



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGIA

**ACTIVACIÓN DE LA PROTEÍNA C-FOS EN EL NÚCLEO OVAL
INDUCIDA POR HIPERTENSIÓN ARTERIAL CRÓNICA Y AGUDA**

TESIS QUE EN OPCIÓN AL
GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS
(NEUROBIOLOGÍA)
PRESENTA

Nancy Georgina Hernández Chan
DIRECTOR DE TESIS: Dr. Jorge Larriva Sahd

Juriquilla, Querétaro, 2005



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

- ◆ A mis padres, hermanos y familia, por todo cuanto he recibido de ellos y sobretodo por su enorme apoyo durante mi estancia en el posgrado.
- ◆ A mis compañeros de laboratorio Guadalupe, Lyzzette, Fabiola, Gema y Victor, por ser tolerantes conmigo y hacer de mi estancia en el laboratorio algo agradable.
- ◆ A la gente querida del INB: Azucena, Claudia, Minerva, Lulú, Pati, Mónica, Leticia, Luci, Lorena, Berenice, Evelyn, Edith, Salvador, Omar y todos aquellos que compartieron conmigo cosas *significativas* en este lugar.
- ◆ A mis guías “espirituales” : Mtra. Angélica García, Dra. Gloria Arankowsky, Dr. José Luis Góngora por mostrarme el camino en lo personal y en lo académico.

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

- ◆ Al Dr. Jorge Larriva Sahd por abrirme (bajo todo riesgo) las puertas de su laboratorio.
- ◆ Al Dr. Alfonso Cárabez Trejo por sus valiosas aportaciones para la realización de esta tesis y por su apoyo personal.
- ◆ A la Dra. María Teresa Morales Guzmán por su asesoría en las técnicas de cirugía empleadas en los experimentos de este proyecto.
- ◆ A la Q.F.B. Gema Martínez Cabrera por la asesoría y apoyo técnico en la realización de las técnicas inmunohistoquímicas de este trabajo.
- ◆ Al Aux. Lab. Victor Hugo Pérez Romero por su ayuda en la realización de experimentos farmacológicos y apoyo en técnicas histológicas de este trabajo.
- ◆ A la Q.F.B. Leonor Casanova Rico por su ayuda en los trámites administrativos necesarios para la obtención del grado.
- ◆ Al Bioterio del Instituto de Neurobiología.

La presente tesis se realizó en el laboratorio de Neuromorfología del Instituto de Neurobiología de la Universidad Autónoma de México, bajo la tutoría del Dr. Jorge Larriva Sahd; con apoyo de una beca completa CONACYT y una beca complementaria otorgada por la Dirección General de Estudios de Posgrado de la UNAM.

ÍNDICE

RESUMEN EN ESPAÑOL	1
RESUMEN EN INGLÉS	2
INTRODUCCIÓN	3
ANTECEDENTES	4
I. Factores que determinan la presión arterial	4
II. Regulación hormonal del volumen circulante.....	4
IIA. Anatomía y fisiología renal	4
IIB. Reabsorción de agua	7
IIC. Efectos de la hormona antidiurética (HAD)	8
III. Osmorreceptores y barorreceptores.....	9
IV. Eje renina-angiotensina-aldosterona.....	11
V. Control neural de las resistencias periféricas	13
VI. Modelos experimentales de hipertensión arterial.....	14
VIA. Modelos crónicos de Goldblatt	14
VIB. Modelos agudos	15
VIB. 1. Mecanismo de acción de la fenilefrina	15
VII. Áreas cerebrales involucradas en el control de la presión arterial.....	16
VIII. Anatomía de los núcleos del lecho de la estría terminal	18
IX. El factor liberador de la corticotropina y el estrés	22
X. Genes de activación temprana	24
JUSTIFICACIÓN	26
HIPÓTESIS	26
Hipótesis experimento 1.....	26
Hipótesis experimento 2	26
OBJETIVO	26
ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	27
I. Experimento 1, Hipertensión crónica	27
II. Experimento 2, Hipertensión Aguda	27

III. Expresión de la proteína c-Fos	28
RESULTADOS.....	30
I. Hipertensión crónica	30
II. Hipertensión aguda	31
DISCUSIÓN	39
I. Expresión de c-Fos.....	39
IA. Análisis cuantitativo.....	40
IB. Análisis cualitativo	40
II. Distribución y características celulares	41
CONCLUSIONES	43
REFERENCIAS	44
ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS	49
TABLA DE ABREVIATURAS.....	50

RESUMEN

La estabilidad de la presión arterial sistémica (PAS), depende de la acción conjunta de diferentes mecanismos de adaptación gobernados primordialmente por el sistema nervioso central (SNC). Para garantizar que la PAS se mantenga estable, se requiere la participación de estructuras sensibles a los cambios que ésta presente. Estas estructuras residen en el SNC, en sitios tales como el hipotálamo, el núcleo del haz solitario (NHS) y algunos órganos circunventriculares, como el órgano vasculoso de la lámina terminal (OVLT) y el órgano subfornical (OSF). Las estructuras antes mencionadas, mediante mecanismos neurales y hormonales, controlan la PAS en virtud de su acción sobre otros órganos blanco como la glándula suprarrenal, el riñón y la vasculatura periférica. Recientemente, se ha involucrado a los núcleos del lecho de la estría terminal como posibles participantes en la regulación de la PAS, en particular a su núcleo oval. Ello debido a sus conexiones recíprocas con estructuras del tallo cerebral y la amígdala, así como con áreas osmorreceptoras y barorreceptoras en el SNC. En este trabajo se indujo una hipertensión crónica por ligación parcial unilateral de la arteria renal y posteriormente una hipertensión aguda por administración endovenosa de fenilefrina (FE), un fármaco simpaticomimético, a ratas macho adultas. La activación celular en las distintas regiones del encéfalo se exploró mediante inmunohistoquímica para c-Fos; en el núcleo oval no se encontró inmunoreactividad en la rata normotensa como tampoco en la hipertensa crónica. En contraste, la hipertensión arterial aguda, induce expresión de la proteína c-Fos en un grado significativamente mayor de células en el núcleo oval con respecto a los animales del grupo control. Además, se encontró activación de c-Fos en el núcleo paraventricular y el núcleo supraóptico en los animales con hipertensión aguda. Se observó que la distribución de las células inmunoreactivas no es homogénea, e involucra una pequeña fracción de células de este núcleo, lo que aunado a la información ofrecida por otras metodologías, sugiere una parcelación fisiológica dentro del propio núcleo. Los resultados aquí obtenidos, sumados a los referidos por otros autores, nos permite concluir que el núcleo oval pudiera estar implicado en los procesos centrales de control de la PAS.

ABSTRACT

Stability of arterial blood pressure (ABP) depends on the synergic action of diverse mechanisms basically integrated by central nervous system (CNS). In order to maintain ABP under a physiological range, an involvement of sensitive and responsive elements to changes in ABP is required. Both, neural and hormonal responses reside in specific regions of the brain, such as the hypothalamus, amygdala and the circumventricular areas, and in peripheral organs such as the kidney, suprarenal glands and blood vessels. Recently, the bed nuclei of stria terminalis have been implicated in the ABP regulatory processes, particularly its oval nucleus. It has been suggested that this integrative role depends on its anatomic links with brainstem structures, such as the solitary tract, the central nucleus of amygdala and central osmoreceptores. In this work, surgical renovascular and acute pharmacological hypertension were induced in adult male albino rats. Renovascular hypertension was induced by surgical occlusion of one of the renal arteries whereas acute hypertension was induced by intravenous administration of phenylephrine, a sympatomimetic drug. Cellular activation was tested in various areas of CNS by using c- Fos immunohistochemistry. The oval nucleus was studied by quantitative analysis. Although sustained hypertension was found in both experimental models, we found no difference in chronic hypertensive rats or the normotensive ones. In contrast, acute hypertension induced strong c-Fos expression in phenylephrine treated rats compared to normotensive rats. Furthermore, cellular activation within the oval nucleus was not homogeneous, but involved distinct cellular subsets within it. Lastly, an obvious activation was also found in paraventricular and supraoptic hypothalamic nuclei in the acute hypertensive animals. These results, joined with previous observations performed by other authors, suggest a cellular physiological diversity in the oval nucleus.

INTRODUCCIÓN

Una de las ventajas adaptativas que poseen los animales que tienen sistema nervioso, es que éste los capacita para la rápida captación de los cambios que ocurren en el medio ambiente y el consecuente ajuste conductual y/o fisiológico del organismo. Entre los numerosos procesos fisiológicos gobernados por el sistema nervioso central se encuentra la presión arterial sistémica (PAS), de cuya estabilidad depende la adecuada provisión de nutrimentos, oxigenación y eliminación de desechos de los tejidos. La PAS a su vez está determinada por tres factores principales: 1) el volumen sanguíneo circulante, 2) las resistencias periféricas y 3) la frecuencia cardíaca. El primero de ellos es regulado por el sistema neuroendocrino, mientras que los dos últimos están controlados por el sistema nervioso simpático.

Aunque ya se conocen algunas estructuras cerebrales involucradas en el control de la PAS, tales como los núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo, y regiones del tallo cerebral como el bulbo ventrolateral rostral y caudal, el núcleo del haz solitario y el núcleo motor del vago, se sabe poco de las áreas prosencefálicas que pudieran participar en la regulación de la PAS. Entre las estructuras del cerebro anterior documentadas como activas durante los cambios en la PAS destaca la amígdala, que en los animales macrosmáticos como los roedores, recibe información olfatoria de tipo alimentaria, reproductiva y de supervivencia. Esta información es procesada y enviada hacia otras áreas del prosencéfalo, diencefalo y tallo cerebral a través de la estría terminal, la principal vía de eferencia amigdalina. Inmersos en las fibras estriales se encuentran los núcleos del lecho de la estría terminal, que al compartir ciertas características citológicas con la amígdala pudieran activarse ante cambios de la PAS.

En este trabajo, mediante un modelo de hipertensión renovascular por modificación de volumen y posteriormente a través de la infusión sistémica de un fármaco vasoconstrictor (fenilefrina), tratamos de explorar la participación de los núcleos del lecho de la estría terminal, en particular el núcleo oval, en los procesos regulatorios de la PAS.

ANTECEDENTES

I. FACTORES QUE DETERMINAN LA PRESIÓN ARTERIAL

El sistema nervioso central (SNC) es el responsable de controlar diversas constantes fisiológicas entre las que se encuentra la presión arterial sistémica; ya que ésta es la resultante de la interacción entre el volumen sanguíneo, la frecuencia cardíaca y las resistencias periféricas, el sistema nervioso posee mecanismos específicos para la regulación de estas variables.

Cuando existen incrementos en una o más de las variables determinantes de la PAS, se produce un incremento en su valor basal a lo que se denomina hipertensión. En primer término describiremos los procesos neuroendocrinos por los cuales se regula el volumen sanguíneo circulante, así como la generación de hipertensión por modificación de esta variable. Posteriormente, se hará referencia al control que ejerce el sistema nervioso sobre las resistencias periféricas determinadas básicamente por el tono de la musculatura lisa vascular.

II. REGULACIÓN HORMONAL DEL VOLUMEN CIRCULANTE

Como se mencionó anteriormente, la cantidad de líquido que corre por el sistema circulatorio, es una de las variables determinantes de la PAS, por lo cual en el organismo operan de manera constante diferentes mecanismos que mantienen este volumen dentro de un rango fisiológico. Cuando ocurren variaciones en el volumen sanguíneo circulante, el organismo detecta estos cambios y desencadena una respuesta compensatoria que lleve a la PAS a la normalidad.

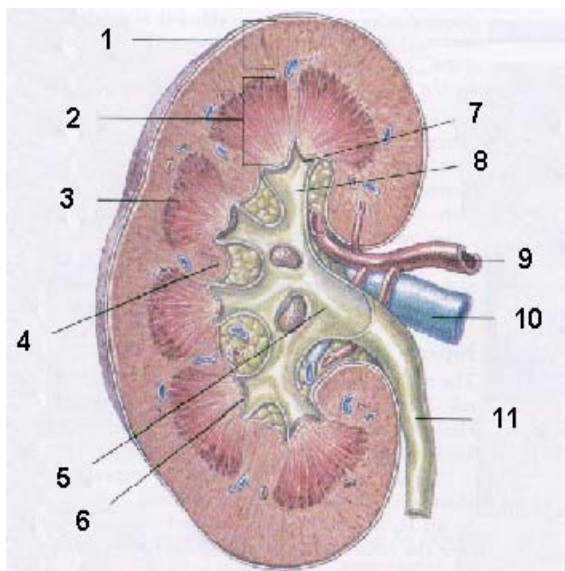
Las estructuras que participan en la regulación del volumen de líquido circulante, y consecuentemente en la regulación de la PAS, se encuentran en áreas específicas del SNC, tales como el hipotálamo, así como en otros órganos como las glándulas suprarrenales y los riñones. Debido a que el riñón está involucrado tanto en los mecanismos sensibles a los cambios en la PAS, como en la generación de las respuestas hormonales a estos cambios, es necesaria una descripción detallada de este órgano.

IIA. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA RENAL

En los mamíferos los riñones son órganos pares localizados bilateralmente en el espacio retroperitoneal dorsal, por delante de la columna lumbar. Aunque el riñón está

considerado como el principal elemento del sistema urinario, interviene además en diversos procesos fisiológicos entre los que se encuentran la producción de hormonas y compuestos con efectos locales como son la eritropoyetina y la renina (Mancilla, 1997). El riñón también participa en la regulación del equilibrio ácido-básico, la producción de la forma activa de la vitamina D, la síntesis de glucosa en condiciones de ayuno prolongado, e importantemente en la regulación de la presión arterial (Guyton, 1997).

Anatómicamente, en el riñón se distinguen dos áreas: la corteza y la médula. La corteza renal contiene principalmente a los glomérulos renales y a las porciones contorneadas proximales y distales de los túbulos renales; mientras que la médula aloja a las ramas ascendentes y descendentes de los túbulos renales, así como a los túbulos colectores que drenan la orina en la pelvis renal (figura 1). Ambos riñones están irrigados por las arterias renales que emergen lateralmente de la aorta abdominal. Cada arteria renal se ramifica repetidamente en arterias interlobares, intralobares, lobulillares, hasta dar origen a las arteriolas que nutren los glomérulos (figura 2). La arteriola aferente entra por el hilio del glomérulo, se ramifica profusamente formando asas de capilares que convergen en la arteriola eferente, que sale del glomérulo por el polo vascular.

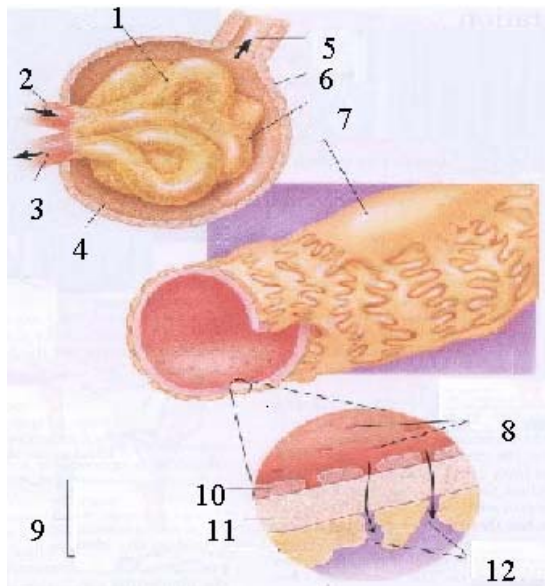


1. Corteza renal
2. Médula renal
3. Pirámide
4. Columna
5. Pelvis
6. Papila
7. Cáliz menor
8. Cáliz mayor
9. Arteria renal
10. Vena renal
11. Uréter

Figura 1. Anatomía macroscópica del riñón

La *nefrona* es la unidad fundamental del riñón y cumple la función de filtrar el plasma y recuperar agua y solutos tales como la glucosa, los aminoácidos, sodio y potasio, así como eliminar las sustancias de desecho. La nefrona está integrada por las arteriolas aferente y eferente, el glomérulo renal y el sistema tubular. El glomérulo renal es un ovillo de capilares sanguíneos rodeado por la cápsula de Bowman, originados por la arteriola aferente y que se fusionan en la arteriola eferente. El glomérulo posee dos polos: el polo *vascular* donde se distinguen las arteriolas aferente y eferente y el polo *tubular*, donde se origina el túbulo contorneado proximal como continuación de la cápsula de Bowman (figura 2). En la confluencia de las arteriolas aferente, eferente y el túbulo contorneado distal se encuentra el aparato yuxtaglomerular, estructura altamente involucrada en la regulación de la presión arterial. El aparato yuxtaglomerular posee tres tipos principales de células: las de la mácula densa, las mesangiales extraglomerulares y las granulares. La mácula densa está formada por células epiteliales, densamente agrupadas en la pared del túbulo distal y monitorizan la composición del líquido tubular. Las células mesangiales extraglomerulares son una continuación de las células mesangiales del glomérulo y transmiten información de las células de la mácula densa a las células granulares. Finalmente, las células granulares son células musculares lisas modificadas, localizadas sobre todo en la arteriola aferente y son las encargadas de sintetizar y liberar renina, una enzima proteolítica que interviene en la formación de angiotensina.

Los capilares glomerulares difieren en estructura de los existentes en otros órganos, ya que además de poseer una capa endotelial fenestrada y una membrana basal, están adicionalmente provistos de una capa de podocitos. Este arreglo en tres capas, le confiere al glomérulo sus propiedades de *filtración* (Figura 2)(Mancilla,1997; Rhoades y Tanner, 1997).



1. Glomérulo
2. Arteriola aferente
3. Arteriola eferente
4. Capa visceral del glomérulo
5. Túbulo contorneado proximal
6. Cápsula de Bowman
7. Podocito de la capa visceral
8. Fenestraciones
9. Barrera de filtración
10. Endotelio
11. Lámina basal
12. Hendiduras de filtración

Figura 2 . Elementos que constituyen la barrera de filtración del riñón

El sistema tubular está formado por segmentos diferentes desde el punto de vista estructural y funcional. La primera porción es el túbulo contorneado proximal, que se origina a partir de la cápsula de Bowman y después de seguir un trayecto sinuoso, se continúa con un segmento en U llamado asa de Henle; posteriormente ésta se dilata para continuarse como túbulo contorneado distal. Al paso por los diferentes segmentos del sistema tubular, el filtrado glomerular se modifica debido a la absorción de agua y solutos, así como a la excreción, a cargo de las células tubulares (Fox,1999;Mancilla,1997;Rhoades y Tanner, 1997).

II B. REABSORCIÓN DE AGUA

Independientemente del estado de hidratación del individuo, la mayor parte del agua filtrada por el riñón debe ser devuelta al sistema vascular, a fin de mantener el volumen circulante dentro del rango fisiológico a lo que denomina absorción.

En condiciones normales, aproximadamente 180L de plasma son filtrados por los riñones y devueltos a la circulación diariamente; a este proceso se denomina absorción obligatoria. Existe cierta proporción del filtrado diario que es regulado de acuerdo a las condiciones de hidratación del individuo, a este volumen se le llama absorción facultativa, la cual se detallará mas adelante (Fox,1999; Mancilla, 1997; Rhoades y Tanner,1997).

La reabsorción de agua por el riñón es posible debido a que las células localizadas en el túbulo proximal son altamente permeables a este líquido; el agua se desplaza por ósmosis del líquido tubular al interior de la célula epitelial y después al líquido intersticial. Así, el agua, además de otros solutos, principalmente el sodio, son reabsorbidos del filtrado glomerular y transportados hacia el interior de los capilares peritubulares, regresando a la circulación sistémica (Fox,1999; Guyton,1997; Mancilla,1997; Rhoades y Tanner,1997).

Paralelo a la reabsorción de agua, el riñón reabsorbe aminoácidos, glucosa, calcio y sodio que se reintegran a la circulación. La absorción de estas sustancias es realizada a través de proteínas que las transportan activamente usualmente en contra de sus gradientes de concentración (Fox,1999; Mancilla,1997; Rhoades y Tanner,1997).

II C. EFECTOS DE LA HORMONA ANTIDIURÉTICA (HAD)

El 85% del agua y las sales son reabsorbidos de manera obligatoria en el túbulo contorneado proximal y en el asa de Henle; estas porciones de la nefrona no está sujeta a regulación hormonal. Por otra parte, la absorción del restante 15% ocurre por absorción facultativa en el túbulo contorneado distal y en el túbulo colector, y está controlada por diferentes hormonas. Pudiera pensarse que el 15% del filtrado es una cantidad poco significativa, no obstante se trata de 27L en 24 horas, mismos que son recuperados de manera variable bajo acción hormonal dependiendo del estado de hidratación del individuo (Guyton,1997; Mancilla,1997; Rhoades y Tanner,1997).

La absorción facultativa de agua está determinada por la permeabilidad que tienen los túbulos colectores a la misma; lo que depende de manera importante del número existente de moléculas de *acuaporinas*, que son proteínas transmembranales que actúan como canales en las células epiteliales del túbulo colector. Las vesículas con acuaporinas son producidas en el aparato de Golgi del epitelio del túbulo colector y se encuentran de manera normal en la membrana de estas células. Cuando se requiere una mayor absorción de líquido, como en casos de deshidratación o hemorragia, la hormona antidiurética (HAD) o vasopresina, que es sintetizada en las neuronas magnocelulares de los núcleos hipotalámicos paraventricular (NPV) y supraóptico (NSO), es liberada a la circulación por las terminales axónicas de estos núcleos en la hipófisis posterior (Share y Schneider, 2000; Martínez, Meléndez y Reyes,1997).

La liberación de HAD se produce como respuesta del sistema nervioso a la activación de los osmoreceptores en el SNC y en el aparato yuxtaglomerular antes descrito. Al llegar a su órgano blanco, la HAD se une a su receptor en el epitelio del túbulo colector y, mediante la activación de la vía del AMPc como segundo mensajero, las acuaporinas que permanecen en vesículas en el citoplasma celular, son incorporadas a la membrana plasmática. Como consecuencia del incremento en el número de acuaporinas en las membranas de las células epiteliales del túbulo colector, este aumenta su permeabilidad al agua y, en ausencia del ligando (HAD), las acuaporinas adicionales son retiradas de la membrana por proceso de endocitosis (Fox, 1999; Sladek, 2000).

III. OSMORRECEPTORES Y BARORRECEPTORES

La HAD es liberada a la circulación en respuesta a una disminución en el volumen de líquido circulante, o bien un incremento en la osmolaridad plasmática. Para determinar la cantidad y propiedades del plasma sanguíneo, el organismo cuenta con receptores especializados que son sensibles a los cambios en la osmolaridad del plasma denominados *osmoreceptores* (Fox, 1999; Share y Schneider, 2000).

Asimismo, el organismo posee mecanismos sensibles a las variaciones de presión ejercida sobre las arterias, misma que aumenta o disminuye en función del volumen circulante, a los que se llama barorreceptores. Ambos sistemas, por mecanismos distintos son capaces de registrar los cambios en el volumen sanguíneo y, consecuentemente en la PAS.

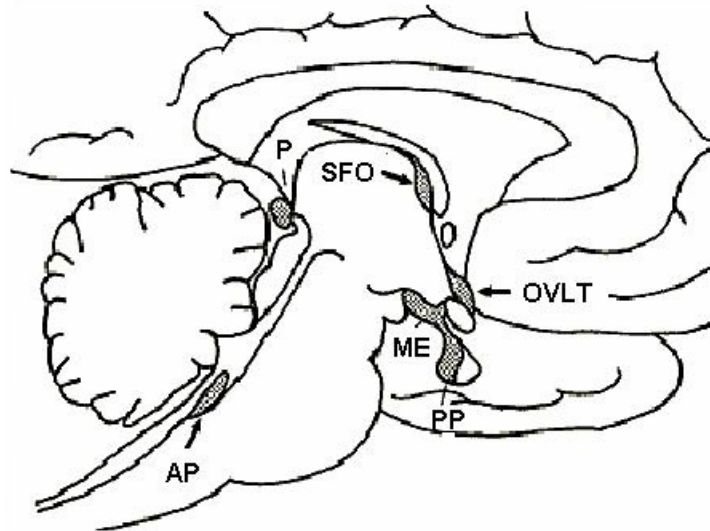


Figura 3. Localización de algunos órganos circumventriculares en el cerebro humano
AP : área postrema, ME: eminencia media, OVLT: órgano vasculoso de
lamina terminal, P:glándula pineal , PP: pituitaria posterior , SFO : órgano
del subfornix (tomado de Saper y Breder, 1994).

Los receptores de presión y osmolaridad se encuentran localizados en sitios estratégicos, los primeros en el seno carotídeo, arco aórtico y en las células de la mácula densa del aparato yuxtglomerular del riñón; mientras que los osmoreceptores se encuentran en algunos sitios del sistema nervioso central desprovistos de barrera hematoencefálica que por su localización, son denominados órganos circumventriculares, de los cuales están directamente involucrados en la osmorrecepción: el órgano vasculoso de la lámina terminal (OVLT), el órgano del subfornix (OSF), y los núcleos hipotalámicos paraventricular (NPV) y supraóptico (NSO) (Fox,1999; Rowland, Fink, Rubin,1991)(Figura 3). Actualmente se acepta que los barorreceptores son activados por modificaciones súbitas de la PAS, como ocurre durante los cambios abruptos de posición o bien durante la pérdida aguda de volumen por hemorragia (Fox,1999). En tales circunstancias la estimulación de los receptores se transmite al sistema nervioso central por el nervio glosofaríngeo (IX par craneal), en particular al núcleo del haz solitario (NHS). Este envía fibras al núcleo dorsal del vago (X par craneal), sitio en donde se localizan las neuronas preganglionares que determinan el tono de la musculatura lisa vascular. En condiciones de hipovolemia real o relativa el tono arteriolar se incrementa y, el aumento de las resistencias vasculares así obtenido resulta en una elevación de la PAS (Sved, 1999).

IV. EJE RENINA – ANGIOTENSINA - ALDOSTERONA

Además de la liberación de hormona antidiurética HAD, también conocida como vasopresina (VP), otro de los mecanismos que contribuyen a la regulación del volumen circulante y en consecuencia a la presión arterial, es el eje endocrino de la renina-angiotensina-aldosterona. Este sistema se activa por la estimulación de los osmorreceptores renales de la mácula densa en el aparato yuxtaglomerular (Share y Shneider, 2000).

Cuando existe una disminución real en el volumen sanguíneo por hemorragia o deshidratación o cuando el riñón recibe una menor cantidad de sangre (mimetizando una disminución en el volumen), este cambio es detectado por las células de la mácula densa que funcionan como transductores mecánicos en la pared del túbulo contorneado distal. Como respuesta a esta señal, las células endocrinas del aparato yuxtaglomerular liberan renina, que es una aspartil proteinasa sintetizada inicialmente como preprorenina y que, mediante dos remociones sucesivas de aminoácidos se activa (Figura 4)(Gangully, 2000; Share y Shneider, 2000).

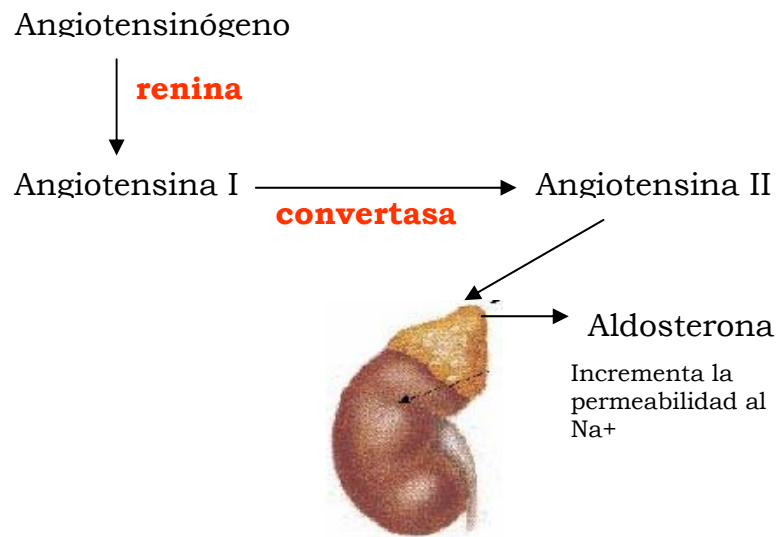


Figura 4. El sistema renina-angiotensina-aldosterona es activado en el riñón como respuesta a la disminución en el volumen sanguíneo.

La liberación de renina es multidependiente, y puede inducirse por factores adicionales a los cambios en la presión arterial. Así, la renina puede liberarse al torrente sanguíneo debido a la activación del sistema nervioso simpático o en respuesta a ciertas hormonas en la circulación. Los eventos que inhiben su liberación son el incremento de la presión arterial (hipertensión), el aumento en el volumen extracelular (intersticial), los niveles elevados de AT II, de factor natriurético auricular, la HAD y la estimulación α adrenérgica. En contraste, los eventos que estimulan su liberación son el decremento de la presión arterial (hipotensión), el decremento del líquido extracelular, la hormona ACTH y la estimulación β adrenérgica (Norman y Litwack, 1997).

Una vez en el torrente sanguíneo, la renina hidroliza al angiotensinógeno que es un decapeptido de origen hepático. La acción de la renina sobre el angiotensinógeno genera a la hormona Angiotensina I (AT I), posteriormente la enzima convertasa de angiotensina (ECA) localizada en la membrana de las células endoteliales, convierte la AT I en Angiotensina II (AT II) que es el octapeptido de forma biológicamente activa (Figura 4). La AT II actúa sobre diversos órganos blanco entre los que se encuentran el músculo liso de arterias y arteriolas, la zona glomerulosa de la corteza suprarrenal y las células del túbulo contorneado proximal, en donde produce vasoconstricción, estimula la liberación de aldosterona y promueve la reabsorción de sodio, respectivamente. Estos efectos condicionan un incremento del volumen hídrico extracelular y, por ende, contribuyen al incremento de la PAS. Además de los efectos antes mencionados, la AT II favorece la actividad del intercambiador de iones Na:H en el túbulo proximal, inhibe la liberación de renina, así como la liberación de norepinefrina de las terminales nerviosas periféricas y de epinefrina por la médula suprarrenal. Además, AT II induce la liberación de ACTH y HAD por la hipófisis (Gangully, 2000; Share y Shneider, 2000).

La aldosterona, el componente final del eje, es una hormona esteroide que se sintetiza en las células de la capa *glomerulosa* de la corteza suprarrenal. Su síntesis es promovida en respuesta a la unión de la AT II con su receptor en el citoplasma de estas células. La asociación de la hormona con el receptor actúa como factor de transcripción para diversas proteínas, tales como la Na/K ATPasa y los canales de sodio, cuya acción general es incrementar el transporte de sodio hacia el líquido intersticial, es decir, fomentan la absorción de sodio favoreciendo como consecuencia la retención de agua (Gangully, 2000; Share y Shneider, 2000).

V. CONTROL NEURAL DE LAS RESISTENCIAS PERIFÉRICAS

Además de los osmorreceptores, el organismo cuenta con otro tipo de receptores sensibles a los cambios en el volumen de líquido circulante que se localizan en las paredes vasculares del arco aórtico y seno carotídeo, llamados barorreceptores; a diferencia de los osmoreceptores que son sensibles a los cambios en la composición del plasma, estos receptores son sensibles a la distensión de las paredes vasculares, actuando como mecanorreceptores (Fox, 1999; Sved; 1999; Rhoades y Tanner, 19997). Cuando existe un incremento en la PAS, esto estimula a los barorreceptores, que incrementan sus potenciales de receptor a través de la fibra sensorial. A la inversa, una disminución de la PAS por debajo del rango normal, hará que la distensión disminuya produciendo un decremento en la frecuencia de los potenciales de receptor. Esta información generada por los barorreceptores asciende por los nervios vago y glossofaríngeo hasta el bulbo, en particular al núcleo del haz solitario (NHS) que dirige al sistema nervioso autónomo a dar una respuesta acorde a la demanda.

En el bulbo, los *centros de control vasomotores* modifican, mediante respuestas de vasoconstricción o vasodilatación, regulan el grado de resistencia vascular periférica. Adicionalmente, los centros de control cardiaco localizados también en el bulbo, regulan la frecuencia cardiaca en mayor medida mediada por el sistema nervioso autónomo (simpático y parasimpático)(Fox, 1999; Sved,1999). Por ejemplo, cuando se pasa de decúbito a la posición de pie hay un desplazamiento de 500 a 700ml desde las venas torácicas hacia aquellas de las extremidades inferiores, las cuales se expanden para recibir el volumen que se redistribuye; en consecuencia sobreviene una reducción del retorno venoso, resultando en un decremento del volumen sistólico y por ende de la PAS. Esta reducción en la PAS activa a los barorreceptores así como a sus vías centrales, trayendo como respuesta la inhibición de la actividad nerviosa parasimpática (vasodilatación), y en paralelo la activación simpática (vasoconstricción), compensando casi inmediatamente el cambio en la PAS.

La activación simpática produce asimismo, un incremento en el ritmo cardiaco que contribuyen a mantener una presión arterial adecuada en la posición de pie. La respuesta inversa, también está mediada por la acción del reflejo de barorrecepción; es decir, cuando la PAS se eleva por encima de los rangos normales, el sistema parasimpático promueve el enlentecimiento del ritmo cardiaco (Sved, 1999). Otros reflejos importantes que participan en

la regulación de la PAS son aquellos iniciados por los receptores de estiramiento localizados en las aurículas. Estos receptores son activados por el aumento en el retorno venoso, y en respuesta, estimula el reflejo de taquicardia por activación simpática, además de inhibir la liberación de HAD lo cual resulta en una mayor excreción de líquido por la orina y un descenso en el volumen circulante. Una tercera acción resultante de la activación de los receptores auriculares, es la promoción de la liberación del factor natriurético auricular, que disminuye el volumen sanguíneo por inducción del incremento de la eliminación de sodio en la orina y excreción de agua, así como por antagonizar las acciones de la AT II (Fox, 1999).

VI. MODELOS EXPERIMENTALES DE HIPERTENSIÓN ARTERIAL

VI A. MODELOS CRÓNICOS DE GOLDBLATT

Como hemos visto, las variaciones en la perfusión sanguínea del riñón se acompañan de fenómenos hormonales compensatorios. De tal manera que la obstrucción mecánica de una o ambas arterias renales, es interpretada por este órgano como una deficiencia sistémica en la perfusión sanguínea, y si este estímulo es sostenido, desencadena la activación del eje renina-angiotensina-aldosterona que culminan con la instauración de una hipertensión crónica conocida como hipertensión renovascular secundaria.

La utilización de estos métodos experimentales para la inducción de hipertensión se inició con estudios clásicos realizados por Goldblatt y sus colaboradores en 1934. Estos investigadores implantaron dos modelos de hipertensión en el perro. El primero, se obtiene mediante la extirpación de uno de los riñones y la oclusión de la arteria renal del riñón restante, este modelo se denominó como “un riñón y un clip”. El segundo consiste en la oclusión de la arteria renal de uno de los riñones, mientras que el otro riñón permanece intacto, a este se le conoce como modelo “dos riñones y un clip”, mismo que se utilizó en este trabajo (Brenner y Rector, 1991; Villareal, 1981).

La disminución del flujo en una (o ambas) arteria renal, causa elevación inmediata de la PAS, así como aumento en la secreción de renina y aldosterona. Después de días a semanas, el cuadro hipertensivo progresa; en el modelo de “dos riñones y un clip”, la PAS se eleva después que uno de los riñones ha sido ocluido, acompañándose de elevación en los niveles de renina y aldosterona en el plasma. Resulta interesante la observación de que el contenido de renina en ambos riñones sea diferente, teniendo valores más elevados el riñón

ocluido que el opuesto; lo cual indica no sólo un incremento en su síntesis, sino también en su liberación. Adicionalmente, se sabe que en el modelo de “dos riñones y un clip” la infusión prolongada de ATII potencia la acción de la aldosterona, hormona que promueve la retención de sodio y la sensibilización del sistema nervioso simpático. De modo que ambos factores, la AT II y la sensibilización del sistema nervioso simpático son suficientes para la instauración y progresión de la hipertensión crónica (Brenner y Rector,1991;Villareal, 1981).

VI B. MODELOS AGUDOS

VI B 1) Mecanismo de acción de la fenilefrina

La administración parenteral de fármacos con efecto hipertensor, constituye una estrategia experimental para el estudio de los mecanismos centrales involucrados en la hipertensión. Así, la hipertensión puede inducirse de manera aguda mediante el uso de diversos fármacos como la fenilefrina (FE), un agonista α_1 - adrenérgico que mimetiza las acciones naturales de las catecolaminas, adrenalina y noradrenalina (García-Sáinz, Vázquez-Prado y Villalobos –Molina, 1999; Graham, Hofman y Sved, 1995; Piascik y Perez, 2001). Por ser un agonista α_{1A} – adrenérgico, la FE se une al receptor que corresponde a las catecolaminas en el músculo liso vascular. El receptor pertenece a la subfamilia de receptores adrenérgicos de siete dominios transmembranales acoplados a proteínas G (García-Sáinz *et al.*, 1999; Piascik y Perez, 2001). La unión del ligando con su receptor, ocasiona que la proteína G asociada al receptor, active a la fosfolipasa C; ésta cataliza el rompimiento del fosfatidilinositol 4-5 bifosfato (PIP₂) para generar dos productos: el inositol trifosfato (IP₃) y diacilglicerol (DG). El IP₃ se une a los canales de calcio del retículo sarcoplásmico y produce liberación citoplásmica de calcio que provoca contracción muscular. A la par el DG activa a la proteína cinasa C (PKC) que fosforila otras proteínas activadoras de la transcripción de genes. Se ha documentado que la PKC promueve la sensibilización de los filamentos contráctiles al calcio (Alberts, Bray, Lewis, Raff, Roberts, Watson,1994; García-Sáinz *et al.*1999; Hwa, De Young, Perez y Graham,1996).

De manera general, los receptores adrenérgicos participan en procesos fisiológicos tales como la modulación del metabolismo hepático, la contracción cardiaca, el control del tono vascular, la regulación de la actividad de la musculatura lisa del sistema genitourinario y la neurotransmisión simpática (García-Sáinz *et al.*1999).

VII. ÁREAS CEREBRALES INVOLUCRADAS EN EL CONTROL DE LA PRESIÓN ARTERIAL

La inducción farmacológica de hipertensión ha permitido demostrar la presencia de neuronas que responden a cambios en la PAS en diversas áreas del SNC. Los sitios de distribución incluyen al núcleo del haz solitario (NHS), el bulbo ventrolateral caudal y rostral (BVLC, BVLR), el núcleo parabraquial lateral (NPB), el área postrema (AP), la sustancia gris periacueductal, así como núcleos específicos de la amígdala, el hipotálamo y el septum; además del órgano subfornical (OSF), el órgano vasculoso de la lámina terminalis (OVL) y diversas áreas neocorticales (Graham, Hofman y Sved, 1995).

Particularmente se piensa que los grupos neuronales directamente involucrados en los reflejos mediados por los barorreceptores son el NHS, BVLC y BVLR, puesto que se sabe que estos núcleos controlan el tono vasomotor simpático, ya que la lesión de estas áreas es suficiente para bloquear tal reflejo. Además otros estudios han demostrado que la información de barorrecepción recibida por el NHS es relevada a través de BVLC y BVLR hacia las neuronas preganglionares simpáticas en la médula espinal, las cuales proveen de tono a la musculatura lisa de las arterias (Graham *et al.* 1995). El papel que desempeñan otros grupos neuronales barosensibles en el tallo cerebral y regiones anteriores del encéfalo no está claro, aunque se piensa que algunos de ellas están involucrados en el control de la liberación de ciertas hormonas relacionadas con la regulación del volumen plasmático como la HAD.

La inducción farmacológica ha sido acoplada a las técnicas inmunohistoquímicas para la detección de genes tempranos ha sido ampliamente utilizada para el estudio de zonas cerebrales que se activan ante diversos estímulos entre ellos, la hipertensión. Los proto-oncogenes comúnmente utilizados pertenecen a la familia de genes *fos*, que codifican para factores que transcriben otros genes tardíos que llevan a la célula a una adaptación a la estimulación que difiere de su actividad basal.

Utilizando esta metodología, Graham *et al.* (1995) indujeron hipo e hipertensión (a ratas) por 90 minutos, administrándoles hidralazina (HDZ) y FE, fármacos vasodilatador y vasoconstrictor respectivamente. Ellos encontraron, células inmunoreactivas a c-Fos en el NHS, AP, BVLC y BVLR, NLST, la amígdala, NPV, NSO, OSF y las islas de Calleja. Además, resultó interesante que el número de neuronas reactivas fuera mayor en el tratamiento hipotensor que en condiciones de hipertensión. Complementariamente, en los animales tratados con FE se encontró un incremento en el número de células positivas en

dos regiones proscencefálicas: el NPV y la amígdala. Las células de estas mismas regiones se activaron también con el tratamiento de HDZ, llamando la atención que el número de células positivas a c-Fos fue mayor con el tratamiento hipotensor respecto al hipertensor. Este grupo de investigadores reportó que en las ratas tratadas con FE, las células positivas a c-Fos en el PVN, se distribuyeron de manera difusa con una menor respuesta a c-Fos en las divisiones caudal, lateral, parvocelular y periventricular del núcleo; sin embargo, el número de células que expresaron c-Fos en el PVN con el tratamiento de FE fue muy variable, predominando la innumoreactividad débil. En contraste, las células marcadas con c-Fos fueron muy evidentes en las regiones parvocelular y magnocelular del PVN en el tratamiento hipotensor. Estas áreas corresponden a poblaciones de neuronas oxitocinérgicas y vasopresinérgicas dentro del NPV (Graham *et al.*1995).

En este mismo trabajo se reportó que en la región amigdalina, la activación de c-Fos estuvo confinada al NCEAI en ambos tratamientos; aunque no hicieron una comparación sistemática respecto a la intensidad obtenida entre los tratamientos. Otras regiones proscencefálicas que mostraron también actividad de c-Fos en ambos tratamientos fueron el NSO en donde se encontró expresión difusa, por lo que los autores sugieren que células liberadoras de oxitocina (OT) y VP, pudieran estar involucradas en la respuesta endocrina a las variaciones en la PAS (Graham *et al.*1995). En el mismo estudio, también pudo observarse actividad de c-Fos en el hipotálamo lateral, NLST y el septum lateral en ambos tratamientos, siguiendo el patrón de mayor número celular en los animales con hipotensión. Por otra parte, el núcleo arcuato y OSF, mostraron un incremento significativo en la expresión de c-Fos sólo en los animales con infusión de HDZ. Asimismo, expresaron c-Fos en ambas condiciones algunas áreas neocorticales como el cíngulo medial.

Siguiendo el protocolo de inducción farmacológica de hipertensión y determinación inmunohistoquímica de proto-oncogenes, Potts, Polson, Hirooka y Dampney (1996) trataron a conejos intactos y barodenerados (del seno aórtico) con una solución de FE produciendo un incremento tensional de 20 a 30 mmHg por 60 minutos. Ellos observaron activación de c-Fos en la sustancia gris periacueductal, en el NHS y BVLR; en el NSO, NPV, núcleo preóptico medial y núcleo arcuato en el hipotálamo, así como en el NCEAI y NLST; lo que es acorde con lo encontrado en por otros autores en rata.

En un tercer estudio más reciente (Grindstaff, Grindstaff, Sullivan y Cunningham, 2000) se administró FE intravenosa hasta incrementar la PAS 40-50 mm Hg durante 2 horas a ratas intactas y denervadas del seno aórtico, encontrando activación de c-Fos en NHS,

BVLC, NPB y locus coeruleus (LC) en los animales intactos. En apoyo a este estudio, Cunningham, Grindstaff, Grindstaff y Sullivan (2002), encontraron un incremento en el número de neuronas positivas a c-Fos en la banda diagonal de Broca y zona perinuclear del NSO en ratas intactas tratadas con FE respecto a las barodenervadas del seno aórtico; se piensa que estas últimas regiones están involucradas en la regulación barorreceptora de las neuronas vasopresinérgicas del núcleo supraóptico.

VIII. ANATOMIA DE LOS NÚCLEOS LECHO DE LA ESTRÍA TERMINAL

Con base en la información previamente esbozada, puede deducirse que las modificaciones de la PAS provocan activación de un buen número de áreas y núcleos del encéfalo. Entre estas estructuras destacan el NHS, AP, BVLC y BVLR, NSO y NPV del hipotálamo, el OSF, las islas de Calleja y, recientemente se ha involucrado a los NLST que son de interés para este trabajo debido a los estudios que existen sobre su conectividad con estructuras involucradas en el control de la PAS, que se detallarán en párrafos siguientes. Previa descripción del NLST, debemos referirnos a la amígdala debido a la estrecha relación que guardan.

Desde hace al menos tres décadas, es sabido que la amígdala está implicada en procesos neurales que involucran patrones conductuales complejos tales como la ingesta de agua y alimento, la repuesta de defensa ante el peligro, la respuesta a estímulos sexuales y el aprendizaje (De Olmos e Ingram,1972). Asimismo, se sabe que la amígdala recibe y procesa información proveniente de los sistemas olfatorios principal y accesorio. La estría terminal constituye un gran haz de fibras que lleva información aferente y eferente desde las diferentes regiones amigdalinas hacia regiones diversas del encéfalo como el núcleo acumbens, el núcleo arcuato, el tálamo medial y el hipotálamo (anterior y lateral). La estría terminal también envía y recibe información de estructuras del tallo cerebral, como el NPB, LC, NHS, el núcleo motor del vago, la sustancia gris periacueductal, el bulbo ventrolateral, por lo que se piensa pudiera de algún modo mediar las respuestas emocionales con las autonómicas. Por otra parte, las conexiones antes mencionadas presentan una distribución topográfica, de modo que las eferencias que emergen de regiones centrales de la amígdala alcanzan estructuras hipotalámicas, pontinas y bulbares; mientras que las eferencias de la región lateral amigdalina llegan a regiones del hipotálamo medial. Se ha propuesto que existe una especialización en ambas divisiones, argumentando que la región central participa en

funciones psicomotoras y autonómicas, entretanto la región lateral pudiera participar en procesos psicoendócrinos (Alheid, De Olmos y Beltramino, 1995).

Anatómicamente, los NLST pueden definirse como aquellos grupos celulares inmersos en las fibras de la porción septal de la estría terminal y que reciben aferencias directas de la amígdala (Ju y Swanson, 1989). Los NLST poseen una población predominantemente gabaérgica (Day, Curran, Watson y Akil, 1999) y están divididos en áreas posterior y anterior. El área anterior puede a su vez ser parcelada en áreas anterodorsal, anterolateral y anteroventral (Ju y Swanson, 1989). En el área anterolateral se localizan los núcleo romboide, yuxtacapsular y oval (NLSTov), este último de interés para este trabajo. La parcelación general de los NLST pueden resumirse en la tabla 1 (ver figura 5).

Núcleos lecho de la Estría terminal	División Anterior	Área anterodorsal	
		Área anterolateral	n. oval n.yuxtacapsular n.romboidal
		Área anteroventral	zona subcomisural n.fusiforme n.dorsomedial n.dorsolateral n.magnocelular n.ventral n.relacionados
	División Posterior	n.principal n.interfascicular n.transverso n.premedular n.dorsal zona de células esparcidas grupos celulares relacionados	

Tabla 1. Parcelación de los núcleos del lecho de la estría terminal.

Se ha documentado que existe complementariedad anatómica y funcional entre el NCEAI y los NLST (Swanson y Petrovich, 1998; Day *et al.* 1999) ya que ambas estructuras comparten características citológicas, además de que las dos áreas se han asociado a la iniciación e integración de respuestas conductuales y emocionales asociadas a fenómenos como la ansiedad, el miedo y el estrés.

Paralelamente, se ha propuesto que la división lateral del NCEAI y el NLSTov son estructuras semejantes ya que comparten el fenotipo predominantemente gabaérgico, así como distribución tipográfica celular (Day *et al.* 1999). Otros argumentos que sostienen la semejanza y relación entre el NCEAI y el NLSTov, es el hecho de que ambas estructuras poseen aferencias y eferencias comunes. Por ejemplo, se sabe que ambos núcleos tienen conexiones recíprocas con el NPB y el NHS. Además, en estudios que describen la co-distribución peptídica entre NCEAI y NLSTov, se ha encontrado que además de tener poblaciones gabaérgicas, estas neuronas sintetizan a la vez encefalinas, neurotensina y hormona liberadora de la corticotropina (CRH) (Day *et al.* 1999; Ju, Swanson y Simerly, 1989 B). Se han señalado que los NLST desempeñan un papel importante en la coordinación de respuestas neuroendocrinas, autonómicas y somatomotoras asociadas a conductas de tipo emocional o afectivo. Se sabe además que los NLST reciben numerosas aferencias organizadas topográficamente de la mayoría de las áreas amigdalinas, y que los NLST a su vez proyectan a sitios tales como el núcleo acumbens, la sustancia innominata, el hipotálamo, los núcleos talámicos de la línea media, así como a núcleos del tallo cerebral involucrados en actividades autonómicas y somatomotoras (Dong, Petrovich, Watts, y Swanson, 2001).

El NLSTov junto con el núcleo fusiforme (localizado en el área anteroventral de los NLST) poseen ambas poblaciones celulares gabaérgicas, muchas de las cuales expresan también CRH, hormona estrechamente relacionada con la respuesta al estrés. Este hecho resulta muy interesante debido a que algunos grupos neuronales que no están documentados como típicamente neuroendocrinos, pero que sintetizan CRH, han sido implicados en las respuestas conductuales al estrés, el miedo y la ansiedad. Por ejemplo, se ha visto que la infusión de CRH en el ventrículo lateral produce efectos similares a aquellos asociados al condicionamiento aversivo y que la misma infusión hecha específicamente en los NLST, que ciertamente posee neuronas que sintetizan CRH, semeja algunos de estos efectos. En concordancia con lo anterior, las lesiones hechas en la parte lateral de la estría terminal, área donde se encuentran los núcleos oval y fusiforme, atenúa los efectos de la

infusión ventricular de CRH. También resulta interesante que la parte lateral del NCEAI, proyecte de manera densa y selectiva al NLSTov y al núcleo fusiforme, núcleos con quienes guarda semejanza en cuanto a características fenotípicas celulares (neuronas gabaérgicas que expresan CRH). Mas aún, es de llamar la atención que la expresión del RNA mensajero de CRH en las tres áreas (NCEAI, NLSTov y núcleo fusiforme) esté presumiblemente regulada por la corticosterona. Los hallazgos anteriores sugieren que los tres núcleos en conjunto, pudieran formar parte de un circuito sensible a la regulación por esteroides que esté involucrado en la regulación de las respuestas de salida (eferentes) de la parte medial del núcleo central de la amígdala (Dong *et al.*2001).

Aun cuando se tienen pocos indicios sobre la función de las distintas poblaciones peptidérgicas de NCEAI, NLSTov y núcleo fusiforme, se piensa que la activación conjunta de los tres grupos celulares pudiera constituir una acción sinérgica de los mismos en funciones regulatorias autonómicas en respuesta a procesos estresantes índole inmunológica y cardiovascular (Curtis, Bello, Connolly y Valentino, 2002; Day *et al.*1999).

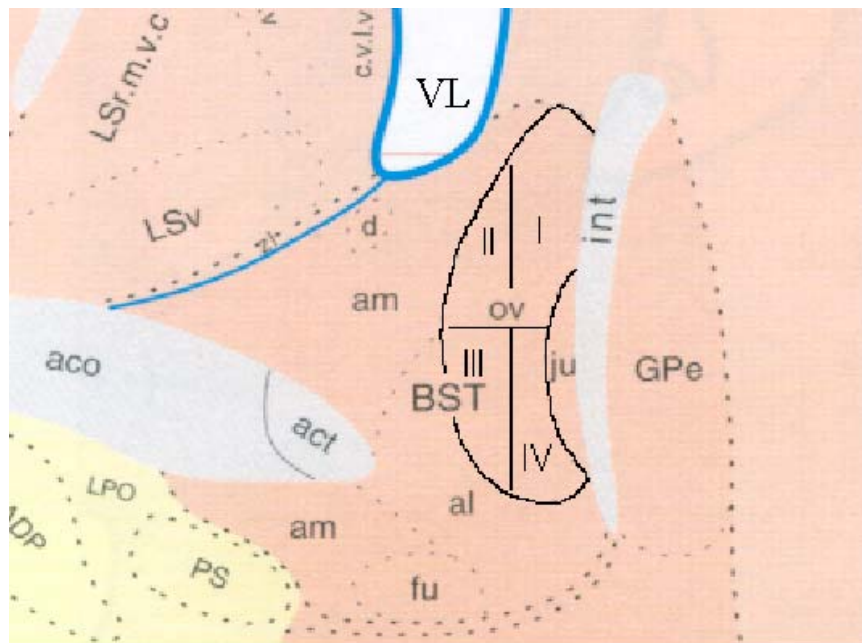


Figura 5. Esquema de un corte coronal de encéfalo de rata adulta (bregma – 0.26), (tomado de Swanson L, 1996) aco: comisura anterior, limbo olfatorio; act: comisura anterior, limbo temporal; int: cápsula interna; Gpe: globo pálido externo; d: parte dorsal del núcleo endopiriforme; BST: núcleos lecho de la estría terminal ; am: área anteromedial; al: área anterolateral ; fu: núcleo fusiforme; ju: núcleo yuxtacapsular ; PS: núcleo paraestrial; LPO: área preóptica lateral; LSv: núcleo septal lateral;. ov: núcleo oval; VL: ventrículo lateral; zl: zona limitans. El núcleo oval se dividió en cuadrantes para fines de este trabajo.

Por otra parte, resulta interesante que en algunos modelos animales de hipertensión e incluso en pacientes con hipertensión arterial primaria, se encuentren niveles plasmáticos altos de CRH y expresión concomitante de esta hormona en áreas cerebrales como el NPV (Krukoff, MacTavish y Jhamandas, 1999; Goncharuk, Van Heerikhuize, Swaab y Buijs, 2002; Potts *et al.* 1999; Philips, 2001). De este modo, CRH pudiera participar en los mecanismos relacionados con el control cardiovascular y basándose en sus características citológicas y sus conexiones anatómicas, pudiera pensarse que tanto NCEAI y especialmente NLSTov pudieran participar en la regulación de la PAS.

IX. El Factor liberador de la Corticotropina y el estrés

Aunque la observación de las conductas emocionales humanas comparables al estrés se iniciaron desde tiempos de Aristóteles (Hauger y Dautzenberg, 2000), fue Walter Cannon el primero en describir la respuesta del organismo ante un estímulo estresante. Cannon hizo referencia a la famosa reacción de “ataque o huida”, en la cual un estímulo estresante desencadenaba la liberación de epinefrina por la médula adrenal y de norepinefrina por las terminales simpáticas; tal hipótesis involucró entonces a los mecanismos fisiológicos y endocrinos desencadenados en situaciones estresantes de corta duración. Posteriormente Hans Selye describió la respuesta al estrés crónico en humanos, que se iniciaba con el alertamiento del sistema nervioso autónomo y el sistema neuroendocrino para promover los procesos indispensables para la supervivencia del individuo (Hauger y Dautzenberg, 2000).

Actualmente, se considera un estímulo estresante aquel evento físico o psicológico que rompe la condición de equilibrio u homeostasis de un organismo. Un estímulo estresante físico impone un reto tangible al organismo tal como ocurre durante la hemorragia, la hipoglicemia, los traumatismos físicos o ante condiciones ambientales extremas. Por otra parte, los eventos estresantes de índole psicológica pueden ser estímulos con carga emocional intensa (por ejemplo, los miedos y las aversiones), que perturban los procesos cognoscitivos y emotivos que tienen lugar en el cerebro.

Aunque distintos, ambos tipos de estímulos activan las respuestas neuroendocrinas típicas del estrés, con el objetivo de reestablecer el equilibrio (Hauger y Dautzenberg, 2000). Entre las respuestas fisiológicas al estrés se encuentran la activación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenales (HHS), casi completamente descrito por Selye, a excepción del factor liberador de la corticotropina (CRH), que es sintetizado por neuronas parvocelulares del NPV

(Hauger y Dautzenberg, 2000).

El CRH actúa sobre un grupo particular de neuronas (los corticotropos) del lóbulo anterior de la hipófisis induciendo la secreción de ACTH (hormona adrenocorticotropina) al torrente sanguíneo. Al llegar a la glándula suprarrenal, la ACTH estimula la secreción de cortisol por las células secretoras de la *zona fasciculata* de la corteza suprarrenal (Fox, 1999). Los niveles elevados de cortisol actúan como un mecanismo de retroalimentación negativa, inhibiendo a los centros secretores de CRH y ACTH en el hipotálamo e hipófisis respectivamente. A nivel celular el cortisol libre se une a su receptor esteroideo localizado en el citoplasma o en el núcleo de las células blanco. Ahí, el complejo hormona-receptor se une a regiones específicas del ADN promoviendo o inhibiendo la síntesis de ciertas proteínas. Por ejemplo, en algunas células acelera la velocidad de transcripción de gen que codifica para la lipocortina, una proteína inhibidora de la inflamación; en otras células del hipotálamo, el cortisol se une al ADN inhibiendo la transcripción de CRH.

A nivel metabólico, el cortisol es un modulador del efecto de otras hormonas; interviene en el metabolismo de los carbohidratos, mantiene los niveles de glucosa favoreciendo la glucogenólisis (desboblamiento de glucógeno) y la gluconeogénesis (generación de nueva glucosa). También participa en el metabolismo de las proteínas, aumentando la degradación de las proteínas musculares para la síntesis de glucosa; estimula la lipólisis en los miembros y la acumulación de grasa en el tronco y cara; suprime la secreción de hormonas hipofisarias (ACTH, LH, FSH, TSH y GH), disminuye la excreción de sodio y agua al inhibir la filtración glomerular, disminuye la absorción de calcio por el intestino y aumenta su pérdida por el riñón (Debusse, 1998).

El concepto de estrés puede también representar la sobreactivación de los sistemas corporales; ya que tal estado puede producir desordenes como ansiedad, depresión y en casos de estrés severo, daño físico como hipertrofia suprarrenal o ulceración gástrica (Koob, 1999). Los mecanismos neurofisiológicos desencadenados por el estrés involucran como ya se dijo al eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenales (HHS); sin embargo, se piensa que existen sistemas proencefálicos de CRH y norepinefrina que actuando en paralelo con el sistema HHS, pudieran integrar los componentes cognoscitivo y conductual a los mecanismos del estrés. Por ejemplo, se ha documentado la existencia de neuronas inmunoreactivas a CRH en sitios como el NCEAI, NPB, NLST, así como en regiones del locus coeruleus y el bulbo olfatorio (Koob, 1999). Complementariamente, se ha encontrado expresión de los dos tipos de receptor a CRH, acoplados a proteínas G en regiones proencefálicas. El receptor tipo 1 se

expresa principalmente en el septum medial, la hipófisis, áreas de la corteza, cerebelo y bulbo olfatorio. Por su parte, el receptor tipo 2 se encuentra distribuido en el septum lateral, hipotálamo ventromedial y plexos coroideos; lo cual sugiere la existencia de otros sistemas CRHérgicos adicionales a los hipotalámicos que pudieran activarse de manera paralela en respuesta al estrés.

X. GENES DE ACTIVACIÓN TEMPRANA

El advenimiento de las técnicas de inmunohistoquímica, ha hecho posible la identificación de ciertas proteínas cuya síntesis se modifica en respuesta a estímulos de índole diversa, tal como la administración de fármacos inductores de hipertensión arterial (Veerasingham, Vahid-Ansari y Leenen, 2000) y estrés (Day *et al.* 1999).

La utilización de la proteína c-Fos como indicador de activación neuronal se basa en que la familia de genes fos (c-fos y fos B, principalmente), se activan de manera rápida ante la presentación de diversos estímulos diferentes de los cotidianos. Debido a que la activación de este grupo de genes, en respuesta a un estímulo desencadenante, ocurre a lo largo de periodos que van desde 30 minutos a 3 horas, se les conoce en conjunto como proto-oncogenes o genes de activación temprana. Los genes fos codifican proteínas que actúan como factores de transcripción de genes tardíos involucrados en cambios a largo plazo, es decir, en las repercusiones fenotípicas del proceso de adaptación al estímulo inicial (Herrera y Robertson, 1996).

De este modo, el gen c-fos codifica para la proteína c-Fos (55 kDa), que al formar dímeros con los miembros proteínicos de la familia de proto-oncogenes Jun (C-jun, JunB y JunD), forman el factor de transcripción conocido como PA-1 (Proteína activadora 1), que dependiendo de las proteínas que lo integren, se une al ADN para promover o inhibir la transcripción de genes tardíos (Kovács, 1998). Se han reportado hallazgos de expresión del gen c-fos en periodos tan tempranos como los primeros 30 minutos a partir de una estimulación, con un máximo de actividad hacia los 90 minutos a partir del inicio de la estimulación (Nestler, Barrot y Self, 2001; Kovács, 1998; Sheng y Greenberg, 1990), mientras que podemos encontrar proteína c-Fos hacia los 45 minutos del inicio del estímulo novedoso, y su desaparición después de 4 hrs del cambio en la actividad basal de la célula. La determinación inmunohistoquímica de los genes o proteínas fos en los procesos de activación neuronal está ampliamente corroborada, ya que la visualización de oncogenes

asociados a la activación celular mediante estas técnicas ha permitido inferir relaciones causales entre una amplia gama de estímulos y las respuestas celulares asociadas a estos (Giovanelli y Bloom, 1992; Veerasingham *et al.* 2000; Day *et al.* 1999; Fitch y Weiss, 2000).

JUSTIFICACIÓN

Numerosas estrategias se han utilizado para diseñar modelos animales de hipertensión, entre estos se encuentran los modelos farmacológicos en que se administran drogas hipertensivas como la FE (Cunningham, Grindstaff y Sullivan, 2002; Veerasingham *et al.*, 2000); el uso de animales genéticamente hipertensos (Krukoff *et al.* 1999; Shid, Chan y Chan, 1996), la hipertensión inducida por inmovilización (Krukoff *et al.* 1999) y los modelos de Goldblatt de uno o dos riñones (Hartle y Brody, 1984; Okuniewski, Jarrot y Widdop, 1998). Aunque todas las estrategias enumeradas son viables para inducir hipertensión arterial, algunas limitaciones de los modelos genéticos es que los animales poseen una hipertensión permanente, que no representa una inducción en algún punto de la vida del animal. Por otra parte, la hipertensión provocada por estrés tiene la desventaja de poseer variables paralelas a la elevación de la PAS, que pueden hacer confusos los resultados. De este modo, el presente trabajo se propuso evaluar la actividad de las neuronas del núcleo oval en un reto fisiológico por hipertensión crónica ocasionada por la obstrucción parcial y unilateral de la arteria renal. Posteriormente, se decidió evaluar la participación del mismo núcleo en un modelo farmacológico de hipertensión administrando FE, un agonista adrenérgico que mimetiza la activación del sistema nervioso simpático ocasionando una hipertensión aguda.

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS DE EXPERIMENTO 1: La hipertensión arterial sistémica inducida por ligadura de la arteria renal activa a las neuronas del núcleo oval de la estría terminal.

HIPÓTESIS DE EXPERIMENTO 2: La hipertensión arterial sistémica inducida por administración intravenosa de fenilefrina activa a las neuronas del núcleo oval.

OBJETIVO

Comparar el número de células con alta inmunorreactividad a la proteína c-Fos en el núcleo oval de la estría terminal entre animales sin hipertensión y con hipertensión de duración larga y corta.

ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

I. Experimento 1, Hipertensión Crónica

Modelo de Hipertensión de Goldblatt “Dos riñones y un clip”

Se utilizaron ratas Wistar macho de diez semanas de edad, y se distribuyeron de manera aleatoria a razón de cinco animales por grupo experimental (n= 5). En todos los casos se indujo anestesia profunda con una mezcla 7:3 xilazina (20mg/1ml)-ketamina(1g/10ml) y se hizo una incisión lumbar de 2 cm. Al grupo asignado como hipertenso, se expuso el riñón derecho y, sin modificar su sitio anatómico, se aplicó una ligadura, hasta reducir en un 80% el diámetro de la arteria renal derecha. La ligadura estaba hecha con hilo de seda no absorbible 4-0 de 8 cm de longitud que tenía en la parte central dos nudos a una separación de 0.94mm. Esta ligadura fue colocada por debajo de la arteria renal, previo aislamiento de la misma. Una vez colocada la ligadura, se tomaron ambos extremos y se desplazó un segundo hilo de seda con un nudo laxo hasta hacer coincidir los nudos de la ligadura. De este modo, se redujo el diámetro original de la arteria a 0.3mm, que en promedio constituye el 20% del diámetro original.

Un procedimiento idéntico se siguió para los animales control, exceptuando la oclusión de la arteria renal. A fin de evaluar los niveles de PAS, se practicaron mediciones en la fase de luz de un ciclo normal (entre 10 y 12 AM), antes y después de la cirugía.

Las determinaciones de la PAS se hicieron diariamente utilizando un manómetro aplicado en la cola; la media aritmética de las mediciones de PAS registradas se graficó posteriormente. Los animales se sacrificaron a dos periodos post-operatorios: 3 y 5 semanas. Solamente se consideraron como hipertensos los animales cuya presión arterial sostenida estuvo en el rango de ≥ 150 mm Hg, tomando en cuenta que los valores basales reportados para ratas adultas es 120 ± 10 mm Hg.

II. Experimento 2, Hipertensión Aguda

Administración Intravenosa de fenilefrina

Diez ratas macho de la cepa Wistar, de nueve semanas de edad fueron habituadas tanto a la manipulación como al manómetro tres días alternados durante la semana previa a ser sometidos a cirugía de implantación del catéter. Durante este periodo, se tomaron mediciones de PAS a fin de obtener registros basales.

Al cumplir la décima semana de vida, bajo anestesia profunda inducida con la misma mezcla 7:3 ketamina-xilazina utilizada en el experimento previo, los animales fueron

implantados con un catéter en la vena yugular externa. Para este fin, se hizo una incisión en el área supraclavicular izquierda, se separaron las fibras musculares del cuello y se aisló la vena yugular izquierda. Una vez aislada, la vena se ligó temporalmente en su porción superior, usando un hilo de seda de 8 cm de longitud. Se colocó por debajo de la vena en su porción inferior, un segundo hilo (8 cm longitud) separado a 0.5cm del primero. Posteriormente se insertó un catéter de polietileno de 12 cm de longitud, 0.58mm de diámetro interno y 0.96mm de diámetro externo (PE50 Intramedic), permaneciendo únicamente 0.5cm dentro de la luz venosa. El hilo superior se desligó y se verificó la permeabilidad del catéter; seguido de esto, ambos hilos,(superior e inferior) se anudaron de manera cruzada repetidas veces. Una vez fijo, el extremo opuesto del catéter se pasó subcutáneamente hasta otra incisión en la nuca del animal. El catéter fue llenado con una solución de 500 UI / ml de heparina en solución salina (0.9% NaCl), a fin de mantener la permeabilidad; finalmente se suturó al animal. La misma solución heparinizada (0.06ml) fue administrada a través del catéter en los dos días post- operatorios asignados a la recuperación de los animales. La infusión de FE se realizó tres días después de la cirugía.

Previo al inicio del experimento, se tomaron tres mediciones de PAS con un intervalo de 5 minutos entre ellas; el promedio de éstas tres mediciones constituye el punto de inicio del experimento. Inmediatamente, se procedió a la infusión de la solución de FE (0.5mg FE /ml salina) a una velocidad de $16.6\mu\text{l} \times \text{minuto}$ durante 50 minutos (Graham *et al.* 1995); los animales del grupo control recibieron la misma dosis de solución salina, exceptuando el fármaco. Las mediciones de PAS se hicieron paralelas al experimento en intervalos de 5 minutos. Al concluir los 50 minutos de infusión, se colocó a los animales en sus cajas en las condiciones basales, sin manipulación durante una hora. Transcurrido este tiempo, se les sacrificó bajo anestesia profunda (ketamina-xilazina) y se procesaron los cerebros según el protocolo que a continuación se detalla.

III. Expresión de la proteína c-Fos

En todos los casos el sacrificio se realizó bajo anestesia profunda (ketamina-xilazina), por perfusión intracardiaca, usando una bomba de perfusión a una velocidad de 45ml/min. Las soluciones administradas fueron 10ml de amortiguador de fosfatos (PBS) 0.1M pH 7.4, seguido de 250ml de paraformaldehído al 4% disuelto en el mismo amortiguador.

El encéfalo completo fue extraído, mediante la remoción de los huesos del cráneo e inmerso en el mismo fijador durante toda la noche. Posteriormente, se obtuvo un bloque coronal de

aproximadamente 0.4 cm de grosor, conteniendo las áreas de interés; este bloque se crioprotegió en sacarosa al 30 % disuelta en agua bidestilada. Se hicieron cortes seriados a 30µm en un microtomo por deslizamiento y los cortes colectaron en pozos con PBS. Una vez obtenidos los cortes que comprendían la región de los NLST, NSO y NPV estos se lavaron en PBS e incubaron con anticuerpos policlonales obtenidos en conejo y dirigidos contra proteína c-Fos, de acuerdo al siguiente protocolo:

- 1) Supresión de la actividad de la peroxidasa endógena y sitios inespecíficos por incubación con peróxido de hidrógeno (peróxido de hidrógeno 30% Baker 2186-01) y albúmina bovina (albumina bovina fracción V, Sigma, A.9418), respectivamente, en una solución H₂O₂ 1%, albumina 2% en amortiguador de fosfatos.
- 2) Incubación con el anticuerpo primario contra c-Fos (c-Fos IgG policlonal hecha en conejo, Sta Cruz Biotech, sc-52) a una dilución de 1:5000 disuelto en amortiguador de fosfatos con 0.52% de detergente Triton 100 (detergente que permeabiliza las membranas celulares permitiendo la entrada de los anticuerpos), durante 16 hrs a temperatura ambiente, ya que este anticuerpo se une a la proteína c-Fos
- 3) Cuatro lavados de 10 minutos en amortiguador de fosfatos con 0.02% de Triton 100. Los lavados tienen la finalidad de eliminar el exceso de reactivos que pueden producir reacciones inespecíficas o fondo oscuro.
- 4) Incubación con el anticuerpo secundario inducido en cabra acoplado a la peroxidasa y dirigido contra inmunoglobulina de conejo (IgG (H+L) biotinilada anti-conejo hecha en cabra, Vector labs, BA-1000) a una dilución 1:200, disuelto en amortiguador de fosfatos con 0.52% de Triton 100 por 1 hora y 30 minutos a temperatura ambiente. El anticuerpo secundario se une al anticuerpo primario por diferencia de especies; el anticuerpo secundario está biotinilado y acoplado a la peroxidasa, de modo que este anticuerpo funciona como amplificador de la señal al unirse en pasos siguientes con el complejo avidina-biotina, también actúa como reactante de las sales de diaminobenzidina al estar acoplado a la peroxidasa.
- 5) 4 lavados de 10 minutos en amortiguador con 0.52% de Triton 100.
- 6) Incubación con el complejo avidina-biotina acoplado a la peroxidasa (Vectastain ABC Kit, Vector labs, PK-6100) disuelto en amortiguador de fosfatos con 0.52% de Tritón 100 por 2 horas a temperatura ambiente, para amplificación de la señal. El complejo avidina-biotina se une a la biotina que posee el anticuerpo secundario y al estar acoplado a la peroxidasa contribuye a la visualización de los sitios reactivos.
- 7) 4 lavados de 10 minutos con amortiguador de fosfatos.
- 8) Visualización de los sitios inmunorreactivos mediante incubación a temperatura ambiente con diaminobenzidina (DAB kit sustrato de peroxidasa, Vector labs, SK-4100) disuelta en agua bidestilada por 10 minutos. La diaminobenzidina constituye el sustrato de la peroxidasa yaciente

en anticuerpo secundario y en el complejo ABC y al reaccionar con esta produce una reacción cromogénica que permite visualizar los sitios donde se encuentra la proteína c-Fos 9) 3 lavados de 10 minutos con amortiguador.

RESULTADOS

I. Hipertensión Crónica

Al iniciar el experimento, se utilizaron 18 ratas macho de la cepa Wistar de ocho semanas de edad, con un peso aproximado de 270 ± 10 g. Los animales se condicionaron a un proceso de manipulación, habituación al manómetro y registro de los valores de PAS durante la novena semana de vida; los valores promedio obtenidos se consideraron basales para el grupo completo. Tanto los valores promedio de la habituación como los posteriores a la cirugía se tomaron por duplicado, a la misma hora del día (en la fase de luz, entre 10 y 12 AM) y se calculó a partir de ellos la media aritmética y la desviación estándar (D.E).

Al inicio de la décima semana de edad, los animales se distribuyeron de manera aleatoria a grupos con cirugía de oclusión (n=10) y grupos de cirugía sin oclusión (n=8).

Después de transcurridos tres días post-operatorios, se reanudaron los registros de PAS.

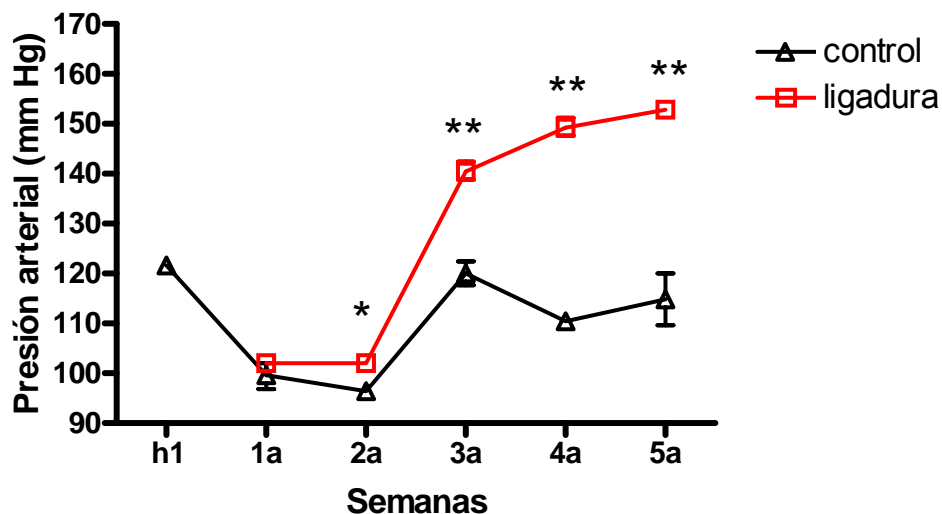
Durante la primera semana de registro, los animales de ambos grupos no mostraron diferencias en los valores de PAS; sin embargo, el grupo con oclusión tuvo valores de PAS significativamente mayores (media= $102.1 \pm$ D.E =0.77) que el grupo control (media= $96.59 \pm$ D.E=3.94) hacia la segunda semana; aunque estos valores no alcanzaron el criterio establecido para considerarlo como hipertensión ($x \geq 150$ mm Hg). Tomando en cuenta que los valores de PAS del grupo con oclusión renal aumentaban gradualmente (media= $140.6 \pm$ D.E=5.65), y habiendo encontrando diferencias con respecto al grupo control (media= $120.1 \pm$ D.E=7.14), 5 animales del grupo con ligadura y 4 animales del grupo control fueron estudiados.

Cumplida la cuarta semana posterior a la cirugía, gran parte de los animales del grupo con oclusión presentó valores de PAS suficientes para cubrir el criterio de hipertensión arterial. Pese a esto, la media aritmética del grupo era inferior a los 150 mm Hg, por lo que se dejó correr una quinta semana, en la que todos los animales con ligadura obtuvieron valores considerados como hipertensión. Se procedió al sacrificio de los 5 animales restantes del grupo con oclusión y los 4 animales del grupo control. La progresión del cambio en los valores de PAS, así como las diferencias entre los grupos se muestran en la Grafica 1.

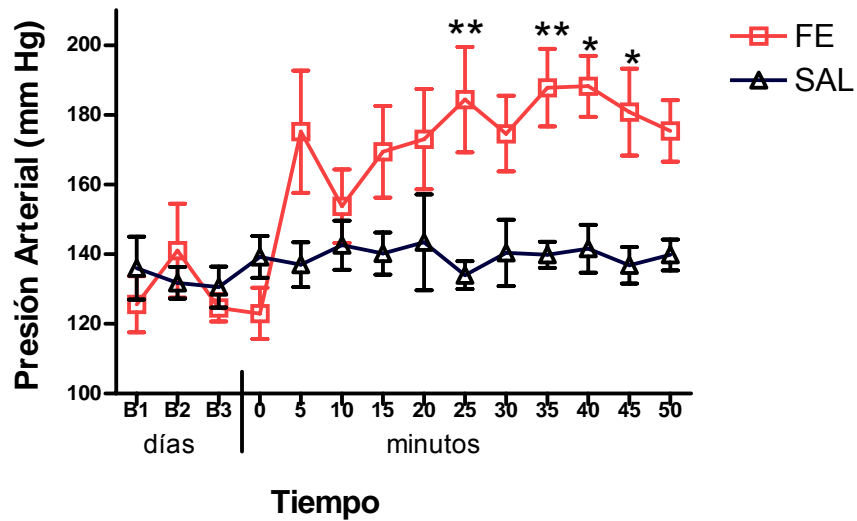
Las diferencias encontradas entre ambos grupos, así como el aumento de los valores de PAS en el grupo con oclusión son acordes con lo reportado en la literatura para el modelo de Goldblatt de dos riñones y una ligadura (Okuniewski *et al.* 1998). Los estudios de inmunohistoquímica realizada a los cerebros de los animales control y experimentales no se pudo observar activación de c-Fos en la región del núcleo oval.

II. Hipertensión Aguda

Se calculó el promedio de las lecturas de PAS basales y aquellas obtenidas durante el experimento para ambos grupos y con estos valores se graficó la progresión del experimento agudo (grafica 2). Con base en los valores originales obtenidos de los grupos completos se practicó la prueba estadística de análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías entre el grupo tratado con FE y el grupo control, a fin de comparar las mediciones de PAS en ambos grupos a partir del inicio de la infusión. En este análisis se encontró una $F= 2.8$, $gl=13$, $p = 0.0017$ para la interacción; $F= 45.41$, $gl=1$, $p<0.0001$ para el grupo; $F=3.69$, $gl=13$, $p<0.0001$ para el tiempo. Posteriormente se aplicó la prueba *post hoc* de Bonferroni con un nivel de significancia de 0.05, encontrando diferencias entre los grupos significativas al minuto 25 y 35 a partir de la infusión ($p < 0.01$), así como al minuto 40 y 45 ($p < 0.05$) (ver gráfica 2).



Grafica 1. Los animales con oclusión unilateral de la arteria renal, tuvieron valores de presión arterial sistémica significativamente más altos que los animales control a partir de la segunda semana posterior a la cirugía. * $p < 0.001$, ** $p < 0.0001$. h 1: semana de habituación, grupo completo ($n=18$); 1a, 2a y 3a semanas, controles ($n=8$), ligados ($n=10$); 4a y 5a semanas, controles ($n=4$), ligados ($n=5$).



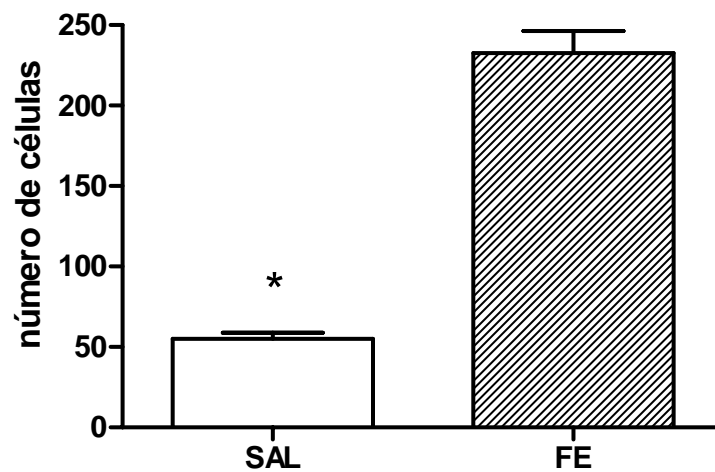
Gráfica 2. Valores de presión arterial sistémica correspondientes a los tres días de habituación (B1, B2, B3) y a los minutos transcurridos a partir del inicio de la infusión. FE: fenilefrina, SAL: solución salina. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Para hacer la cuantificación de las células positivas a la inmunohistoquímica contra c-Fos, se tomaron 6 cortes bilaterales ($30\mu\text{m}$) representativos de la región del núcleo oval para cada cerebro según los criterios anatómicos establecidos en otros trabajos (Ju y Swanson, 1989; Dong *et al.* 2001), considerándose sólo aquellas células intensamente marcadas (ver flecha en figura 6B). Con los datos obtenidos se calcularon las medias y desviaciones estándar para los grupos tratados con FE (media= $232.6 \pm D.E=13.9$) y salina (media= $55.40 \pm D.E=3.7$); se utilizó una prueba t a fin de comparar el número de células en ambos grupos, encontrando diferencias entre los animales tratados con y aquellos tratados con solución salina ($t=12.26$, $p < 0.0001$, $gl=8$), estos valores se representan en la gráfica 3. Cabe mencionar que el promedio de células por corte contado bilateralmente fue de 38.7 para los animales hipertensos agudos y 9.2 para los normotensos.

Debido a que pudo observarse en el núcleo oval una distribución heterogénea de las células inmunorreactivas, éste fue dividido en cuadrantes en el plano coronal. Se designó con el I al cuadrante superolateral, II al cuadrante superomedial, III al cuadrante inferomedial y IV al cuadrante inferolateral. (Ver figura 5)

Utilizando el número de células en cada cuadrante, se aplicó una ANDEVA paramétrica en busca de diferencias entre grupos; en donde se encontró que los grupos

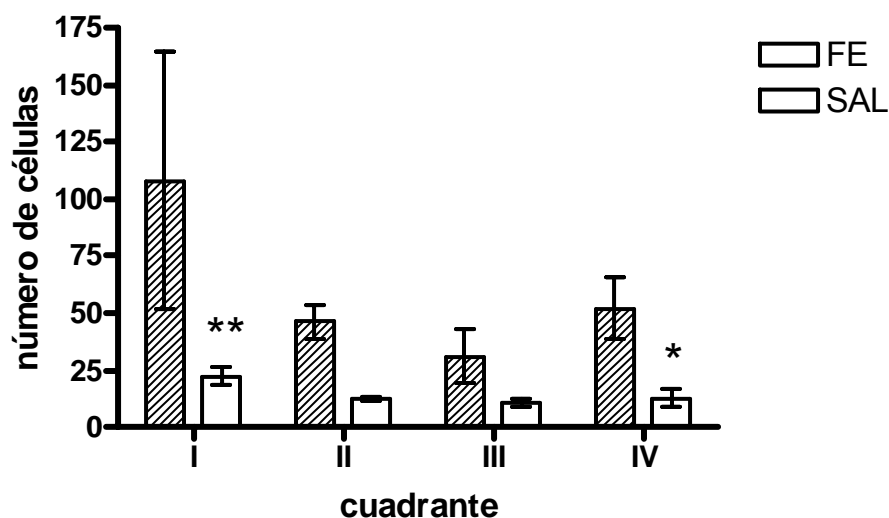
control y tratado con FE son distintos entre sí en el número de células halladas en el cuadrante I ($p < 0.001$) y en el cuadrante IV ($p < 0.05$). Las medias aritméticas del número de células encontradas en cada grupo por cuadrante pueden verse en la tabla 2 y gráfica 4.



Grafica 3. Número de células con alta inmunoreactividad a c-Fos en el núcleo oval en animales normotensos e hipertensos agudos. $t = 12.26$ * $p < 0.0001$ SAL:Salina, FE:fenilefrina.

Cuadrante	Salina Media \pm DE n = 5	Fenilefrina Media \pm DE n = 5	Valores de t <i>post hoc</i> de Bonferroni
I	22.2 \pm 8.7	108.2 \pm 56.4	t= 6.30, p< 0.001
II	12.2 \pm 2.2	46.4 \pm 7.3	ns
III	10.6 \pm 3.2	30.8 \pm 11.8	ns
IV	12.8 \pm 8.1	52 \pm 13.3	t= 2.87, p< 0.05

Tabla 2. Valores promedio y desviaciones estándar correspondiente al número de células por cuadrante encontradas en los animales tratado con salina y con fenilefrina.



Gráfica 4. Distribución de las células inmunopositivas a c-Fos en el núcleo oval en animales normotensos e hipertensos agudos. * p< 0.05, ** p< 0.001 FE:fenilefrina, SAL:salina.

Para explorar las diferencias en la distribución de células positivas por cuadrantes en cada uno de los grupos, se practicó una pruebas ANDEVA de dos vias, encontrando una F= 4.38, gl=3, p= 0.01 para la interacción; F= 43.36, gl=1, p< 0.0001 para el tratamiento; y F= 8.18, gl3, p = 0.0003 para los cuadrantes. La prueba *post-hoc* de Bonferroni mostró diferencias en el cuadrante I y IV entre los animales tratados con fenilefrina respecto a los controles. Puede observarse estas diferencias en la gráfica 4 y tabla 2.

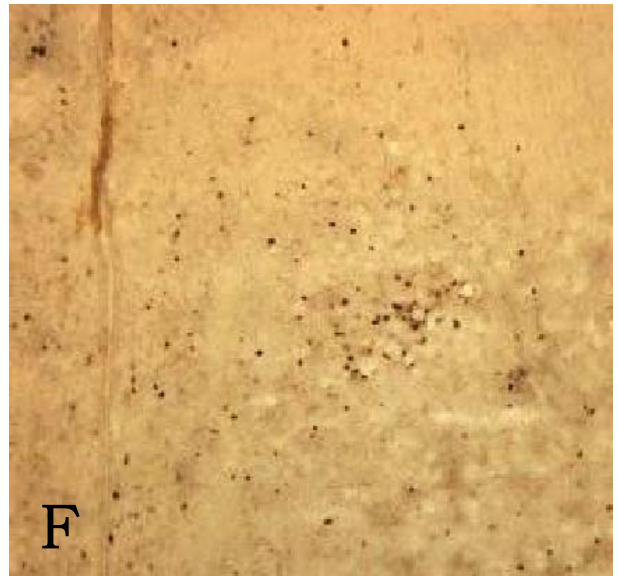
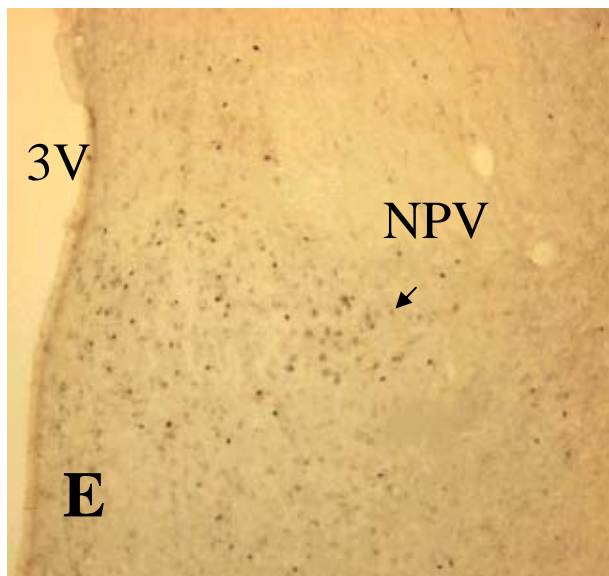
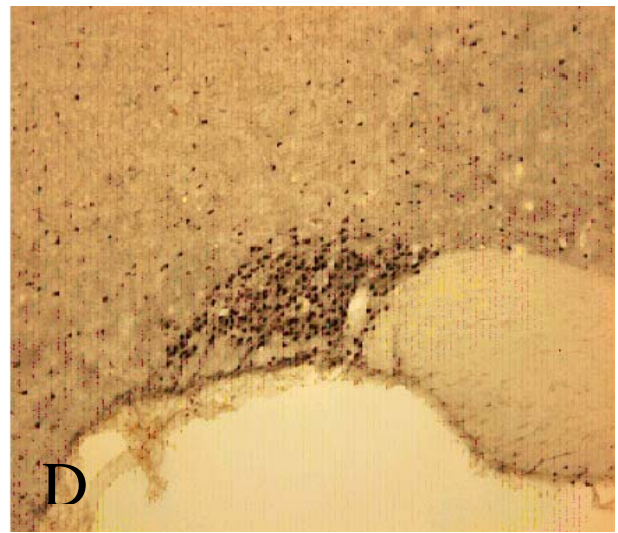
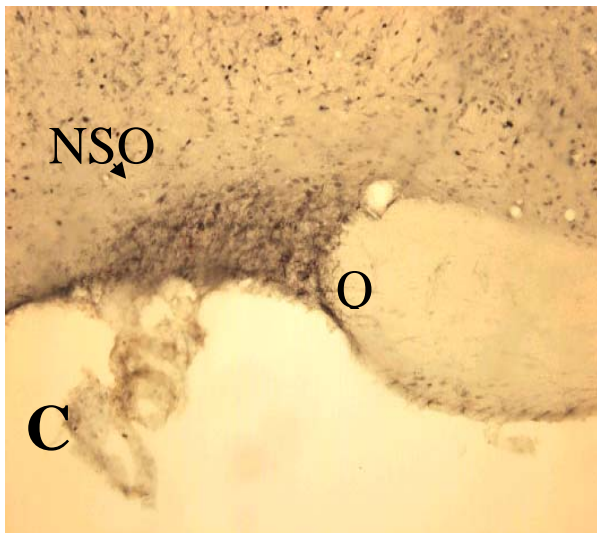
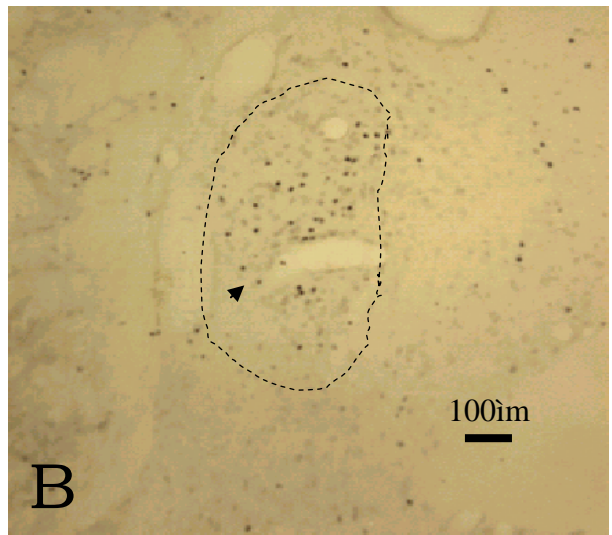
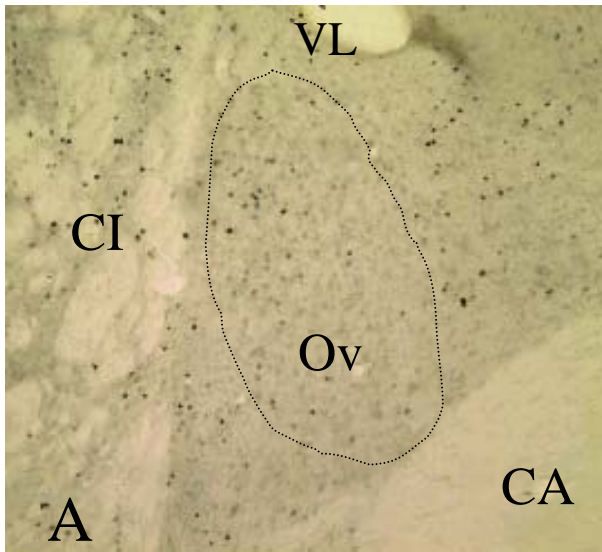
En resumen, se encontraron diferencias significativas en los valores de presión arterial entre los grupos control y experimental del modelo hipertensivo de ligadura parcial unilateral de la arteria renal hacia la tercera semana post-cirugía. Sin embargo, la totalidad de los animales del grupo ligado cubrieron el criterio establecido de hipertensión ($X \geq 150$ mmHg) sólo hasta la quinta semana después de la cirugía de oclusión. Debido a esto, se sacrificó la mitad del grupo control ($n=8$) y el grupo con ligadura ($n=10$) en la tercera y quinta semana posterior a la cirugía. Se realizaron las inmunohistoquímicas contra la proteína c-Fos en la región septal de los cerebros de los animales control y ligados en ambos tiempos de evolución y se no encontró expresión de la proteína en ninguno de los grupos.

En el modelo hipertensivo por inducción farmacológica con FE, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en los valores de presión arterial al minuto 25, 35, 40 y 45 tomados a partir del inicio de la infusión con el fármaco o solución salina.

Se encontró un mayor número de células positivas a la inmunohistoquímica contra c-Fos en el núcleo oval en los animales a los que se administró el fármaco respecto a los animales tratados con solución salina (ver figura 6). Debido a la aparente distribución heterogénea de células reactivas a c-Fos en el núcleo oval, este se dividió en cuadrantes; encontrando diferencias significativas entre los grupos en los cuadrantes I y IV con valores mayores para el grupo tratado con FE. Asimismo, se observaron diferencias entre los cuadrantes dentro de cada grupo; en el grupo control los cuadrantes I y III difirieron entre sí; mientras que en el grupo hipertenso los cuadrantes II, III y IV fueron significativamente distintos del I.

Paralelo al análisis cuantitativo del núcleo oval, se hizo en ambos grupos del animales un análisis cualitativo de otras estructuras que se ha documentado muestran activación durante la hipertensión e hipotensión agudas tales como el NSO y el NPV, (Cunningham *et al* 2002; Graham *et al.* 1995; Grindstaff *et al.* 2000) encontrando diferencias evidentes entre los animales tratados con el fármaco y sus controles (ver figura 6). Estos datos, apoyan la hipótesis de la participación del NLSTov junto con los núcleos antes mencionados en la vía que regula las variaciones en la PAS.

Figura 6. (página siguiente) Células inmuno-positivas a c-Fos a un aumento de 10X. Las imágenes A y B corresponden al núcleo oval, C y D muestran el núcleo supraóptico, y D y E ilustran uno de los lados del núcleo paraventricular. Las imágenes de la columna derecha corresponden a los animales tratados con fenilefrina, mientras que las imágenes izquierdas representan a los animales control. CA: comisura anterior, CI: cápsula interna, NPV: núcleo paraventricular, NSO: núcleo supraóptico, Ov: núcleo oval, QO: quiasma óptico, VL: ventrículo lateral, 3V: tercer ventrículo.



DISCUSIÓN

I. EXPRESIÓN DE C-FOS

I. A. ANÁLISIS CUANTITATIVO

En los experimentos realizados mediante los modelos de hipertensión crónica de origen renovascular, producida por la ligadura parcial de una de las arterias renales, encontramos que los animales operados desarrollaron una hipertensión crónica. En estos sujetos, los valores de presión arterial sistólica fueron significativamente distintos de sus controles hacia la tercera semana de evolución; obteniendo el grupo completo, valores de PAS mayores o iguales a 150 mm Hg durante la quinta semana posterior a la cirugía. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Okuniewski *et al.* (1998). Sin embargo, al realizar el análisis de las inmunohistoquímicas de los núcleos lecho de la estría terminal, no se encontró inmunorreactividad en ninguno de los grupos (ligados y control) sacrificados a la tercera y quinta semana de evolución. Nuestras observaciones, basadas en la premisa de que la elevación sostenida de la PAS se acompañaría de activación tónica de los sustratos neurales, prueban que esta suposición es errática. En efecto, la literatura previa sugiere que la activación neuronal con la consecuente activación del oncogen c-fos alcanza su máxima expresión entre el lapso expandido entre 1 y 3 horas, y declina posteriormente hasta desaparecer progresivamente entre las 4 y 6 horas posteriores al estímulo (Herrera y Robertson, 1996; Kóvacs, 1998; Sheng y Greenberg, 1990).

Con base en esta experiencia, se decidió inducir farmacológicamente una hipertensión aguda de 50 minutos de duración y realizar el sacrificio de los animales 1 hora después del experimento, de modo que se cubriera el pico de expresión máximo de proteína c-Fos en los sitios activados por el reto.

El análisis histológico de estas regiones, mostró células inmuno-positivas en la región del núcleo oval en los animales tratados con fenilefrina, así como en los animales tratados con salina. Sin embargo, el número de células fue mayor en los animales que recibieron el fármaco. Estos resultados coinciden con los resultados obtenidos por Graham *et al.* (1995) utilizando la misma dosis de fenilefrina a igual velocidad de infusión por 90 minutos (en este estudio la infusión duró 55 minutos) y sacrificando a los animales 90 minutos (en el presente estudio, el sacrificio ocurrió 60 minutos después de terminada la infusión) después de que el fármaco producía el incremento de PAS (lo que ocurrió entre 1 a 15 minutos después de iniciada la infusión). Estos investigadores (Graham *et al.* 1995) exploraron la activación de

grupos neuronales en todo el encéfalo de la rata encontrando activación de c-Fos en el NHS, área postrema, amígdala, PVN, SON, CVLM, RVLM, SFO, Islas de Calleja y NLST, grupos celulares que muestran activación de c-Fos por incremento o decremento de la PAS por inducción farmacológica, y que se cree están involucrados en la regulación PAS, en base a trabajos realizados por otros grupos de investigadores (Chan *et al.* 2000; Cunningham *et al.* 2002; Grindstaff *et al.* 2000; Weston *et al.* 2003; Potts *et al.* 1998).

Sin embargo, aunque Graham *et al.*(1995) reportan un número celular similar al obtenido en el núcleo oval en nuestros animales tratados con fenilefrina, ellos hacen hincapié en la mayor activación de c- Fos debida al tratamiento hipotensor. Además, en el estudio no se hace distinción entre núcleos individuales como grupos celulares con características distintas, sino se les toma de manera global. Adicionalmente, en el estudio de Graham *et al.* (1995) reportan haber encontrado actividad en el núcleo central de la amígdala, el NHS y regiones parvo y magnocelular del PVN en ambos tratamientos.

I. B. ANÁLISIS CUALITATIVO

A la par del análisis cuantitativo del núcleo oval, se realizó una inspección cualitativa de otras áreas ampliamente reconocidas como participantes en la regulación del volumen sanguíneo circulante y, consecuentemente, en la PAS.

Entre las regiones exploradas se encuentran los núcleos paraventricular (secretor de CRH y VP) y supraóptico (secretor de VP) del hipotálamo, ambos reconocidos osmoreceptores y neurosecretores; así como el núcleo del haz solitario, área en donde converge la información proveniente de los baroreceptores del seno carotídeo y arco aórtico.

Como se muestra en la figura 6 se encontraron diferencias obvias en el número de células que expresaron c-Fos, apreciablemente mayor en los animales tratados con FE que en aquellos tratados con solución salina en el NSO y NPV. La activación conjunta de estas áreas con el núcleo oval, así como la presencia de microvasculatura en la proximidad de este último, sugiere que el NLSTov pudiera formar parte de la vía neural activada por variaciones en el volumen circulante y la presión arterial (Figura 6, C,D, E y F).

II. DISTRIBUCIÓN Y CARACTERÍSTICAS CELULARES.

Durante el análisis cualitativo de las neuronas que mostraron activación de c- Fos en el núcleo oval, se observó que la distribución no era homogénea, sino localizada en los cuadrantes establecidos como I y IV correspondientes al borde lateral del núcleo.

Se ha reportado que las neuronas del núcleo oval son eminentemente gabaérgicas y que, a la vez, expresan los péptidos CRH y neurotensina (Ju *et al.*1989). Ya que está documentado que la distribución de células que expresan CRH y neurotensina en el núcleo oval es homogénea, resulta prematuro suponer que las neuronas activadas en los animales hipertensos en el presente trabajo, corresponden a una u otra población.

Otros investigadores han evaluado la colocación de c- Fos/PCREB (factores de transcripción) y CRH en el PVN, LC, CEAI y NLST ante retos de hipotensión (Curtis *et al.*2002), encontrando activación de c- Fos en el PVN, CEAI y NLST después de la hipotensión aguda; pero sólo coexpresión de c- Fos y CRH en el PVN, mientras que el CEAI, NLST y LC, co- expresaron PCREB y CRH; lo cual sugiere que la población de neuronas que sintetizan CRH en los NLST utilizan mecanismos de transcripción distintos que c-Fos, cuando el reto es hipotensivo; sin embargo, aunque el incremento o disminución en el volumen (real o relativo) comparten vías neurales, las poblaciones celulares implicadas en ambos procesos pudieran ser distintas. Tal vez el mayor sustento de la posible existencia de una diversidad fisiológica entre las neuronas del núcleo oval lo proporcionan los estudio sobre la conectividad del núcleo. En efecto al igual que los estudios de activación celular, como el presente, que demuestran que dicha activación recluta a unas cuantas células. Los estudios de conectividad muestran que escasas neuronas captan marcadores retrógrados, cuando estos son aplicados, por ejemplo, en el núcleo central de la amígdala, en el núcleo parabraquial o en el núcleo del haz solitario. Esto provee evidencia adicional a nuestros postulados y da pie a futuras investigaciones.

Por otra parte, Engström, Engblom y Blomqvist (2003) exploraron la activación de c-fos mRNA en estructuras del sistema nervioso autónomo que sintetizan prepro-encefalina, en un modelo de estrés provocado por inyección intravenosa de interleucina 1- β . En este trabajo, se encontró expresión basal de prepro-encefalina en la región perifornical de área hipotalámica lateral, el núcleo oval de la estría terminal, el área incierta, el área postrema, el estriado, el tubérculo olfatorio y las islas de Calleja. Complementariamente, se evaluó la síntesis *di novo* de prepro-encefalina, utilizando como herramienta la hibridación *in situ* para RNAm heteronuclear de prepro-encefalina (ppENK hnRNA); encontrando expresión de

ppENK hnRNA en el PVN, NLSTov, área postrema, NHS y BVLr, aunque el c-fos mRNA se expresó en estas áreas que no mostraban señal para ppENK hnRNA. Asimismo, la doble hibridación mostró que el 85% de las células del PVN que expresaban ppENK hnRNA expresaban también c- fos mRNA, mientras el 60% de las células del núcleo oval tuvieron el mismo patrón de activación. Los autores también encontraron intensa colocación de c- fos mRNA y ppENK hnRNA en el núcleo central de la amígdala. Lo que sugiere que las neuronas que mostraron activación de c- Fos en los animales tratados con fenilefrina, pudieran pertenecer a fenotipos con diferente expresión peptídica, puesto que como vimos, sólo una parte de las neuronas del NLSTov que se activan por hipertensión; o bien, las neuronas activadas durante la hipertensión aguda pudieran corresponder a un mismo fenotipo celular, pero no constituir la totalidad de una población peptidérgica particular.

CONCLUSIONES

1. El núcleo oval no muestra activación celular significativamente distinta entre la rata hipertensa crónica y la normotensa.
2. La hipertensión arterial aguda inducida por inyección endovenosa del agonista simpático fenilefrina produce expresión de la proteína c-Fos en un número de células significativamente mayor con respecto al control.
3. La distribución de las células activadas en el núcleo oval por hipertensión arterial aguda no es homogénea, e involucra una pequeña fracción de células de este núcleo.
4. La hipertensión arterial provocada por infusión venosa de fenilefrina activa otras estructuras relacionadas con la homeostasis en la perfusión y composición hemática.
5. Los resultados aquí obtenidos en conjunción con lo observado por otros autores sugiere una diversidad fisiológica entre las células que conforman el núcleo.

REFERENCIAS

- Alberts B., Bray D., Lewis J, Raff M., Roberts K y Watson J. D., 1996 Cap.15. Cell Signaling. En *Molecular Biology of the cell*, (pp. 734-758) New York. Garland Publishing Inc.
- Alheid G.F., De Olmos J.S., y Beltramino C.A., 1995. Cap. 22 Amygdala and extended amygdala. En *The Rat Nervous System*. 2nd edition , ed. G. Paxinos . (pp.495- 572) London. Academic Press.
- Brenner B. M. y Rector F.C. 1991.The Kidney vol 1. 4a edición. W.B Saunders Company Inc.
- Chen J, Kelz M. B, Hope B. T, Nakabeppu Y., y Nestler E. J,. 1997. Chronic fos- related antigens: stable variant of Δ fos B induced in brain by chronic treatments., *The Journal of Neuroscience*, **1**, 17(13): 4933-4941.
- Cunningham J.T., R.J, Grindstaff R.R. y Sullivan M.J. 2002. Fos immunoreactive in the diagonal band and the perinuclear zone of the supraoptic nucleus after hypertension and hypervolaemia in unanaesthetized rats, *Journal of Neuroendocrinology*, **14** (3) 219-27.
- Curtis A.L., Bello N.T., Connolly K.R. y Valentino R.J. 2002. Corticotropin-releasing factor neurones of the central nucleus of the amygdala mediate locus coeruleus activation by cardiovascular stress. *Journal or Neuroendocrinology* **14** (8): 14667-82.
- Day H.E.W., Curran E.J., Watson ,JR., y S.J., Akil H. 1999. Distinct neurochemical populations in the rat central nucleus of amygdala and bed nucleus of stria terminalis: evidence for their selective activation by interleukin 1- β . *The Journal of Comparative Neurology* **413**, 113-128.
- Debuse M. 1998. Cap 5. Las glándulas suprarrenales. *Sistema Endocrino y aparato reproductor*. (pp. 33- 42) Barcelona. Ed. Harcourt Brace.
- De Olmos J.S. e Ingram W.R. 1972.The projection field of the stria terminalis in the rat brain. *Journal of Comparative Neurology* **146**, 303-334.
- Dong H.W., Petrovich G.D., Watts A.G. y Swanson L.W. 2001. Basic organization of projections from oval and fusiform nuclei of the bed Nuclei of the stria terminalis in adult rat brain. *The Journal of Comparative Neurology* **436**(4), 430-455.
- Engström L., Engblom D. y Blomqvist A., 2003. Systemic immune challenge induces preproenkephalin gene transcription in distinct autonomic structures of the rat brain. *The Journal of Comparative Neurology* **462**(4), 450-461.

- Fitch G.K. y Weiss M.L. 2000. Activation of renal pathways following furosemide treatment II. Effect of angiotensin blockade, *Brain Research* **861**(2), 377-389.
- Fox S.I. 1999. Cap. 17 Physiology of the Kidneys. *Human Physiology* 6a Edición. (pp. 528-556) Boston. WCB/Mcgraw-Hill.
- Ganguly A., 2000. cap 5 Aldosterone y cap 6 Angiotensin. En J.C.S. Fray y H.M. Goodman (eds). *Handbook of Physiology section 7 The endocrine system, vol III: Endocrine Regulation of Water and Electrolyte Balance*. (pp. 156-205) New York. Oxford University Press.
- García-Sáinz J.A., Vázquez-Prado J. y Villalobos-Molina R. 1999. α 1 –adrenoreceptors: subtypes, signaling, and roles in health and disease. *Archives of Medical Research* **30** (6), 449-458.
- Giovanelli L. y Bloom F.E. 1992. c-Fos protein expression in the rat subfornical organ following osmotic stimulation, *Neuroscience Letters* **139**, 1-6.
- Goncharuk V.D, Van Heerikhuize J, Swab D.F, Buijs R.M. 2002. Paraventricular nucleus of human hypothalamus in primary hypertension: activation of corticotropin-Releasing hormone neurons, *The Journal of Comparative Neurology* **443**(4), 321-331.
- Graham J.C, Hoffman G.E y Sved A.F. 1995. C-fos Expression in brain in response to hypotension and hypertension in conscious rats, *Journal of Autonomous Nervous System* **55** (1-2) ,92-104.
- Guyton C.A, y Hall J. E. 1997. Cap. 26 Formación de la orina en los riñones: I. Filtración glomerular, riego sanguíneo renal y su regulación. En *Tratado de Fisiología Médica*. (pp. 343-360) México. Mcgraw-Hill Interamericana.
- Hartle D.K, y Brody M.J. 1984. The angiotensin II pressor system of the rat forebrain, *Circulation Research* **54** (4):355-366.
- Hauger R.L .y F.M. Dautzenberg. 2000. Capítulo 15 Regulation of Stress response by Corticotropin-releasing factor receptors. En Conn P.M. y M.E. Freeman (eds), *Neuroendocrinology in Physiology and Medicine*. pp. 261-286. Totowa, N.J. Humana Press 2000.
- Herrera D.G y Robertson H.A. 1996. Activation of c-fos in the Brain, *Progress in Neurobiology* **50** (2-3): 83-107.

- Hwa J., De Young M.B., Perez D.M., y Graham R.M. 1996. Cap. 3 Autonomic control of Myocardium: α – adrenoreceptor mechanisms. En Shepherd J.T y Vatner S.F. *The Autonomic Nervous system series vol. 9. Nervous control of the Heart.* (pp. 49-78) Amsterdam. Harwood Academic Publishers.
- Ju G, y Swanson. 1989. Studies on the cellular architecture of the bed nuclei of the stria terminalis in the rat: cytoarchitecture, *The Journal of Comparative Neurology* **280** (4),587-602.
- Ju G, Swanson L.W y Simerly R.B.1989. Studies on the cellular architecture of the bed nuclei of the stria terminalis in the rat :II. chemoarchitecture, *The Journal of Comparative Neurology* **280**(4), 603-621.
- Kovács K.J. 1998. C-Fos as a transcription factor: a stressful (re) view from a functional map, *Neurochemistry International* 33(4), 287-297.
- Koob G.F. 1999. Corticotropin-releasing factor, norepinephrine and stress, *Biological Psychiatry* **46**(9), 1167-1180.
- Krukoff T.L., Mac Tavish D., Jhamandas J.H. 1999. Hypertensive rats exhibit heightened expression of corticotropin-releasing factor in activated central neurons in response to restraint stress. *Molecular Brain Research* **65**(1), 70-79.
- Mancilla-Jiménez R. 1997. En Muñoz-Martínez J.E; García X. (eds) *Morfología de los riñones y las vías urinarias. En VI.2. Fisiología: células, órganos y sistemas.* (pp.119-133). México. Secretaría de Salud, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Mexicano del Seguro Social, Sociedad mexicana de Ciencias Fisiológicas, Fondo de cultura Económica.
- Martínez F., Meléndez E., y Reyes J.L., 1997. En Muñoz-Martínez J.E; García X. (eds) *Morfología de los riñones y las vías urinarias. En VI.2. Fisiología: células, órganos y sistemas.* (pp.169-186). México. Secretaría de Salud, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Mexicano del Seguro Social, Sociedad mexicana de Ciencias Fisiológicas, Fondo de cultura Económica.
- Nestler E.J., Barrot M y Self D.W. 2001. Δ Fos B : A sustained molecular switch for addiction. *PNAS* **98** (20), 11042-11046.
- Okuniewski R., Davis E.A. , Jarrott B. y Widdop R.E. 1998. A comparison of the development of renal hypertension in male and female rats, *Clinical Science* 95(4), 445-451.

- Philips M.I. 2001. Gene therapy for hypertension: the preclinical data. *Hypertension*. 38:543-8.
- Piascik M.T., y Perez D.M. 2001. α -adrenergic receptors: new insights and directions. *The Journal of Pharmacology and Experimental therapeutics* **298** (2), 403-410.
- Potts P.D., Hirooka ., y Dampney A.L. 1999. Activation of brain neurons by circulating angiotensin II : direct effects and baroreceptor-mediated secondary effects, *Neuroscience* **90** :2, 581-594.
- Rhoades R.A. y Tanner G.A. 1997. *Fisiología Médica*. Cap 18. Regulación de la circulación.(373-391).Barcelona. Ed. Masson:Little-Brown.
- Rowland L.P., Fink M.E., Rubin L. 1991. Apéndice C Cerebrospinal fluid: Blood-brain barrier, Brain Edema and Hydrocephalus. En Kandel E.R, Schwartz J.H, Jessell T.M.. *Principles of Neural Science*. (pp. 1050-1060) 3a Edición. Norwalk, Connecticut. Elsevier.
- Saper y Breder 1994. *New England Journal of Medicine* 330, 1080-1886.
- Share L. y Schneider G.E. 2000 Cap 14. The Neuroendocrinology of fluid balance, the kidney. En Conn P.M y Freeman M. (eds) *Neuroendocrinology in Physiology and Medicine*. (pp. 241- 257). Totowa, N.J .Humana Press.
- Sheng M. y Greenberg M.E. 1990 .The regulation and function of c-fos and other immediate early genes in the nervous system, *Neuron* **4**(4), 477-485.
- Shid C.D., Chan S.H. y Chan J, Y.1996. Participation of fos protein at the nucleus tractus solitarius in inhibitory modulation of baroreceptor reflex response in the rat. *Brain Research* **738**(1), 39-47.
- Sladek C.D., 2000. Cap 12. Antidiuretic: synthesis and release. *Handbook of physiology section 7 The endocrine system*. vol III: Endocrine regulation of water and electrolyte balance, J.C.S Fray y H.M. Goodman (eds) New York .Oxford University Press, pp 436-495.
- Sved A.F., 1999. Cap 39. Cardiovascular system. en *Fundamental neuroscience*. Zigmund M.J., Bloom., F.E., Landis S.C., Roberts J. L., y Squire L. R. (eds) San Diego. Academic Press. pp. 1051- 1089.
- Swanson L.W. 1996. *Brain Maps: structure of the rat brain*. 2a edición, Amsterdam. Elsevier.

- Swanson L.W y Petrovich G.D. 1998. What is the amygdala? Trends in Neuroscience 21(8): 323-331.
- Veerasingham S.J., Vahid-Ansari F., Leenen F.H. 2000 Neuronal Fos-like immunoreactivity in ouabain-induced hypertension. Brain Res. 876(1-2):17-21.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía macroscópica del riñón.....	5
Figura 2. Elementos que constituyen la barrera de filtración.....	7
Figura 3. Localización de los órganos circumventriculares.....	10
Figura 4. Sistema renina-angiotensina-aldosterona	11
Figura 5. Esquema de un corte coronal de encéfalo de rata.....	21
Figura 6. Células inmunopositivas a c-Fos en NLSTov, PV y SO.....	38

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parcelación de los núcleos lecho de la estría terminal.....	19
Tabla 2. Valores medios de presión arterial sistólica en animales con y sin oclusión.....	34

INDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Evolución por semanas del modelo de hipertensión crónica.....	32
Gráfica 2. Evolución experimento de hipertensión aguda.....	32
Gráfica 3. Número de células positivas positivas a c- Fos en animales normotensos e hipertensos agudos.....	34
Gráfica 4. Distribución de células inmunopositivas por cuadrante en animales normotensos e hipertensos agudos	35

TABLA DE ABREVIATURAS

ACTH: Hormona adrenocorticotrópica
ADN: Ácido desoxirribonucleico
AMPc: Monofosfato cíclico de adenina
AT I : Angiotensina I
AT II: Angiotensina II
BVLC: Bulbo ventrolateral caudal
BVLR: Bulbo ventrolateral rostral
c-fos: Gen c-fos
c- Fos: Proteína c-Fos
CRH: Hormona liberadora de corticotropina
DG: Diacilglicerol
ECA: Enzima convertasa de angiotensina
FE: Fenilefrina
FSH : Hormona folículo estimulante
GH: Hormona del crecimiento
HAD. Hormona antidiurética o vasopresina
HDZ: Hidralazina
HHS: Eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal
IEGs: Genes de activación temprana
IP₃; Inositol trifosfato
LC: Locus coeruleus
LH: Hormona luteinizante
NCEAI: Núcleo central de la amígdala
NLST: Núcleos lecho de la estría terminal
NLSTov: Núcleo oval de la estría terminal
NPB: Núcleo parabraquial
NPV: Núcleo paraventricular del hipotálamo
NSO: Núcleo supraóptico del hipotálamo
NHS: Núcleo del haz solitario
OSF: Órgano subfornical
OT: Oxitocina
OVLT: Órgano vasculoso de la lámina terminal
PA: Presión arterial sistólica
PCREB: Proteína ligadora responsiva a la forma fosforilada del AMPc
PIP₂: Fosfatidilinositol bifosfato
PKC: Proteína cinasa C
ppENK hnRNA: RNA heteronuclear de pro-encefalina
TSH : Hormona estimulante de la tiroides
VP: Vasopresina u hormona antidiurética