

EFFECTOS DE LA HIPERTENSION ARTERIAL SOBRE EL AREA POSTREMA. ESTUDIO EN RATAS SHR.

Isabel Martínez de la Peña y Valenzuela¹, Emilia Carmona-Calero², Teresa de León Cabrera¹, Herminia Pérez-González², Norberto Marrero-Gordillo² y Agustín Castañeyra-Perdomo^{1,2}

¹ Instituto de Investigación y Ciencias de Puerto del Rosario, Fuerteventura, SPAIN

² Departamento de Anatomía, Facultad de Medicina, Universidad de La Laguna, La Laguna, Tenerife, SPAIN

(Majorensis.com 2002; Vol 1, pags 1-19)

INTRODUCCION:

Efectos de la hipertensión arterial sobre el área postrema. Estudio en ratas SHR.- Estudiamos cualitativa y cuantitativamente el área postrema (AP) de ratas machos, espontáneamente hipertensas (SHR) y normotensas Wistar-Kyoto (WKY). También se registró la presión arterial así como el agua y la solución salina bebida. Las ratas SHR bebieron más solución salina que agua. El tamaño nuclear de las neuronas de la parte rostral de la AP de las ratas SHR mostró un incremento con respecto al tamaño de las neuronas de las partes rostral y caudal del AP de las ratas WKY. Este incremento del tamaño nuclear es compatible con la hiperactividad del SRA cerebral y el incremento de los parámetros nucleares y receptores AGII en otros órganos circunventriculares. Por otro lado, estos hallazgos y el hecho de que la hipertensión se acompaña de una dilatación ventricular progresiva soporta la posibilidad de que en las ratas hipertensas el material secretor liberado al LCR esté alterado debido a una hiperfunción de la parte rostral del AP y de otros OCV.

(Majorensis.com 2002; Vol 1, pags 1-18)

Palabras Claves: área postrema, hipertensión, morfometría, ratas SHR

Summary

Arterial hypertension effects on the area postrema. A study in SHR rats.- We studied qualitative and quantitatively the area postrema (AP) of 10 and 15-week old spontaneously hypertensive rats (SHR) and of matched normotensive Wistar Kyoto rats (WKY). The blood pressure, water and saline intake were also recorded. The SHR rats drank more saline than water. The nuclear size of the neurones of rostral part AP in the SHR animals showed an increase respect to the nuclear size of the neurones of rostral and caudal part AP of WKY rats. This increase of the nuclear size is compatible with the hyperactivity of the brain RAS and the increase of the nuclear parameters and AGII receptors in the others circumventricular organs. On the other hand, theses findings and the fact that hypertension is accompanied by a progressive ventricular dilation support the possibility that in the hypertensive rats the secretor material released by the CVO into the CSF is altered owing to hyperfunction of the rostral AP and the others CVO.

(Majorensis 2002; Vol 1, pags 1-18)

Key Word: area postrema, hypertension, morphometry, SHR rats

Introducción

El Área Postrema (AP) fue descrita por Retzius en el año 1896 (Borizon 1984) y forma parte de los órganos circunventriculares (OCV). En la rata, el área postrema es una estructura medial que se localiza en la parte caudal del IV ventrículo, ocupando la parte ventral del óbex. Pero en carnívoros y algunos otros mamíferos superiores, aparece de forma diferente. En éstos surge de dos montículos muy vascularizados que cierran la luz del cuarto ventrículo en la región del cálamus scriptorium, a cada lado de la línea media, formando la raíz de la extensión más rostral del canal central de la médula espinal (Chernicky y cols., 1980). De esta manera el AP se encuentra orientada hacia los vasos y fluido cerebro-espinales.

Asimismo, carece de una verdadera barrera hematoencefálica (Dempsey, 1973), ya que la línea

ependimaria que bordea el AP es bastante débil y su red capilar tiene numerosas fenestraciones, careciendo de uniones estrechas entre sus células endoteliales. Todo esto da lugar a que los elementos neurales tengan acceso a factores circulantes y, además, a que el fluido cerebroespinal pueda alcanzar fácilmente su interior (Krisch, 1978; Gotow y Hashimoto, 1979).

Por otro lado, su vecindad con el núcleo del tracto solitario (NTS) y núcleo medial dorsal del vago (NMDV) le sitúa en el punto de entrada y salida para la información víscero-sensorial y los impulsos motores vegetativos, con capacidad para monitorizar factores vasculares y ventriculares (Gross, 1987). EL AP esta compuesta principalmente por: neuronas, células ependimarias, células gliales, vasos sanguíneos y fibras nerviosas. El componente neuronal del AP, estudiado con microscopía electrónica, presenta una única población de pequeñas neuronas.

El AP es probablemente la estructura quimiorreceptora más importante en la aparición de la emesis en respuesta a la ingesta de tóxicos o al estímulo farmacológico (Borison y Brizzee, 1951; Andrews y cols., 2000). Sin embargo, la rata no vomita y, por tanto, este es un papel improbable para el AP en esta especie. (Ritter y cols., 1980; Ossenkopp, 1983; Andrews y cols., 2000). El hecho de que el AP reciba proyecciones viscerales aferentes, así como que interaccione y proyecte al interior del NTS, sugiere que este último puede ser el lugar del proceso neural para la modulación del sabor como consecuencia postingestional del alimento (Cunningham y cols., 1994; Pashchenko y Sukhoterin, 2000).

Muchos investigadores (Gildenberg y cols., 1973; Joy, 1971; Szilagy y Ferrario, 1980 y 1981; Stebbins y cols., 1998), han demostrado que la AII administrada en las arterias vertebrales, actúa específicamente a nivel del AP para facilitar la actividad simpática vasomotora. También Barnes y Ferrario (1980), han demostrado que la estimulación eléctrica del AP del perro produce una gran respuesta presora que se acompaña de un aumento en la frecuencia cardíaca, simulando los efectos de la AII. A su vez, Szilagy y Ferrario (1981), demuestran que el antagonista específico Naloxona, reduce significativamente la respuesta presora a la AII mientras que la morfina mejora la respuesta del Área Postrema a la Angiotensina II. Diversos autores han estudiado la función del AP en la regulación de la presión sanguínea basal en condiciones normales y experimentales (estrés al frío) en ratas Sprague-Dawley, demostrando que el AP juega un papel importante en el mantenimiento de la presión sanguínea basal bajo condiciones normales, e indica que el AP es importante en el mantenimiento de la presión sanguínea normal bajo condiciones de estrés (frío). (Quiam y Koon 1998).

En resumen, podemos decir que el área postrema y los OCV son de las estructuras cerebrales más relacionadas con la angiotensina II (AII), la angiotensina I (AI), la vasopresina (VP) y también con la enzima convertidora de angiotensina I en angiotensina II (ECA) y la regulación de la presión arterial.

El octapéptido angiotensina II que se produce al quitarle dos aminoácidos carboxiterminales a la angiotensina I por medio de la acción de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), es una neurohormona que ejerce importantes efectos sobre el sistema vascular, el riñón, el aparato digestivo, el sistema nervioso autónomo y el cerebro.

La angiotensina II se encuentra específicamente ligada a los OCV y no en otra parte del cerebro. Así, se ha visto que aunque se encuentran bandas específicas para la angiotensina II en las membranas celulares de muchas áreas cerebrales (Sirett y cols, 1977), y aunque la angiotensina II aplicada iontoforéticamente altere la tasa de descarga neuronal en muchas áreas cerebrales (Felix y Akert, 1974; Phillips y Felix, 1976) la angiotensina II no es accesible a las áreas con barrera hematoencefálica (Simpson, 1981). Son los OCV como los sensores neurales para la angiotensina II circulante en sangre. Los receptores para la angiotensina II en estos órganos, como el OSF, son accesibles tanto para los péptidos circulantes como para los de localización central, mientras que los de otras áreas cerebrales con BHE solamente pueden ser estimulados por la angiotensina II endógena cerebral (Fitts y cols 2000).

Además los niveles basales de angiotensina II circulante, mantienen la presión arterial en animales que consumen una dieta normal en sal, actuando en el AP para llevar a cabo la actividad simpática. Este modelo se apoya en la observación de que, a largo plazo, la respuesta hipotensora al losartán, el antagonista del receptor AT1, está atenuada en ratas con el AP lesionado (APx). Contrariamente a la hipótesis anterior, las ratas APx no exhibieron regulación defectuosa de la presión arterial o del balance hídrico. De cualquier modo, las ratas APx demostraron una dificultad para excretar sodio cuando la sal era elevada. Según estas observaciones, se

concluye que el AP es importante en el control del balance de sodio, pero no en la presión arterial cuando la dieta en sal está alterada (Osborn y cols., 2000).

Con la inyección de CV-11974 (antagonista del receptor AT1) en ratas SHR y Controles se observó que la presión arterial fue similar en ambos grupos. Sin embargo, el latido cardíaco fue significativamente más bajo ($p < 0.01$) en las SHR con el área postrema lesionada que en las SHR con el área postrema no lesionada. (Matsumura y cols., 1999).

La HTA se asocia con alta morbilidad y mortalidad relacionadas con la afectación de los órganos diana: arterias, corazón, cerebro y riñón. (Nakao y cols., 1999). En ámbito neurológico, la HTA produce retinopatía y cambios en el sistema nervioso central (SNC), (Reaux y cols., 1999). Por ello, se ha podido comprobar que el examen de la retina permite evaluar la afectación vascular de la HTA. (Cugini y cols., 1999). Las alteraciones más importantes en el SNC son hemorragia, infarto y encefalopatía. La hemorragia cerebral se relaciona con la elevada PA y la formación de microaneurismas. El infarto cerebral es secundario a la arteriosclerosis (Suzuki y cols., 2000).

Actualmente los tratamientos mas usados de la hipertensión arterial se hacen con los y inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina I en angiotensina II (IECA) y antagonistas de la angiotensina II como el Losartan.

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

- 1) Aumentan los niveles de Renina debido a la disminución de la tensión arterial, a la ausencia de supresión de la secreción de Renina inducida por la Angiotensina II y a los cambios de volumen mediados por la disminución de Aldosterona.
 - 2) Incremento de la Angiotensina I provocado por la disminución de su degradación.
 - 3) Decrecimiento de la actividad de la enzima convertidora de angiotensina I en angiotensina II (ECA)
 - 4) Disminución de la Angiotensina II, que induce un descenso de la aldosterona, debido a una menor liberación de la misma en la corteza suprarrenal.
 - 5) Reducción de la degradación de bradiquinina, que probablemente induce el aumento de producción de ácido araquidónico, precursor de las Prostaglandinas vasoactivas (Williams, 1988; Hollenberg, 1990).
- En la enfermedad cerebrovascular y en la arteriopatía periférica reducen la presión arterial PA sin disminuir el flujo cerebral o periférico (Cachofeiro y cols., 1993; Suzuki y cols., 2000).

El Losartan es hoy el primer medicamento de una nueva clase de agentes antihipertensivos, como antagonistas de la Angiotensina II, no como inhibidor de la ECA. Losartan es una droga que ha venido a llenar un vacío para el tratamiento de pacientes que requerían de los efectos benéficos de los inhibidores de la ECA, y que no los toleraban o presentaban una destacada contraindicación. Al no inhibir la ECA, el Losartan no produce tos. Es un medicamento en general bien tolerado, aunque ocasionalmente puede observarse un leve aumento del potasio sérico. Cabe destacar que el Losartan disminuye la presión arterial en ratas cuya dieta tiene exceso de sal, (Collister y Osborn, 1998; Ruiz-Gayo y cols., 2000).

Por lo tanto a la vista de la relación entre AP y los OCV con la angiotensina II el propósito del presente trabajo es intentar establecer el papel que juega el AP en la etiopatogenia de la hipertensión arterial usando ratas hipertensas tratadas y no tratadas con un IECA

Material y Métodos

El experimento se llevó a cabo con un total de 40 ratas macho: 20 ratas control Wistar-Kyoto (WKY) y 20 ratas genéticamente hipertensas (SHR). Distribuida en los siguientes grupos: grupo 1.- control no tratamiento (control no tto); grupo 2.- control tratamiento (control tto); grupo 3. hipertensas no tratamiento (hta no tto); grupo 4.- hipertensas tratamiento (hta tto). Las edades estudiadas fueron: 10 y 15 semanas, porque la hipertensión arterial comienza a manifestarse aproximadamente entre la octava y la décima semana.

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

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

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

El tratamiento comenzó a administrarse a las 8 semanas, y se prolongó hasta el día del sacrificio. Los animales fueron anestesiados profundamente por vía inhalatoria con dietiléter y fijados mediante perfusión intracardiaca con bouin. La técnica elegida para la fijación, deshidratación e inclusión fue la misma para todos los animales con el fin de evitar que esta pudiera influir sobre la cuantificación de los parámetros nucleares.

Una vez extraídos los cerebros se seccionaron en cortes transversales seriados de 10 micras de espesor, recogiendo cuatro series alternas A, B, C y D. La serie A se tiñó usando el método Klüver-Barrera (1953).

El análisis microscópico morfométrico de las diferentes subregiones estudiadas del AP se realizó con la ayuda del sistema analizador de imágenes "MAGISCAN JOYCE LOEBL" (Programa GENIAS). Con él se realizaron las determinaciones de los siguientes parámetros nucleares: área, perímetro y factor forma: índice de la relación perímetro / área que expresa la aproximación de la forma nuclear a un círculo perfecto, siendo el valor máximo la unidad. Se efectuó una media de 30 a 40 mediciones para obtener un alto índice de fiabilidad. La tensión arterial fue tomada en el rabo de los animales mediante un método indirecto semanalmente y siempre a la misma hora para evitar posibles variaciones que no estuvieran ocasionadas por las condiciones experimentales.

La ingesta de fluidos, tanto agua como solución salina, era registrada diariamente mediante una probeta graduada en milímetros.

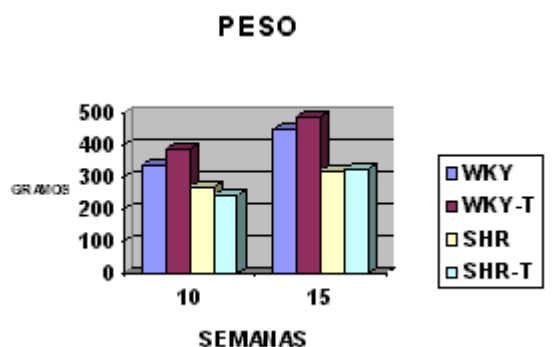
El estudio del desarrollo ponderal se llevó a cabo mediante la medida de forma sistemática del peso de todos los animales semanalmente e inmediatamente antes de ser sacrificados.

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

Resultados

Peso:

A las 10 semanas el peso fue significativamente mayor en los animales control, tratados y no tratados, que en los hipertensos, con y sin tratamiento, con una $p < 0.01$ en todos los casos. Entre los dos grupos control también hubo diferencias significativas a favor de las tratadas que pesaron más ($p < 0.01$); sin embargo, no hubo diferencias entre las hipertensas.



A las 15 semanas, al igual que en el resto de las edades, pesaron más las ratas control que las

hipertensas independientemente del tratamiento ($p < 0.01$)

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

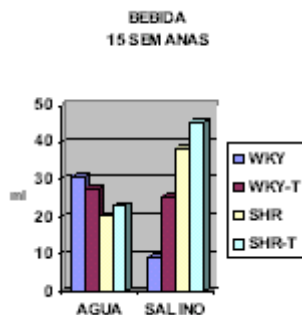
Bebida:

Los animales pertenecientes al grupo control no tto consumieron significativamente más agua que salino ($p < 0.01$) a las 10 semanas. Sin embargo, las ratas control tto bebieron prácticamente la misma cantidad de ambos fluidos. Así, encontramos diferencias significativas ($p < 0.01$) entre ambos grupos control a favor del grupo tratado en cuanto al salino pero no hay diferencias en cuanto al agua.

Las ratas control, con y sin tratamiento, bebieron mayor cantidad de agua que las hipertensas que no fueron tratadas ($p < 0.05$) y que las hipertensas tratadas ($p < 0.01$). Por el contrario, en lo referente al salino se invirtieron las preferencias y así, ambos grupos de animales hipertensos consumieron más cantidad de salino con una $p < 0.01$. Encontramos una excepción importante: a las 10 semanas la diferencia en cuanto al consumo de salino entre los grupos hta tto y control tto no resultó significativa.

Las ratas genéticamente hipertensas independientemente del tratamiento consumieron más salino que agua ($p < 0.01$). No hubo diferencias entre los dos grupos de animales hipertensos en ninguno de los fluidos. El grupo control no tto bebió más cantidad de agua que de salino con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.01$).

A las 15 semanas tampoco hubo una diferencia apreciable entre el consumo de agua y de salino en el caso de las ratas control tto.

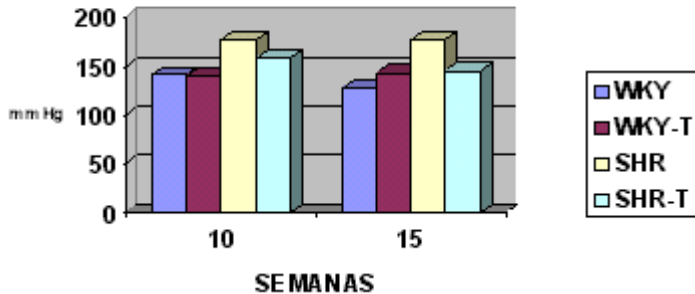


Al comparar los grupos control vemos cómo prácticamente no hay diferencias en lo referente al agua pero sí en cuanto al consumo de salino que fue superior en las ratas tratadas ($p < 0.01$).

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

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

**TENSIÓN ARTERIAL
MEDIA**

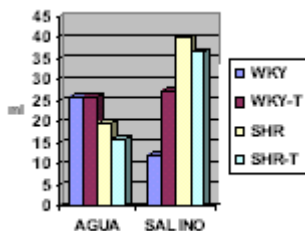


Tensión Arterial.-

Los grupos control, independientemente del tratamiento recibido, presentan una tensión arterial similar a las 10 semanas. Las ratas genéticamente hipertensas que no fueron tratadas tienen la mayor tensión arterial del experimento. La diferencia fue significativa con respecto a los grupos control no tto y control tto ($p < 0.01$) y casi significativa en el caso del grupo hta tto. Se observa como las diferencias entre los dos grupos de hipertensas comienzan a ser significativas a partir de la semana 12 y son claramente evidentes en la semana 15.

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

Al igual que en la edad de 10 semanas, a las 15 semanas la tensión arterial de los grupos control no tto y control tto es equiparable. A esta edad, también la tensión arterial de las ratas hipertensas tratadas es comparable a la de los controles. Así, no hay diferencias estadísticamente significativas entre la tensión arterial de los grupos control no tto, control tto e hta tto.



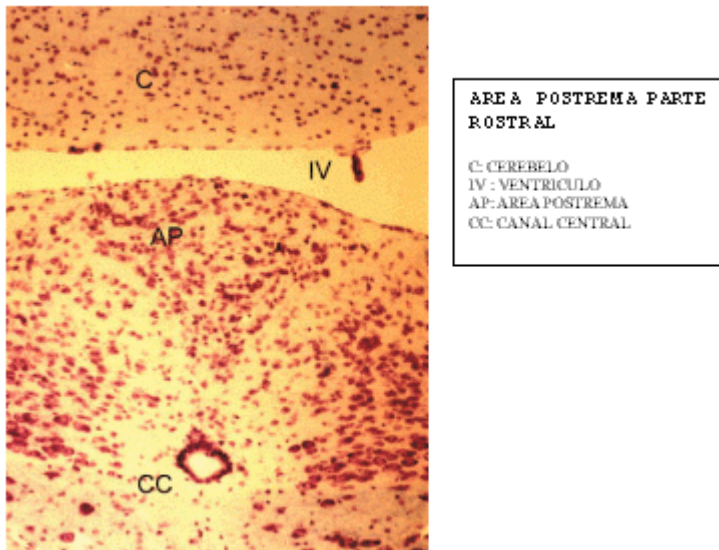
En todos los casos, la tensión arterial sistólica, diastólica y media de los animales hipertensos a los que no se les dio tratamiento fue mayor, con una $p < 0.01$, que la de los grupos control no tto, control tto e hta tto.

Frecuencia cardiaca.-

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

Estudio Cualitativo.-

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



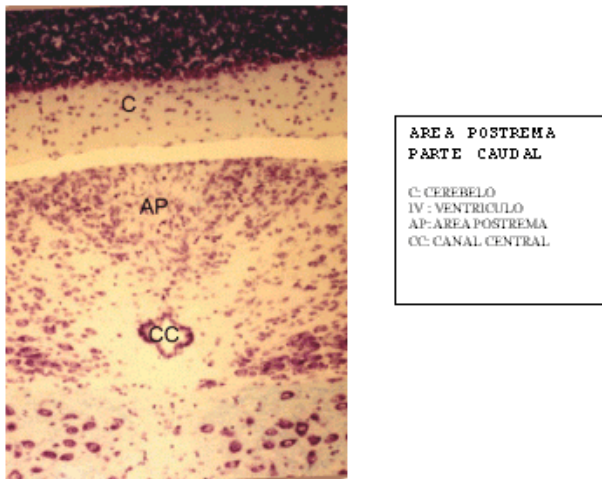
-Región rostral.

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

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

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

Las células endimarias de la región rostral del AP se distribuyen en pocas capas y son células redondeadas. Aparecen muy teñidas con los métodos de tinción convencionales de Klüver-Barrera. El canal endimario es notable en la región rostral y generalmente adquiere forma de cruz; en su región dorsal aparece el AP.



-Región caudal.

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

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

Además, podemos decir que el Área Postrema de los grupos controles e hipertensas presentan una distribución de sus componentes: células gliales, fibras nerviosas, neuronas y vascularización similar, independientemente del tratamiento y de la edad estudiada.

Estudio morfométrico

Región rostral

Neuronas

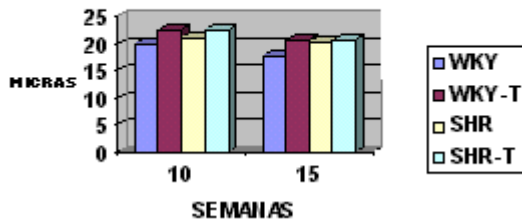
Los valores que presentan las neuronas de la región rostral del AP en cuanto al área nuclear son diferentes en los cuatro grupos estudiados, presentando un mayor valor el grupo control tratado seguido del hipertenso no tratado, $p < 0.1$. El grupo control no tratado posee valores del área nuclear más pequeños que el hipertenso no tratado y finalmente el grupo hipertenso tratado es el que tiene el valor más bajo de área neuronal.

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

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

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

**AREA POSTREMA CAUDAL
PERÍMETRO NUCLEAR EPÉNDIMO**



El perímetro neuronal mostró valores equiparables en los grupos de ratas hipertensas tratadas y no tratadas. Los grupos controles tratados y no tratados también presentaron valores similares siendo un poco más altos en el grupo control tto. Por el contrario, sí hubo diferencias significativas al comparar los grupos hipertensos con los controles, teniendo estos últimos valores más bajos. $P < 0.1$.

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

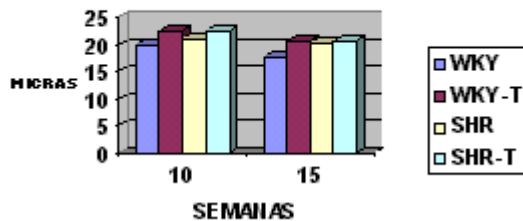
Epéndimo

El estudio comparativo entre los grupos controles e hipertensos refleja que el área nuclear tiene unas medidas similares en todos ellos independientemente de la cepa y el tratamiento.

Tampoco en este caso, el desarrollo cariométrico del perímetro nuclear de los ependimocitos de la región rostral ofrece variaciones importantes entre los diferentes grupos a las 10 semanas.

La circularidad es mayor en las ratas hipertensas a las que se les administró el tratamiento con captopril que en ambos grupos control, tratados y no tratados ($p < 0.05$), aunque fue comparable a la forma nuclear de las ratas hipertensas no tratadas.

**AREA POSTREMA CAUDAL
PERÍMETRO NUCLEAR EPÉNDIMO**



Los resultados obtenidos durante el estudio morfométrico a la edad de 15 semanas son superponibles a los obtenidos a las 10 semanas.

Ni el área nuclear ni el perímetro nuclear varían considerablemente entre los grupos seleccionados para el experimento.

El factor forma de los animales del grupo hipertenso no tratado se acerca al valor máximo, la unidad, con diferencias significativas con respecto a los restantes tres grupos: control no tratado, control tratado e hipertenso tratado. En todos ellos el grado de significación alcanzó una $p < 0.01$.

Región Caudal

Neuronas

Al comparar el área neuronal de los diferentes grupos estudiados observamos que no hay diferencias significativas entre ellos.

La gráfica relativa al perímetro neuronal tampoco manifiesta diferencias significativas al comparar los cuatro grupos estudiados.

En lo que se refiere al factor forma observamos que el grupo de las ratas control tratadas con captopril experimenta una disminución respecto al grupo de las ratas control no tratadas, $p < 0.1$. Los grupos de las ratas hipertensas, tratadas y no tratadas, no muestran diferencias en este valor aunque en el grupo de las ratas hipertensas no tratadas dicho valor aparece incrementado pero sin diferencias significativas. Los grupos de las ratas control no tratadas, hipertensas no tratadas e hipertensas tratadas poseen una circularidad más cercana a la unidad que el grupo de las control tratadas.

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

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

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

Epéndimo

El área de las células endimarias caudales a las 10 semanas de desarrollo no ofrece variaciones considerables entre los grupos seleccionados.

Al comparar el perímetro de las células endimarias caudales se pone de manifiesto que el grupo control tratado con captopril posee el mayor valor para este parámetro, $p < 0.05$, seguido por el grupo de ratas hipertensas tratadas, que a su vez tiene un valor más alto que el grupo de ratas hipertensas no tratadas. El valor más bajo lo presenta el grupo control no tratado, $p < 0.05$.

En el estudio comparativo del factor forma apreciamos que no hay diferencias estadísticamente significativas en la esfericidad de las células.

Los resultados obtenidos en el estudio morfométrico de los parámetros área y forma a la edad de 15 semanas son superponibles a los obtenidos a las 10 semanas.

El parámetro perímetro tiene el mismo valor en los grupos de ratas hipertensas tratadas y controles tratadas y es mayor, aunque no significativamente diferente, en comparación con el grupo hipertenso no tratado. El valor más bajo para este parámetro lo tiene el grupo control no tratado con captopril. $P < 0.05$.

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

Cabe destacar que las neuronas del AP, tanto en su región rostral como dorsal, son diferentes en las ratas controles respecto a las hipertensas, ya que en las hipertensas no tratadas, las células tienen una forma menos redondeada y son algo más alargadas y además, su distribución en el AP es menos homogénea.

Discusión

Peso

Según los autores Hyde y Miselis (1983) y Kroke (1998), la regulación del peso corporal y el control de la ingesta de alimento dependen de las lesiones en el AP e involucran componentes adyacentes del NTS. Una lesión de esta área produce un inmediato período de extrema hipofagia y pérdida de peso (Gross, 1987). El AP

y el subnúcleo comisural del NTS (scNTS) reciben importantes proyecciones sensitivas viscerales de los órganos abdominales y si se produce una lesión que destruya esta área, es probable que la pérdida de sensación visceral y las proyecciones interactivas del AP contribuyan a la hipofagia (Gross, 1987; Kroke, 1998).

Nosotros pensamos que las ratas controles tienen un peso mayor que las ratas hipertensas debido al cambio metabólico que experimentan las ratas hipertensas en cuanto a la homeostasis del volumen celular y a la cantidad de sodio que ingieren, ya que dichas ratas presentan gran avidez por la sal (Castañeyra-Perdomo y cols., 1993).

Bebida.

Se ha demostrado que lesiones del AP y del NTS causan una elevada respuesta a la bebida por la angiotensina II. (Simpson, 1981; Bishop, 2000) y que las proyecciones eferentes del OSF son las mediadoras de la respuesta, del beber ocasionada por la angiotensina II (Eng y Miselis, 1981; Bishop, 2000). Así pues, el daño causado por la lesión del AP/NTS a otros neurocircuitos sensitivos trae consigo implicaciones que involucran a otros sistemas funcionales (Gross, 1987; Osborn, 2000). El AP proyecta eferencias al NTS, y las neuronas de éste proyectan directamente al OSF (Tanaka y Seto, 1988; Krstew, 1998). Así, las vías directas desde el NTS al OSF juegan un papel importante en la regulación cardiovascular y el balance corporal de fluidos (Tanaka y Seto, 1988; Osborn, 2000).

En varios experimentos, se observa cómo la administración periférica de un IECA aumenta tanto la ingesta de agua como de salino en las ratas control (Elfont y cols., 1984; Moe y cols., 1984). Thunhorst y colaboradores, (1987) demuestran que durante el tratamiento con captopril, cuando el único fluido disponible es el agua, las ratas control beben más agua, y cuando las ratas disponen de agua y salino, beben más salino.

En nuestro estudio, al igual que Thunhorst y a diferencia de los autores anteriores, tras el tratamiento con captopril, no observamos diferencias en el consumo de agua de las ratas control pero sí en el consumo de salino que aumenta significativamente. Además nuestras ratas genéticamente hipertensas, independientemente del tratamiento, bebieron menor cantidad de agua y mayor cantidad de salino que las ratas control, lo que apoya los estudios anteriormente citados que presentan al OSF como la localización crítica para la ingesta de agua pero no de salino.

La evidencia histoquímica demuestra la existencia de conexiones neurales directas entre el AP y neuronas del núcleo supraóptico que secretan vasopresina. Estos hallazgos neuroanatómicos confirman estudios morfológicos previos (Shapiro y Miselis, 1985; Tribollet y cols., 1985; Krstew, 1998) que muestran que proyecciones eferentes del AP, conectan directamente neuronas neurosecretoras magnocelulares del hipotálamo anterior, lo que sugiere que esta vía formaría parte del sistema que controla la homeostasis de los fluidos en las ratas (Iovino y cols., 1988; Osborn, 2000).

En nuestro trabajo, la menor ingesta de agua y el mayor apetito por la sal de las ratas hipertensas se debería también a una interrupción en el circuito entre el AP y OSF y el núcleo preóptico medial, con la consiguiente disminución de los impulsos neurales hacia el núcleo paraventricular y, por lo tanto, la alteración de la síntesis de vasopresina.

Tensión arterial

Como hemos descrito anteriormente, uno de los procesos fisiológicos que se le han atribuido al AP es el del control de la presión sanguínea (Joy, 1971; Barnes y cols., 1979; Ferrario, 1986; Fink, 1997). Además, al no existir una barrera celular entre el LCR ventricular y el parénquima del AP (Torack y Finke, 1971; Gotow y Hashimoto, 1979; Ferrario, 1986), es posible que elementos neuronales u otros elementos celulares del AP, estén influenciados por las sustancias libres en sangre y, probablemente, por sustancias disueltas también en LCR subaracnoideo (Leslie, 1986; Stebbins y cols., 1998).

También habíamos descrito que, el OSF es también uno de los lugares más importantes para la angiotensina II circulante o cerebral (Simpson, 1981; Fink, 1997), es rico en receptores para la angiotensina II (Saavedra y cols., 1986) y participa en el aumento de la presión sanguínea en respuesta a dicho neurotransmisor (Lind y cols., 1983; Fink, 1997).

Nuestros resultados, en lo que se refiere a la presión sistólica, son comparables a los obtenidos por Webb y

colaboradores (1986) en ratones y por Nazarali y cols., (1989) en ratas. Estos autores también diseñaron cuatro grupos: control no tratados (CONTROL), control tratados (CONTROL TTO), hipertensos no tratados (HTA) e hipertensos tratados (HTA TTO), a los que se les administró un IECA, captopril en el primer caso y enalapril en el segundo, en el agua de bebida durante un período variable en cada caso. La tensión arterial sistólica medida con una técnica indirecta, es significativamente mayor en los animales hipertensos tratados y no tratados que en ambos grupos control al comienzo del tratamiento. Al final del mismo, la tensión arterial sistólica del grupo hta tto disminuye hasta acercarse a la de los grupos control, mientras que la del grupo hta no tto continúa aumentando con diferencias significativas con respecto al grupo tratado. El tratamiento no alteró significativamente la tensión arterial en los animales control.

A diferencia de nuestros resultados y de los dos trabajos anteriormente citados, Grichois y colaboradores (1992) encuentran diferencias significativas ($p < 0.05$) entre ratas WKY no tratadas y tratadas, de forma que las WKY que recibieron tratamiento con enalapril en el agua de bebida tuvieron una tensión arterial, tanto sistólica como diastólica, menor y una mayor frecuencia cardiaca. Los autores lo explican por la reducción del flujo simpático al músculo liso vascular.

En lo que se refiere a las ratas genéticamente hipertensas (SHR), nuestro experimento concuerda básicamente con el de otros autores. Así, Velkov y colaboradores (1986) tratan con captopril, intraperitonealmente, a dos grupos de ratas SHR de 4 y 32 semanas durante 77 y 23 días respectivamente. En ambos grupos, tanto la tensión sistólica como la diastólica disminuyen de forma significativa con respecto al grupo no tratado. Este descenso es más acusado en la tensión diastólica (36%) en comparación con la tensión sistólica (27%), un hecho explicable por el mecanismo hipotensor del captopril que reduce el tono vascular. Tampoco encuentran diferencias significativas en lo que respecta a la frecuencia cardiaca.

Anatomía del área postrema

Como hemos dicho anteriormente el AP es un órgano circunventricular y su estructura es similar en todas las especies estudiadas (Leslie, 1986), aunque existen diferencias anatómicas de este órgano entre mamíferos inferiores.

Nosotros hemos visto, en la rata, el AP como un centro único, a diferencia de lo que ocurre en carnívoros como el gato y en mamíferos superiores como el humano en los que se aprecian dos montículos, uno en el lado derecho y otro en el izquierdo (Brizze y Klara, 1984).

Además el AP de la rata, atendiendo a los ejes céfalo-caudal y dorso-ventral, la hemos dividido en dos regiones; región rostral, y región caudal, descripción que no coincide con la realizada por Brizze y Klara, en 1984, y la de Leslie en 1986, que además añaden una región de transición. Nosotros hemos incluido la región transicional de dichos autores en la parte caudal de nuestra región rostral.

Nosotros, con microscopía óptica, hemos encontrado en el AP dos tipos neuronales tal y como describe Chernicky en 1980. Lucchi y colaboradores, (1989), O sea neuronas de pequeño tamaño caracterizadas por un núcleo redondeado y un nucleolo prominente y las neuronas de mediano tamaño caracterizadas por un núcleo ovalado con un nucleolo también prominente.

La región rostral del AP resultante de la división que hemos establecido en el AP de la rata, se caracteriza porque los componentes endimarios se localizan medialmente y las neuronas laterodorsalmente. Las células endimarias de la región rostral del AP tienen núcleos redondeados y las neuronas de esta zona son medianas y pequeñas. Además, hemos observado que es una zona muy vascularizada, sobre todo en los márgenes laterales.

Según nos acercamos la parte caudal de la región rostral del AP destacamos la presencia de un estrato neuronal que divide al AP en una zona dorsomedial que posee gran cantidad de luces vasculares, células gliales y fibras nerviosas, y otra zona ventromedial más rica en células endimarias. Esto coincide básicamente con lo descrito por Brizze y Klara en (1984), y la de Leslie en (1986) en su región transicional.

Al igual que lo descrito por diferentes autores, Nosotros en la región caudal del AP, vemos que las neuronas son muy abundantes y ocupan la mayor parte de esta región, es decir, su zona central y dorsal. La

zona más ventral está ocupada por células endimarias.

Por último podemos decir que cualitativamente hablando no hemos observado variaciones entre en los diferentes componentes del AP al comparar los grupos experimentales y controles lo que coincide con lo descrito por Puchades- Company tesis para el OSF.

Cabe destacar que en los cuatro grupos estudiados, las neuronas del AP en su región caudal se disponen formando un triángulo más reducido que las células de la región rostral del AP. Las neuronas de la parte caudal, aparecen más unidas unas con otras en contraste con las neuronas de la región rostral del AP. Las células del canal endimario en la zona caudal, se distribuyen formando un círculo y se pierde la forma de cruz que caracteriza al epéndimo de la región rostral. Esto coincide con la descripción de Torack y Fincke (1971) a propósito de las diferencias encontradas en el canal endimario de la zona rostral y de la zona caudal del AP.

Estudio morfométrico.

En nuestro estudio del AP en ratas hemos visto que el área nuclear y el perímetro nuclear de las neuronas de la región rostral, disminuyen proporcional y significativamente con la edad en los grupos de ratas controles y controles tratadas, sin embargo, en los grupos de las ratas hipertensas e hipertensas tratadas, a diferencia de los resultados obtenidos del OSF (Puchades-Company 1995), el área nuclear experimenta un aumento progresivo desde las 10 semanas hasta las 15 semanas, sobre todo en el grupo de las ratas hipertensas tratadas. Respecto al factor forma, no encontramos variaciones significativas entre los cuatro grupos estudiados y según las edades. Comparando estos resultados con los precedentes hallados en el OSF, el descenso del área nuclear en el AP, un parámetro morfométrico que refleja la función celular (Edstrom y Eichner, 1960; Srebo y cols., 1988), al igual que ocurre con el OSF, puede deberse a que el AP es muy importante en las primeras semanas de vida y en ese momento se establecen los mecanismos que regulan la actividad cardiovascular y el equilibrio hidrosalino, y al nacer, este órgano ya sería funcional.

Por otro lado, el hecho de que el área nuclear aumente con la edad en el grupo de las ratas hipertensas, tanto tratadas como no tratadas, puede deberse a una hiperfunción del AP que llevaría consigo un aumento de su tamaño.

El tratamiento oral crónico con captopril afecta de forma diferente a las ratas control y a las ratas hipertensas, no modificando o aumentando ligeramente el área neuronal del OSF en las ratas control y disminuyendo dicho parámetro en las ratas hipertensas (Puchades-Company y cols 1995). Estos cambios pueden ser explicados por la variación de los elementos vasculares, así como por trastornos funcionales. Al bloquear el paso de angiotensina I a angiotensina II, se produce una disminución del tamaño del núcleo que se manifiesta en el descenso del área nuclear del OSF de las ratas hipertensas tratadas. Esta atrofia nuclear produciría una reducción en la liberación de vasopresina como consecuencia de la alteración de la vía neuronal angiotensinérgica entre el OSF y el NPV.

Comparando estos resultados con los nuestros obtenidos en el AP de la rata, vemos que los valores del área nuclear neuronal y del perímetro nuclear, son significativamente mayores en las neuronas de la parte rostral del AP de las ratas hipertensas comparadas con las controles.

Cabe destacar que los resultados obtenidos para el área nuclear de las neuronas de la región rostral del AP, son similares a los que se obtienen para el perímetro nuclear, y respecto al factor forma, no se obtiene variaciones significativas entre los cuatro grupos estudiados y según las edades.

La hipertensión arterial se establece después de las 8 semanas de edad, ya que apenas se ha visto variación en los parámetros área nuclear, perímetro nuclear y factor forma de las neuronas del OSF, al comparar los grupos control no tratados con hipertensos no tratados, y a dicha edad, la hipertensión arterial todavía no se ha manifestado clínicamente porque probablemente, el OSF permanece intacto (Puchades-Company y cols., 1995). En el presente trabajo, el factor forma de las neuronas del AP en su región rostral, no presentó variaciones significativas entre los cuatro grupos estudiados y según las edades, en contra de los resultados obtenidos para este parámetro en el OSF, según los cuales, el factor forma fue mayor en el grupo de

las ratas hipertensas no tratadas, y disminuyó en las ratas hipertensas tratadas, equiparándose a los grupos controles. Esto podría demostrar, una vez más, que el captopril no afecta a la función del AP. En el OSF, el tratamiento con captopril afecta de forma diferente a las ratas control y a las hipertensas, y así el factor forma se mantiene o aumenta ligeramente al tratar las ratas control y disminuye al tratar a las hipertensas como consecuencia del descenso de la angiotensina II y por lo tanto, de su función (Castañeyra-Perdomo y cols., 1993).

Los cambios morfológicos del OSF encontrados en la rata hipertensa (Puchades-Company y cols., 1995) podrían ser una expresión del aumento del número de receptores angiotensinérgicos encontrados por Saavedra y colaboradores (1986) y por Nazarali y colaboradores (1989) exclusivamente en el OSF de la rata hipertensa. En nuestro estudio del AP, los cambios morfológicos también pueden ser debidos al aumento receptores de la angiotensina II (Osborn y cols., 2000).

Con el objetivo de comparar las posibles diferencias entre el comportamiento del epéndimo del AP y el epéndimo en otras zonas ventriculares, se analizaron los resultados obtenidos en los trabajos realizados sobre el desarrollo cariométrico en EM y NA (Carmona-Calero y cols., 1990), epéndimo subyacente al órgano subcomisural (Castañeyra-Perdomo y cols., 1983), el OSF de la rata (Puchades-Company, 1995) y el AP del ratón (Castañeyra-Perdomo y cols., 1983) y a la vista ellos y compararlos con los nuestros en AP de la rata. Podríamos decir que el comportamiento morfométrico de los diferentes OCV estudiados en este Departamento durante el desarrollo postnatal en animales control, parece seguir un modelo equivalente con respecto al nivel ependimario, pero no en las neuronas, donde parece que el OSF y el AP presentan variaciones significativas en algunas edades.

Según trabajos previos (Martines de la Peña y Valenzuela y cols 2000) mediante electroforesis, se obtuvieron diferentes bandas del LCR de las ratas SHR que no encontramos en las ratas WKY. Por lo tanto, según estos resultados podemos decir que el LCR de las ratas hipertensas contiene unas proteínas que no aparecen en las ratas normales, y esto puede deberse a que las proteínas hayan sufrido un cambio y se hayan transformado en proteínas anómalas, debido al mal funcionamiento de algunas estructuras cerebrales como son los órganos circunventriculares (Castañeyra-Perdomo y cols 2001) implicados en su síntesis en el animal hipertenso, que no tendría lugar en el animal sano, o bien que las proteínas aparezcan en mayor cantidad en la rata hipertensa a consecuencia de la alteración en la secreción o hiperfunción de algunos órganos circunventriculares como son el OSC (Castañeyra-Perdomo y col 1998) y / o el OSF o los plexos coroideos (Puchades-Company y cols., 1996) y sea imperceptible en la rata normotensa. Así, Saavedra y colaboradores (1986) observan que los cambios morfológicos del OSF que aparecen en la rata hipertensa podrían ser una expresión del aumento del número de receptores angiotensinérgicos.

Rodríguez y colaboradores (1992), empleando la técnica electroforética para estudiar LCR de humanos hidrocefálico, encontraron varias bandas proteicas que estaban presentes en el LCR de los hidrocefálicos que no se observaron en los controles. Más recientemente, en un trabajo previo realizado en este Departamento (Castañeyra-Perdomo y cols., 1999), hemos confirmado los hallazgos de Rodríguez y colaboradores (1992), en el que se puso de manifiesto la existencia de un total de siete bandas proteicas de; 24, 25, 31, 45, 91, 150 y 250 kDa en el LCR de los hidrocefálicos que no estaban presentes en el normal. Estos hallazgos y las alteraciones del OSC demostradas en fetos hidrocefálico (Castañeyra-Perdomo y cols, 1994) y ratas hidrocefálicas (Irigoin y cols., 1990; Fernández-González, 2000) apoyan la posibilidad de que en la hidrocefalia las secreciones del OSC al LCR estén alteradas. Los hallazgos de bandas proteicas patológicas en el LCR de las ratas SHR (Martines de la Peña y Valenzuela y cols 2000), y el hecho de que la hipertensión se acompaña de una dilatación ventricular progresiva (Ritter, 1986) soporta la posibilidad de que en las ratas SHR, esté alterado el material secretor liberado al LCR por los órganos circunventriculares.

Teniendo en cuenta que el tratamiento con captopril produce una normalización de la presión arterial de las ratas SHR, que el tratamiento no corrige la dilatación ventricular (Ritter y cols., 1988), que la hipertensión experimental cursa con ventrículos de tamaño normal (Ritter y cols., 1988) y que la hipertensión en las ratas SHR produce una alteración de las proteínas del LCR. Sugerimos que la alteración de las proteínas y/o de los OCV implicados en su secreción sea causa y no consecuencia de este tipo de hipertensión

Bibliografía

- ANDERSON J.W. SMITH P.M., AND FERGUSON A.V., (2001). Subfornical organ neurons projecting to paraventricular nucleus whole-cell properties. *Brain Res* 921: 78-85.
- ANDREWS PL., OKADA F., WOODS AJ., HAGIWARA H., KAKAIMOTO S., TOYODA M., MATSUKI N. (2000). "The emetic and anti-emetic effects of the capsaicin analogue resiniferatoxin in *suncus murinus*, the house musk shrew". *Br J. Pharmacol.*, 130 : 1247-1254.
- ARIENS-KAPPERS CV. (1920). "Die vergleichende anatomic nervensystem der wirbeltier und des Menschen". I. Haarlem. Bohn.
- BARNES KL., FERRARIO CM. (1980). "Characterization of the sympathofacilitative Area Postrema pathway". *Clin. Sci.*, 59: 255.
- BARNES KL., FERRARIO CM., CONOMY JP. (1979). "Comparison of the hemodynamic changes produced by electrical stimulation on the Area Postrema and Nucleus Tractus Solitarii in the dog". *Cir. Res.*, 45: 136.
- BISHOP VS., SANDERFORD MG. (2000). "Angiotensin II modulation of the arterial baroreflex: role of the Area Postrema". *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 27: 428-431.
- BORISON H.L. (1984) History and status of the area postrema. *Fed Proc.* 43:2937-40.
- BORISON HL. AND BRIZZEE KR. (1951). "Morphology of emetic chemoreceptor trigger zone in cat medulla oblongata". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 77: 38.
- BRIZZEE KR., KLARA PM. (1984). "The structure of the mammalian Area Postrema". *Federation Proc.*, 43: 2944.
- CACHOFEIRO V., GUAN H., NASJLETTI A. (1993). "Mecanismo de acción de los IECA: nuevas perspectivas". *Hipertensión*, 10: 27-31.
- CARMONA-CALERO EM, PÉREZ-GONZÁLEZ H., PÉREZ-DELGADO MM., MARRERO-GORDILLO N., PUCHADES-COMPANY MJ., CASTAÑEYRA-PERDOMO A., FERRES-TORRES R. (1996). "Efectos de la administración crónica de captopril sobre el Órgano Subcomisural del ratón". *Arch. Esp. Morfol.*, 1: 109-112.
- CARMONA-CALERO EM., PÉREZ-DELGADO MM., CASTAÑEYRA-PERDOMO A., PÉREZ-GONZÁLEZ H., FERRES-TORRES R. (1990). "Development of the Median Eminence in the male mouse karyometric effect of neonatal and prepuberal castration". *Journal Fur Hirnsorschung*, 31: 315.
- CASTAÑEYRA-PERDOMO A, LUZ MARÍA FERNANDEZ-GONZALEZ, ISABEL MARTÍNEZ DE LA PEÑA-VALENZUELA, EMILIA CARMONA-CALERO, ROMUALDO FERRES-TORRES, HERMINIA PÉREZ-GONZÁLEZ, MARÍA DEL MAR PÉREZ-DELGADO, MANOLI CASTAÑEYRA-MARTIN, NORBERTO MARRERO-GORDILLO, Y CARLOS ORMAZABAL-RAMOS. (1999). "Cambios en las proteínas del líquido cefalorraquídeo de diferentes tipos hidrocefalos humanos". *European Journal of Anatomy*, 4:40.
- CASTAÑEYRA-PERDOMO A., CARMONA-CALERO E., MEYER G., PÉREZ-GONZÁLEZ H., PÉREZ-DELGADO MM., MARRERO-GORDILLO N., RODRÍGUEZ S., RODRÍGUEZ EM. (1998). "Changes in the secretory activity of the Subcommissural Organ of spontaneously hypertensive rats!". *Neurosci. Lett.*, 246: 133-136.
- CASTAÑEYRA-PERDOMO A., FERRES-TORRES R., MEYER G. (1983). "Karyometric changes in the Subcommissural Organ of male mice after gonadectomy". *Neurosci. Lett.*, 39: 27.
- CASTAÑEYRA-PERDOMO A., MEYER G., CARMONA-CALERO E., BAÑUELOS-PINEDA J., MÉNDEZ-MEDINA R., ORMAZÁBAL-RAMOS C., FERRES-TORRES R. (1994). "Alterations of the Subcommissural Organ in the hydrocephalic human fetal brain". *Dev. Brain Res.*, 79: 316-320.
- CASTAÑEYRA-PERDOMO A., MEYER G., CARMONA-CALERO E., PÉREZ-GONZÁLEZ H., PÉREZ-DELGADO MM., BAÑUELOS-PINEDA J., FERRES-TORRES R. (1993). "The effects of chronic administration of captopril on the mouse Subfornical Organ and Area Postrema". *Experimental Neurology*, 120, 145-148.
- CASTAÑEYRA-PERDOMO AGUSTIN, ISABEL MARTINEZ DE LA PEÑA Y VALENZUELA, EMILIA CARMONA CALERO, HERMINIA PEREZ-GONZÁLEZ, EDUARDO BLASCO-OLAETXEA, ANA BELEN TRUJILLANO DORADO, TERESA DE LEON CABRERA, M^a LIDIA RUIZ MAYOR. (2001) "Alterations of the Circunventricular Organ Secretion in the Arterial Hipertensión. A Study in SHR rats". *European Journal of Anatomy* 5: 52-53.
- CHERNICKY CL., BARNES KL., CONOMY JP., FERRARIO CM. (1980). "A morphological characterization of the canine Area Postrema". *Neurosci. Lett.*, 20, 37.
- COLLISTER JP., OSBORN JW. (1998). "Area Postrema lesion attenuates the long-term hypotensive effects of losartan in salt-replete rats". *Am. J. Physiol.*, 274: 357-366.
- CUGINI P., CRUCIANI F., TURRI M., REGINE F., GHERARDI F., PETRANGELI CM., GABRIELI CB.

- (1999). "Minimal-change hypertensive retinopathy and arterial pre-hypertension". *Int.Ophthalmol.*, 22(3): 145-49.
- CUNNINGHAM ET., MISELIS RR., SAWCHENKO PE. (1994). "The relationship of efferent projections from the Area Postrema to Vagal Motor and brain stem catecholamine-containing cell groups: an axonal transport and immunohistochemical study in the rat". *Neuroscience*. 58(3): 635-48.
- DEMPSEY EW. (1973). "Neural and vascular ultrastructure of the Area Postrema in the rat". *J. Comp. Neurol.*, 150, 177.
- EDSTROM JE., EICHNER D. (1960). "Qualitative und quantitative Ribonukleinäureuntersuchungen an den Ganglienzellen der NN supraopticus und paraventricularis der Ratte unter normalen und experimentellen Bedingungen". *Anat. Anz.*, 108: 312-319.
- ELFONT RM., EPSTEIN AN., FITZSIMONS JT. (1984). "Involvement of the renin-angiotensin system in captopril-induced sodium appetite in the rat". *J. Physiol. Lond.*, 354: 11-27.
- ENG R., MISELIS RR. (1981). "Effect of knife cuts of Subfornical Organ projections on drinking behaviour". *Soc. Neurosci. Abstr.*, 7, 638.
- FÉLIX D., AKERT K. (1974). "The effect of angiotensin II on neurons of the cat Subfornical Organ". *Brain Res.*, 76: 350-353.
- FERNANDEZ-GONZALEZ, L.M., MARTINEZ DE LA PEÑA-VALENZUELA, I., CARMONA-CALERO, E., CASTAÑEYRA-PERDOMO, A., FERRES-TORRES, R., PÉREZ-GONZÁLEZ, H., PÉREZ-DELGADO, M..M., CASTAÑEYRA-MARTIN, M., MARRERO-GORDILLO, N., AND ORMAZABAL-RAMOS. C., (2000) Changes in the rats subcommissural organ of induced hydrocephalus. *European J Anatomy* 4: 49.
- FERRARIO CM., BARNES KL., MICHELINI LC. (1986). "Area Postrema lesions augment the pressor activity of centrally administered vasopressin". *Clin. and Exper.*, 7: 1107-1125.
- FINK G.D. (1997). "Long-term sympatho-excitatory effect of angiotensin II: A mechanism of spontaneous and renovascular hypertension". *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 24 (1):91-5.
- FITTS D.A., STARBUCK E.M. RUHF A. (2000) Circunventricular organs and ANG II-induced salt appetite blood pressure and connectivity. *Am J Physiol Regl Integr Comp Physiol* 279: R2277-R2286
- Ganong W.F. Circunventricular organs; definition and role in the regulating endocrine and autonomic function. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 27 422-427 (2000)
- GILDENBERG PL., FERRARIO CM., McCUBBIN JW. (1973). "Two sites of cardiovascular action of angiotensin II in the brain of the dog". *Clin. Sci.*, 44, 417.
- GOTOW T., HASHIMOTO PH. (1979). "Fine structure of the ependyma and intercellular junctions in the Area Postrema of the rat". *Cell. Tissue Res.*, 201, 207.
- GRICHOIS ML., BLANC J., DECKERT V., ELGHOZI JL. (1992). "Differential effects of enalapril and hydralazine on short-term variability of blood pressure and heart rate in rats". *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 19: 863-869.
- GROSS PM. (1985). "The Subfornical Organ as a model of neurohumoral integration". *Brain Res.Bull.*, 15: 65-70.
- GROSS PM. AND WEINDL A. (1987). "Peering through the windows of the brain". *J. Cereb. Blood Flow Metabol.*, 7: 663-672.
- HOLLENBERG NK. (1985). "Advances in therapeutics: converting enzyme inhibition and the kidney". *Am. J. Med*, 79:1-2.
- HOLLENBERG NK. (1990). "El sistema renina-angiotensina en la hipertensión arterial y en la insuficiencia cardíaca congestiva". *Hoechst*, 2: 45-47.
- HYDE TM., MISELIS RR. (1983). "Effects of Area Postrema caudal, medial Nucleus of Solitary Tract lesions on food intake and body weight". *Am. J.. Physiol.*, 244: 577-587.
- IOVINO M., PAPA M., MONTELEONE P., STEARDO L. (1988). "Neuroanatomical and biochemical evidence for the involvement of the Area Postrema in the regulation of vasopressin release in rats". *Brain Res.*, 447, 178.
- IRIGOIN C, RODRIGUEZ EM, HEINRICHS M, FRESE K, HERZOG S, OKSCHE A AND ROTT R (1990). Immunocytochemical study of the subcommissural organ of rats with induced postnatal hydrocephalus. *Exp. Brain Res* 82:384-392.
- ISRAEL A., CORREA FMA., NIWA M., SAAVEDRA JM. (1984). "Quantitative determination of angiotensin II binding sites in rat brain and pituitary gland by autoradiography". *Brain Res.*, 322, 280.
- JOY MD.(1971). "The intramedullary connections of the Area Postrema involved in the central cardiovascular response to angiotensin II". *Clin. Sci.*, 41: 89.
- KLUVER H. AND BARRERA E. (1953). "A Method for the combined staining of cells and fibres in the nervous system". *J. Neuropath, Ex Neurol.*, 12.

- KRISCH B. (1978). "Vasopressin transport in the area of Supraoptic Nucleus and Zona Interna of the Median Eminence in thirst-stressed rats". *Verh. Anat. Ges.*, 707-708.
- KROKE A., BERGMANN M., KLIPSTEIN-GROBUSCH K., BOEING H. (1998). "Obesity, body fat distribution and body build: Their relation to blood pressure and prevalence of hypertension". *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 11: 1062-70.
- KRSTEW E., JARROT B., LAWRENC A.J.(1998). "Autoradiographic visualization of axonal transport of adenosine A1 receptors along the rat vagus nerve and characterisation of adenosine A1 receptor binding in the dorsal vagal complex of hypertensive and normotensive rats". *Brain. Res.*, 802(1-2): 61-8.
- LESLIE RA. (1986). "Comparative aspects of the Area Postrema: Fine-structural considerations, help to determine its function". *Cell. And Mol. Neurobiology*, 6, 95.
- LIND RW., OHMAN LE., LAMSING LB., JOHNSON AK. (1983). "Transection of Subfornical Organ neuronal connections diminishes the pressor response to intravenously infused angiotensin II". *Brain Res.*, 275: 361-364.
- LUCCHI ML., COSTERBOSA GL., BARAZZONI AM., FACCIOLI G., PETROSINO G., BORTOLAMI R. (1989). "The fine structure of the Area Postrema of the sheep". *Arch. Italien. De Biol.*, 127-37.
- MARTINEZ DE LA PEÑA Y VALENZUELA I, CARMONA-CALERO,E. PEREZ-GONZALEZ,H., BLASCO-OLAETXEA, E., TRUJILLANO DORADO, A.B., DIAZ DEL CAMPO, M.C., RUIZ MAYOR, M.L. AND CASTAÑEYRA- PERDOMO. A.(2000) "Alterations of the Cerebro Spinal Fluid (CSF) proteins in the Arterial Hypertension. A study in SHR Rats". *European Journal of Anatomy* 4: 49
- MATSUMURA K., AVERILL DB., FERRARIO CM. (1999). "Role of AT1 receptors in Area Postrema on baroreceptor reflex in spontaneously hypertensive rats". *Brain Res.*, 850 (1-2): 166-72.
- MCKINLEY M.J., ALLEN A.M., MATHAI M.L. MAY C., MCALLEN R.M. OLDFIELD B.J. WEISSINGER R.S. (2001). "Brain angiotensin and body fluid homeostasis". *Jpn J Physiol.* 51 281-289
- MOE KE., WEISS ML., EPSTEIN AN. (1984). "Sodium appetite during captopril blockade of endogenous angiotensin II formation". *Am. J. Physiol.*, 247: 356-365.
- Muders F, Palkovits M, Bahner U, Kirst I., Elsner D, Jandeleit-Dahm K., Central inhibition of AT1 receptor by eprosartan-in vitro autoradiography in the brain. *Pharmacol Res* 43 251-255 (2001)
- NAKAO M., NOMURA S., SHIMOSAWA T., FUJITA T., KUBOI T. (1999). "Blood pressure biofeedback treatment, organ damage and sympathetic activity in mild hypertension". *Psychother Psychosom.*, 68(6): 341-47.
- NAZARALI A.J., GUTKIND J.S., CORREA F.M.A., SAAVEDRA J.M. (1989). "Enalapril decreases angiotensin II receptors in Subfornical Organ of SHR". *Am. J. Physiol.*, 256: H1609-H1614.
- NUYT A.M., LENKEI Z., CORVOL P., PALKOVITS M., LLORENTS-CORTES C. (2001) "Ontogeny of angiotensin II type 1 receptor mRNAs in fetal and neonatal rat brain". *J.Comp. Neurol* 440 192-203
- OSBORN JW., COLLISTER JP., CARLSON SH. (2000). "Angiotensin and osmoreceptor inputs to the Area Postrema: Role in long-term control of fluid homeostasis and arterial pressure". *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 27 (5-6): 443-9.
- OSSENKOPP KP. (1983). "Taste aversions conditioned with gamma radiation: Attenuation by Area Postrema-lesions in rats". *Behav. Brain Res.*, 7, 297.
- PASHCHENKO PS., SUKHOTERIN AF. (2000). "The structural organization of the normal rat Area Postrema and under conditions of chronic exposure to gravitational loads". *Morfologia*, 117 (2): 36-41.
- PHILLIPS MI., FÉLIX D., HOFFMAN WE., GANTEN D. (1977). "Angiotensin-sensitive sites in the rat brain ventricular system". W.M. Cowan and J.A. Ferrendelli (eds.), *Society for Neuroscience Symposia*, 2, 308.
- PUCHADES COMPANY MJ., CARMONA-CALERO E., PÉREZ-GONZÁLEZ H., MARRERO-GORDILLO N., PÉREZ-DELGADO MM., CASTAÑEYRA-PERDOMO A. (1996). "Efectos de la hipertensión arterial y su tratamiento sobre el Órgano Subfornical". En: José Regidor y Carmen Paz Suárez Araujo (Eds). *Neurociencia y Computación Neuronal*. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria y Sociedad Canaria de Neurociencias: Las Palmas de Gran Canaria.
- QUIAN Z.M., KOOM HW. (1998). "Area Postrema is essential for the maintenance of normal blood pressure under cold stress in rats". *Exp Brain Res*, 121 (2): 186-90.
- REAUX A., FOURNIE-ZALUSKI MC., DAVID C., ZINI S., ROQUES BP., CORVOL P., LLORENS-CORTES C. (1999). "Aminopeptidase A inhibitors as potential central antihypertensive agents". *Proc. Natl.Acad.Sci.*, 13415-20.
- RITTER S, DINH TT (1986) "Progressive postnatal dilation of brain ventricles in spontaneously hypertensive rats". *Brain Res.* 370: 327-32.
- RITTER S, DINH TT, STONE S, ROSS N. (1988) "Cerebroventricular dilation in spontaneously hypertensive rats

- (SHRs) is not attenuated by reduction of blood pressure". *Brain Res.* 450 :354-359.
- RITTER S., Mc GLONE JJ., KELLEY KW. (1980). "Absence of lithium-induced taste aversion after Area Postrema lesion". *Brain Res.*, 201(2):501-506, Nov.
- ROBERTSON HA., LESLIE RA. (1985). "Noradrenergic alpha-2-binding sites in vagal dorsal motor nucleus and nucleus tractus solitarius: Autoradiographic localization". *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 63, 1190.
- RODRÍGUEZ EM., OKSCHE A., HEIN S., YULIS R. (1992). "Cell biology of the Subcommissural Organ". *Int. Rev. Cytol.*, 135: 39-121.
- RUIZ-GAYO M., SOMOZA B., BRAVO R., FERNÁNDEZ-ALFONSO MS., GONZÁLEZ C. (2000). "Chronic losartan treatment decreases angiotensin II-mediated facilitation of noradrenaline release in the caudal artery of spontaneously hypertensive rats". *Life Sci.*, 67 (26): 3153-62.
- SAAVEDRA JM., ISRAEL A., PLUNKETT LM., KURIHARA M., SHIGEMATSU K., CORREA FMA. (1986). "Quantitative distribution of angiotensin II binding sites in rat brain by autoradiography". *Peptides*, 7: 679-687.
- SHAPIRO RE., MISELIS RR. (1985). "The central neural connections of the Area Postrema of the rat". *J. Comp. Neurol.*, 234: 344.
- SIMPSON JB. (1981). "The circumventricular organs and the central actions of angiotensin". *Neuroendocrinol.*, 32, 248.
- SIRETT NE., Mc LEAN AS., BRAY JJ., HUBARD JI. (1977). "Distribution of angiotensin II receptors in rat brain". *Brain Res.*, 122: 299-312.
- SREBO Z., LACH H., PLACKOWSKA M. (1988). "A karyometric study of the Supraoptic and Paraventricular Nuclei of the Hypothalamus of kainic acid-treated mice". *Folia Biol.*, 36: 53-58.
- STEBBINS CL, BONIGUT SS., LIVIAKIS LR, MUNCH PA. (1998). "Vasopressin acts in the Area Postrema to attenuate the exercise pressor reflex in anesthetized cats". *Am. J. Physiol.*, 274 (6Pt 2): H2116-22.
- SUZUKI H., NAKAMOTO H., NEMOTO H., SUGAHARA S., OKADA H. (2000). "Control of blood pressure and prevention of end-organ damage in patients with accelerated hypertension by combination with atenolol and extended release nifedipine". *Hypertens. Res.*, 23(2): 159-66.
- SZILAGYI JE., FERRARIO CM. (1980). "The role of endogenous opiates in the Area Postrema pressor pathway". *Clin. Sci.*, 59, 267.
- SZILAGYI JE., FERRARIO CM. (1981). "Central opiate system modulation of the Area Postrema pressor pathway". *Hypertens.*, 3, 313.
- TANAKA J., SETO K. (1988). "Neurons in the lateral hypothalamic area and zona incerta with ascending projections to the Subfornical Organ area in the rat". *Brain Res.*, 456: 397-400.
- TANAKA J., NOMURA M. (1993). "Involvement of neurons sensitive to angiotensin II in the Median Preoptic Nucleus in the drinking response induced by angiotensin II activation of the Subfornical Organ in rats". *Exp. Neurology*, 119: 235-239.
- THIND GS., JOHNSON A., BHATNAGAR D., HENKEL TW. (1985). "A parallel study of enalapril and captopril and 1 year of experience with enalapril treatment in moderate-to-severe essential hypertension". *Am. Heart J.*, 109: 852-858.
- THUNHORST R., FITTS DA., SIMPSON JB. (1987). "Separation of captopril effects on salt and water intake by Subfornical Organ lesions". *Am. J. Physiol.*, 252: 409-418.
- TORACK RM., FINKE EH. (1971). "Evidence for a sequestration of function within the Area Postrema based on scanning electron microscopy and the penetration of horseradish peroxidase". *Z. Zellforsch.*, 118, 85.
- TRIBOLLET E., ARMSTRONG WE., DUBOIS-DAUPHIN M., DREIFUSS JJ. (1985). "Extrahypothalamic afferents input to the Supraoptic Nucleus area of the rat as determined by retrograde and anterograde tracing techniques". *Neurosci.*, 15, 135.
- TSUTSUMI K., SAAVEDRA JM. (1991). "Quantitative autoradiography reveals different angiotensin II receptor subtypes in selected rat brain nuclei". *J. of Neurochem.*, 56, 348.
- VELKOV Z., LOLOV R., LOLOV V., NICOLOV N., TODOROVA M. (1986). "Effect of captopril on some ventricular contractility indices in spontaneously hypertensive rats". *Jpn. J. Physiol.*, 36: 815-820.
- WASHBURN D.L. FERGUSON A.V. (2001) "Selective potentiation of N-type calcium channels by angiotensin II in rat subfornical organ neurones". *J. Physiol* 536: 667-675
- WEBB CR., HAMLIN MN., HENRY JP., STEPHENS PM., VANDER AJ. (1986). "Captopril, blood pressure and vascular reactivity in psychosocial hypertensive mice". *Hypertens.*, 8: 119-122.
- WILLIAMS GH. (1988). "Converting-enzyme inhibitors in the treatment of hypertension". *N. Engl. J. Med.*, 319: 1517-1525.

XU Z., PERKAREK E., GE J. AND YAO J. (2001)"Functional relationship between subfornical organ cholinergic stimulation and cellular activation in the hypothalamus and AV3V region. Brain Res 922 191-200"