el de las prostaglandinas (Watanabe et al, 1985).

Kumagai y colaboradores (1992) sugieren que el control baroreflejo de la actividad simpática periférica y la frecuencia cardíaca están amortiguados en las ratas SHR, siendo significativamente menor que en ratas WKY, y que el tratamiento crónico oral con un IECA aumenta este control baroreflejo del flujo simpático en la hipertensión arterial. Así, la acción de los IECA disminuyendo la presión sanguínea en la hipertensión arterial, puede deberse a la reducción del flujo simpático vasomotor con una disminución de las catecolaminas circulantes. Las concentraciones plasmáticas reducidas de adrenalina y noradrenalina indican la supresión del neuroefector simpático y de la función simpático adrenal (Jablonskis et al, 1992). Por el contrario, Okuno y colaboradores (1983) no observan alteración en las catecolaminas plasmáticas tras la infusión central de captopril en ratas SHR. No hay razones aparentes que expliquen esta discrepancia. Las ratas SHR cuando son tratadas con captopril sufren una depresión de la reactividad a agentes vasoactivos y un aumento de la sensibilidad barorefleja. Esta depresión de la reactividad vascular es debida al efecto del tratamiento sobre la célula muscular lisa más que a la potenciación de la actividad barorefleja en estas ratas.

La administración central de captopril a WKY normotensas también produce una significativa depresión de la reactividad vascular a agentes vasoconstrictores, lo que sugiere que los cambios observados en SHR no son secundarios a la disminución de la presión sanguínea per se, sino parte del mecanismo antihipertensivo del captopril (Berecek y Shier, 1986).

La angiotensina II cerebral activa las neuronas simpáticas centrales y las células del ganglio simpático, aumenta la biosíntesis de catecolaminas, facilita la liberación de

neurotransmisores, inhibe la recaptación de noradrenalina y potencia la respuesta vascular a la misma. La angiotensina II, mediante una acción central, también ve estimulada la liberación de ACTH y vasopresina desde la pituitaria, péptidos que aumentan la sensibilidad de las células del músculo liso vascular a las catecolaminas. El captopril podría disminuír la presión sanguínea al atenuar la reactividad vascular mediante la inhibición de la liberación de ACTH y/o vasopresina mediada por la angiotensina II (Berecek y Shier, 1986).

Estudios in vivo e in vitro sugieren la existencia de una vía catecolaminérgica hipotalámica que contribuye a la liberación de vasopresina inducida por la angiotensina II. Los receptores AT1 de la angiotensina II y los adrenoreceptores alfla1 y alfa2 en el núcleo paraventricular contribuyen en orden secuencial a la secreción de vasopresina inducida por la inyección intracerebroventricular de la angiotensina II. Estudios inmunohistoquímicos han demostrado la presencia de receptores AT1 en el núcleo paraventricular cuya estimulación provoca la liberación de la vasopresina. Por otro lado, la activación de los alfaadrenoreceptores del núcleo paraventricular también estimula la liberación de vasopresina. La administración central de angiotensina II causa un aumento inmediato, específico y dosis-dependiente de la liberación de noradrenalina en el núcleo paraventricular que se correlaciona con un aumento de la presión arterial (Veltmar et al, 1992).

Hay autores que opinan que el núcleo paraventricular juega un papel crítico en la mediación central de los efectos de la angiotensina, en la homeostasis de los fluídos y en la regulación de la presión sanguínea, y que puede ser un posible candidato para integrar las señales neurales que controlan el efecto presor, la bebida y la liberación de vasopresina. Así, la microinfusión de angiotensina II en el núcleo paraventricular, aumenta la presión sanguínea y la bebida, y el pretratamiento con un antagonista específico de los receptores angiotensinérgicos

bloquea el aumento de la presión sanguínea inducido por la angiotensina II. Todo esto sugiere que esta respuesta depende de la activación de los receptores AT (Jensen et al, 1992; Osborn et al, 2000). La liberación de vasopresina sería consecuencia de la activación de la vía angiotensinérgica y catecolaminérgica existente de forma bidireccional entre el OSF y el NPV tras la unión de la angiotensina II a su receptor en el OSF por una parte, y de la unión de la angiotensina II a su receptor en el NPV por otra. Pensamos que en la región central existe una compleja red neuronal que desde el Complejo Vagal Dorsal, fundamentalmente presoceptivo y compuesto por el Area Postrema, Núcleo del Tracto Solitario y Núcleo motor dorsal del vago, se dirige mediante conexiones catecolaminérgicas hacia la región AV3V (región anteroventral del tercer ventrículo) y hacia el OSF, entre los cuales también existe una vía angiotensinérgica. A su vez, desde el OSF se dirigen proyecciones angiotensinérgicas hacia el NPV que controlaría la liberación de vasopresina. El circuito se cerraría con la retroacción inhibidora catecolaminérgica desde el NPV al OSF.

D-FRECUENCIA CARDÍACA

La variable frecuencia cardíaca no se vio afectada por la edad ni por el grupo estudiado, y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los cuatro grupos.

E-ANATOMÍA DEL ÁREA POSTREMA

El AP es un órgano circunventricular y su estructura es similar en todas las especies estudiadas (Leslie, 1986), aunque existen diferencias anatómicas de este órgano entre mamíferos

inferiores, tales como roedores y lagomorfos, y mamíferos superiores, como carnívoros y primates. En carnívoros y mamíferos superiores aparece como dos montículos de tejido muy vascularizado que protuye en la luz del cuarto ventrículo. Los dos montículos, uno a cada lado de la línea media, convergen caudalmente por una lámina muy fina de tejido unida en la parte ventral al óbex, formando la raíz de la extensión más rostral del canal central de la médula espinal. (Chernicky et al. 1980). En roedores y lagomorfos el AP forma un montículo único de tejido en posición medial sobre el canal central (Brizee y Klara, 1984).

El AP en la rata ocupa la parte inferior del óbex del 4º ventrículo donde se inicia el canal ependimario, y finaliza el 4º ventrículo. Los estudios sobre los aspectos y posibles subdivisiones del AP en las diferentes especies animales, hablan de la gran homogeneidad que tienen los diferentes componentes del AP y, por lo tanto, de la dificultad de hacer subdivisiones de ella (Leslie, 1986). Una de las clasificaciones ha sido hecha en la rata, atendiendo principalmente al componente ependimario, donde parece que se encuentran ciertas diferencias entre la parte rostral y caudal descrita por Torack y Fincke (1971). Pero en 1980, Chernicky y colaboradores, teniendo en cuenta la distribución de los diferentes componentes, el área postrema del perro fue subdividida en tres zonas, una zona dorsal, otra zona central o medial y una zona ventral. La zona dorsal contiene neuronas bipolares y multipolares, células gliales, elementos supraependimales y células ependimales escamosas sin cilios (Leslie, 1986). La zona central o medial tiene un alto número de neuronas multipolares, además posee gran cantidad de fibras aferentes y es origen de la mayor cantidad de fibras eferentes. Por último la zona ventral es la que limita con las regiones vecinas y está muy vascularizada (Leslie, 1986). Esta subdivisión fue hecha con respecto al eje dorsoventral (Chernicky et al, 1980). Las mismas subdivisiones se

resalizaron en el mono, el gato y la rata (Brizzee y Klara, 1984. Leslie 1986). En la rata, estas tres subdivisiones se confirman en la región más rostral del AP.

Nosotros hemos visto, en la rata, el AP como un centro único, a diferencia de lo que ocurre en carnívoros como el gato y en mamíferos superiores como el humano en los que se aprecian dos montículos, uno en el lado derecho y otro en el izquierdo (Brizee y Klara, 1984).

Nosotros pensamos que el AP de la rata, atendiendo a los ejes céfalo-caudal y dorso-ventral, puede ser dividida en dos regiones; región rostral, y región caudal, descripción que no coincide con la realizada por Brizze y Klara, en 1984, y la de Leslie en 1986. La región rostral destaca porque su componente ependimario, se encuentra localizado medialmente. Las células ependimarias presentan núcleos redondeados u ovalados, con varios nucleólos y algunos cilios. Las neuronas son medianas, con núcleo ovalado que posee un nucleólo prominente. El AP, además de los componentes neuronales y ependimarios, está ricamente vascularizada y se encuentra en ella una abundante cantidad de luces capilares tapizadas de endotelio, rodeadas de fibras nerviosas, así como de diferentes tipos de células de la glía (Shaver et al, 1991, Gross,1991). Esta parte vascular, fibrosa y de células gliales, se encuentra localizada fundamentalmente en las partes laterales. La parte posterior de la región rostral del área postrema posee un estrato neuronal que divide al AP en una zona dorsomedial de una abundante cantidad de células gliales, luces vasculares y fibras nerviosas, y otra zona ventromedial más rica en células ependimarias. En la región caudal del AP se observa que las neuronas son muy abundantes y ocupan la mayor parte de la misma, es decir, su zona central y dorsal. La zona más ventral de esta región, está ocupada por células ependimarias y la zona dorsal por fibras, vasos y células gliales.

Esta región caudal y la parte posterior de la región rostral, está recubierta por la membrana pial, por lo que la parte dorsal-caudal del AP no está tapizada por epéndimo sino por píamadre, lo que coincide con las descripciones de Leslie en 1986 para la rata, algo que no se aprecia en otras especies animales como el gato, perro, vaca... etc. en las que está recubierta por epéndimo (Castañeyra et al, 1992).

Así pues, podemos decir que el AP de la rata ha sido subdividida por Shaver y colaboradores (1991) atendiendo al eje rostrocaudal en tres subregiones; rostral, medial y caudal, y atendiendo al eje dorsoventral, la parte ventral se ha dividido en tres zonas, y las partes media y caudal, en cuatro zonas.

Como vemos, las tres subregiones establecidas para la rata en el eje rostro-caudal no coinciden con las dos subdivisiones hechas por nosotros para el AP de la rata, ya que nosotros hablamos de región rostral y caudal, e incluímos la región transicional en nuestra región rostral.

El componente neuronal del AP parece consistir en una única población de pequeñas neuronas. El soma neuronal tiende a ser pequeño, aproximadamente de 8 a 15um de diámetro y con pocas dendritas. Se aprecia un núcleo ovoide que contiene un nucleólo único; la membrana nuclear presenta profundas invaginaciones y solamente un fino borde citoplasmático rodea al núcleo. Los componentes citoplasmáticos incluyen pequeñas cantidades de gránulos de Nilss, abundantes cuerpos yuxtaglomerulares de Golgi y un número intermedio de otros orgánulos celulares (Chernicky et al, 1980). Los somas tienden a estar dispersos, principalmente de forma homogénea a través del parénquima del AP, si bien se ha publicado en el perro tres tipos diferentes de neuronas (Chernicky et al, 1980). Estos autores, con el método de Golgi Cox, describen unas neuronas bipolares, de 10 a 15 um de diámetro en una zona periventricular, neuronas estrelladas de diámetro similar en una zona central, y neuronas muy pequeñas de 5-8

um estrelladas, en la profundidad de la zona límite del AP que está en contacto con el núcleo del tracto solitario

Morest, en 1960, había utilizado técnicas parecidas para examinar el AP en el gato, el conejo, el ratón, el hamster y la chinchilla, y describió pequeñas neuronas en el NTS que enviaban arborizaciones dendríticas al AP. Un estudio con microscopía electrónica de estas neuronas, que se localizan en el subnúcleo gelatinoso del NTS (Gwyn y Wolstencroft, 1968), indica que su fina estructura es muy similar a las neuronas del AP (Leslie et al, 1982).

Nosotros, con microscopía óptica, hemos encontrado en el AP dos tipos neuronales tal y como describe Chernicky en 1980, acerca de las formas neuronales del AP; las de pequeño tamaño caracterizadas por un núcleo redondeado con un nucleólo prominente y las neuronas de mediano tamaño caracterizadas por un núcleo ovalado con un nucleólo también prominente, coincidendo en este caso, con la descripción de las neuronas del AP de cordero de Lucchi y colaboradores, (1989), en las que destaca la presencia de uno o dos nucleólos en el núcleo de las mismas, como mencionamos anteriormente. La región rostral del AP resultante de la división que hemos establecido en el AP de la rata, se caracteriza porque los componentes ependimarios se localizan medialmente. Las células ependimarias de la región rostral del AP tienen núcleos redondeados y las neuronas de esta zona son medianas y pequeñas. Además, hemos observado que es una zona muy vascularizada, sobre todo en los márgenes laterales.

En la región transicional del AP destacamos la presencia de un estrato neuronal que divide al AP en una zona dorsomedial que posee gran cantidad de luces vasculares, células gliales y fibras nerviosas, y otra zona ventromedial más rica en células ependimarias.

En la región caudal del AP, las neuronas son muy abundantes y ocupan la mayor parte de esta región, es decir, su zona central y dorsal. La zona más ventral está ocupada por células ependimarias.

Asímismo, hemos observado en los grupos experimentales de ratas, todos estos componentes sin variación aparente con respecto al grupo control. Cualitativamente, el AP de los grupos controles e hipertensos presenta una distribución similar de sus componentes: células gliales, fibras nerviosas, neuronas y vascularización similar, independientemente del tratamiento y de la edad estudiada, tal y como se describe para el OSF por Puchades-Company y colaboradores (1995).

Cabe destacar que en los cuatro grupos estudiados, las neuronas del AP en su región caudal se disponen formando un triángulo más reducido que las células de la región rostral del AP. Las neuronas de la parte caudal, aparecen más unidas unas con otras en contraste con las neuronas de la región rostral del AP. Las células del canal ependimario en la zona caudal, se distribuyen formando un círculo y se pierde la forma de cruz que caracteriza al epéndimo de la región rostral. Esto coincide con la descripción de Torack y Fincke (1971) a propósito de las diferencias encontradas en el canal ependimario de la zona rostral y de la zona caudal del AP.

F-ESTUDIO MORFOMÉTRICO.

En el humano, el AP aparece a las diez semanas de gestación (Castañeyra-Perdomo et al, 1992) y después del nacimiento, esta estructura está perfectamente desarrollada y no parece que involucione con la edad (Castañeyra-Perdomo et al, 1992). En el ratón, el AP también está perfectamente diferenciada durante la vida postnatal y no presenta signos de involución con la edad (Castañeyra-Perdomo et al, 1988). En la rata, el AP inmediatamente antes del nacimiento, a los 21 días de gestación, ha adquirido todas las características estructurales que son compatibles con su función.

Los resultados cariométricos obtenidos del AP de las ratas hipertensas y normotensas, tratadas y no tratadas, los hemos comparado con los trabajos precedentes realizados en nuestro departamento, porque comparan el mismo número de ratas, el tratamiento y las mismas condiciones de exposición y medidas. Estos trabajos previos están basados en el análisis cariométrico de diferentes núcleos del área hipotalámica, y en cada uno de ellos, se ha demostrado cambios morfométricos. Así, Castañeyra-Perdomo y colaboradores (1995) encontraron que, en la región rostral del órgano subfornical de la rata, el área nuclear y el perímetro nuclear disminuyen proporcional y significativamente con la edad en los cuatro grupos estudiados (control no tto, control tto, hipertenso e hipertenso tto), y unicamente las ratas hipertensas no tratadas ofrecen un área y un perímetro nuclear del OSF similar entre las diez y las quince semanas. En cuanto al factor forma, no encontraron variaciones importantes entre las edades estudiadas en los grupos analizados, exceptuando el grupo hipertenso no tto cuya forma nuclear era más irregular a las 10 semanas. Además del área, el perímetro y el factor forma, el

volumen global desciende proporcionalmente al aumentar la edad, de forma que el mayor tamaño del OSF corresponde a las ratas de menor edad, por lo que se concluye que el OSF es esencial en las primeras semanas de la vida, que es cuando se establecen los propios mecanismos reguladores de la actividad cardiovascular y del equilibrio hidrosalino hasta entonces realizados en parte por la madre, y que al nacer ya está perfectamente configurado tanto morfológica como funcionalmente (Castañeyra-Perdomo et al, 1993).

En nuestro estudio del AP en ratas, también hemos visto que el área nuclear y el perímetro nuclear de las neuronas de la región rostral, disminuyen proporcional y significativamente con la edad en los grupos de ratas controles y controles tratadas, sin embargo, en los grupos de las ratas hipertensas e hipertensas tratadas, a diferencia de los resultados obtenidos del OSF, el área nuclear experimenta un aumento progresivo desde las 10 semanas hasta las 15 semanas, sobre todo en el grupo de las ratas hipertensas tratadas. Respecto al factor forma, no encontramos variaciones significativas entre los cuatro grupos estudiados y según las edades. Comparando estos resultados con los precedentes hallados en el OSF, el descenso del área nuclear en el AP, un parámetro morfométrico que refleja la función celular (Edstrom y Eichner, 1960; Srebo et al, 1988), al igual que ocurre con el OSF, puede deberse a que el AP es muy importante en las primeras semanas de vida y en ese momento se establecen los mecanismos que regulan la actividad cardiovascular y el equibrio hidrosalino, y al nacer, este órgano ya sería funcional. Por otro lado, el hecho de que el área nuclear aumente con la edad en el grupo de las ratas hipertensas, tanto tratadas como no tratadas, puede deberse a una hiperfunción del AP que llevaría consigo un aumento de su tamaño. Estos resultados concuerdan con las observaciones de Shapiro y Miselis (1985) acerca de la importante proyección que mantiene el AP con el área baroreceptora del NTS y el núcleo motor que inerva el corazón,

siendo por lo tanto un receptor para los factores circulantes que afectan a la presión sanguínea. Asímismo, se sabe que el OSF y el AP captan señales periféricas tales como el incremento de los niveles de angiotensina II y la hipertonicidad plasmática, a través de un circuito neuronal que conecta los sistemas motor y límbico, los núcleos viscerales sensoriales, la región preóptica, el hipotálamo, el tronco del encéfalo y la médula espinal (Simpson, 1981; Sawnson y Mogenson, 1981; Miselis et al, 1987) y este circuito está estrechamente relacionado con la regulación de la presión arterial. La angiotensina II disuelta en sangre actúa en el OSF de ratas para provocar sed y una respuesta presora; la función del AP también se relaciona con el efecto de la angiotensina II y la vasopresina en la regulación cardiovascular (Saavedra et al, 1986; Nishida et al, 1997), aunque el AP es un receptor de la angiotensina II de menor importancia en la rata en comparación con otras especies (Simpson, 1981), siendo en ésta el OSF, el lugar donde se encuentran los receptores centrales para la angiotensina circulante (Lind y Johnson, 1982).

Nuestro trabajo apoya las observaciones de Quiam y Koon (1998) según las cuales, el AP juega un papel importante en el mantenimiento de la presión sanguínea basal en la rata, como mencionamos anteriormente, lo que no está en contradicción con la descripción del AP que realizan Matsumura y colaboradores (1999) para los que dicha estructura, no tiene un papel crucial en el mantenimiento de la presión sanguínea alta en ratas hipertensas, aunque Averill y colaboradores (1996) observan que la extirpación del AP atenúa el desarrollo de la hipertensión en ratas transgénicas hipertensas.

Como se dijo con anterioridad, las neuronas simpáticas premotoras de la médula ventrolateral rostral (RVLM) son un sitio de acción de la angiotensina II cerebral en animales hipertensos y normotensos, y éstas forman el relevo en la respuesta simpatoexcitatoria a la circulación de angiotensina II iniciado en los OCVs, sobre todo en el AP. Así pues, las

concentraciones sanguíneas altas de angiotensina II en la hipertensión renovascular, eleva la presión sanguínea por vasoconstricción causada a través del AP y de RVLM (Fink et al, 1997) y además, los efectos de la angiotensina II crónica para incrementar la actividad del sistema nervioso simpático pueden ser debidos a la actividad del AP dependiente de neuronas en la RVLM (Hasser et al, 2000). Esta acción de la angiotensina II de incrementar el flujo del sistema nervioso simpático relacionado con la presión sanguínea, puede contribuír, según Bishop y Sanderfod (2000), a elevar la presión arterial en la hipertensión, y dependerá del AP que haya una alta concentración de angiotensina II periférica.

Asímismo, los niveles basales de angiotensina II circulante mantienen la presión arterial actuando en el AP para llevar a cabo la actividad simpática, de esta forma, la respuesta hipotensora al losartan, el antagonista del receptor AT1, está atenuada en las ratas con el AP lesionada (Osborn et al, 2000).

Sabemos que la angiotensina II puede actuar de dos maneras en el cerebro; como hormona cuyo receptor se localiza en las zonas cerebrales donde la barrera hematoencefálica es deficiente y como neurotransmisor. La estimulación de los receptores de la angiotensina II en el cerebro provoca una respuesta endocrina, autonómica y conductual que incluye una estimulación de la natriuresis, del apetito por la sal, de la secreción de la vasopresina, oxitocina, adrenocorticotropina y otras hormonas pituitarias, además del aumento de la presión sanguínea y de la ingesta de agua que produce (Sirett et al, 1982; Fitzimons, 1980; Unger et al, 1989). La angiotensina II cerebral está relacionada con el sistema periférico renina-angiotensina para regular la presión sanguínea y la homeostasis de los fluídos. Como se dijo con anterioridad, tanto en la perifería como centralmente, la angiotensina II se une a los receptores de membrana, siendo los órganos circunventriculares, las áreas implicadas en las acciones cardiovasculares de la

angiotensina II. Estos órganos carecen de barrera hematoencefálica (Phillips et al, 1977; Saavedra et al, 1986) y están situados sobre la superficie luminal de los ventrículos cerebrales, el núcleo del tracto solitario y la médula ventrolateral. Los órganos circunventriculares más sensibles a la acción de la angiotensina II son el OSF, el AP y el OVLM. Pequeñas dosis de angiotensina II inyectadas en estas regiones, inducen una respuesta presora (Mangiapane y Simpson, 1980). La presencia de lugares de unión para la angiotensina II en el NTS asociado con aferencias vagales, pone de manifiesto la influencia de este péptido en el control baroreflejo. Por otro lado, la secreción de la vasopresina experimenta un incremento con la administración central y periférica de angiotensina II (Hollebgerg, 1990). La administración central de angiotensina II estimula la secreción de vasopresina desde la hipófisis posterior, y según los estudios electrofisiológicos llevados a cabo por Castren y Saavedra (1988), la angiotensina II puede actuar directamente sobre las neuronas de vasopresina en el núcleo magnocelular de la hipófisis.

La angiotensina II central, puede actuar a través de la estimulación del sistema nervioso simpático y a través de la liberación de la vasopresina desde la glándula pituitaria. Las catecolaminas son críticas para la expresión de las acciones centrales de la angiotensina II. En las terminales de los nervios simpáticos periféricos, hay una interacción entre la angiotensina II y la noradrenalina, de forma que la angiotensina II podría inhibir la recaptación o estimular la liberación de la noradrenalina con lo que aumentarían sus niveles (Veltmar et al, 1992).

Asimismo, el OSF al igual que el AP, juegan un papel importante en la secreción de vasopresina por la acción de la angiotensina II circulante. Si se destruye el OSF (Ferguson y Renaud, 1986; Iovino y Steardo, 1984), se seccionan las proyecciones eferentes del OSF (Knepel et al, 1982) y se realiza un pretratamiento con antagonistas de la angiotensina II en el OSF (Tanaka et al, 1987-c), al administrar de forma sistémica antiotensina II, se observa que se

previene el incremento en la actividad de la células vasopresín-secretoras en los núcleos hipotalámicos paraventricular (Ferguson y Renaud, 1986; Tanaka et al, 1987-c), y supraóptico (Ferguson y Renaud, 1986), además de incrementarse las concentraciones plasmáticas de vasopresina (Iovino y Steardo, 1984).

La angiotensina II intravenosa se cree que afecta a las neuronas vasopresín-secretoras indirectamente mediante su acción sobre las neuronas del OSF, a través de las células que proyectan desde esta área a las neuronas magnocelulares que contienen vasopresina del núcleo supraóptico y el núcleo paraventricular. Estas neuronas pueden ser una vía postsináptica a través de la cual el OSF influye en la secreción de vasopresina. El hecho de que unas pocas células proyecten desde el OSF al núcleo supraóptico sugiere que pueda servir para coordinar las funciones fisiológicas de ambas estructuras (Ferguson et al, 1985).

El captopril es un potente inhibidor competitivo de la enzima convertidora de la angiotensina, y uno de los fármacos antihipertensivos más prescritos debido a su efectividad, a sus relativamente escasos y poco importantes efectos secundarios, su cómoda posología, su gran tolerancia, las escasas alteraciones metabólicas que ocasiona y por el beneficio obtenido en la función renal y cardíaca. Los trabajos que nos preceden y que estudian la respuesta morfométrica del OSF y del AP (Castañeyra-Perdomo et al, 1991) bajo diferentes condiciones experimentales como la deprivación hormonal y la administración de alcohol, muestran la alta sensibilidad morfométrica de estos órganos circunventriculares. En el trabajo que nos ocupa, hemos analizado los efectos morfométricos trás la administración oral crónica de captopril a ratas control e hipertensas, en el AP, un órgano circunventricular que, como hemos mencionado con anterioridad, y en concordancia con lo descrito con diferentes autores (Quiam y Koon, 1998; Averill et al, 1996; Fink, 1997; Osborn et al, 2000; Hasser et al, 2000) está muy relacionado con

la angiotensina II. Según los resultados obtenidos por Castañeyra-Perdomo y colaboradores (1995), en el caso del OSF, tanto en las ratas control como en las ratas hipertensas que recibieron tratamiento crónico con captopril por vía oral, el volumen global de dicho órgano es comparable o ligeramente superior al de las ratas que no fueron tratadas, sobre todo a la edad de 15 semanas y en el grupo de las hipertensas, y en ningún caso, estos cambios fueron estadísticamente significativos en las edades estudiadas. En cambio en el ratón, Castañeyra-Perdomo y colaboradores (1993) encuentran que, durante la mayor parte del período de tratamiento, el volumen global del OSF es significativamente mayor en el grupo experimental de ratones tratados con captopril que en el grupo control. Esta diferencia entre los resultados obtenidos para la rata y para el ratón, puede explicarse teniendo en cuenta que el OSF del ratón está menos vascularizado y posee mayor cantidad de glía, y los tiempos de tratamiento así como la dosis administrada también fueron diferentes. En lo referente a las neuronas del OSF de la rata (Castañeyra-Perdomo et al, 1995) hay variaciones importantes; en la región rostral y en parte de la región caudal (subregión ventromedial y dorsal), el grupo control al que se le dio tratamiento presenta un área nuclear equiparable o ligeramente superior en algunas zonas respecto al grupo control que no fue tratado. Por otro lado, las ratas genéticamente hipertensas parecen comportarse de modo totalmente diferente sobre todo a la edad de 15 semanas, ya que presentan una mayor área nuclear, un perímetro nuclear y un factor forma mayor que el resto de los grupos. Así, el tratamiento en todas las zonas puede asociarse con una tendencia al descenso del área nuclear de las neuronas de estos animales (Castañeyra-Perdomo et al, 1995). El tratamiento oral crónico con captopril afecta de forma diferente a las ratas control y a las ratas hipertensas, no modificando o aumentando ligeramente el área neuronal del OSF en las ratas control y disminuyendo dicho parámetro en las ratas hipertensas. Estos cambios pueden ser explicados por

la variación de los elementos vasculares, así como por trastornos funcionales. Al bloquear el paso de angiotensina I a angiotensina II, se produce una disminución del tamaño del núcleo que se manifiesta en el descenso del área nuclear del OSF de las ratas hipertensas tratadas. Esta atrofia nuclear produciría una reducción en la liberación de vasopresina como consecuencia de la alteración de la vía neuronal angiotensinérgica entre el OSF y el NPV.

Comparando estos resultados con los nuestros obtenidos en el AP de la rata, vemos que los valores del área nuclear neuronal y del perímetro nuclear, son significativamente mayores en las neuronas de la parte rostral del AP de las ratas hipertensas comparadas con las controles. En el caso de las neuronas de la región rostral del OSF, el área nuclear es mayor en el grupo de las ratas hipertensas no tratadas en comparación con los controles tratados y no tratados. En el grupo de las ratas hipertensas tratadas, el área nuclear disminuye respecto a las hipertensas no tratadas (Castañeyra-Perdomo et al, 1995). El perímetro nuclear de las neuronas de la región rostral del OSF, es ligeramente mayor en las ratas hipertensas no tratadas que en el resto de los grupos, aunque sin diferencias significativas, y este parámetro desciende en las ratas hipertensas con tratamiento. En el caso de las ratas hipertensas no tratadas, las neuronas de la región rostral del OSF presentan un área nuclear que aumenta progresivamente con la edad. El mismo resultado se aprecia en las neuronas de la región rostral del AP, ya que también el área neuronal experimenta un aumento con la edad en los animales hipertensos. Sin embargo, en el caso del grupo de las ratas hipertensas tratadas con captopril, nuestros resultados obtenidos del AP no concuerdan con los hallazgos acerca del OSF de Castañeyra-Perdomo y colaboradores (1995), según los cuales, en las ratas hipertensas tratadas, el área nuclear neuronal del OSF en su región rostral desciende con la edad. En nuestro caso, el área nuclear del AP en su región rostral, aumenta con la edad en las ratas hipertensas tratadas. Esto, aparentemente, pone de manifiesto una hiperfunción del AP,

órgano al que el captopril no parece afectarle, algo que no ocurre en el OSF, al que el tratamiento con captopril sí le afecta y disminuye de tamaño por la atrofia nuclear producida. Estos resultados son extrapolables al perímetro nuclear tanto en el AP como en el OSF, aunque en este último las diferencias entre los grupos no resultan tan significativas como en el primero. Los resultados que se obtienen en el OSF, apoyan los trabajos de Mendelsohn y colaboradores (1984) que describen la existencia de una densa concentración de receptores para la angiotensina II en el OSF, y esto, unido a la elevada actividad de la ECA en esta estructura, sugeriría la posibilidad de que la angiotensina II formada localmente esté implicada en el metabolismo del OSF (Saavedra et al, 1982). Creemos que en el AP, el captopril no produce el mismo efecto que en el OSF porque la ECA estaría presente en pequeñas cantidades o simplemente no estaría presente, y de esta forma, siguiendo la hipótesis de que el bloqueo de la transformación de angiotensina I a angiotensina II produciría una disminución del tamaño nuclear (Castañeyra-Perdomo et al, 1995) este bloqueo no sería relevante o no se produciría en el AP, ya que no se encontraría la ECA en ella, y tampoco hemos observado una disminución del área nuclear de sus neuronas, al contrario de lo que ocurre en el OSF.

Algunos autores señalan que los OCVs más sensibles a la angiotensina II circulante son el AP, el OSF y el OVLM, ya que pequeñas dosis de angiotensina II inyectada en estas zonas, inducen una respuesta presora (Mangiapane y Simpson, 1980). De la misma forma, Fink (1997) observa que las concentraciones sanguíneas incrementadas de angiotensina II en la hipertensión renovascular, eleva la presión sanguínea por vasoconstricción, mediada a través del AP y de RVLM, y en esta misma línea Hasser y colaboradores (2000) afirman que los efectos de la angiotensina crónica para incrementar la actividad del sistema nervioso simpático, pueden deberse a la actividad del AP dependiente de neuronas en la RVLM. Como se dijo anteriormente,

Osborn (2000), en estudios realizados en ratas con el AP lesionada, señala que la respuesta hipotensora que produce el losartan, antagonista de AT1, aparece atenuada en estos animales. Otros trabajos que apoyan los anteriores son los de Bishop y Sanderford (2000), según los cuales, la acción de la angiotensina II de aumentar la actividad del sistema nervioso simpático, contribuye a aumentar la presión arterial en la hipertensión, y el que exista elevada concentración de angiotensina II periférica, depende del AP.

Los trabajos de estos autores contradicen los hallazgos de Simpson y colaboradores (1981), ya que estos últimos destacan el papel del AP como un receptor importante para la angiotensina II en muchas especies, aunque en la rata parece ser de menor importancia, puesto que en este animal el OSF parece ser el lugar donde se encuentran los receptores centrales para la angiotensina II circulante (Lind y Johnson, 1986). Otros trabajos que concuerdan con éstos son los de Borison (1975) y los de Brooks (1983) según los cuales, la inyección de angiotensina II produce cambios en la actividad neuronal en el AP del gato, pero carece de efecto sobre la actividad de las neuronas de la rata. De la misma forma Simpson (1981) establece que, al igual que en estos estudios electrofisiológicos, el AP media los efectos cardiovasculares de la angiotensina II en el gato, pero no en la rata.

Nosotros creemos que el AP es un órgano importante como receptor de la angiotensina II, tal y como establecen Mangiapane y Simpson (1980-a), Bishop y Sanderford (2000), Hasser y colaboradores (2000), Fink (1997) y Osborn (2000) entre otros, y además, carece de la ECA lo que puede explicar que el captopril no produzca ningún efecto en las neuronas de la región rostral del AP de las ratas hipertensas, ya que en esta estructura no se encuentra la ECA, y en consecuencia, no se produce el bloqueo de la enzima que causa este inhibidor, por ello, el área neuronal no disminuye. Asímismo, si el AP posee receptores para la angiotensina II, es lógico

pensar que las ratas hipertensas tendrán un mayor número de éstos, lo que puede llevar a una hiperfunción del órgano que derivaría en un aumento de su área nuclear con el tiempo, tal y como hemos encontrado. Nosotros creemos que el AP es fundamentalmente una estructura que posee receptores AT1, y de acuerdo con los trabajos de Osborn y colaboradores (2000) que señalan que el losartan, antagonista de AT1, produce una menor respuesta hipotensora en las ratas con el AP lesionada en comparación con las ratas controles, destacamos la posibilidad de que el captopril influye en otros órganos distintos al AP, como es principalmente el OSF, y es capaz de reducir la hipertensión por causar el bloqueo de la ECA en este último, sin embargo, este IECA no es capaz de influír en el AP. El losartan, en cambio, sí realiza su acción en el AP bloqueando los receptores de la angiotensina II. Averill y colaboradores (1996) apoyan estas observaciones ya que señalan que la extirpación del AP en ratas transgénicas hipertensas, atenúa el desarrollo de la hipertensión. Para Quiam y Koon (1998), como mencionamos anteriormente, el AP juega también un papel importante en el mantenimiento de la presión sanguínea basal en ratas.

Por lo tanto, teniendo en cuenta nuestros resultados que describen al AP como una estructura importante que contiene receptores para la angiotensina II, éstos no concuerdan con los resultados de otros autores, tales como Lind y Jonhson (1986); Brooks (1983) y Simpson (1981), para los cuales la angiotensina II no actúa directamente en el AP de la rata.

Cabe destacar que los resultados obtenidos para el área nuclear de las neuronas de la región rostral del AP, son similares a los que se obtienen para el perímetro nuclear, y respecto al factor forma, no se obtiene variaciones significativas entre los cuatro grupos estudiados y según las edades.

La hipertensión arterial se establece después de las 8 semanas de edad, ya que apenas se ha visto variación en los parámetros área nuclear, perímetro nuclear y factor forma de las neuronas del OSF, al comparar los grupos control no tratados con hipertensos no tratados, y a dicha edad, la hipertensión arterial todavía no se ha manifestado clínicamente porque probablemente, el OSF permanece intacto (Castañeyra-Perdomo et al, 1995). En lo referente al índice de circularidad de las neuronas del OSF, es mayor en las ratas hipertensas que en las controles. Esta diferencia es notable en las neuronas y mínima en el epéndimo, donde sólo se observan cambios en la zona rostral y a la edad de 15 semanas. Al igual que ocurría con el área nuclear, el aumento del factor forma sería la expresión de una mayor actividad funcional (Castañeyra-Perdomo et al, 1995). En el presente trabajo, el factor forma de las neuronas del AP en su región rostral, no presentó variaciones significativas entre los cuatro grupos estudiados y según las edades, en contra de los resultados obtenidos para este parámetro en el OSF, según los cuales, el factor forma fue mayor en el grupo de las ratas hipertensas no tratadas, y disminuyó en las ratas hipertensas tratadas, equiparándose a los grupos controles. Esto podría demostrar, una vez más, que el captopril no afecta a la función del AP. En el OSF, el tratamiento con captopril afecta de forma diferente a las ratas control y a las hipertensas, y así el factor forma se mantiene o aumenta ligeramente al tratar las ratas control y disminuye al tratar a las hipertensas como consecuencia del descenso de la angiotensina II y por lo tanto, de su función (Castañeyra-Perdomo et al, 1993).

El parámetro morfométrico, perímetro nuclear, estudiado en el OSF (Castañeyra-Perdomo et al, 1995) no puso de manifiesto diferencias significativas entre los animales control y los hipertensos a nivel neuronal ni ependimario. Tampoco el tratamiento modificó el perímetro nuclear en las dos cepas, solamente se ve afectado con la edad, como mencionamos

anteriormente, de forma que disminuye a medida que aumenta la edad porque el OSF va perdiendo la importancia funcional que tenía en el nacimiento. En nuestro trabajo, el perímetro nuclear de las neuronas del AP, disminuye en los grupos controles con la edad, mientras que en los grupos de ratas hipertensas aumenta con la edad y es esta la única diferencia respecto al OSF.

En los resultados del presente trabajo sobre el área nuclear, perímetro nuclear y forma nuclear de las neuronas del AP en su región caudal, destacamos que no hubo diferencias significativas relacionadas con la edad ni al comparar los grupos objeto de estudio, por lo que deducimos que la parte caudal del AP estaría menos implicada en el mantenimiento de la presión arterial y regulación cardiovascular, que la parte rostral del AP. El factor forma de las neuronas del AP caudal, respecto al tratamiento, no presenta variaciones significativas, siendo mayor en los grupos de las ratas control no tratadas con captopril en comparación con el resto de los grupos, en las dos edades estudiadas. El grupo hipertenso tratado posee la circularidad menor. Según las edades estudiadas, sí existe una variación significativa ya que la circularidad es menor a las 15 semanas que a las 10 semanas, sobre todo en el grupo de las ratas hipertensas tratadas.

En el caso del OSF, el área, el perímetro nuclear y el factor forma de las neuronas de la región caudal disminuyen ligeramente con la edad. Los animales control tto poseen valores mayores de estos parámetros comparado con el resto de los grupos, aunque no de forma significativa (Castañeyra-Perdomo et al, 1995). Así pues, estos resultados sugieren que todas las regiones del OSF de la rata se ven afectadas morfométricamente por la hipertensión arterial, en mayor o en menor medida, sobre todo a las 15 semanas, siendo uno de los parámetros más afectados el área nuclear, mientras que los ependimocitos no se ven prácticamente afectados. El tratamiento oral crónico con captopril tiende a corregir las alteraciones morfométricas del OSF producidas por la hipertensión arterial, acercándose a los valores obtenidos en el grupo control,

especialmente en lo referente al factor forma y al área nuclear, algo que no ocurre en el AP, órgano al que el captopril no corrige las alteraciones morfométricas que en él aparecen. Las alteraciones que se producen en el OSF debidas a la hipertensión arterial, hacen que éste se comporte como si estuviera lesionado, ya que las manifestaciones funcionales en lo que se refiere a la ingesta de fluídos y a la tensión arterial son similares a las encontradas por Thunhorst y colaboradores (1987) tras la lesión del OSF, y por Nazarali y colaboradores (1989) tras la administración de un IECA. Los cambios morfológicos del OSF encontrados en la rata hipertensa (Castañeyra-Perdomo et al, 1995) podrían ser una expresión del aumento del número de receptores angiotensinérgicos encontrados por Saavedra y colaboradores (1986) y por Nazarali y colaboradores (1989) exclusivamente en el OSF de la rata hipertensa. En nuestro estudio del AP, los cambios morfológicos también pueden ser debidos al aumento de receptores angiotensinérgicos, receptores de la angiotensina II (Osborn et al, 2000). Según los resultados de Castañeyra-Perdomo y colaboradores, (1993, 1995) y los de Nazarali y colaboradores (1989), la hipertensión arterial esencial se podría producir por un aumento de la actividad del OSF con lo que se incrementa el estímulo angiotensinérgico de éste sobre los núcleos supraóptico y paraventricular, por lo que el efecto fundamental del captopril sobre la hipertensión arterial esencial se basaría en la interrupción de la vía angiotensinérgica que va desde el OSF a los núcleos paraventricular y supraóptico.

En trabajos realizados en el ratón normotenso (Lind et al, 1984; Castañeyra-Perdomo et al, 1992) se aprecia que las neuronas del OSF después del tratamiento con captopril a una dosis de 1mg/Kg de peso (Soffer, 1976) no muestran variaciones relevantes con el tiempo de tratamiento en lo que se refiere fundamentalmente a la cariometría neuronal y ependimaria, y tampoco en el volumen global. Estos resultados son diferentes de los obtenidos en la rata porque,

como dijimos anteriormente, el ratón posee un OSF menos vascularizado que el de la rata, posee mayor cantidad de glía y los tiempos de tratamiento fueron diferentes (Castañeyra-Perdomo et al, 1995). Cuando se le adiministra captopril al ratón en una dosis de 4mg/kg de peso, se detectan variaciones a los 100 días en los parámetros nucleares de las neuronas. En cambio, en los parámetros nucleares del epéndimo, se producen diferencias estadísticamente significativas entre los 85 y los 160 días. El que el epéndimo sea más sensible al tratamiento con captopril en el ratón normotenso, puede deberse a que en el OSF la inmunoreactividad para la ECA se localiza principalmente en el plasmalema de células ependimarias (Pickel et al, 1986) y es el lugar donde se fija la angiotensina II circulante (Lind et al, 1984-a; van Houten et al, 1980). Así, puede decirse que las estructuras del OSF del ratón normotenso que más responden después del tratamiento crónico con captopril son el epéndimo y el neuropilo en general y esta respuesta se aprecia fundamentalmente a dosis altas de 4mg/kg de peso y no a dosis bajas de 1mg/kg de peso. Se pone de manifiesto en estos trabajos realizados en el ratón una respuesta cariométrica individual e irregular de las neuronas del epéndimo del OSF ante el tratamiento con captopril, y esto se debe a que la ECA se encuentra localizada en el epéndimo y concuerda con lo demostrado por Félix y colaboradores en 1982 acerca de que son grupos de neuronas las que responden específicamente a la angiotensina II localizada en el OSF. También tenemos en cuenta lo descrito para la rata por Nazarali y colaboradores en 1989, quienes encuentran como resultado del tratamiento con enalapril, alteraciones de los receptores de la angiotensina II solamente en un área cerebral, el OSF de las ratas hipertensas. En esta estructura, la inhibición sistémica de la ECA origina una gran disminución (sobre el 50%) del número de receptores de la angiotensina II, siendo significativamente inferiores a los de los animales normotensos, no encontrando cambios significativos en los receptores de la angiotensina II después del tratamiento con

enalapril en ninguna de las áreas cerebrales de las ratas normales o en ninguna de las áreas cerebrales de las ratas hipertensas a excepción del órgano subfornical (Nazarali et al, 1989). Los inhibidores de la ECA interaccionan con otros sistemas vasoreguladores tales como los de las kininas y prostaglandinas (Thurston y Swales, 1978; Watanabe et al, 1985; Nazarali et al, 1989) por lo que todo esto podría explicar los efectos del captopril sobre las neuronas y epéndimo del OSF. Casi siempre las alteraciones que encuentran Nazarali y colaboradores (1989) se dan en ratas hipertensas pero no en las controles, al contrario de los resultados obtenidos para el ratón normotenso por Castañeyra-Perdomo y colaboradores (1992). Esta diferencia al comparar ambos resultados, puede ser debida fundamentalmente a que Nazarali y colaboradores (1989) consideran un tratamiento crónico con enalapril diferente al de Castañeyra-Perdomo (1992). Así pues, el OSF es una zona cerebral muy sensible a las perturbaciones de la osmolaridad plasmática que pueden ser originadas por la ingesta de captopril, lo que derivaría en una variación significativa del neuropilo, que se llega a manifestar en el volumen global del órgano (Castañeyra-Perdomo et al, 1992).

Nuestros resultados inmunohistoquímicos con la utilización de los anticuerpos obtenidos contra la banda-3, señalan que la cantidad de material inmunoreactivo es similar en todos los órganos circunventriculares tanto de los animales controles como de los experimentales, y encontramos que sólo en un área cerebral, el OSF, había una mayor cantidad de material inmunoreactivo en comparación con las demás, y por lo tanto, coincidimos con los resultados de Nazarali y colaboradores descritos anteriormente.

Por otro lado, refiriéndonos al AP, vemos que la evidencia histoquímica demuestra la existencia de conexiones neurales directas entre el AP y neuronas peptidérgicas del núcleo supraóptico que secretan vasopresina. Estos hallazgos neuroanatómicos confirman estudios

morfológicos previos (Shapiro y Miselis, 1985; Tribollett et al, 1985) que muestran que proyecciones eferentes del AP, conectan directamente neuronas secretoras magnocelulares del hipotálamo anterior, lo que sugiere que esta vía puede ser parte del aparato que controla la homeostasis líquida en ratas (Iovino et al, 1988). En los estudios que nos preceden acerca del ratón normotenso (Castañeyra-Perdomo et al, 1992), se ha visto que al dar captopril a dos dosis diferentes, aparecen respuestas diferentes entre el componente celular y el volumen global del AP.

Así, se ve que en el epéndimo sólo hay variaciones significativas con respecto al control a los 130 días, donde el área nuclear es mayor en los grupos experimentales que en el control. Lo mismo ocurre en las neuronas a los 130 días en este mismo parámetro, donde los dos grupos experimentales presentan valores mayores que el grupo control. Las neuronas no siguen un comportamiento paralelo al epéndimo, y esta respuesta irregular de las neuronas y del epéndimo podría ser debida fundamentalmente a que los receptores de angiotensina se encuentran localizados principalmente en los capilares, células gliales y cuerpos neuronales (Watson, 1986). Además, se ha demostrado que tanto en el cerebro de la rata como en los tejidos periféricos, los receptores de angiotensina II pueden ser divididos en dos subtipos; el tipo 1 y el tipo 2, siendo el tipo 1 el que está localizado en el AP, y es el que juega un importante papel en el control cardiovascular e incrementa en número en los modelos experimental o genético de hipertensión, estrés o deshidratación (Gutkind et al, 1988; Tsutsumi y Saavedra, 1991). También se ha visto que al inyectar angiotensina II en el LCR, ésta es captada en estos receptores angiotensinérgicos del AP (van Houten et al, 1983). Con respecto al volumen global e índice de circularidad del AP en el ratón normotenso (Castañeyra-Perdomo et al, 1992), se ha visto que el volumen global del AP es poco sensible a la administración del captopril, resultados que concuerdan con los nuestros

acerca del AP de las ratas. Para explicarnos estos efectos del captopril sobre el neuropilo y las neuronas del área postrema, hemos de tener en cuenta que el espacio extracelular del área postrema incluye un gran espacio perivascular, donde materiales de alto peso molecular pueden acceder a este espacio extracelular por tres rutas; desde el plasma a través del endotelio fenestrado de una densa red de amplios capilares; desde el LCR del cuarto ventrículo pasando a través de las células ependimarias; desde el LCR de la cisterna magna pasando principalmente desde los amplios espacios perivasculares (Watson, 1986). Por ello, este gran espacio extracelular podría ser sensible a los efectos del captopril y ser modificado de tal manera, que podría manifestarse con variaciones del índice de celularidad en algunos momentos del tratamiento. Estas variaciones del índice de celularidad, no se manifiestan en el volumen global, porque al administrar el captopril, se origina un aumento de la angiotensina I que se acumula al no poder transformarse en angiotensina II, y esta respuesta puede dar lugar a cambios osmóticos (estructurales) de los diferentes componentes del AP, que se manifestarían en algunos momentos del tratamiento en el índice de celularidad, donde parece que hay un aumento del tamaño del neuropilo, pero que no es lo suficientemente importante como para llegar a manifestarse en el volumen global (Castañeyra-Perdomo et al, 1992). Estos hallazgos encontrados en el ratón, concuerdan con los nuestros encontrados en la rata. Así pues, el captopril tiene un efecto irregular sobre el epéndimo y sobre las neuronas del AP y del OSF, y además, tiene una acción similar sobre el neuropilo pero no sobre el volumen global, tanto del OSF como del AP. Estos efectos similares del tratamiento crónico con captopril sobre el AP y el OSF, se explicarían porque el AP tiene un número importante de estructuras similares a las del órgano subfornical. La que más destacaríamos de estas estructuras, sería el compartimiento vascular. En él, caben destacar los capilares de tipo fenestrado o los sinusoides de paredes finas del AP, que están

compuestos por células endoteliales que tienen uniones no cerradas entre sus membranas plasmáticas adyacentes. Las células endoteliales tienen numerosas fenestraciones y están rodeadas de una lámina basal discontinua (Lucchi et al, 1989). Otra característica de las células endoteliales es el gran número de vesículas en su citoplasma. El AP, además, está bien irrigado con sangre arterial procedente de varias fuentes (la cual deriva de las arterias vertebrales); las arterias cerebelosas anterior, inferior, las arterias espinales posteriores y las arterias intrapiales (Kroidl, 1968; Leslie, 1986). En esta descripción de la vascularización del AP de la rata, Kroidl sugiere que podría concurrir un mecanismo operativo, estableciendo gradientes osmóticos para elementos disueltos en sangre seleccionados dentro del AP. Roth y Yamamoto (1968) en trabajos en el mismo animal, describen una circulación portal asociada con el AP. Dempsey (1973) se refiere a la lámina basal externa de los espacios pericapilares del AP de la rata, como membranas piales, lo que sugiere que los espacios pericapilares del AP se continúan con el espacio subaracnoideo del cerebro. Estudios empleando proteínas trazadoras administradas por vía intracatecal o intravascular, aplicando después microscopía electrónica, han mostrado que las células endoteliales del AP de la rata son totalmente permeables a macromoléculas (Torack y Finke, 1971; Gotow y Hashimoto, 1979). Así, fijándonos en este componente tan importante del AP, es fácil comprender que pueda ser alterado después del tratamiento con captopril, aunque este no es nuestro caso, o al ser sometido a otros modelos experimentales. De esta forma, se ha visto alterado bajo los efectos de la castración que produce variaciones del volumen global del AP (Castañeyra-Perdomo et al, 1988); o bajo los efectos del alcohol donde se aprecian variaciones funcionales (Grupp et al, 1991) o cuantitativas del coeficiente de celularidad (Castañeyra-Perdomo et al, 1991). Así pues, teniendo en cuenta todos los trabajos que nos preceden y anteriormente citados, así como nuestros propios resultados, podemos decir que

globalmente, el tratamiento crónico con captopril afecta de forma significativa a la relación célula-neuropilo, tanto del OSF como del AP, pero esta afectación es más importante en el OSF ya que llega a reflejarse en su volumen global donde se han encontrado valores significativamente superiores en los grupos experimentales. Por el contrario, la afectación del coeficiente célula-neuropilo del AP es menor, ya que no llega a manifestarse en su área nuclear ni en su volumen global.

El epéndimo es uno de los componentes más importantes de los órganos circunventriculares en general, y concretamente, del OSF y del AP. Las células ependimarias tienen características epiteliales, y no proyectan dentro del neuropilo periventricular (Peters et al, 1976). Las células ependimarias especializadas que conservan sus características embriológicas en el cerebro maduro se denominan tanicitos, aunque se cree que éstos sólo persisten sobre las paredes del tercer ventrículo (Millhouse, 1972). Observando el revestimiento ventricular subcalloso en el cerebro humano en desarrollo, se describió en la edad fetal precoz, que el epéndimo de la zona ventromedial del hipotálamo forma un componente importante de la pared cerebral, presentando una capa estratificada que da paso a un lecho único de células ependimarias ciliadas cuboidales o columnares, durante unas pocas semanas de vidad post-natal (Gould, 1987). De acuerdo con la terminología previa aplicada a estas células en el cerebro humano en desarrollo, (Roesman et al, 1980), se ha usado el término tanicitos para las células del epéndimo en este estadío.

Las células ependimarias parecen estar implicadas activamente en la absorción, transporte y secreción de sustancias como se dijo anteriormente, tanto si están en los plexos coroideos como en la superficie ventricular, y concretamente en los órganos circunventriculares,

donde el epéndimo juega un papel en la secreción y absorción de sustancias desde el LCR (Agnew et al, 1980; Ray y Choudhury, 1984). Estas células (principalmente tanicitos) se piensa que adquieren sustancias del LCR y transportan estos compuestos a neuronas adyacentes en el neuropilo periventricular (Carpenter y Sutin, 1983). Las células ependimarias también pueden excretar y transportar muchas proteínas sintetizadas nuevamente dentro del ventrículo por secreción neuroapocrina (Agnew et al, 1980). En otros estudios se ha visto que las células ependimarias contienen adenilato-ciclasa B-adrenergic sensitiva (Nathanson, 1979) que Arregui e Iversen (1987) proponen como una fuente potencial de la enzima convertidora de la angiotensina.

Los tres tipos de epéndimo, célula cuboidal ciliada, tanicitos y células secretoras, aparentemente se desarrollan a partir de un mismo tipo de célula precursora (Hinds y Ruffett, 1971). Además, se constata la existencia de diferentes parámetros potencialmente evaluables; espinas dendríticas (Ferres-Torres y Meyer, 1981) o incremento del área nuclear (Narayanan y Narayanan, 1987). Edströn y Eichner (1960) establecen que el aumento de las medidas nucleares expresa un incremento en la síntesis de proteínas. Jones y colaboradores (1985) relacionan la expansión de la matriz nuclear con la reorganización estructural y con cambios en las condiciones osmóticas de las células. Es por ello que nosotros hemos prestado gran atención al desarrollo del epéndimo del AP, como anteriormente se hizo con el OSF, aunque según los resultados que se han obtenido en nuestro departamento, parece ser que el epéndimo del OSF y del AP es bastante estable en la vida postpuberal.

Nuestros resultados obtenidos del epéndimo de la región rostral del AP nos muestran que el área nuclear de los ependimocitos de la región rostral, presenta unos valores similares entre los grupos controles e hipertensos, independientemente del tratamiento y de la cepa, siendo los

resultados obtenidos del estudio morfométrico a la edad de 15 semanas superponibles a los obtenidos a las 10 semanas. Asímismo, el perímetro nuclear permanece relativamente constante con el paso del tiempo y no varía significativamente entre los grupos seleccionados. Lo mismo ocurre con la forma nuclear. Respecto a los ependimocitos de la región caudal del AP, el área neuronal no presenta diferencias significativas relacionadas con la edad ni al comparar los grupos objeto de estudio. En cuanto al perímetro de las células del epéndimo de la región caudal, a las 15 semanas es menor que a las 10 semanas en los cuatro grupos estudiados. El perímetro mayor lo alcanza el grupo control tratado con captopril y el valor más bajo lo presenta el grupo de ratas control tratadas aunque en general, las diferencias no son estadísticamente significativas. El factor forma, en este caso, no presenta tampoco variaciones significativas con la edad y la esfericidad es similar en los cuatro grupos estudiados. Así, podemos observar según nuestros resultados que el epéndimo del AP en su región caudal y en su región rostral, no pone de manifiesto diferencias significativas con la edad y es independiente del grupo estudiado, resultados que apoyan los trabajos anteriormente citados.

Con el objetivo de comparar las posibles diferencias entre el comportamiento del epéndimo del OSF y del AP y el epéndimo en otras zonas ventriculares, se analizaron los resultados obtenidos en los trabajos realizados sobre el desarrollo cariométrico del epéndimo adyacente al núcleo arcuato (Carmona-Calero et al, 1990) y sobre el epéndimo subyacente al órgano subcomisural (Castañeyra-Perdomo et al, 1983) donde se describe que el epéndimo adyacente al núcleo arcuato presenta los valores máximos a los 35 días, y después de esta edad, se produce en él un descenso de los valores hasta los 55 días. En el epéndimo subyacente al órgano subcomisural no se describió ninguna variación durante el desarrollo postnatal hasta los 160 días. Con este análisis, vemos que estos resultados coinciden plenamente con los obtenidos

para el OSF de la rata (Castañeyra-Perdomo et al, 1995) y el AP del ratón (Castañeyra-Perdomo et al, 1992). Los resultados obtenidos del epéndimo de otros órganos circunventriculares, muestran que el epéndimo del órgano subcomisural (Castañeyra-Perdomo et al, 1983) sufre un aumento progresivo y muy significativo de los valores del perímetro nuclear hasta los 45 días, luego descienden para estabilizarse a partir de los 85 días. Así, en el OSC tampoco se producen variaciones. En las diferentes partes de la eminencia media (EM), Carmona-Calero y colaboradores (1990) encuentran que el área nuclear muestra un gran número de variaciones regionales. El nivel rostral y caudal presentan una evolución similar hasta los 35 días, y en todos los niveles, estos autores no observan variaciones entre los 85 y 160 días (Carmona-Calero et al, 1990). Este comportamiento cariométrico tan similar del epéndimo de los diferentes órganos circunventriculares, puede explicarse por las semejanzas estructurales entre el epéndimo de la EM y el epéndimo del AP y del OSF, y por el hecho de que la activación de eferencias de OSF mejora la actividad de las neuronas con proyecciones axonales a la EM, junto con la demostración de que una gran proporción de neuronas que contienen LHRH que proyectan a la EM, se localizan en dicha región, lo cual sugiere un posible papel del OSF en el control de la secreción de LHRH (Donovan y Ferguson, 1988). Podríamos decir que el comportamiento morfométrico de los diferentes OCV estudiados en este Departamento durante el desarrollo postnatal en animales control, parece seguir un modelo equivalente con respecto al nivel ependimario, pero no en las neuronas, donde parece que el OSF y el AP presentan variaciones significativas en algunas edades. Esto coincide con el comportamiento, a nivel cualitativo, del OSF y del AP durante la vida adulta para otras especies de animales y para el hombre, en el que el OSF y el AP durante la vida postnatal y postpuberal no tiene variaciones hasta edades muy avanzadas (Rbal 1965; Palkovits, 1987).

Las conexiones que se establecen entre el OSF y el AP con diferentes zonas hipotalámicas, permite explicar la semejanza en el desarrollo morfométrico de las neuronas del AP y del OSF y los diferentes núcleos hipotalámicos, tales como el núcleo supraóptico y el núcleo paraventricular (Lind et al, 1982, Renaud et al, 1983).

G-ESTUDIO ELECTROFORÉTICO

La técnica electroforética es una técnica de separación de las partículas cargadas, en nuestro caso proteínas, basada en la distinta velocidad que alcanzan en el campo eléctrico. La electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS, se realizó de acuerdo con el procedimiento de Laemmli (1970) según el cual, hemos separado y determinado los pesos moleculares de las proteínas contenidas en el LCR de las ratas hipertensas y de las normotensas, así como las proteínas que se encuentran en el suero de las mismas, midiendo la movilidad de éstas en geles de poliacrilamida con el detergente dodecil sulfato sódico (SDS). Como mencionamos anteriormente, el SDS es un detergente que se une a proteínas multicatenarias y gracias a él se disocian. Los puentes disulfuros que se encuentran en las proteínas se abren por la acción del mercaptoetanol que les hace perder su estructura secundaria. De esta forma, las subunidades proteicas que resultan se comportan como si tuvieran una forma similar y una relación carga/masa idéntica, debido a que la cantidad de SDS unido por unidad de peso de la proteína es constante, y la carga negativa de la proteína vendrá determinada por el SDS. De todo esto resulta que la movilidad efectiva de la proteína está relacionada con el peso molecular de ésta, y de la acción del gel como tamiz molecular. Así pues, hemos separado las proteínas contenidas en el

LCR por su peso molecular, utilizando como referencia una serie de proteínas de peso molecular conocido.

Otros autores han utilizado la electroforesis y han descrito bandas de angiotensina en el OSC (Ghiani et al, 1988) lo que pone de manifiesto el posible papel hidrosalino de éste. El OSC es un receptor sensible a las variaciones de volumen del LCR que posee un papel importante en la homeostasis de la sal y del agua (Rodríguez et al, 1992; Carmona-Calero, 1996), en la hipertensión arterial (Castañeyra-Perdomo et al, 1998) y en la hidrocefalia (Castañeyra-Perdomo et al, 1994). Rodríguez y colaboradores (1990, 1992) observan que el OSC de fetos humanos secreta glicoproteínas cuyo componente proteico es diferente al de otros vertebrados aunque su cadena hidrocarbonada sea similar. Según los trabajos de Rodríguez (1990) y de Castañeyra-Perdomo y colaboradores (1996) el OSC humano, durante la vida fetal y primeros años postnatales, es una glándula secretora muy bien desarrollada que produce proteínas solubles que se disuelven en LCR y que no forman fibra de Reissner (FR). Asímismo, el OSC humano cambia sus productos secretores durante el desarrollo ontogénico ya que anticuerpos obtenidos contra bandas glicoproteicas resultantes de la electroforesis de LCR humano, marcaron el OSC a las 9, 10 y 13 semanas de gestación (SG), pero fueron incapaces de marcar el OSC a edades intermedias (19 y 20 SG) y otros anticuerpos anti-bandas de LCR humano, por el contrario, sí marcaron el OSC a edades intermedias pero no lo marcaron a edades tempranas (Castañeyra-Perdomo et al, 1996). Además, estos anticuerpos marcaron los plexos coroideos y el epéndimo ventricular humanos. Así, estos trabajos basados en técnicas electroforéticas, pusieron de manifiesto que la secreción del OSC es de diferentes tipos, siendo algunos de éstos inespecíficos, ya que existen otras células secretoras como las del epéndimo y los plexos coroideos del ser humano y de otras especies. Estos resultados están en concordancia con lo descrito por

Rodríguez y colaboradores (1993) y en contra de lo descrito por Murakami (1970) según el cual, el OSC humano es una estructura rudimentaria y no secretora. Por otra parte, según las observaciones de Rodríguez y colaboradores, los anticuerpos contra las bandas glicoproteicas del LCR humano (bandas de 150 y 45 kDa) marcan el OSC de un feto de 13 SG, y se confirma que el OSC humano a estas edades produce glicoproteínas que no se agregan, es decir, solubles, que se disuelven en el LCR y también son producidas por ependimocitos de otras zonas ventriculares.

OBTENCIÓN DEL ANTÍGENO: *Proteínas del LCR*

Proteínas del LCR

En nuestro trabajo mediante electroforesis, obtuvimos diferentes bandas del LCR de las ratas SHR que no encontramos en las ratas WKY. A estas bandas les asignamos un número según su aparición en el transcurso de la electroforesis; así, la primera banda que apareció, de peso molecular 141kDa, se denominó banda-1. La siguiente banda fue la banda-2 cuyo peso molecular fue de 117,5 kDa; la banda-3 de 48kDa; la banda-4 fue de 43.5kDa y la banda-5 que fue la más pequeña y la que migró más lejos, 20kDa. Por lo tanto, según nuestros resultados, creemos que el LCR de las ratas hipertensas contiene unas proteínas y unos péptidos que no aparecen en las ratas normales, y esto puede deberse a que las proteínas hayan sufrido un cambio y se hayan transformado en proteínas anómalas, debido al mal funcionamiento de algunas estructuras cerebrales implicados en su síntesis en el animal hipertenso, que no tendría lugar en el animal sano, o bien que las proteínas aparezcan en mayor cantidad en la rata hipertensa a consecuencia de la hiperfunción de algunos órganos como el OSF o los plexos coroideos (Puchades-Company y cols., 1996) y sea imperceptible en la rata normotensa. Así, Saavedra y

colaboradores (1986) observan que los cambios morfológicos del OSF que aparecen en la rata hipertensa podrían ser una expresión del aumento del número de receptores angiotensinérgicos. Según Nazarali y colaboradores (1989) la hipertensión arterial esencial se produciría por un aumento de la actividad del OSF con lo que se incrementa el estímulo angiotensinérgico de éste sobre los núcleos paraventricular y supraóptico.

En la bibliografía actual, no hemos encontrado trabajos similares al presente estudio, pero podemos citar otros trabajos como el realizado por Rodríguez y colaboradores (1992), en el que se empleó la técnica electroforética para estudiar LCR de humanos hidrocefálico, donde encontraron varias bandas proteicas que estaban presentes en el LCR de los hidrocefálicos que no se observaron en los controles. Más recientemente, en un trabajo previo realizado en este Departamento (Castañeyra-Perdomo y cols., 1999), hemos confirmado los hallazgos de Rodríguez y colaboradores (1992), en el que se puso de manifiesto la existencia de un total de siete bandas proteicas de; 24, 25, 31, 45, 91, 150 y 250 kDa en el LCR de los hidrocefálicos que no estaban presentes en el normal. Tenemos que destacar que las bandas de 31, 150 y 250 kDa estaban presentes en al menos 5 tipos de hidrocefalias, además, la proteína de 150 kDa coincide con la descrita por Rodríguez y colaboradores (1992). Estos hallazgos y las alteraciones del OSC demostradas en fetos hidrocefálico (Castañeyra-Perdomo y cols, 1994) y ratas hidrocefálicas (Irigoin y cols., Fernández) apoyan la posibilidad de que en la hidrocefalia las secreciones del OSC al LCR estén alteradas. Nuestros hallazgos de bandas proteicas patológicas en el LCR de las ratas SHR, y el hecho de que la hipertensión se acompaña de una dilatación ventricular progresiva (Ritter, 1986) soporta la posibilidad de que en las ratas SHR, esté alterado el material secretorio liberado al LCR por los órganos circunventriculares.

H-INMUNOHISTOQUIMIA

Nuestro estudio inmunohistoquímico con los anticuerpos primarios, obtenidos de los sueros de los ratones inmunizados con las bandas proteicas de los geles, dio como resultado la presencia de material inmunoreactivo en diferentes estructuras cerebrales de las ratas. En el único trabajo en el que se ha descrito resultados similares a los nuestros (Rodríguez et al, 1993), en este, se prepararon anticuerpos contra diferentes fracciones proteicas del LCR de un niño hidrocefálico de un mes de edad que no se encontraban en el LCR de un sujeto adulto normal. El resultado fue, que de entre todos los anticuerpos obtenidos, dos marcaban los plexos coroideos y el OSC de un feto humano de 13SG, y uno de ellos, el anti-150kDa, también marcaba el OSC de la rata. En nuestro trabajo, en las ratas WKY, además de encontrar marcaje en el OSC y en los plexos coroideos con los anticuerpos contra las bandas 1 y 2, hemos encontrado material inmunoreactivo en otros órganos circunventriculares y estructuras como son: las células ependimarias del OSC y del OSF, en neuronas del parénquima del OSF, en fibras de la zona interna y externa de la EM, en la regón pial y subpial del AP y la región próxima al canal central así como en la parte lateral del AP, en el epéndimo adyacente al Núcleo Arcuato, en los tanicitos y en las prolongaciones nerviosas de la EM. Por otro lado, con los anticuerpos contra la banda-3, en la rata WKY, hemos encontrado material inmunoreactivo disperso en el OSC, y un marcaje de ligera intensidad en el epéndimo subyacente. Este anticuerpo, marcó las fibras de la zona interna de la EM, y otras regiones tales como el núcleo periventricular hipotalámico, células de los núcleos magnocelulares, paraventricular y supraópticos hipotalámicos del grupo control.

Nosotros además, con dichos anticuerpos, estudiamos estas estructuras en los animales hipertensos, observando las siguientes diferencias: Con el anticuerpo antibanda-1, en la rata SHR, a diferencia de lo que ocurre en la rata WKY, se observa material inmunoreactivo en todo el OSC, tanto en la zona ependimaria como en la hypendimaria. Asímismo, tanto la rata SHR como la rata WKY presentan material inmunoreactivo regularmente distribuido por todas las células ependimarias, sin variaciones entre ambas cepas. En cuanto al OSF, y con el anticuerpo antibanda-1, encontramos marcaje en el parénquima y en la región ependimaria del OSF de la rata control, y en cambio, en la rata SHR, apenas se aprecia material inmunoreactivo en este órgano. Respecto a la EM, el anticuerpo antibanda-1 marcó fibras de la EM de la rata SHR que no aparecen en la rata WKY. Este mismo anticuerpo marcó el parénquima del AP, la región subpial en la rata WKY, y en la rata SHR reaccionó ligeramente con la membrana pial. Con el anticuerpo antibanda-2, observamos marcaje en el epéndimo subyacente al OSC y en las células ependimarias de dicho órgano, tanto en la rata WKY como en la rata SHR. En la EM, con el anticuerpo contra la banda-2, encontramos material inmunoreactivo en las células, prolongaciones de los tanicitos y en algunas terminales nerviosas de la rata WKY mientras que en la rata SHR, el anticuerpo contra la banda-2 reaccionó con el epéndimo adyacente del III ventrículo. Este mismo anticuerpo reaccionó con el parénquima del OSF tanto de la rata WKY como de la rata SHR, aunque observamos una mayor intensidad de marcaje en la rata SHR al compararla con la WKY. Respecto al AP, el anticuerpo contra la banda-2 reacciona ligeramente con la región pial y subpial del AP de la rata WKY, mientras que en la rata SHR, con el anticuerpo antibanda-2 no se observa una reacción positiva clara, apreciándose un ligero marcaje en las neuronas y células del parénquima del AP. Con el anticuerpo contra la banda-3, observamos que al comparar el OSC del grupo SHR con el grupo WKY, no encontramos

diferencias cualitativas destacables, y respecto a la EM apreciamos un reducido marcaje en la rata WKY, y en la rata SHR apenas hay material inmunoreactivo en el parénquima de la EM, apareciendo sólo en la región ependimaria. Al comparar las ratas controles con las hipertensas, observamos que con el anticuerpo antibanda-3 existe, cualitativamente, una mayor intensidad de la reacción inmunohistoquímica en el OSF de los animales hipertensos al compararlos con los controles. Respecto al AP, al comparar ambos grupos, no se aprecian diferencias cualitativas con este anticuerpo.

Teniendo en cuenta estos hallazgos, y el hecho evidente, tal y como se describió anteriormente, de que la hipertensión se acompaña de una dilatación ventricular progresiva, dilatación ventricular que no fue encontrada por nosotros ya que ésta se manifiesta tanto cualitativamente como cuantitativamente en las ratas SHR después de las 15 semanas (Ritter, 1986), podemos decir que la hipertensión produce una alteración de la composición proteica del LCR y además, que estas proteínas anormales son secretadas en mayor y menor medida por diferentes órganos circunventriculares tales como el OSC, el OSF, los Plexos Coroideos, el AP. Por otro lado, podemos afirmar que de todos ellos, es el OSF el que parece mas alterado en la hipertensión, ya que con la banda-3 es la estructura que más concentración de material inmunoreactivo presenta al compararla con el OSF de los animales normotensos y otras estructuras circunventriculares, tanto de los animales normotensos como de los hipertensos.

Diversos autores han demostrado la existencia de diferentes hormonas y neurotransmisores implicados en el Sistema Angiotensina Vasopresina cerebral, empleando métodos bioquímicos o inmunocitoquímicos. Así, por ejemplo, Covenas y colaboradores en el año 2000 describen la inmunoreactividad de la hormona alfa-MSH en el cerebro de la rata y del gato; Carpenter y

colaboradores en 1983, establecen la existencia de angiotensina II y vasopresina en el AP por estudios bioquímicos; asímismo, otros autores han establecido que la inyección de angiotensina II produce cambios en la actividad neuronal del AP en gatos (Borison et al, 1975) y en concordancia con estos estudios electrofisiológicos, otros autores refieren que el AP media los efectos cardiovasculares de la angiotensina II en el gato, pero no en la rata (Simpson, 1981). Barnes y Ferrario (1980) han mostrado que la estimulación eléctrica del área postrema del perro produce una gran respuesta presora que se acompaña de un aumento en la frecuencia cardíaca, simulando los efectos de la AII; otros estudios han empleado la hibridación in situ para clarificar el papel del AP en la síntesis y regulación de arginina-vasopresina, examinando la expresión de AVP en ratas con el AP lesionada (Arima et al, 1998), dando como resultado que el AP estimula la síntesis y liberación de AVP. Muchos trabajos destacan la presencia de receptores, para muchos neurotransmisores, localizados en el AP mediante estudios autoradiográficos; así, por ejemplo, estudios de esta índole han mostrado niveles elevados de receptores opiáceos en el AP de la rata (Atweh y Kuhar, 1977), lugares de unión alfa-2-adrenérgicos (Unnerstall et al, 1984; Robertson y Leslie, 1985), receptores para la colecistoquinina (Zarbin et al, 1983) y una elevada concentración de receptores serotoninérgicos (Higgins et al, 1989). Junto con los estudios bioquímicos e inmunocitoquímicos que han establecido la existencia de muchas sustancias en el AP, algunos estudios electrofisiológicos han demostrado que muchos compuestos, cuando se inyectan iontoforéticamente, tienen efectos excitatorios sobre las neuronas del AP; estos incluyen la angiotensina II y la vasopresina (Carpenter et al, 1983). Nosotros, en el presente trabajo empleando métodos inmunohistoquímicos, no hemos podido confirmar los resultados descritos por los autores anteriores, ya que no hemos visualizado material inmunoreactivo en el AP, al emplear como anticuerpos primarios anti-vasopresina, anti-angiotensina II, anti-ECA y anti-

alfaMSH. Por el contrario hemos podido observar positividad para dichos anticuerpos en otros órganos circunventriculares y otras estructuras cerebrales como son: la Eminencia Media, el Órgano Subfornical, la Neurohipófisis y los núcleos Paraventricular y Supraóptico hipotalámicos. Estos péptidos puede que no se encuentren en el AP o que se liberen con mucha rapidez, lo cual impida que sean visualizados mediante métodos inmunohistoquímicos.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

HEMODINAMICOS Y CORPORALES

I PESO CORPORAL

1 - Las ratas controles tratadas con captopril pesaron más que las ratas controles no tratadas, y ambas, a su vez, pesaron más que las ratas hipertensas, tratadas y no tratadas, entre las cuales no hay diferencias importantes en las edades estudiadas.

II INGESTA DE LIQUIDOS

2- Respecto a la ingesta de líquidos, el tratamiento con captopril produce un aumento en la ingesta de salino de tal manera que, las ratas control tratadas bebieron prácticamente la misma cantidad de ambos fluidos. Ambos grupos de animales hipertensos consumieron más cantidad de salino que los controles, a la edad de 10 y 15 semanas. No hubo diferencias entre los dos grupos de animales hipertensos en la ingesta de ambos fluidos.

III TENSIÓN ARTERIAL

3- Los grupos controles, independientemente del tratamiento recibido presentan una tensión arterial similar. Las ratas genéticamente hipertensas no tratadas tienen la mayor tensión arterial. Las diferencias en la tensión arterial, entre los dos grupos de ratas hipertensas comienzan a ser significativas a partir de la semana 12 y son claramente evidentes en la semana 15. No hay diferencias estadísticamente significativas entre la tensión arterial de los grupos control no tratado, control tratado e hipertenso tratado.

IV FRECUENCIA CARDIACA

4- La frecuencia cardíaca no se vio afectada por la edad, ni por el grupo estudiado, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los cuatro grupos estudiados.

BIOQUÍMICOS

ESTUDIO ELECTROFORÉTICO

5- El LCR de las ratas SHR presenta bandas proteícas que no se encuentran en el LCR de las ratas WKY.

6- Las bandas proteicas encontradas se correspondes los pesos moleculares siguientes: 1- de 141 kDa , 2- de 117.5, la 3- de 48, la 4 de 43.5 y la de 20 kDa

7- Nuestros hallazgos de bandas proteicas en el LCR de las ratas SHR y el hecho de que la hipertensión se acompañe de una dilatación ventricular progresiva apoya la posibilidad de que en las ratas SHR esté alterado el material secretor liberado al LCR por los órganos circunventriculares.

ANATOMIA MICROSCOPICA

V ESTUDIO CULITATIVO

8- El Área Postrema de los grupos controles e hipertensas presentan una distribución de sus componentes: células gliales, fibras nerviosas, neuronas y vascularización similar, independientemente tratamiento y edad estudiada.

VI CUANTITATIVO-MORFOMETRICO

9- El tamaño de los núcleos de las neuronas del área postrema rostral disminuye proporcional y significativamente con la edad en los grupos de ratas controles, sin embargo, la hipertensión en estas ratas induce un aumento progresivo de dichos núcleos neuronales desde las 10 hasta las 15 semanas. El factor forma no fue influenciado de forma significativas por la hipertensión, la edad y/o el tratamiento.

10- El área nuclear, perímetro nuclear y forma nuclear de los ependimocitos del AP rostral no se modifican, presentando unos valores similares entre los grupos controles e hipertensos independientemente edad y el tratamiento.

11- En general los parámetros nucleares de las células del área postrema caudal están muy poco afectados no presentando prácticamente diferencias significativas relacionadas con la edad, hpertension y/o tratamiento.

12-La parte rostral del área postrema parece tener relación con la hipertensión en este tipo de ratas, ya que la presión arterial elevada produce un aumento del área y el perímetro nuclear de sus neuronas, aumento que no se corrige con el tratamiento con captopril.

13-La parte caudal del AP parece estar menos implicada en la regulación y mantenimiento de la presión arterial y en los mecanismo de la regulación cardiovascular.

INMUNOHISTOQUIMIA

14- Los órganos circunventriculares así como el epitelio ependimario en general son las estructuras cerebrales implicadas en la secreción de las proteinas encontradas en LCR de las ratas hipertensas ya que los anticuerpos contra las bandas proteicas marcan a mayor o menor medida dichas estructuras tanto de las ratas WKY como SHR.

15- El AP esta mas relacionada con las proteínas 1 y 2 que son las de mayor peso molecular WKY ya que los anticuerpos contra dichas bandas proteicas han marcado ligeramente dicha estructura.

16-La hipertensión producen una disminución e incluso eliminación del MIR para la banda 2 en AP.

17-El OSC y EM la hipertensión produce una redistribución del material inmunoreactivo para las bandas 1 y 2 sin que aprecie una mayor intensidad de la reacción inmunohistoquimica.

18-En el OSF hipertensión produce un aumento de la concentración de material inmunoreactivo para las bandas 2 y sobre todo la 3, al compararla con el OSF de los animales normotensos y con los otros órganos circunventriculares.

19-No hemos podido visualizar mediante métodos inmunohistoquímicos material inmunoreactivo en el AP, al emplear anti-vasopresina, anti-angiotensina-II, anti-ECA y anti-alfaMSH como anticuerpos primarios, lo cual puede deberse a que no se encuentren en el AP estos péptidos, o que se liberen con mucha rapidez hacia otras zonas.

20-Teniendo en cuenta que el tratamiento con captopril produce una normalización de la presión arterial de las ratas SHR, que el tratamiento no corrige la dilatación ventricular (Reitter y cols 1988), que la hipertensión experimental cursa con ventrículos de tamaño normal (Reiter y cols 1988) y que la hipertensión en las ratas SHR produce una alteración de las proteinas del LCR. Sugerimos que la alteración de las proteínas y/o de los OCV implicados en su secreción sea causa y no consecuencia de este tipo de hipertensión

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

AGNEW WF., ALVAREZ RB., YUEN TGH., CREWS AK. (1980). "Protein synthesis and transport by the rat choroid plexus and ependyma". *Cell. Tissue Res.,* 208: 261.

AJAYI AA., CAMPBELL BC., MEREDITH PA., KELMAN AW., REID JL. (1985). "The effect of captopril on the reflex control heart rate: possible mechanisms". *Br. J. Clin. Pharmacol.,* 20: 17-25.

AKERT K., POTTER HD., ANDERSON JW. (1961). "The Subfornical Organ in mammals I. Comparative and topographical anatomy". *J. Comp. Neurol.,* 161: 1.

AKMAYEV IG. AND POPOV AP. (1977). "Morphological aspects of the hypothalamic-hypophyseal system. VII. The tanycites: Their relation to the hypophyseal adrenocorticotrophic function. An ultrastructural study". *Cell. Tissue Res.,* 180, 263.

ALBERTS B., BRAY D., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K., WATSON JD. "Biología Molecular de la Célula". Barcelona: Ed. Omega, 1997.

AMETOV AS., GUBINAT EV. (1999). "Metabolic effects of berlipril-5 in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus and arterial hypertension". *Ter. Arkh.,*71: 22-25.

ANDREN L., KARLBERG BE., SVENSSON A., OHMAN P., NILSSON OR., HANSSON L. (1985). "Long-term effects of captopril and atenolol in essential hypertension". *Acta Med. Scand.,* 217: 155-160.

ANDREW J., TAYLOR J. (1958). "Effects of anisotonicity in the Cisterna Magna and IV ventricle of cats". *Amer. J. Physiol.,* 193-207.

ANDREWS PL., OKADA F., WOODS AJ., HAGIWARA H., KAKAIMOTO S., TOYODA M., MATSUKI N. (2000). “The emetic and anti-emetic effects of the capsaicin analogue resiniferatoxin in suncus murinus, the house musk shrew”. *Br J. Pharmacol*., 130 : 1247-1254.

ARIENS-KAPPERS CV. (1920). “Die vergleichende anatomic nervensystem der wirbeltier und des Menschen”. *I.Haarlem.* Bohn.

ARIMA H., KONDO K., MURASE T., YOKOI H., IWASAKI Y., SAITO H., OISO Y. (1998). “Regulation of vasopressin synthesis and release by area postrema in rats”. *Endocrinol.,* 139 :1481-1486.

ARMSTRONG DM., PICKEL VM., JOH TH., REIS DJ., MILLER RJ. (1981). “Immunocytochemical localization of catecholamine synthesizing enzymes and neuropeptides in the Area Postrema and Medial Nucleus Tractus Solitarius of rat brain”. *J. Comp. Neurol.,*196: 505.

ARREGUI A., IVERSEN LL. (1978). “Angiotensin-converting enzyme: presence of high activity in choroid plexus of mammalian brain”. *Eur. J. Pharmacol.,* 52: 147.

ATWEH SF., KUHAR MJ. (1977). “Autoradiographic localization of opiate receptors in rat brain. Spinal cord and lower medulla”. *Brain Res.,* 124: 53.

AVERILL DB, MATSUMURA K., GANTEN D., FERRARIO C.M. (1996). "Role of area postrema in transgene hypertension". *Hypertension,* 27: 591-597.

BALL SG., ROBERTSON JI. (1987). “Clinical pharmacology of ramipril”. *Am. J. Cardiol.,* 59: 23-27.

BAÑUELOS-PINEDA J. (1993).”Efectos del consumo crónico por corto tiempo de alcohol sobre el complejo vagal dorsal de la rata”. Tesis doctoral. Universidad de La Laguna, Tenerife.

BAÑUELOS-PINEDA J., CARMONA-CALERO E., PERIS-SANCHIS R., PÉREZ-GONZÁLEZ H., MARRERO-GORDILLO N., PÉREZ-DELGADO MM., CASTAÑEYRA-PERDOMO A. (1995). ”Alcohol intake effects on the dorsal vagal complex of the rat: a cellular morphometric study.” *Acta Anat.*, 153 : 145-150.

BARNES KL., FERRARIO CM., CONOMY JP. (1979).”Comparison of the hemodynamic changes produced by electrical stimulation on the Area Postrema and Nucleus Tractus Solitarii in the dog”.*Cir. Res.,* 45: 136.

BARNES KL., FERRARIO CM. (1980). “Characterization of the sympathofacilitative Area Postrema pathway”. *Clin. Sci.,* 59: 255.

BARNES KL. AND FERRARIO CM. (1984). “Localitation of the Area Postrema pressor pathway in the dog brain stem”. *Hypertension,* vol.6 : 482-488.

BARSOTTI A., DI NAPOLI P., TACCARDI AA., SPINA R., STUPPIA L., PALKA G., BARBACANE RC., DE CATERINA R., CONTI P. (2001). “MK-954 (losartan potassium) exerts endothelial protective effects againts reperfusion injury: evidence of an e-NOS mRNA overexpression after global ischemia”. *Atherosclerosis*, 155 : 53-59.

BECKSTEAD RM. AND NOGREN R. (1979).”An autoradiographic examination of the central distribution of the trigeminal, facial, glosspharyngeal, and vagal nerves in the monkey”. *J. Comp. Neurol.,* 184: 455.

BERECEK KH., OKUNO T., NAGAHAMA S., OPARIL S. (1983). “Altered vascular reactivity and baroreflex sensivity induced by chronic central administration of captopril in the spontaneously hypertensive rat”. *Hypertens.,* 5: 689-700.

BERECEK KH., OKUNO T., NAGAHAMA S., OPARIL S. (1984). “Effects of central administration of MK-422 on the development of hypertension in the spontaneously hypertensive rat”. *J. Hypertens.,* 2: 63-66.

BERECEK KH., SHIER DN. (1986). “Alterations in renal vascular reactivity induced by chronic central administration of captopril in the spontaneously hypertensive rat”. *Clin.. Exp.,* 7:1081-1106.

BISHOP VS., SANDERFORD MG. (2000). “Angiotensin II modulation of the arterial baroreflex: role of the Area Postrema”. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.,* 27: 428-431.

BLEZER EL., NICOLAY K., KOOMANS HA., JOLES JA. (2001). “Losartan versus enalapril on cerebral edema and proteinuria in stroke-prone hypertensive rats”. *J. Hypertension*, 14 : 54-61.

BOISSONADE FM., DAVISON JS., EGIZII R, LUCIER GE., SHARKEY KA. (1996). "The dorsal vagal complex of the ferret: anatomical and immunohistochemical studies”. *Neurogastroenterol. Motil.,* 8 : 225-272.

BORISON HL. AND BRIZZEE KR. (1951). “Morphology of emetic chemoreceptor trigger zone in cat medulla oblongata”. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.,*77: 38.

BORISON HL. (1974). “Area Postrema: chemoreceptor trigger zone for vomiting-is that all?”. *Life Sci.,* 144: 1807.

BORISON HL., HAWKEN MJ., HUBBARD JI., SIRETT NE. (1975). “Unit activity from cat Area Postrema influenced by drugs”. *Brain Res.,* 92: 153.

BOTTARI SP., KING IN., REICHLIN S., DAHLSTROEM I., LYDON N., DE GASPARON M. (1992). “The angiotensin AT2 receptor stimulates protein tyrosine phosphatase activity and mediates inhibition of particulate guanylate cyclase”. *Biochem. Biohys. Res.Com.*, 183: 206-211.

BOUTOUYRIE P., BUSSY C., LACOLLEY P., GIRERD X., LALOUX B., LAURENT S. (1999). “Association between local pulse pressure, mean blood pressure, and large-artery remodeling”. *Circulation,* 100: 1387-1393.

BRAUN HJ., RABOW H., WERNER H., VAN MONTFRANS GA., DE STIGTER C., ZWINDERMAN AH. (1999). "Measurements of blood pressure with various techniques in daily practice: uncertainly in diagnosing office hypertension with short-term in-hospital registration of blood pressure". *Blood. Press. Monit.,* 4 :59-64.

BRIGHTMAN MW. AND REESE TS. (1969). "Junctions between intimately apposed cell membranes in the vertebrate brain". *J. Cell. Biol.,* 40: 648.

BRIZZEE KR., KLARA PM. (1984). " The structure of the mammalian Area Postrema". *Federation Proc.,* 43: 2944.

BRIZZEE KR., NEAL LM. (1954). "A reevaluation of the cellular morphology of the Area Postrema in view of recent evidence for a chemoreceptor function". *J. Comp. Neurol.,*100: 41.

BRODY MJ., JOHNSON AK. (1980). "Role of the anteroventral third ventricle (AV3V) region in fluid and electrolyte balance, arterial pressure regulation and hypertension". *Raven Press,* vol 6: 249.

BROOKS MJ., HUBBARD JI., SIRETT NE. (1983). "Extracellular recording in rat Area Postrema in vitro and the effects of cholinergic drugs, serotonin and angiotensin II". *Brain Res.,* 261:85.

BROWNFIELD MS., REID IA., GANTEN D., GANONG WF. (1982). "Differential distribution of immunoreactive angiotensin and angiotensin-converting enzyme in rat brain". *Neuroscience,* 7: 1759.

BRUNER CA., MANGIAPANE ML., FINK GD. (1985). "Subfornical Organ: Does it protect againts Angiotensin II- induced hypertension in the rat?". *Circ. Res.,* 56: 462.

CACHOFEIRO V., GUAN H., NASJLETTI A. (1993). "Mecanismo de acción de los IECA: nuevas perspectivas". *Hipertensión,* 10: 27-31.

CAMPBELL DJ., HABENER JF. (1986). “Angiotensin gene is expressed and diferentially regulated in multiple tissues of the rat”. *J. Clin. Invest.,* 78: 31-39.

CAMPBELL DJ., KLADISl A., SKINNER SL., WHITWORTH JA. (1991). “Characterization of angiotensine peptides in plasma of anefric man”. *J. Hypertens.,*9: 265-274.

CAMPBELL NP., McKAY DW. (1999). “Accurate blood pressure measurement: why does it matter?”. *CMAJ.,* 161: 277-278.

CAMPOS-ORTEGA JA., FERRES-TORRES R. (1965). “Sobre el sustrato del Órgano Vasculoso de la Lámina Terminalis en la rata albina”. *An. Anat.,* 41: 381-409.

CARMONA-CALERO EM., PÉREZ-DELGADO MM., CASTAÑEYRA-PERDOMO A., PÉREZ-GONZÁLEZ H., FERRES-TORRES R. (1990). “Development of the Median Eminence in the male mouse kariometric effect of neonatal and prepuberal castration”. *Journal Fur Hirnsorschung,* 31: 315.

CARMONA-CALERO EM, PÉREZ-GONZÁLEZ H., PÉREZ-DELGADO MM., MARRERO-GORDILLO N., PUCHADES-COMPANY MJ., CASTAÑEYRA-PERDOMO A., FERRES-TORRES R. (1996). “Efectos de la administración crónica de captopril sobre el Órgano Subcomisural del ratón”. *Arch. Esp. Morfol.,*1: 109-112.

CARPENTER DO., BRIGGS DB. STROMINGER N. (1983). “Responses of neurons of canine Area Postrema to neurotransmitters and peptides”. *Cell. Mol. Neurobiol.,* 3: 113.

CARPENTER MB., SUTIN J (1983). “Human Neuroanatomy”. Baltimore, 145.

CASTAÑEYRA-PERDOMO A., MEYER G., FERRES-TORRES R. (1980). “Aspectos filogenéticos del Órgano Subcomisural”. *Morfol. Normal y Patol.,* 4: 501-509.

CASTAÑEYRA-PERDOMO A., FERRES-TORRES R., MEYER G. (1983). "Karyometric changes in the Subcommissural Organ of male mice after gonadectomy". *Neurosci. Lett.,* 39: 27.

CASTAÑEYRA-PERDOMO A., PÉREZ-DELGADO MM., GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ T., FERRES-TORRES R. (1988). "Development of the Subfornical Organ and the Area Postrema of the male albino mouse. Karyometric effecto of neonatal and prepuberal castration". *Acta Anat.,* 131: 13.

CASTAÑEYRA-PERDOMO A., PÉREZ-DELGADO MM., MEYER G., CARMONA-CALERO E., GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ T., FERRES-TORRES R. (1991). "Alcohol effects on the morphometric development of the Subfornical Organ and Area Postrema of the albino mouse". *Alcohol,* 8: 65.

CASTAÑEYRA-PERDOMO A., MEYER G., HEYLINGS DJ. (1992). "Early development of the human Area Postrema and Subfornical Organ". *The Anatomical Record*, 232: 612-619.

CASTAÑEYRA-PERDOMO A., MEYER G., CARMONA-CALERO E., PÉREZ-GONZÁLEZ H., PÉREZ-DELGADO MM., BAÑUELOS-PINEDA J., FERRES-TORRES R. (1993). "The effects of chronic administration of captopril on the mouse Subfornical Organ and Area Postrema". *Experimental Neurology*, 120, 145-148.

CASTAÑEYRA-PERDOMO A., MEYER G., CARMONA-CALERO E., BAÑUELOS-PINEDA J., MÉNDEZ-MEDINA R., ORMAZÁBAL-RAMOS C., FERRES-TORRES R. (1994). "Alterations of the Subcommissural Organ in the hydrocephalic human fetal brain". *Dev. Brain Res.,* 79: 316-320.

CASTAÑEYRA-PERDOMO A., CARMONA-CALERO E., MEYER G., PÉREZ-GONZÁLEZ H., PÉREZ-DELGADO MM., MARRERO-GORDILLO N., RODRÍGUEZ S., RODRÍGUEZ EM. (1998). "Changes in the secretory activity of the Subcommissural Organ of spontaneously hypertensive rats!". *Neurosci. Lett.,* 246: 133-136.

CASTAÑEYRA-PERDOMO A., PÉREZ-DELGADO MM., CARMONA-CALERO E., PÉREZ-GONZÁLEZ H., MARRERO-GORDILLO N., FERRES-TORRES R. (1999). "Effect of hypertension and captopril treatment on the

vassopressin in the rat Median Eminence and Posterior Lobe of the hypophysis. An immunohistochemical study".*Histol. Histopathol.*, 14: 45-49.

CASTAÑEYRA-PERDOMO A, LUZ MARÍA FERNANDEZ-GONZALEZ, ISABEL MARTÍNEZ DE LA PEÑA-VALENZUELA, EMILIA CARMONA-CALERO, ROMUALDO FERRES-TORRES, HERMINIA PÉREZ-GONZÁLEZ, MARÍA DEL MAR PÉREZ-DELGADO, MANOLI CASTAÑEYRA-MARTIN,NORBERTO MARRERO-GORDILLO, Y CARLOS ORMAZABAL-RAMOS. (1999). "Cambios en las proteinas del liquido cefaloraquideo de diferentes tipos hidrocefalos humanos". *European Journal of Anatomy,*

CASTREN E., SAAVEDRA JM. (1988). "Repeated stress increase the density os angiotensin II binding sites in the rat Paraventricular Nucleus and Subfornical Organ". *Endocrinol.,* 122: 370-372.

CASTREN E., SAAVEDRA JM. (1989). "Angiotensin II receptors in Paraventricular Nucleus, Subfornical Organ, and Pituitary Gland of hypophysectomized, adrenalectomized and vasopressin-deficient rats". *Proc. Natl. Acad. Sci.,* 86, 725.

CATES PS., O'BYRNE KT. (2000). "The Area Postrema mediates insulin hypoglycaemia-induced suppression of pulsatile LH secretion in the female rat". *Brain Res.,* 853(1): 151-5, Jan.

COHEN ML., ANDERSON G., WHITE RH., GRIFFING G., MELBY J. (1984). "Enalapril and hypertension". *Am. J. Psychiatry,* 141: 1012-1013.

COHEN ML., KURZ KD. (1982). "Angiotensin converting enzyme inhibition in tissues from spontaneously hypertensive rats after treatment with captopril or MK-421". *J. Pharmacol.Exp. Ther.,* 220: 63-69.

COIL JD. AND NORGREN R. (1981). "Taste aversions conditioned with intravenous copper sulfate: Attenuation by ablation of the Area Postrema". *Brain Res.,* 212, 425.

COLLISTER JP., OSBORN JW. (1998). “Area Postrema lesion attenuates the long-term hypotensive effects of losartan in salt-replete rats”. *Am. J. Physiol.,* 274: 357-366.

CONTRERAS RJ., BECKSTEAD RN. AND NORGREN R. (1982). “The central projections of the trigeminal, facial, glossopharyngeal and vagal nerves: An autoradiographic study in the rat”. *J. Auton. Nerv. Sys.,* 6, 303.

COULTER DM., EDWARDS IR. (1987). “Cough associated with captopril and enalapril”. *Br. Med. J.,* 294: 1521-1523.

COVENAS R., DE LEÓN M., NARVAES JA., AGUIRRE JA., TRAMUS G. (2000). “Mapping of alpha-melanocyte-stimulating hormone-like immunoreactivity in the cat brainstem”. *Arch. Ital. Bio.,* 138 (2):185-194, Apr.

CRUZ C., IBARRA-RUBIO ME., PEDRAZA-CHAVERRI J. (1993). “Circulating levels of active, total and inactive renin (prorenin) angiotensin I and angiotensin II in carbotetrachloride-treated rats”. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.,* 20 (2):83-88, Feb.

CUGINI P., CRUCIANI F., TURRI M., REGINE F., GHERARDI F., PETRANGELI CM., GABRIELI CB. (1999).”Minimal-change hypertensive retinopathy and arterial pre-hypertension”. *Int.Ophthalmol.*, 22(3): 145-49.

CUNNINGHAM ET., MISELIS RR., SAWCHENKO PE. (1994). “The relationship of efferent projections from the Area Postrema to Vagal Motor and brain stem catecholamine-containing cell groups: an axonal transport and immunohystochemical study in the rat”. Neuroscience. 58(3): 635-48.

CUSHMAN DW., CHELING HS., SABO EF., ONDETTI MA. (1977). “Desing of potent competitive inhibitors of angiotensin-converting enzyme. Carboxyalkanoyl and mercaptoalkanoyl amino acids”. *Biochemistry.*, 16:5484-5491.

CHAI CY., HELLMANN W., TSENG CJ., LUFT FC., GANTEN D. (1993). “Angiotensinogen mRNA and pressor reactions to angiotensin in brain stem areas of spontaneously hypertensive rats”. *Clin..Exp.Hypertens.,*15(4): 709-25.

CHAN RK., PETO CA., SAWCHENKO PE. (2000). “Fine structure and plasticity of barosensitive neurons in the nucleus of solitary tract”. *J. Comp. Neurol.,* 422(3): 338-51.

CHERNICKY CL., BARNES KL., CONOMY JP., FERRARIO CM. (1980). “A morphological characterization of the canine Area Postrema”. *Neurosci. Lett.,* 20, 37.

CHIU AT., HERBLIN WF., McCALL DE. (1989).“Identification of angiotensin II receptor subtypes”. *Biochem. Biophys. Res. Commun.,* 165: 196-203.

CHRYSANT GS., BAKIR S., OPARIL S. (1999). “Dietary salt reduction in hypertension what is the evidence and why is it still controversial?”. *Preg. Cardiovasc.Dis.,* 42(1): 23-38.

D. FREIFELDER (1979). “Tëcnicas de Bioquimica y Biología Molecular”. Ed. Reverté.

DANSER AH., DERKX FH., HENSE HW., JEUNEMAITRE X., RIEGGER GA., SCHUNKERT H.(1998). “Angiotensinogen (M235T) and angiotensin-converting enzyme polymorphisms inassociation with plasma renin and prorenin levels”. *J. Hypertens.,* 16: 1879-1883.

DAS S., CHATTERJEE TK., GHOSH JJ. (1982). “Adrenal involvement in captopril-induced potentiation in morphine analgesia”. *Eur. J. Pharmacol.,* 85: 217-220.

DAVIDSON AJ., CAPPENDIJK SL., STEPHAN FK. (2000). “Feeding-entrained circadian rhythms are attenuated by lesions of the parabrachial region in rats”. *Am. J. Physiol.,* 278 (5): 1296-1304.

DAVISSON RL., YANG G., BELTZ TG., CASSELL MD., JOHNSON AK., SIGMUND CD. (1998). “The brain renin-angiotensin system contributes to the hypertension in mic containing both the human renin and human angiotensinogen transgenes”. *Circ. Res.,* 83 (10): 1047-58.

DEMPSEY EW. (1973). “Neural and vascular ultrastructure of the Area Postrema in the rat”.*J. Comp. Neurol.,* 150, 177.

DENDY A., NICHOLLS GE. (1910). “On the ocurrence of a mesocoelic recess in the human brain and its relation to the Subcommissural Organ of lower vertebrates; with special reference to the distribution of reissner’s fibre in the vertebrate series and its possible function”. *Anat. Anz.,*37: 496-508.

DE TERESA-GALVAN E. (1993). “Sistema renina-angiotensina-aldosterona y corazón”. *Hipertensión,* 10, Suppl.3: 8-14.

DE WILDT DJ., VAN DER VEN JC, VAN BERGEN P, DE LANG H, VERSTEEG DH. (1994). “A Hypotensive and bradycardic action of gamma 2-melanocyte-stimulating hormone (gamma 2-MSH) microinjected into the nucleus tractus solitarii of the rat”. *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol*, 349(1): 50-6.

DIBIANCO R. (1986). “Adverse reactions with angiotensin converting enzyme inhibitors”. *Med. Toxicol.,* 1: 122-141.

DONOVAN SD., FERGUSON AV. (1988). “Subfornical Organ connections with septal neurons projecting to the Median Eminence”. *Neuroendocrinol.,* 48: 67.

DUNN FG., OIGMAN W., VENTURA HO., MESSERLI FH., KOBRIN I., FROHLICH ED. (1984). “Enalapril improves systemic and renal hemodynamic and allows regression of left ventricular mass in essential hypertension”. *Am. J.Cardiol.,* 53. 105-108.

DUSÏNG R., KAYSER G., WAGNER S., SCHERF H., GLÄNZER K., PREDEL H.G., KRAMER H.J. (1987). "Baroreflex setting and sensivity in normal subjects: effects of pharmacological inhibition of the angiotensin I converting enzyme". *Am. J. Cardiol.,* 59: 122-127.

DZAU VJ. (1987)."Implications of local angiotensin productionin cardiovascular physiology and pharmacology". *Am.J. Cardiol.,*59: 59-65.

DZAU VJ. (1989). "Multiple pathways of angiotensin production in the blood wessel wall: Evidence, possibilities and hypothesis". *J. Hypertens.,*7: 933-936.

EDSTROM JE., EICHNER D. (1960). "Qualitative und quantitative Ribonukleinäureuntersuchungen an den Ganglienzellen der NN supraopticus und paraventricularis der Ratte unter normalen und experimentellen Bedingungen". *Anat. Anz.,* 108: 312-319.

EDWARDS C.R.W. AND PADFIELD P.L. (1985). "Angiotensin converting enzyme inhibitors: past, present and bright future". *Lancet I,* 34-35.

EDWARDS GL., RITTER RC. (1981). "Ablation of the Area Postrema causes exaggerated consumption of preferred foods in the rat". *Brain Res.,* 216, 265.

EDWARDS IR., COULTER DM., BEASLEY DM., MACINTOSH D. (1987). "Captopril: 4 years of post marketing surveillance of all patiens in New Zealand". *Br.J. Clin. Pharmacol.,* 23: 529-536.

ELFONT RM., EPSTEIN AN., FITZSIMONS JT. (1984). "Involvement of the renin-angiotensin system in captopril-induced sodium appetite in the rat". *J. Physiol. Lond.,* 354: 11-27.

ENG R., MISELIS RR. (1981). "Effect of knife cuts of Subfornical Organ projections on drinking behavoir". *Soc. Neurosci. Abstr.,* 7, 638.

ERSLEV AJ., ALEXANDER JC., CARO J., BOYD RL. (1982). “Hematologic side effects of captopril and associated risk factors”. *Cardiovasc. Rev. Rep.,* 3: 660-671.

FABRIS B., CHEN B., PIPIC V., PERICH R., JOHNSTON CI. (1990). “Inhiition of angitensin-converting enzyme in plasma and tissue”. *J. Cardiovasc. Pharmacol.,* 15: 6-13.

FAY R., KUBIN L. (2000). “Pontomedullary distributiion of 5-HT2A receptor-like protein in the rat”. *J. Comp. Neurol*., 418 (3):323-45.

FÉLIX D., AKERT K. (1974). “The effect of angiotensin II on neurons of the cat Subfornical Organ”. *Brain Res.,* 76: 350-353.

FÉLIX D., SCHELLING P., HAAS HL. (1982). “Angiotensin and single neurones”. *Exp. Brain Res.,* Suppl.4: 255-263.

FERGUSON AV., RENAUD LP. (1984). “Hypothalamic Paraventricular Nucleus lesion decrease pressor responses to Subfornical Organ stimulation”. *Brain Res.,* 305.361-364.

FERGUSON AV., BOURQUE CW., RENAUD LP. (1985). “Subfornical Organ and Supraoptic Nucleus connections with septal neurons in rats”. *Am. J. Physiol.,* 249: 214-218.

FERGUSON AV., RENAUD LP. (1986). “Systemic angiotensin acts at Subfornical Organ to facilitate activity of neurohypophysial neurons”. *Am. J. Physiol.,* 251: 712-717.

FERGUSON AV., PLOTSKY PM. (1987). “ A role for the Subfornical Organ in the control of ACTH secretion”. *Physiologist,* 30: 127-131.

FERGUSON AV. (1988). “Systemic angiotensin acts at the Subfornical Organ to control the activity of Paraventricular Nucleus neurons with identified projections to the Median Eminence”. *Neuroendocrinol.,* 47: 489-497.

FERGUSON AV., SMITH P. (1990). “Cardiovascular responses induced by endothelin microinjections intoArea Postrema”. *Regul. Pept.,* 27: 75-85.

FERGUSON A. (1991). “The Area Postrema: A cardiovascular control centre at the blood-brain interface?”. *Can. J. Physiol. Pharmacol*., 69:1026-1034.

FERGUSON A., LOWES V. (1994). “Modified cardiovascular sensitivity of the Area Postrema to vasopressin in spontaneously hypertensive rats”. *Brain Res.,* 636:165-168.

FERNADEZ-GONZALEZ LM., MARTINEZ DE LA PEÑA-VALENZUELA I., CARMONA-CALERO E., CASTAÑEYRA PERDOMO A., FERRES TORRES R., PEREZ-GONZALEZ H., PEREZ-DELGADO MM., CASTAÑEYRA-MARTIN M., MARRERO GORDILLO N., ORMAZABAL-RAMOS C. (1999). ‘Changes in the rats subcommissural organ of induced hydrocephalus’. European J. Anat., 3 : 34-35.

FERRARIO CM., BARNES KL., MICHELINI LC. (1986). “Area Postrema lesioons augment the pressor activity of centrally administered vasopressin”. *Clin. and Exper.,* 7: 1107-1125.

FERRES-TORRES R., MEYER G. (1981). “Aspectos morfológicos de la respuesta sináptica del hipocampo a la pubertad y castración”. *Premio de Edición Agustín de Bethencourt,* Caja General de Ahorros. Santa Cruz de Tenerife.

FERRIS CF., DELVILLE Y., MILLER MA., DORSA DM., DE-VRIES GJ. (1995). “Distribution of small vasopressinergic neurons in golden hamsters”. *Jour Comp. Neurology,* 360: 589-598.

FINDLAY AL., EPSTEIN AN. (1980). “Increased sodium intake is somehow induced in rats by intravenous angiotensin II”. *Hom. Behav.,* 14: 86-92.

FINK GD. (1986). “The external layer on the Median Eminence: A neurovascular synapse”. *Neurochem. Int.,*vol. 9, 1: 141-153.

FINK GD., PAWLOSKI CM., OHMAN LE., HAYWOOD JR. (1991). “Lateral parabrachial nucleus and angiotensin II induced hypertension”. *Hypertens.,* 17: 1177-1184.

FINK G.D. (1997). "Long-term sympatho-excitatory effect of angiotensin II: A mechanism of spontaneous and renovascular hypertension”. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.,* 24 (1):91-5.

FITZSIMONS JT. (1979). “The phisiology of thirst and sodium apptite”. Cambridge University Press.

FITZSIMONS JT. (1980). “Angiotensin converting enzyme inhibitors. Present and future”. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.,* 87: 117-167.

FLUHARTY SJ., EPSTEIN AN. (1983).” Sodium appetite elicited by intracerebroventricular infusion of Angiotensin II in the rat: II Synergistic interaction with systemic mineralocorticoids”. *Behav. Neurosci.,* 97. 746-758.

FOSS OP., GRAFF-IVERSEN S., ISTAD H., SOYLAND E., TJELDFLAAT L., GRAVING B. (1999). “Treatment of hypertensive and hypercholesterolaemic patiens in general practice. The effect of captopril, atenolol and pravastatin combined with life style intervention”. *Scand. J. Prim. Health Care,* 17(2): 122-127, Jun.

FOUAD FM., TARAZI RC., BRAVO EL. (1983). “Cardiac and haemodynamic effects of enalapril”. *J. Hypertens.,* Suppl. 1: 135-142.

FRANKLIN SS. (1999). ”Ageing and hypertension: The assessment of blood pressure indices in predicting coronary heart disease”. *J. Hypertens.,* suppl.5: 29-36.

FROLICH ED., (1989), “Angiotensin converting enzyme inhibitors. Present and future”, *Hypertens.,* 13:125-130.

FRISBEE JC., WEBER DS., LOMBARD JH. (1999). “Chronic captopril administration decreases vasodilatador responses in skeletal muscle arterioles”. *Am J. Hypertens.,* 12(7): 705-715.

FUKAMIZU A., SUGIMURA K., TAKIMOTO E., SUGIYAMA F., SEO MS., TAKAHASHI S., HATAE T., KAJIWARA N., YAGAMI K., MURAKAMI K. (1993). “Chimeric renin-angiotensin system demonstrates sustained increase in blood pressure of transgenic mice carrying both human renin and human angiotensinogen genes”. *J. Biol. Chem.,* 268 (16): 617-21.

GANONG WF. (2000). “Circumventricular organs: Definition and role in the regulation of endocrine and autonomic function”. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.,* 27 (5-6): 422-7.

GANTEN D., HERMANN K., BAYER C., UNGER T., LANG RE. (1983). “Angiotensin synthesis in the brain and increased turnover in hypertensive rats”. *Science Wash.,* 221: 869-871.

GARDINER TW., STRICKER EM. (1985). “ Impaired drinking responses of rats with lesions of Nucleus Medianus: Circadian dependence”. *Am. J. Physiol.,* 248: 224-230.

GATZKA CD., REID CM., LUX A., DART AM., JENNIGS GL. (1999). “Left ventricular mass and microalbuminuria: Relation to ambulatory blood pressure hypertension diagnostic service investigators”. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol,* 26 (7):514-16.

GAVRAS H., BRUNNER HR., TURINI GA. (1978). “Antihipertensive effect of the oral angiotensin converting-enzyme inhibitor SQ 14225 in man”. *N. Engl. J. Med.,* 298: 991-995.

GEHLERT DR., GACKENHEIMER SL., SCHOBER DA. (1991). “Autoradiographic localization of subtypes of angiotensin II antagonist binding in the rat brain”. *Neuroscience,* 44: 501-514.

GENES N., BOBRIE G., VAUR L., CHATELLIER G., VAISSE B., MALLION JM. (1999). “Current aspects of arterial hypertension”. *Press. Med.,* 28(16): 870-74.

GHIANI P., UVA B., VALLARINO M., MANDICHI A., MASINI M. (1988). “Angiotensin II specific receptors in Subcommissural Organ”. *Neurosci. Lett.,* 85: 212-216.

GILDENBERG PL., FERRARIO CM., McCUBBIN JW. (1973). “Two sites of cardiovascular action of angiotensin II in the brain of the dog”. *Clin. Sci.,* 44, 417.

GIVEN BD., TAYLOR T., HOLLENBERG NK., WILLIAMS GH. (1984). “Duration of action and short-term hormonal responses to enalapril (MK421) in normal subjects”. *J.Cardiovasc. Pharmacol.,* 6: 436-441.

GOMEZ HJ., CIRILLO VJ., MONCLOA F. (1987). “The clinical pharmacology of lisinopril”. *J. Cardiovasc. Pharmacol.,* 9, Suppl.3. 27-34.

GOODFIELD MJ., MILLARD LG. (1985). “Severe cutaneous reactions to captopril”. *Br. Med. J.,* 290: 1111-1118.

GOTOW T., HASHIMOTO PH. (1979). “Fine structure of the ependyma and intercellular junctions in the Area Postrema of the rat”. *Cell. Tissue Res.,* 201, 207.

GOULD SJ., HOWARD S.(1987). “An immunohistochemical study of the germinal layer in the late gestation human fetal brain”. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.,* 13: 421.

GRICHOIS ML., BLANC J., DECKERT V., ELGHOZI JL. (1992). “Differential effects of enalapril and hydralazine on short-term variability of blood pressure and heart rate in rats”. *J. Cardiovasc. Pharmacol.,*19: 863-869.

GRONAN RJ., YORK DH. (1978). “Effects of angiotensin II and acetylcholine on neurons in the Preoptic Area”. *Brain Res.,* 154, 172.

GROSS PM. (1985). “The Subfornical Organ as a model of neurohumoral integration”. *Brain Res.Bull.,* 15: 65-70.

GROSS PM. AND WEINDL A. (1987). “Peering through the windows of the brain”. *J. Cereb. Blood Flow Metabol.,* 7: 663-672.

GROSS PM. (1991). “Morphology and physiology of capillary systems in subregions of the Subfornical Organ and the Area Postrema”. *Can. J. Physiol. Pharmacol.,* 69:1010-1025.

GRUPP LA., PERLANSKI E., STETWART RB. (1991). “Systemic angiotensin II does not act the Area Postrema to suppress alcohol intake”. *Alcohol,* 8: 165.

GUIDICELLI JF., BERDEAUX A., EDOUARD A., RICHER C., JACOLOT D. (1985). “The effects of enalapril on baroreceptor mediated reflex function in normotensive subjects”. *Br. J. Clin. Pharmacol.,* 20: 211-218.

GUTKIND JS., KURIHARA M., CASTREN E., SAAVEDRA JM. (1988). “Increased concentration of angiotensin II binding sites in selected brain areas to spontaneously hypertensive rats”. *J. Hypertens.,* 6: 79.

GWYN DG., WOLSTENCROFT JH. (1968). “Cholinesterases in the Area Subpostrema”. *J. Comp. Neurol.,* 133, 289.

HABER E. (1984). “Editorial retrospective: Renin inhibitors”. *N. Engl. J. Med.,* 311: 1631-1633.

HACKENTHALE., KLETT C. (1993). “Angiotensin II and dexamethasone regulate angiotensinogen mRNA by differents mechanisms”. *J.Steroid. Biochem. Mol. Biol*, 45(1-3): 33-40.

HANSSON L. (1999). “Treatment of hypertension and the J curve”. *J.Clin. Hypertens.,*1(2):136-140, Oct.

HARDING AJ., HALLIDAY GM., OLIVER J. (1995). “Comparison of the number of vasopressing-producing hypothalamic neurons in rats and humans”. *J.our Neuroendocrinol.,* 7: 629-636.

HASSER EM, CUNNINGHAM JT, SULLIVAN MJ, HAY M. (2000). “Area Postrema and sympathetic nervous system effects of vasopressin and angiotensin II”. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.,* 27 (5-6): 432-6.

HASSER EM., BISHOP VS. (1990). “Reflex effect of vasopressin after blockade of V1 receptors in the Area Postrema”. *Circulation Research*., 67: 265-271.

HEAVEY DJ. AND REID JL. (1978). “The effect of SQ 14225 on baroreceptor reflex sensitivy in conscious normotensive rabbits”. *Br. J. Pharmacol.,* 64: 389-390.

HELGELAND A., STROMMEN R., HAGELUND CH., TRETLI S. (1986). “Enalapril, atenolol and hydrochlorothiazide in mild to moderate hypertension”. *Lancet,* 1: 872-875.

HEYMES C., SWYNHEDAUW B., CHEVALIER B. (1994). “Activation of angiotensinogen and angiotensin-converting enzyme gene expression in the left ventricle of senescent rats”. *Circulation.,* 90(3):1328-33.

HIGGINS GA., KILPATRICK GJ., BUNCE KT., JONES BJ., TYERS MB. (1989). “5-HT3 receptor antagonists injected into the Area Postrema inhibit cisplatin-induced emesis in the ferret”. *Br. J. Pharmacol., 97, 247.*

HILGERS KF., HILGENFELDT U., VEELKEN R., MULEY T., GANTEN D., LUFT FC., MANN JF. (1993). "Angiotensinogen is cleaved to angiotensin in isolated rat blood vessels". *Hypertens.,* 21: 1030-1040.

HINDS JW., RUFFET TL. (1971). "Cell proliferation in the neural tube: an electron microscopic and Golgi analysis in the mouse cerebral vesicle". *Z. Zellforsch,* 115: 226.

HÖFER H. (1958). "Zur morphologie der circumventrikularen organe des Zwischenhirnes der Säugetiere". Verh. Deutsch. Zool. Ges., 202-251, Frankfurt..

HÖFER H. (1965). "Circumventrikulare organe des Zwischenhirns". Handb.der Primatenkunde*.,* Karger, Basel-New York.

HOFFMAN WE., PHILLIPS MI., SCHMID PG. (1977). "Central angiotensin II induced responses in spontaneously hypertensive rats". *Am. J. Physiol.,* 232: 426-433.

HOLLENBERG NK. (1985). "Advances in therapeutics: converting enzyme inhibition and the kidney". *Am. J. Med*, 79:1-2.

HOLLENBERG NK. (1990). "El sistema renina-angiotensina en la hipertensión arterial y en la insuficiencia cardíaca congestiva". *Hoechst, 2: 45-47.*

HOPKINS PN., LIFTON RP., HOLLENBERG NK., JEUNEMAITRE X., HALLOUIN MC., SKUPPIN J., WILLIAMS GH. (1996). "Blunted renal vascular response to angiotensin II is associated with a common variant of the angiotensinogen gene and obesity". *J. Hypertens,.* 14(2):199-207.

HOSOYA Y. AND MATSUSHITA M. (1981). "A direct projection from the hypothalamus to the Area Postrema in the rat, as demonstrated by the HRP and autoradiographic methods". *Brain Res.,* 214, 144.

HUANG W., SVED AF, STRICKER EM. (2000). "Vassopressin and oxytocin release evoked by NaCl loads are selective blunted by Area Postrema lesions". *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.,* 278 (3): R732-40.

HUNTER SJ., WIGGAM MI., ENNIS CN., WHITEBREAD HM., SHERIDAN B., ATKINSON AB., BELL PM. (1999). "Comparison of effects of captopril used either alone or combination with a thiazide diuretic on insulin action in hypertensive Type 2 diabetic patiens: A double-blind crossover study". *Diabet Med.,* 16 (6): 482-87, Jun.

HYDE TM., MISELIS RR. (1983). "Effects of Area Postrema caudal, medial Nucleus of Solitary Tract lesions on food intake and body weight". *Am. J.. Physiol.,* 244: 577-587.

IOVINO M., STEARDO L. (1984). "Vasopressin release to central and peripheral angiotensin II in rats with lesions of the Subfornical Organ".*Brain Res.,* 322, 365.

IOVINO M., PAPA M., MONTELEONE P., STEARDO L. (1988). "Neuroanatomical and biochemical evidence for the involvement of the Area Postrema in the regulation of vasopressin release in rats". *Brain Res.,* 447, 178.

Irigoin C, Rodriguez EM, Heinrichs M, Frese K, Herzog S, Oksche A and Rott R (1990). Immunocytochemical study of the subcommissural organ of rats with induced postnatal hydrocephalus. Exp. Brain Res 82:384-392.

ISRAEL A., CORREA FMA., NIWA M., SAAVEDRA JM. (1984). "Quantitative determination of angiotensin II binding sites in rat brain and pituitary gland by autoradiography". *Brain Res.,* 322, 280.

JABLONSKIS LT., ROGERS PF., LUNGERSHAUSEN YK., HOWE PRC. (1992). "Chronic central administration of enalapril lowers blood pressure in stroke-prone spontaneously hypertensive rats". *J. Autonom. Nerv. Systm,* 39: 119-126.

JENKINS AC., DRESLINSKI GR., TADROS SS., GROEL JT., FRAND R., HERSZEG SA. (1985). "Captopril in hypertension: Seven years later". *J. Cardiovasc. Pharmacol.,* Suppl.1: 96-101.

JENSEN LL., HARDING JW., WRIGHT JW. (1992). "Role of Paraventricular Nucleus in control of blood pressure and drinking in rats". *Am.J. Physiol.,* 262: 1068-1075.

JINDRA A., KVETNANSKY R., BELOVA TI., SUDAKOV KV. (1980). "Effect of acute and repeated inmobilization stress on plasma renin activity, catecholamines and corticosteroids in Wistar and August rats". Usdin, Kvetnansky, kopin eds. Catecholamines and stress, 249.

JOHNSON JA., KURZ KD., SIRIPAISARNPIPAT S., KOIVUNEN DG., ZEIGLER DW., SAKAMOKI T., PAYNE CG. (1983). "Humoral factor in pressor hyperresponsiveness in renal prehypertensive rabbits". *Hypertens.,* 5: 453-549.

JOHNSON AK., GROSS PM. (1993). "Sensory circumventricular organs and brain homeostatic pathways". *Faseb J.,* 7: 678-686.

JOHNSTON CI., CLAPPISON BH., ANDERSON WP., YASUJIMA M. (1982). "Effects of angiotensin converting enzyme inhibition of circulating and local kinin levels". *Am. J. Cardiol.,* 49: 1401-1404.

JOINT NATIONAL COMMITTEE ON DETECTION, EVALUATION AND TREATMENT OF HIGH BLOOD PRESSURE. (1988). "The 1988 report". *Arch. Intern. Med.,* 148: 1023-1038.

JONES KF., PFAFF DW., McEWEN BS. (1985). "Early estrogen-induced nuclear changes in rat hypothalamic ventromedial neurons: An ultrastructural and morphometric analysis". *J. Comp. Neurol.,* 239-255.

JOY MD., LOWE RD. (1970). "Evidence that the Area Postrema mediates the central cardiovascular response to angiotensin II". *Nature,* 228, 1303.

JOY MD.(1971). “The intramedullary connections of the Area Postrema involved in the central cardiovascular response to angiotensin II”. *Clin. Sci.,* 41: 89.

KADEKARO M., GROSS PM. (1985). “Elevated glucose utilization in the Subfornical Organ during dehydration”. *Brain Res.Bull.,* 15: 99-104.

KALIA M. AND WELLES RV.(1980). “Brain stem projections of the aortic nerve in the cat: a study using tetramethyl benzidine as the substrate for horseradish peroxidase”. *Brain Research,* 188: 23.

KALIA M., SULLIVAN JM. (1982). “Brainstem projections of sensory and motor components of the vagus nerve in the rat”. *J. Comp. Neurol.,* 211: 248-265.

KALKMAN EA., VAN HAREN P., SAXENA PR., SCHOEMAKER RG. (1999), “Early captopril prevents myocardial infarction-induced hypertrophy but no angiogenesis”, *Eur. J. Pharmacol.,* 369(3): 339-348.

KEIL LC., SUMMY-LONG JY., SEVERS WB. (1975). “Release of vasopressin by angiotensin II”. *Endocrinol.,* 96, 1063.

KHATTAR RS., SWALES JD., BANDFIELD A., DORE C., SENIOR R., LAHIRI A. (1999). “ Prediction of coronary and cerebrovascular morbidity and mortality by direct continuous ambulatory blood pressure monitoring in essential hypertension”. *Circulation*, 100(10): 1071-76.

KING LS. (1937). “Cellular morphology in the Area Postrema”. *J. Comp. Neurol.,* 66: 1-22.

KLETT C., NOBILING R., GIERSCHIK P., HACKENTHAL E. (1993). “Angiotensin II stimulates the synthesis of angiotensinogen in hepatocytes by inhibiting adenylcyclase activity and stabilizing angiotensinogen mRNA”. *J.Biol. Chem.,* 268(33): 95-107.

KLUNGEL OH., DE BOER A., PAES AH., NAGELKERKE NJ., SEIDELL JC., BAKKER A. (2000). “Influence of correction for within-person variability in blood pressure on the prevalence, awareness, treatment and control of hypertension”. *Am. J. Hypertens.,* 13: 88-91.

KLUVER H. AND BARRERA E. (1953). ”A Method for the combined staining of cells and fibres in the nervous system”. *J. Neuropath, Ex Neurol.*, 12.

KNAUSS TC., DUNN MJ. (1991). “Angiotensin converting enzyme inhibition in the kidney”. *Hypertens. Ann.,* 67-82.

KNEPEL W., NUTTO D., MEYER DK. (1982). “Effect of transection of Subfornical Organ efferent projections on vasopressin release induced by angiotensin or isoprenaline in the rat”. *Brain Res.,* 248, 180.

KNIGGE KM., SCOTT DE. (1970). “Structure and function of the Median Eminence”. *Amer.J. anat.,* 129: 223-244.

KOLMER W. (1921). “Uber eine eigenartige Bezeihung von Wanderzellen zu den Choroidealplexus des Gehirns der Wirbeltiere”. *Anat. Anz.,*54, 15.

KRISCH B. (1978). “Vasopressin transport in the area of Supraoptic Nucleus and Zona Interna of the Median Eminence in thirst-stressed rats”. *Verh. Anat. Ges.,* 707-708.

KRISCH B., LEONHARDT H. (1980). “Luliberin and somatostatin fiber terminals in the subfornical organ of the rat”. *Cell. Tissue Res.,* 210: 33-45.

KROIDL R. (1968). “Die arterielle und venose Versorgung der Area Postrema der Ratte”. *Z. Zeilforsch.,* 89: 430.

KROKE A., FLEISCHHAUER W., MICKE S., KLIPSTEIN-GROBUSCH K., WiLLICH S.N., BOEING H. (1998)."Blood pressure measurement in epidemiological studies: A comparative analysis of two methods. Data from the epic-postdam study." *J. Hypertens.,* 6: 739-46.

KROKE A., BERGMANN M., KLIPSTEIN-GROBUSCH K., BOEING H. (1998). "Obesity, body fat distribution and body build: Their relation to blood pressure and prevalence of hypertension". *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord*., 11: 1062-70.

KRSTEW E., JARROT B., LAWRENC A.J.(1998). "Autoradiographic visualization of axonal transport of adenosine A1 receptors along the rat vagus nerve and characterisation of adenosine A1 receptor binding in the dorsal vagal complex of hypertensive and normotensive rats". *Brain. Res*., 802(1-2): 61-8.

KUMAGAI H., AVERILL DB., FERRARIO CM. (1992). "Renal verve activity in rats with spontaneous hypertension: Effect of converting enzyme inhibitor". *Am. J. Physiol.,*263: 109-115.

LAEMMLI UK. (1970). "Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage". *Nature,* 227: 680.

LAJEMI M., GAUTIER S., BENETOS A. (1999). "Rigidity of large arteries and cardiovascular risk epidemiological aspects and genetics determinants". *Pathol. Biol.,* 47(6): 614-22, Jun.

LANE JR., STARBUCK EM., JOHNSON AK., FITTS DA. (1999). "Effects of bile duct ligation and captopril on salt appetite and renin-aldosterone axis in rats". *Physiol. Behav.,* 66(3):419-25.

LARAGH J.H., BRENNER B.M. (1990). "Hypertension. Pathophysiology, diagnosis and management". 1 st edition. New York: Raven Press.

LEE MAE., BÖHM M., PAUL M., GANTEN D. (1993). “Tissue renin-angiotensin systems. Their role in cardiovascular disease”. *Circulation.,* 87: 7-13.

LEGAIT E. (1942). “Les organes ependymaires du troisieme ventricle”. These Doctorate Med. Nancy, G.Thomas.

LEI BL., GUO ZG. (1998).”Bradykinin B2 receptor antagonist icatibant reduces inhibitory effect of captopril on growth of cultured neonatal rat cardiomyocytes”. *Chung Kuo Yao Li Hsueh Pao.,* 3: 241-244.

LESLIE RA., GWYN DG. AND MORRISON CM. (1978). “The fine structure of the ventricular surface of the Area Postrema of the cat, with particular reference to supraependymal structures”. *Am. J. Anat.,* 153, 172.

LESLIE RA., GWYN DG., LOVE JA. (1979). “Uptake of exogenous protein by supraependymal cells of the feline Area Postrema”. *Experiencia,* 35, 539.

LESLIE RA., GWYN DG., HOPKINS DA. (1982). “The ultraestructure of the Subnucleus Gelatinosus of the Nucleus of the Tractus Solitarius in the cat”. *J. Comp. Neurol.,* 206, 109.

LESLIE RA., OSBORNE NN. (1984). “Amines and other transmitter-like compounds in the bovine Area Postrema”. *Brain Res. Bull.,* 13, 357.

LESLIE RA. (1986).”Comparative aspects of the Area Postrema: Fine-structural considerations, help to determine its function”. *Cell. And Mol. Neurobiology,* 6, 95.

LI Z., FERGUSON AV. (1993). “Subfornical Organ efferents to Paraventricular Nucleus utilize angiotensin as a neurotransmitter”. *Am. J. Physiol.,* 265: 302-309.

LIGA ESPAÑOLA PARA EL CONTROL DE LA HTA. (1990). “Consenso para el control de la hipertensión arterial en España”. Madrid. Ministerio de Sanidad y Consumo.

LIND RW., JOHNSON AK. (1982). “Subfornical Organ-median preoptic connections and drinking and pressor responses to angiotensin II”. *J. Neurosci.,* 2: 1043-1051.

LIND RW., OHMAN LE., LAMSING LB., JOHNSON AK. (1983). “Transection of Subfornical Organ neuronal connercions diminishes the pressor response to intravenously infused angiotensin II”. *Brain Res.,* 275: 361-364*.,*

LIND RW., SWANSON LW., GANTEN D. (1984). “Angiotensin II immunoreactivity in the neural afferents and efferents of the Subfornical Organ of the rat”. *Brain Res.,* 321: 209-215.

LIND RW., SWANSON LW., GANTEN D. (1985). “Organization of angiotensin II immunoreactive cells and fibers in the rat central nervous system”. *Neuroendocrinol.,* 40: 2-24.

LIPPOLDT A., BUNNEMANN B., IWAI N., METZGER R., INAGAMI T., FUXE K., GANTEN D. (1993). “Cellular localization of angiotensin type 1 receptor and angiotensinogen mRNA in the Subfornical Organ of the rat brain”. *Neurosci. Lett.,* 150(2): 153-58.

LOEWY AD. AND BURTON H.(1978). “Nuclei of the Solitary Tract: efferent projections to the lower brain stem and spinal cord of the cat”. *J. Comp. Neurol.,* 181: 421.

LOWES VL., FERGUSON AV. (1994). “Modified cardiovascular sensivity of the Area Postrema to vasopressin in spontaneously hypertensive rats”. *Brain Research*., 636: 165-168.

LUCCHI ML., COSTERBOSA GL., BARAZZONI AM., FACCIOLI G., PETROSINO G., BORTOLAMI R. (1989). “The fine structure of the Area Postrema of the sheep”. *Arch. Italien. De Biol.,* 127-37.

LUCHNER A., BURNETT JC., JONGASAKI M., HENSE HW., RIEGGER GL., SCHUNKERT H. (1998). "Augmentation of cardiac natriuretic peptides by beta-receptor antagonism: Evidence from a population based study". *J. Am Coll. Cardiol.,* 32(7): 1839-44, Dec.

MANGIAPANE ML., SIMPSON JB. (1980). "Subfornical Organ: forebrain site of pressor and dipsogenic action of angiotensin II". *Am. J. Physiol.,* 239: 382-389.

MANNI E., LUCCHI ML., FILIPPI GM., BORTOLAMI R. (1982). "Area Postrema and the Mesencephalic Trigeminal Nucleus". *Exp. Neurol.,* 77, 39.

MARK MH., FARMER PM. (1984). "The human Subfornical Organ: An anatomic and ultrastructural study". *an. of Cl. and Lab. Sci.,* 14, 427.

MATSUMURA K., AVERILL DB., FERRARIO CM. (1999). "Role of AT1 receptors in Area Postrema on baroreceptor reflex in spoontaneously hypertensive rats"., *Brain Res*., 850 (1-2): 166-72.

McGREGOR GA., MARKADUN D., ROULSTON JE., JONES JC. (1979). "Essential hypertension: effect of an oral inhibitor of angiotensin-converting enzyme". *Br. Med. J.,* 2:1106-1109.

McKELVIE RS., BENEDICT CR., YUSUF S. (1999). "Evidence based cardiology: Prevention of congestive heart failure and management of asymptomatic left ventricular dysfunction". *BMJ.,* 318: 1400-1402.

McMAHON T. (1985). "Bipolar affective sumptoms associated with use of captopril and abrupt withdrawal of pargyline and propanolol". *Am. J. Psychiatry,* 142: 759-760.

MELANDER O., MATTIASSON I., MARSAL K., GROOP L., HULTHEN UL. (1999). "Heredity for hypertension influences intra-uterine growth and relation between fetal growth and adult blood pressure". *J. Hypertens.,*17(11): 1557-61.

MENDELSOHN FAO., QUIRION R., SAAVEDRA JM., AGUIERA G., CATT KJ. (1984). "Autoradiographic localization of angiotensin II receptors in the brain". *Proc. Natl. Acad. Sci.,* 81: 1575-1579.

MERVAALA E., DEHMEL B., GROSS V., LIPPOLDT A., BOHLENDER J., MILIA AF., GANTEN D., LUFT FC. (1999). "Angiotensin-converting enzyme inhibition and AT1 receptor blockade modify the pressure-natriuresis relationship by additive mechanisms in rats with human renin and angiotensinogen genes". *J Am Soc Nephrol.,* 10:1669-80.

MESULAM MM., MUFSON EJ. (1982). "Insula of the old world monkey I: Architectonics in the ínsulo-orbito-temporal component of the paralimb brain". *J. Comp. Neurol.,*212: 1-22.

MICHELINI LC., BARNES KL., FERRARIO CM. (1986). "Area Postrema lesions augment the pressor activity of centrally administered vasopressin". *Clin. Exp. Hypertens.,* 8, 1107.

MILLHOUSE OE. (1972). "Light and electron microscopic studies of the ventricular wall". *Z. Zellforsch*., 127: 149.

MINAMI J., KAWANO Y., ISHIMITSU T., MATSUOKA H., TAKISHIT S. (1999). "Acute and chronic effects of a hypocaloric diet on 24-hour blood pressure, heart rate and heart-rat variability in mildly-to-moderately obese patients with essential hypertension". *Clin. Exp.Hypertens.,* 21(8): 1413-27.

MISELIS RR. (1981). "The efferent projections of the Subfornical Organ of the rat: A circummventricular organ within a neural network subserving water balance". *Brain Res.,* 230: 1-23.

MISELIS RR., WEIS ML. AND SHAPIRO RE. (1987). "Modulation of the visceral neuraxis". *Circumventricular Organs and Body Fluids,*vol.III (Groll.P.M.ed.), Boca Raton, CRC Press, 143.

MIYAJIMA E., SHIGEMASA T., YAMADA Y., TOCHIKUBO O., ISHII M. (1999). “Angiotensin II blunts while an angiotensin-converting enzyme inhibitor arguments, reflex sympathetic inhibitions in humans”. *Clin. Exp.Pharmacol. Physiol.,* 26(10): 797-802, Oct.

MOE KE., WEISS ML., EPSTEIN AN. (1984). “Sodium apetite during captopril blockade of endogenous angiotensin II formation”. *Am. J. Physiol.,* 247: 356-365.

MOREST DK. (1960). “A study of the structure of the Area Postrema with Golgi methods”. *Am. J. Anat.,* 107, 291.

MOREST DK. (1967). “Experimental study of the projections of the Nucleus of the Tractus Solitarius and the Area Postrema”. *J. Comp. Neurol.,* 130: 277-300.

MOREST DK. (1969). “The growth of dendrites in the mammalian brain”. *Z. Anat. Entwicklungsgesch.,* 128: 290-317.

MORLIN C., BAGLIVO H., BOEIJINGA JK. (1987). “Comparative trial of lisinopril and nifedipine in mild to severe essential hypertension”. *J. Cardiovasc. Pharmacol.,* 9, Suppl. 3:49-52.

MOUW D., BONJOUR JP., MALVIN RL., VANDER A. (1971). “Central action of angiotensin II in stimulating ADH release”. *Am. J. Physiol.,* 220-239.

NAKAO M., NOMURA S., SHIMOSAWA T., FUJITA T., KUBOI T. (1999). “Blood pressure biofeedback treatment, organ damage and sympathetic activity in mild hypertension”. *Psychother Psychosom.,* 68(6): 341-47.

NAKASHIMA Y., FOUAD FM., TARAZI RC. (1984). “Regresion of left ventricular hypertrophy from systemic hypertension by enalapril”. *Am. J. Cardiol.,* 53: 1044-1049.

NARAYANAN Y., NARAYANAN CH. (1987). “ Neuronal development in the trigeminal mesencephalic nucleurs of the duck under normal and hypothyroid states: A ligth microscopic morphometric analysis”. *Anat. Rec.,* 217: 79.

NARKIEWICZ K., SOMERS VK. (1997). “Endurance training in mild hypertension-effects on ambulatory pressure and neural circulatory control”. *Blood Press Monit,.* 2(5): 229-235.

NATHASON JA. (1979). “B-adrenergic-sensitive adenylate cyclase in secretory cells of choroid plexus”. *Sci.,* 204: 843.

NAVARRO M. (1996). “Colocalization of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptors, glucose transporter GLUT-2, and glucokinase mRNA in rat hypothalamic cells: Evidence for a role of GLP-1 receptor agonists as an inhibitory signal for food and water intake”. *J. Neurochem.,* 67(5): 1982-91.

NAZARALI A.J., GUTKIND J.S., CORREA F.M.A., SAAVEDRA J.M. (1989). “Enalapril decreases angiotensin II receptors in Subfornical Organ of SHR”. *Am. J. Physiol.,* 256: H1609-H1614.

NELISSEN-VRANCKEN HJ., KUIZINGA MC., DAEMEN MJ., SMITH JF. (1998). “Early captopril treatment inhibits DNA synthesis in endothelial cells and normalization of maximal coronary flow in infarcted rat hearts”. *Cardiovasc. Res.,* 215-223.

NEUTEL., SMITH DH., WEBER MA. (1999). “Is high blood pressure a late manifestation of the hypertension syndrome?”. *Am. J. Hypertens.*, 12: 215-223.

NEWTON BNV., MALEY B., TRAURIG HH. (1983). “The distribution of met-enkephalin (ME), serotonin (5-HT) and substance P (SP) immunoreactivities in the Area Postrema of the rat and cat”. *Proc. Soc. Neurosci.,* 9: 293.

NG KKF., VANE JR. “Some properties of angiotensin converting enzyme in the lung in vivo”. *Nature,* 225: 1142-1144, 1970.

NISHIDA Y., HOSOMI H., BISHOP VS. (1997). “Long-term effects of AVP-induced neurohumoral interaction via Area Postrema on body fluid and blood pressure”. *Am J Physiol*, 273: R1696-703.

NISHIDA Y., SUGIMOTO I., MORITA H., MURAKAMI H., HOSOMI H., BISHOP VS.”Suppression of renal sympathetic nerve activity during portal vein infusion of hypertonic saline”. *Am. J. Physiol.,* 274: 97-103, Jan, 1998.

OBERMÜLLER N., UNGER TH., CULMAN P., GOHLKE P., DE GASPARO M., BOTTARI SP. (1991). “Distribution of angiotensin II receptor subtypes in rat brain nuclei”. *Neurosci. Let.,.* 132: 11-15.

O’BRIEN AA., RAJKUMAR C., BULPITT CJ. (1999). “Blood pressure lowering for the primary and secondary prevention of stroke: Treatment of hypertension reduces the risk of stroke”. *J.Cardiovas Risk.,* 6(4): 203-205.

OKUNO T., NAGAHAMA S., LINDHEIMER MD., OPARIL S. (1983). “Attenuation of the development of spontaneous hypertension in rats by chronic central administration of captopril”. *Hypertens.,* 5: 653-662.

OLAJIDE D., LADER M. (1985), “Psychotropic effects of enalapril maleate in normal volunteers”, *Psychopharmacology,* 86: 374-376.

ONDETTI MA., WILLIAMS NJ., SABO EF., PLUSCEC J., WEAVER ER., KOCY O. “Angiotensin-converting enzyme inhibitors from the venom of Bothrops Jaraca. Isolation, elucidation of structure and syntesis”. *Biochemistry,* 19:4033-4039, 1971.

ONOYAMA K., KUMAGAI H., NANISHI F. (1986). “Pharmacokinetics properties of a new angiotensin I converting enzyme inhibitor (alacepril) in normal office workers”. *Curr. Ther. Res.,* 40.543-550.

OSBORN JW., COLLISTER JP., CARLSON SH. (2000). “Angiotensin and osmoreceptor inputs to the Area Postrema: Role in long-term control of fluid homeostasis and arterial pressure”. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.,* 27 (5-6): 443-9.

OSSENKOPP KP. (1983). “Taste aversions conditioned with gamma radiation: Attenuation by Area Postrema-lesions in rats”. *Behav. Brain Res.,* 7, 297.

PAGE IH. (1987). “Hypertension mechanisms”. Grune and Straton, Orlando, 347.

PALKOVITS M. (1987). “Summary of structural and functional aspects of the circumventricular organs”. P.M. Gross: Circumventricular Organs and Body Fluids CRC Press, Boca Ratón, Florida, 209-218..

PARKER RM., BARNES JM., GE J., BARBER PC., BARNES NM..(1996). “Autoradiographic distribution of (3H)-(S)-zacopride-labelled 5-HT3 receptors in human brain”. *J. Neurol. Sci.,*144(1-2):119-127.

PASHCHENKO PS., SUKHOTERIN AF. (2000). “The structural organization of the normal rat Area Postrema and under conditions of chronic exposure to gravitional loads”. *Morfologia,* 117 (2): 36-41.

PERICO N., REMUZZI G.(1998). “Angiotensin II receptor antagonists and treatment of hypertension and renal disease”. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.,* 7(5):571-78.

PETERS A., PALAY SL., WEBSTER H.F. (1976). “The fine structure of the nervous system. The neurons and supporting cells”. Saunders, Philladelphia, 264.

PHILLIPS MI., FÉLIX D., HOFFMAN WE., GANTEN D. (1977). “Angiotensin-sensitive sites in the rat brain ventricular system”. W.M. Cowan and J.A. Ferrendelli (eds.), Society for Neuroscience Symposia, 2, 308.

PHILLIPS MI. (1987). “Functions of angiotensin in the central nervous system”. *Annu.Rev.Physiol.*, 49:413-435.

PHILLIPS MI.”Brain angiotensin and the female reproductive cycle”. *Adv Exp Med Biol.*, 377: 357-70, 1995.

PICKEL VM., CHAN J., GANTEN D. (1986). “Dual peroxidase and colloidal gold-labeling study of angiotensin converting enzyme and angiotensin-like immunoreactivity in the rat Subfornical Organ”. *The J. Of Neurosc.,* 6: 2457.

PINES L. (1926). “Uber ein bisher unberachtes gebilde im gehirn einiger säugetiere: Das Subfornikale Organ des III ventrikles”. *J. Psychol. Neuro.,* 34: 3-4.

PUCHADES COMPANY MJ. (1995). “Efectos de la Hipertensión Arterial y de su Tratamiento con Captopril sobre el ÓrganoSubfornical”. Tesis Doctoral. Universidad de La Laguna. Tenerife.

PUCHADES COMPANY MJ., CARMONA-CALERO E., PÉREZ-GONZÁLEZ H., MARRERO-GORDILLO N., PÉREZ-DELGADO MM., CASTAÑEYRA-PERDOMO A. (1996). "Efectos de la hipertensión arterial y su tratamiento sobre el Órgano Subfornical". En: José Regidor y Carmen Paz Suárez Araujo (Eds). Neurociencia y Computación Neuronal. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria y Sociedad Canaria de Neurociencias: Las Palmas de Gran Canaria.

QUIAN Z.M., KOOM HW. (1998). "Area Postrema is essential for the maintenance of normal blood pressure under cold stress in rats”. *Exp Brain Res*, 121 (2): 186-90.

RAKHIT A., HURLEY ME., TIPNIS V., COLEMAN J., ROMMEL A. (1986). “Pharmacokinetics and pharmacodynamics of pentopril, a new angiotensin-converting enzyme inhibitors in humans”.*J. Clin. Pharmacol.,*26: 156-164.

RAMSAY DJ. (1982). “Effects of circulating angiotensin II on the brain”. *Raven Press,* vol. 7, 263.

RAY PK., CHOUDHURY SR. (1984). “Responses of ependyma of the rat third ventricle to operative loss of cerebrospinal fluid: A transmission electron microscopical study”. *J. Anat.,* 138: 513.

RBAL R. (1965). “Struktur und reaktionene der Area Postrema beim Menschen”. *Acta Neuroveg.,* 27: 241.

REAUX A., FOURNIE-ZALUSKI MC., DAVID C., ZINI S., ROQUES BP., CORVOL P., LLORENS-CORTES C. (1999). “Aminopeptidase A inhibitors as potential central antihypertensive agents”.*Proc. Natl.Acad.Sci.,* 13415-20, Nov.

REID JL., MILLAR JA., CAMPBELL BC. (1983). “Enalapril and autonomic reflexes and exercise performance”, *J. Hypertens.,* Suppl. 1: 129-134.

REID IA. (1984). “Actions of angiotensin II on the brain: Mechanisms and physiologic role”. *Am. J. Physiol.,* 246.

RENAUD LP., ROGERS J., SGRO S. (1983). “Terminal degeneration in Supraoptic Nucleus following Subfornical Organ lesions: Ultrastructural observations in the rat”. *Brain Res.,* 275: 365.

RENELAND R., HAENNI A., ANDERSSON PE., ANDREN B., LITHELL H. (1999). “Skeletal muscle angiotensin-converting enzyme and its relationship to blood pressure in primary hypertension and healthy elderly men”. *Blood Press.,* 8(1): 16-22.

RITTER S., Mc GLONE JJ., KELLEY KW. (1980). “Abscense of lithium-induced taste aversion after Area Postrema lesion”. *Brain Res.,* 201(2):501-506, Nov.

ROBERTSON HA., LESLIE RA. (1985). “Noradrenergic alpha-2-binding sites in vagal dorsal motor nucleurs and nucleus tractus solitarius: Autoradiographic localization”. *Can. J. Physiol. Pharmac.,* 63, 1190.

RODRÍGUEZ EM., OKSCHE A., HEIN S.,YULIS R. (1992). "Cell biology of the Subcommissural Organ". *Int. Rev. Cytol.,*135: 39-121.

RODRÍGUEZ EM, JARA P., RITCHER H., MONTECINOS H., FLÁNDEZ B., WIEGAND R., OKSCHE A. (1993). "Evidence for the release of CSF-Soluble secretory material from the Subcommissural Organ, with particular reference to the situation in the human". The Subcommissural Organ, an Ependymal Brain Gland, 121-131, Springer-Verlag, Berlín.

ROESSMANN V., VELASCO ME., SINDLEY SD., GAMBETTI P. (1980). "Glial fibrillary acidic protein inependymal cells during development. An immunocytochemical study". *Brain Res.,* 200-213.

ROMERO MI. (1997). "Identification of growth hormone-releasing hormone and somatostatin neurons projecting to the median eminence in normal and growth hormone-deficient Ames dwarf mice". *Neuroendocrinol.,* 65:107-16.

ROSSI M., FABBRI A., VAGHEGGINI G., PLACIDI S., GREDIDIO L., CUPISTI A., GIUSTI C. (1999). "Endothelial function of dermal microcirculation in patients with essential arterial hypertension". *Minerva Cardioangiol.,* 47: 617-18.

ROTH GI., YAMAMOTO WS. (1968). "The microcirculation of the Area Postrema in the rat". *J.Comp. Neurol.,* 133, 329.

RUBIN B., LAFFAN RJ., KOTLER DG., O`KEEFE H., DAMAIO DA., GOLDBERG ME. "SQ 14,225 (D-3-mercapto-2 methylpropanolyl-Lproline): a novel orally active inhibitor of angiotensin I converting enzyme". *J. Pharm. Exp. Therap.,* 204: 271-280, 1978.

RUIZ-GAYO M., SOMOZA B., BRAVO R., FERNÁNDEZ-ALFONSO MS., GONZÁLEZ C. (2000). "Chronic losartan treatment decreases angiotensin II-mediated facilitation of noradrenaline release in the caudal artery of spontaneously hypertensive rats". *Life Sci*., 67 (26): 3153-62.

SAAVEDRA JM., CHEVILLARD C. (1982). “Angiotensin converting enzyme is present in the Subfornical Organ and other circumventricular organs of the rat”. *Neurosci. Lett.,* 29: 123-127.

SAAVEDRA JM., ISRAEL A., PLUNKETT LM., KURIHARA M., SHIGEMATSU K., CORREA FMA. (1986). “Quantitative distribution of angiotensin II binding sites in rat brain by autoradiography”. *Peptides,* 7: 679-687.

SAJI H., YAMANAKA M., HAGIEWARA A., IJIRI R. (2001). “Losartan and fetal toxic effects”. *Lancet*, 357-363.

SASSANO P., CHATELLIER G., BILLAUD E., ALHENC-GELAS F., CORVOL P., MENARD J. (1987). “Treatment of mild to moderate hypertension with or without the converting enzyme inhibitor enalapril: Results of a six-month double-bind trial”. *Am. J. Med.,* 83: 227-235.

SCHALLER MD., WAEBER B., NUSSBERGER J., BRUNNER HR. (1985). “Initial evaluation of the angiotensin converting enzyme inhibitor CGS 13945 in hypertensive patients”. *Curr. Ther. Res.,* 37:843-852.

SCHILLACI G., VERDECCHIA P., DE SIMONE G., SACCHI N., BRUNI B., BENEMIO G., PORCELLATI C. (2000). “Persistence of increased left ventricular mass despite optimal blood pressure control in hypertension”. *Ital. Heart J.*, 1(5):354-60.

SERIE GRUPOS DE TRABAJO I. “Epidemiología del envejecimiento en España. Capítulo 7. Epidemiología cardiovascular en la edad geriátrica en España: revisión de los principales estudios”. *Fondo de investigaciones sanitarias.* Ministerio de Sanidad y Consumo. Madrid, 1990.

SGRO SL. (1994). “The validity of self-reported height and weight is questioned”. *Am. J. Public. Health.,* 84: 1181-1182.

SHAPIRO RE., MISELIS RR. (1985). “The central neural connections of the Area Postrema of the rat”. *J. Comp. Neurol.,* 234: 344.

SHARMA K., ELTAYEB BO., McGOWAN TA., DUNN SR., ALZAHABI B., ROHDE R., ZIYADEH FN., LEWIS EJ. (1999). “Captopril-induced reduction of serum levels of transforming growth factor-beta 1 correlates with long-term renoprotection in insulin-dependent diabetic patients”. *Am. J. Kidney Dis.,* 34 (5): 818-823.

SHATARA RK., QUEST DW., WILSON TW. (2000). “Fenofibrate lowers blood pressure in two genetic models of hypertension”. *Can. J. Physiol. Pharmacol.,* 78(5): 367-71.

SHAVER SW., KADECARO M., GROSS PM. (1990). “Focal metabolic effects of angiotensin and captopril on subregions of the rat subfornical organ”. *Peptides,* 11: 557-563.

SHAVER SW., PANG JJ., WALL KM. SPOSITO NM., GROSS PM. (1991). “Subregion topography of capillaries in the dorsal vagal complex of rats. Morphometric properties”. *J. Comp. Neurol.,* 306: 73.

SILVA-CARVALHO L., PATON JF., ROCHA I., GOLDSMITH GE., SPYER KM. (1998). “Convergence properties of Solitary Tract Neurons responsive to cardiac receptor stimulation in the anesthetized cat”. *J. Neurophysiol.,* 79(5): 2374-2382.

SIMKO F., BRAUNOVA Z., KUCHARSKA J., BADA V., KYSELOVIC J., GVOZDJAKOVA A. (1999). “Passive smoking induced hypertrophy of the left ventricle: Effect of captopril”. *Pharmazie,* 54(4): 314.

SIMONNET G., RODRÍGUEZ F., FUMOUX F., CZERNICHOW P., VINCENT JD. (1979). “Vasopressin release and drinking induced by intracranial injection of angiotensin II in monkey”. *Am. J. Physiol.,* 237, R20.

SIMPSON JB., ROUTTENBERG A. (1973). “Subfornical Organ: Site of drinking elicitation by angiotensin II”. *Science,* 181, 1172.

SIMPSON JB., EPSTEIN AN., CAMARDO JS. (1978). “Localization of angiotensin II in the Subfornical Organ of the rat”. *J. Comp. Physiol. Psychol.,* 92: 581-608.

SIMPSON JB. (1981). “The circumventricular organs and the central actions of angiotensin”. *Neuroendocrinol.,* 32, 248.

SIRETT NE., Mc LEAN AS., BRAY JJ., HUBARD JI. (1977). “Distribution of angiotensin II receptors in rat brain”. *Brain Res.,* 122: 299-312.

SIRETT NE., HUBBARD JI., BRAY JJ. (1982). “Brain angiotensin II receptors”. *Exp. Brain Res.,* 4: 233-241.

SNYDER RL., SUTIN J. (1961). “Effect of lesions of the Medulla Oblongata on electrolyte and water metabolism in the rat”. *Exp. Neurol.,* 4, 424.

SOFFER RL. (1976). “Angiotensin-converting enzyme and the regulation of vasoactive peptides”. *Annu. Rev. Biochem.,* 45, 73.

SOYANWO MA., GADALLAH M., HAMS J., KURASHI NY., EL-ESSAWI O., KHAN NA., SINGH RG., ALAMRY A., BEYARI TH. (1996). “Systemic hypertension in 50 to 60 years age group of Saudi Community of Gassim”. *Afr. J. Med. Sci.,*25(1): 87-90.

SREBO Z., LACH H., PLACKOWSKA M. (1988). “ A kariometric study of the Supraoptic and Paraventricular Nuclei of the Hippothalamus of kainic acid-treated mice”. *Folia Biol.,* 36: 53-58.

STAMLER JF., BRODY MJ., PHILLIPS MI. (1980). “ The central and peripheral effects of captopril (SQ 14225) on the arterial pressure of the spontaneously hypertensive rat”. *Brain Res.,* 186: 499-503.

STEBBINS CL, BONIGUT SS., LIVIAKIS LR, MUNCH PA. (1998). "Vassopressin acts in the Area Postrema to attenuance the exercise pressor reflex in anesthetized cats". *Am. J. Physiol.,* 274 (6Pt 2): H2116-22.

STERNBERGER LA., PETRALI JP. (1977). "The unlabeled antibody enzyme method. Attempted use of peroxidase-conjugate anigens as the third layer in the technique". *J. Histochem. Cytochem.,*25: 1036-1042.

STECKELING UM., OBERMÜLLER N., BOTTARI SP., QADRI F., VELTMAR A., UNGER TH. (1992). "Brain angiotensin: receptors, actions and possible role in hypertension". *Pharmacol. and Toxicol.,* 70:23-27.

STERNBERGER LA., HARDY PH., CICILIS JJ., MEYER HG. (1970). "The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry: preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antiperoxidase) and its use in identification of spirochetes". *J. Hystochem.Cytochem.,* 18: 315-333.

STOJIC D. (1999). "Effects of captopril and bradykinin on chorda tympani-induced salivation in cat". *Eur. J. Oral. Sci.,* 107 (1): 21-24, Feb.

SULLIVAN JM., GINSBURG BA., RATTS TE. (1979). "Hemodynamic and antihypertensive effects of captopril, an orally active angiotensin-converting enzyme inhibitor". *Hypertens.,* 1: 397-401.

SUMNERS C., TANG W., ZELENZA B., RAIZADA M. (1991). "Angiotensin II receptor subtypes are coupled with distinct signal transduction mechanisms in neurons and astrocytes from rat brain". *Proc. Natl. Acad. Sci*, 88:7567-7571.

SUZUKI H., NAKAMOTO H., NEMOTO H., SUGAHARA S., OKADA H. (2000). "Control of blood pressure and prevention of end-organ damage in patients with acelerated hypertension by combination with arotinolol and extended release nifedipine". *Hypertens. Res.*, 23(2): 159-66.

SWANSON LW., MOGESON GJ. (1981). “Neural mechanisms for the functional coupling of autonomic, endocrine and somatomotor responses in adaptive behavior”. *Brain Res.,* 3: 1-34.

SWARTZ SL., WILLIAMS GH., HOLLENBERG NK. MOORE TJ., DLUHY RG. (1979). “Converting enzyme inhibition in essential hypertension: the hypotensive response does not reflet only reduced angiotensin II formation”. *Hypertension,* 1: 106-111.

SWARTZ SL., WILLIAMS GH. (1982). ”Angiotensin converting enzyme inhibition and prostaglandins”. *Am.J.Cardiol.,* 49:1405-1409.

SZILAGYI JE., FERRARIO CM. (1980). “The role of endogenous opiates in the Area Postrema pressor pathway”. *Clin. Sci.,* 59, 267.

SZILAGYI JE., FERRARIO CM. (1981). “Central opiate system modulation of the Area Postrema pressor pathway”. *Hypertens.,* 3, 313.

SZILAGY JE., FERRARIO CM. (1987). “Chronic sodium depletion suppresses the Area Postrema pressor pathway”. *Life Sciences*., vol.40, pp 1915-1920.

TANAKA J., KABA H., SAITO H., SETO K. (1985). “Electrophysiological evidence that circulating angiotensin II sensitive neurons in the Subfornical Organ alter the activity of hypothalamic paraventricular neurohypophyseal neurons in the rat”. *Brain Res.,* 342: 361-365.

TANAKA J., SAITO H., KABA H., NOJIMA K., SETO K. (1987). “Lateral hypothalamic region excites the activity of vasopressin neurons in the Supraoptic Nucleus through Subfornical Organ neurons”. *Exp. Neurol.*, 97:212-218.

TANAKA J., SETO K. (1988). “Neurons in the lateral hypothalamic area and zona incerta with ascending projections to the Subfornical Organ area in the rat”. *Brain Res.,* 456: 397-400.

TANAKA J., 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 the Subfornical Organ in rats”. *Exp. Neurology,* 119: 235-239.

THIND GS., JOHNSON A., BHATNAGAR D., HENKEL TW. (1985). “A parallel study of enalapril and captopril and 1 year of experience with enalapril treatment in moderate-to-severe essential hypertension”. *Am. Heart J.,* 109: 852-858.

THUNHORST R., FITTS DA., SIMPSON JB. (1987). “ Separation of captopril effects on salt and water intake by Subfornical Organ lesions”. *Am.J. Physiol.,* 252: 409-418.

THUNHORST R., FITTS DA., SIMPSON JB. (1989). “Angiotensin-converting enzyme in Subfornical Organ mediates captopril-induced drinking”. *Behav. Neurosci.,* 104: 221-230.

THUNHORST RL., EHRLICH KJ., SIMPSON JB. (1990). “Subfornical Organ participates in salt appetite”. *Behav. Neurosci.,* 104: 637-642

THURSTON H., SWALES JD. (1978). “Converting enzyme inhibitor and saralasin infusion in rats: Evidence for an additional vasodepressor property of converting enzyme inhibitor”. *Circ. Res.,* 42: 588-592.

TODD PA., HEEL RC. (1986). “Enalapril: A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetics properties, and therapeutic use in hypertension and congestive heart failure”, *Drugs,* 31:198-248.

TORACK RM., FINKE EH. (1971). “Evidence for a sequestration of function within the Area Postrema based on scanning electron microscopy and the penetration of horseradish peroxidase”. *Z.Zeilforsch.,* 118, 85.

TRIBOLLET E., ARMSTRONG WE., DUBOIS-DAUPHIN M., DREIFUSS JJ. (1985). “Extrahypothalamic afferents input to the Supraoptic Nucleus area of the rat as determined by retrograde and anterograde tracing techniques”. *Neurosci.,* 15, 135.

TSUTSUMI K., SAAVEDRA JM. (1991). “Quantitative autoradiography reveals different angiotensin II receptor subtypes in selected rat brain nuclei”. *J.of Neurochem.*, 56, 348.

UNDESSER KP., HASSER EM., HAYWOOD JR., JOHNSON AK., BISHOP VS. (1985). “Interactions of vasopressin with the Area Postrema in arterial baroreflex function in conscious rabbits”. *Circ. Res.,* 56: 410-417.

UNGER T., GANTEN D., LANG RE. (1983). “Converting enzyme inhibitors: antihypertensive drugs with unexpected mechanisms”. *Trends Pharmacol. Sci.,* 4: 514-519.

UNGER T., GANTEN D., LANG RE. , SCHÖLKENS BA. (1984). “Is tissue converting-enzyme inhibition a determinant of the antihypertensive efficacy of converting enzyme inhibitors? Studies with the two different compounds, Hoe 498 and MK421, in spontaneously hypertensive rats’”. *J. Cardiovasc. Pharmacol.,* 6: 872-880.

UNGER T., GANTEN D., LANG RE., SCHÖLKENS BA. (1985). “Persistent tissue converting enzyme inhibitors following chronic treatment with HOE498 in SHR”. *J.Cardiovasc. Pharmacol.*, 7: 36-41.

UNGER T., GANTEN D., LANG RE. (1987). “Effect of converting enzyme inhibitors on tissue converting enzyme and angiotensin II: Therapeutic implications”. *Am. J. Cardiol.,*59: 18-22.

UNGER T., HORST PJ., BAUER M., DEMMERT G., RETTIG R., ROHMEISS P. (1989). “Natriuretic action of central angiotensin II in conscious rats”. *Brain Res.,* 486: 33-38.

UNNERSTALL JR., KOPAJTIC TA., KUHAR MJ. (1984). “Distribution of alpha-2-agonist binding sites in the rat and human central nervous system: Analysis of some functional, anatomical correlates of the pharmacological effects of clonidine and related adrenergic agents”. *Brain Res. Rev.,* 7, 69.

VALLOTTON MB. (1987). “The renin-angiotensin system”. *Trends. Pharmacol. Sci.,* 8: 69-74.

VAN DER KOOY D. AND KODA LY. (1983). “Organization of the projections of a circumventricular organ : The Area Postrema in the rat”. *J. Comp. Neurol.,* 219, 328.

VAN DER KOOY D. (1984). “Area Postrema; site where cholecystokinin acts to decrease food intake”. *Brain Res.,*5(2): 345-347.

VAN HOUNTEN M., SCHIFFRIN EL., MANN JFE., POSNER BI., BOUCHER R. (1980). “Radioautographic localizations of specific binding sites for blood-borne angiotensin II in rat brain”. *Brain Res.,* 186, 480.

VAN HOUNTEN M., MANGIAPANE ML., REID IA., GANONG WF. (1983). “(Sar1, ala8) Angiotensin II in cerebrospinal fluid blocks the binding of blood-borne 125I-angiotensinII to the circumventricular organs”. *Neurosci.,* 10, 1421.

VAN SCHAIK BA., GEYSKES GG., KETTNER N., BOER P., DORHOUT-MEES EJ. (1986). “Comparison of enalapril and propanolol in essential hypertension”. *Eur. J. Cli. Pharmacol.,* 29: 511-516.

VELKOV Z., LOLOV R., LOLOV V., NICOLOV N., TODOROVA M. (1986). “Effect of captopril on some ventricular contractility indices in spontaneously hypertensive rats”. *Jpn. J. Physiol.,* 36: 815-820.

VELTMAR A., CULMAN J., QADRI F., RASCHER W., UNGER T. (1992). “Involvement of adrenergic and angiotensinergic receptors in the Paraventricular Nucleus in the angiotensin-II-induced vasopressin release”. *J. Pharmacol. Exp. Ther.,* 263: 1253-1260.

VESNA P. (1988). “Long-term recording of cerebrospinal fluid pressure in freely bahaving rats”. *Brain Res.,* 426: 112-117.

VELTMAR A., CULMAN J., QADRI F., RASCHER W., UNGER T. (1992). “Involvement of adrenergic and angiotensinergic receptors in the Paraventricular Nucleus in the angiotensin-II-induced vasopressin release”. *J. Pharmacol. Exp. Ther.,* 263: 1253-1260.

VIDT DG., BRAVO EL., FOUAD FM. (1982). “Captopril”. *N. Engl. J. Med.*, 306: 214-219.

VLASSES PH., CONNER DP., ROTMENSCH HH. (1986). “Double-blind comparison of captopril and enalapril in mild to moderate hypertension”. *J. Am. Coll. Cardiol.,*7:651-660.

WALLACE ECH., BALMFORTH AJ., MORTON JJ. (1985). “The effect of acute and chronic captopril infusion on blood pressure in the two-kidney, one clip hypertensive rat”. *J. Hypertens.,* 3: 607-612.

WANG JM., SLEMBROUCK D., POTTER WD. (1996). “Expression of angiotensinogen mRNA and localization of angiotensin II and renin in peripheral adrenergic neurons in primary culture”. *Biochem.Biophys. Res. Commun.,* 229(3): 876-81.

WANG Q. (1997)- ”Interactions between leptin and hypothalamic neuropeptide Y neurons in the control of food intake and energy homeostasis in the rat”. *Diabetes.,* 46(3): 335-41.

WATANABE TK., KAWASHIMA E., SOKABE H. (1985). “Chronic effects of enalapril on blood pressure, stroke, plasma renin, urinary electrolytes and PGE2 excretion in stroke-prone spontaneously hypertensive rats”. *Jpn. J. Pharmacol.,* 38: 419-427.

WATSON WE. (1986). “Actions of angiotensin on Area Postrema of the rat”. *Brain Res.,* 380: 216.

WEBB CR., HAMLIN MN., HENRY JP., STEPHENS PM., VANDER AJ. (1986). "Captopril, blood pressure and vascular reactivity in psychosocial hypertensive mice". *Hypertens.,* 8: 119-122.

WEINBERG MH. (1985). "Blood pressure and metabolic responses to hydrochlorothiazide, captopril and the combination in black and white mild-to-moderate hypertensive patients". *J. Cardiovasc. Pharmacol.,*7, Suppl.1: 52-55.

WEINDL A., JOYNT RJ. (1972). "The Median Eminence as a circumventricular organ". *Int. Symp. ,* 280-297, Munich.

WEIR M. (1999). "Diabetes and hypertension: blood pressure control and consequences". *Am.J.Hypertens.,* 12: 170-78.

WHITEBREAD S., MELE M., KAMBER P., DE GASPARO M. (1989). "Preliminary biochemicol-characterization of two angiotensin II receptor subtypes". *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 163: 284-291.

WIEMER G., SCHÖLKENS BA., BECKER RHA., RUSSE R., (1991), "Ramipril enhances endothelial antacoid formation by inhibiting break-down of endothelium-derived bradykinin", *Hypertens.,* 18:558-563.

WILLENBROCK R., SCHEUERMANN M., THIBAULT G., HAASS M., HOHNEL K., BOHLENDER J., LUFT FC., DIETZ R. (1999). "Angiotensin inhibition and atrial natriuretic peptide release after acute volume expansion in rats with aortocaval shunt". *Cardiovasc. Res.,* 42(3): 733-742.

WILLIAMS GH., DLUHY RG. (1983). "Control of aldosterone secretion". Hypertension*:* physiopathology and treatment., 2nd ed. New York. McGraw Hill, pp. 320-338.

WILLIAMS GH. (1988). “Converting-enzyme inhibitors in the treatment of hypertension”. *N. Engl. J. Med.,*319: 1517-1525.

WISE BL., GANONG WF. (1960). “Effect of brain-stems stimulations on renal function”. *Am. J. Physiol.,* 198, 1291.

WISLOCKI GB., KING LS. (1936). “The permeability of the Hypophysis and Hypothalamus to vital dyes, with a study of the hypophyseal vascular supply”. *An. J. Anat.,*58: 421-472.

WRIGHT JW., JENSEN LL., CUSHING LL., HARDING JW. (1988). “Heightened blood pressure responsiveness to intracarotid infusion of angiotensins in the spontaneously hypertensive rat”. *Pharmacol. Biochem. Behav.,* 30: 343-346.

WU JN., BERECEK KH. (1993). “Prevention of genetic hypertension by early treatment of spontaneously hypertensive rats with the angiotensin converting enzyme inhibitor captopril”. *Hypertens.,* 22: 139-146.

WYVRATT MJ., PATCHETT AA. (1985). “Recent developments in the design of angiotensin converting enzyme inhibitors”. *Medicinal. Res. Rev.*, 5: 483-531.

YAMAZOE M., SHIOSAKA S., SHIBASAKI T., LING N., TATEISHI K., HASHIMURA E., HAMAKOA T., KIMMEL JR., MATSUO H., TOHYAMA M. (1984). “Distribution of six neuropeptides in the Nucleus Tractus Solitarii of the rat: An immunohistochemical analysis”. *Neurosci.,.*13 (4):1243-66.

YASUNAGA S., YONEMOCHI H., SAIKAWA T., SAKATA T. (2000), “Bradykinin regulates captopril-induced upregulation of beta-adrenergic receptor in cultured neonatal rat cardiomyocytes”, *J. Mol. Cell Cardiol.,* 32(1): 153-59.

ZACHARIAH PK., BONNET G., CHRYSANT SG. (1987). “Evaluation of antihypertensive efficacy of lisinopril compared to metoprolol in moderate to severe hypertension”. *J. Cardiovasc. Pharmacol.,* 9, suppl. 3: 53-58.

ZARBIN MA., INNIS RB., WANSLEY JK., SNYDER SH., KUHAR MJ. (1983). “Autoradiographic localization of cholecystokinin receptors in rodent brain”. *J. Neurosci.,* 3, 877.

ZHANG X., ABDEL-RAHMAN RA., WOOLES WR. (1992). “Vasopressin receptors in the Area Postrema differentially modulate baroreceptor responses in rats”. *Eur. J.Pharmacol.*, 222: 81-91.

ZIMMERMAN MB., BARCLAY BW., LEHMANN M., NORMAN JA. (1987). “Effects of chronic administration of angiotensin converting enzyme inhibitors on blood pressure and tissue ACE activity in the SHR”. *Clin. Exp.,*9: 473-476.

ZINI S., MASDEHORS P., LENKEI Z., FOURNIE-ZALUSKI MC., ROQUES BP., CORVOL P., LLORENS-CORTES C. (1997). “Aminopeptidase A: Distribution in rat brain nuclei and increased activity in spontaneously hypertensive rats”. *Neurosci*., 78(4): 1187-93.

ZUBENKO GS., NIXON RA. (1984), “Mood-elevating effect of captopril in depressed patients”, *Am. J. Psychiatry,* 141: 110-111.

ZUSMAN RM. (1987). “Effects of converting enzyme inhibitors on the renin-angiotensin-aldosterone, bradykinin and arachidonic acid-prostraglandin systems”. *Am. J. Kidney Dis.,*10, suppl. 1:13-23.