

SAGRARIO MONTERO MATE



* 5 3 0 9 5 6 7 5 0 4 *

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

**IMPLICACION DEL SISTEMA NORADRENERGICO CENTRAL EN LA
RESPUESTA HIPERTENSIVA AL ESTRES POR DEPRIVACION SOCIAL**

DIRECTORA: Dra. PAZ FERNANDEZ TOME

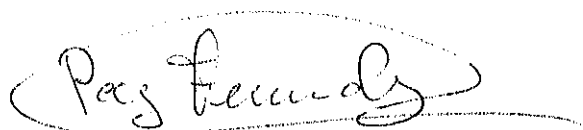
**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

1992

ESTE TRABAJO HA SIDO REALIZADO EN EL DEPARTAMENTO DE
FARMACOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

A handwritten signature in black ink, reading "Sagrario Montero". The signature is written in a cursive style with a long horizontal flourish extending to the right.

Fdo. SAGRARIO MONTERO MATE

A handwritten signature in black ink, reading "Paz Fernandez". The signature is written in a cursive style and is enclosed within a large, hand-drawn oval shape.

Fdo. DRA. PAZ FERNANDEZ TOME
Directora del trabajo

A mis padres

A M^a Mar

A Toño

Deseo expresar mi agradecimiento a la Dra. Paz Fernández Tomé por su estímulo e interés en la dirección de la presente tesis doctoral, por prestarme su experiencia.

Al Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid y, en particular, a su Director, Dr. Pedro Lorenzo, por su acogida y apoyo durante la elaboración de este proyecto.

A la Dra. M^a Paz Nava por haber aceptado gentilmente actuar como ponente de esta Tesis Doctoral y al Departamento de Fisiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid por permitir la lectura de la misma.

Quiero dar las gracias al Dr. José Angel Fuentes por su inestimable colaboración en todo momento, por compartir su tiempo y sus consejos conmigo.

A la Dra. Angela Alsasua, que ha trabajado estos años en el mismo laboratorio.

Al Dr. Juan Tamargo por ayudarme a salvar las dificultades de los últimos momentos.

Mi más sincera y cariñosa gratitud a Carmen, Eva y Nesi, que me escucharon, me alentaron y me echaron una mano siempre que lo necesitaba. Por su colaboración en las labores reprográficas de este trabajo.

A M^a Jesús, Luis, Fernando y Paco, con quienes, a pesar del poco tiempo que hemos coincidido, he compartido buenos momentos en el laboratorio.

Y, muy especialmente, quiero manifestar, no sólo mi agradecimiento sino también mi cariño, a mis compañeros de equipo: Isabel, Lucía, Teresa y Antonio, por estar siempre a mi lado, por su paciencia al escucharme, por su aliento y apoyo, por su disposición, sus consejos y cooperación en todo momento, por dejarme compartir con ellos risas y amistad.

Por último, deseo agradecer a mi familia el esfuerzo continuo de todos estos años gracias al cual he podido formarme científicamente, su comprensión, firme estímulo y constante ayuda. Por su confianza en mí, gracias.

Gracias a todos.

INDICE

RESUMEN

INTRODUCCION	1
1. Estrés	2
1.1. Evolución y definición de estrés	2
1.2. Respuesta fisiológica al estrés	4
1.2.1. Activación del sistema simpatoadrenal	4
1.2.2. Activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal	5
1.3. Modelos experimentales de estrés	6
1.3.1. Selección e interés del modelo de deprivación social	7
2. Hipertensión	7
2.1. Hipertensión esencial: Etiopatogénesis	8
2.2. Hipertensión provocada por estrés	11
3. Sistema catecolaminérgico	13
3.1. Aspectos generales de la síntesis, liberación e inactivación de las catecolaminas	14
3.2. Receptores catecolaminérgicos y mecanismo de acción	17
4. Regulación del sistema cardiovascular	19
4.1. Sistema nervioso central y control cardiovascular	20
4.1.1. Sistemas catecolaminérgicos implicados en la regulación de la presión arterial	24
4.1.1.1. Sistema noradrenérgico	25

4.1.1.2. Sistema adrenérgico	28
4.1.1.3. Sistema dopaminérgico	29
OBJETIVOS	31
MATERIALES Y METODOS	34
1. Fármacos y productos químicos	35
2. Animales de experimentación	35
3. Técnicas quirúrgicas	36
3.1. Lesión con 6-hidroxidopamina del haz noradrenérgico ventral	36
4. Modelo de estrés	37
5. Método de medida de la presión arterial	38
5.1. Medida indirecta (tail-cuff)	38
6. Determinaciones bioquímicas	39
6.1. Determinación de catecolaminas y metabolitos centrales por cromatografía líquida de alta presión	39
6.1.1. Fundamento de la técnica cromatográfica	39
6.1.1.1. Detección electroquímica	40
6.1.1.2. Detección fluorimétrica	40
6.1.2. Determinación de catecolaminas y metabolitos centrales	41
6.1.2.1. Preparación de las muestras	41
6.1.2.2. Condiciones cromatográficas para la determinación de noradrenalina, adrenalina y dopamina	42

6.1.2.3. Condiciones cromatográficas para la determinación de MHPG	42
6.1.3. Cuantificación y expresión de los resultados	43
6.2. Determinación de los niveles plasmáticos de corticosterona por radioinmunoensayo	44
6.2.1. Obtención de las muestras y separación del plasma	44
6.2.1.1. Liberación de corticosterona de proteínas plasmáticas	44
6.2.2. Radioinmunoensayo de corticosterona	45
7. Tratamiento estadístico de los resultados	47
RESULTADOS	48
1. Destrucción selectiva del haz noradrenérgico ventral mediante la administración de 6-hidroxidopamina	49
1.1. Efecto de la administración con 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral sobre la presión arterial	49
1.2. Efecto de la administración con 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral sobre la actividad catecolaminérgica central	49
1.2.1. Niveles de catecolaminas en distintas estructuras	52
1.2.2. Velocidad de renovación de noradrenalina en distintas estructuras	55
2. Estudio sobre la participación del sistema noradrenérgico central en la respuesta hipertensiva inducida por privación social	61
2.1. Modelo de estrés por privación social: caracterización de la respuesta hipertensiva y validación como modelo de estrés	61

2.2. Efecto de la lesión con 6-hidroxidopamina del haz noradrenérgico ventral sobre la respuesta hipertensiva inducida por privación social.	66
2.2.1. Efecto de la lesión con 6-hidroxidopamina del haz noradrenérgico ventral durante el desarrollo de la respuesta hipertensiva	66
2.2.2. Efecto de la lesión con 6-hidroxidopamina del haz noradrenérgico ventral durante el mantenimiento de la respuesta hipertensiva	69
3. Actividad catecolaminérgica central	69
3.1. Efecto del estrés por privación social sobre la actividad de los sistemas catecolaminérgicos centrales	72
3.1.1. Niveles de catecolaminas en distintas estructuras	72
3.1.2. Velocidad de renovación de noradrenalina en distintas estructuras	76
3.2. Actividad de los sistemas catecolaminérgicos centrales en animales lesionados en el haz noradrenérgico ventral con 6-hidroxidopamina y privados socialmente	83
3.2.1. Niveles de catecolaminas en distintas estructuras	83
3.2.2. Velocidad de renovación de noradrenalina en distintas estructuras	90
3.3. Actividad de los sistemas catecolaminérgicos centrales en animales privados socialmente y posteriormente lesionados en el haz noradrenérgico ventral con 6-hidroxidopamina	95
3.3.1. Niveles de catecolaminas en distintas estructuras	100
3.3.2. Velocidad de renovación de noradrenalina en distintas estructuras	109

DISCUSION	116
1. Caracterización de la respuesta hipertensiva en el modelo de privación social y validación del mismo como modelo de estrés	117
2. Modificación de la actividad noradrenérgica central en el transcurso del estrés por privación social	118
3. Efecto de la administración de 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral sobre los sistemas catecolaminérgicos centrales	120
4. Implicación del sistema noradrenérgico central en la respuesta hipertensiva al estrés por privación social	123
4.1. Prevención de la respuesta hipertensiva inducida por privación social en animales lesionados en el haz noradrenérgico ventral	123
4.2. Inalterabilidad de la presión arterial por la lesión del haz noradrenérgico ventral en animales hipertensos por privación social	124
5. Correlación entre la variación de la presión arterial y la modificación de la actividad noradrenérgica central inmediatamente después de la administración de 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral	125
CONCLUSIONES	127
BIBLIOGRAFIA	129

RESUMEN

Se han demostrado asociaciones entre el estrés y una amplia variedad de patologías en humanos (Canalda, 1988), desde la psiquiátrica hasta la cardiovascular, sugiriéndose que áquel podría ser el causante de la hipertensión arterial (Galosi y cols., 1981)

Paralelamente, en los últimos años, se ha consolidado la idea de que el estrés es capaz de producir una elevación de la presión arterial vía mecanismos neurogénicos u hormonales que dependen del sistema nervioso central (Brody y cols., 1987).

La importancia de las catecolaminas cerebrales en la regulación cardiovascular se apoya en el hecho de que las principales áreas del cerebro con influencia sobre la presión arterial y la frecuencia cardíaca están inervadas profusamente por neuronas catecolaminérgicas (Van de Buuse y Head, 1989). Además, en el estudio de las alteraciones neuroendocrinas producidas como consecuencia del estrés, se ha concedido gran importancia al papel de este sistema de neurotransmisión, identificándolo como el posible sustrato neuroquímico responsable de la activación inicial del sistema nervioso central a nivel hipotalámico (Spinedi y cols., 1988).

En el modelo de estrés por privación social, descrito por primera vez por Gardiner y Bennet (1977) y modificado posteriormente por Naranjo y Fuentes (1985), se genera una respuesta hipertensiva en la que se ha demostrado la participación del sistema opioide (Jiménez y cols., 1990). Al mismo tiempo se han establecido interrelaciones entre este sistema y las catecolaminas centrales, hecho que parece estar bien documentado desde 1976 en que fue descrito por Detlef Taube y colaboradores.

Todas estas consideraciones permitieron plantear la posibilidad de que el sistema catecolaminérgico central estuviera implicado en la génesis y/o en el mantenimiento de dicha respuesta hipertensiva característica de este modelo de estrés. Así, procedimos a analizar el estado funcional de los diferentes sistemas catecolaminérgicos centrales en los animales aislados hipertensos y, al mismo tiempo, a administrar la neurotoxina 6-hidroxidopamina con la finalidad de destruir una de las vías noradrenérgicas ascendentes de mayor importancia, aproximación farmacológica que ha sido notablemente utilizada en el estudio de los posibles mecanismos implicados en el desarrollo de la hipertensión en otros modelos experimentales.

Las evidencias que se han obtenido apoyando la hipótesis anterior incluyen la imposibilidad que presentan los animales, previamente lesionados en el haz noradrenérgico ventral con 6-hidroxidopamina, para desarrollar la respuesta hipertensiva inducida por privación social, así como la inalterabilidad de dicha respuesta cuando la lesión se efectúa una vez que los animales manifiestan lecturas elevadas de la presión arterial, consecuencia del sometimiento al modelo de estrés. Estos dos acontecimientos parecen indicar que la integridad de este haz catecolaminérgico ascendente es crítica para el desarrollo, pero no así para el mantenimiento, del estado hipertensivo característico del modelo de estrés en estudio.

Adicionalmente, el hecho de que la destrucción de esta vía noradrenérgica central provoque alteraciones en la presión arterial de animales normotensos, es una evidencia más del papel que este sistema de neurotransmisión juega en la regulación central cardiovascular.

La disminución de la velocidad de renovación de noradrenalina hipotalámica observada en ratas aisladas hipertensas (reflejada en un descenso significativo de los niveles de MHPG) podría estar relacionada con el aumento de la presión arterial que manifiestan esos animales. Este hecho puede explicarse si se considera al sistema noradrenérgico hipotalámico como sistema vasodepresor que, a su vez, provocara una atenuación del reflejo barorreceptor cuya reducida sensibilidad parece ser la causa de numerosos casos de hipertensión en humanos (Sleight y cols., 1970) y en el animal de experimentación (Tsyrlin y cols., 1988). La imposibilidad de los animales lesionados para presentar la elevación de la presión arterial inducida por privación social sugiere que la integridad de esta vía ascendente sería crítica para restablecer el reajuste del sistema barorreflejo. En vista de estos datos, se puede especular que la acción inhibitoria sobre el reflejo barorreceptor requiere de la acción tónica de las vías ascendentes noradrenérgicas.

Sin embargo, cuando la lesión se efectúa en animales hipertensos el tono noradrenérgico hipotalámico se mantiene deprimido sin que se origine ninguna alteración de la presión arterial. Del mismo modo, en otros modelos animales, se ha descrito un papel preventivo de la lesión con 6-OHDA antes del desarrollo de la hipertensión y su ineficacia una vez que dicho estado hipertensivo estaba establecido (Hausler y cols., 1972; Ikeda y cols., 1976). Este hecho reflejaría que los mecanismos responsables de la elevación de la presión arterial y los de su mantenimiento son, sin duda, diferentes.

Por otro lado, se han puesto de manifiesto algunas modificaciones en la transmisión catecolaminérgica central, producidas por la lesión de este haz noradrenérgico ascendente, causantes de un estado hipertensivo transitorio que podría ser consecuencia de un aumento pasajero del tono noradrenérgico en el bulbo raquídeo y en la médula espinal, hecho que constituiría, según los resultados obtenidos, el evento final que en el sistema nervioso central contribuiría al desencadenamiento de ese estado hipertensivo efímero.

INTRODUCCION

1. ESTRES

1.1. EVOLUCION Y DEFINICION DE ESTRES

En la segunda mitad del siglo XIX, el fisiólogo Claude Bernard fue el primero en reconocer la importancia de los mecanismos de adaptación para mantener la constancia del medio interno y asegurar la existencia.

A partir de los trabajos de Bernard, Walter Cannon concibió el estrés como una alteración de la homeostasis, término que introdujo en 1926 y que definió como el conjunto de diversas funciones, no todas bien conocidas, que permitiría una composición constante de las características fisico-químicas del medio interno como factor primordial del mantenimiento de la vida. Sus experiencias demostraron la importancia del sistema nervioso simpático y de la liberación de catecolaminas meduloadrenales, tanto en la respuesta a estímulos físicos como a sucesos psíquicos o emocionales. Observó que estos estímulos nocivos producían la liberación de una sustancia a la que denominó "simpatina", identificada más tarde como adrenalina (AD) y noradrenalina (NA), que era esencial para desarrollar la estrategia de "lucha o huida" ante las situaciones de emergencia (Cannon, 1914; 1935).

Unos años más tarde, el endocrinólogo Hans Selye (1936) amplió el concepto de estrés, agrupando en un todo el conjunto de reacciones inespecíficas generales del organismo tendentes a mantener la homeostasis frente a los agentes agresores externos y al cual denominó "Síndrome General de Adaptación", caracterizando en él tres fases diferentes:

- Reacción de alarma, provocada por la presencia misma del estímulo.
- Fase de resistencia o adaptación, es decir, la respuesta frente a la agresión.
- Fase de agotamiento de la respuesta y disminución de la resistencia, que aparece si la duración o intensidad del estrés es excesiva.

En 1946, este mismo autor, define "las enfermedades de adaptación" haciendo referencia a los desajustes sufridos en un organismo por carecer de una buena respuesta adaptativa y entre las que incluía la alergia, el insomnio y los trastornos cardiovasculares.

Las líneas de investigación actuales parten de los trabajos de Lazarus iniciados en los sesenta y configuran un modelo en el que el estrés viene definido por su carácter de amenaza para el individuo. Dicha amenaza es función de la percepción y evaluación que éste realiza de estímulos provenientes de su interacción con el ambiente y de sus propios recursos para el afrontamiento de tales estímulos (Lazarus, 1966). Se trata de una perspectiva cognitivo-conductual e interactiva, algo que ya había indicado Wolff en la década anterior (Wolff, 1950).

Siguiendo en la misma línea, y en una profunda revisión de la caracterización de la respuesta frente al estrés aportada por Selye en 1936, J.W. Mason (1971) debate, por primera vez, la inespecificidad de dicha respuesta defendida por el autor pionero, reseñando la capacidad común a todos los agentes estresantes de incidir sobre la esfera psicológica del individuo y poniendo de manifiesto la importancia del componente psicológico del estrés. Estudios muy recientes en seres humanos y en animales han corroborado la hipótesis según la cual las características psicológicas y sociales (comportamiento emocional, personalidad, posición en la sociedad) influyen de forma determinante en la respuesta fisiológica al estrés (Sapolsky, 1990).

Algunos autores han indicado también la relación existente entre la naturaleza, intensidad o duración del agente estresante y la respuesta que éste desencadena (Goldstein, 1987), estableciéndose esa misma relación cuando intervienen factores tales como la especie animal, hora del día, etc. (Kant y cols., 1986).

Por tanto, y a pesar de la dificultad que entraña el establecer una definición precisa del término estrés, podría considerarse como tal el conjunto de alteraciones que aparecen en el organismo al hallarse frente a una situación agresiva compleja. Esta respuesta, que permite afrontar las amenazas que se producen contra el equilibrio fisiológico del organismo, puede desencadenarse ante una agresión de índole puramente física, patológica o psíquica.

El estrés viene definido, así, como un proceso dinámico en el que intervienen variables del propio organismo, que interactúan entre sí, ante la apreciación de una situación como amenazante y la propia capacidad de afrontamiento ante tal circunstancia. Es un fenómeno genérico que agruparía todas las variables que intervienen en el proceso adaptativo del individuo.

1.2. RESPUESTA FISIOLÓGICA AL ESTRÉS

Será la duración del estrés la que determinará, en primera instancia, la respuesta fisiológica que se desencadenará a continuación poniendo en marcha mecanismos muy diferentes (Vogel, 1987).

Ante la aparición de un estímulo imprevisto, se produce una reacción inicial de alarma que, asociada a las formas de estrés agudo, intentará recobrar la homeostasis original y consistirá en la activación de funciones nerviosas y neuroendocrinas de acción inmediata. Pero, si el estímulo persiste en el tiempo, un nuevo equilibrio biológico de adaptación a la reciente situación se establecerá, para permitir la supervivencia del individuo (Selye, 1976), lo que coincide con la fase de resistencia del Síndrome General de Adaptación descrito por Selye, asociado a formas de estrés denominadas crónicas y caracterizado por una acción a largo plazo llevada a cabo por la activación del sistema endocrino.

En cualquier caso, el motor que dará lugar a la sucesión de los distintos mecanismos descritos ante la presencia del estímulo estresante será una activación del sistema nervioso central (SNC). El sustrato bioquímico de esa activación no se conoce con exactitud hasta el momento, pero parece que existe una evidente implicación de los sistemas catecolaminérgicos centrales y se han descrito cambios en el metabolismo de todas las aminas cerebrales asociados a la reacción frente al estrés (Hedge y cols., 1976; Richardson y cols., 1990).

1.2.1. Activación del sistema simpatoadrenal

La activación del sistema simpatoadrenal es la primera reacción que tiene lugar tanto ante la aplicación de un estrés agudo y puntual (siendo la única respuesta) como ante un estrés más prolongado en el tiempo.

Dicha respuesta es debida a una estimulación simpática generalizada y a la simultánea liberación al torrente circulatorio desde el tejido cromafín de catecolaminas meduloadrenales, NA y AD, cuya acción, siendo semejante a la de la NA liberada de los terminales simpáticos, es más exigua dada su corta vida media (Natelson y cols., 1987; McCarty y cols., 1990).

Algunas de sus manifestaciones más significativas son el aumento del tono vasomotor y de la frecuencia cardíaca, el incremento de la capacidad respiratoria, la erección pilosa y sudoración, reducción de la secreción salivar, aumento de la secreción y motilidad gástrica y de la actividad del sistema inmune.

1.2.2. Activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal

La activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA) (Selye, 1937) es un suceso ligado a la aplicación de cualquier forma de estrés, a excepción de aquellas agudas y muy puntuales en las que la única respuesta que se origina es la activación del sistema simpatoadrenal que ha sido descrita en el apartado anterior, y conduce, en último término, a un aumento de la secreción de glucocorticoides (GC) de la corteza adrenal (Armario y cols., 1981; Smythe y cols., 1983).

Las acciones directas provocadas por la activación de este eje, reflejo en definitiva del incremento de los niveles de GC circulantes, son entre otras la disminución de las respuestas inflamatorias e inmunológicas, de la producción hipofisaria de GH y TSH y sus efectos sobre el crecimiento y el metabolismo, de la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal y alteraciones en el peso e ingesta.

El proceso se inicia a nivel del hipotálamo, región cerebral que juega un papel crítico en la coordinación de las respuestas autónomas, endocrinas y comportamentales que mantienen la homeostásis del medio interno (Morgane y Panksepp, 1980). En concreto, en la división parvocelular del núcleo paraventricular donde existen neuronas que sintetizan el factor de liberación de corticotropina (CRF) (Swanson y Sawchenko, 1983), que es liberado a la sangre portal para aumentar la secreción en la adenohipófisis de corticotropina (ACTH), responsable, a su vez, de la estimulación de la secreción de GC (cortisol en humanos y corticosterona en rata) por la corteza adrenal (Axerold y Reisine, 1984).

Este sistema se autocontrola por un mecanismo de retroalimentación negativa de modo que, cuando los niveles de GC son elevados, ellos mismos inhiben simultáneamente la liberación de CRF y ACTH (Keller-Wood y Dallman, 1984) e, incluso, de catecolaminas cerebrales (Rivier y Plotsky, 1986).

También se ha propuesto que las catecolaminas de las terminales simpáticas y de la médula adrenal podrían estimular la secreción de CRF al acceder a las células secretoras parvocelulares hipotalámicas (Plotsky y cols., 1989) e, incluso, parece ser que diferentes hormonas y neuropéptidos participarían en la regulación de la liberación tanto de CRF como de ACTH.

Por tanto, el estrés estimula diversas respuestas hormonales como: la secreción de catecolaminas desde la médula adrenal, ACTH de la adenohipófisis y GC de la corteza adrenal; y la regulación de estas hormonas está sujeta a numerosas interacciones que parecen determinar las complejas respuestas fisiológicas que se desencadenan ante la variedad de estímulos estresantes.

1.3. MODELOS EXPERIMENTALES DE ESTRES

Existen numerosos agentes capaces de generar estrés en el animal de laboratorio, lo que permite encontrar una amplia variedad de modelos experimentales cuya elección, sin embargo, deberá estar condicionada por las características peculiares del modelo a elegir en relación con la finalidad perseguida en la investigación.

A pesar de que los modelos animales son una herramienta muy útil para el investigador, parece necesario señalar alguna de las limitaciones que subyacen a su utilización si se tiene en cuenta que el fin último es obtener resultados extrapolables al ser humano: en primer lugar, la difícil similitud entre la situación a la que se ve sometido el ser humano y a la que se somete al animal en el modelo experimental y, en segundo lugar, el tiempo de exposición al agente estresante, que es normalmente superior en el caso de los humanos.

La clasificación de los modelos de estrés experimentales es bastante compleja dado que los criterios que se siguen no son siempre excluyentes. Tradicionalmente se han clasificado en estrés físico, como la inmovilización (Brodie y Hanson, 1960), natación forzada (McCarty, 1985), exposición al frío (Inaba y cols., 1981) o choque eléctrico (Bliss y cols., 1968) y estrés psíquico o emocional, como el hacinamiento (Armario y cols., 1984), la deprivación social (Gardiner y Bennett, 1977) o la estimulación audiovisual (Galeno y cols., 1984). Entre ambas categorías existen otros modelos resultado de la combinación de los anteriores (Senay y Levine, 1967).

Teniendo en cuenta la duración del estímulo aversivo, y sin excluir la división antes mencionada, se denomina estrés agudo a aquellos tratamientos que se aplican una sola vez a los sujetos de forma más o menos puntual, y crónico a aquellos que afectan de manera más prolongada, de modo intermitente o continuado, conociéndose entre ambas categorías numerosas formas intermedias difíciles de clasificar.

Por último, y según la capacidad de control que el individuo pueda ejercer sobre el estrés al que es sometido, se definen situaciones de estrés controlables e incontrolables y, atendiendo a la capacidad de evitación del daño, encontramos modelos de estrés escapables o evitables en contraposición a los denominados inescapables o inevitables.

1.3.1. Selección e interés del modelo de privación social

En la elaboración del presente trabajo se ha escogido como modelo de estrés la privación social en la rata (Gardiner y Bennet, 1977).

Los roedores son animales de marcado carácter social, con un comportamiento respecto al control de su territorio semejante al observado en primates (Brain, 1985) lo que hace que el desarraigo de su grupo origine alteraciones conductuales, fisiológicas y bioquímicas propias de la respuesta al estrés.

La utilización de este modelo de estrés posibilita además la aplicación homogénea del estímulo a todos los individuos y al tener carácter moderado, cuyo componente esencial es psicológico, permite compararlo con situaciones de estrés que afectan al ser humano.

Dado que en la actualidad se ha consolidado la idea de que el desencadenamiento de la hipertensión esencial es consecuencia de una disfunción neurogénica y que dicha alteración puede ser ocasionada por la exposición del organismo a estímulos ambientales de carácter aversivo, considerando el estrés mental como el candidato más probable para desencadenar este tipo de respuesta hipertensiva (Harriet y Dustan, 1987), la privación social resulta ser doblemente interesante puesto que es al mismo tiempo modelo de estrés y de hipertensión experimental.

2. HIPERTENSION

La hipertensión arterial es una de las patologías de mayor relevancia en las sociedades desarrolladas, constituyendo el principal factor de riesgo de numerosas enfermedades cardiovasculares como el infarto de miocardio, la insuficiencia renal, la aterosclerosis y los accidentes cerebrovasculares. Estas consecuencias hacen que tenga una extraordinaria incidencia sobre la morbilidad y mortalidad en los países occidentales (Langford, 1986).

De acuerdo con los criterios establecidos por la OMS (1978) se considera límite máximo de presión normal en humanos los valores de 140 y 90 mm Hg para la presión arterial sistólica y diastólica respectivamente, mientras que se conceptúa como hipertensión propiamente dicha a los valores de presión arterial sistólica situados por encima de los 160 mm Hg y de los 95 mm Hg de diastólica. La denominada hipertensión "borderline" (en el límite) se situaría en valores de presión sistólica y diastólica intermedios a los anteriores.

Los individuos con presión arterial (PA) elevada no representan, sin embargo, una población homogénea. La hipertensión puede ser el resultado de etiologías dispares y, así, de mecanismos fisiopatológicos diferentes. Cuando la causa que origina la elevación de la PA está bien identificada se denomina a la hipertensión secundaria mientras que, si esa causa primaria es desconocida, se diagnostica hipertensión primaria o esencial (HE), grupo al que corresponden más del 90 % de la población hipertensa global.

2.1. HIPERTENSION ESENCIAL: ETIOPATOGENESIS

La etiología de la HE continua siendo un enigma. Una de las dificultades para identificar el mecanismo anómalo responsable de esa hipertensión es la lentitud en el desarrollo del desorden, normalmente años, que contrasta marcadamente con la mayoría de las causas potenciales (disfunción del sistema nervioso simpático, cambios en la distribución de electrolitos entre los compartimentos corporales o actividad alterada de hormonas presoras o depresoras), que actuarían rápidamente, provocando cambios en la homeostasis cardiovascular en un período de días.

Al mismo tiempo, debido a la complejidad de los circuitos que participan en la regulación de la PA, es posible que no sea un único factor el involucrado en el origen de la anomalía y ésto ha permitido generar diversas hipótesis que implican la acción de diferentes mecanismos, no excluyentes entre si, que interviniendo lentamente, amplificarían sus acciones y conducirían no sólo al desarrollo sino también al mantenimiento de la hipertensión.

Es muy probable, además, que los sistemas activados en la fase inicial de la hipertensión difieran de aquellos que actúen en una fase posterior, cuando la PA elevada está definitivamente establecida. Así se asentaría la hipótesis de que un componente central o neurogénico sería el responsable de la inducción de la hipertensión, mientras que el mantenimiento de la misma residiría en factores periféricos que operarían a nivel vascular (Connell, 1986).

Alteraciones hemodinámicas en la hipertensión esencial

Como la PA viene determinada por el gasto cardíaco y la resistencia periférica total, es evidente que la HE será resultado de una anomalía en una o en las dos variables consideradas.

En algunos casos, durante el desarrollo inicial de la hipertensión, el perfil hemodinámico de los pacientes se corresponde con un gasto cardíaco muy elevado y una resistencia vascular que no aparece alterada (Julius y cols., 1971); mientras que, cuando la hipertensión parece estar establecida, el perfil se modifica normalizándose el gasto cardíaco e incrementándose la resistencia periférica total (Weiss y cols., 1978). Una evolución similar en el patrón hemodinámico se ha demostrado en ratas espontáneamente hipertensas (Pfeffer y cols., 1974) y en otros animales de laboratorio en el curso del desarrollo de hipertensión renal (Bianchi y cols., 1970).

Sin embargo, no todos los individuos que desarrollan HE se ajustan a la evolución hemodinámica descrita anteriormente (Hoffman y cols., 1981) y, en humanos y en animales de experimentación, existen casos donde, sin alteraciones del gasto cardíaco, la elevación de la PA se desarrolla a la misma velocidad y con la misma severidad (Pfeffer y cols., 1977).

Mecanismos patofisiológicos en la hipertensión esencial

Con toda probabilidad, la HE es tan solo un desorden homogéneo en cuanto a su manifestación clínica. De ahí que, como se ha citado previamente, se hayan sugerido varias posibles rutas, con considerables pasos en común, que pueden incluso solaparse, para explicar el inicio y desarrollo de la enfermedad.

Una de las causas potenciales de la HE podría ser una hiperactividad del SNC que conduciría a un estado hiperadrenérgico consecuencia del cual, tanto el gasto cardíaco como la resistencia periférica total, se verían incrementados provocando un aumento de la PA. Existen numerosas evidencias que indican un estado hiperactivo del tono simpático vasomotor en los primeros estadios de la HE y en muchos de ellos se muestra simultáneamente un incremento de la frecuencia cardíaca y de la contractilidad miocárdica (Ibrahim y cols., 1974).

El hecho de haberse encontrado en numerosos pacientes hipertensos niveles elevados de catecolaminas plasmáticas (Goldstein, 1983), suceso estrechamente ligado con una hiperactividad nerviosa simpática, o el que los agentes bloqueantes adrenérgicos sean de los más efectivos en el tratamiento de la hipertensión arterial (Frolich, 1974) son indicios de que un mecanismo neural puede jugar un papel importante en el desarrollo del desorden.

La hiperactividad neural adrenérgica aumenta el gasto cardíaco, la actividad de renina plasmática y produce constricción de las arteriolas renales interfiriendo con la actividad natriurética (Hollenberg y cols., 1981). Cada uno de estos factores juega un papel importante en otros conceptos de la patogénesis de la HE que serán descritos a continuación.

Numerosas hipótesis asumen como suceso inicial en la HE una disfunción en la excreción renal de Na^+ , provocando un aumento del volumen sanguíneo, del gasto cardíaco y, consecuentemente, de la PA (Guyton y cols., 1972; Guyton, 1986). Pero, al mismo tiempo, al alterarse el volumen sanguíneo se modifica la perfusión tisular y, puesto que los tejidos tienen la capacidad intrínseca de regular el flujo variando la resistencia arteriolar, su autorregulación conduciría a un incremento de la resistencia periférica total lo que aumentaría aún más la presión sanguínea.

Recientemente se ha propuesto otro mecanismo para explicar como la retención de Na^+ por una disfunción renal podría conducir a la hipertensión sin implicar procesos de autorregulación periférica (De Wardener y cols., 1981).

La alteración de la excreción renal de Na^+ aumenta la secreción del factor natriurético atrial que, al inhibir el transporte activo de Na^+ , promovería una alteración del contenido catiónico intracelular (aumentando el Na^+ y disminuyendo el K^+). El mecanismo por el cual esta perturbación es capaz de provocar un incremento de la vasoconstricción se desconoce por el momento; una posibilidad es que el cambio en la distribución de K^+ origine una depolarización parcial de la membrana. Alternativamente, Blaustein (1984) ha sugerido que la activación del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ aumentaría el Ca^{2+} intracelular, lo que induciría un aumento de la contractilidad del músculo liso vascular, de la constricción arteriolar, de la resistencia periférica y de la PA.

Algunos autores han sugerido que los cambios estructurales en la musculatura lisa vascular, consecuencia de la hipertensión y presentes en modelos animales y en humanos, podrían servir de mecanismo de amplificación permitiendo una sostenida elevación de la presión (Folkow, 1977).

Ampliando la hipótesis anterior, se ha señalado que la causa de la hipertrofia vascular podría encontrarse en una regulación anómala del crecimiento celular por factores endocrinos, paracrinos o autocrinos y, de esta manera, parece ser que la insulina o la hormona del crecimiento pueden provocar un aumento de la reabsorción renal de Na^+ , incrementando a su vez el gasto cardíaco y la resistencia vascular periférica. Por otro lado, esa disfunción del crecimiento celular también podría ser el origen de la hipertrofia cardíaca presente en numerosos sujetos con HE (Connell, 1986).

El eje renina-angiotensina-aldosterona regula el balance de Na^+ y K^+ y la actividad presora, factores importantes en el mantenimiento de la homeostasis de la PA, habiéndose discutido su papel como origen de algunos casos de HE. Las interrelaciones del eje con los otros sistemas de control hacen difícil definir si se trata de la causa principal o sencillamente de un efecto ocasionado por algún otro de los posibles mecanismos patogénicos básicos. A pesar de todo, es un hecho contrastado que los pacientes hipertensos que coinciden con una elevada actividad de renina plasmática suelen desarrollar la enfermedad de forma más severa, con complicaciones cardiovasculares importantes (Kaplan, 1975).

De lo anteriormente descrito se desprende que existen numerosas hipótesis para explicar la HE, que pueden no ser contradictorias entre sí. Cabría señalar que todas ellas tratan de definir el concepto de hipertensión como el desarrollo y mantenimiento de un lento aumento de la PA, producido por diferentes causas primarias como la disminución de la excreción renal de Na^+ o la disfunción del sistema nervioso simpático.

2.2. HIPERTENSION PROVOCADA POR ESTRES

Fue Seley, en 1946, el primero en reconocer las consecuencias perjudiciales de una activación crónica de la respuesta al estrés al definir "las enfermedades de adaptación".

La respuesta biológica al estrés incluye una activación del eje HHA con participación del sistema nervioso simpático y del sistema inmunitario, que determinan una liberación multihormonal, siendo difícil de precisar a partir de qué momento es excesiva y nociva para el organismo (Valdes y Flores, 1985). Se han demostrado asociaciones entre el estrés y una amplia variedad de patologías en el adulto, en el niño y en el adolescente (Canalda, 1988), desde la psiquiátrica hasta la cardiovascular, infecciosa, inmunitaria, neoplásica, digestiva, etc., y también sobre su influencia en la evolución de varias enfermedades crónicas como la diabetes.

Durante los últimos años se ha consolidado la idea de que el estrés mental y ambiental es capaz de producir una elevación de la PA vía mecanismos neurogénicos u hormonales que dependen del SNC, hecho que está apoyado por distintas observaciones: (1) una amplia gama de intervenciones ambientales, tales como estímulos aversivos, situaciones conflictivas o estrés mental, provocan un aumento de la PA, que en algunos casos se mantiene en el tiempo; (2) pacientes con hipertensión arterial presentan una hiperrespuesta al estrés; (3) algunos pacientes hipertensos muestran señales de un estado hipersimpático al menos en los primeros estadios de la enfermedad (Brody y cols., 1987, Julius y Johnson, 1985).

Parece no existir ninguna duda de que el estrés puede provocar una elevación de la PA. Sin embargo, la controversia surge al intentar establecer si ese estrés es capaz también de mantener dicha elevación.

En el campo de la experimentación animal, la hipertensión suele presentar un carácter lábil y desaparecer al ausentarse el estímulo estresante que la originaba, siendo la excepción de la regla los casos en los que la elevación de la PA se mantiene en el tiempo. Los estudios de Henry (1982), con un modelo basado en la lucha por la posesión de un congénere de distinto sexo en ratones, o de Forsyth (1969), con un modelo de condicionamiento aversivo en monos, apoyan la afirmación anterior.

En cuanto a los modelos de estrés físico, a pesar de incrementarse la presión, nuevamente ésta se normaliza al cesar la sesión de estimulación diaria. En este sentido, se encuentran los resultados de Saavedra (1982) en estrés por inmovilización, de Ceasar y cols. (1974) en estrés por frío o de Iomori y cols. (1982) tras aplicar un shock en las patas del animal.

Los datos en humanos, desafortunadamente, son aún más desconcertantes. En gran medida la dificultad reside en la susceptibilidad individual, más acusada en el hombre que en los animales, que permite establecer notables diferencias entre los individuos hipertensos correspondientes a un mismo grupo, tal y como manifiesta Giaconi y cols. (1987) en sus investigaciones con pacientes hipertensos "borderline".

Otro factor de extraordinaria importancia es la escasez de estudios a largo plazo, donde sea posible registrar la evolución de la hipertensión con objeto de establecer una correlación entre aquélla y el impacto de los factores psicosociales y ambientales en el transcurso del desarrollo de la enfermedad (Langewitz y Rüdell, 1987).

Podemos encontrar en la literatura abundantes observaciones donde se aprecia una elevación de la PA tras la exposición a situaciones estresantes en el hombre, como en el caso de las tropas durante los combates activos, si bien parece que la presión se restablece cuando el soldado regresa del campo de batalla (Graham, 1945). Por otro lado, es también notable la incidencia de hipertensión entre los controladores aéreos (Cobb y Rose, 1973) o en trabajadores expuestos a ruidos intensos de manera prolongada (Delin, 1984), así como en individuos sometidos a fuertes tensiones en su puesto de trabajo (Siegrist, 1987).

En otro sentido, es interesante resaltar la correlación existente entre la hipertensión inducida por estrés y determinados factores de predisposición como los genéticos (Falkner y cols., 1979), la ingesta de sal (Falkner y cols., 1981) o la disminución de la función renal (Brody y cols., 1987) tanto en humanos como en modelos experimentales animales (Lundin y Thoren, 1982; Sanders, 1988).

En conclusión, los datos existentes hasta la fecha apoyan la hipótesis multifactorial de la HE basándose en las escasas evidencias que se conocen sobre el hecho de que el estrés produzca una hipertensión mantenida, si bien no hay duda de su acción directa en la inducción de la elevación de la PA. Al mismo tiempo, se sugiere que ciertos factores de predisposición parecen ser necesarios para la expresión de la hipertensión producida por estrés tanto en el humano, como en el animal de experimentación.

3. SISTEMA CATECOLAMINERGICO

El estudio de las catecolaminas en el SNC se ha visto facilitado por el desarrollo de diferentes métodos que han permitido su detección y estimación. No obstante, las dificultades han surgido al intentar esclarecer la función y la farmacología de estos sistemas de neurotransmisión, debido a que el análisis depende siempre de la disponibilidad de fármacos que incidan sobre su actividad específicamente, impidiendo una combinación de efectos centrales y periféricos que enmascaren su verdadero mecanismo de acción.

El cerebro contiene sistemas neuronales separados que utilizan tres catecolaminas: NA, AD y dopamina (DA). Cada sistema es anatómicamente diferente y presumiblemente tiene funciones también diferentes. Sin embargo, sí pueden señalarse algunas características comunes a todas las neuronas catecolaminérgicas: (1) sus axones parten de cuerpos celulares que se localizan en pequeños núcleos constituidos por unos cuantos centenares de neuronas; (2) esos axones se ramifican extensamente para inervar numerosas regiones del SNC, distantes de los núcleos de origen y (3) producen una mezcla de efectos excitatorios e inhibitorios que generalmente implican a segundos mensajeros.

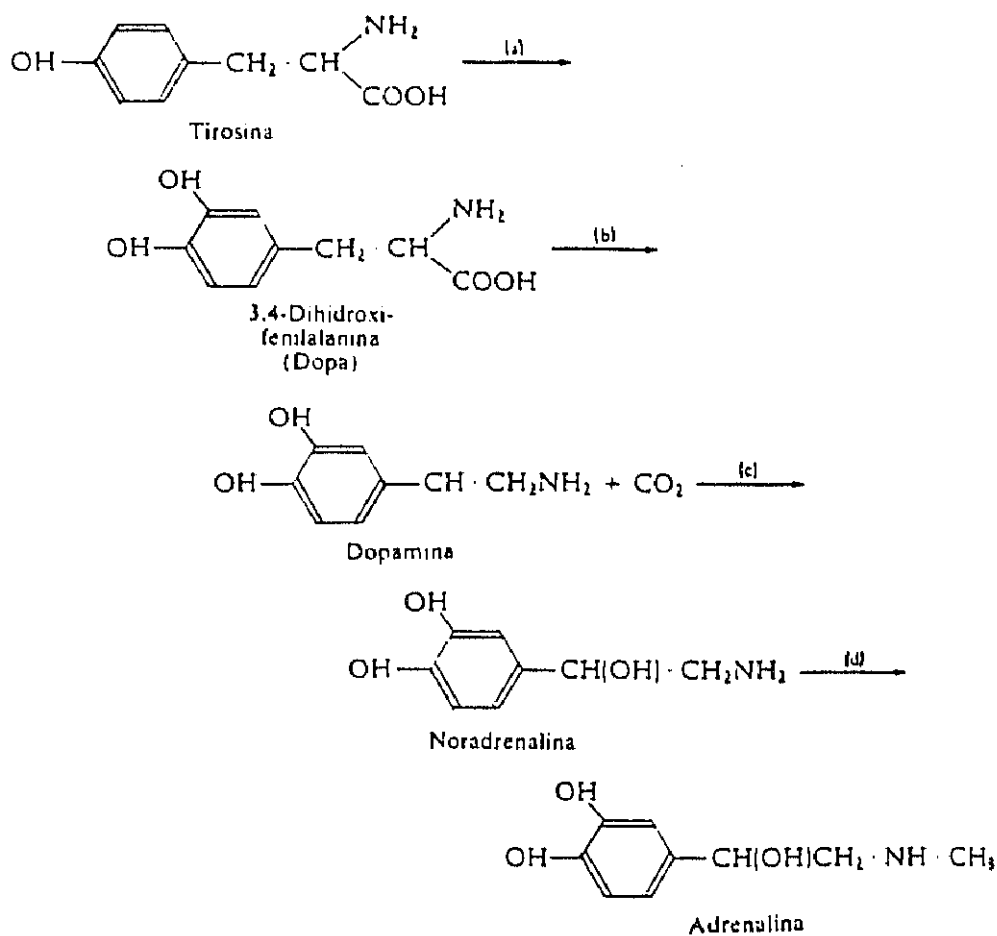
La localización de los diferentes grupos celulares catecolaminérgicos, así como de sus proyecciones y las regiones del SNC que éstas inervan será detallada en el capítulo siguiente.

3.1. ASPECTOS GENERALES DE LA SINTESIS, LIBERACION E INACTIVACION DE LAS CATECOLAMINAS

La ruta biosintética, común a las tres catecolaminas, está constituida por una secuencia de reacciones enzimáticas que tienen lugar en el terminal nervioso y que se inician con la captación del aminoácido tirosina, presente en la circulación (Fig.1).

Las enzimas que intervienen en este proceso son transportadas desde el soma neuronal, donde se sintetizan, al terminal axónico. La tirosina hidroxilasa (TH) es la enzima inicial de la ruta biosintética y cataliza la conversión de tirosina en L-DOPA, siendo éste el paso limitante de la velocidad del proceso, utilizándose con frecuencia como marcador de la síntesis de las tres aminas en general (Plotsky y cols., 1989).

El segundo paso en la cascada enzimática es la transformación de L-DOPA en DA gracias a la intervención de la DOPA descarboxilasa. Pero aún se requiere la presencia de otras dos enzimas para completar el proceso biosintético: la dopamina beta-hidroxilasa y la feniletanolamina-N-metil transferasa (PNMT), que catalizan el paso de DA a NA y de NA a AD, respectivamente.



Reacción enzimática	Enzima	Cofactores
a)	Tirosina hidroxilasa (EC 1.14.6.2)	Tetrahidrobiopterina molecular O ₂ , Fe ²⁺ , NADPH
b)	L-ácido aromático decarboxilasa (EC 4.1.1.28)	Piridoxal fosfato
c)	Dopamina β-hidroxilasa (EC 1.14.17.1.)	[Ascorbato; O ₂ molecular Cu ²⁺
d)	Noradrenalina N-metiltransferasa (EC 2.1.1.28)	S-adenosilmetionina

Fig. 1.- Síntesis enzimática de las catecolaminas

La regulación de la síntesis de catecolaminas depende, principalmente, de la actividad de la TH. A largo plazo, el proceso de regulación se asocia a una alteración de la síntesis del enzima. A corto plazo está asociado a una modificación de la actividad de las moléculas del enzima ya existente. En el proceso regulatorio intervienen los mismos productos finales (catecolaminas) que actúan como inhibidores competitivos del cofactor pterina en el sitio activo de la TH, o bien oxidando a la propia pterina e impidiendo la formación del enzima activo (Weiner y cols., 1972).

En conclusión, las propias catecolaminas parecen poder regular la actividad de la TH como respuesta a alteraciones en los niveles intraneuronales de aquellas. Así, estos mecanismos serían los responsables de que, cuando se produce un aumento de la actividad de las neuronas catecolaminérgicas, los niveles endógenos del neurotransmisor se mantengan constantes, a pesar de la pérdida del mismo que, se asume, ocurre durante el aumento de la liberación. Dicha situación homeostática es posible por el incremento de la actividad de la enzima, que permite mantener un "pool" constante del neurotransmisor, aún cuando se verifiquen cambios sustanciales en la utilización de las catecolaminas.

El mecanismo de liberación de catecolaminas a nivel central no se conoce en profundidad, aunque parece tratarse de un proceso dependiente de Ca^{2+} .

La concentración local de las mismas catecolaminas en la sinapsis regula su propia liberación mediante la interacción con los receptores alfa-2 presinápticos (Langer, 1981) pero, además, existen numerosas evidencias que demuestran como diferentes neurotransmisores y neuropéptidos podrían también modular la liberación catecolaminérgica a nivel central (Schoffemeer y cols., 1988).

La inactivación de las aminas biógenas (Fig. 2) se lleva a cabo mediante: (1) la recaptación facilitada por las neuronas y células gliales circundantes a la hendidura sináptica (Iversen, 1978) y (2) la metabolización enzimática dependiente de la monoaminoxidasa (MAO) y de la catecol-O-metiltransferasa (COMT) (Cooper y cols., 1986).

La MAO se localiza fundamentalmente en la membrana mitocondrial y es la que convierte las catecolaminas en sus correspondientes aldehídos. Por su parte la COMT, mucho más abundante en el SNC, parece actuar preferentemente a nivel extraneuronal, estando unida a la membrana plasmática y es la responsable de la formación de los metabolitos metilados.

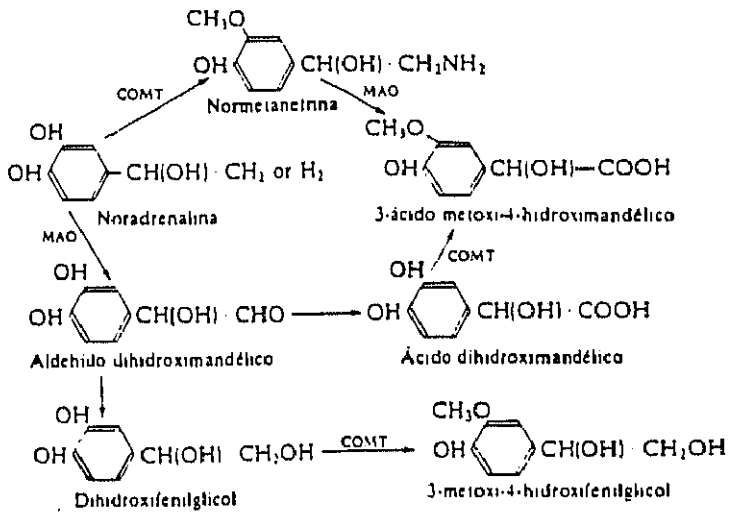
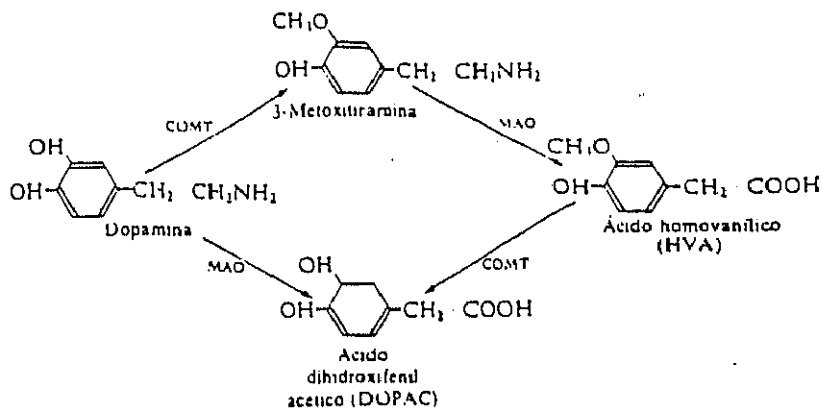


Fig. 2.- Metabolismo de las catecolaminas

La participación mayoritaria en el metabolismo central de las catecolaminas corresponde a la COMT, como se deduce del hecho de que la proporción de metabolitos metilados en el SNC es ligeramente superior al resto de los mismos.

El principal metabolito de la NA y AD en el SNC es el 3-metoxi-4-hidroxi-feniletilenglicol (MHPG), mientras que en la periferia lo es el ácido 3-metoxi-4-hidroxi-mandélico, también denominado vainillil mandélico (VMA). Al mismo tiempo, existen diferencias acusadas en cuanto a la forma química que presenta el MHPG en las diversas especies animales: en rata aparece conjugado en forma de sulfato casi en su totalidad, en ratón y en primates predomina la forma libre (Elsworth y cols., 1983).

Aunque el MHPG es metabolito común a las dos catecolaminas, se considera marcador exclusivo de la actividad central noradrenérgica dado que sólo una fracción muy pequeña de MHPG en el cerebro corresponde a la actividad de neuronas adrenérgicas, hecho que está de acuerdo con su menor concentración cerebral (Kopin, 1985).

Los metabolitos de DA en el SNC son los ácidos homovanílico (HVA) y dihidroxifenilacético (DOPAC). El primero de ellos se utiliza como índice de la actividad funcional de las neuronas dopaminérgicas en primates. Sin embargo, se ha demostrado que en el caso de la rata es el segundo metabolito el marcador más preciso de la actividad del neurotransmisor (Kopin, 1985).

Es interesante hacer incapie en el concepto del término velocidad de renovación, mediante el cual se define el ritmo al que un neurotransmisor almacenado en un tejido es reemplazado. Por tanto, es reflejo de la suma conjunta de los procesos de biosíntesis, liberación y degradación y, consecuentemente, describe el estado funcional y la actividad de las neuronas en una población determinada. Se considera que dicho parámetro está sintonizado con el grado de actividad bioeléctrica neuronal.

3.2. RECEPTORES CATECOLAMINERGICOS Y MECANISMO DE ACCION

Receptores adrenérgicos

En 1948, Ahlquist fue el primero en distinguir dos tipos de receptores adrenérgicos periféricos a los que denominó alfa y beta, los cuales han sido posteriormente subdivididos en alfa-1, alfa-2, beta-1 y beta-2.

Los receptores alfa-1 median la mayoría de los efectos excitatorios postsinápticos de las catecolaminas y su estimulación provoca la formación de inositol-1,4,5-trifosfato en relación íntima, y quizá causal, con la liberación de Ca^{2+} de las reservas intracelulares. Sin embargo, los receptores alfa-2, considerados clásicamente mediadores de la inhibición presináptica, están ligados a la adenilato ciclasa y, a su vez, al AMPc como segundo mensajero.

Los receptores beta-1 se localizan preferentemente en el corazón y su estimulación provoca un efecto cardioexcitatorio. Por el contrario, los receptores beta-2 suelen intervenir en respuestas inhibitorias. En ambos casos el sistema efector acoplado al receptor es la adenilato ciclasa, siendo el segundo mensajero el AMPc.

Estos cuatro subtipos han sido identificados en diferentes regiones del SNC. Estudios de fijación de radioligandos y de autorradiografía han localizado los receptores alfa-1 principalmente en áreas de la corteza, en el tálamo y en el núcleo dorsal del rafe y los receptores alfa-2 en los cuerpos celulares noradrenérgicos del locus coeruleus (LC) y, también, en diferentes núcleos pontinos y bulbares, como el núcleo del tracto solitario. Con relación a los receptores beta-1, éstos parecen encontrarse preferentemente en la corteza, mientras que los beta-2 se disponen en el cerebelo (Uprichard y cols., 1980; Palacios, 1984).

En cuanto al papel funcional de esos receptores, continúa siendo desconocido en muchos casos. Los adrenoceptores alfa-2 son el blanco de acción de fármacos antihipertensivos clásicos como la clonidina o alfa-metildopa, que operan a nivel central. La estimulación (probablemente postsináptica) de dichos receptores por los agonistas antes mencionados induciría, vía activación de una neurona inhibitoria bulboespinal, una reducción del tono simpático periférico, reduciendo la PA y la frecuencia cardíaca. Este parece ser el mecanismo de acción de los antihipertensivos de acción central (Van Zwieten, 1988).

Los receptores alfa-1 podrían relacionarse con el reflejo barorreceptor, deprimiendo su actividad, tal y como sugieren Huchet y cols. (1981, 1982). Este fenómeno explicaría como el prazosín, un bloqueante alfa-1 adrenérgico, causa un reflejo taquicárdico mucho menor del esperado dada su actividad vasodilatadora.

Receptores dopaminérgicos

Los receptores dopaminérgicos se clasifican, al menos, en dos subtipos que fueron denominados D1 y D2 por Keibian y Calne (1979).

El receptor D1 está asociado a la activación de la adenilato ciclasa y la formación intracelular de AMPc mientras que algunos autores han sugerido que el receptor D2, que en principio se consideró independiente de la enzima, pudiera estar asociado negativamente a ella. No obstante, es probable que éste no sea su mecanismo de acción (Kelly y Nahorski, 1986).

En cuanto a su localización en el SNC, los receptores D1 se sitúan preferentemente en los cuerpos celulares del estriado mientras que los receptores D2 se disponen tanto sobre el soma de neuronas estriatales como sobre las terminales de células nerviosas que proyectan a esta estructura cerebral. Asimismo, receptores D2 han sido identificados en cuerpos celulares de la sustancia nigra y, también, en otras zonas del SNC, como en el hipotálamo y el septum (Cross y Owen, 1989).

La importancia de la DA como neurotransmisor central radica en el papel que parece desempeñar en ciertos desórdenes neuropsiquiátricos y, por tanto, en la aplicación clínica de agonistas o antagonistas dopaminérgicos en la enfermedad de Parkinson, Huntington o en la esquizofrenia. Sin embargo, la manipulación de los sistemas dopaminérgicos centrales ocasiona tan solo una mejoría temporal en la sintomatología, lo que permite pensar que tal vez otros neurotransmisores podrían estar adicionalmente implicados en la patofisiología de los anteriores desórdenes.

Una de las principales dificultades reside en la escasa información que se posee sobre el papel fisiológico que desempeñan los receptores dopaminérgicos, particularmente para los receptores D1.

Los receptores estriatales D2 inhiben la liberación de acetilcolina, presumiblemente por una acción directa sobre las neuronas colinérgicas estriatales. Al mismo tiempo, parece que estos mismos receptores pueden modular también la liberación de glutamato, e incluso, de colecistoquinina en el estriado. En el hipotálamo los receptores D2 modularían la liberación de beta-endorfina y de prolactina, y en el septum la actividad de neuronas colinérgicas con proyecciones al hipocampo (Stoof y Keibian, 1984).

En conclusión, podemos afirmar que es necesario continuar la investigación en profundidad con el fin de conseguir una mayor información sobre la función y farmacología de estos sistemas de neurotransmisión para así poder obtener agentes terapéuticos más eficaces y seguros.

4. REGULACION DEL SISTEMA CARDIOVASCULAR

El sistema circulatorio comprende los mecanismos principales de regulación homeostática que mantienen el equilibrio entre el aporte metabólico y las necesidades metabólicas tisulares. Se encuentra en relación íntima con otros sistemas: respiratorio, renal, nervioso y endocrino, que intervienen en el mismo proceso regulatorio; por ello, los mecanismos reguladores de la PA son complejos y resultan de la integración de varios circuitos que actúan simultáneamente y cuyo objetivo es mantener la constancia frente a las variaciones que pueda sufrir el organismo por perturbaciones internas o externas.

El estudio de los mecanismos reguladores debe incluir tres circuitos fundamentales: hemodinámico, metabólico y plasmático. El circuito hemodinámico comprende la trilogía, gasto cardíaco-resistencia vascular-presión arterial, siendo este último factor detectado por los barorreceptores. Desde allí la información se transmite y elabora centralmente (bulbo y médula) y la respuesta eefectora tiene lugar a nivel cardíaco y vascular.

El circuito metabólico está ligado a las necesidades tisulares representadas por el intercambio O_2 - CO_2 , cuya perturbación es detectada por los quimiorreceptores. La respuesta a la información es local o general, con intervención del hipotálamo, bulbo y médula y la respuesta eefectora es, por tanto, también local o general, participando pulmón, corazón y vasos, siendo los dos últimos puntos de enlace con el circuito anterior.

El volumen sanguíneo depende del equilibrio entre el aporte de agua y su eliminación, determinando la presión venosa que es factor de enlace con el circuito hemodinámico. Son en este caso los osmo- y volorreceptores los encargados de detectar la perturbación cuya información, elaborada en el hipotálamo, provoca la respuesta efectora por el riñón.

Los dos objetivos principales de la regulación de la circulación sanguínea son el mantenimiento de la PA y el control del flujo sanguíneo para mantener el metabolismo tisular y la temperatura corporal dentro de unos límites adecuados. Y ello lo consigue gracias a la operación de mecanismos reguladores extrínsecos e intrínsecos. Los controles intrínsecos son la regulación cardíaca, la regulación vascular local del flujo sanguíneo y la regulación del volumen sanguíneo. Los controles extrínsecos, superpuestos a los anteriores, son los sistemas nervioso y endocrino. Por otra parte, esos mismos sistemas reguladores pueden ser de acción rápida (sistema nervioso), intermedia o a largo plazo (sistema de control del riñón).

4.1. SISTEMA NERVIOSO CENTRAL Y CONTROL CARDIOVASCULAR

El SNC representa el punto de integración de todos los sistemas que participan en el control cardiovascular y que han sido descritos en el apartado anterior. De hecho, el SNC actúa integrando los mecanismos reflejos, regulando el tono simpático de las neuronas que inervan los vasos sanguíneos y controlando la liberación de hormonas vasoactivas, además de acoplar el sistema cardiovascular a los cambios comportamentales (Ferrario y cols., 1985).

Es, por tanto, la regulación central del sistema cardiovascular una de las más complejas del organismo: el SNC recibe información de diferentes puntos (consecuencia de la activación de baro-, quimio-, volo- y osmorreceptores) que se distribuye ampliamente a través de una red de circuitos nerviosos por el cerebro (especialmente afectando a núcleos pontinos, bulbares e hipotalámicos, así como algunas estructuras más rostrales), desde donde se envían a su vez mensajes para el control de los órganos efectores (por ejemplo, vía neuronas eferentes preganglionares del sistema autónomo localizadas en el bulbo raquídeo y la médula espinal).

El factor responsable del avance en el estudio de la organización central del control cardiovascular ha sido el desarrollo de las técnicas neuroanatómicas, que han permitido evidenciar las conexiones entre las regiones cerebrales claves para la regulación de la PA (Heimer y Rodbards, 1982).

El mantenimiento tónico y reflejo de la PA depende de sistemas centrales situados en la zona inferior del tronco cerebral, mientras que la integración de los cambios de la PA asociados a modificaciones en el comportamiento parece residir en regiones cerebrales más rostrales, en concreto regiones del prosencéfalo basal y del sistema límbico. Todos estos centros actúan concertadamente (Reis y Ledoux, 1987).

El arco reflejo cardiovascular opera a través de la activación de los baro- y quimiorreceptores localizados en los senos carotídeos y en el cayado aórtico, recogiendo información sobre el grado de distensión de la pared vascular producida por la PA y el contenido de gases de la sangre en un momento dado. Esa información se canaliza a través del IX y X par craneal (glossofaríngeo y vago) efectuando su primera sinapsis en la zona comisural y media del núcleo del tracto solitario (NTS) (Onai y cols., 1987), donde se localizan neuronas catecolaminérgicas como los grupos celulares A2 noradrenérgico y C2 adrenérgico (Sumal y cols., 1983). Desde allí se emiten proyecciones que inervan a las neuronas eferentes preganglionares autónomas dispuestas en el bulbo raquídeo y en la médula espinal.

Pero aún se puede distinguir un segundo arco reflejo, de mayor longitud que el descrito anteriormente, donde las proyecciones de quimio- y barorreceptores que hacen estación en el NTS se dirigen a diferentes estructuras cerebrales, entre otras: la región ventrolateral del bulbo raquídeo (centro vasomotor y vasodepresor), el núcleo parabraquial, el núcleo paraventricular del hipotálamo, el núcleo central de la amígdala y áreas corticales (corteza frontal), todas ellas a su vez interconectadas, de donde parten largas vías descendentes que alcanzan la médula espinal y el bulbo raquídeo para entrar en contacto con las neuronas eferentes preganglionares del sistema autónomo. Existen también colaterales que son emitidas desde esas mismas vías y que terminan en neuronas localizadas en el NTS (Palkovits, 1989).

En cualquier caso es evidente la trascendencia del NTS, que podría funcionar como una estación de relé en la regulación central de mecanismos autónomos tales como el cardiovascular o respiratorio.

La respuesta de la activación del arco reflejo cardiovascular (cualquiera que sea su longitud) es ejecutada, en último término, por las neuronas preganglionares eferentes que se localizan en el bulbo raquídeo y en la médula espinal. El origen de las fibras preganglionares simpáticas está localizado en el núcleo intermedio lateral de la médula espinal e inervan el músculo liso vascular y el corazón. Por su parte, este último órgano recibe también inervación parasimpática a través de los axones cardioinhibitorios que se sitúan en dos núcleos bulbares, el núcleo motor dorsal del vago y el núcleo ambiguo.

El mantenimiento tónico de la PA reside en el denominado centro vasomotor localizado en el bulbo raquídeo. Su concepción como un centro específico y bien circunscrito que regulara la actividad tónica simpática ha sido ampliamente discutida, sobretodo a raíz del descubrimiento de zonas presoras dispuestas difusamente y muy próximas a regiones antagónicas depresoras (Brody, 1986).

El área presora se sitúa en la región rostral ventrolateral del bulbo (RVLB); de hecho, lesiones electrolíticas o químicas en esa zona provocan una caída de la PA (Granata y cols., 1985). La RVLB está constituida principalmente por el grupo de neuronas adrenérgicas C1 y noradrenérgicas A5 (Kalia y cols., 1985), pero también incorpora neuronas no catecolaminérgicas como células gabaérgicas y peptidérgicas (Palkovits, 1988). Desde la RVLB se emiten axones que inervan el núcleo intermedio lateral de la médula y allí hacen sinapsis con los cuerpos celulares de las neuronas preganglionares simpáticas.

Existe cierta controversia a cerca de si el neurotransmisor responsable de la excitación de las neuronas medulares sería la adrenalina correspondiente a neuronas del grupo C1 o bien cualquier otro transmisor, aún no identificado, perteneciente a las muchas proyecciones y células nerviosas, antes mencionadas, que se localizan también en la RVLB (Granata, 1990).

El NTS recibe inervación desde este centro y, viceversa, neuronas del NTS proyectan a la RVLB y hacen sinapsis con las células adrenérgicas del grupo C1 (Ross y cols., 1985).

El área depresora se localiza en la región ventrolateral caudal del bulbo raquídeo (CVLB). Las acciones de las neuronas situadas en esta zona, principalmente noradrenérgicas del grupo A1, son opuestas a las ocasionadas por la activación de la RVLB y, así, la estimulación de la CVLB produce una disminución drástica de la PA (Imaizumi y cols., 1985). Parece ser que las acciones depresoras inducidas por la CVLB dependen de la integridad de las neuronas C1 dispuestas en la RVLB de modo que una vía, que se proyectaría de A1 a C1 (Ross y cols., 1985), sería la responsable de la disminución de la actividad de las neuronas del núcleo intermedio lateral en la médula espinal y, por tanto, del tono vasomotor simpático. El centro vasodepresor, y en concreto las neuronas del grupo A1, proyecta también a zonas más rostrales, especialmente al hipotálamo.

Existe otra vía depresora paralela a la anterior dependiente, en este caso, del reflejo barorreceptor. Ya se ha mencionado que se conocen proyecciones desde zonas del NTS, donde terminan las aferencias de quimiorreceptores y barorreceptores, que inervan el área C1 de la RVLB. Ese grupo de neuronas adrenérgicas ejercería su acción a través de un control tónico de carácter inhibitorio y sería crítico en la mediación de la respuesta barorrefleja. De acuerdo con ello se encuentran los resultados de Granata y cols. (1984) y Benarroch y cols. (1986) quienes observaron cómo lesiones en esta zona bloqueaban completamente la respuesta vasodepresora refleja inducida por estimulación del seno carotídeo.

En cuanto al hipotálamo se trata de una región crítica en el SNC para la orquestación de las funciones somáticas, autónomas y endocrinas, relacionando los controles humoral y nervioso de los procesos corporales. El hipotálamo provoca respuestas cardiovasculares que forman parte de una constelación de efectos encuadrados dentro de las reacciones del organismo al estrés y a las emociones.

Son dos las zonas hipotalámicas con participación en la regulación cardiovascular: el hipotálamo anterior, cuya estimulación produce una disminución de la PA (Hilton y Spyer, 1971) y el hipotálamo posterior, de carácter presor. Desde esta última zona se emiten proyecciones al bulbo raquídeo y al NTS (Spyer, 1989). Además, posee proyecciones recíprocas con la zona C1 bulbar que de allí se dirigen al núcleo dorsal motor del vago y al núcleo intermedio lateral de la médula espinal, indicando una posible acción directa hipotalámica sobre las neuronas preganglionares simpáticas.

No sólo el hipotálamo sino también la corteza cerebral y el sistema límbico desencadenan una serie de efectos circulatorios ante la amenaza de un peligro o de una situación emocional intensa e intervienen así en los componentes circulatorios de la reacción de defensa. Son numerosos los estudios que determinan las interconexiones existentes entre estas regiones y, por ejemplo, el NTS (Gray y cols., 1986, Ruggiero y cols., 1987). A su vez, esas mismas estructuras están conectadas con otras regiones que tienen proyecciones directas con el bulbo raquídeo y la médula espinal.

4.1.1. Sistemas catecolaminérgicos implicados en la regulación de la presión arterial

La importancia de las catecolaminas centrales en la regulación cardiovascular se apoya en el hecho de que las principales áreas cerebrales con influencia sobre la PA y la frecuencia cardíaca se encuentran inervadas profusamente por neuronas catecolaminérgicas.

Desde los años sesenta, se conoce que el cerebro contiene distintos grupos celulares los cuales sintetizan NA, AD y DA. Los axones de esas células proyectan a todas las regiones del SNC, llegando a formar haces en algunas ocasiones (Fig. 3). Estos descubrimientos han sido posibles gracias a la aplicación de técnicas tales como la utilización de neurotoxinas que permiten la destrucción selectiva de un sistema de neurotransmisión. Tal es el caso de la 6-hidroxidopamina (6-OHDA), una de las más empleadas a nivel central.

6-Hidroxidopamina

El interés de la 6-OHDA surgió al observar como causaba una prolongada disminución del contenido de catecolaminas del corazón (Porter y cols., 1963), comprobándose más tarde que este efecto se debía a la destrucción de las terminaciones nerviosas simpáticas.

La 6-OHDA no atraviesa la barrera hematoencefálica en animales adultos, pero puede actuar sobre las neuronas centrales después de su administración local o intraventricular.

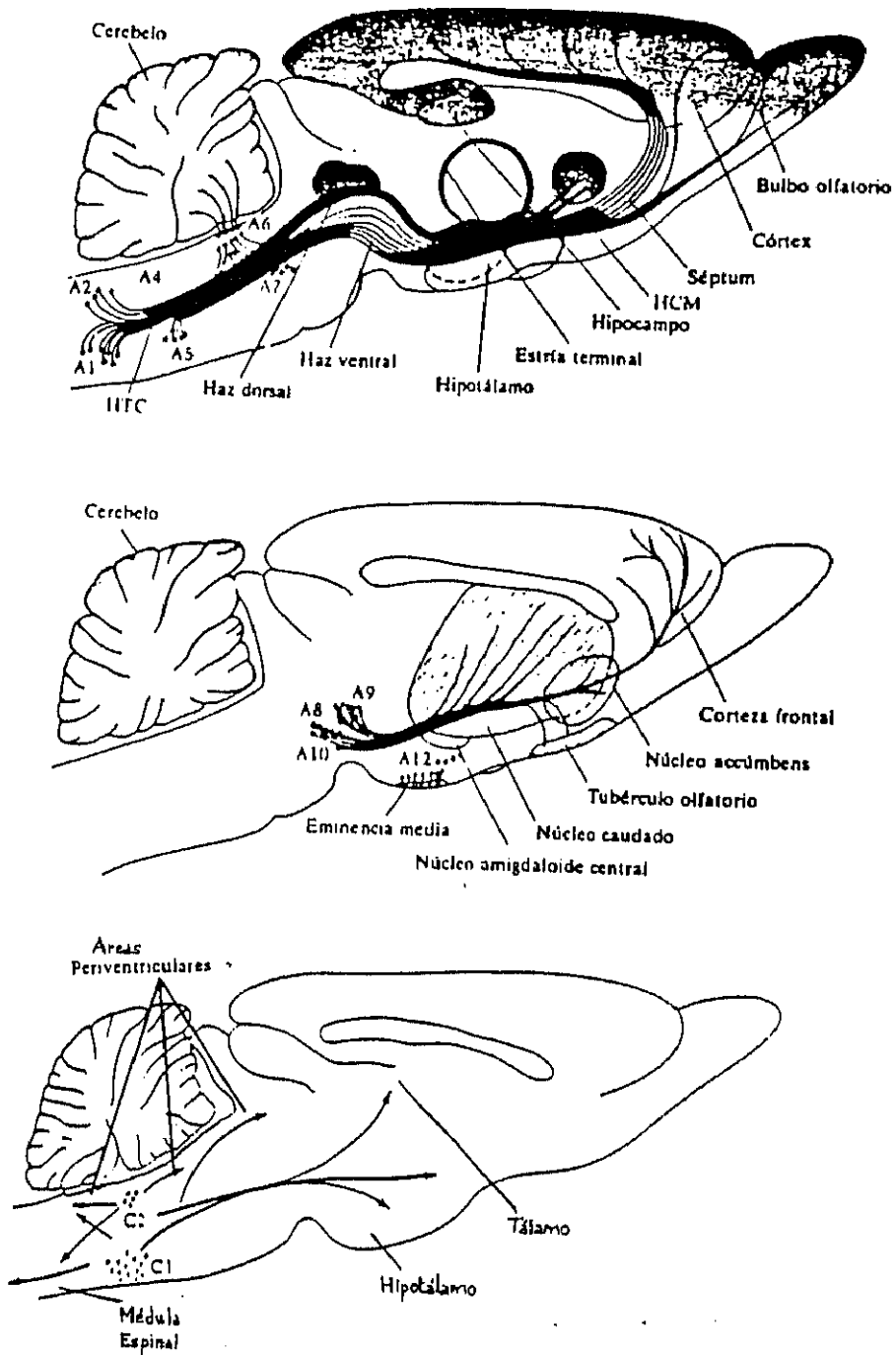


Fig. 3.- Vías de la noradrenalina (panel superior), dopamina (panel medio) y adrenalina (panel inferior) en un corte sagital. Tomado de Bradford (1986).

La acción de la neurotoxina depende de su acumulación por la bomba aniónica de la membrana nerviosa, y puede impedirse con drogas como la desipramina que bloquean este proceso. En el terminal nervioso es rápidamente oxidada a compuestos que causan la degeneración del mismo en un período de días. Mientras que a nivel periférico hay regeneración prácticamente total en casi todas las ocasiones, en el SNC existe muy poca regeneración. Aunque la 6-OHDA es captada por gránulos de almacenamiento intraneuronales, no parece ser requisito imprescindible para provocar el daño nervioso ya que la toxina es efectiva en animales reserpinizados (Kostrzewa y Jacobowitz, 1974).

4.1.1.1. Sistema noradrenérgico

La implicación del sistema noradrenérgico central en el control de la PA está avalada por diferentes hechos: (1) el paralelismo entre la distribución de vías noradrenérgicas y los centros del SNC con un papel confirmado en la regulación cardiovascular, tales como hipotálamo y bulbo; (2) los conocidos efectos centrales cardiovasculares de la NA y otros agonistas adrenérgicos y (3) la conversión de las drogas noradrenérgicas de acción central en uno de los principales agentes terapéuticos utilizados en la hipertensión.

Las neuronas que sintetizan NA se localizan a nivel bulbar y pontino. Fueron descubiertas en el SNC de roedores por Dahlstrom y Fuxe (1964), quienes designaron a los principales grupos celulares noradrenérgicos desde A1 hasta A7, de la zona caudal a la rostral.

El grupo de células A1 en la CVLB y el A2 del NTS, junto con una contribución relativamente menor de los grupos A5 y A7, dan lugar a una de las dos vías noradrenérgicas ascendentes de mayor relevancia: el haz noradrenérgico ventral (HNV) que se dirige rostralmente inervando el hipotálamo (núcleo paraventricular, supraóptico, arcuado, dorsomedial, periventricular). Además, se han descrito también proyecciones descendentes bulboespinales desde los grupos A1 y A2 (Ungerstedt, 1971).

Uno de los núcleos noradrenérgicos más trascendentes es el LC constituido por el grupo celular A6. Este núcleo, con una aportación menor de los grupos A4 y A7, origina otra gran vía ascendente noradrenérgica: el haz noradrenérgico dorsal (HND) que cursa rostralmente emitiendo proyecciones al hipotálamo lateral, núcleos talámicos, amígdala, hipocampo y corteza frontal. Las proyecciones descendentes desde el LC inervan algunas estructuras del tronco encefálico y la médula espinal (Nygren y Olson, 1977).

En la literatura existen numerosos estudios que no dejan duda de que el sistema noradrenérgico en el NTS (A2) modula la actividad del reflejo barorreceptor, si bien no se ha esclarecido totalmente su papel dada la controversia que encierran estos datos.

Algunos estudios han demostrado que la NA del NTS permite el correcto funcionamiento de la respuesta barorrefleja hipotensora (Kobilansky y cols., 1988). En esa misma línea encontramos que la administración local de NA en el NTS produce hipotensión (De Jong y cols., 1980), mientras que la lesión de este núcleo provoca el desarrollo de una hipertensión de carácter neurogénico, que se originaría como consecuencia de la ausencia de la actividad inhibitoria ejercida por las neuronas NA a ese nivel (Patel y Schmid, 1987).

Ahora bien, otros datos apuntan a que la inyección de la neurotoxina 6-OHDA en esta misma zona produce labilidad y una hipertensión transitoria, sin destruir el reflejo barorreceptor (Snyder y cols., 1978). Todos estos resultados parecen indicar, en su conjunto, que la NA puede no ser crucial para la funcionabilidad del NTS, si bien juega un papel facilitador o modulador.

Se ha sugerido para el grupo A1 en la CVLB un papel inhibitorio sobre el tono vasoconstrictor simpático, al proyectar a la zona RVLB del bulbo raquídeo modulando la actividad de las neuronas C1 adrenérgicas.

Lesiones electrolíticas de neuronas A1 coinciden con este hecho al causar hipertensión (Blessing y Reis, 1982) y una atenuación de la sensibilidad barorrefleja (West y cols., 1981). Por el contrario, la estimulación química o eléctrica en ese mismo área produce un descenso de la PA (Willette y cols., 1984). También se ha descrito que la lesión de las células A1 causa un aumento de vasopresina plasmática, efecto que podría contribuir a la severidad de la hipertensión observada (Imaizumi y cols., 1985). Pero estudios más exhaustivos han sugerido que el efecto vasodepresor descrito en las experiencias anteriores dependía de las corrientes eléctricas aplicadas y no de la lesión de las células A1 (Head y cols., 1987), insinuándose la posibilidad de que existan neuronas vasodepresoras en la región A1 pero que éstas no sean noradrenérgicas (Wen-Li y Blessing, 1990; Bonham y Jeske, 1989). Así, el papel de esta región en la regulación de la PA parece no estar todavía muy definido.

Se ha descrito un aumento de la PA y de la liberación de vasopresina tras la estimulación eléctrica del LC (Sved, 1986). Sin embargo, la implicación de la NA en dichas respuestas no ha sido determinada y pudiera ser que los efectos cardiovasculares y hormonales mencionados se debieran a la estimulación de fibras que pasaran a través de este núcleo.

Los estudios de Korner y cols. (1987) sugieren que el grupo A6 (más el complejo A7) esté implicado en un circuito que sería responsable de cambios en la PA debidos a la alteración de la actividad de una vía presora que ascendería desde este núcleo. Así, el LC participaría en la modulación difusa de respuestas somáticas, comportamentales y cardiovasculares más que tener un papel específico en el control central de la PA (Morilak y cols., 1987).

La relevancia cardiovascular de las vías ascendentes noradrenérgicas no tiene duda dada la profusa inervación que desde núcleos pontinos y bulbares recibe, a través de esos haces, el hipotálamo (Van den Buuse y cols., 1989). De esta manera, áreas implicadas en la regulación básica del sistema cardiovascular se unen a centros envueltos en la respuesta comportamental-emocional-hormonal a estímulos ambientales. Pero, a su vez, núcleos hipotalámicos proyectan densamente a estructuras caudales como el NTS, de manera que también el hipotálamo podría jugar un importante papel en la modulación de la actividad barorrefleja (Simon y cols., 1985).

La inyección de NA en el hipotálamo anterior produce un descenso de la PA (Struyker y cols., 1975), postulándose que los mecanismos noradrenérgicos en esta zona estarían relacionados con el desencadenamiento de una respuesta depresora, con objeto de amortiguar las elevaciones fisiológicas de la PA. Por el contrario, la estimulación eléctrica del hipotálamo posterior produce una respuesta presora, debida a la liberación de NA y la subsiguiente activación de los receptores alfa (Philippu y cols., 1981) lo que sugeriría que el aumento de la actividad noradrenérgica en este área estaría ligada a la respuesta compensatoria en estados hipotensivos (Philippu y cols., 1979).

Así pues, existe una influencia recíproca entre el arco barorreflejo y la actividad noradrenérgica del hipotálamo, posibilitando la hipótesis de que los mecanismos noradrenérgicos en ese núcleo pueden ser importantes en la regulación del reflejo barorreceptor.

4.1.1.2. Sistema adrenérgico

Los grupos celulares que contienen AD son tres: C1, C2 y C3 y están restringidos al bulbo raquídeo (Hökfelt y cols., 1973).

El grupo C1 se localiza en la RVLB, región de trascendencia en la regulación central de la PA. Estas neuronas adrenérgicas proyectan sus axones para inervar rostralmente diversos núcleos hipotalámicos y caudalmente el núcleo intermedio lateral de la médula espinal (Fuller, 1982). El segundo grupo más importante de neuronas adrenérgicas (C2) se sitúa en el NTS, proyectándose a los núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo y al LC.

Las lesiones en la RVLB, donde se sitúa el grupo C1, causan una caída de la PA semejante a la originada por transección espinal, mientras que su estimulación provoca un aumento de la misma. Sin embargo, el papel de dichas neuronas adrenérgicas en la mediación de los efectos cardiovasculares observados no está aún bien definido ya que la inhibición de la actividad de la PNMT parece no alterar la PA en respuesta a la estimulación de este área (Head y Howe, 1987). Así, se ha postulado que el tono simpático cardioacelerador y vasoconstrictor estaría mediado por un grupo de neuronas, de neurotransmisor no identificado, pero cuya actividad si podría ser modulada por las neuronas adrenérgicas C1 (Sun y cols., 1988).

Por lo que respecta al hipotálamo, Routledge y Marsden (1988) han descrito la existencia de un tracto adrenérgico, procedente de la región C1 en la RVLB, que interviene en el control de la PA, y cuya estimulación eléctrica a nivel bulbar, incrementa la liberación de AD hipotalámica.

En cuanto al grupo C2 del NTS, es posible que module la expresión funcional de los centros presor y depresor del bulbo raquídeo, o integre la respuesta barorrefleja (Kobilansky y cols., 1988). En esta línea se ha afirmado que una disminución del tono vasodepresor adrenérgico en el NTS puede considerarse como indicador bioquímico de la reducción de la función refleja barorreceptora (Yukimura y cols., 1981). Otras evidencias que apoyan la anterior hipótesis proceden de las experiencias de Struyker-Boudier (1975), donde la microinyección local de AD disminuía la PA, siendo bloqueado ese efecto hipotensor por el antagonista adrenérgico fentolamina (De Jong y Nijkamp, 1976).

Confirmando la idea de que las neuronas adrenérgicas en el bulbo raquídeo representan un sistema vasodepresor, encontramos los estudios de Fuxe y cols. (1980). Estos autores inyectaban intracerebroventricular inhibidores de la PNMT, afectando selectivamente las neuronas adrenérgicas sin alterar otros sistemas catecolaminérgicos, observando un incremento de la PA.

Por otro lado, es probable que las neuronas C2, al inervar el LC, también participen en el control de la actividad de los cuerpos celulares noradrenérgicos a través de señales inhibitorias (Sawchenko y Bohn, 1988).

4.1.1.3. Sistema dopaminérgico

El papel del sistema dopaminérgico central en el mantenimiento de la homeostasis cardiovascular ha sido subestimado durante mucho tiempo, quizá debido a la contradicción que reflejaban los resultados obtenidos de la microinyección central de DA y otros agonistas dopaminérgicos sobre la PA. Este hecho ha permitido que la investigación en este campo se centrara en los sistemas adrenérgico y noradrenérgico antes mencionados.

Los grupos celulares dopaminérgicos descritos en el SNC se designan desde A8 hasta A15 y están confinados fundamentalmente al mesencéfalo, con pequeños grupos que se sitúan en diencefalo y telencefalo (Dahlstrom y Fuxe, 1964).

La sustancia nigra (A9) es el núcleo mesencefálico más importante. Otras neuronas dopaminérgicas se localizan en la formación reticular mesencefálica (A8) y en el área tegmental ventral (A10). Al igual que sucedía en el sistema noradrenérgico, desde algunos de estos núcleos celulares se forman haces ascendentes de gran trascendencia, como el sistema dopaminérgico nigroestriatal, constituido por los grupos A8 y A9 que llega a inervar el núcleo putamen y el núcleo caudado, mientras que el grupo A10 origina otro haz ascendente, el sistema dopaminérgico mesolímbico, que inerva diferentes estructuras límbicas y corticales (Ungerstedt, 1971).

Los grupos celulares dopaminérgicos del diencefalo se circunscriben a dos núcleos hipotalámicos, el núcleo periventricular (A11) y el núcleo arcuato (A12 y su prolongación rostral A14). Este último núcleo dará lugar al sistema dopaminérgico tuberoinfundibular, que inerva la eminencia media. Para terminar, el grupo A13 se localiza en la zona incerta y el A15 en el bulbo olfatorio (Bjorklund y Nobin, 1973).

Como ya se ha mencionado antes, la intervención del sistema dopaminérgico en la regulación de la PA no ha sido determinada hasta el momento. Sin embargo, algunos autores han descrito alteraciones autónomas en enfermos de Parkinson, como por ejemplo hipotensión ortostática (Turkka y cols., 1986). Dichas observaciones están de acuerdo con un posible papel, en particular del sistema nigroestriatal A9, en la modulación del control cardiovascular.

Spring y Winkemüller (1973) muestran que la estimulación eléctrica de la sustancia nigra provoca una respuesta presora en el gato. Además, se ha postulado una posible implicación del sistema dopaminérgico sobre el reflejo barorreceptor. En esta línea se encuentran las experiencias de Alexander y cols. (1988) en ratas denervadas seno-aórticamente, las cuales presentaban una disminución del 50% en los niveles de DA y sus metabolitos en el núcleo estriado.

La implicación de otros sistemas dopaminérgicos en la regulación cardiovascular también ha sido estudiada y, así, se ha comprobado que la estimulación eléctrica del área tegmental ventral (grupo A10) induce un aumento de la PA frecuencia-dependiente que puede ser bloqueado mediante pretratamiento con haloperidol (Van de Buuse y cols., 1988). De la misma manera, el grupo A12 situado en el hipotálamo podría ser relevante en el control de la PA debido a su influencia sobre la liberación de hormonas hipofisarias, como prolactina y ACTH, o de endorfinas.

OBJETIVOS

Una de las múltiples respuestas fisiológicas que el organismo experimenta frente al estrés es un incremento de la PA (Brody y cols., 1987). El modelo de estrés por privación social induce un estado hipertensivo en la rata (Gardiner y Bennet, 1977) presentando un doble interés al permitir asociar estrés e hipertensión.

El sistema catecolaminérgico central juega un papel preponderante en el control cardiovascular. En particular, el NTS y diferentes núcleos hipotalámicos, en donde la activación de receptores adrenérgicos origina cambios en la PA (Van de Buuse y Head, 1989).

Teniendo en cuenta las anteriores premisas consideramos la posibilidad de que el sistema catecolaminérgico central estuviera implicado en la elevación de la PA generada tras la aplicación del estrés por privación social.

En primer lugar, intentamos caracterizar convenientemente el modelo experimental elegido llevando a cabo el seguimiento de la PA, constatando el desarrollo de la respuesta hipertensiva descrita por primera vez en animales adultos por Gardiner y Bennet (1977) y, posteriormente, en animales jóvenes por Naranjo y Fuentes (1985).

Al mismo tiempo, se validó dicho paradigma experimental como fuente de estrés en términos de la actividad adrenocortical mediante la medida directa de los niveles de corticosterona plasmáticos por radioinmunoensayo.

La funcionalidad del sistema catecolaminérgico cerebral se estimó mediante la determinación de los niveles de aminas (NA, AD y DA) y de metabolitos (MHPG) por HPLC en distintas estructuras cerebrales elegidas en función de su conocido papel en la respuesta fisiológica al estrés y/o en la regulación central de la PA (hipotálamo, bulbo raquídeo y médula espinal).

Se evaluaron los cambios temporales en los parámetros bioquímicos considerados relacionados con modificaciones en la PA durante el período en que los animales estuvieron sometidos a estrés, comparando los índices de actividad catecolaminérgica en las diferentes regiones cerebrales entre animales normotensos e hipertensos.

Como segunda aproximación farmacológica se procedió a la administración de 6-OHDA en el HNV. La utilización de una neurotoxina que, como en nuestro caso, es capaz de destruir selectivamente un sistema de neurotransmisión es una de las herramientas de trabajo más frecuentes en la investigación farmacológica, puesto que permite dilucidar algunos aspectos de la función a desempeñar por dicho sistema.

En primer término, se estudiaron los efectos directos de la administración de la neurotoxina sobre la PA y la actividad catecolaminérgica central en animales normotensos.

Y, por último, se analizaron las consecuencias de la destrucción selectiva de los sistemas catecolaminérgicos centrales sobre los mismos parámetros considerados anteriormente en animales antes y después de desarrollar la respuesta hipertensiva inducida por privación social.

MATERIALES Y METODOS

1. FARMACOS Y PRODUCTOS QUÍMICOS

Los fármacos y productos químicos empleados en los experimentos que se describen en el capítulo posterior fueron los siguientes:

Pentobarbital sódico, ácido etilendiaminotetracético (EDTA) sal sódica, octilsulfato sódico, bisulfito sódico, NA bitartrato, AD, DA clorhidrato, 6-OHDA, MHPG sulfato, MHPG hemipiperazina, 3-4-dihidroxibencilamina (3-4-DHBA), seroalbúmina bovina, tripsina, inhibidor de tripsina, hidroxapatita y corticosterona que procedían de Sigma.

La gamma-globulina se obtuvo de Serva, el anticuerpo para corticosterona de Bioclin y la ³H-corticosterona de Amersham.

El ácido cítrico, ácido ascórbico, acetato sódico, fosfato disódico, sulfato magnésico, ácido perclórico y etanol absoluto procedían de Merck. El hidrato de cloral y el cloruro sódico fueron de Panreac, mientras que el propilenglicol fue de Probus y el metanol para HPLC, así como el Cocktail 22-Normascint-líquido de centelleo de Scharlau.

2. ANIMALES DE EXPERIMENTACION

Durante el desarrollo del presente trabajo se utilizaron ratas Wistar macho de 90-100 gramos de peso (aproximadamente 6 semanas de edad).

Los animales procedían de Interfauna Ibérica (San Feliu de Codines, Barcelona) y se mantuvieron a temperatura constante (21^a C) y luz controlada (12 hr luz/12 hr oscuridad), disponiendo en todo momento de acceso libre a la comida y a la bebida, permaneciendo en nuestro estabulario por un período de al menos 5-6 días antes de su utilización.

3. TECNICAS QUIRURGICAS

3.1. LESION CON 6-HIDROXIDOPAMINA DEL HAZ NORADRENERGICO VENTRAL

La lesión del HNV se llevó a cabo estereotáxicamente por inyección bilateral de la neurotoxina 6-OHDA en ratas previamente anestesiadas con Equitesín (3 ml/kg), cuya composición se indica a continuación:

Pentobarbital sódico	0.4 mM
Sulfato magnésico	8.6 mM
Hidrato de Cloral	2.5 mM
Propilenglicol	56.0 mM
Etanol 90 %	11.5 %
Agua	c.s.

Una vez anestesiadas, se fijaron a un aparato estereotáxico (David Köpf) y se efectuó una pequeña incisión en la piel craneal, limpiandose perfectamente la superficie expuesta del cráneo con el fin de dejar las suturas visibles y así proceder a la localización del punto exacto de la lesión según las coordenadas siguientes:

Ratas jóvenes (90-100 g):

Antero-posterior	- 5.9 mm con respecto a la bregma
Lateral	\pm 1.2 mm desde la línea media
Profundidad	- 6.5 mm desde la duramadre
Angulo de incisivos	2.0

Ratas adultas (240-250 g):

Antero-posterior	- 7.3 mm con respecto a la bregma
Lateral	\pm 1.3 mm desde la línea media
Profundidad	- 7.4 mm desde la duramadre
Angulo de incisivos	3.5

Las coordenadas de la lesión, así como las correcciones pertinentes según el peso del animal de experimentación en cada caso, se determinaron utilizando el atlas de Paxinos y Watson (1986).

Una vez localizado el punto de la lesión, y con un torno dental, se practicaron dos pequeños orificios en el cráneo a través de los cuales se procedió a efectuar la inyección de 2 μ l (ratas jóvenes) ó 3 μ l (ratas adultas) de una solución de 3 μ g/ μ l de 6-OHDA en ácido ascórbico 0.2 % ó de vehículo sólo con un jeringa Hamilton (Hamilton CO. Mod. 701). La inyección se realizó lentamente, a 0.5 μ l/min.

4. MODELO DE ESTRES

El modelo de estrés utilizado fue el de la deprivación social. Las condiciones experimentales para la inducción del estrés por este método fueron descritas por primera vez por Gardiner y Bennet (1977) y posteriormente modificadas por Naranjo y Fuentes (1985).

En este modelo, cada animal se sitúa individualmente en una jaula standard (25x25x14 cm) de paredes opacas, manteniéndose en estas condiciones durante un período de tiempo de 15-20 días, hasta que se obtiene la respuesta hipertensiva. Se considera que dicha respuesta se produce cuando los valores de presión arterial sistólica se sitúan unos 15-20 mm de Hg por encima de los valores de los animales control. Este grupo, siempre paralelo al de animales aislados, está formado por ratas que permanecen agrupadas de 5 en 5, durante el mismo tiempo y en las mismas condiciones, en jaulas de mayor tamaño (40x33x16 cm). En todos los casos, al comienzo del período de aislamiento, se utilizaron animales de seis semanas de edad (90-100 g) que habían sido habituados previamente a la medida indirecta de la presión arterial.

5. MEDIDA DE LA PRESION ARTERIAL

5.1. MEDIDA INDIRECTA DE LA PRESION ARTERIAL

La medida de la presión arterial se efectuó por el método indirecto (tail-cuff) descrito por Buñag (1973), utilizando un aparato W+W B.P. Recorder y Letica (LE-5100).

En este procedimiento se aplica en la cola del animal un manguito unido a un dispositivo neumático generador de una presión que varía cíclicamente. La presión del manguito es producida por un motor que acciona un pistón alojado en el interior de un cilindro, de dimensiones tales que la presión mínima es 0 mm de Hg y la máxima 290 mm de Hg. Asimismo, el sistema cuenta con un transductor, acoplado previamente a la cola del animal, que detecta la pulsación de la arteria caudal cuya señal es amplificada y registrada por una plumilla sobre un papel calibrado en mm de Hg.

Cuando la presión del manguito iguala la presión diastólica, la amplitud del trazado comienza a descender, anulándose completamente cuando alcanza la presión sistólica. Ello es debido a que la arteria caudal se colapsa interrumpiéndose la transmisión de la pulsación a la parte periférica de la cola. Cuando la presión del manguito desciende, la pulsación retorna.

Para obtener un registro estable de la presión es necesario provocar la vasodilatación de la arteria caudal de la rata para lo cual se coloca al animal bajo una lámpara de luz infrarroja durante 5-10 minutos.

La escasa reproductibilidad en los valores de la presión arterial diastólica obtenidas con el aparato W+W B.P. Recorder obligaron a utilizar exclusivamente las medidas de presión arterial sistólica durante la iniciación del presente trabajo. Posteriormente se pudo disponer de un aparato Letica (LE-5100), cuyo fundamento es semejante al descrito anteriormente, pero dispuesto de un lector digital que registraba con fiabilidad tanto la presión arterial sistólica como diastólica, procediéndose a la repetición de los experimentos ya realizados con objeto de estimar los valores de presión arterial diastólica que anteriormente habían sido desestimados.

Todas las ratas fueron sometidas a dicha medida durante tres días previos al inicio del aislamiento con el fin de favorecer su acostumbramiento, eliminándose automáticamente aquellos animales cuyos valores de presión arterial no fueron estables durante este período. Los valores finales de presión arterial corresponden a la media de, al menos, ocho medidas consecutivas. La frecuencia cardíaca se obtuvo mediante un tacómetro acoplado al sistema.

6. DETERMINACIONES BIOQUIMICAS

6.1. DETERMINACION DE CATECOLAMINAS CEREBRALES Y SUS METABOLITOS POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA PRESION

6.1.1. Fundamento de la técnica cromatográfica

La técnica de cromatografía líquida de alta presión (HPLC) y de fase reversa, de par iónico es una variante de la cromatografía clásica de fase normal, que permite la separación de mezclas compuestas por sustancias polares, incorporando a esta última la ventaja, por un lado, de reducir el tiempo de análisis y la cantidad de eluyente empleado, y por otro, permitir manipular selectivamente los tiempos de retención de moléculas ionizadas, cuando el formador de par iónico (un ácido sulfónico en este caso) se añade a la fase móvil, e interacciona con el grupo NH^{4+} de las catecolaminas, suprimiendo su ionización e incrementando la retención de las mismas en la fase estacionaria, sin afectarse los componentes ácidos o neutros de la muestra.

El pH y la concentración del solvente orgánico son otros de los factores frecuentemente manejados para obtener una resolución adecuada.

6.1.1.1. Detección electroquímica

Solamente aquellos compuestos capaces de sufrir procesos de óxido-reducción pueden ser detectados electroquímicamente, dentro de los límites de potencial fijados por el tipo de material del electrodo de trabajo. Todas las catecolaminas son, por tanto, susceptibles de ser detectadas electroquímicamente por oxidación a sus correspondientes ortoquinonas en la superficie de dicho electrodo.

La selectividad de este método de detección se logra ajustando la diferencia de potencial entre el electrodo de trabajo y el de referencia a un valor justo por encima del potencial de oxidación de los compuestos de interés. En el caso de las catecolaminas se requieren potenciales del orden de 0.60-0.70 V, mientras que los metabolitos O-metilados de estas aminas, como el MHPG, precisan una energía de activación más elevada y, por tanto, requieren potenciales de oxidación más altos. El empleo del detector electroquímico para la determinación de MHPG en nuestras condiciones no permitió obtener ni la resolución ni la sensibilidad adecuadas, utilizándose otro sistema de detección diferente para su análisis.

6.1.1.2. Detección fluorimétrica

Los detectores de fluorescencia son los más comunmente utilizados en la determinación de compuestos que presentan fluorescencia natural, así como para los que pueden convertirse en fluorescentes por simple derivatización.

La fluorescencia tiene lugar cuando compuestos que poseen determinados grupos funcionales se excitan con energía de una cierta longitud de onda y emiten radiación de mayor longitud de onda, la cual es medida gracias a la presencia de un fotomultiplicador. Normalmente la emisión se determina en dirección perpendicular a la excitación, y la capacidad real de la fluorescencia de grupos químicos específicos es función de las longitudes de onda de la excitación y de la emisión.

Este sistema de detección permite la separación y cuantificación de catecolaminas, que por su estructura fenólica presentan fluorescencia natural para una longitud de onda de 200-300 nm, pero con una sensibilidad muy inferior a la obtenida cuando se emplea la detección electroquímica. Sin embargo, mediante el empleo de esta técnica de detección fluorimétrica, se obviaron los inconvenientes derivados de la escasa resolución que se obtenía para la identificación del MHPG cuando se utilizaba la detección electroquímica.

Nuestro sistema constaba de un monocromador para la selección de la longitud de onda de excitación y un filtro de emisión de paso de banda para la longitud de onda de emisión.

6.1.2. Determinación de catecolaminas cerebrales y metabolitos

6.1.2.1. Preparación de las muestras

Los animales fueron sacrificados por decapitación, procediéndose inmediatamente a la extracción del cerebro y disección de las distintas áreas cerebrales de interés, según el método de Glowinski e Iversen (1966). A continuación, todas las estructuras se pesaron y congelaron en nieve carbónica, manteniéndose a -80°C hasta el momento de su procesamiento.

Homogeneización

El líquido de extracción donde se realizó la homogeneización contenía ácido perclórico 0.4 M y además 3-4 DHBA como standard interno para la cuantificación de NA, AD y DA. El proceso fue llevado a cabo en un homogeneizador de ultrasonidos (Labsonic 1510, Braun). A continuación, se centrifugó el homogeneizado a 18.000 g., durante 30 minutos, en una minifuga Heraeus Mod.B, recogiendo el sobrenadante para efectuar, en el caso de NA, AD y DA, el análisis directo del mismo por HPLC con detección electroquímica, o bien, en el caso del MHPG, una hidrólisis ácida previa a su determinación fluorimétrica. El volumen para la homogeneización fue variable, dependiendo de la concentración estimada de cada sustancia en el tejido concreto a analizar.

Hidrólisis ácida

Puesto que el MHPG en cerebro de rata se encuentra en su mayoría conjugado en forma de sulfato y que la presencia de este grupo sulfato imposibilita su detección, fue preciso realizar una hidrólisis previa a su determinación con objeto de dejar el MHPG en forma libre. Así, se tomaron 200 μl del sobrenadante en tubos de cristal de 3 ml y se introdujeron en un baño de agua a 100°C durante 4 minutos. Después de neutralizar los mismos con NaOH y tras someter a las muestras a una centrifugación leve para recolectar todo el líquido del fondo de los tubos, se procedió al análisis cuantitativo de MHPG. El rendimiento de la hidrólisis no fue nunca inferior al 70 %.

6.1.2.2. Condiciones cromatográficas para la determinación de noradrenalina, adrenalina y dopamina

La determinación de las tres aminas se realizó inyectando directamente el sobrenadante de la homogeneización en un equipo de HPLC acoplado a un detector electroquímico. El equipo de cromatografía constaba de una bomba (Waters M-510), un inyector automático (Spark Holland, Mod. Promis II), un detector electroquímico (Waters M-40) y un integrador (Spectra Physics, Mod. SP-4290). La columna utilizada fue una Resolve C-18 (Waters) de 15 cm de longitud, 4.6 mm de diámetro y 5 μ de tamaño de partícula, de fase reversa. La composición de la fase móvil era:

Acetato sódico	0.1 M
Acido cítrico	0.1 M
EDTA	0.15 mM
Octilsulfatosódico	1.2 mM
Metanol	10%
pH=3.7	

circulando a un flujo de 1 ml/min, aplicandose una diferencia de potencial de 0.65 V entre el electrodo de trabajo y el de referencia. El volumen de la muestra inyectada fue de 20 μ l.

6.1.2.3. Condiciones cromatográficas para la determinación de MHPG

Para la determinación de MHPG se utilizaron dos alícuotas del sobrenadante de la homogeneización de 200 μ l cada una, según el método descrito por Artigas y cols. (1986). Una de las alícuotas llevaba una sobrecarga de 10 μ l de MHPG-sulfato (600 pg/ μ l), y a la segunda alícuota se le añadieron 10 μ l de agua destilada. A continuación, ambas alícuotas fueron sometidas a la hidrólisis, tal y como se ha descrito anteriormente, y los sobrenadantes fueron inyectados en un equipo de HPLC acoplado a un detector fluorimétrico.

El equipo de cromatografía utilizado en la determinación de MHPG fue similar al descrito en el apartado anterior a excepción del detector que, en este caso, era un detector fluorimétrico (Applied Biosystem, 980). La columna utilizada fue una ODS-1 Spherisorb (Brownlee) de 15 cm de longitud, 4.6 mm de diámetro y 5 μ de tamaño de partícula, de fase reversa.

La fase móvil estaba constituida por:

Acido cítrico	0.03 M
Fosfato sódico	0.06 M
Metanol	5.5%

circulando a un flujo de 1.2 ml/min. La longitud de onda empleada en la detección fue de 236 nm (excitación) y 350 nm (emisión). El volumen inyectado fue de 50 μ l y la cuantificación se efectuó por el método de adición externa.

6.1.4. Cuantificación y expresión de los resultados

Los standards empleados para la identificación y cuantificación de los distintos componentes de las muestras se prepararon en ácido perclórico 0.4 M para NA, AD y DA y en metanol absoluto para el MHPG-sulfato y MHPG-hemipiperazina. Estas soluciones almacenadas a -20^o C se mantienen estables durante un mes. Las soluciones de trabajo (50-200 pg/ μ l) se prepararon diariamente por dilución de las soluciones madre (100-200 ng/ μ l) en ácido perclórico.

La calibración del sistema se efectuó por inyección del standard externo correspondiente. El DHBA y el MHPG-sulfato se emplearon como standards internos para la cuantificación de NA, AD, DA y de MHPG, respectivamente, para de este modo salvar las pequeñas variaciones que pudieran producirse al preparar las muestras o en el volumen de inyección. Siempre se inyectaron los standards cada 5-6 muestras con el fin de compensar la pérdida gradual de sensibilidad del detector con el uso continuado.

La concentración de las catecolaminas en las muestras se determinó por comparación de las áreas de sus picos con las áreas de los picos obtenidos para los standards, después de aplicar la corrección correspondiente una vez evaluada la recuperación para el standard interno. El valor obtenido fue de nuevo corregido, en función de los volúmenes de homogeneización de cada tejido, para expresar las concentraciones en pg/mg de tejido.

En el caso del MHPG, la concentración en las muestras se obtuvo de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$h/c = hs/(c + cs)$$

siendo:

- h la altura del pico de MHPG en la alícuota sin sobrecarga
- hs la altura del pico de MHPG en la alícuota sobrecargada
- c la concentración real de MHPG
- cs la concentración de MHPG-sulfato añadido a la alícuota sobrecargada

6.2. DETERMINACION DE LOS NIVELES PLASMATICOS DE CORTICOSTERONA POR RADIOINMUNOENSAYO

6.2.1. Obtención de las muestras y separación del plasma

Tras decapitar por la mañana (08.00-11.00 h) a los animales se recogió la sangre troncular en tubos heparinizados en frío (0^o-4^o C). Para la separación del plasma, la sangre se centrifugó a 1000 g, durante 10 minutos, a 4^o C. Se recogió el plasma y se mantuvo a -20^o C para la posterior determinación de los niveles circulantes de corticosterona.

6.2.1.1. Liberación de corticosterona de proteínas plasmáticas

La mayoría de las moléculas de corticosterona se encuentran unidas a proteínas plasmáticas y sólo un bajo porcentaje se presenta en forma libre. Para evaluar los niveles de esta hormona es necesario que esté presente en su forma libre, lo que requiere un proceso de extracción previo a la realización del radioinmunoensayo (RIA).

En lugar de realizar la extracción de la hormona utilizando disolventes orgánicos, se procedió a la digestión de las muestras con tripsina, enzima que hidroliza la transcortina así como otras proteínas con alta afinidad por corticosterona, deteniéndose la digestión por incubación con un inhibidor de tripsina, siguiendo el método descrito por Armario y Castellanos (1984). La tripsina y el inhibidor de la misma fueron preparadas en un buffer RIA que estaba constituido por:

Buffer fosfato	5 mM	pH=7.4
Seroalbúmina bovina	0.06 %	
Gamma-Globulina	0.02 %	
Cloruro sódico	0.9 %	

El ensayo se realizó por duplicado partiendo de 2 μ l de plasma a los que se les añadió 100 μ l de una solución de tripsina (1 μ g/ μ l). Trás agitar los tubos 1 minuto e incubar 1 hora a temperatura ambiente, se detuvo la reacción añadiendo 100 μ l de una solución del inhibidor de tripsina (1.25 μ g/ μ l). Se repitió el proceso de agitación e incubación, en este caso 30 minutos a temperatura ambiente, y se procedió a realizar el RIA.

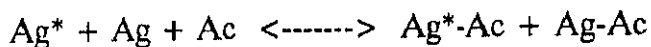
6.2.2. Radioinmunoensayo de corticosterona

Fundamento

El RIA está basado en la unión específica de un antígeno (Ag) con su anticuerpo (Ac) correspondiente según la siguiente reacción:



Si una cantidad determinada de Ac se expone a una cantidad constante de Ag marcado radiactivamente (Ag*), se establece un equilibrio de unión Ag*-Ac que, en presencia de cantidades crecientes de Ag frío, se verá afectado, ya que ambos (Ag* y Ag) competirán por los mismos sitios de unión del Ac:



Mediante la realización de una curva standard con concentraciones crecientes de Ag, se irá produciendo un desplazamiento progresivo del Ag* del complejo Ag*-Ac, de tal modo que se puede establecer una relación entre la cantidad de complejo Ag*-Ac y la concentración de Ag de la muestra. Esta última será determinada mediante contaje del radioisótopo que permanece unido al complejo de tal modo que, cuanto menor sea la formación del complejo Ag*-Ac, mayor será la cantidad de Ag presente en la muestra.

Realización del RIA

El RIA se realizó por combinación de dos métodos diferentes descritos por Villanúa y Gamallo (1985) y Armario y Castellanos (1984).

La curva standard se preparó diariamente a partir de una solución madre de corticosterona en etanol de 500 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, llevándose puntos de 0, 15, 31, 62, 125, 250, 500, 1000, 2000, 4000 y 8000 pg de corticosterona. El punto 0 de la curva, que sólo contiene Ag* y Ac, será el indicador de la unión máxima Ag*-Ac. Esta curva standard se completó con dos tubos: un primer tubo, denominado N, que daba cuenta de la captación inespecífica de Ag* por la hidroxiapatita y cuyas c.p.m. fueron sustraídas de todos los tubos ensayados y, un segundo tubo, el de las c.p.m. totales, que indicaba la radiactividad total que había sido añadida en cada tubo.

Tanto a las muestras como a los diferentes puntos de la curva se les añadió 100 μl de 1,2 ^3H -corticosterona (60 Ci/mmol), aproximadamente unas 4.000 c.p.m., y 100 μl de antisuero anticorticosterona de dilución 1/10000 (concentración necesaria para obtener aproximadamente un 50 % de unión Ag*-Ac) en buffer RIA. Trás una incubación de 16-18 horas a 0^a-4^a C, se precipitaron los complejos Ag-Ac formados con 200 μl de hidroxiapatita al 2.5 % en buffer fosfato 1 mM, pH 7.4, por centrifugación en frío, a 1000 g, durante 10 minutos. A continuación se añadieron 2 ml de líquido de centelleo y se procedió a su contaje en un contador beta (LKB). Para evitar posibles variaciones intra e interensayo se corrió siempre una muestra del mismo "pool" de plasma cada 25 tubos de RIA, así como en todos los diferentes RIA de corticosterona realizados en distintas ocasiones.

El contenido de corticosterona en las muestras biológicas se obtuvo por interpolación de sus valores, en c.p.m., en la curva standard de concentraciones conocidas de la hormona, representada en porcentaje de complejo Ag*-Ac (c.p.m.) en ordenadas frente a concentraciones crecientes de corticosterona (pg) en abcisas. Los valores fueron expresados en μg de corticosterona/100 ml de plasma.

7. TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS

El valor de las variables estudiadas se expresa mediante un parámetro de centralización (media aritmética) y otro de dispersión (error standard de la media) (ESM).

Para analizar las diferencias entre los grupos experimentales se utilizó el test "t" de Student, una vez comprobada la viabilidad de su aplicación (ajuste de los grupos experimentales a una distribución normal).

RESULTADOS

1. DESTRUCCION SELECTIVA DEL HAZ NORADRENERGICO VENTRAL MEDIANTE LA ADMINISTRACION DE 6-HIDROXIDOPAMINA

1.1. EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE 6-HIDROXIDOPAMINA EN EL HAZ NORADRENERGICO VENTRAL SOBRE LA PRESION ARTERIAL

Los animales lesionados en el HNV con 6-OHDA presentaron un aumento transitorio de la presión arterial sistólica y diastólica 24 horas después de realizarse la lesión (FIG 4) con respecto a los valores, para ambos parámetros, de los animales sometidos a la misma operación quirúrgica pero a los que se les administró vehículo en lugar de la neurotoxina (Sham). Estos animales sham no experimentaron alteraciones en la presión arterial por efecto del sometimiento al simulacro de lesión. Las lecturas de presión arterial, tanto sistólica como diastólica, de los animales lesionados volvieron a ser similares a las de los animales sham transcurridos tres días después de la lesión (Tabla I).

No se apreciaron variaciones ni en la frecuencia cardíaca (sham, 430 ± 13 ; lesión, 423 ± 12) ni en el peso corporal (sham, 297 ± 6 ; lesión, 304 ± 5) de los animales lesionados respecto a sus controles sham-operados. (Los valores que se muestran corresponden al día 30 de aislamiento).

1.2. EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE 6-HIDROXIDOPAMINA EN EL HAZ NORADRENERGICO VENTRAL SOBRE LA ACTIVIDAD CATECOLAMINERGICA CENTRAL

Se determinaron los niveles de NA, AD y DA, así como de MHPG, en tres diferentes estructuras elegidas en función de su conocida participación en la regulación central del sistema cardiovascular (hipotálamo, bulbo raquídeo y médula espinal) en animales lesionados mediante la inyección de la neurotoxina 6-OHDA en el HNV, con el fin de examinar la posible alteración que la lesión produciría sobre el contenido de catecolaminas y la actividad neuronal de estos sistemas de neurotransmisión.

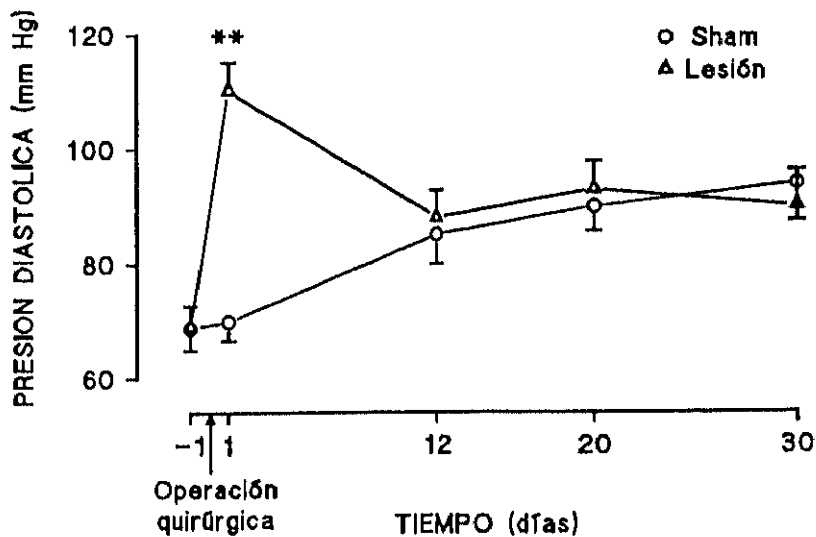
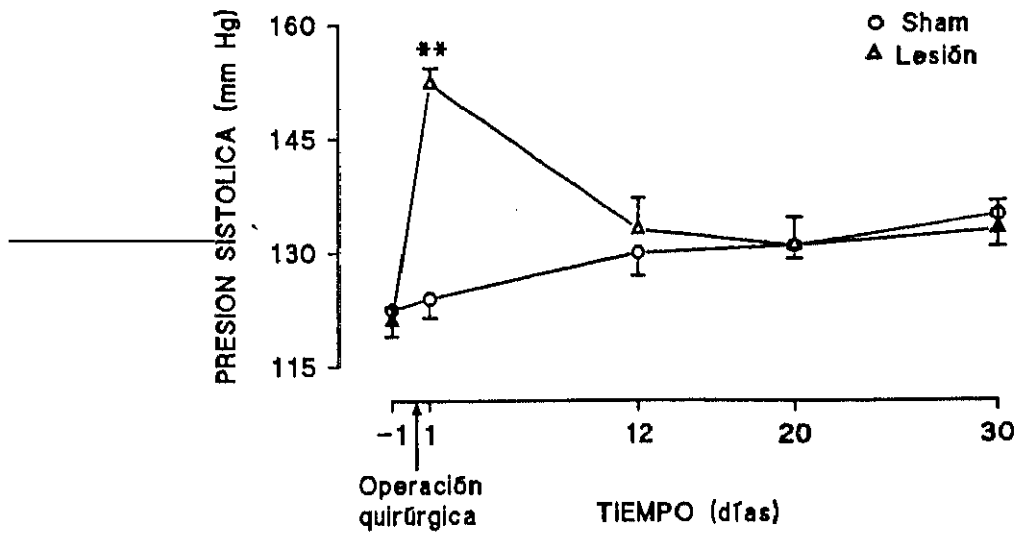


Fig. 4.- Efecto de la administración de 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral sobre la presión arterial sistólica y diastólica.

La medida de la presión arterial se llevó a cabo por el método indirecto "tail-cuff" 1 día antes (-1) y a diferentes días después de la administración bilateral de 6 ug/rata de la neurotoxina (Lesión) o vehículo (Sham). Los datos se expresan como la media \pm ESM en grupos de 16-18 animales.

** $p < 0.01$ respecto a los valores de los animales sham (test de la "t" de Student).

TABLA I

ESTADO HIPERTENSIVO TRANSITORIO ASOCIADO A LA LESION CON 6-HIDROXIDOPAMINA DEL HAZ NORADRENERGICO VENTRAL

DIA	PRESION ARTERIAL SISTOLICA (mm Hg)		PRESION ARTERIAL DIASTOLICA (mm Hg)	
	SHAM	LESION	SHAM	LESION
-1	121 ± 2	122 ± 2	68 ± 3	69 ± 2
1	120 ± 3	150 ± 2 **	70 ± 4	111 ± 4 **
2	122 ± 4	151 ± 2 **	72 ± 3	110 ± 3 **
3	122 ± 3	130 ± 3	71 ± 4	79 ± 3
4	124 ± 3	126 ± 4	74 ± 3	76 ± 2

Ratas Wistar macho jóvenes fueron lesionadas con 6-OHDA (6ug/rata) en el día 0. Los animales sham recibieron vehículo. La medida de la presión arterial sistólica y diastólica se llevó a cabo por el método indirecto de "tail-cuff" un día antes de la lesión (-1) y sucesivos días después de la misma. Los valores de la tabla están expresados como la media ± ESM de grupos de 16-18 animales.

** p<0.01 respecto a los valores de los animales sham (test de la "t" de Student).

En el caso del MHPG, y debido al hecho de que solamente una pequeña fracción no determinada del mismo procede de la actividad de neuronas adrenérgicas, se consideró que la totalidad del MHPG detectado en nuestros ensayos procedía del metabolismo de NA, tomándose como índice de la actividad neuronal noradrenérgica en las diversas regiones consideradas.

Las determinaciones bioquímicas se efectuaron a diferentes tiempos coincidiendo con aquellos a los que se había realizado el seguimiento de la presión arterial.

1.2.1. Niveles de catecolaminas en distintas estructuras

Hipotálamo

Se llevó a cabo la medida de los niveles de los tres neurotransmisores en cuestión en hipotálamo procedente de animales sham y lesión.

Bajo estas condiciones experimentales se encontró una disminución significativa de los niveles de NA (60-70%) y AD (35-60%) hipotalámica en los animales lesionados a los 12, 20 y 30 días después de producirse la lesión, disminución que no tuvo lugar en el grupo control de animales sham (FIG. 5).

El sistema dopaminérgico, en cuanto a los niveles de DA se refiere, no aparecía alterado por efecto de la administración de la neurotoxina siendo similares los niveles del neurotransmisor en los animales lesionados y sham-operados.

Bulbo raquídeo

La Figura 6 muestra los niveles de los tres neurotransmisores analizados en el bulbo raquídeo de animales lesionados y sus controles sham. En esta región cerebral la lesión no alteró los niveles de ninguna de las catecolaminas a 1, 12, 20 ó 30 días transcurridos desde la administración de la neurotoxina.

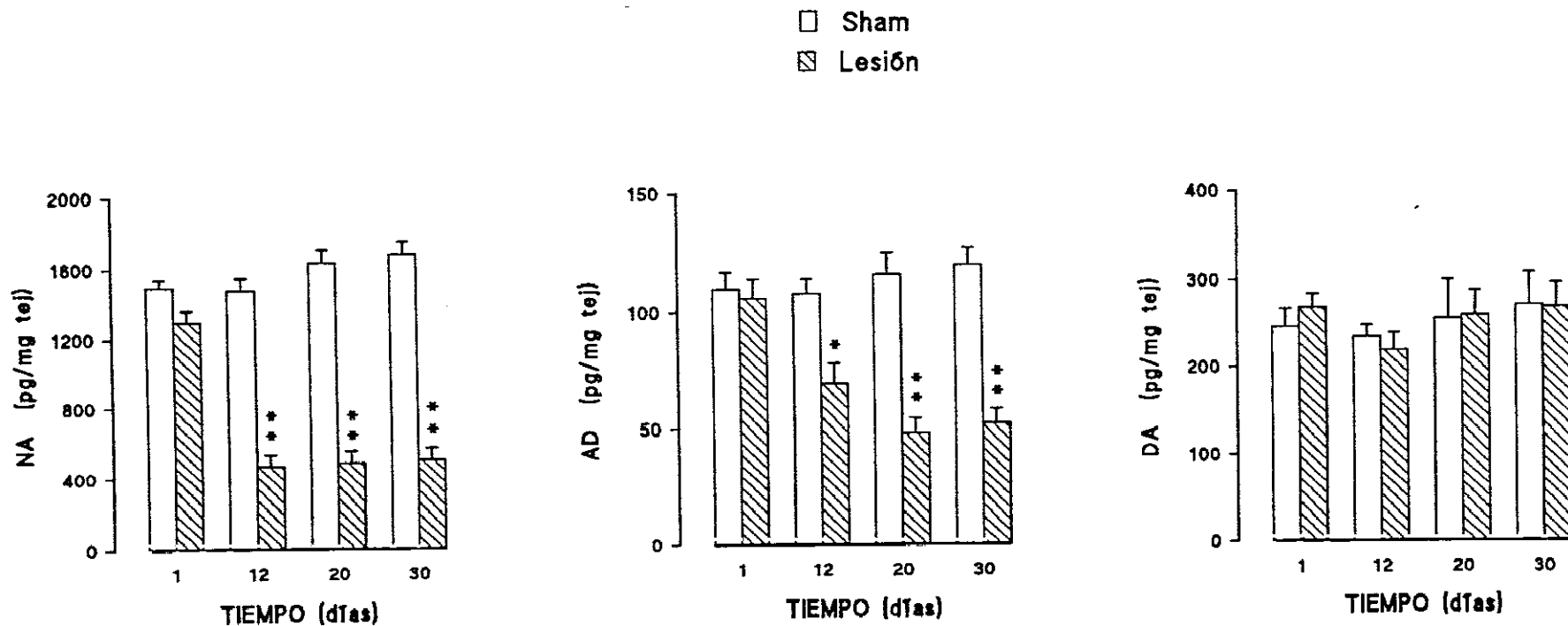


Fig. 5.- Efecto de la administración de 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral sobre los niveles de noradrenalina, adrenalina y dopamina en hipotálamo.

Los animales fueron sacrificados a diferentes tiempos después de la administración de 6 ug/rata de la neurotoxina (Lesión) o vehículo (Sham) y los niveles de catecolaminas fueron determinados por HPLC en hipotálamo. Los datos se expresan como la media \pm ESM en grupos de 14-16 animales. (Para detalles metodológicos de la determinación de aminas ver apartado 6.1.2. del capítulo de métodos).

** $p < 0.01$ respecto a los valores de los animales sham (test de la "t" de Student).

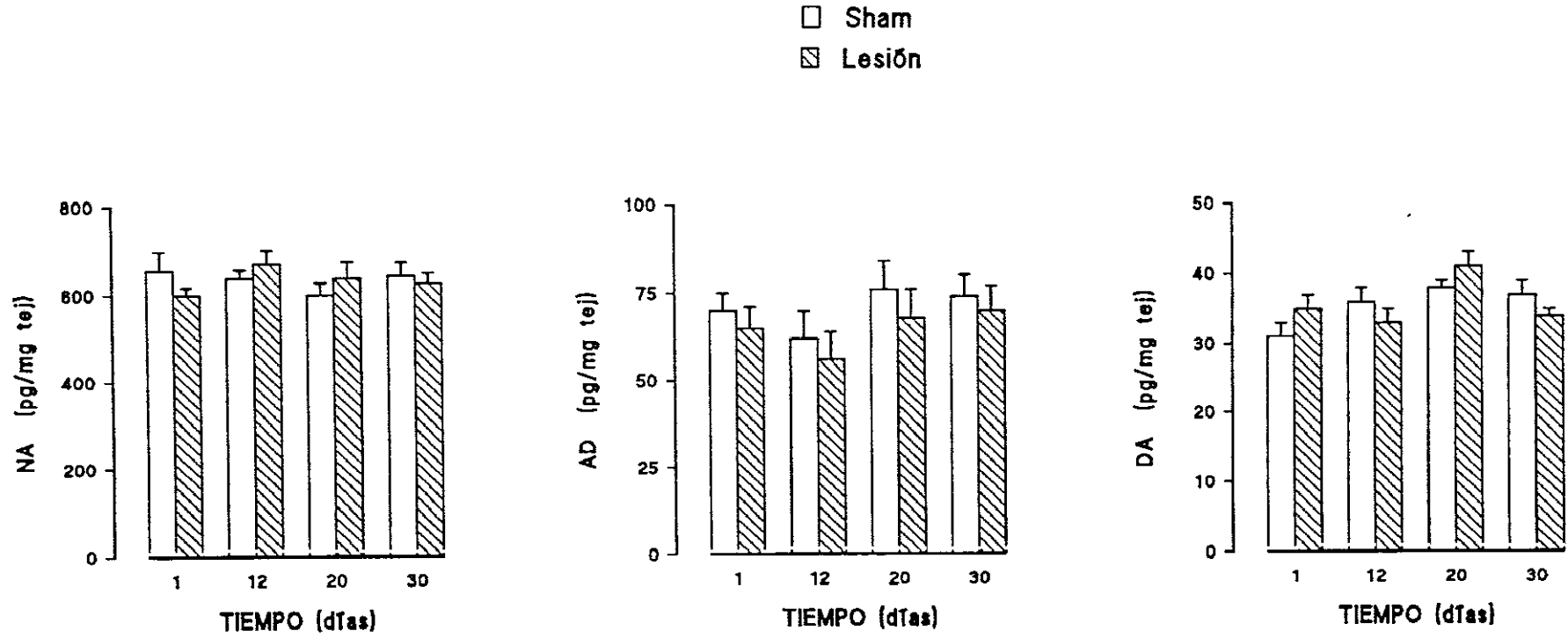


Fig. 6.- Efecto de la administración de 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral sobre los niveles de noradrenalina, adrenalina y dopamina en bulbo raquídeo.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 5).

Médula espinal

Dado que los niveles de AD en médula espinal fueron en muchas ocasiones indetectables, hubo que prescindir de ella en nuestra valoración. Los niveles de las otras dos catecolaminas -NA y DA- se reflejan en la Figura 7, no habiéndose encontrado alteraciones en ninguna de ellas por efecto de la lesión.

1.2.2. Velocidad de renovación de noradrenalina en distintas estructuras

Hipotálamo

En la Tabla II se presentan conjuntamente los niveles de NA y de MHPG en hipotálamo de animales lesionados y sus correspondientes controles sham-operados, mientras que la Figura 8 muestra el contenido del metabolito en dicha estructura a lo largo del tiempo. En esta región cerebral, la lesión produjo un descenso de los niveles del neurotransmisor (70%) y de su metabolito (30-40%) a los 12, 20 y 30 días después de la inyección de 6-OHDA, disminución que era significativa cuando se comparó con los niveles de los animales sham-operados.

Bulbo raquídeo

La lesión no produjo alteraciones en los niveles de NA en ninguno de los tiempos analizados (Tabla III), como se deduce de la similitud de los contenidos del neurotransmisor observada entre los animales lesionados y los sham-operados.

Sin embargo, si se apreció un aumento significativo (20%) de los niveles de MHPG en esta estructura cerebral en los animales lesionados con respecto al grupo control de animales sham-operados tan solo 1 día después de la administración de la neurotoxina (FIG. 9), incremento que, no acompañado de ninguna modificación de los niveles de NA, indica consecuentemente un aumento de la velocidad de renovación noradrenérgica a nivel del bulbo raquídeo 24 horas después de producirse la lesión.

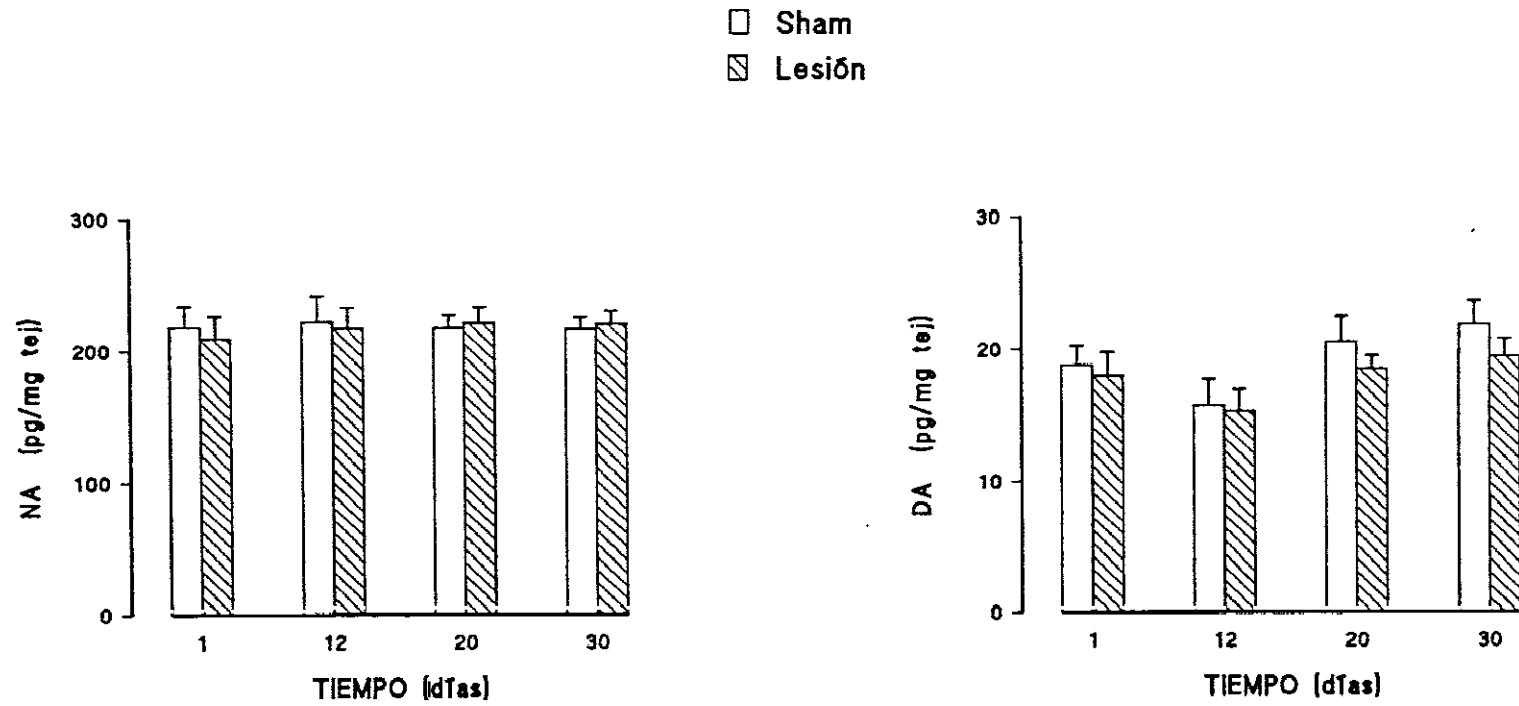


Fig. 7.- Efecto de la administración de 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral sobre los niveles de noradrenalina y dopamina en médula espinal.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 5).

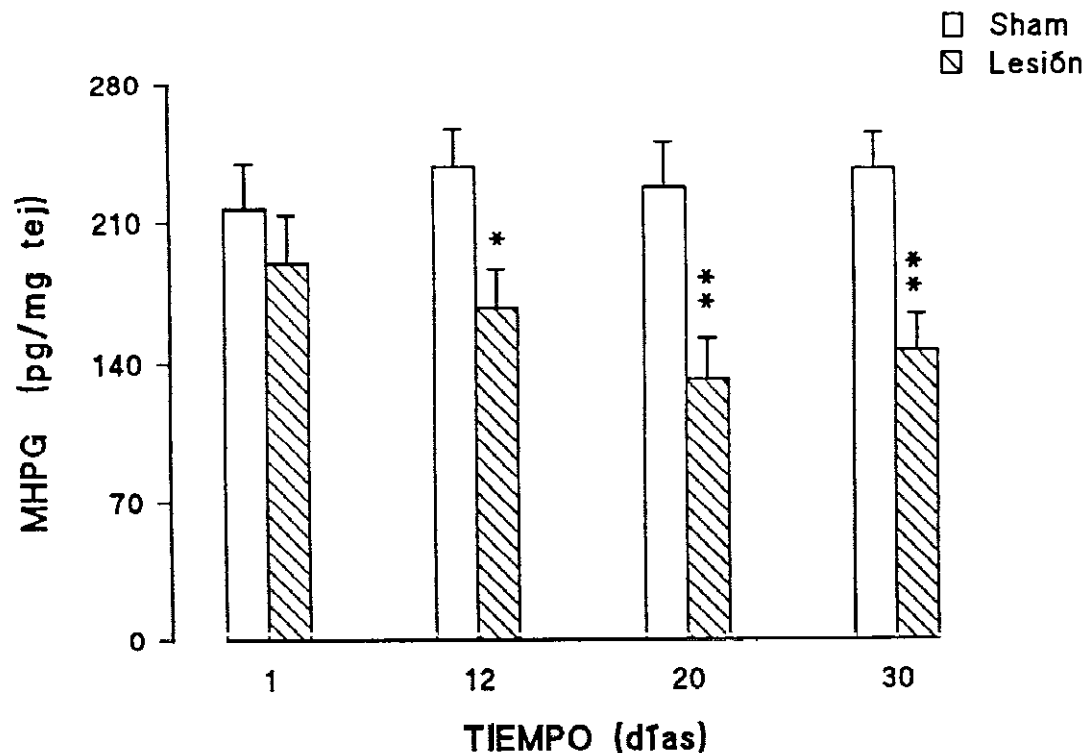


Fig. 8.- Efecto de la administración de 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral sobre los niveles de MHPG en hipotálamo.

La valoración de los niveles de MHPG se efectuó por HPLC 1, 12, 20 y 30 días después de la administración bilateral de 6 ug/rata de la neurotoxina (Lesión) o vehículo (Sham). Los datos se expresan como la media \pm ESM de 9 animales por grupo. (Para detalles metodológicos de la determinación del metabolito de NA ver apartado 6.1.2. del capítulo de métodos).

* $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$ respecto a los valores de los animales sham (test de la "t" de Student).

TABLA II

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE 6-HIDROXIDOPAMINA EN EL HAZ NORADRENERGICO VENTRAL SOBRE LA VELOCIDAD DE RENOVACION DE NORADRENALINA EN HIPOTALAMO

TIEMPO (días)	GRUPO	NA (pg/mg tej)	MHPG
1	Sham	1507 ± 75	213 ± 21
	Lesión	1300 ± 66	189 ± 24
12	Sham	1473 ± 66	232 ± 22
	Lesión	473 ± 64 **	167 ± 19 *
20	Sham	1600 ± 96	226 ± 23
	Lesión	490 ± 72 **	132 ± 20 **
30	Sham	1697 ± 80	235 ± 19
	Lesión	510 ± 65 **	146 ± 18 **

Ratas Wistar macho jóvenes fueron lesionadas mediante la administración de 6 ug/rata de 6-OHDA. Los animales sham recibieron vehículo. El sacrificio de los animales se llevó a cabo a diferentes días después de la lesión. Los niveles de NA y MHPG fueron determinados posteriormente por HPLC, considerando al metabolito de NA como índice de la velocidad de renovación de la amina. Los valores de la tabla están expresados como la media ± ESM de 9 animales por grupo. * p<0.05 y ** p<0.01 respecto a los valores de los animales sham (test de la "t" de Student).

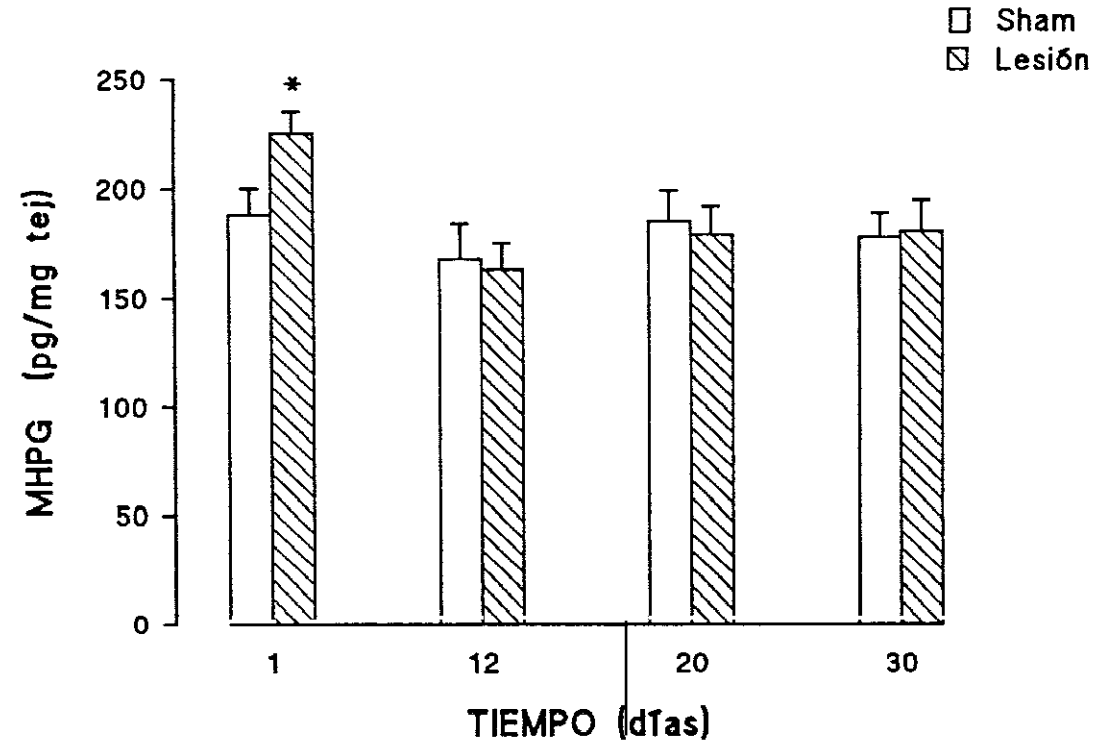


Fig. 9.- Efecto de la administración de 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral sobre los niveles de MHPG en bulbo raquídeo.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 8).

* $p < 0.05$ respecto a los valores de los animales sham (test de la "t" de Student).

TABLA III

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE 6-HIDROXIDOPAMINA EN EL HAZ NORADRENERGICO VENTRAL SOBRE LA VELOCIDAD DE RENOVACION DE NORADRENALINA EN BULBO RAQUIDEO

TIEMPO (días)	GRUPO	NA (pg/mg tej)	MHPG
1	Sham	655 ± 38	190 ± 10
	Lesión	600 ± 17	225 ± 10 *
12	Sham	627 ± 26	163 ± 16
	Lesión	671 ± 28	159 ± 12
20	Sham	600 ± 29	188 ± 20
	Lesión	638 ± 37	179 ± 13
30	Sham	650 ± 31	172 ± 19
	Lesión	627 ± 23	181 ± 14

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Tabla II).

* $p < 0.05$ respecto a los valores de los animales sham (test de la "t" de Student).

Médula espinal

En la medula espinal no se encontraron variaciones en los niveles de NA entre animales lesionados y sham-operados (Tabla IV); pero si se observó un aumento significativo (30%) de los niveles de su metabolito sólo 24 horas después de la lesión, tal y como muestra la Figura 10, indicando un incremento de la velocidad de renovación noradrenérgica en la médula espinal 1 día después de la administración de la neurotoxina.

2. ESTUDIO SOBRE LA PARTICIPACION DEL SISTEMA NORADRENERGICO CENTRAL EN LA RESPUESTA HIPERTENSIVA INDUCIDA POR DEPRIVACION SOCIAL

2.1. MODELO DE ESTRES POR DEPRIVACION SOCIAL: CARACTERIZACION DE LA RESPUESTA HIPERTENSIVA Y VALIDACION DEL MODELO DE ESTRES

La privación social prolongada de ratas jóvenes ocasionó un aumento progresivo tanto de la presión arterial sistólica como diastólica (FIG 11), que fue significativo antes de las dos semanas de aislamiento. Este estado hipertensivo llegaba a ser máximo y prácticamente estable en la tercera semana de aislamiento.

Los animales aislados hipertensos no presentaban modificaciones apreciables en la frecuencia cardíaca con respecto a sus controles agrupados normotensos (agrupados, 460 ± 18 ; aislados, 457 ± 11 , en el día 30). Sin embargo, si se observaron diferencias en el peso corporal de los animales agrupados y aislados al final del período de aislamiento, aunque no llegaron a ser significativas (agrupados, 295 ± 8 ; aislados, 314 ± 5).

La determinación de los niveles plasmáticos de corticosterona fue la aproximación utilizada como indicador de estrés. Los animales sometidos a estrés por privación social presentaban un incremento significativo en el contenido plasmático de esta hormona corticoide durante el aislamiento. Los valores obtenidos aparecen en la Tabla V.

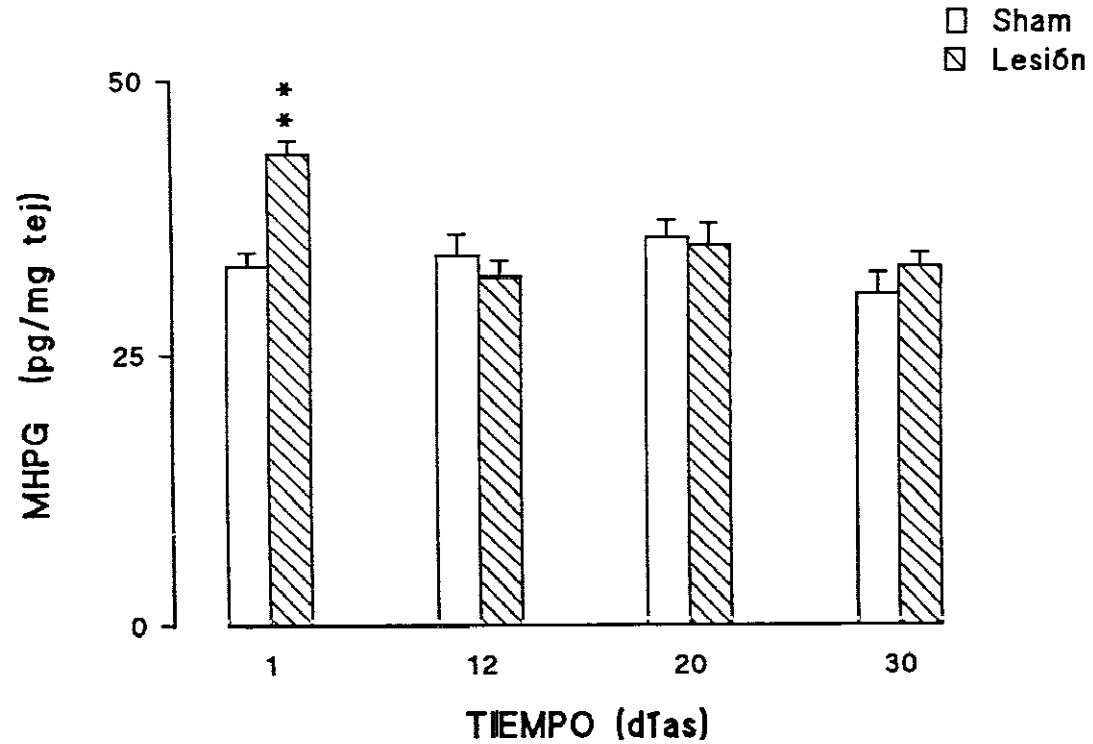


Fig. 10.- Efecto de la administración de 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral sobre los niveles de MHPG en médula espinal.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 8).

** $p < 0.01$ respecto a los valores de los animales sham (test de la "t" de Student).

TABLA IV

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE 6-HIDROXIDOPAMINA EN EL HAZ NORADRENERGICO VENTRAL SOBRE LA VELOCIDAD DE RENOVACION DE NORADRENALINA EN MEDULA ESPINAL

TIEMPO (días)	GRUPO	NA (pg/mg tej)	MHPG
1	Sham	210 ± 20	30 ± 1
	Lesión	203 ± 17	43 ± 1 **
12	Sham	230 ± 26	31 ± 1
	Lesión	218 ± 16	33 ± 2
20	Sham	215 ± 16	35 ± 2
	Lesión	222 ± 12	34 ± 1
30	Sham	219 ± 15	31 ± 2
	Lesión	226 ± 9	33 ± 1

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Tabla II).

** p<0.01 respecto a los valores de los animales sham (test de la "t" de Student).

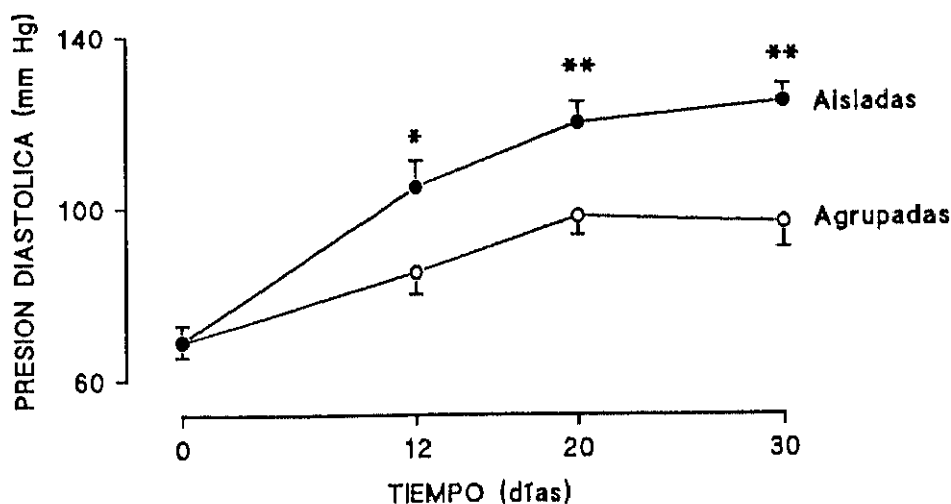
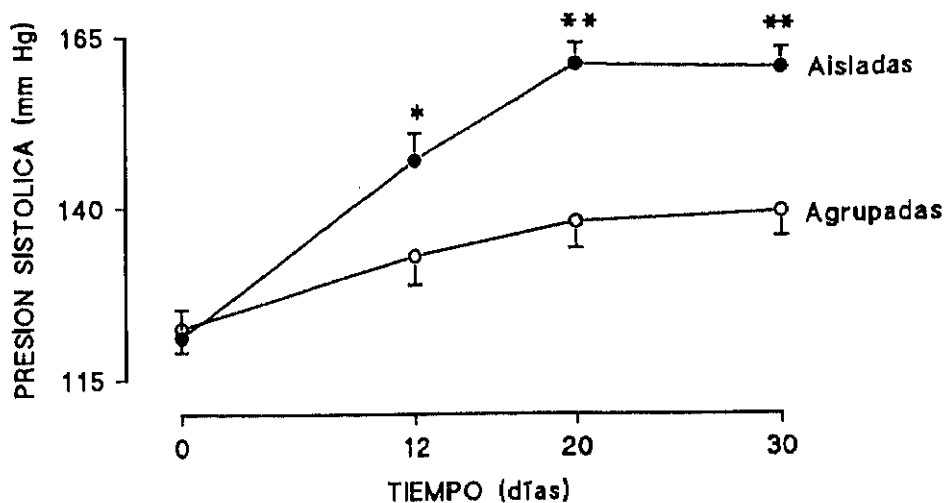


Fig. 11.- Desarrollo de la respuesta hipertensiva inducida por privación social: presión arterial sistólica y diastólica.

La presión arterial se determinó en animal consciente por el método indirecto "tail-cuff" (Buñag 1973). Las ratas fueron acostumbradas a la medida de presión arterial durante tres días previos al aislamiento que se inició en el día 0. Los datos se expresan como la media \pm ESM en grupos de 16-18 animales.

* $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$ respecto a los valores de los animales agrupados (test de la "t" de Student).

TABLA V

EFFECTO DE LA DEPRIVACION SOCIAL SOBRE LOS NIVELES DE CORTICOSTERONA PLASMATICOS

TIEMPO (días)	GRUPO	CORTICOSTERONA (ug/dl)
1	Agrupadas	4.9 ± 1.2
	Aisladas	7.2 ± 2.4
20	Agrupadas	4.1 ± 1.2
	Aisladas	8.6 ± 0.9 *

Los animales fueron sacrificados por la mañana (00.08-00.09 h) y la sangre recogida para determinar posteriormente los niveles de corticosterona plasmáticos por radioinmunoensayo (para detalles metodológicos ver apartado 6.2. de métodos) 1 y 20 días transcurridos de aislamiento continuado. Los datos de la tabla se expresan como la media ± ESM de grupos de 8 animales.

* $p < 0.05$ respecto a los valores de los animales controles agrupados (test de la "t" de Student).

2.2. EFECTO DE LA LESION CON 6-HIDROXIDOPAMINA DEL HAZ NORADRENERGICO VENTRAL SOBRE LA RESPUESTA HIPERTENSIVA INDUCIDA POR DEPRIVACION SOCIAL

2.2.1. Efecto de la lesión con 6-hidroxi dopamina del haz noradrenérgico ventral durante el desarrollo de la respuesta hipertensiva inducida por privación social

Con el fin de averiguar el posible papel que los sistemas catecolaminérgicos centrales podrían desempeñar en el desarrollo de la respuesta hipertensiva inducida por privación social, se procedió a aislar a animales lesionados con 6-OHDA en el HNV inmediatamente después de producirse la lesión.

Como se observa en las Figuras 12 y 13 los animales lesionados fueron incapaces de desarrollar la respuesta hipertensiva característica de la aplicación de este modelo de estrés. Por otro lado, el estado hipertensivo transitorio que se había detectado en animales lesionados agrupados, y al que se hacía referencia en el apartado 1.1. de resultados, se manifestó también en los animales lesionados aislados recuperándose las lecturas basales de presión arterial sistólica y diastólica en un período de tiempo de 72 horas.

No se apreciaron diferencias significativas en la frecuencia cardíaca entre ninguno de los cuatro grupos experimentales a lo largo del período de aislamiento (sham agrupados, 438 ± 13 ; sham aislados, 443 ± 15 ; lesión agrupados, 435 ± 12 ; lesión aislados, 446 ± 15 ; en el día 30). Por otro lado, los animales aislados, tanto sham-operados como lesionados, presentaron pesos corporales superiores a los de sus respectivos controles agrupados tan solo a los treinta días de aislamiento; no obstante, esas diferencias encontradas entre los distintos grupos no llegaron a ser significativas (sham agrupados, 276 ± 10 ; sham aislados, 290 ± 8 ; lesión agrupados, 286 ± 10 ; lesión aislados, 299 ± 16).

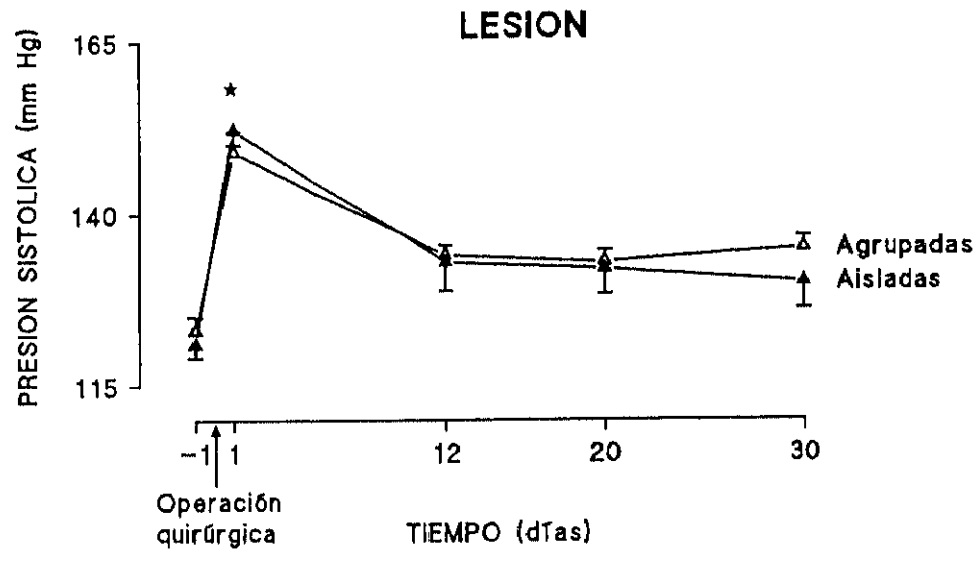
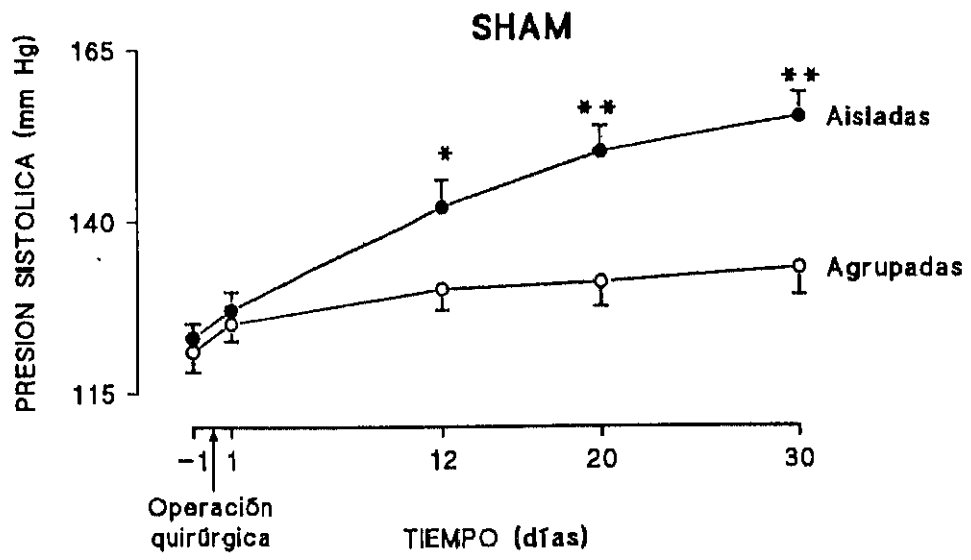


Fig. 12.- Bloqueo de la respuesta hipertensiva inducida por deprivación social en animales lesionados con 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral: presión arterial sistólica.

Los animales fueron aislados inmediatamente después de la inyección bilateral de 6 ug/rata de la neurotoxina (LESION) o vehículo (SHAM). La presión arterial sistólica se determinó 1 día antes (-1) y a diferentes días después de la operación por el método indirecto "tail-cuff". Los datos de la figura se expresan como la media \pm ESM en grupos de 16-18 animales.

* $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$ respecto a los valores de los animales sham agrupados; * $p < 0.01$ respecto a los valores basales de los animales lesión agrupados o aislados (test de la "t" de Student).

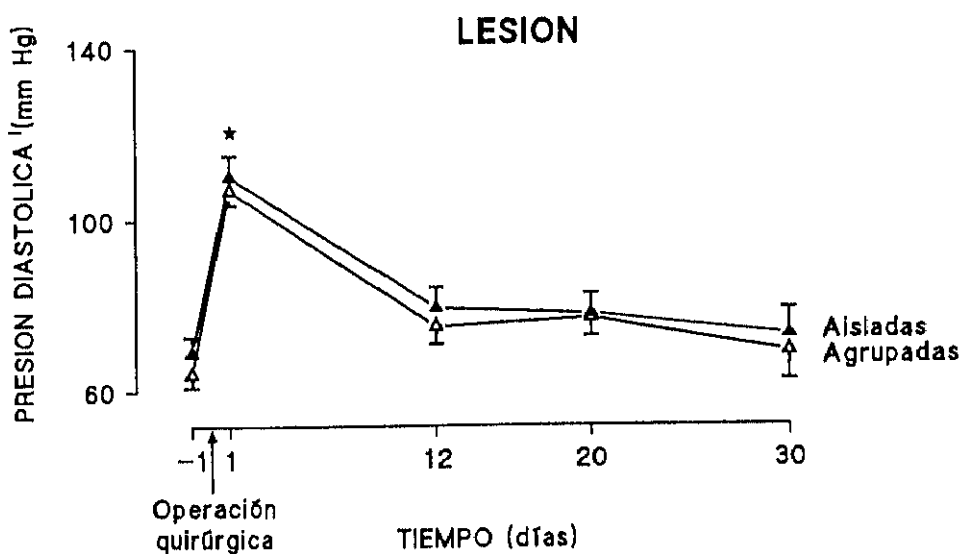
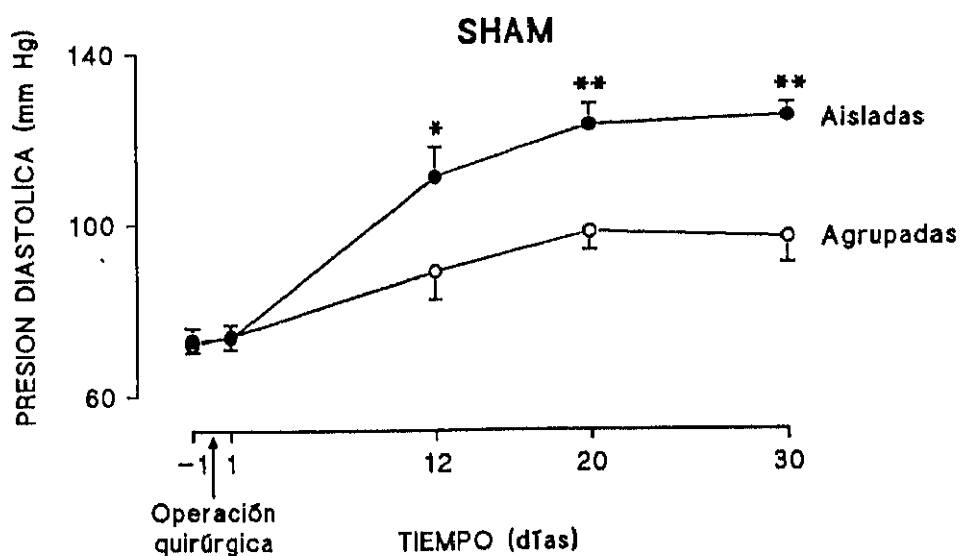


Fig. 13.- Bloqueo de la respuesta hipertensiva inducida por deprivación social en animales lesionados con 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral: presión arterial diastólica.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 12).

* $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$ respecto a los valores de los animales sham agrupados;
 * $p < 0.01$ respecto a los valores basales de los animales lesión agrupados o aislados
 (test de la "t" de Student).

2.2.2. Efecto de la lesión con 6-hidroxidopamina del haz noradrenérgico ventral durante el mantenimiento de la respuesta hipertensiva inducida por privación social

Dado que los animales lesionados en el HNV y privados socialmente eran incapaces de desarrollar el estado hipertensivo inducido por el aislamiento continuado, se procedió a la administración de la neurotoxina en animales ya hipertensos, prolongando su aislamiento después de la lesión por un período de tiempo de 20 días, con el objeto de evaluar si los sistemas catecolaminérgicos afectados por la lesión participaban no solo en la génesis sino también en el mantenimiento de la respuesta hipertensiva asociada a la privación social.

Los animales aislados y lesionados presentaron lecturas de presión arterial sistólica y diastólica similares a los animales aislados sham (FIG. 14 y 15), lo que reflejaba que la lesión con 6-OHDA en el HNV era incapaz de producir modificaciones en la respuesta hipertensiva inducida por privación social una vez que aquella estaba perfectamente establecida.

Tampoco se apreciaron diferencias ni en la frecuencia cardíaca (agrupados sham, 460 ± 10 ; aislados sham, 464 ± 9 ; agrupados lesión, 467 ± 15 ; aislados lesión, 457 ± 12 ; en el día 40) ni en el peso corporal entre ninguno de los cuatro grupos, si bien los animales aislados (sham y lesión) poseían cierta tendencia a presentar pesos corporales superiores a sus respectivos controles agrupados al final del período de aislamiento, sin que las diferencias observadas fueran significativas (agrupados sham, 395 ± 14 ; aislados sham, 418 ± 14 ; agrupados lesión, 394 ± 16 ; aislados lesión, 437 ± 17).

3. ACTIVIDAD CATECOLAMINERGICA CENTRAL

La determinación de los niveles de catecolaminas, así como de sus metabolitos, en las diferentes estructuras analizadas (elegidas en función de su conocida participación en la regulación central del sistema cardiovascular y en la respuesta fisiológica al estrés), se llevaron a cabo a diferentes tiempos coincidiendo con aquellos en los que se había realizado el seguimiento de la presión arterial y que se consideraron relevantes en el desarrollo de las alteraciones cardiovasculares observadas.

En el caso del metabolito de NA, y como ya se ha explicado en el apartado 1.2. de resultados, se consideró a áquel como índice de la actividad neuronal noradrenérgica en las diversas regiones consideradas.

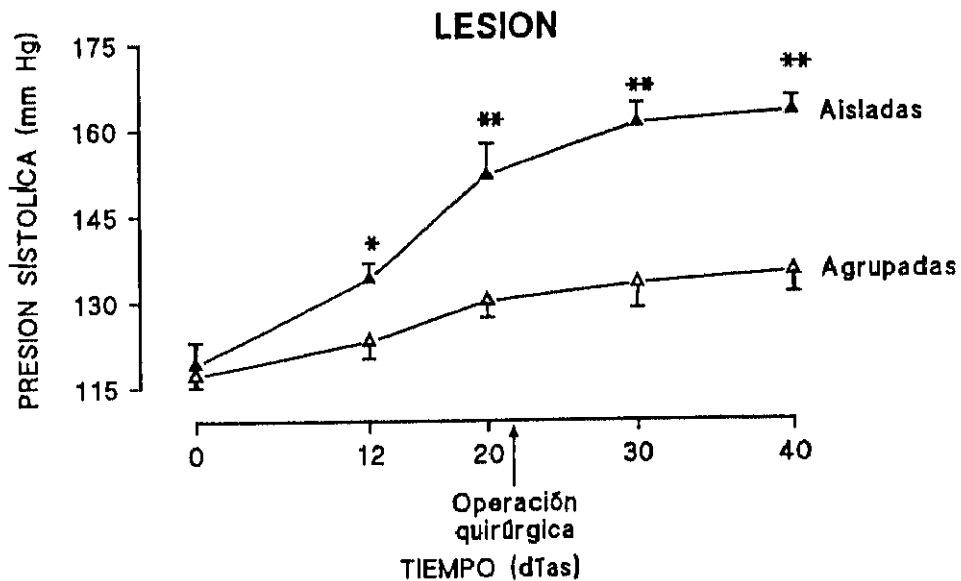
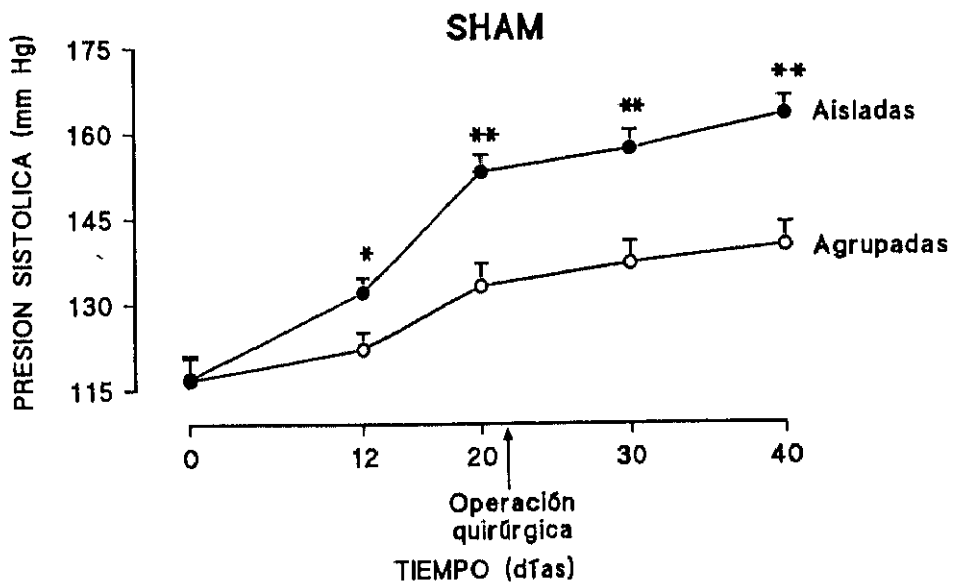


Fig. 14.- Efecto de la lesión con 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral sobre la presión arterial sistólica de animales hipertensos por deprivación social.

Los animales fueron aislados en el día 0. La administración de 9 ug/rata de 6-OHDA (LESION) o vehículo (SHAM) se llevó a cabo en el día 21 de aislamiento, prolongándose éste por un período de 20 días más. La presión arterial sistólica se determinó por el método indirecto "tail-cuff". Los datos de la figura se expresan como la media \pm ESM en grupos de 16-18 animales.

* $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$ respecto a los correspondientes valores de los animales agrupados sham o agrupados lesión (test de la "t" de Student).

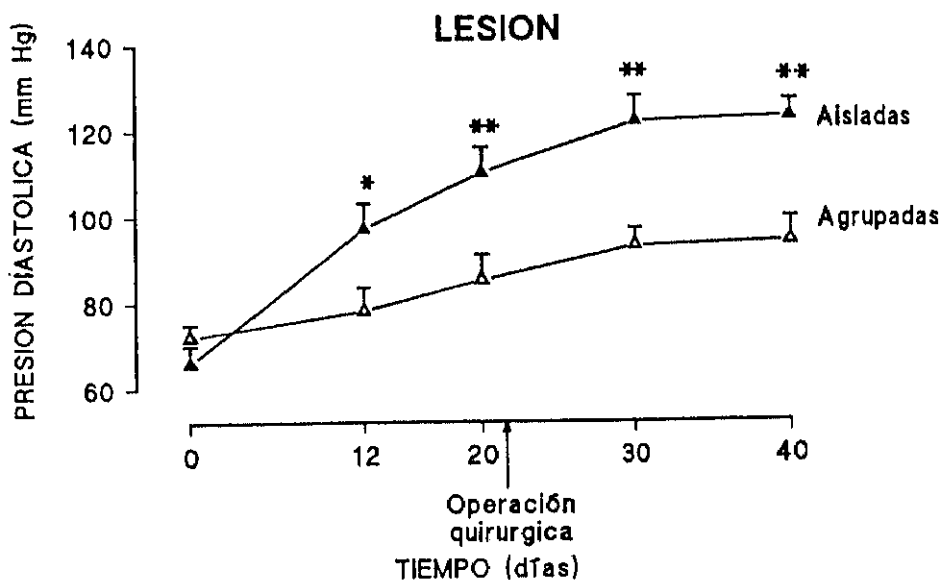
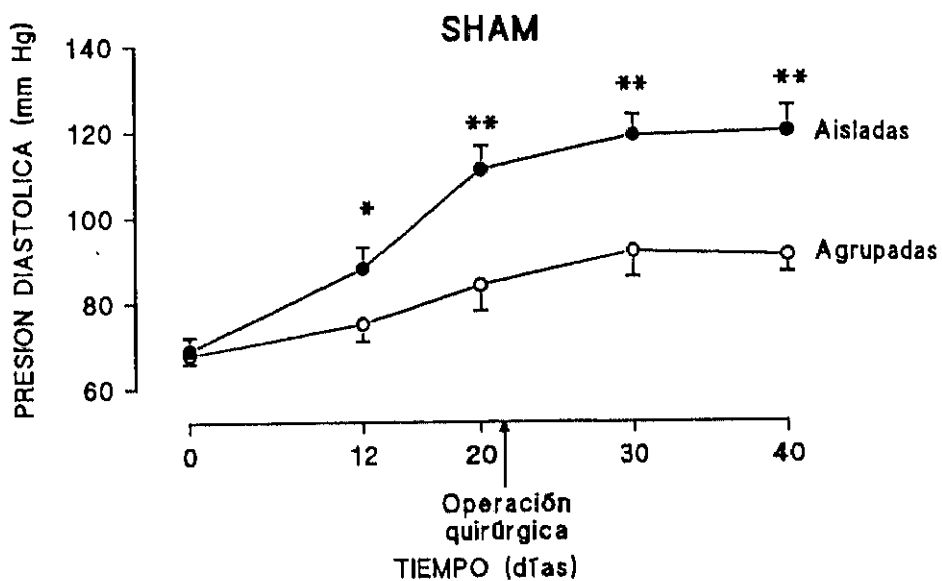


Fig. 15.- Efecto de la lesión con 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral sobre la presión arterial diastólica de animales hipertensos por privación social.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 14).

* $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$ respecto a los correspondientes valores de los animales agrupados sham o agrupados lesión (test de la "t" de Student).

3.1. EFECTO DEL ESTRES POR DEPRIVACION SOCIAL SOBRE LA ACTIVIDAD DE LOS SISTEMAS CATECOLAMINERGICOS CENTRALES

Con objeto de poder determinar si los animales sometidos al modelo de estrés por privación social presentaban modificaciones en el contenido endógeno de catecolaminas y/o en la actividad de estos mismos sistemas de neurotransmisión se procedió a la determinación de los niveles de NA, AD y DA, así como de MHPG, en diferentes estructuras, como se describe en el apartado 6.1. de métodos.

3.1.1. Niveles de catecolaminas en distintas estructuras

Hipotálamo

En la Figura 16 se muestra de modo conjunto los niveles de NA, AD y DA en hipotálamo de animales aislados hipertensos y sus correspondientes controles agrupados normotensos. En esta región cerebral no se observaron alteraciones en los niveles de ninguna de las tres aminas analizadas a lo largo del tiempo como consecuencia del aislamiento.

Bulbo raquídeo

Los resultados obtenidos en bulbo raquídeo para los mismos grupos experimentales aparecen en la Figura 17. De manera semejante a lo que sucedía en el hipotálamo, el aislamiento no produjo variaciones significativas en el contenido de NA, AD y DA a lo largo del período en que los animales permanecieron privados socialmente.

Médula espinal

Al igual que en el caso de la determinación de catecolaminas en médula espinal de animales sham y lesión (apartado 1.2.1.) solamente se pudieron detectar sin ningún problema los niveles de NA y DA que aparecen reflejados en la Figura 18, no encontrándose variaciones en el contenido de estas dos aminas entre los animales aislados y su respectivo grupo control de animales agrupados.

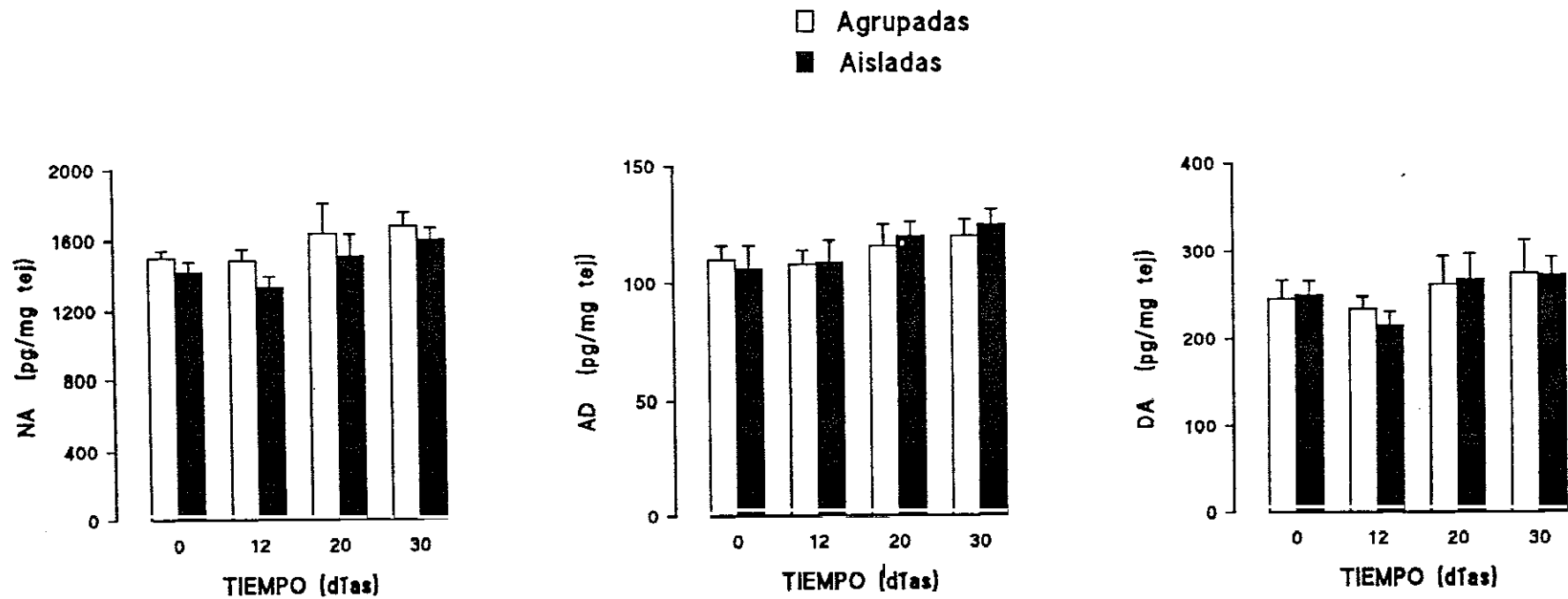


Fig. 16.- Efecto del estrés por privación social sobre los niveles de noradrenalina, adrenalina y dopamina en hipotálamo.

Ratas Wistar macho jóvenes fueron sometidas a estrés por privación social en el día 0, manteniéndose aisladas durante un mes. El sacrificio de los animales y la posterior determinación de aminas por HPLC se efectuó en el día de inicio del aislamiento y a los 12, 20 y 30 días después del mismo. (Para detalles metodológicos ver apartado 6.1.2. de métodos). Los datos se expresan como la media \pm ESM en grupos de 14-16 animales.

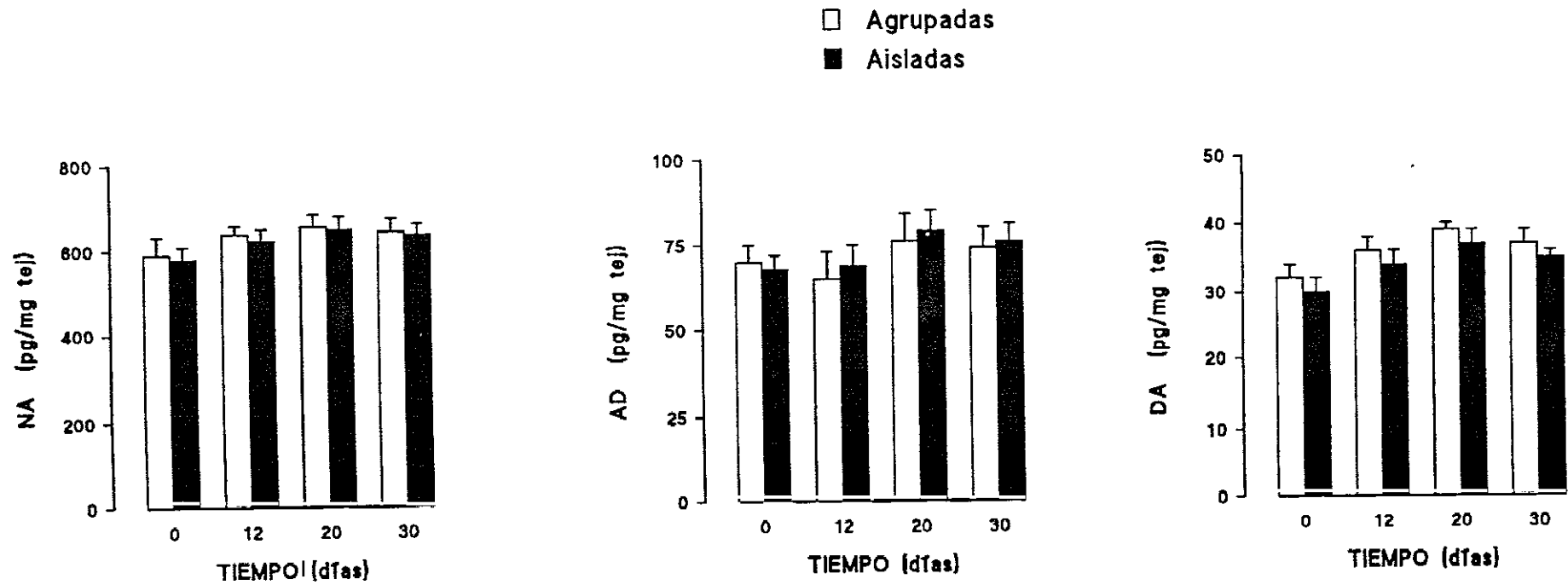


Fig. 17.- Efecto del estrés por deprivación social sobre los niveles de noradrenalina, adrenalina y dopamina en bulbo raquídeo.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 16).

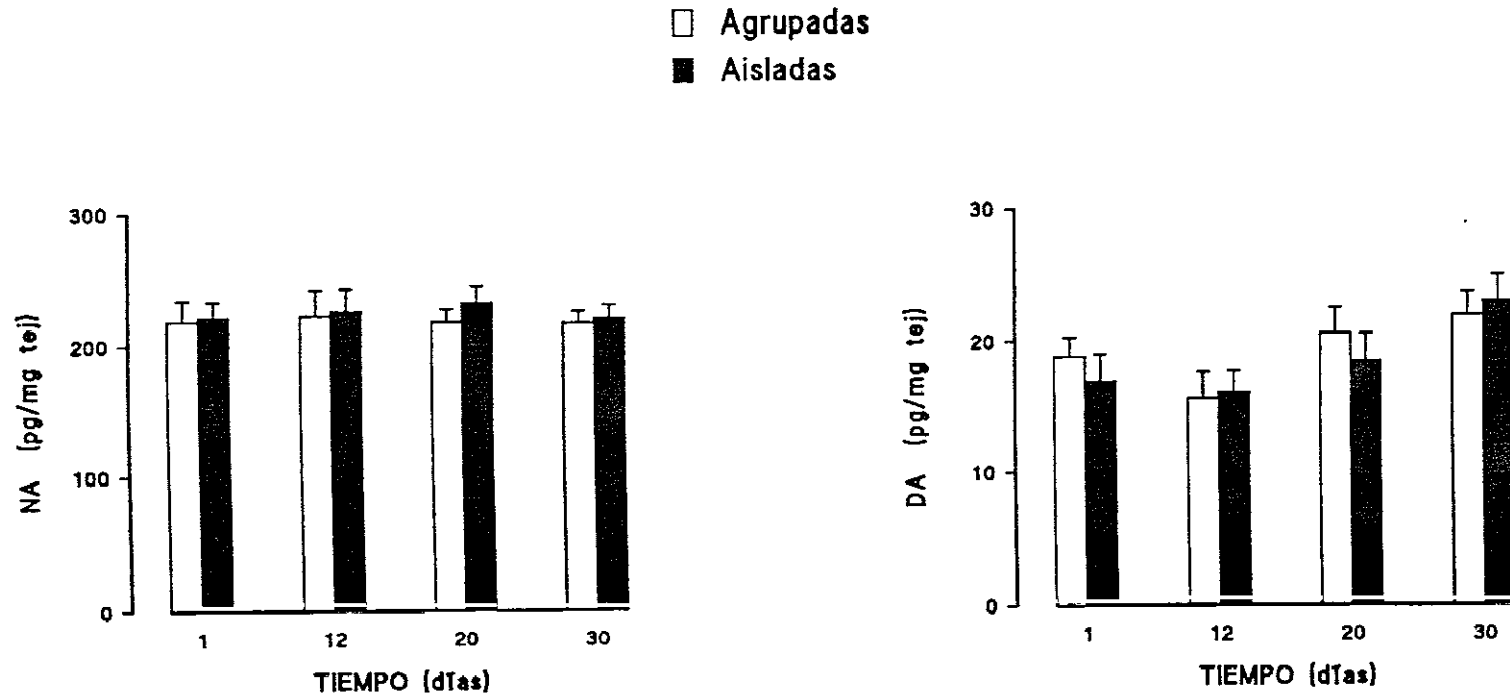


Fig. 18.- Efecto del estrés por deprivación social sobre los niveles de noradrenalina y dopamina en médula espinal.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 16).

3.1.2. Velocidad de renovación de noradrenalina en distintas estructuras

Hipotálamo

Mientras que los niveles de NA en el hipotálamo no se alteraban como consecuencia de la privación social (Tabla VI), los niveles de su metabolito -MHPG- aparecían significativamente disminuidos (27%) en los animales aislados hipertensos, a partir de los 20 días de aislamiento, con relación al grupo control de animales agrupados normotensos (FIG. 19), produciéndose consecuentemente una disminución de la velocidad de renovación noradrenérgica a nivel hipotalámico durante la privación social.

Bulbo raquídeo

En el caso del bulbo raquídeo, no se apreciaron variaciones significativas en los niveles de MHPG entre animales aislados hipertensos y animales agrupados normotensos a lo largo del período de aislamiento (FIG. 20), así como tampoco se habían apreciado modificaciones en los niveles del neurotransmisor NA en esta estructura durante ese mismo período (Tabla VII).

Médula espinal

La Figura 21 refleja los niveles de MHPG en médula espinal durante los treinta días de aislamiento y, de modo conjunto, los niveles de NA y su principal metabolito se muestran en la Tabla VIII. Paralelamente a lo que sucedía en el bulbo raquídeo, no se observaron variaciones significativas en la velocidad de renovación noradrenérgica de los animales aislados hipertensos con relación a sus controles agrupados normotensos en esta región.

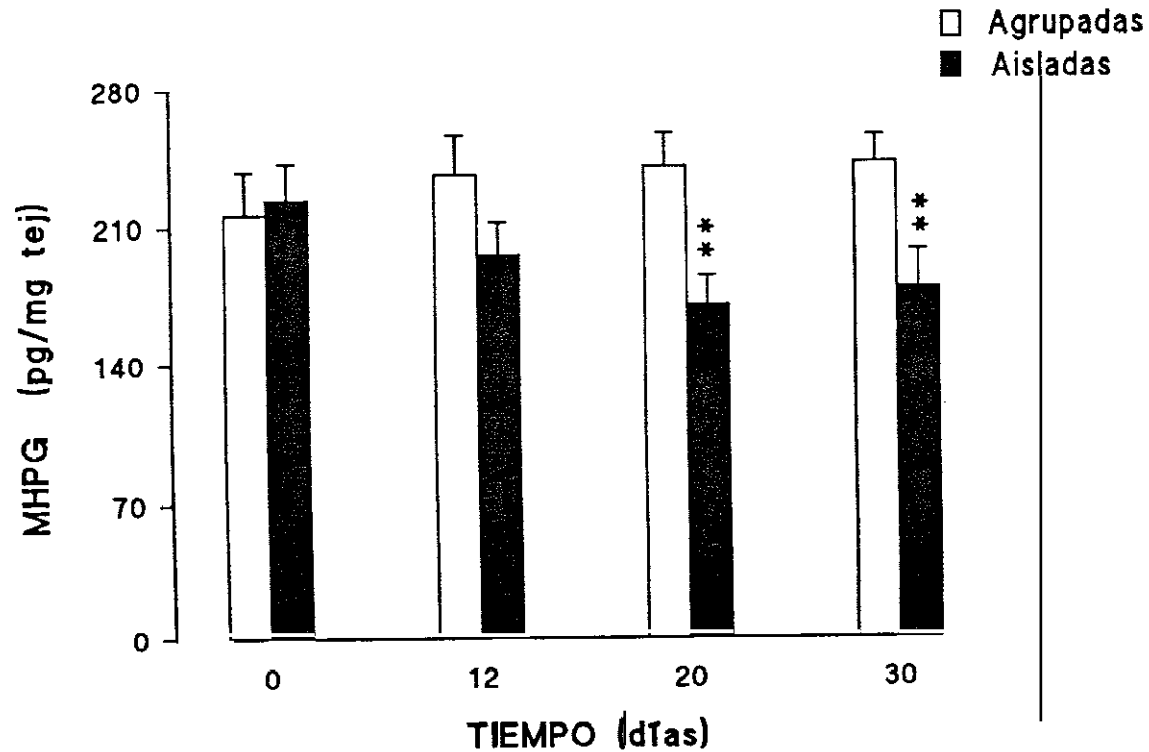


Fig. 19.- Efecto del estrés por deprivación social sobre los niveles de MHPG en hipotálamo.

La determinación de los niveles de MHPG se realizó por HPLC con detección fluorimétrica (para detalles ver apartado 6.1.2. del capítulo de métodos) a diferentes tiempos a lo largo del período de aislamiento iniciado en el día 0. Los datos se expresan como la media \pm ESM de 9 animales por grupo.

** $p < 0.01$ respecto a los valores de los animales controles agrupados (test de la "t" de Student).

TABLA VI

EFFECTO DE LA DEPRIVACION SOCIAL SOBRE LA VELOCIDAD DE RENOVACION DE NORADRENALINA EN HIPOTALAMO

TIEMPO (días)	GRUPO	NA (pg/mg tej)	MHPG
0	Agrupadas	1499 ± 41	216 ± 22
	Aisladas	1421 ± 53	224 ± 18
12	Agrupadas	1483 ± 64	236 ± 20
	Aisladas	1329 ± 64	196 ± 16
20	Agrupadas	1635 ± 169	240 ± 17
	Aisladas	1510 ± 120	170 ± 15 **
30	Agrupadas	1678 ± 73	242 ± 14
	Aisladas	1599 ± 65	179 ± 15 **

Los animales fueron sacrificados transcurridos 0, 12, 20 y 30 días de aislamiento continuado, determinandose con posterioridad los niveles de NA y MHPG por HPLC, considerando al metabolito de NA como índice de la velocidad de renovación de la amina. Los valores de la tabla están expresados como la media ± ESM de 9 animales por grupo.

** $p < 0.01$ respecto a los valores de los animales agrupados (test de la "t" de Student).

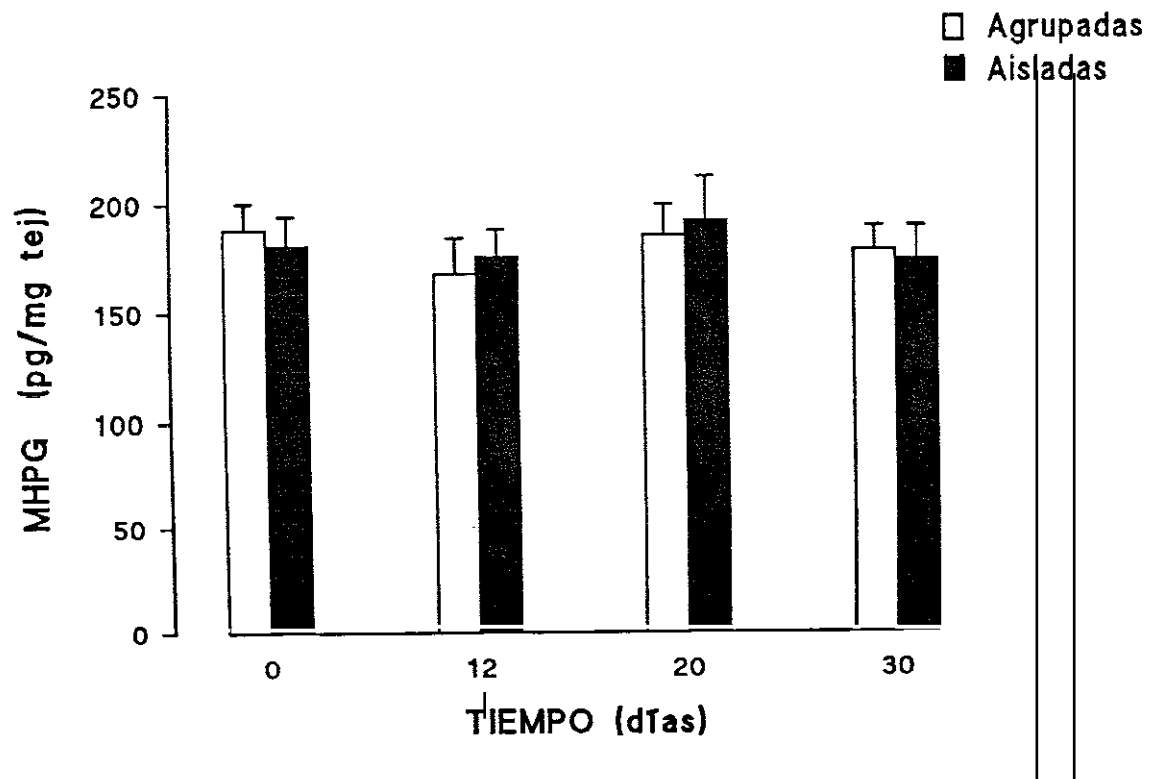


Fig. 20.- Efecto del estrés por deprivación social sobre los niveles de MHPG en bulbo raquídeo.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 19).

TABLA VII

EFFECTO DE LA DEPRIVACION SOCIAL SOBRE LA VELOCIDAD DE RENOVACION DE NORADRENALINA EN BULBO RAQUIDEO

TIEMPO (días)	GRUPO	NA (pg/mg tej)	MHPG
0	Agrupadas	590 ± 42	188 ± 12
	Aisladas	580 ± 28	181 ± 13
12	Agrupadas	638 ± 19	168 ± 16
	Aisladas	623 ± 27	176 ± 12
20	Agrupadas	655 ± 29	185 ± 14
	Aisladas	649 ± 30	192 ± 20
30	Agrupadas	643 ± 31	178 ± 11
	Aisladas	638 ± 23	174 ± 15

(Ver leyenda de la Tabla VI para detalles metodológicos).

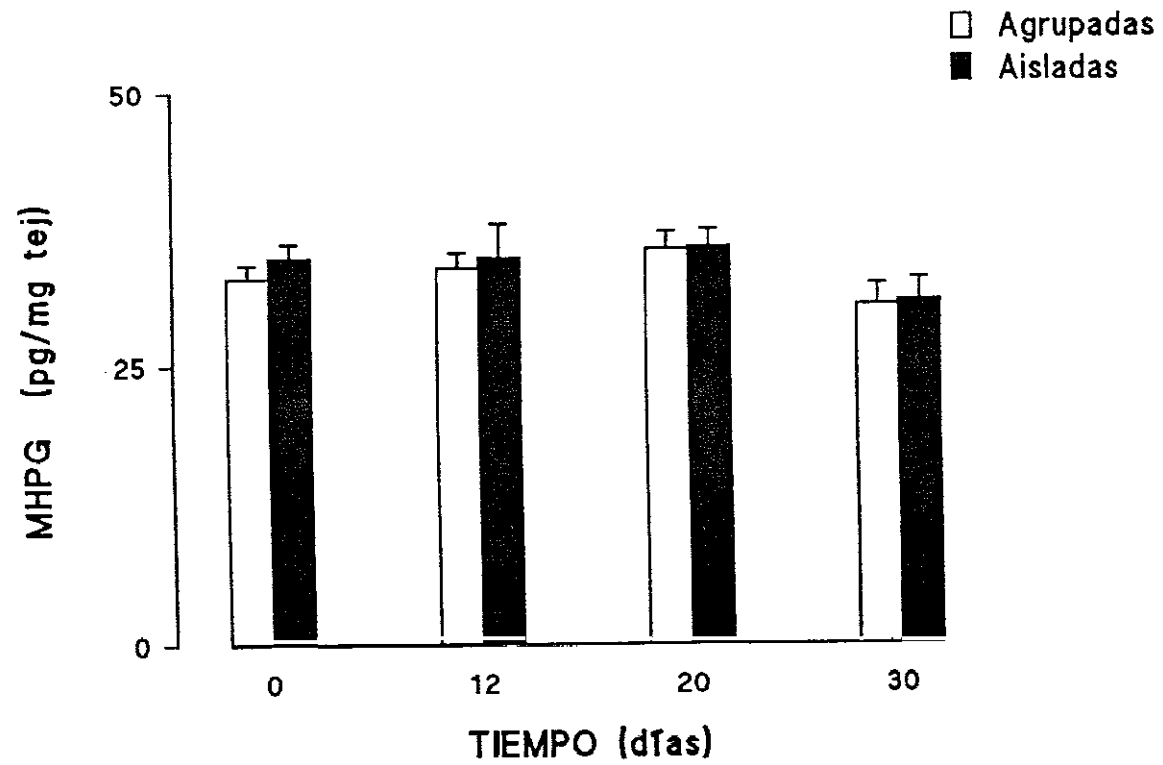


Fig. 21.- Efecto del estrés por privación social sobre los niveles de MHPG en médula espinal.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 19).

TABLA VIII

EFFECTO DE LA DEPRIVACION SOCIAL SOBRE LA VELOCIDAD DE RENOVACION DE NORADRENALINA EN MEDULA ESPINAL

TIEMPO (días)	GRUPO	NA (pg/mg tej)	MHPG
0	Agrupadas	219 ± 16	33 ± 2
	Aisladas	222 ± 12	35 ± 1
12	Agrupadas	223 ± 19	34 ± 1
	Aisladas	227 ± 16	35 ± 3
20	Agrupadas	218 ± 10	35 ± 2
	Aisladas	233 ± 12	36 ± 1
30	Agrupadas	217 ± 9	30 ± 2
	Aisladas	221 ± 10	31 ± 2

(Ver leyenda de la Tabla VI para detalles metodológicos).

3.2. ACTIVIDAD DE LOS SISTEMAS CATECOLAMINERGICOS CENTRALES EN ANIMALES LESIONADOS EN EL HAZ NORADRENERGICO VENTRAL CON 6-HIDROXIDOPAMINA Y DEPRIVADOS SOCIALMENTE

Se lesionaron animales jóvenes e, inmediatamente después de llevarse a cabo la lesión, los animales fueron distribuidos en cuatro grupos diferentes: sham agrupados, sham aislados, lesión agrupados y lesión aislados. Los resultados que se mostrarán a continuación reflejan el contenido de catecolaminas y sus metabolitos de esos cuatro grupos, en distintas estructuras y procesados a diferentes tiempos.

3.2.1. Niveles de catecolaminas en distintas estructuras

Hipotálamo

Mientras que el aislamiento no produjo variaciones significativas en el contenido de ninguna de las tres catecolaminas en esta estructura cerebral, como se deduce de los niveles similares que presentaron los animales sham agrupados y sham aislados, la lesión con 6-OHDA disminuyó significativamente los valores de NA y AD (FIG. 22 y 23), encontrándose un descenso de hasta un 70% en el caso de NA, y un 65% en el de AD, tanto en los animales lesionados agrupados como en los lesionados aislados a los 12, 20 y 30 días después de la lesión y simultáneo aislamiento.

Los niveles de DA (FIG. 24) permanecieron inalterados en los cuatro grupos animales durante todo el período de tiempo observado.

Bulbo raquídeo

La determinación de los niveles de catecolaminas en el bulbo raquídeo no señaló diferencias apreciables en el contenido de los tres neurotransmisores entre ninguno de los cuatro grupos considerados y en ningún momento a lo largo del tiempo (FIG. 25, 26, y 27).

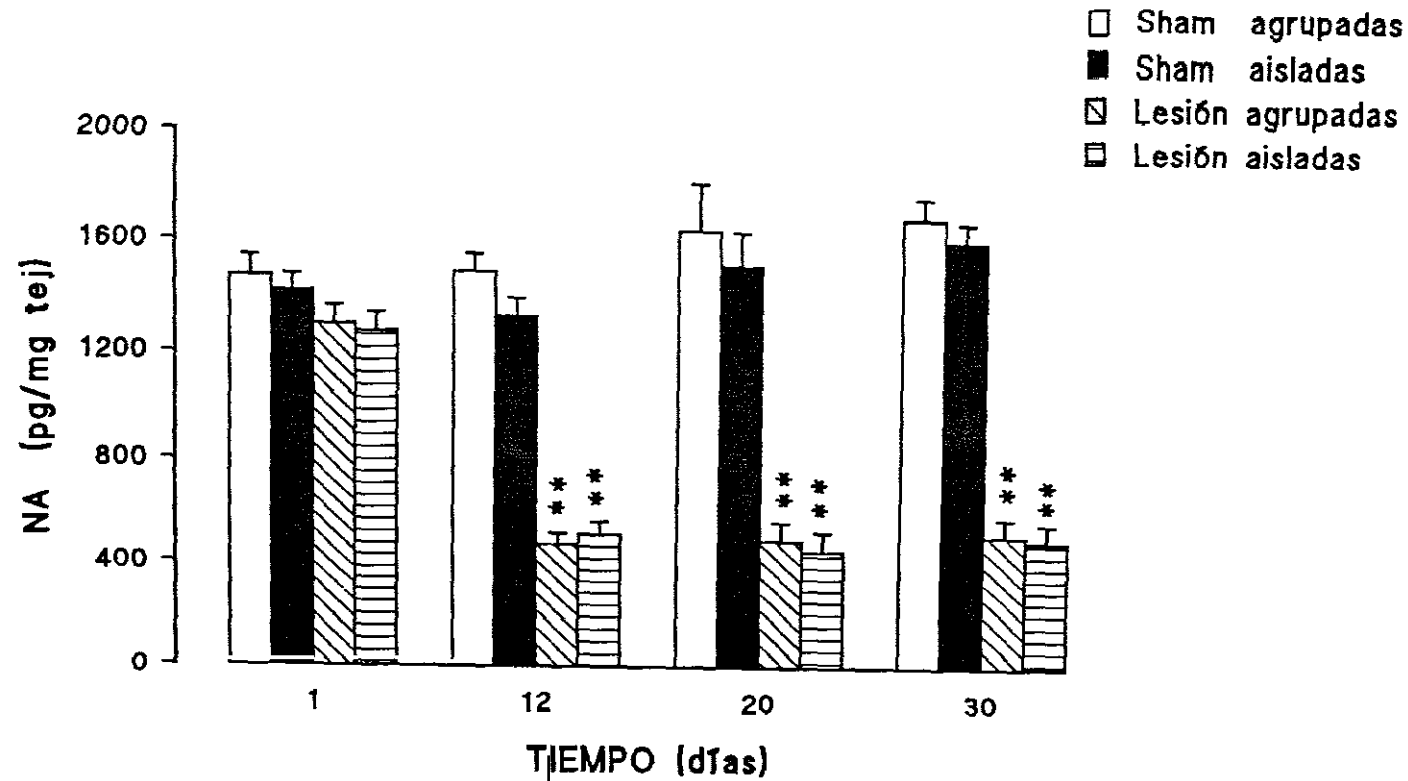


Fig. 22.- Niveles de noradrenalina en hipotálamo procedente de animales lesionados con 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral y privados socialmente.

Ratas Wistar macho jóvenes fueron lesionadas mediante la inyección bilateral de 6 ug/rata de la neurotoxina (Lesión) o vehículo (Sham) y a continuación aisladas, manteniéndose el período de aislamiento durante un mes, llevándose siempre en paralelo los correspondientes grupos de animales sham y lesión agrupados. La determinación de los niveles de noradrenalina se realizó por HPLC 1, 12, 20 y 30 días después de la lesión (ver apartado 6.1.2. de métodos). Los datos se expresan como la media \pm ESM de 8 animales por grupo.

** $p < 0.01$ respecto a los valores de los animales sham agrupados o aislados (test de la "t" de Student).

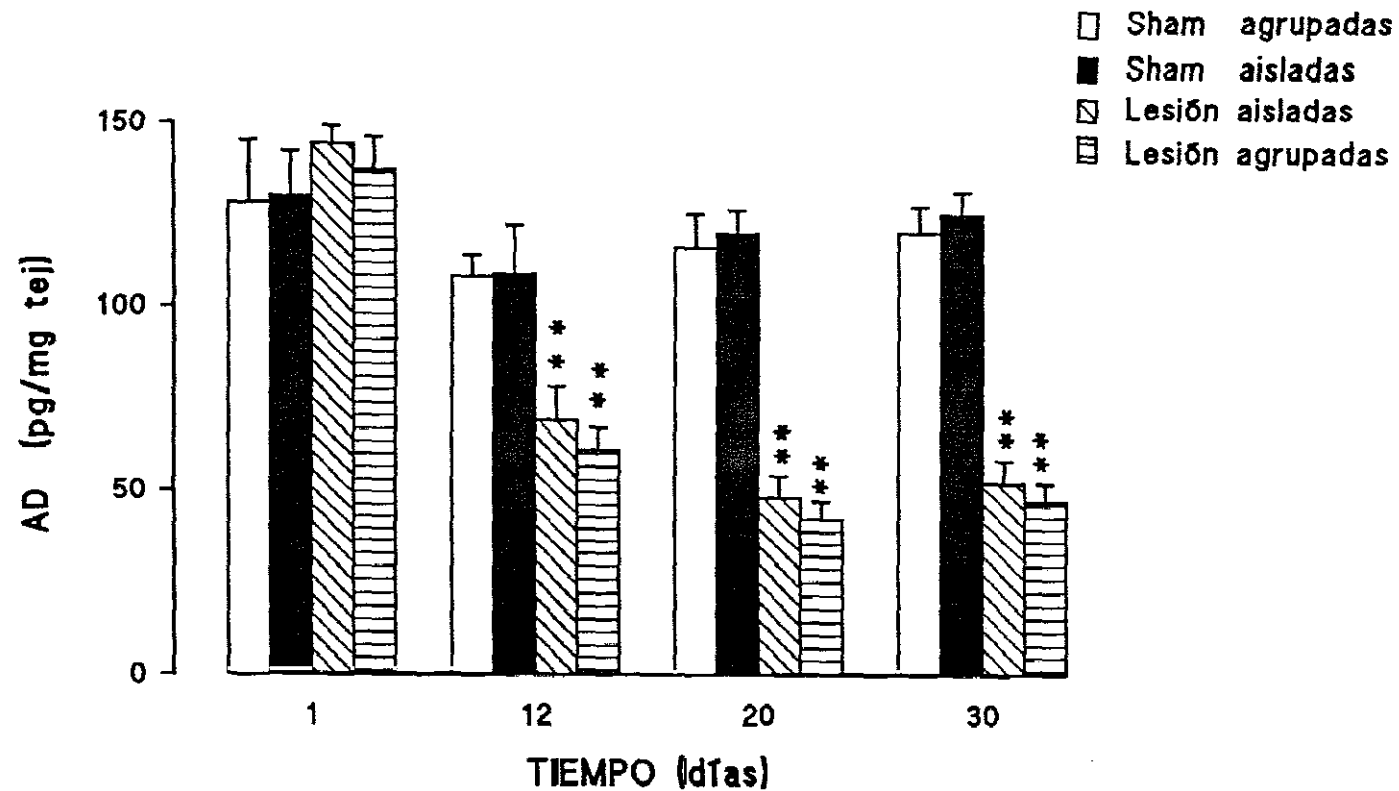


Fig. 23.- Niveles de adrenalina en hipotálamo procedente de animales lesionados con 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral y privados socialmente.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 22).

** $p < 0.01$ respecto a los valores de los animales sham agrupados o aislados (test de la "t" de Student).

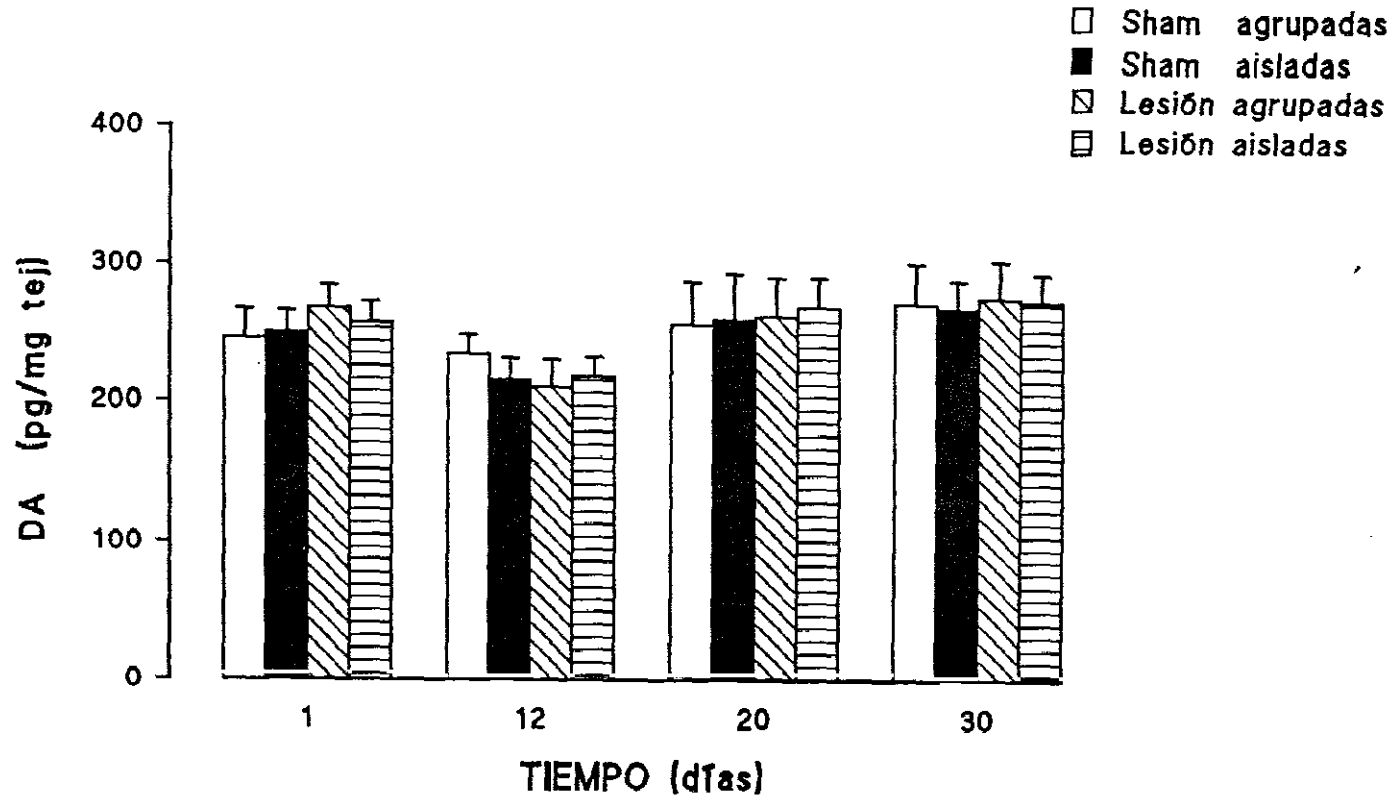


Fig. 24.- Niveles de dopamina en hipotálamo procedente de animales lesionados con 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral y privados socialmente.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 22).

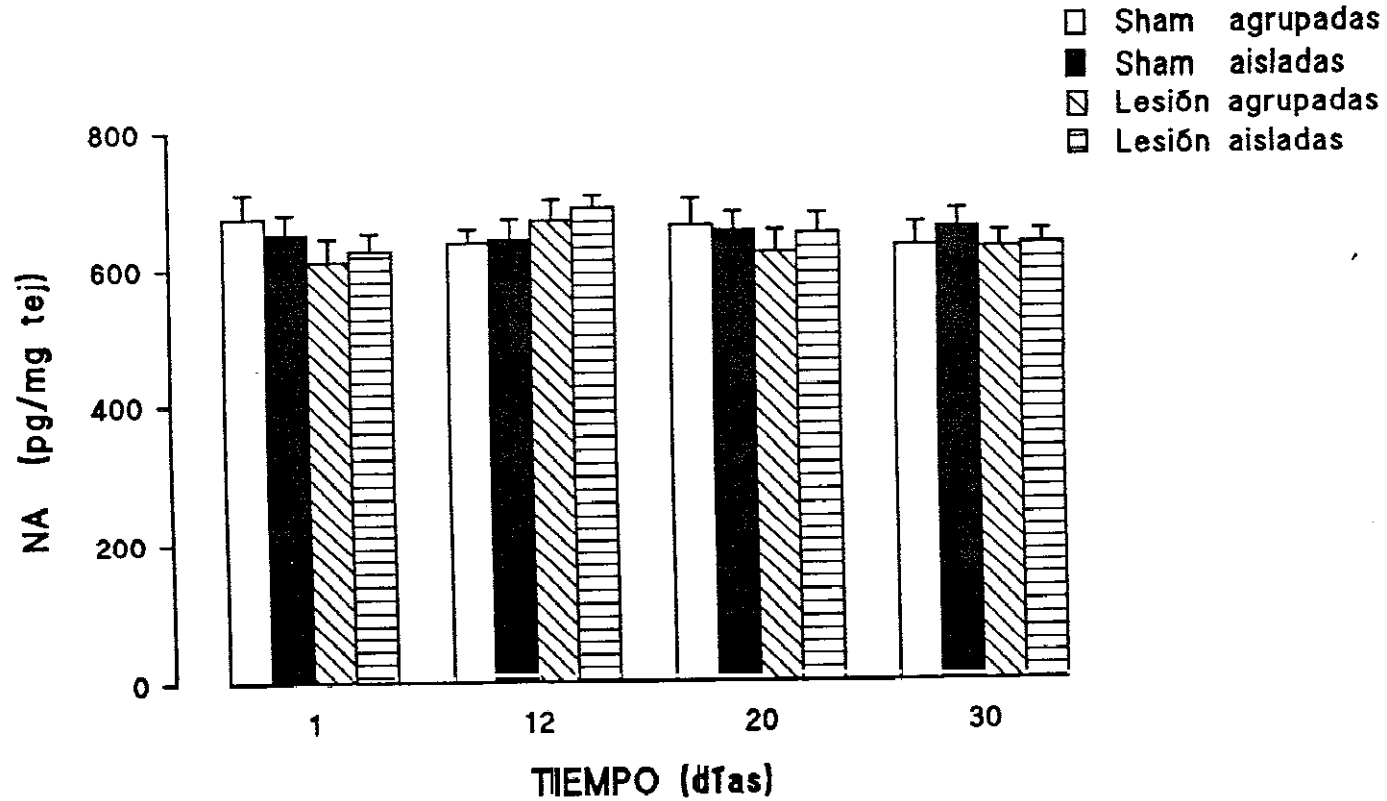


Fig. 25.- Niveles de noradrenalina en bulbo raquídeo procedente de animales lesionados con 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral y privados socialmente.

Ratas Wistar macho jóvenes fueron lesionadas mediante la inyección bilateral de 6 ug/rata de la neurotoxina (Lesión) o vehículo (Sham) y a continuación aisladas, manteniéndose el período de aislamiento durante un mes, llevándose siempre en paralelo los correspondientes grupos de animales sham y lesión agrupados. La determinación de los niveles de noradrenalina se realizó por HPLC 1, 12, 20 y 30 días después de la lesión (ver apartado 6.1.2. de métodos). Los datos se expresan como la media \pm ESM de 8 animales por grupo.

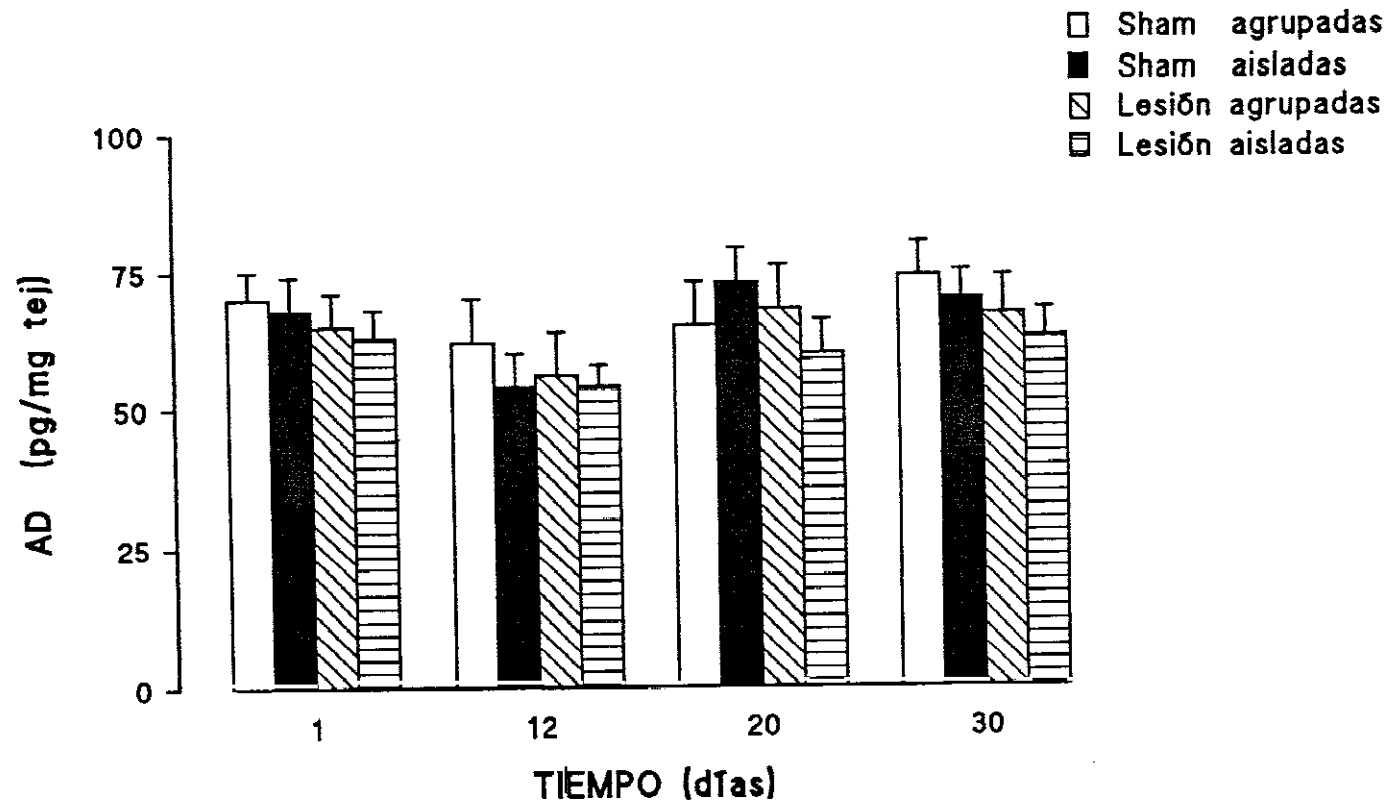


Fig. 26.- Niveles de adrenalina en bulbo raquídeo procedente de animales lesionados con 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral y privados socialmente.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 25).

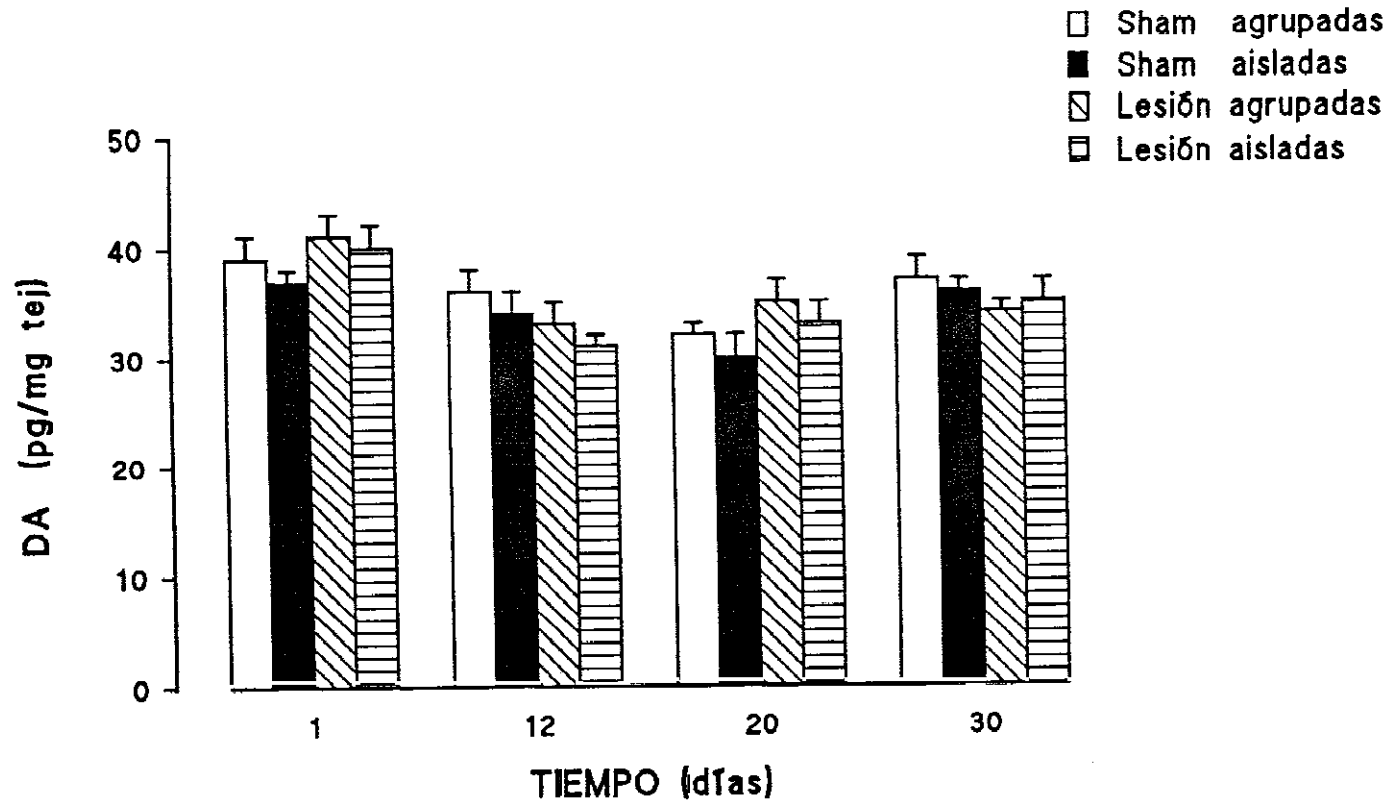


Fig. 27.- Niveles de dopamina en bulbo raquídeo procedente de animales lesionados con 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral y privados socialmente.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 25).

Médula espinal

Tal y como ya se ha mencionado en el apartado 1.2.1. de resultados se detectaron sin problemas, exclusivamente, los niveles de NA y DA que se muestran respectivamente en las Figuras 28 y 29 no encontrándose variaciones significativas en los niveles de dichas catecolaminas entre ninguno de los grupos.

3.2.2. Velocidad de renovación de noradrenalina en distintas estructuras

Hipotálamo

La Tabla IX refleja los niveles de NA y de MHPG en hipotálamo de animales sham agrupados, sham aislados, lesión agrupados y lesión aislados a diferentes tiempos.

A pesar de que los niveles de NA de animales sham aislados no diferían de los de su correspondiente grupo control de animales sham agrupados, sí se encontraron diferencias significativas en el contenido de MHPG de estos mismos animales sham aislados hipertensos después de la segunda semana de aislamiento con respecto a los animales sham agrupados normotensos (FIG. 30). Esta disminución significativa en el metabolito de NA en el hipotálamo de animales sham aislados indica una manifiesta disminución de la velocidad de renovación y, por tanto, de la actividad noradrenérgica a nivel hipotalámico en animales sometidos a deprivación social.

Por lo que respecta a los animales lesionados, tanto agrupados como aislados, se apreció una disminución considerable (70%) de los niveles del neurotransmisor hipotalámico como consecuencia de la destrucción de aferencias noradrenérgicas mediante la aplicación de 6-OHDA, disminución que fue significativa a partir de los 12 días posteriores a la lesión, pero no antes. De manera paralela a lo que sucedía con el contenido de NA, su metabolito sufrió una importante disminución en los animales lesionados, bien agrupados, bien aislados, a los 12, 20 y 30 días (FIG. 30).

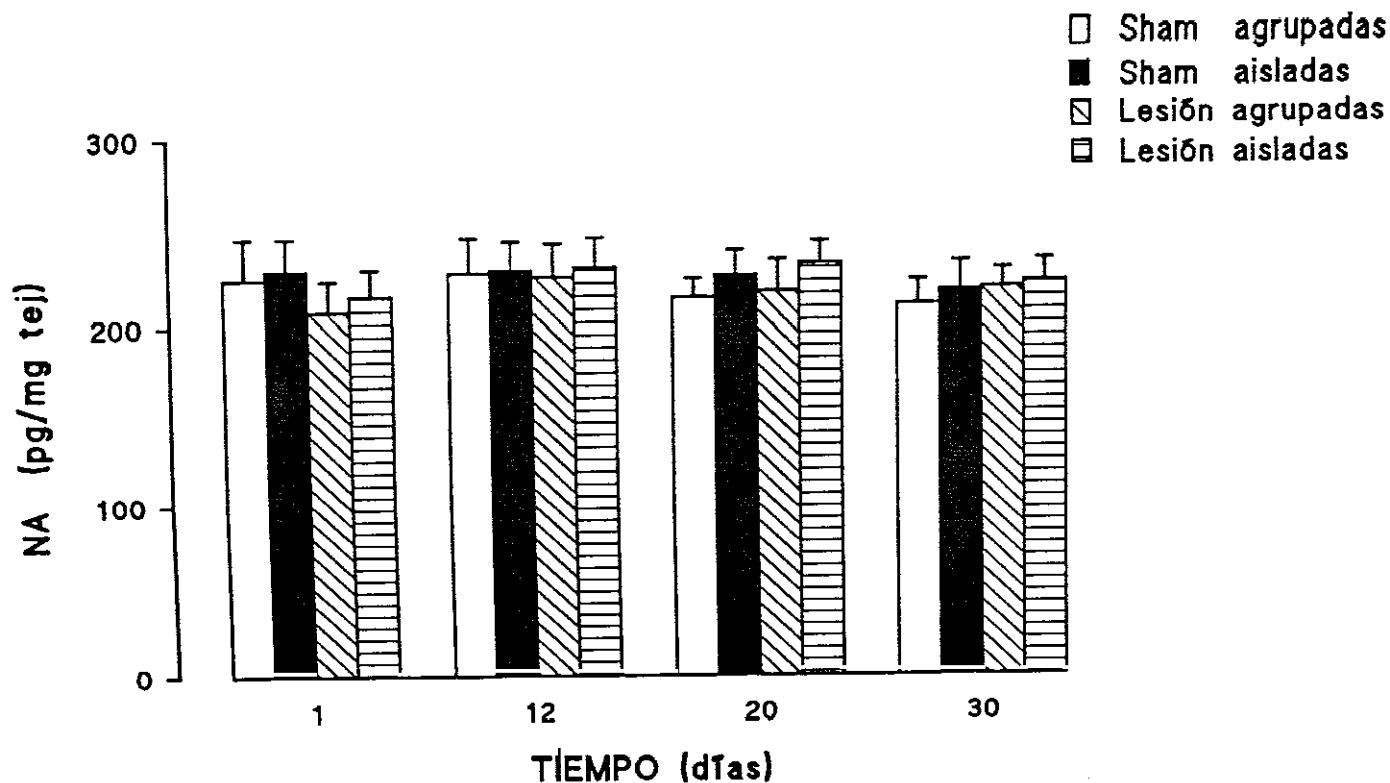


Fig. 28.- Niveles de noradrenalina en médula espinal procedente de animales lesionados con 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral y privados socialmente.

Ratas Wistar macho jóvenes fueron lesionadas mediante la inyección bilateral de 6 ug/rata de la neurotoxina (Lesión) o vehículo (Sham) y a continuación aisladas, manteniéndose el período de aislamiento durante un mes, llevándose siempre en paralelo los correspondientes grupos de animales sham y lesión agrupados. La determinación de los niveles de noradrenalina se realizó por HPLC 1, 12, 20 y 30 días después de la lesión (ver apartado 6.1.2. de métodos). Los datos se expresan como la media \pm ESM de 8 animales por grupo.

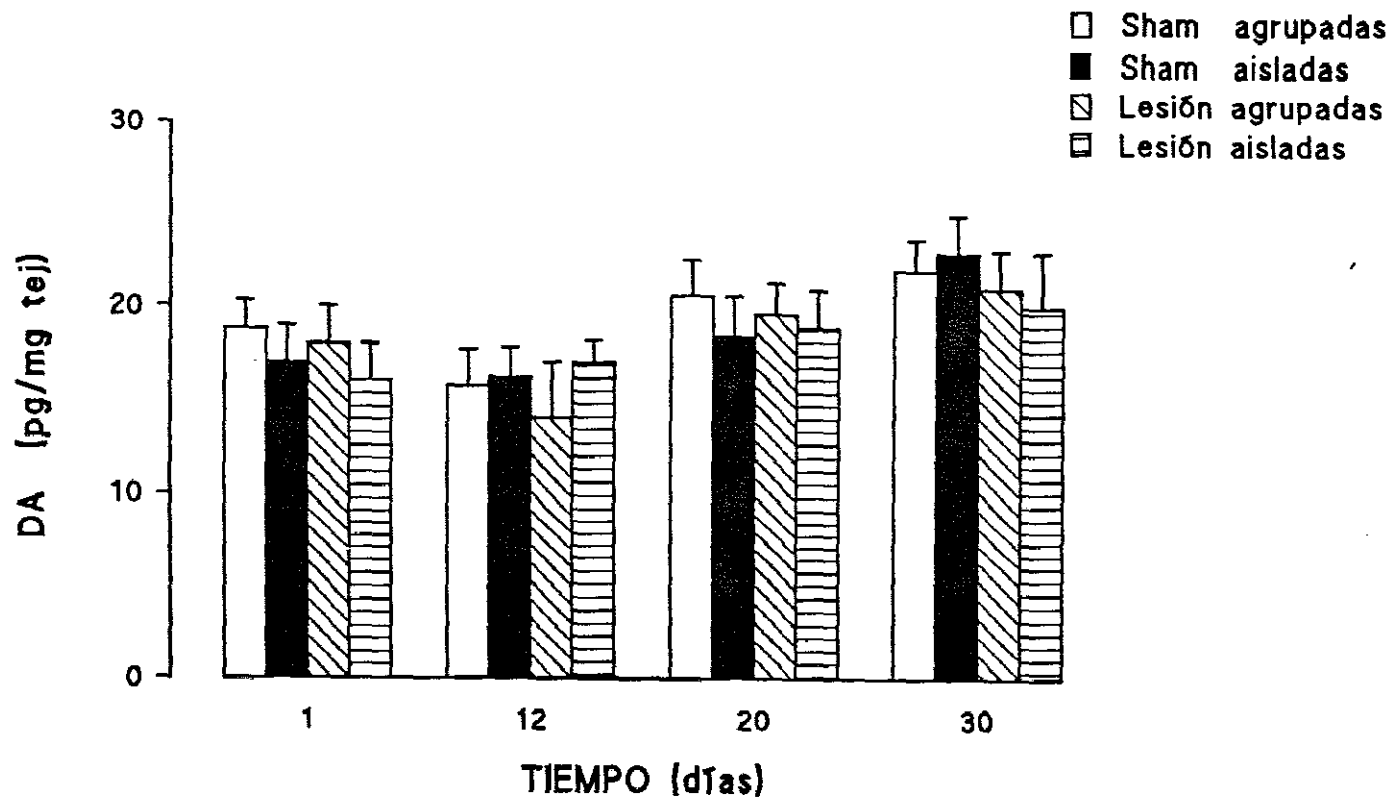


Fig. 29.- Niveles de dopamina en médula espinal procedente de animales lesionados con 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral y privados socialmente.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 28).

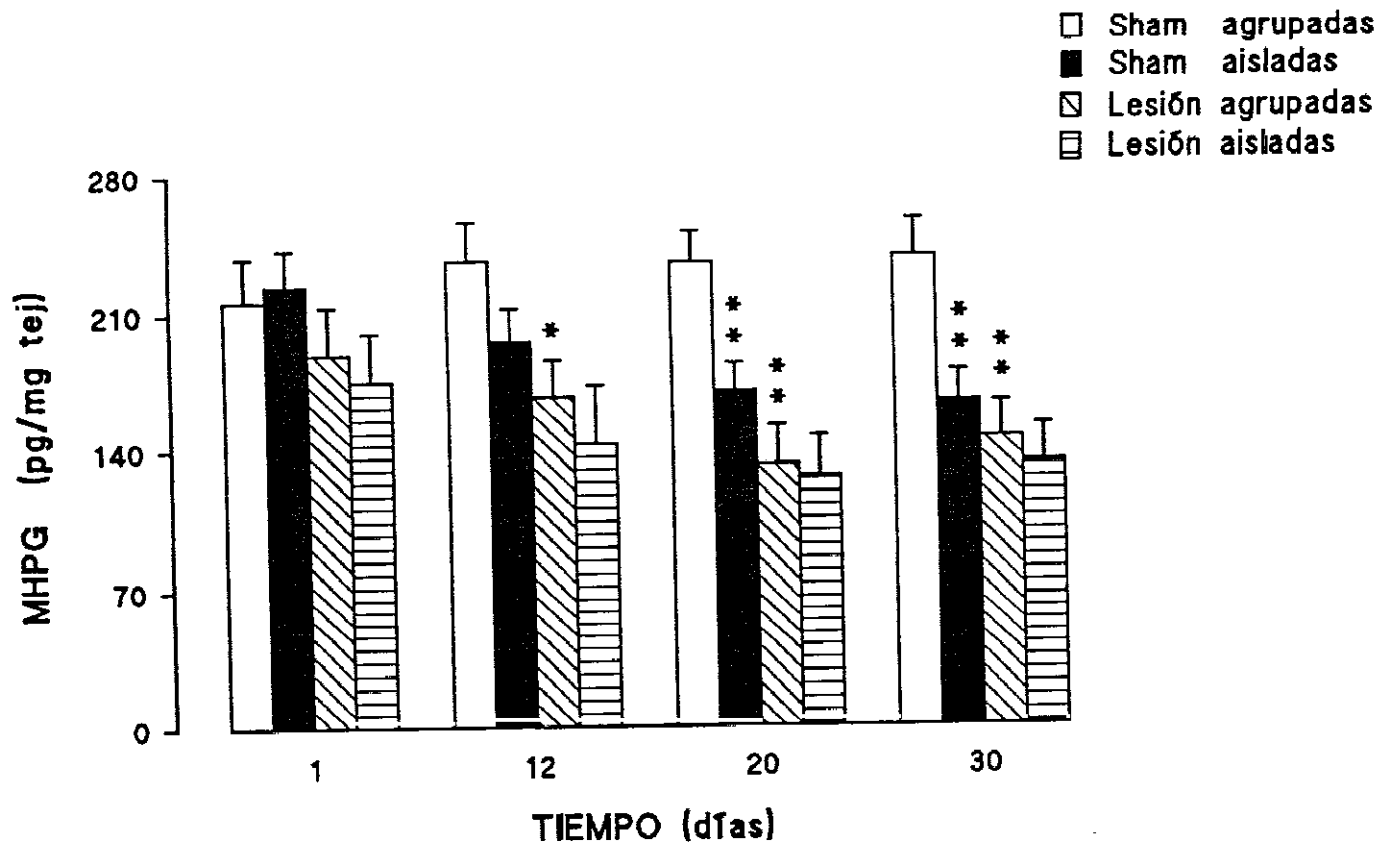


Fig. 30.- Niveles de MHPG en hipotálamo procedente de animales lesionados con 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral y privados socialmente.

La lesión se llevó a cabo mediante la inyección bilateral de la neurotoxina (6 ug/rata) en ratas Wistar macho jóvenes que fueron a continuación aisladas, manteniéndose durante un mes el período de aislamiento, llevándose en paralelo los correspondientes grupos de animales agrupados sham y lesión. Los animales sham recibieron vehículo. La determinación de los niveles de MHPG se realizó por HPLC 1, 12, 20 y 30 días después de la lesión (ver apartado 6.1.2. de métodos). Los datos se expresan como la media \pm ESM de 8 animales por grupo.

* $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$ respecto a los valores de los animales sham agrupados (test de la "t" de Student).

TABLA IX

**VELOCIDAD DE RENOVACION DE NORADRENALINA EN HIPOTALAMO
PROCEDENTE DE ANIMALES LESIONADOS CON 6-HIDROXIDOPAMINA EN
EL HAZ NORADRENERGICO VENTRAL Y DEPRIVADOS SOCIALMENTE**

TIEMPO (días)	GRUPO	NA (pg/mg tej)	MHPG
1	Sham agrupadas	1470 ± 70	225 ± 32
	aisladas	1438 ± 45	234 ± 21
	Lesión agrupadas	1291 ± 60	194 ± 18
	aisladas	1285 ± 56	175 ± 25
12	Sham agrupadas	1542 ± 64	236 ± 20
	aisladas	1391 ± 77	198 ± 25
	Lesión agrupadas	486 ± 53 **	165 ± 19 *
	aisladas	515 ± 48 oo	143 ± 30
20	Sham agrupadas	1608 ± 69	235 ± 16
	aisladas	1584 ± 52	170 ± 14 **
	Lesión agrupadas	474 ± 71 **	131 ± 20 **
	aisladas	450 ± 75 oo	126 ± 21
30	Sham agrupadas	1623 ± 53	238 ± 19
	aisladas	1617 ± 65	165 ± 15 **
	Lesión agrupadas	480 ± 68 **	146 ± 17 **
	aisladas	466 ± 73 oo	133 ± 19

La lesión se realizó mediante la inyección bilateral de 6 ug/rata de 6-OHDA o vehículo en animales jóvenes que fueron inmediatamente aislados. Los niveles de NA y MHPG fueron determinados por HPLC a distintos tiempos después de la lesión y aislamiento consecutivo, considerando al metabolito de NA como índice de la velocidad de renovación de la amina. Los valores de la tabla están expresados como la media ± ESM de 8 animales por grupo.

* p<0.05 y ** p<0.01 respecto a los valores de los animales sham agrupados; oo p<0.01 respecto a los valores de los animales sham aislados (test de la "t" de Student).

Bulbo raquídeo

Como muestra la Tabla X, los niveles de NA en esta región cerebral fueron muy similares en los cuatro grupos considerados: animales sham agrupados, sham aislados, lesión agrupados y lesión aislados a 1, 12, 20 y 30 días.

El contenido de MHPG en bulbo raquídeo no difería significativamente al comparar animales sham aislados con animales sham agrupados a lo largo del tiempo (FIG. 31). Sin embargo, se encontró un aumento significativo en los niveles del metabolito en los animales lesionados, tanto agrupados como aislados, tan solo a 1 día después de la administración de la neurotoxina (FIG. 31).

Médula espinal

La Tabla XI refleja los niveles de NA y su metabolito en médula espinal de los cuatro grupos experimentales. No se apreciaron diferencias significativas en el contenido de este neurotransmisor entre ninguno de los grupos establecidos a lo largo del tiempo.

Tampoco se encontraron variaciones en los niveles de MHPG entre animales sham agrupados y sham aislados; pero si se observó un aumento significativo en el contenido del metabolito de animales lesionados, tanto agrupados como aislados, 24 horas después de la lesión; mientras que a 12, 20 y 30 días los niveles de MHPG no diferían entre los cuatro grupos considerados (FIG. 32).

3.3. ACTIVIDAD DE LOS SISTEMAS CATECOLAMINÉRGICOS CENTRALES EN ANIMALES DEPRIVADOS SOCIALMENTE Y POSTERIORMENTE LESIONADOS CON 6-HIDROXIDOPAMINA EN EL HAZ NORADRENERGICO VENTRAL

Habiéndose observado respuestas cardiovasculares muy diferentes en el caso de que la lesión con 6-OHDA en el HNV se llevara a cabo antes o después de someter a los animales a un aislamiento continuado y, ya que se había realizado el estudio de la actividad catecolaminérgica central cuando la lesión precedía a la privación social, parecía oportuno el analizar también las alteraciones de los sistemas aminérgicos centrales en animales privados socialmente que, una vez que habían desarrollado la respuesta hipertensiva, fueran lesionados tal y como se describe en el apartado 3.1. de métodos.

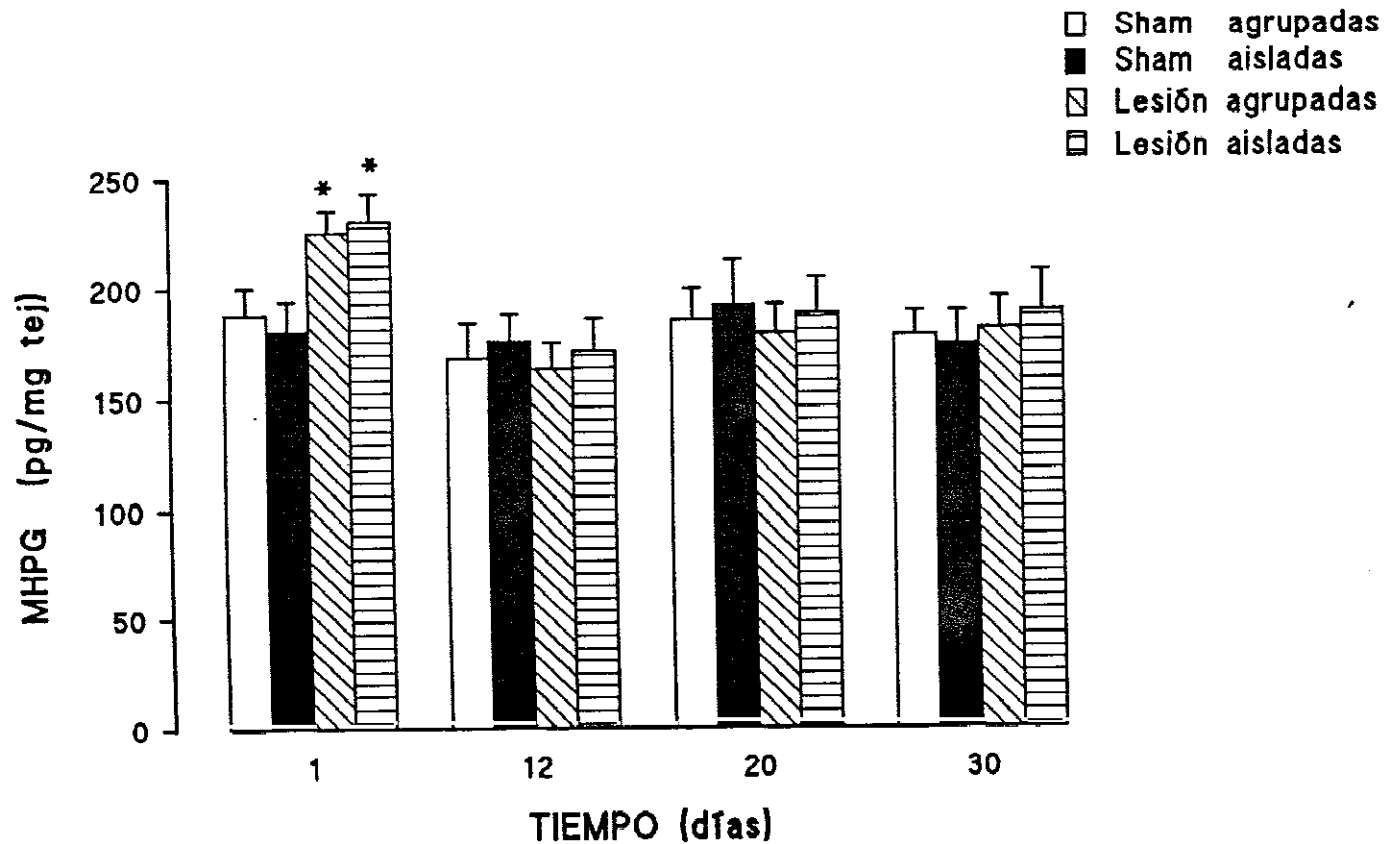


Fig. 31.- Niveles de MHPG en bulbo raquídeo procedente de animales lesionados con 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral y privados socialmente.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 30).

* $p < 0.05$ respecto a los valores de los animales sham agrupados o aislados (test de la "t" de Student).

TABLA X

**VELOCIDAD DE RENOVACION DE NORADRENALINA EN BULBO RAQUIDEO
PROCEDENTE DE ANIMALES LESIONADOS CON 6-HIDORXIDOPAMINA EN
EL HAZ NORADRENERGICO VENTRAL Y DEPRIVADOS SOCIALMENTE**

TIEMPO (días)	GRUPO	NA (pg/mg tej)	MHPG
1	Sham agrupadas	673 ± 35	188 ± 17
		651 ± 27	183 ± 21
	Lesión agrupadas	610 ± 34	239 ± 16 *
		625 ± 26	240 ± 13 *
12	Sham agrupadas	637 ± 19	164 ± 19
		643 ± 27	179 ± 12
	Lesión agrupadas	668 ± 30	162 ± 19
		686 ± 18	172 ± 15
20	Sham agrupadas	660 ± 39	185 ± 16
		654 ± 25	190 ± 14
	Lesión agrupadas	622 ± 31	169 ± 20
		649 ± 28	188 ± 16
30	Sham agrupadas	630 ± 33	168 ± 19
		657 ± 25	165 ± 15
	Lesión agrupadas	627 ± 23	177 ± 17
		633 ± 19	190 ± 18

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Tabla IX).

* $p < 0.05$ respecto a los valores de los animales sham agrupados o aislados (test de la "t" de Student).

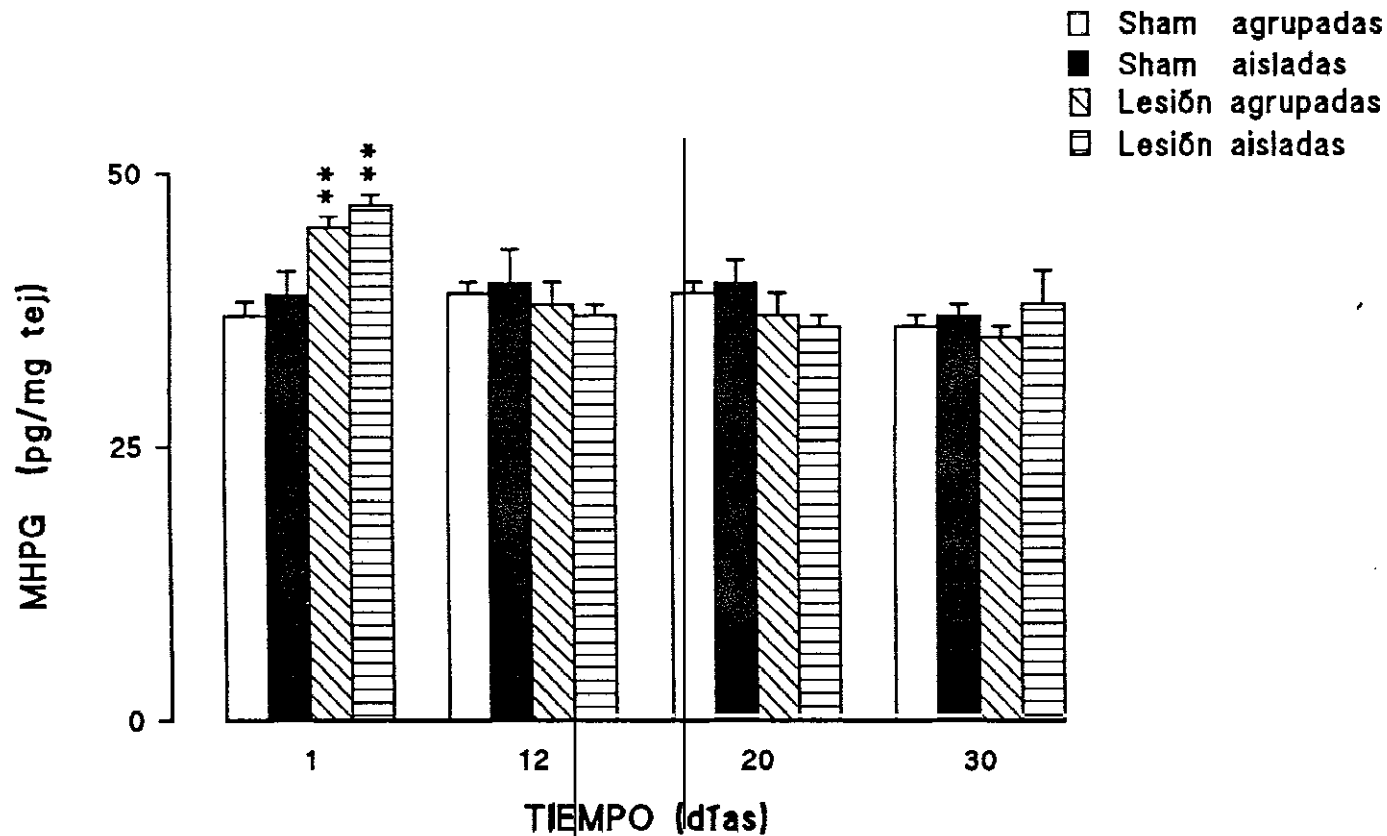


Fig. 32.- Niveles de MHPG en médula espinal procedente de animales lesionados con 6-hidroxiopamina en el haz noradrenérgico ventral y privados socialmente.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 30).

** $p < 0.01$ respecto a los valores de los animales sham agrupados o aislados (test de la "t" de Student).

TABLA XI

**VELOCIDAD DE RENOVACION DE NORADRENALINA EN MEDULA ESPINAL
PROCEDENTE DE ANIMALES LESIONADOS CON 6-HIDROXIDOPAMINA EN
EL HAZ NORADRENERGICO VENTRAL Y DEPRIVADOS SOCIALMENTE**

TIEMPO (días)	GRUPO	NA (pg/mg tej)	MHPG
1	Sham agrupadas	225 ± 22	37 ± 1
	Sham aisladas	230 ± 17	39 ± 2
	Lesión agrupadas	208 ± 16	45 ± 1 **
	Lesión aisladas	216 ± 14	47 ± 1 **
12	Sham agrupadas	228 ± 19	39 ± 1
	Sham aisladas	230 ± 15	40 ± 3
	Lesión agrupadas	226 ± 18	38 ± 2
	Lesión aisladas	231 ± 16	37 ± 1
20	Sham agrupadas	215 ± 10	39 ± 1
	Sham aisladas	227 ± 13	40 ± 2
	Lesión agrupadas	218 ± 17	37 ± 2
	Lesión aisladas	233 ± 12	36 ± 1
30	Sham agrupadas	211 ± 13	36 ± 1
	Sham aisladas	219 ± 15	37 ± 1
	Lesión agrupadas	220 ± 10	35 ± 1
	Lesión aisladas	223 ± 12	38 ± 3

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Tabla IX).

** p<0.01 respecto a los valores de los animales sham agrupados o aislados (test de la "t" de Student).

3.3.1. Niveles de catecolaminas en distintas estructuras

Hipotálamo

El análisis de NA y AD en esta estructura cerebral reveló una disminución estadísticamente significativa en los niveles de los dos neurotransmisores en el caso de los animales agrupados lesión y aislados lesión cuando se compararon con los animales agrupados sham o aislados sham respectivamente (FIG.33 y 34).

En el caso de la DA no se observó ninguna modificación en su contenido entre ninguno de los grupos considerados y en ninguno de los tiempos analizados, tal y como se muestra en la Figura 35.

Bulbo raquídeo

Por lo que respecta a esta estructura cerebral, no se apreciaron alteraciones en los niveles de ninguna de las tres catecolaminas analizadas ni antes, ni después de la lesión con 6-OHDA entre ninguno de los grupos considerados (FIG. 36, 37 y 38).

Médula espinal

Las Figuras 39 y 40 reflejan el contenido de NA y DA respectivamente de animales agrupados y aislados, tanto sham como lesión, no habiéndose encontrado diferencias significativas entre ninguno de los cuatro grupos y en ninguno de los tiempos analizados.

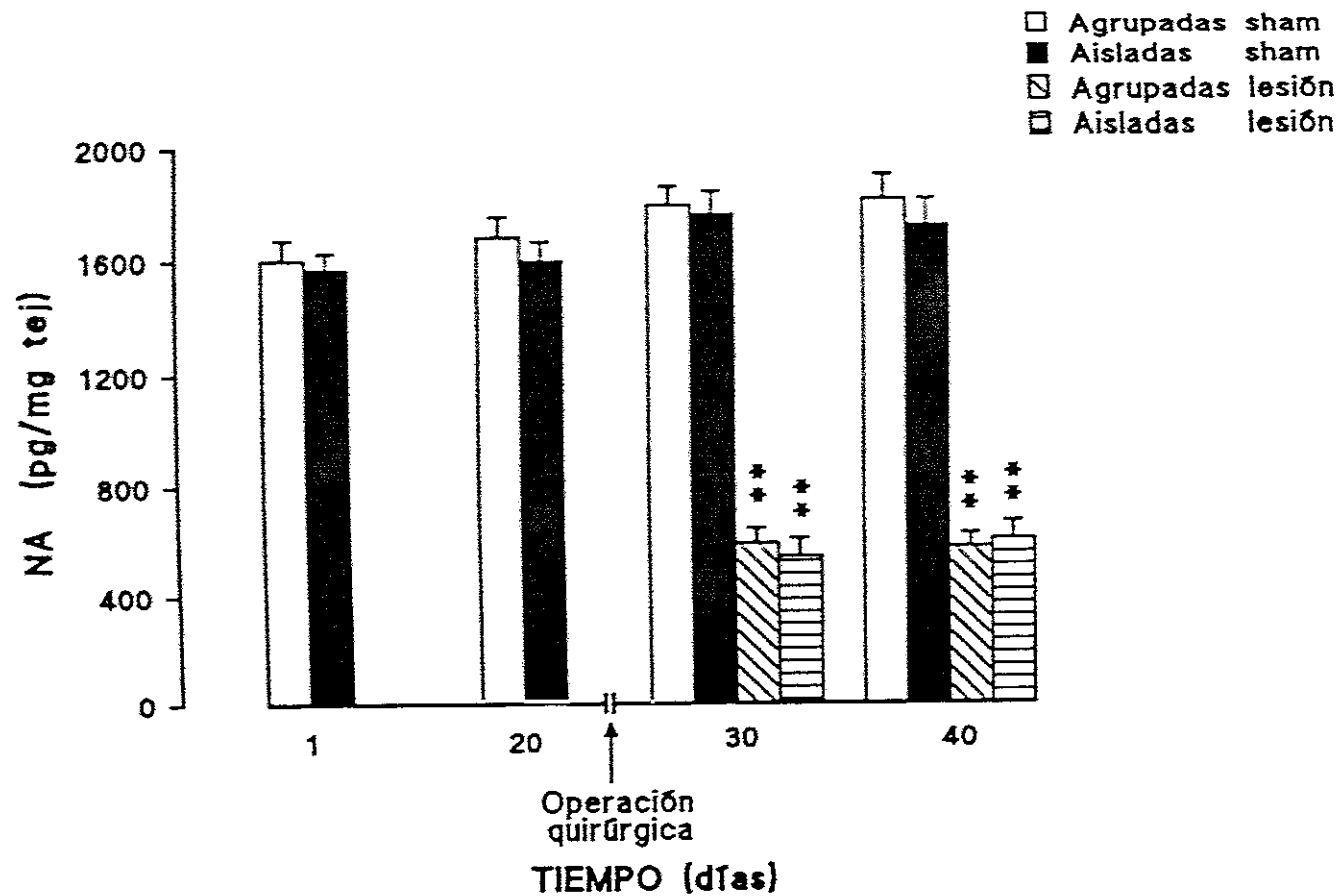


Fig. 33.- Efecto de la lesión con 6-hidroxidopamina del haz noradrenérgico ventral sobre los niveles de noradrenalina en hipotálamo de animales sometidos a estrés por privación social.

Ratas Wistar jóvenes fueron sometidas a estrés por privación social durante 20 días. El día 21 fueron lesionadas mediante la administración de 9 ug/rata de 6-OHDA (Lesión) o vehículo (Sham), prolongando a continuación el aislamiento durante 20 días más. Se llevaron siempre en paralelo los correspondientes animales agrupados sham y lesión. La determinación de los niveles de noradrenalina se efectuó por HPLC 1 y 20 días antes de la lesión y 10 y 20 días después de la misma, que corresponden en la gráfica a los días 30 y 40 de aislamiento. (Para más detalles ver apartado 6.1.2. de métodos). Los datos de la figura se expresan como la media \pm ESM de 8 animales por grupo.

** $p < 0.01$ respecto a los valores de los animales agrupados o aislados sham (test de la "t" de Student).

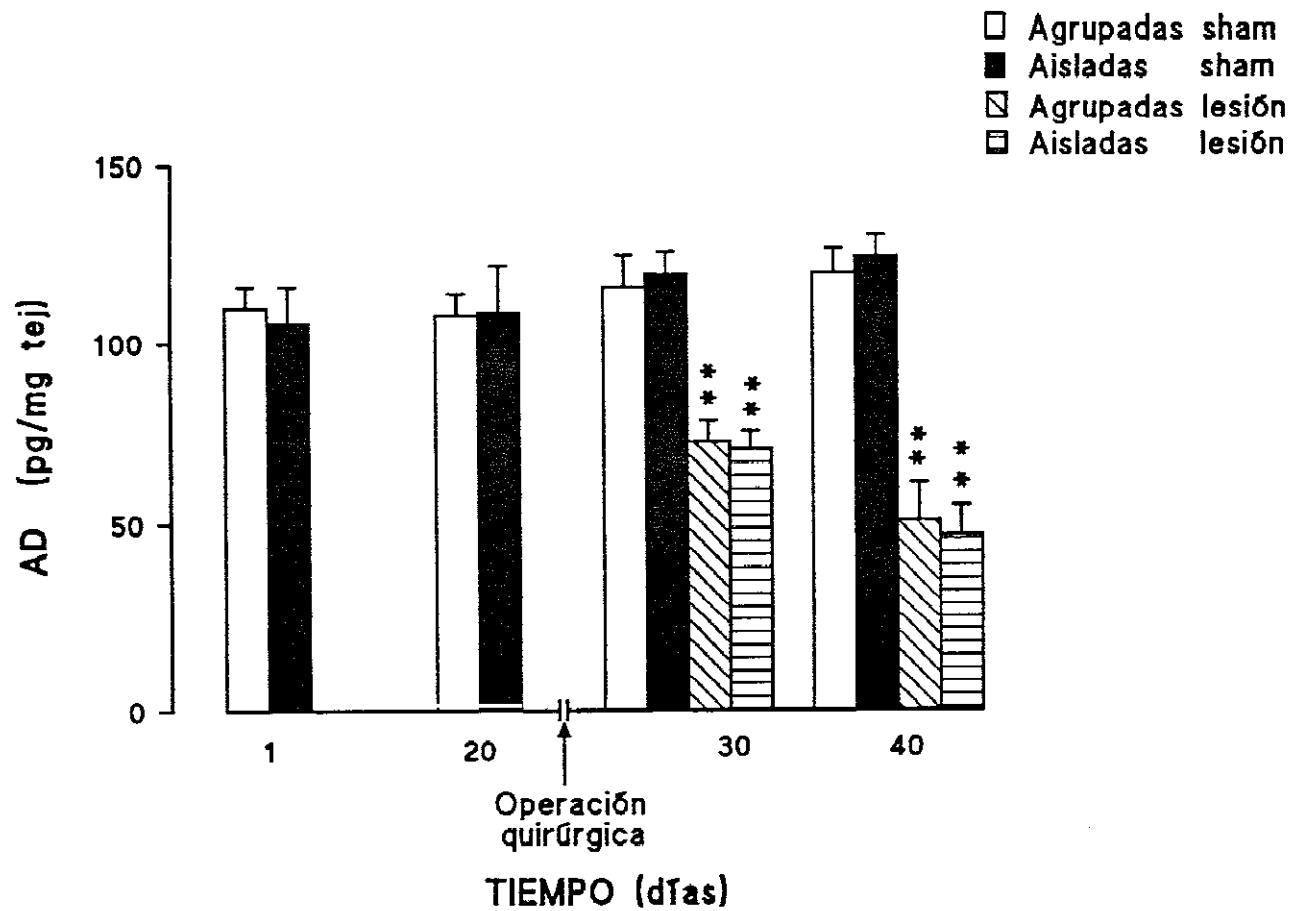


Fig. 34.- Efecto de la lesión con 6-hidroxidopamina del haz noradrenérgico ventral sobre los niveles de adrenalina en hipotálamo de animales sometidos a estrés por privación social.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 33).

** $p < 0.01$ respecto a los valores de los animales agrupados o aislados sham (test de la "t" de Student).

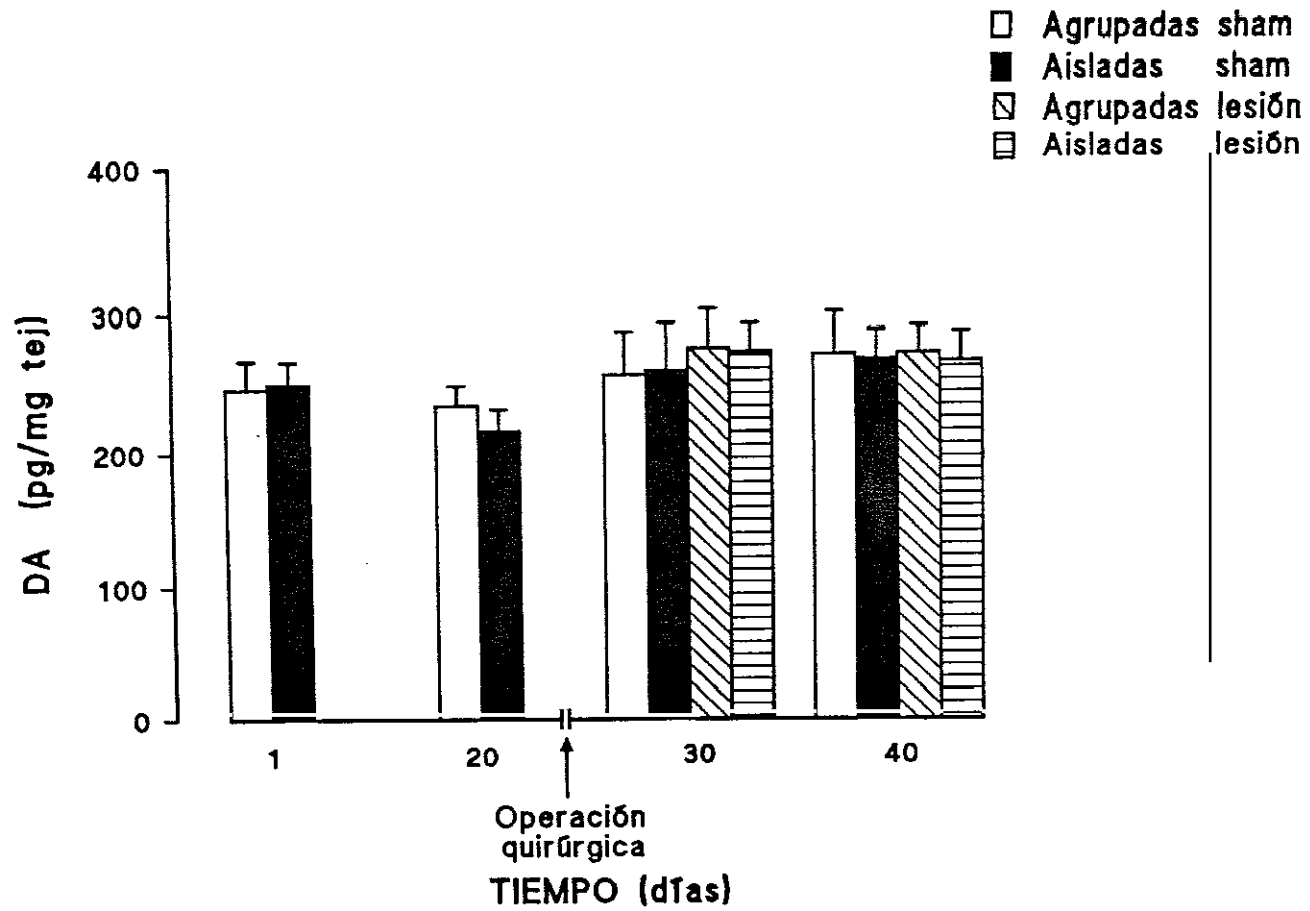


Fig. 35.- Efecto de la lesión con 6-hidroxidopamina del haz noradrenérgico ventral sobre los niveles de dopamina en hipotálamo de animales sometidos a estrés por deprivación social.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 33).

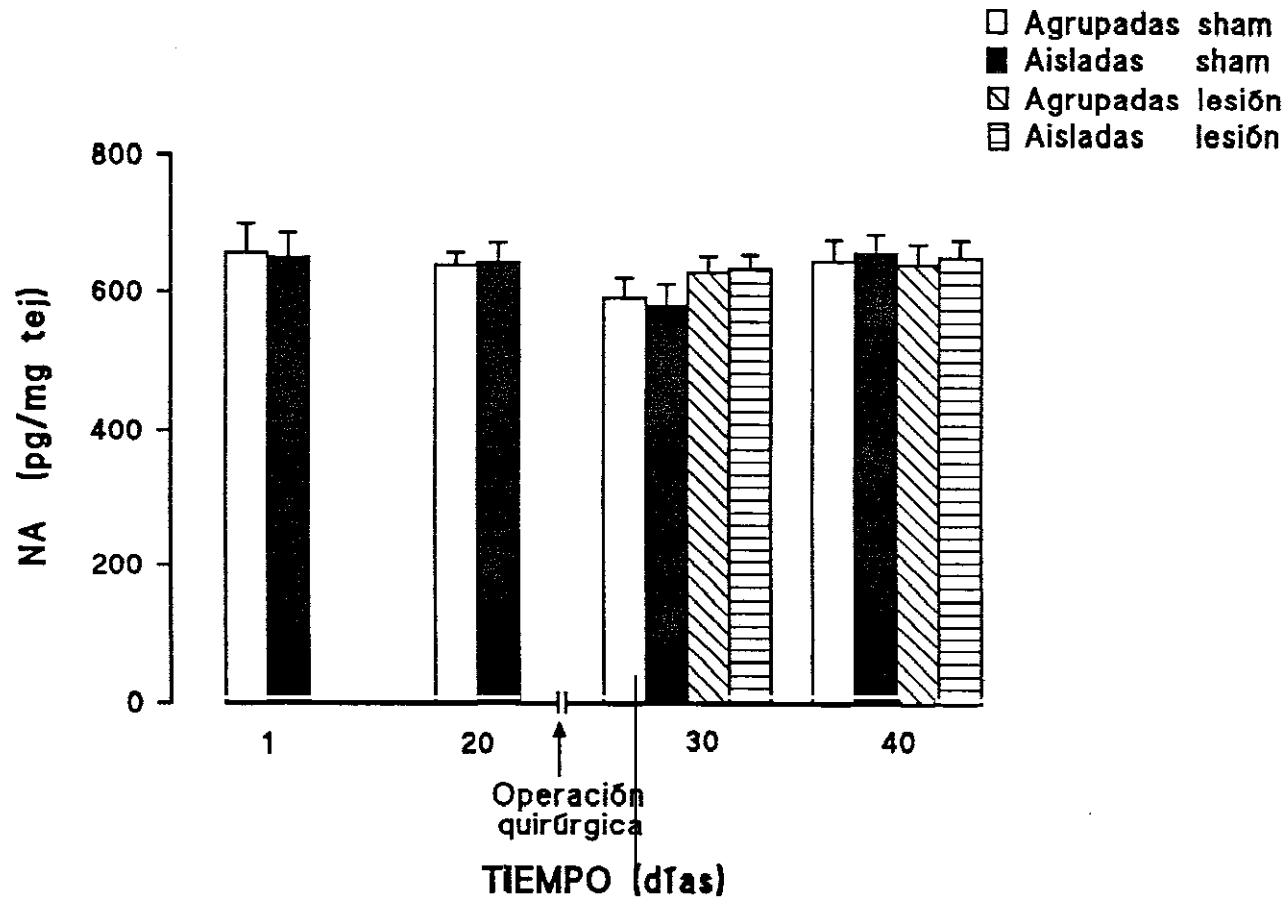


Fig. 36.- Efecto de la lesión con 6-hidroxidopamina del haz noradrenérgico ventral sobre los niveles de noradrenalina en bulbo raquídeo de animales sometidos a estrés por deprivación social.

Ratas Wistar jóvenes fueron sometidas a estrés por deprivación social durante 20 días. El día 21 fueron lesionadas mediante la administración bilateral de 9 ug/rata de 6-OHDA (Lesión) o vehículo (Sham), prolongando a continuación el aislamiento durante 20 días más. Se llevaron siempre en paralelo los correspondientes animales agrupados sham y lesión. La determinación de los niveles de noradrenalina se efectuó por HPLC 1 y 20 días antes de la lesión y 10 y 20 días después de la misma, que corresponden en la gráfica a los días 30 y 40 de aislamiento. (Para más detalles ver apartado 6.1.2. de métodos). Los datos de la figura se expresan como la media \pm ESM de 8 animales por grupo.

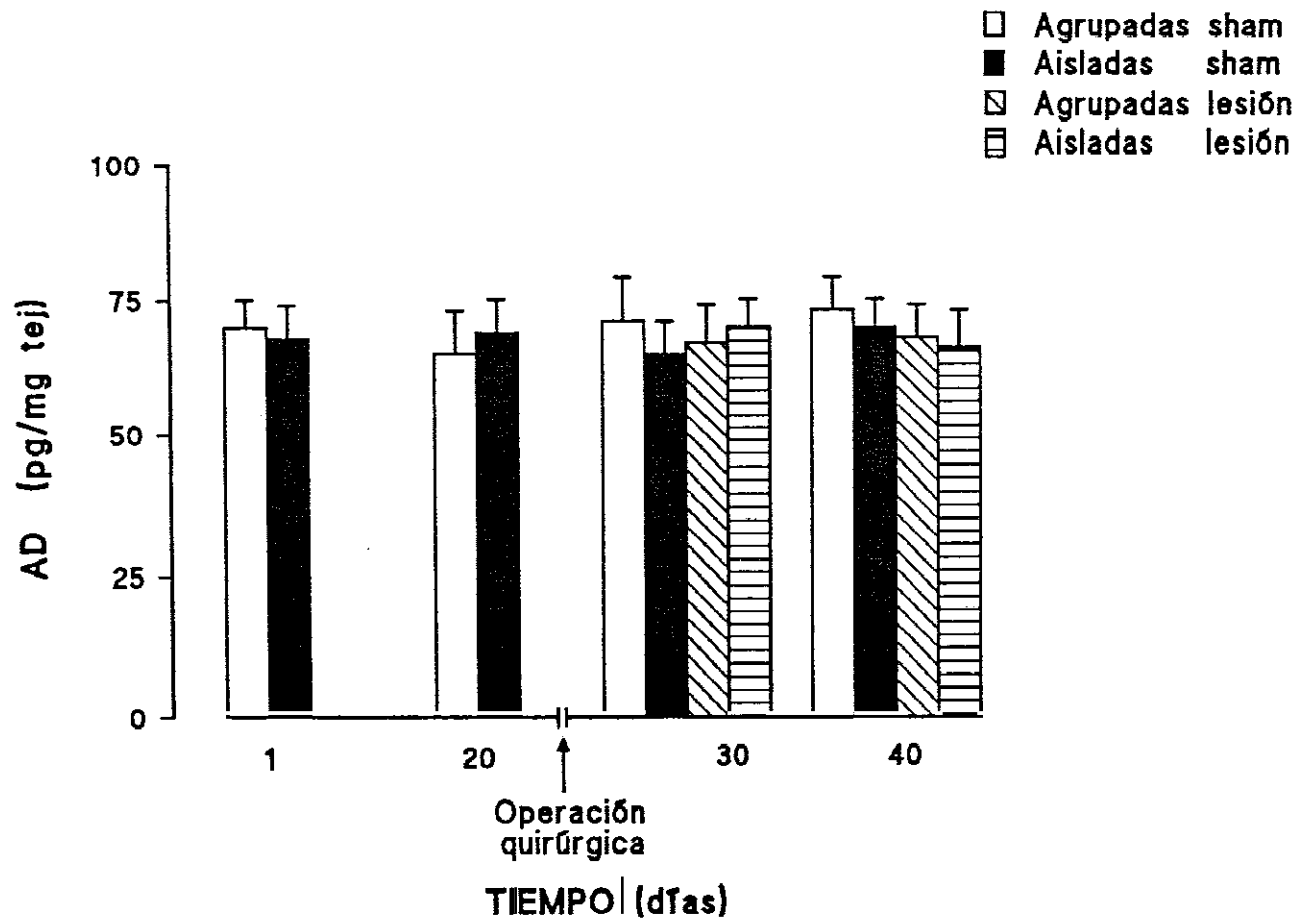


Fig. 37.-Efecto de la lesión con 6-hidroxidopamina del haz noradrenérgico ventral sobre los niveles de adrenalina en bulbo raquídeo de animales sometidos a estrés por deprivación social.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 36).

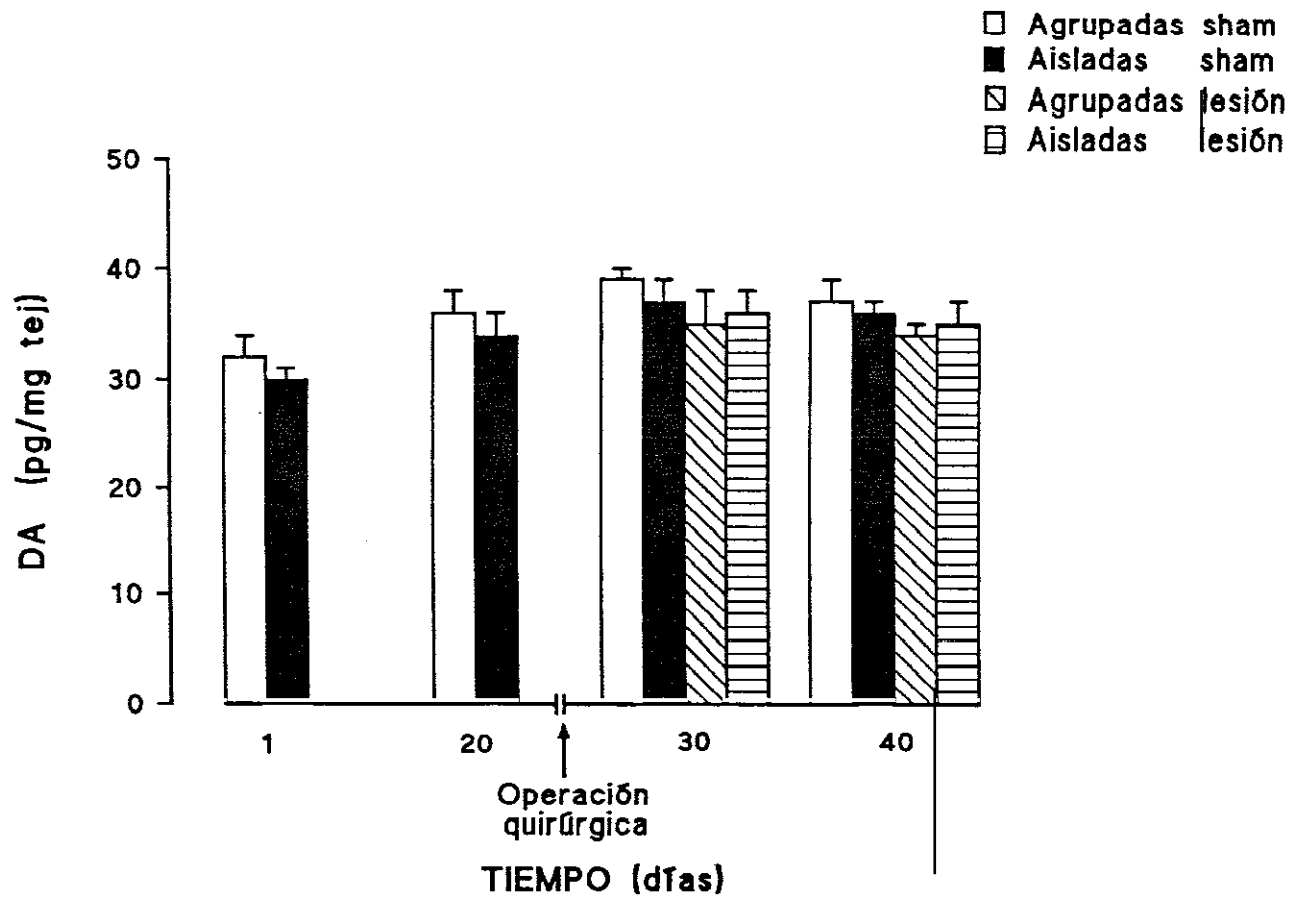


Fig. 38.- Efecto de la lesión con 6-hidroxidopamina del haz noradrenérgico ventral sobre los niveles de dopamina en bulbo raquídeo de animales sometidos a estrés por deprivación social.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 36).

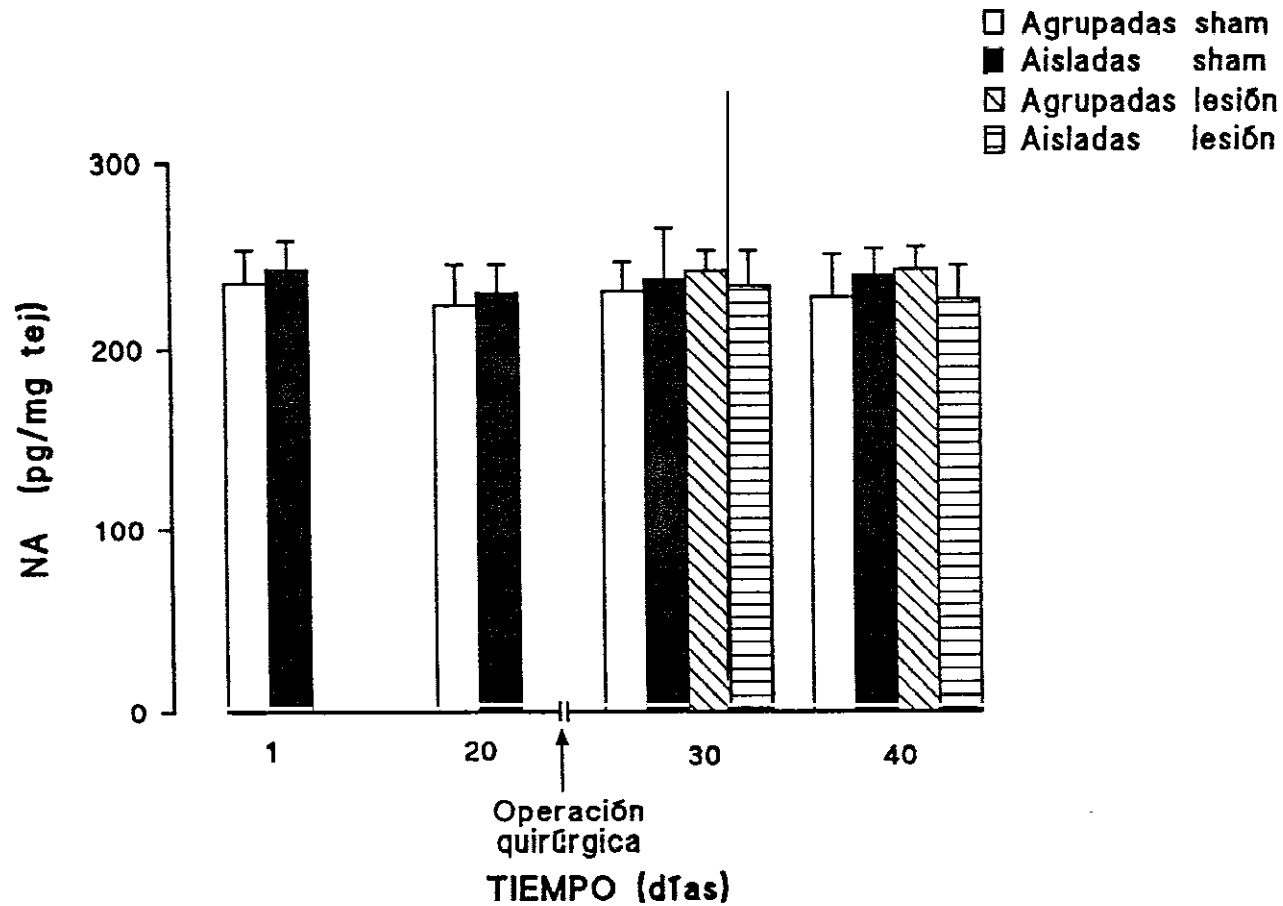


Fig. 39.- Efecto de la lesión con 6-hidroxidopamina del haz noradrenérgico ventral sobre los niveles de noradrenalina en médula espinal de animales sometidos a estrés por deprivación social.

Ratas Wistar jóvenes fueron sometidas a estrés por deprivación social durante 20 días. El día 21 fueron lesionadas mediante la administración de 9 ug/rata de 6-OHDA (Lesión) o vehículo (Sham), prolongando a continuación el aislamiento durante 20 días más. Se llevaron siempre en paralelo los correspondientes animales agrupados sham y lesión. La determinación de los niveles de noradrenalina se efectuó por HPLC 1 y 20 días antes de la lesión y 10 y 20 días después de la misma, que corresponden en la gráfica a los días 30 y 40 de aislamiento. (Para más detalles ver apartado 6.1.2. de métodos). Los datos de la figura se expresan como la media \pm ESM de 8 animales por grupo.

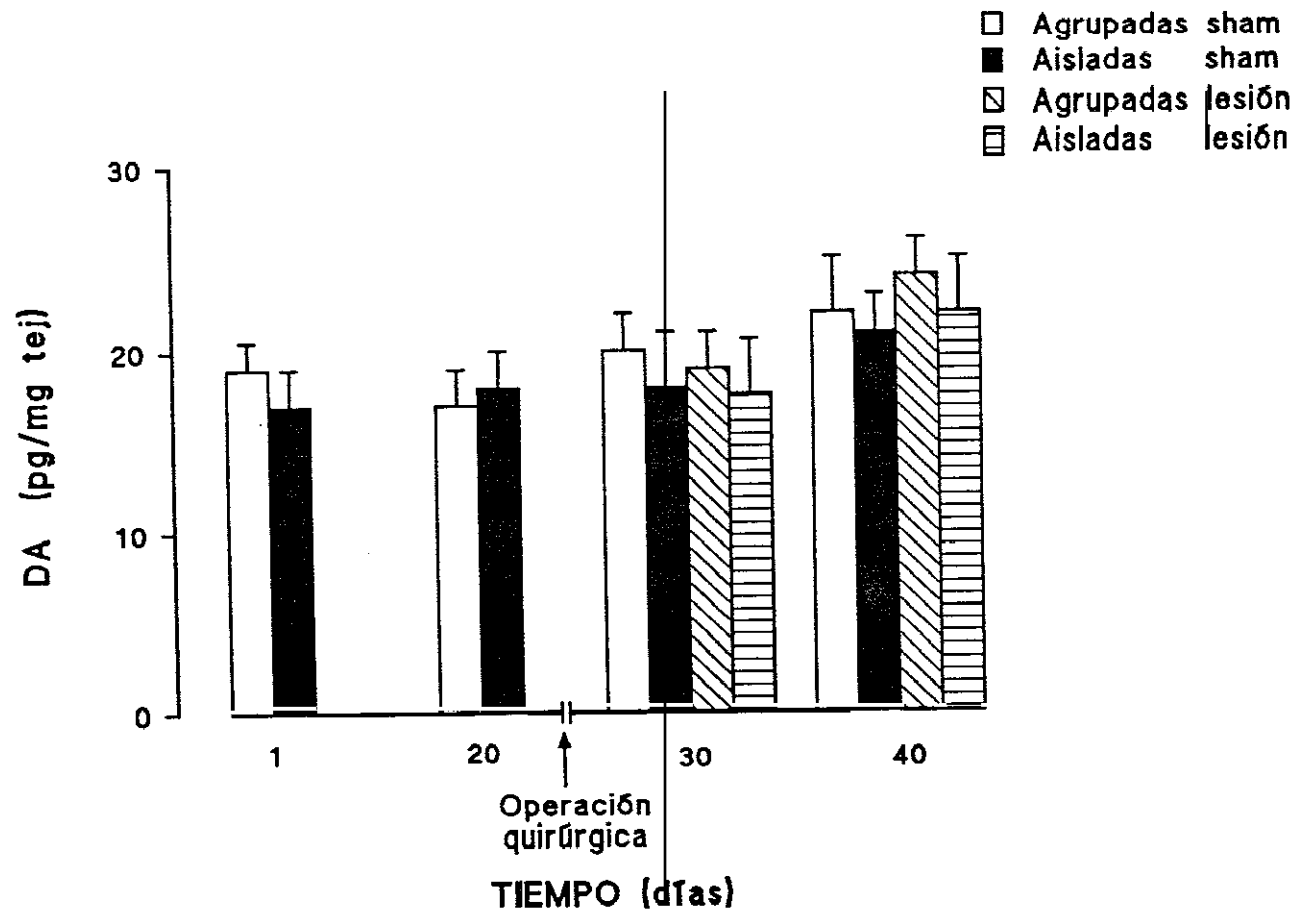


Fig. 40.- Efecto de la lesión con 6-hidroxidopamina del haz noradrenérgico ventral sobre los niveles de dopamina en médula espinal de animales sometidos a estrés por deprivación social.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 39).

3.3.2. Velocidad de renovación de noradrenalina en distintas estructuras

Hipotálamo

Los animales aislados presentaron una disminución significativa de los niveles de MHPG en hipotálamo a los 20 días desde el inicio del aislamiento cuando se comparó con los niveles del metabolito en el grupo de animales agrupados. Esta disminución se mantenía a lo largo del período de aislamiento sin afectarse por el hecho de verse sometidos a la operación quirúrgica (similar a la de los animales lesionados) donde se les administró vehículo (FIG. 41).

Por otro lado, la lesión con 6-OHDA en los animales agrupados indujo una disminución significativa en el contenido del metabolito en esta estructura cerebral manifiesta ya a los 10 días tras la administración de la neurotoxina. En el caso de los animales aislados y lesionados también se observó un descenso en los niveles de MHPG que era estadísticamente significativo cuando se comparó con el valor de los animales aislados sham (FIG. 41).

En cuanto a los niveles de NA que aparecen en la Tabla XII junto a los de su metabolito, sólo la lesión produjo una disminución en el contenido del neurotransmisor manifiesta a partir de los 10 días después de la administración de la neurotoxina tanto en los animales agrupados como aislados.

Bulbo raquídeo

La Tabla XIII muestra conjuntamente los niveles de NA y MHPG en el bulbo raquídeo de los cuatro grupos experimentales considerados, mientras que la Figura 42 representa únicamente los valores del metabolito. No se apreciaron diferencias significativas ni en el contenido de la amina, ni de su metabolito, entre ninguno de los grupos y en ninguno de los tiempos considerados.

Médula espinal

No se observaron variaciones en el contenido de NA, ni de MHPG, en médula espinal antes o después de la lesión, como tampoco en ningún momento del aislamiento de los animales. Estos resultados aparecen conjuntamente en la Tabla XIV y tan sólo los niveles del metabolito se muestran en la Figura 43.

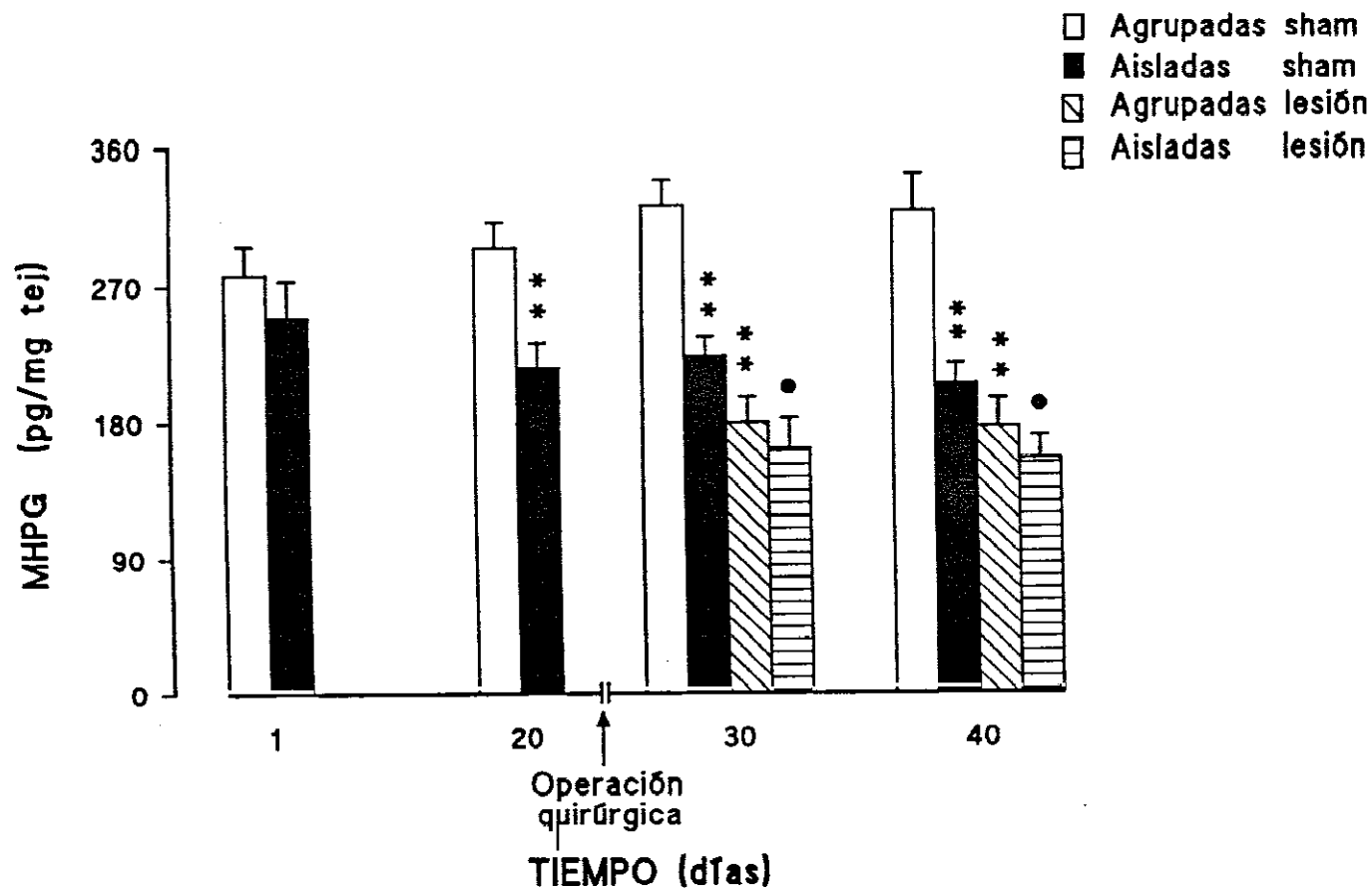


Fig. 41.- Efecto de la lesión con 6-hidroxidopamina del haz noradrenérgico ventral sobre los niveles de MHPG en hipotálamo de animales sometidos a estrés por privación social.

Los animales fueron aislados por un período de 20 días. El día 21 de aislamiento fueron lesionados mediante la inyección de 9 ug/rata de 6-OHDA (Lesión) o vehículo (Sham), prolongando a continuación el aislamiento durante 20 días más. Se llevaron en paralelo los correspondientes animales agrupados sham y lesión. Los niveles de MHPG se determinaron por HPLC 1 y 20 días antes de la lesión y 10 y 20 días después de la misma, que corresponden en la gráfica a los días 30 y 40 de aislamiento. (Para más detalles ver apartado 6.1.2. de métodos). Los datos se expresan como la media \pm ESM de 8 animales por grupo.

** $p < 0.01$ respecto a los valores de los animales agrupados sham; o $p < 0.05$ respecto a los valores de los animales aislados sham (test de la "t" de Student).

TABLA XII

EFFECTO DE LA LESION CON 6-HIDROXIDOPAMINA SOBRE LA VELOCIDAD DE RENOVACION DE NORADRENALINA EN HIPOTALAMO DE ANIMALES AISLADOS HIPERTENSOS

TIEMPO (días)	GRUPO	NA (pg/mg tej)	MHPG
1	Agrupadas	1600 ± 68	277 ± 19
	Aisladas	1572 ± 45	250 ± 23
20	Agrupadas	1678 ± 73	294 ± 17
	Aisladas	1599 ± 64	216 ± 16 **
30	Agrupadas sham	1789 ± 69	322 ± 16
	Aisladas sham	1759 ± 79	224 ± 12 **
	Agrupadas lesión	590 ± 54 **	179 ± 17 **
	Aisladas lesión	540 ± 67 oo	162 ± 20 o
40	Agrupadas sham	1810 ± 88	318 ± 24
	Aisladas sham	1720 ± 92	205 ± 13 **
	Agrupadas lesión	576 ± 49 **	176 ± 19 **
	Aisladas lesión	603 ± 66 oo	155 ± 15 o

Se estudió el efecto de la lesión con 6-OHDA (9 ug/rata) o vehículo en animales sometidos a deprivación social durante 20 días. Después de la lesión, efectuada en el día 21 de aislamiento, los animales permanecieron aislados durante 20 días más. Los niveles de NA y MHPG fueron determinados por HPLC a distintos tiempos antes de la lesión (1 y 12 días de aislamiento) y después de la misma (30 y 40 días de aislamiento), considerando al metabolito de NA como índice de la velocidad de renovación de la amina. Los valores están expresados como la media ± ESM de 8 animales por grupo.

* p<0.05 y ** p<0.01 respecto a los valores de los animales agrupados sham; o p<0.05 y oo p<0.01 respecto a los valores de los animales aislados sham (test de la "t" de Student).

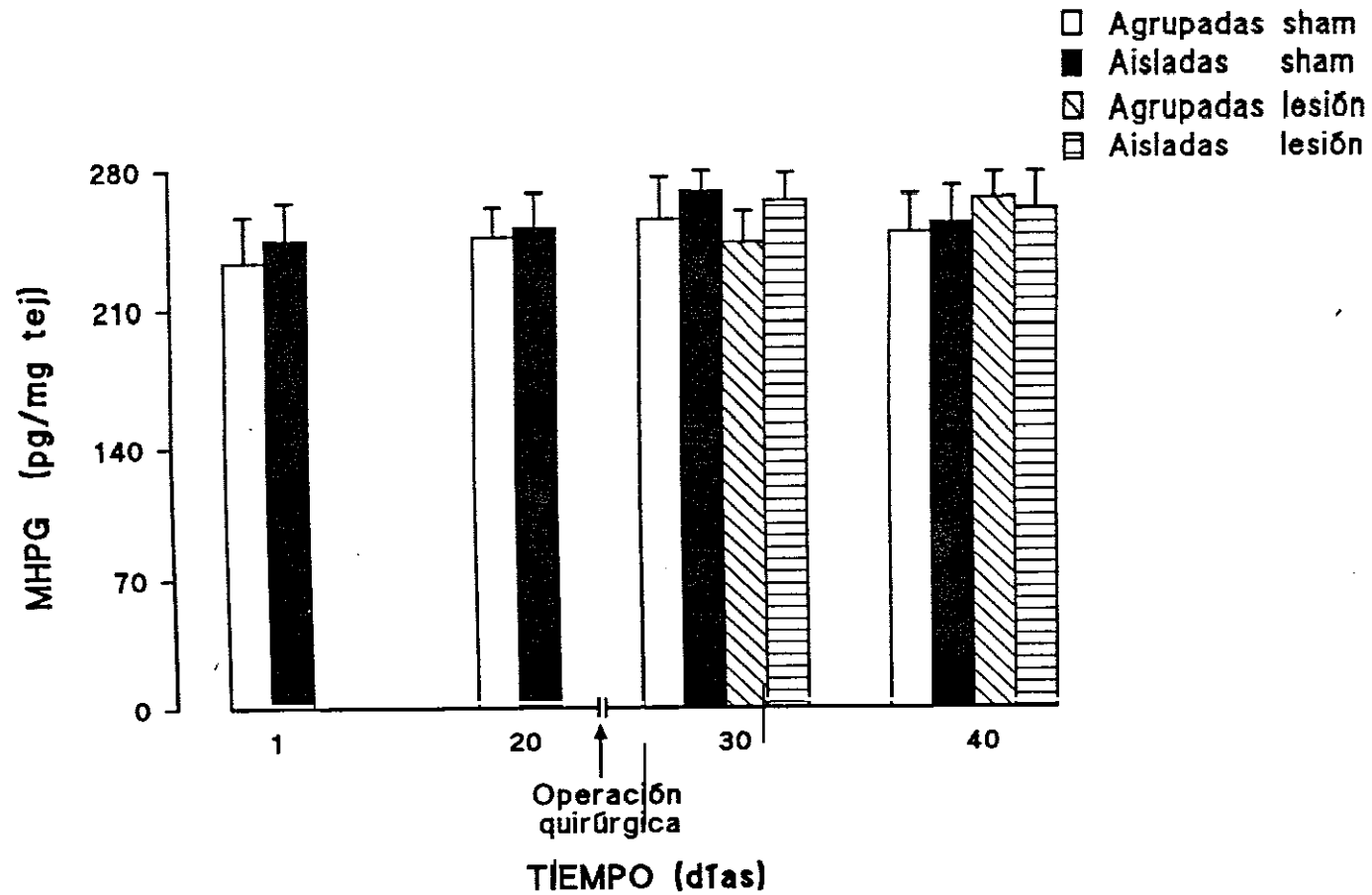


Fig. 42.- Efecto de la lesión con 6-hidroxidopamina del haz noradrenérgico ventral sobre los niveles de MHPG en bulbo raquídeo de animales sometidos a estrés por deprivación social.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 41).

TABLA XIII

EFFECTO DE LA LESION CON 6-HIDROXIDOPAMINA SOBRE LA VELOCIDAD DE RENOVACION DE NORADRENALINA EN BULBO RAQUIDEO DE ANIMALES AISLADOS HIPERTENSOS

TIEMPO (días)	GRUPO	NA (pg/mg tej)	MHPG
1	Agrupadas	660 ± 29	234 ± 23
	Aisladas	654 ± 17	245 ± 19
20	Agrupadas	649 ± 21	246 ± 15
	Aisladas	655 ± 18	251 ± 17
30	Agrupadas sham	612 ± 33	255 ± 21
	Aisladas sham	603 ± 26	269 ± 13
	Agrupadas lesión	654 ± 25	243 ± 16
	Aisladas lesión	661 ± 42	264 ± 23
40	Agrupadas sham	673 ± 24	248 ± 19
	Aisladas sham	680 ± 31	253 ± 18
	Agrupadas lesión	668 ± 27	265 ± 13
	Aisladas lesión	674 ± 20	260 ± 22

(Ver leyenda de la Tabla XII para detalles metodológicos).

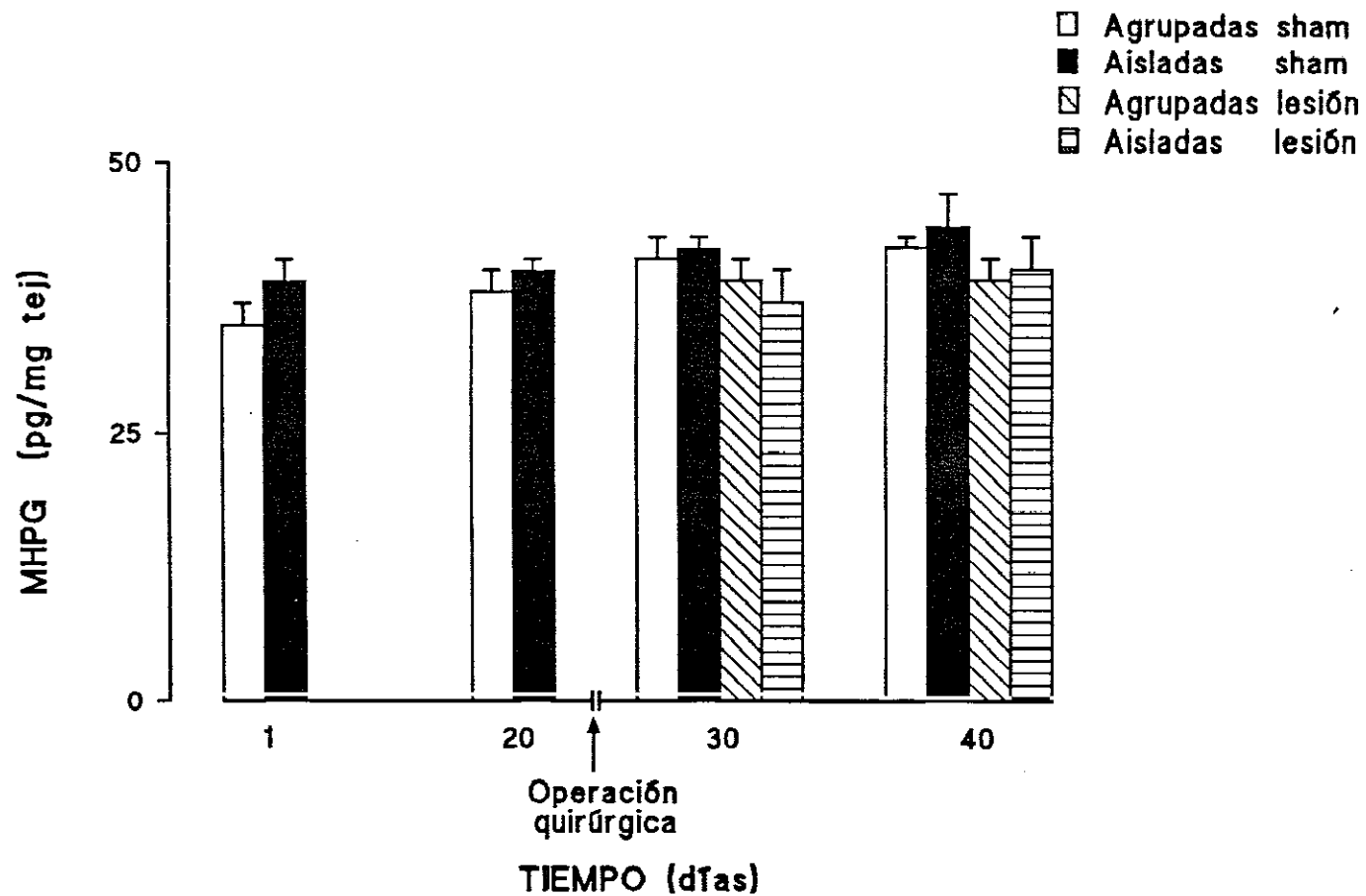


Fig. 43.- Efecto de la lesión con 6-hidroxidopamina del haz noradrenérgico ventral sobre los niveles de MHPG en médula espinal de animales sometidos a estrés por deprivación social.

(Para detalles metodológicos ver leyenda de la Figura 41).

TABLA XIV

EFFECTO DE LA LESION CON 6-HIDROXIDOPAMINA SOBRE LA VELOCIDAD DE RENOVACION DE NORADRENALINA EN MEDULA ESPINAL DE ANIMALES AISLADOS HIPERTENSOS

TIEMPO (días)	GRUPO	NA (pg/mg tej)	MHPG
1	Agrupadas	235 ± 18	35 ± 2
	Aisladas	243 ± 15	39 ± 2
20	Agrupadas	223 ± 22	38 ± 2
	Aisladas	230 ± 15	40 ± 1
30	Agrupadas sham	230 ± 16	41 ± 2
	Aisladas sham	237 ± 27	42 ± 1
	Agrupadas lesión	241 ± 11	39 ± 2
	Aisladas lesión	233 ± 19	37 ± 3
40	Agrupadas sham	227 ± 23	42 ± 1
	Aisladas sham	239 ± 14	44 ± 3
	Agrupadas lesión	242 ± 12	39 ± 2
	Aisladas lesión	226 ± 18	40 ± 3

(Ver leyenda de la Tabla XII para detalles metodológicos).

DISCUSSION

1. CARACTERIZACION DE LA RESPUESTA HIPERTENSIVA EN EL MODELO DE DEPRIVACION SOCIAL Y VALIDACION DEL MISMO COMO MODELO DE ESTRES

La premisa inicial en este estudio sobre los mecanismos catecolaminérgicos centrales implicados en los efectos cardiovasculares inducidos por privación social fue la conveniente caracterización del modelo experimental elegido.

Así, en primer lugar, se procedió a determinar la respuesta hipertensiva inducida por privación social, replicando los hallazgos de Naranjo y Fuentes (1985) quienes observaron que el aislamiento de ratas jóvenes producía un incremento de la presión arterial sistólica. Efectivamente, los animales jóvenes privados socialmente presentaron lecturas elevadas no solamente de la presión arterial sistólica, sino también de la presión arterial diastólica, incremento que alcanzó valores máximos y prácticamente estables en la tercera semana de aislamiento.

La discrepancia de nuestros resultados y los de Naranjo y Fuentes (1985) en relación a la frecuencia cardíaca, que no se ve modificada durante el período en que los animales fueron sometidos a privación social en este trabajo, puede estar fundamentada en las distintas estirpes de ratas Wistar empleadas en cada caso y, consecuentemente, en la diferente reactividad de cada una de ellas al someterse a la misma situación. De acuerdo con la hipótesis anterior, algunos autores han explicado la diversidad de las respuestas observadas para distintos grupos de ratas SHR y ratas Sprague-Dawley ante un mismo estímulo en función de las características genéticas propias de cada grupo animal (Trippodo y Frohlich, 1981).

En una segunda aproximación al modelo de privación social, se trató de validar dicho paradigma experimental como modelo de estrés.

Definir con precisión marcadores biológicos para el estrés entraña una gran dificultad debido a la especificidad del efecto que produce cada modelo sobre los distintos parámetros fisiológicos. A pesar de ello, es cierto que en todos los casos se verifica una activación del eje HHA (Selye, 1976; Reisine, 1986) que conlleva, en último término, un aumento de los niveles de GC circulantes. En este sentido, se encuentran los trabajos de Takahashi y cols. (1992), Vogel y Jensh (1988) y Natelson y cols. (1981) indicando que, mientras los niveles de catecolaminas plasmáticas expresan la intensidad del estrés percibido cuando la naturaleza de aquél es aguda, la concentración de corticosterona en plasma refleja más adecuadamente la magnitud del estrés cuando éste presenta un carácter crónico o semicrónico. Por lo tanto, estaría justificada la determinación de corticosterona plasmática como índice del estrés inducido por privación social.

Así, los niveles plasmáticos de corticosterona se elevaron de manera significativa como consecuencia del aislamiento, coincidiendo con las observaciones de Bennet y Gardiner (1978) empleando el mismo modelo experimental en ratas adultas. Sin embargo, las variaciones detectadas en los niveles de corticosterona plasmáticos aunque significativas son, en nuestro caso, sensiblemente inferiores a las descritas por aquellos autores. Estas diferencias podrían explicarse en función de la distinta edad de los animales empleados o de la hora del día a la que se efectuó la toma de muestras, ya que puede modificar de forma radical los resultados debido al ritmo circadiano de la corticosterona (Shimoda y cols., 1988). Cabe también la posibilidad de que se trate de diferencias metodológicas del radioinmunoensayo empleado en cada caso.

2. MODIFICACION DE LA ACTIVIDAD NORADRENERGICA CENTRAL EN EL TRANCURSO DEL ESTRES POR DEPRIVACION SOCIAL

Son numerosos los estudios que revelan modificaciones de la actividad de las neuronas catecolaminérgicas en respuesta a una gran variedad de estímulos estresantes. Con esta premisa, y conocida la manifiesta contribución de las catecolaminas en la regulación cardiovascular, se planteaba la posibilidad de que la respuesta hipertensiva observada en el transcurso del estrés por privación social estuviera mediada por alteraciones de la transmisión catecolaminérgica en el SNC.

En nuestras condiciones experimentales, la modificación más relevante encontrada después de someter a los animales al modelo de privación social fue una disminución del tono noradrenérgico hipotalámico, reflejado por el descenso de los niveles del metabolito de NA (MHPG) en esta estructura a los 20 días desde el inicio del aislamiento. Tanto el sistema adrenérgico como dopaminérgico no se modificó en el transcurso del estrés en ninguna de las estructuras analizadas.

Si la mencionada variación en el tono noradrenérgico durante el aislamiento está correlacionada con el aumento de la PA es, por el momento, sólo una hipótesis, puesto que también es posible que dicha variación sea reflejo de otros eventos fisiológicos que acompañan al estrés (Weiss y cols., 1989) y que han sido asociados, igualmente, con modificaciones del tono catecolaminérgico central. Esta consideración alcanza mayor relevancia al tratarse del hipotálamo, región cerebral que juega un papel fundamental en la coordinación de las respuestas comportamentales y neuroendocrinas (Swanson y Sawchenko, 1983). Por el contrario, el bulbo raquídeo y la médula espinal, son zonas que desempeñan, casi exclusivamente, funciones autónomas, como el control cardiovascular, sin aparentes implicaciones en el funcionalismo endocrino.

La reducción de la velocidad de renovación de NA en hipotálamo que se observa en las ratas aisladas coincide con los resultados obtenidos para otros modelos experimentales de hipertensión. Así, Sautel y cols. (1988a) encontraron una disminución de la actividad de este sistema de neurotransmisión en diferentes núcleos hipotalámicos de ratas genéticamente hipertensas de la raza Lyon, resultados que son coincidentes con los de Wijnen y cols. (1980) en ratas SHR.

Mitchell y Lawler (1989) han sugerido, del mismo modo, la participación del sistema noradrenérgico hipotalámico en la génesis de la hipertensión, al observar que ratas BHR (con hipertensión lábil y sometidas a un modelo de estrés que previamente se había demostrado inducía una elevación de la PA) presentaban una disminución de la velocidad de renovación de NA en los núcleos ventromedial y paraventricular del hipotálamo.

Parece ser que la reducida actividad de las terminales noradrenérgicas en la región anterior hipotalámica en los casos antes mencionados podría estar estrechamente relacionada con el desarrollo de la hipertensión, ya que a esta zona se le atribuye una función vasodepresora (Philippu y cols., 1979) y, al mismo tiempo, moduladora del reflejo barorreceptor (Hilton y Spyer, 1977) por medio de la estimulación de receptores alfa-adrenérgicos a través de la liberación local de NA (Sautel y cols., 1988b).

Igualmente, se ha encontrado una disminución de la velocidad de renovación de NA asociada a otros modelos experimentales de hipertensión no genéticos. Tal es el caso de De Champlain y Van Amerigen (1981) en ratas DOCA-sal y de Wijnen y cols. (1980) en ratas con hipertensión renal.

Es preciso señalar que, por el contrario, durante el estrés agudo suele verificarse una activación del sistema noradrenérgico en distintas regiones cerebrales, necesaria para responder a las demandas más inmediatas del organismo (Dunn, 1988).

En relación a la inalterabilidad de la actividad adrenérgica y dopaminérgica hipotalámica se encuentran los resultados de Fuxe y cols. (1975) en ratas SHR respecto a sus controles WKY. Al mismo tiempo, la ausencia de efecto sobre este último sistema de neurotransmisión en nuestro modelo no excluiría, totalmente, su participación en el desarrollo de la hipertensión. Las terminales dopaminérgicas en el hipotálamo no sólo desempeñan funciones vasculares, sino también comportamentales y neuroendocrinas (Hökfelt y cols., 1973), que están patentes en el transcurso del estrés, y que podrían contrarrestar el efecto cardiovascular intrínseco de las mismas.

Analizando los resultados en las otras dos estructuras, bulbo raquídeo y médula espinal, es posible que la similitud encontrada en los diferentes sistemas catecolaminérgicos considerados entre animales aislados y agrupados no refleje, exactamente, la refractariedad de dichos sistemas ante el estrés. Puede ser que, debido a la disposición de los neurotransmisores en diferentes núcleos dentro de estas regiones, la ausencia aparente de efecto represente el resultado neto de la activación o inhibición simultánea de diversas poblaciones, cuyos efectos, por lo que se refiere al control cardiovascular, sean contrapuestos (Patel y Schmid, 1987; Reis y cols., 1987). Esto sucedería, por ejemplo, en el caso de las poblaciones noradrenérgicas del bulbo raquídeo A1 en la CVLB y A2 en el NTS, así como para las poblaciones adrenérgicas C2 y C1 localizadas en esta misma región cerebral (Louis y cols., 1987).

3. EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE 6-HIDROXIDOPAMINA EN EL HAZ NORADRENERGICO VENTRAL SOBRE LOS SISTEMAS CATECOLAMINERGICOS CENTRALES

Parece necesario, antes de valorar las consecuencias de la administración de la neurotoxina sobre los sistemas catecolaminérgicos centrales, justificar el empleo de 6-OHDA, así como la elección del HNV para su administración, como aproximación farmacológica que nos permitiera confirmar la hipótesis de trabajo planteada al inicio de este estudio.

La importancia de la 6-OHDA como agente neurotóxico radica en que este análogo de NA dirige sus acciones citotóxicas selectivamente, al acumularse con exclusividad en neuronas catecolaminérgicas. Este hecho ha permitido que sea una de las herramientas de trabajo más utilizadas en la investigación básica de la función de los sistemas de neurotransmisión monoaminérgicos en la regulación cardiovascular, comportamental o endocrina (Van den Buuse y cols., 1984; Cole y Robins, 1987; Haas y George, 1989).

Son numerosos los trabajos que utilizan 6-OHDA en el estudio de los mecanismos patogénicos que originan un aumento de la PA en diferentes modelos de hipertensión animal. En relación a lo anteriormente expuesto encontramos los trabajos de Dargie y cols. (1976) en ratas con hipertensión renovascular, donde la administración intracisternal de 6-OHDA previene la elevación de la PA y el incremento de los niveles de NA plasmáticos característicos de este modelo de hipertensión. Del mismo modo, Van den Buuse y cols. (1986) observaron que la lesión con esta misma neurotoxina atenúa el desarrollo de la hipertensión en ratas espontáneamente hipertensas.

La relevancia cardiovascular de las vías noradrenérgicas ascendentes está basada en la profunda inervación que estructuras tales como el hipotálamo o la corteza cerebral reciben desde neuronas noradrenérgicas situadas en regiones pontino-bulbares (Lindvall y Björklund, 1974). Del mismo modo, núcleos hipotalámicos proyectan densamente al NTS donde tiene lugar la primera sinapsis de las aferencias barorreceptoras (Palkovits 1980). De esta manera, áreas implicadas en la regulación básica del sistema cardiovascular están ligadas a centros relacionados con las respuestas comportamentales, emocionales y hormonales frente a estímulos ambientales (Korner y cols., 1972; Van den Buuse, 1990).

Teniendo en cuenta estas consideraciones, la elección del HNV como lugar de administración de la neurotoxina se realizó en base a que este tracto ascendente proporciona la principal inervación noradrenérgica del hipotálamo desde grupos celulares situados en regiones pontino-bulbares de reconocida participación en la regulación cardiovascular (Ungerstedt, 1971) y, asimismo, el hipotálamo es una estructura cuya intervención en muchas de las respuestas fisiológicas al estrés no admite ninguna duda (Swanson y Sawchenko, 1983; Spyer, 1989).

En general, existe una buena correlación entre la reducción en el contenido de catecolaminas y la acción degenerativa de la neurotoxina a nivel central como periférico (Kostrzewa y Jacobowitz, 1974; Sudo, 1985), de tal modo que los niveles de aminas pueden ser considerados un buen índice bioquímico del grado de la lesión ocasionada por 6-OHDA (Jonsson, 1980).

La administración de la neurotoxina produce una disminución del contenido hipotalámico de NA y de su metabolito MHPG, así como de AD a partir de los 12 días, sin originar ninguna modificación en la actividad de estos dos sistemas de neurotransmisión en el bulbo raquídeo, ni en la médula espinal. De modo análogo, los niveles de DA tampoco se modifican por efecto de la lesión en ninguna de las estructuras analizadas.

La inervación noradrenérgica hipotalámica se origina en grupos celulares del bulbo raquídeo que corren, preferentemente, a través del HNV (Palkovits, 1981). Las lesiones con 6-OHDA en este tracto noradrenérgico provocan una disminución de los niveles de NA hipotalámica (Mitchell y cols., 1990; Cole y Robbins, 1987), manteniendo intacta la inervación dopaminérgica. Ello concuerda perfectamente con nuestros resultados, donde encontramos tras la lesión una disminución en el contenido de NA en el hipotálamo (70%), mientras que los niveles de DA no se ven modificados.

Paralelamente, la pérdida de neuronas noradrenérgicas, así como la posible alteración de las enzimas de síntesis y, tal vez, del metabolismo de esta monoamina por efecto de la neurotoxina, originan también una disminución en la velocidad de renovación de NA tras la administración de 6-OHDA, que viene reflejada por los niveles de su principal metabolito: MHPG (Kostrzewa y Jacobowitz, 1974).

Por otro lado, se han encontrado evidencias sobre la existencia de un tracto adrenérgico que ascendería desde la región C1 bulbar enviando proyecciones hacia el hipotálamo (Fuller, 1982). La estimulación eléctrica de esta región aumenta la liberación de AD hipotalámica, mientras que la estimulación cercana, pero fuera de ella, no afectaría a la liberación de catecolaminas en el hipotálamo (Ward-Routledge y Marsden, 1988). Así, en nuestro caso, la administración de 6-OHDA en el HNV produce una marcada disminución de los niveles de AD hipotalámica que podría deberse a un deterioro simultáneo ocasionado a dichas proyecciones adrenérgicas al efectuarse la lesión.

Bajo nuestras condiciones experimentales, la lesión con 6-OHDA no tiene efecto sobre los niveles de catecolaminas en el bulbo raquídeo. Para explicar esta falta de degeneración retrógrada, se puede especular que el período en el que se ha llevado a cabo el seguimiento de las variaciones bioquímicas consecuencia de la lesión con 6-OHDA sea insuficiente para observar dichas alteraciones ya que, según algunos autores, parece ser que este proceso en el SNC es lento y progresivo, y los cuerpos celulares no se degeneran hasta varios meses después de la administración de la neurotoxina (Thoenen y Tranzer, 1973).

4. IMPLICACION DEL SISTEMA NORADRENERGICO CENTRAL EN LA RESPUESTA HIPERTENSIVA AL ESTRES POR DEPRIVACION SOCIAL

4.1. PREVENCIÓN DE LA RESPUESTA HIPERTENSIVA INDUCIDA POR DEPRIVACION SOCIAL EN ANIMALES LESIONADOS EN EL HAZ NORADRENERGICO VENTRAL

El papel del sistema noradrenérgico central en el desarrollo de la respuesta hipertensiva al estrés por privación social se puso de manifiesto mediante la lesión del HNV por administración de 6-OHDA previa al aislamiento.

La administración de la neurotoxina induce un descenso en los niveles hipotalámicos de NA, AD y MHPG, sin que se observaran alteraciones en esos mismos sistemas en las demás regiones analizadas, así como tampoco en los niveles de DA. Esta reducción en el contenido de catecolaminas centrales está de acuerdo con el proceso degenerativo ocasionado por la neurotoxina (Sudo, 1985).

Los animales lesionados y aislados son incapaces de generar la respuesta hipertensiva, en contraposición a lo que ocurre en la rata con su SNC intacto que registra lecturas elevadas de la PA sistólica y diastólica a partir de los 12 días de aislamiento continuado.

Por tanto, la integridad del HNV parece ser crítica para el desarrollo de la respuesta hipertensiva inducida por privación social. De acuerdo con este hecho, la destrucción de terminales nerviosas catecolaminérgicas en el hipotálamo por 6-OHDA no altera la presión arterial basal pero si antagoniza la elevación de la PA provocada por estimulación eléctrica (Przuntek y cols., 1971).

Cabe añadir aquí que para el caso de la rata SHR se ha puesto de manifiesto que la lesión intracerebroventricular (i.c.v.) con 6-OHDA previene el desarrollo de la hipertensión (Erinoff y cols., 1975; Kubo y Hashimoto, 1978). Contrariamente, cuando la lesión se efectúa por microinyección de la neurotoxina en las principales bandas noradrenérgicas ascendentes ventral y dorsal, el desarrollo de la hipertensión no se ve afectado por la lesión (Van de Buuse y cols., 1984). Las diferencias pueden deberse al efecto de la neurotoxina sobre los distintos sistemas catecolaminérgicos según la vía de administración utilizada en cada caso. Mientras que la administración local de 6-OHDA produce la destrucción de NA, en el caso de la ruta i.c.v. también se afectan los sistemas DA y AD.

En conclusión podemos afirmar que, mientras que en la respuesta hipertensiva al estrés la inervación prosencefálica noradrenérgica parece ser trascendente, en cambio no desempeña el mismo papel preponderante en otros modelos de hipertensión no relacionados con la aplicación de un estímulo aversivo.

4.2. INALTERABILIDAD DE LA PRESION ARTERIAL POR LA LESION DEL HAZ NORADRENERGICO VENTRAL EN ANIMALES HIPERTENSOS POR DEPRIVACION SOCIAL

Con el fin de determinar si la integridad del HNV era crítica no sólo en el desarrollo, sino también en el mantenimiento de la respuesta hipertensiva inducida por privación social se procedió a lesionar con 6-OHDA animales privados socialmente por un período de tiempo de 20 días que ya hubieran desarrollado la respuesta hipertensiva característica de este modelo de estrés.

La administración de la neurotoxina produce una disminución de los niveles hipotalámicos de NA, MHPG y AD transcurridos 10 días de la lesión, sin observarse modificaciones en estos sistemas de neurotransmisión, así como tampoco en los niveles de DA, en ninguna de las otras dos estructuras analizadas. Las modificaciones encontradas en los sistemas catecolaminérgicos centrales son similares a las registradas cuando la lesión era previa a la privación social, indicando una estrecha correlación entre las alteraciones bioquímicas observadas y la administración de la neurotoxina.

Las lecturas de PA, tanto sistólica como diastólica, se mantienen elevadas en el caso de que la lesión suceda al aislamiento, contrariamente a lo que sucedía cuando los animales eran lesionados antes de la aplicación del modelo de estrés.

Hausler y cols. (1972a, 1972b) obtuvieron unos resultados muy similares en ratas SHR. Así, la inyección de 6-OHDA en ratas espontáneamente hipertensas antes del desarrollo de la hipertensión prevenía la progresiva elevación de la PA, mientras que la administración de la neurotoxina en ratas adultas SHR con hipertensión establecida causaba solamente una caída de PA de carácter transitorio y débil. Un efecto preventivo, análogo al mencionado, ha sido observado por diferentes investigadores en otro tipo de ratas hipertensas (Ikeda y cols., 1976; Clark y cols., 1972).

El análisis de los últimos resultados expuestos sugiere que el HNV puede desempeñar un papel en el inicio, pero no en el mantenimiento, de la hipertensión observada en el transcurso del estrés por privación social. De este modo, los mecanismos centrales regidos por neuronas monoaminérgicas son importantes, al menos en parte, en el desarrollo de dicha respuesta hipertensiva. No obstante, el mantenimiento de las lecturas elevadas de PA dependería de otros procesos, tal vez periféricos, que se activarían en un segundo lugar, permitiendo que el estado hipertensivo persistiera en el tiempo.

5. CORRELACION ENTRE LA VARIACION DE LA PRESION ARTERIAL Y LA MODIFICACION DE LA ACTIVIDAD NORADRENERGICA CENTRAL INMEDIATAMENTE DESPUES DE LA ADMINISTRACION DE 6-HIDROXIDOPAMINA EN EL HAZ NORADRENERGICO VENTRAL

Cuando lesionamos el HNV en animales jóvenes observamos que se producía un estado hipertensivo transitorio a las 24 horas después de la administración de la neurotoxina, recuperándose las lecturas basales de PA sistólica y diastólica en un espacio breve de tiempo (3-4 días). Dicho incremento de PA era efecto directo de la lesión y no del aislamiento, ya que se presentaba en animales lesionados, tanto agrupados como aislados, y no tenía lugar en los animales sometidos a la operación ficticia (Sham).

Por otro lado, las variaciones en la neurotransmisión noradrenérgica central ocasionadas por la administración de 6-OHDA, a las que se ha hecho alusión en los apartados anteriores, no se podían correlacionar con la modificación en la PA un día después de la inyección de la neurotoxina puesto que no existía simultaneidad temporal entre ambos sucesos.

Sin embargo, se encontraron algunos cambios en la actividad noradrenérgica central se encontraron en ese mismo período de tiempo en dos de las estructuras analizadas. El aumento de los niveles del metabolito de NA (MHPG) en bulbo raquídeo y médula espinal sí parecía poder estar sintonizado con la elevación de la PA que acontecía en ese mismo momento.

Resulta difícil el determinar si el aumento del tono noradrenérgico observado en estas estructuras es causa o consecuencia del estado hipertensivo transitorio. Nomura y Okamura (1989) describen que los niveles de MHPG en el bulbo raquídeo son más elevados en ratas SHR que en sus controles normotensos WKY, correlacionando la alteración de este parámetro bioquímico en dicha región cerebral con la hipertensión que presentan las ratas SHR.

En otro modelo experimental de hipertensión, Shalita y cols. (1982) relacionan, de nuevo, el aumento de la velocidad de recambio de NA en bulbo raquídeo con las lecturas elevadas de presión arterial manifiesta en las ratas DOCA-sal.

En cuanto a la médula espinal, algunos autores han descrito un incremento de la actividad noradrenérgica en esta estructura en animales genéticamente hipertensos, sugiriendo su implicación, de algún modo, en el desarrollo de la hipertensión en estos animales (Howe y cols., 1981).

Nuestros resultados, de acuerdo con lo anterior, permitirían especular que el incremento de la actividad noradrenérgica en el bulbo raquídeo y en la médula espinal pudiera constituir el suceso final que en el SNC contribuiría al desencadenamiento de ese estado hipertensivo efímero.

CONCLUSIONES

1.- Los animales jóvenes privados socialmente presentan lecturas elevadas de presión arterial sistólica y diastólica. Desde el punto de vista neuroquímico, el estrés por privación social produce una disminución de la actividad noradrenérgica hipotalámica, que se refleja en un descenso en los niveles del metabolito de noradrenalina (MHPG), hecho probablemente relacionado con el incremento de la presión arterial manifiesto en los animales aislados.

2.- La respuesta hipertensiva generada en animales jóvenes sometidos a estrés por privación social no se desarrolla en ratas previamente lesionadas en el haz noradrenérgico ventral con 6-hidroxidopamina. Tal circunstancia denota el papel crítico desempeñado por esta vía noradrenérgica central en la generación del estado hipertensivo durante el aislamiento.

3.- Los animales privados socialmente e hipertensos no modifican las lecturas elevadas de presión arterial sistólica y diastólica por efecto de la lesión en el haz noradrenérgico ventral con 6-hidroxidopamina. Por lo tanto, este tracto noradrenérgico no parece ser imprescindible en el mantenimiento de la respuesta hipertensiva inducida por privación social.

4.- La administración de la neurotoxina 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral origina alteraciones en la presión arterial de animales normotensos, modificación que se traduce en un estado hipertensivo transitorio manifiesto 24 horas después de la inyección de la neurotoxina.

5.- El aumento directo e inmediato de la presión arterial por administración de 6-hidroxidopamina en el haz noradrenérgico ventral podría correlacionarse con el incremento de la actividad noradrenérgica observado en el bulbo raquídeo y en la médula espinal, constituyendo el suceso final que en el SNC contribuiría a desencadenar ese estado hipertensivo efímero.

BIBLIOGRAFIA

AHLQUIST, R.P. (1948). "A study of the adrenotropic receptors". *Amer. J. Physiol.*: 513, 586.

ALEXANDER, N., NAKAHURA, D., OZAKI, N., KANEDA, N., SASAOKA, T., IWATA, N. NAGATSU, T. (1988). "Striatal dopamine release and metabolism in sinoaortic-denervated rats by in vivo microdialysis". *Am. J. Physiol.*: 254, R396.

ARMARIO, A., CASTELLANOS, J.M. y BALASCH, J. (1981). "Chronic and acute stress interrelationship corticosterone response". *Horm. Metab. Res.*: 13, 413.

ARMARIO, A. y CASTELLANOS, J.M. (1984). "A simple procedure for direct corticosterone radioimmunoassay in the rat". *Rev. Esp. Fisiol.*: 40, 437.

ARMARIO, A. ORTIZ, R. y BALASCH, J. (1984). "Effect of crowding on some physiological and behavioural variables in adult male rats". *Physiol. Behav.*: 32, 35.

ARTIGAS, F., SARRIAS, M.J., ADELL, A. y GELPI, E. (1986). "Quantification of total MHPG in the rat brain using a non enzymatic hydrolysis procedure. Effects of drugs". *Life Sci.*: 39, 1571.

AXEROLD, J. y REISINE, T.D. (1984) "Stress hormones: their interaction and regulation". *Science*: 224, 452.

BENARROCH, E.E., GRANATA, A.R., RUGGIERO, D.A., PARK, D.H. y REIS, D.J. (1986). "Neurons of the C1 area mediate cardiovascular responses initiated from the ventral medullare surface". *Am. J. Physiol. (Regulatory)*: 250, R932.

BENNET, T. y GARDINER, S.M. (1978). "Corticosteroid involvement in the changes in noradrenergic responsiveness of tissues from rats made hypertensive by short-isolation". *Br. J. Pharmacol.*: 64, 129.

BIANCHI, G., TENCONI, L.T. y LUCCA, R. (1970). "Effect in the conscious dog of constriction of the renal artery to a sole remaining kidney on hemodynamics, sodium balance, body fluid volumes, plasma renin concentration and pressor responsiveness to angiotensin". *Clin. Sci.*: 38, 741.

BJORKLUND, A. y NOBIN, A. (1973). "Histochemical and microspectrofluorometric mapping of dopamine and noradrenaline cell groups in the rat diencephalon". *Brain Res.*: 51, 193.

- BLAUSTEIN, M.P. (1984). "Sodium transport and hypertension. Where are we going?". *Hypertension*: 6, 445.
- BLESSING, W.W. y REIS, D.J. (1982). "Inhibitory cardiovascular function of neurons in the caudal ventrolateral medulla of the rabbit: relationship to the area containing A1 noradrenergic cells". *Brain Res.*: 253, 161.
- BLISS, E.L., AILION, J. y ZWANZIGER, J. (1968). "Metabolism of norepinephrine, serotonin and dopamine in rat brain with stress". *J. Pharmacol. Exp. Ther.*: 164, 122.
- BONHAM, A.C. y JESKE, I. (1989). "Cardiorespiratory effects of DL-homocysteic acid in the caudal ventrolateral medulla". *Am. J. Physiol.*: 256, H688.
- BRAIN, P. (1985). "What does individual housing mean to a mouse?". *Life Sci.*: 16, 187.
- BRODIE, D.A. y HANSON, H.M. (1960). "A study of factors involved in the production of gastric ulcers by the restraint technique". *Gastroenterology*: 38, 353.
- BRODY, M.J. (1986). "Central nervous system mechanisms of arterial pressure regulation". *Federation Proc.*: 45, 2700.
- BRODY, M.J., NATELSON, B.H., ANDERSON, E.A., FOLKOW, B. (1987). "Behavioral mechanisms in hypertension". *Circulation*: 76, 95.
- BUÑAG, R.D. (1973). "Validation in awake rats of a tail-cuff method for measuring systolic pressure". *J. Appl. Physiol.*: 34, 279.
- CANALDA, G. (1988). "Estrés y psicopatología infantil". *Rev. Psiquiatr. Fac. Med. (Barc)*: 15, 225.
- CANNON, W.B. (1914). "The emergency function of the adrenal medulla in pain and the major emotions". *Amer. J. Physiol.*: 33, 356.
- CANNON, W.B. (1935). "Stress and strains of homeostasis". *Amer. J. Med. Sci.*: 189, 1.
- CEASAR, P.M., HAGUE, P., SHARMAN, D.F. y WERDINIUS, B. (1974). "Studies on the metabolism of catecholamines in the central nervous system of the mouse". *Br. J. Pharmacol.*: 51, 187.

CLARK, D.W.J., LAVERTY, R. y PHELAN, E.L. (1972). "Long-lasting peripheral and central effects of 6-hydroxydopamine in rats" *Brit. J. Pharmacol.*: 44, 233.

COBB, S. y ROSE, R.M. (1973). "Hypertension, peptic ulcer and diabetes in air traffic controllers". *JAMA*: 224, 489.

COLE, B.J. y ROBBINS, T.W. (1987). "Dissociable effects of lesions to the dorsal or ventral noradrenergic bundle on the acquisition, performance and extinction of aversive conditioning". *Behav. Neurosc.*: 101, 476.

CONNELL, J.M.C. (1986). "Essential hypertension: rational pharmacotherapy". *Trends Pharmacol. Sci.*: 7, 412.

COOPER, J.R., BLOOM, F.E. y ROTH, R.H. (1986). "The Biochemical Basis of Neuropharmacology". Oxford University Press, Nueva York.

CROSS, A.J. y OWEN, F. (1989). "Dopamine receptors". En: *Neurotransmitters, Drugs and Disease*. R.A. Webster y C.C. Jordan (eds.). Blackwell Scientific Publications, Oxford. p 126.

DAHLSTROM, A. y FUXE, K. (1964). "Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system". *Acta Physiol. Scand.*: 62, 1.

DARGIE, H.J., FRANKLIN, S.C. y REID, J.L. (1976). "The sympathetic nervous system and renovascular hypertension in the rat". *Brit. J. Pharmacol.*: 56, 365.

DE CHAMPLAIN, J. y VAN AMERINGEN, M.R. (1981). "Evidence for the participation of central noradrenergic mechanisms in DOCA-sodium hypertension in the rat". En: *Central Nervous System in Hypertension*. J.P. Buckley y C.M. Ferrario (eds.). Raven Press, Nueva York. p141.

DE JONG, W. y NIJKAMP, F.P. (1976). "Centrally induced hypotension and bradycardia after administration of alpha-methylnoradrenaline into the area of the nucleus tractus solitarii of the rat". *Br. J. Pharmacol.*: 58, 593.

DE JONG, W., ZANDBERG, P. y VERSTEEG, D.H.G. (1980). "Catecholamines of the nucleus tractus solitarii and blood pressure regulation". En: *Central Adrenaline Neurons; Basic Aspects and their Role in Cardiovascular Functions*. K. Fuxe, M. Goldstein, B. Hökfelt y T. Hökfelt (eds.). Pergamon Press, Oxford. p 151.

- DE WARDENER, H.E., MacGREGOR, G.A., CLARKSON, E.M. (1981). "Effect of sodium intake on ability of human plasma to inhibit Na⁺-K⁺-adenosine triphosphatase in vitro". *Lancet*: **1**, 411.
- DELIN, C.O. (1984). "Noisy work and hypertension". *Lancet II*: **8408**, 931.
- DETLEF TAUBE, H., BOROWSKY, E., ENDO, T. y STARKE, K. (1976). "Enkephalin: a potencial modulator of noradrenaline release in rat brain". *Eur. J. Pharmacol.*: **38**, 377.
- DUNN, A.J. (1988). "Stress-related changes in cerebral catecholamine and indoleamine metabolism: Lack of effect of adrenalectomy and corticosterone". *J. Neurochem.*: **51**, 406.
- ELSWORTH, J.D., ROTH, R.H. y REDMOND, D.E.Jr. (1983). "Relative importance of 3-methoxy-4-hidroxiphenylglicol and 3,4-dihidroxyphenylglicol as norepinephrine metabolites in rat, monkey and humans". *J. Neurochem.*: **41**, 786.
- ERINOFF, L., KELLER, A. y OPARIL, S. (1975). "Prevention of hypertension in the SH rat: effect of differential catecholamine depletion". *Proc. Soc. Exp. Biol.*: **150**, 748.
- FALKNER, B., KUSHNER, H., ONESTI, G. y ANGELAKOS, E.T. (1981). "Cardiovascular characteristics in adolescents, who develop essential hypertension". *Hypertension*: **3**, 521.
- FALKNER, B., ONESTI, G., ANGELAKOS, E.T., FERNANDES, M. y LANGMAN, C. (1979). "Cardiovascular response to mental stress in normal adolescents with hypertensive parents". *Hypertension*: **1**, 23.
- FERRARIO, C.M., SCHIAVONE, M.T., BARNES, K.L., BROSNIHAN, K.B. y APETH, R. (1985). "Role of central mechanisms in the development of endocrine hypertension". En: *Essential Hypertension as an Endocrine Disease*. R.W. Christopher, E. Carey and R.M. Carey (eds.). Butterworths International Medical Reviews, Londres. p 4.
- FOLKOW, B. (1977). "Role of vascular factor in hypertension". *Contrib. Nephrol.*: **8**, 81.
- FORSYTH, R.P. (1969). "Blood pressure responses to long-term avoidance schedules in the restrained rhesus monkey". *Psychosom. Med.*: **31**, 300.

FROLICH, E.D. (1974). "Inhibition of adrenergic function in the treatment of hypertension". *Arch. Inter. Med.*: 133, 1033.

FULLER, R.W. (1982). "Pharmacology of brain epinephrine neurons". *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*: 22, 31.

FUXE, K., HÖKFELT, T., BOLME, P., GOLDSTEIN, M., JOHANSSON, O., JONSSON, G., LINDBRINK, P., LJUNGDAHL, A. y SACHS, C. (1975). "The topography of central catecholamine pathways in relation to possible role in blood pressure control". En: *Central Action of Drugs in Blood Pressure Regulation*. D.S. Davies y J.S. Reid (eds.). Pitman Medical, Londres. p 8.

FUXE, K., BOLME, P., JONSSON, G., AGNATI, L.F., GOLDSTEIN, M., HÖKFELT, T., SCHWARCZ, R. y ENGEL, J. (1979). "On the cardiovascular role of the noradrenaline, adrenaline and peptide containing neuron systems in the brain". En: *Nervous System and Hypertension*. P. Meyer y H. Schmitt (eds.). Wiley/Flammarion, Paris. p 1.

FUXE, K., BOLME, O., AGNATI, L.F., JONSSON, G., ANDERSSON, K., KOHLER, C. y HÖKFELT, T. (1980). "Central Adrenaline Neurons. Basic Aspects and their Role in Cardiovascular Functions". Pergamon, Oxford.

GALENO, T.M., VAN HOESEN, G.W. y BRODY, M.J. (1984). "Central amygdaloid nucleus lesions attenuates exaggerated hemodynamic responses to noisestress in the spontaneously hypertensive rat". *Brain Res.*: 291, 249.

GARDINER, S.M. y BENNET, T. (1977). "The effects of short-term isolation on systolic blood pressure and heart rate in rats". *Med. Biol.*: 55, 325.

GALOSI, R.A., CLARKE, L.K., VASKO, M.R. y CRAWFORD, I.J. (1981). "Neurophysiology and neuropharmacology of cardiovascular regulation and stress". *Bioheav. Rev.*: 5, 137.

GIACONI, S., PALOMBO, C., GENOVESI-EBERT, A., MARABOTTI, D., MEZZASALMA, L. y GHIONE, S. (1987). "Medium-term reproductibility of stress tests in bordeline arterial hypertension". *J. Ciln. Hypertens.*: 3, 654.

GLOWINSKI, J. e IVERSEN, L.L. (1966). "Regional studies of catecholamines in the rat brain". *J. Neurochem.*: 13, 655.

GOLDSTEIN, D.S. (1983). "Plasma catecholamines and essential hypertension". *Hypertension*: 3, 86.

GOLDSTEIN, D.S. (1987). "Stress-induced activation of the sympathetic nervous system". *Baillière's Clin. Endocrinol. Metabol.*: 1, 253.

GRAHAM, J.D.P. (1945). "High blood pressure after battle" *Lancet*: 1, 239.

GRANATA, A.R., KUMADA, M. y REIS, D.J. (1984). "A1 noradrenergic neurons inhibit sympathetic activity via a projection to the area containing C1 adrenaline neurons". *Federation Proc.*: 43, 400.

GRANATA, A.R., RUGGIERO, D.A., PARK, D.H., JOH, T.H. y REIS, D.J. (1985). "Brain stem area with epinephrine neurons mediates baroreflex vasodepressor responses". *Am. J. Physiol.*: 248, H547.

GRANATA, A.R. (1990). "Intracellular study of different cardiovascular noncatecholaminergic neurons in the C1 area in the rostral ventrolateral medulla". *Eur. J. Pharmacol.*: 183, 453.

GRAY, T.S., O'DONOHUE, T.L. y MAGNUSON, D.J. (1986) "Neuropeptide Y innervation of amygdaloid and hypothalamic neurons that project to the dorsal vagal complex in the rat". *Peptides*: 7, 341.

GUYTON, A.C., COLEMAN, T.G., COWLEY, A.W. Jr. (1972). "Arterial pressure regulation. Overriding dominance of the kidney in long-term regulation and in hypertension". *Am. J. Med.*: 52, 584.

GUYTON, A.C. (1986). *Textbook of medical physiology*. Séptima edición. W.B. Saunders (ed.). Philadelphia.

HAAS, D.A. y GEORGE. S.R. (1989). "Neuropeptide Y-induced effects on hypothalamic corticotropin-releasing factor content and release are dependent on noradrenergic/adrenergic neurotransmission". *Brain Res.*: 498, 333.

HARRIET, P. y DUSTAN, M.D. (1987). "Biobehavioral factors in hypertension". *Circulation*: 76, 57.

HAUSLER, G., FINCH, L. y THOENEN, H. (1972a). "Central adrenergic neurons and the initiation and development of experimental hypertension". *Experientia*: 28, 1200.

HAUSLER, G., GEROLD, M. y THOENEN, H. (1972b). "Cardiovascular effects of 6-hydroxydopamine injected into a lateral brain ventricle of the rat". *Naunyn-Schmiedeb. Arch. Pharmacol.*: 274, 211.

HEAD, G.A., BADOER, E. y KORNER, P.I. (1987). "Cardiovascular role of A1 catecholaminergic neurons in the rabbit. Effect of chronic lesions on responses to methyl dopa, clonidine and 6-OHDA induced transmitter release". *Brain Res.*: 412, 18.

HEAD, G.A. y HOWE, P.R.C. (1987). "Effects of 6-hydroxydopamine and the PNMT inhibitor LY134046 on pressor responses to stimulation of the subretrofacial nucleus in anesthetized stroke-prone spontaneously hypertensive rats". *J. Auton. Ner. Syst.*: 18, 213.

HEDGE, G.A., VAN REE, J.M., VERSTEEG, D.H.G. (1976). "Correlation between hypothalamic catecholamine synthesis and ether stress-induced ACTH secretion". *Neuroendocrinology*: 21, 236.

HEIMER, L. y RODBARDS, M.J. (1982). "Neuroanatomical tract-tracing methods". Plenum, New York.

HENRY, J.P. (1982). "Psychosocial stimulation of mice in complex population cages and the mechanism of cardiomyopathy". En: *Circulation, Neurobiology and Behaviour*. O.A. Smith, R.A. Galosy, S.M. Weiss (eds.). Elsevier Science Publishing Co. New York. p 267.

HILTON, S.M. y SPYER, K.M. (1977). "Participation of the anterior hypothalamus in the baroreceptor reflex". *J. Physiol. Lond.*: 218, 271.

HOFFMAN, A., ROELANDT, J.T.R.C., BOOMSMA, F. (1981). "Hemodynamics plasma noradrenaline and plasma renin in hypertensive and normotensive teenagers". *Clin. Sci.*: 61, 169.

HÖKFELT, T., FUXE, K., GOLDSTEIN, M. y JOHANSSON, O. (1973). "Evidence for adrenalin neurons in the rat brain". *Acta Physiol. Scand.*: 89, 286.

HOLLENBERG, N.K., WILLIAMS, G.H. y ADAMS, D.F. (1981). "Essential hypertension: Abnormal renal vascular and endocrine responses to mild psychological stimulus". *Hypertension*: 3, 11.

HOWE, P.R.C., WEST, M.J., PROVIS, J.C. y CHALMERS, J.P. (1981). "Content and turnover of noradrenaline in spinal cord and cerebellum of spontaneously hypertensive and stroke-prone rats". *Eur. J. Pharmacol.*: 73, 123.

HUCHET, A.M., VELLY, J. y SCHMITT, H. (1981). "Role of alfa-1 and alfa-2-adrenoceptors in the modulation of the baroreflex vagal bradycardia". *Eur. J. Pharmacol.*: 85, 239.

HUCHET, A.M., DOURSOUT, M.F., CHELLY, J. y SCHMITT, H. (1982). "Possible role of central alfa-1-adrenoceptors in the control of the autonomic nervous system in normotensive and spontaneously hypertensive rats". *Eur. J. Pharmacol.*: 85, 239.

IBRAHIM, M.M., TARAZI, R.C., DIUSTAN, H.P. (1974). "Cardioadrenergic factor in essential hypertension". *Am. Heart J.*: 88, 724.

IKEDA, H., SHIBOTA, M., SHINO, A., NAGAOKA, A. y FUJITA, T. (1976). "Effect of chemical sympathectomy on development of hypertension in stroke-prone and stroke-resistant SHR". *Jap. Heart J.*: 19, 240.

IMAIZUMI, T., GRANATA, A.R., BENERROCH, E.E., SVED, A.F. y REIS, D.J. (1985). "Contributions of arginine vasopressin and the sympathetic nervous system to fulminating hypertension after destruction of neurons of caudal ventrolateral medulla in the rat". *J. Hypertens.*: 3, 491.

INABA, M., KAMATA, K. y KAMIDE, M. (1981). "Effects of adrenal demedullation and peripheral noradrenaline-depleting agents on adrenocortical function and spleen in rats". *Japan J. Pharmacol.*: 31, 787.

IOMORI, K., TANAKA, M., KOHNO, Y., IDA, Y., NAKASAWA, R., HOAKI, Y., TSUDA, A. y NAGASAKI, N. (1982). "Psychological stress enhances noradrenaline turnover in specific brain regions in rats". *Pharmacol. Biochem. Behav.*: 16, 637.

IVERSEN, L.L. (1978). "Handbook of Psychopharmacology". Vol 3. L.L. Iversen, S.D. Iversen y S.H. Snyder (eds). Plenum Press, Nueva York. p 381.

JIMENEZ, I., IGLESIAS, T. y FUENTES, J.A. (1990). "Stereoselectivity and subtype of the opiate receptor involved in stress-induced hypertension". *Eur. J. Pharmacol.*: 182, 155.

- JOHSSON, G. y HALLMAN, H. (1978). "Changes in beta-receptor binding sites in rat brain after neonatal 6-hydroxydopamine treatment". *Neurosci. Lett.*: 2, 27.
- JONSSON, G. (1980). "Chemical neurotoxins as denervation tools in neurobiology". *Ann. Rev. Neurosci.*: 3, 169.
- JULIUS, S., PASCUAL, A.V., SANNERSTEDT, R. (1971). "Relationship between cardiac output and peripheral resistance in borderline hypertension". *Circulation*: 43, 382.
- JULIUS, S. y JOHNSON, E.H. (1985). "Stress, autonomic hyperactivity and essential hypertension: an enigma". *J. Hypert.*: 3, 11.
- KALIA, M., FUXE, K. y GOLDSTEIN, M. (1985). "Rat medulla oblongata. II. Dopaminergic, noradrenergic and adrenergic neurons, nerve fibers, and presumptive terminal processes". *J. Comp. Neurol.*: 233, 308.
- KANT, G.J., MOUGEY, E.H. y MEYERHOFF, J.L. (1986) "Diurnal variation in neuroendocrine response to stress in rats: plasma ACTH, beta-endorphin, beta-LPH, corticosterone, prolactin and pituitary cyclic AMP responses". *Neuroendocrinology*: 43, 383.
- KAPLAN, N.M. (1975). "The prognostic implications of plasma renin in essential hypertension". *JAMA*: 231, 167.
- KEBABIAN, J.W. y CALNE, D.B. (1979). "Multiple receptors for dopamine". *Nature*: 277, 93.
- KELLER-WOOD, M.E. y DALLMAN, M.F. (1984). "Corticosteroid inhibition of ACTH secretion". *Endocr. Rev.*: 5, 1.
- KELLY, E. y NAHORSKY, S.R. (1986). "Dopamine receptor-effector mechanisms". *Rev. Neurosci.*: 1, 35.
- KOBILANSKY, C. LAZINGER, I. y PHILIPPU, A. (1988). "Release of endogenous catecholamines in th nucleus tractus solitarii during experimentally induced blood pressure changes". *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*: 337, 125.
- KOPIN, I.J. (1985). "Catecholamine metabolism: basic aspects and clinical significance". *Pharmacol. Rev.*: 37, 333.

KORNER, P.I., SHAW, J., WEST, M.J. y OLIVER, J.R. (1972). "Central nervous systems control of baroreceptor reflexes in the rabbit". *Circ. Res.*: 31, 637.

KORNER, P.I., BADOER, E. y HEAD, G.A. (1987). "Cardiovascular role of the major noradrenergic cell groups in the rabbit: analysis based on 6-hydroxydopamine-induced transmitter release, *Brain Res.*: 435, 258.

KOSTRZEWA, R.M. y JACOBOWITZ, D.M. (1974). "Pharmacological actions of 6-hydroxydopamine". *Pharmacol. Rev.*: 26, 199.

KUBO, T. y HASHIMOTO, M. (1978). "Effects of intraventricular and intraspinal 6-hydroxydopamine on blood pressure of spontaneously hypertensive rats". *Arch. Int. Pharmacodyn.*: 232, 166.

LANGER, S.Z. (1981). "Presynaptic regulation of the release of catecholamines". *Pharmacol. Rev.*: 32, 337.

LANGEWITZ, W. y RÜDDEL, H. (1987). "Applied psychophysiology in hypertension". *J. Clin. Hypertens.*: 3, 381.

LANGFORD, H.G. (1986). "Further analyses of the hypertension detection and follow up program". *Drugs*: 31, 23.

LAZARUS, R.S. (1966). "Psychological stress and the coping process". McGraw-hill (ed.). New York.

LEIBOWITZ, S.F., DIAZ, S. y TEMPEL, D. (1989). "Norepinephrine in the paraventricular nucleus stimulates corticosterone release". *Brain Res.*: 496, 219.

LINDVALL, O. y BJÖRKLUND, A. (1974). "The organization of the ascending catecholamine neuron systems in the rat brain as revealed by the glyoxylic acid fluorescence method". *Acta Physiol. Scand.*: Suppl 412, 1.

LOUIS, W.J., CONWAY, E.L., HOWES, L.G., MACCARRONE, C., BEART, P.M. y JARROTT, B. (1987). "Neurotransmitters and neuropeptides in blood pressure regulation in the spontaneously hypertensive rat". *Can. J. Physiol. Pharmacol.*: 65, 1633.

LUNDIN, S. y THOREN, P. (1982). "Renal function and sympathetic activity during mental stress in normotensive and spontaneously rats". *Acta Physiol. Scand.*: 115, 115.

MASON, J.W. (1971). "A re-evaluation of the concept of "non-specificity" in stress theory". *J. Psychiatr. Res.*: 8, 323.

McCARTY, R. (1985). "Sympathetic-adrenal medullary and cardiovascular responses to acute cold stress in adult and aged rats". *J. Auton. Nerv. Sys.*: 12, 15.

McCARTY, R., EISEN, G. y BARTHOLOW, C.L. (1990). "Plasma catecholamine responses to acute motion stress in laboratory rats". *Physiol. Behav.*: 49, 653.

MITCHELL, V.P. y LAWLER, J.E. (1989). "Norepinephrine content of discrete brain nuclei in acutely and chronically stressed borderline hypertensive rats". *Brain Res. Bull.*: 22, 545.

MITCHELL, S.N., BRAZELL, M.P., SCHUGENS, M.M. y GRAY, J.A. (1990). "Nicotine-induced catecholamine synthesis after lesions to the dorsal or ventral noradrenergic bundle". *Eur. J. Pharmacol.*: 179, 383.

MORGANE, P.J., PANKSEPP, J., eds. (1980). *The handbook of the hypothalamus*. Vol. 3, Pt 1,2, Behavior. New York: Dekker.

MORILAK, D.A., FORNAL, C.A. y JACOBS, B.L. (1987). "Effects of physiological manipulations on locus coeruleus neuronal activity in freely moving cats. II. Cardiovascular challenge. *Brain Res.*: 422, 24.

NARANJO, J.R. y FUENTES, J.A. (1985). "Association between hypoalgesia and hypertension in rats after short-term isolation". *Neuropharmacology*: 24, 167.

NATELSON, B.H., TAPP, W.N., ADAMUS, J.E., MITTLER, J.C. y LEVIN, B.E. (1981). "Humoral indices of stress in rats". *Physiol. and Behav.*: 26, 1049.

NATELSON, B.H., CREIGHTON, D., McCARTY, R., TAPP, W.N., PITMAN, D. y OTTENWELLER, J.E. (1987). "Adrenal hormonal indices of stress in laboratory rats". *Physiol. Behav.*: 39, 117.

NOMURA, M. y OKAMURA, K. (1989). "Catecholamine content changes in brain regions of spontaneously hypertensive rats under immobilization stress". *J. Neurochem.*: 52, 933.

NYGREN, L.G. y OLSON, L. (1977). "A new major projection from locus coeruleus: The main source of noradrenergic nerve terminals in the ventral and dorsal columns of the spinal cord". *Brain Res.*: 132, 85.

O.M.S. (1978). "La hipertensión arterial. Informe técnico". Ginebra.

ONAI, T., SAJI, M. y MIURA, M. (1987). "Functional subdivisions of the nucleus tractus solitarii of the rat as determined by circulatory and respiratory responses to electrical stimulation of the nucleus". *J. Auton. Nerv. Syst.*: **21**, 195.

PALACIOS, J.M. (1984). "Light microscopic autoradiographic localization of catecholamine receptor binding sites in brain. Problems of ligand specificity and use of new ligands". En: *Catecholamines. Part B. Neuropharmacology and the Central Nervous System*. E. Usdin, A. Carlsson, A. Dahlström y J. Engel (eds.). Alan R. Liss, New York. p 73.

PALKOVITS, M., MEZEY, E. y ZABORSZKY, L. (1979). "Neuroanatomical evidence for direct neuronal connections between the brainstem baroreceptor centers and the forebrain areas involved in the neural regulation of blood pressure". En: *Nervous System and Hypertension*. P. Meyer y H. Schmitt (eds.). Wiley/Flammarion, Paris. p 18.

PALKOVITS, M. (1980). "The anatomy of central cardiovascular neurons". En: *Basic Aspects and Their Role in Cardiovascular Functions*. K. Fuxe, M. Goldstein, B. Hökfelt and T. Hökfelt (eds.). Pergamon Press, Oxford. p 3.

PALKOVITS, M. (1981). "Catecholamines in the hypothalamus: an anatomical review". *Neuroendocrinology*: **33**, 123.

PALKOVITS, M. (1988) "Neuronal circuits in central baroreceptor mechanism". En: *Progress in Hypertension*. Vol 1. H. Saito, H. Parvez, S. Parvez and T. Nagatsu (eds.). VSP Press, Zeist. p 387.

PALKOVITS, M. (1989). "Neuropeptides and peptidergic transmission in the nucleus of the solitary tract: their role in the cardiovascular regulation". En: *Hypertension, Brain Catecholamines and Peptides*. F.P. Nijkamp and D. De Wied (eds.). Elsevier. p 111.

PATEL, K.P. y SCHMID, P.G. (1987). "The role of central noradrenergic pathways in the actions of vasodepressing on baroreflex control of circulation". En: *Brain Peptides and Catecholamines in Cardiovascular Regulation*. J.P. Buckley y C.M. Ferrario (eds.). Raven Press, Nueva York. p 53.

PAXINOS, S. y WATSON, C. (1986). "The rat brain in stereotaxic coordinates". Academic Press. New York.

PFEFFER, M.A., FROHLICH, E.D., PFEFFER, J.M. (1974). "Pathophysiological implications of the increased cardiac output of young spontaneously hypertensive rats". *Circ. Res.*: 34, 235.

PFEFFER, M.A., PFEFFER, J.M., WEISS, A.K. (1977). "Development of SHR hypertension and cardiac hypertrophy during prolonged beta blockade". *Am. J. Physiol.*: 232, H639.

PHILIPPU, A., DIETL, H. y SINHA, J.N. (1979). "In vivo release of endogenous catecholamines in the hypothalamus". *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*: 308, 137.

PHILIPPU, A., DIETL, H. y EISERT, A. (1981). "Hypotension alters the release of catecholamines in the hypothalamus of the conscious rabbit". *Eur. J. Pharmacol.*: 69, 519.

PLOTSKY, P.M., CUNNINGHAM, E.T. Jr. y WIDMAIER, E.P. (1989). "Catecholaminergic modulation of corticotropin releasing factor and adrenocorticotropin secretion" *Endocr. Rev.*: 10, 143.

PORTER, C.C., TOTARO, J.A. y STONE, C.A. (1963). "Effect of 6-hydroxydopamine and some other compounds on the concentration of norepinephrine in the hearts of mice". *J. Pharmacol. Exp. Ther.*: 140, 308.

PRZUNTEK, H., GUIMARAES, S. y PHILIPPU, A. (1971). "Importance of adrenergic neurons of the brain for the rise of blood pressure evoked by hypothalamic stimulation". *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*: 271, 311.

REIS, D.J., JOH, T.H., NETHAN, M.A., RENAUD, B., SNYDER, D.W. y TALMAN, W. (1979). "Catecholaminergic innervation in normal and abnormal control of arterial blood pressure". En: *Nervous System and Hypertension*. P. Meyer y H. Schmitt (eds.). Wiley/Flammarion, Paris. p 147.

REIS, D.J. y LEDOUX, J.E. (1987). "Some central neural mechanisms governing resting and behaviorally coupled control of blood pressure". *Circulation*: 76, I-2.

REIS, D.J., ROSS, D., GRANATA, A.R. y RUGGIERO, D.A. (1987). "Role of C1 area of rostroventrolateral medulla in cardiovascular control". En: *Brain Peptides and Catecholamines in Cardiovascular Regulation*. J.P. Buckley y C.M. Ferrario (eds.). Raven Press, Nueva York. p 1.

REISINE, T., AFFOLTER, H.U., ROUGON, G. y BARBET, J. (1986). "New insights into the molecular mechanisms of stress". *Trends Neurosci.*: 9, 574.

RICHARDSON MORTON, K.D., VAN DE KAR, L.D., BROWNFIELD, M.S., LORENS, S.A., NAPIER, T.C. y URBAN, J.H. (1990). "Stress-induced renin and corticosterone secretion is mediated by catecholaminergic nerve terminals in the hypothalamic paraventricular nucleus". *Neuroendocrinology*: 51, 320.

RIVIER, C.L. y PLOTSKY, P.M. (1986). "Mediation by corticotropin releasing factor (CRF) of adenohipophysial hormone secretion". *Annu. Rev. Physiol.*: 48, 475.

ROSS, C.A., RUGGIERO, D.A. y REIS, D.J. (1985). "Projections from the nucleus tractus solitarii to the rostral ventrolateral medulla". *J. Comp. Neurol.*: 242, 511.

ROUTLEDGE, C.W. y MARSDEN, C.A. (1988). "Adrenaline in the CNS and the action of antihypertensive drugs". *Trends Pharmacol. Sci.*: 9, 209.

RUGGIERO, D.A., MRAOVITCH, S., GRANATA, A.R., ANWAR, M. y REIS, D.J. (1987). "A role of insular cortex in cardiovascular function". *J. Comp. Neurol.*: 257, 189.

SAAVEDRA, J.M. (1982). "Changes in dopamine, noradrenaline and adrenaline in specific septal and preoptic nuclei after acute immobilization stress". *Neuroendocrinology*: 35, 396.

SACHENKO, P. y BOHN, M. (1988). "Glucocorticoid receptor-immunoreactivity in C1, C2 y C3 adrenergic neurons that project to the hypothalamus or to the spinal cord in the rat". *J. Comp. Neurol.*: 205, 107.

SANDERS, B.J. (1988). "Cardiovascular and renal responses to stress in borderline hypertensive rats". *Am. J. Physiol.*: 255, R431.

SAPOLSKY, R.M. (1990). "El estrés en los animales". *Investigación y Ciencia*: 162, 68.

SAUTEL, M., SACQUET, J., VINCENT, M. y SASSARD, J. (1988a). "NE turnover in genetically hypertensive rats of Lyon strain. I. Brain nuclei". *Am. J. Physiol.*: 255, H729.

SAUTEL, M., SACQUET, J., VINCENT, M. y SASSARD, J. (1988b). "NE turnover in genetically hypertensive rats of Lyon strain. II. Peripheral organs". *Am. J. Physiol.*: 255, H736.

SCHOFFELMEER, A.N.M., RICE, K., JACOBSON, A.E., VAN GELDEREN, J.G., HOGENBOOM, F., HEIJNA, M.H. y MULDER, A.H. (1988). "Mu- delta- and kappa opioid receptor-mediated inhibition of neurotransmitter release and adenilate cyclase activity in rat brain slices: studies with fentanyl isothiocyanate". *Eur. J. Pharmacol.*: 154, 169.

SELYE, H. (1936). "A syndrome produced by diverse nocuous agents". *Nature*: 138, 32.

SELYE, H. (1937). "The significance of the adrenals for adaptations". *Science*: 85, 247.

SELYE, H. (1946). "The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation". *J. Clin. Endocrinol. Metab.*: 6, 117.

SELYE, H. (1976). "Stress in health and disease". Butterwoths, Boston.

SENAY, E.C. y LEVINE, R.J. (1967). "Synergism between cold and restraint for rapid production of stress ulcers in rats". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*: 124, 1221.

SHALITA, B., VERSTEEG, D.H.C. y De JONG, W. (1982). "Effect of N,N-dimethyl-p-methoxyphenylethylamine on blood pressure and brain catecholamines in DOCA-saline hypertensive rats". *Eur. J. Pharmacol.*: 85, 229.

SHIMODA, K., YAMADA, N., OHI, K., TSUJIMOTO, T., TAKAHASHI, K. y TAKAHASHI, S. (1988). "Chronic administration of tricyclic antidepressants supresses hypothalamus-pituitary-adrenocortical activity in male rats". *Psychoneuroendocrinology*: 13, 431.

SIEGRIST, J. (1987). "Impaired quality of life as a risk factor in cardiovascular disease". *J. Chron. Dis.*: 40, 571.

SIMON, O.R., BASURAY, B.N., WEST, W.L. y COPELAND, R. (1985). "Interaction between the baroreflex and anterior hypothalamic stimulation. Demostration of a noradrenergic involvement". *Neuropharmacology*: 24, 665.

- SLEIGHT, P., GRIBBIN, B. y PICKERING, T.G. (1970). "Baroreflex sensitivity in normal and hypertensive man: The effect of beta-adrenergic blockade on reflex sensitivity". *Postgrad. Med. J.*: 32, 79.
- SMYTHE, G.A., BRADSHAW, J.E. y VINING, R.F. (1983). "Hypothalamic monoamine control of stress-induced adrenocorticotropin release in the rat". *Endocrinol.*: 113, 1062.
- SNYDER, D.W., NATHAN, M.A. y REIS, D.J. (1978). "Chronic lability of arterial pressure produced by selective destruction of the catecholamine innervation of the nucleus tractus solitarii in the rat". *Circ. Res.*: 43, 662.
- SPINEDI, E. JOHNSTON, C.A., CHISARI, A. y NEGRO-VILAR, A. (1988). "Role of central epinephrine on the regulation of corticotropin-releasing factor and adrenocorticotropin secretion". *Endocrinology*: 122, 1977.
- SPRING, A. y WINKEMÜLLER, W. (1973). "Ventral midbrain stimulation, blood pressure responses and their relation to the dopaminergic nigrostriatal pathway". *Pflüg. Arch. Eur. J. Physiol.*: 358, 339.
- SPYER, K.M. (1989). "Neural mechanisms involved in cardiovascular control during affective behaviour". *Trends Neurol. Sci.*: 12, 506.
- STOOF, J.C. y KEBABIAN, J.W. (1984). "Two dopamine receptors: biochemistry, physiology and pharmacology". *Life Sci.*: 35, 2281.
- STRUYKER BOUDIER, H., SMEETS, G., BROUWER, G. y VAN ROSSUM, J.M. (1975). "Central nervous system alfa-adrenergic mechanisms and cardiovascular regulation in rats". *Arch. Int. Pharmacodyn.*: 213, 285.
- SUDO, A. (1985). "Decrease in adrenaline content of various organs of the rat after 6-hydroxydopamine". *Eur. J. Pharmacol.*: 114, 79.
- SUMAL, K.K., BLESSING, W.W., JOH, T.L., REIS, D.J. y PICKEL, V.M. (1983). "Synaptic interaction of vagal afferents and catecholaminergic neurons in the rat nucleus tractus solitarius". *Brain Res.*: 277, 245.
- SUN, M.K., YOUNG, B.S., HACKETT, J.T. y GUYENET, P.G. (1988). "Sympathoexcitatory neurons of rostral ventrolateral medulla exhibit pacemaker properties in the presence of a glutamate-receptor antagonist". *Brain Res.*: 438, 23.

- SVED, A.F. (1986). "Pontine pressor sites which release vasopressin". *Brain Res.*: 442, 229.
- SWANSON, L.W. y SAWCHENKO, P.E. (1983). "Hypothalamic integration: Organization of the paraventricular and supraoptic nuclei". *Ann. Rev. Neurosc.*: 6, 269.
- TAKAHASHI, L.K., HAGLIN, Ch. y KALIN, N.H. (1992). "Prenatal stress potentiates stress-induced behaviour and reduces the propensity to play in juvenile rats". *Physiol. Behav.*: 51, 319.
- THOENEN, H. y TRANZER, J.P. (1973). "The pharmacology of 6-hydroxydopamine". *Ann. Rev. Pharmacol.*: 13, 169.
- TRIPPODO, N.C. y FROHLICH, E.D. (1981). "Similarities of genetic (spontaneous hypertension) in man and rat". *Cir. Res.*: 48, 309.
- TURKKA, T.J., JUUJÄRVI, K.K., LAPINLAMPI, T.O. y MYLLYLÄ, V.V. (1986). "Serum norepinephrine response to standing in patients with Parkinson's disease". En: *Parkinson's Disease. Advances in Neurology*. Vol 45. M.D. Yahr y K.J. Bergmann (eds.). Raven Press, New York. p 259.
- UNGERSTEDT, U. (1971). "Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain". *Acta Physiol. Scand.*: 367, 1.
- UPRICHARD, D.C., YAMAMURA, H.I. y REISINE, T.D. (1980). "Characterization and differential in vivo regulation of brain adrenergic receptor subtypes". En: *Hormones*. G. Pepeu, M.J. Kuhar y S.J. Enna (eds.). Raven Press, New York. p 213.
- VALDES, M. y DE FLORES, T. (1985). "Psicobiología del estrés. Conceptos y estrategias". Martinez Roca (ed.). Barcelona.
- VAN DEN BUUSE, M., DE KLOET, E.R., VERSTEEG, D.H.G. y DE JONG, W. (1984). "Regional brain catecholamine levels and the development of hypertension in the spontaneously hypertensive rat: the effect of 6-hydroxydopamine". *Brain Res.*: 301, 221.
- VAN DEN BUUSE, M., VELDHUIS, H.D., VERSTEEG, D.H.G. y DE JONG, W. (1986). "Substantia nigra lesions attenuate the development of hypertension and behavioural hyperreactivity in spontaneously hypertensive rats". *Pharmacol. Biochem. Behavior*: 25, 317.

VAN DE BUUSE, M., LAMBRECHTS, A.C. y DE JONG, W. (1988). "Pressor effects of electrical stimulation of the rat ventral tegmental A10 dopamine system". En: Pharmacology and Functional Regulation of Dopaminergic Neurons. P.M. Beart, G.N. Woodruff y D.M. Jackson (eds.). MacMillan Press, London. p 315.

VAN DE BUUSE, M., HEAD, G.A. y KORNER, P.I. (1989). "Contribution of forebrain noradrenergic pathways to the acute cardiovascular effects of central 6-hydroxydopamine in rabbits". Neurosci. Lett. Suppl. 34, S162.

VAN ZWIETEN, P.A. (1988). "Antihypertensive drugs interacting with alfa- and beta-adrenoceptors. A review of basic pharmacology". Drugs: 35, 6.

VILLANUA, A. y GAMALLO, A. (1985). "Radioinmunoanálisis de corticosterona para la valoración de la función adrenal de ratas en condiciones de estrés" Endocrinología: 32, 213.

VOGEL, W.H. (1987). "Stress - the neglected variable in experimental pharmacology and toxicology". Trends Pharmacol. Sci.: 8, 35.

VOGEL, W.H. y JENSH, R. (1988). "Chronic stress and plasma catecholamine and corticosterone levels in male rats". Neurosci. Lett.: 87, 183.

WARD-ROUTLEDGE, C. y MARSDEN, C.A. (1988) "Adrenaline in the CNS and the action of antihypertensive drugs". Trends Pharmacol. Sci.: 9, 209.

WEINER, N., CLOUTIER, G., BJUR, R. y PFEFFER, R.I. (1972). "Modification of norepinephrine synthesis in intact tissue by drugs and during short-term adrenergic nerve stimulation". Pharmacol. Rev.: 24, 203.

WEISS, Y.A., SAFAR, M.E., LONDON, G.M. (1978). "Repeat hemodynamic determinations in borderline hypertension". Am. J. Med.: 64, 382.

WEISS, J.M., SIMSOM, P.G. y SIMSOM, P.E. (1989). "Neurochemical basis of stress-induced hypertension". En: Frontiers in Stress Research. H. Weiner, I. Florin, R. Murison y D. Hellhammer (eds.). Hans Huber Publishers, Toronto. p 37.

WEN-LI, Y. y BLESSING, W.W. (1990). "Localization of vasodepressor neurons in the caudal ventrolateral medulla in the rabbit". Brain Res.: 517, 57.

WEST, M.J., BLESSING, W.W. y CHALMERS, J.P. (1981). "Arterial baroreceptor reflex function in the conscious rabbit after brainstem lesions coinciding with the A1 group of catecholamine neurons". *Circ. Res.*: 49, 959.

WIJNEN, H., SPIERENBURG, H.A., DE KLOET, E.R., DE JONG, W. y VERSTEEG, D.H.G. (1980). "Decrease in noradrenergic activity in hypothalamic nuclei during the development of spontaneous hypertension". *Brain Res.*: 157, 191.

WILLETTE, R.N., PUNNEN, S., KRIEGER, A.J. y SAPRU, H.N. (1984). "Interdependance of rostral and caudal ventrolateral medullary areas in the control of blood pressure". *Brain Res.*: 321, 169.

WOLFF, H.G. (1950). "Life stress and bodily disease. A formulation". Williams and Wilkins (eds.). Baltimore.

YUKIMURA, T., FUXE, K., GANTEN, D., ANDERSSON, K., HÄRFSTRAND, A., UNGER, T. y AGNATI, L.F. (1981). "Acute sino-aortic denervation in rats produces a selective increase of adrenaline turnover in the dorsal midline area of the caudal medulla oblongata and a reduction of adrenaline levels in the anterior and posterior hypothalamus". *Eur. J. Pharmacol.*: 69, 361.