

UNIVERSIDAD DE GRANADA

DEPARTAMENTO DE PSICOLOGÍA EXPERIMENTAL
Y FISIOLOGÍA DEL COMPORTAMIENTO
AREA DE PSICOBIOLOGÍA



**HIPOTÁLAMO Y HOMEOSTASIS:
EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE OXITOCINA SOBRE
LA REGULACIÓN HIDROMINERAL DE LAS RATAS MACHO**

ANTONIO BERNAL BENÍTEZ

ABRIL 2005

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Antonio Bernal Benítez
D.L.: Gr. 727 - 2005
ISBN: 84-338-3366-9

D. AMADEO PUERTO SALGADO, Catedrático de Psicobiología de la
Universidad de Granada

CERTIFICA: Que la presente Tesis Doctoral titulada “HIPOTÁLAMO Y HOMEOSTASIS: EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE OXITOCINA SOBRE LA REGULACIÓN HIDROMINERAL DE LAS RATAS MACHO” ha sido realizada por el doctorando Antonio Bernal Benítez en el Laboratorio de Psicobiología del Departamento de Psicología Experimental y Fisiología del Comportamiento de la Universidad de Granada, bajo mi dirección.

Y para que así conste, expido el presente que firmo en
Granada a 12 de Abril de 2005

Fdo. D. Amadeo Puerto Salgado

A mis padres

AGRADECIMIENTOS

Quedaría incompleto esta Tesis Doctoral sin dedicar unas palabras de agradecimiento a todas las personas que me han acompañado en este recorrido y han hecho posible la realización de este trabajo.

A mi profesor-tutor, D. Amadeo Puerto, porque gran parte de lo aprendido ha sido posible gracias a la oportunidad que me dio de formarme bajo su dirección. Por haber inculcado en mí una visión crítica y minuciosa, propia del trabajo científico. Por su apoyo personal y humano y por su dedicación y entrega de tantas horas, a veces robadas al tiempo de descanso. Por su trabajo cordial, afectuoso y sincero. Por sus correcciones, hechas siempre con cariño y delicadeza. Por todo ello, gracias.

A los profesores Javier Mahía y Cristina Mediavilla, compañeros de investigación y amigos. Por lo que he aprendido de ellos y por su disponibilidad y apoyo en todo momento.

A todos los compañeros y compañeras con los que he compartido tantas horas de laboratorio. A las profesoras y doctoras Filomena Molina, M^a Dolores, M^a Angeles Zafra, M^a José Simón y también a Raquel, Antonio Agüera y Mariena.

A los profesores del Área de Psicobiología de la Universidad de Granada, quienes despertaron en mí el interés por la psicobiología y a los de la Universidad de Jaén, por sus aportaciones y apoyo constantes.

A mi familia y especialmente a mis padres, porque siempre es una buena oportunidad para estarles agradecido y a mis sobrinitos, Juan Antonio e Isabel María, porque cada vez que los veo me reciben con una sonrisa en la boca.

A mis amigos, los de Granada, los de Ubrique y los de otros tantos lugares, a todos ellos, gracias.

**HIPOTÁLAMO Y HOMEOSTASIS:
EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE OXITOCINA SOBRE
LA REGULACIÓN HIDROMINERAL DE LAS RATAS MACHO**

Antonio Bernal Benítez

Area de Psicobiología
Departamento de Psicología Experimental y
Fisiología del Comportamiento

TESIS DOCTORAL

Director: D. Amadeo Puerto Salgado

UNIVERSIDAD DE GRANADA

“Las palabras no permiten estas cosas. Cuánto más cerca estás del final, más tienes que decir. El final es sólo imaginario, un destino que te inventas para seguir andando, pero llega un momento en que adviertes que nunca llegarás allí. Es probable que tengas que detenerte, pero será sólo porque ha faltado tiempo. Te detienes, pero eso no quiere decir que hayas llegado al fin”.

Paul Auster

ÍNDICE GENERAL:

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

ESTUDIOS EXPERIMENTALES

PRIMERA SERIE EXPERIMENTAL

CAPÍTULO 1

Experimento 1

Experimento 2

Experimento 3

CAPÍTULO 2

Experimento 4

Experimento 5

SEGUNDA SERIE EXPERIMENTAL

CAPÍTULO 3

Experimento 6

CAPÍTULO 4

Experimento 7

Experimento 8

DISCUSIÓN FINAL

CONCLUSIONES

ANEXO I: TABLAS DE DATOS

ANEXO II: ABREVIATURAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

INTRODUCCIÓN TEÓRICA:

Características básicas de la Homeostasis Corporal.....	21
I.- Determinantes de la Ingesta y Excreción de agua y sales minerales.....	25
II.- Neuroendocrinología de la sed y del apetito por sodio	33
. Volumen intracelular de agua y tonicidad intersticial: sed osmótica.....	34
. Volumen plasmático: hipovolemia, sed y apetito por sodio.....	43
. Contribución relativa de los factores osmóticos y volémicos en la ingesta de agua.....	59
. Presión arterial e ingesta de agua.....	62
III.- Excreción y reabsorción renal de agua y sales minerales.....	68
. Anatomo-fisiología renal.....	70
. Regulación de la osmolalidad y de la concentración extracelular de sodio.....	75
. La adh y la excreción diluida o concentrada de orina.....	80
IV.- Oxitocina y regulación hidromineral.....	84
. Introducción : oxitocina y vasopresina.....	84
. Secreción de las hormonas neurohipofisarias en función del estado corporal osmótico y volémico	89
. Oxitocina y natriuresis.....	91
. Oxitocina y comportamiento hidromineral regulatorio.....	95
V.- Hipótesis de trabajo.....	102

PRIMERA SERIE EXPERIMENTAL:

CAPÍTULO I: Efectos hidrominerales de la administración de Oxitocina y de la privación de alimento

Privación de alimento y regulación hidromineral.....	111
Experimento 1:	
Efectos de la administración de Oxitocina sobre la ingesta de agua, la excreción de orina y sobre el volumen hídrico corporal de animales privados de alimento.....	115
. Método.....	118
. Resultados.....	122
. Discusión.....	131
Experimento 2:	
Efectos de la administración de Oxitocina sobre la ingesta de agua en ratas mantenidas ad lib con dietas hiposódicas.....	136
. Método.....	137
. Resultados.....	140
. Discusión.....	145
Experimento 3:	
Oxitocina e ingesta y excreción hidromineral: Un estudio dosis-dependiente en ratas privadas de alimento.....	147
. Método.....	152
. Resultados.....	155
. Discusión.....	170
Discusión general del capítulo I.....	177

**CAPÍTULO II: Inversión de la polidipsia
Oxitocinérgica y evolución del volumen
hídrico corporal.**

Efectos del ClNa sobre la ingesta osmótica y volémica de agua.....	183
---	------------

Experimento 4:

Efectos de la administración de Oxitocina sobre la ingesta y retención de agua: Repercusiones regulatorias de la disponibilidad y consumo de soluciones salinas hipertónicas.....	185
--	------------

. Método.....	187
. Resultados.....	189
. Discusión.....	196

Experimento 5:

Efectos de la administración de diferentes concentraciones de ClNa sobre la polidipsia y poliuria oxitocinérgica.....	201
--	------------

. Método.....	202
. Resultados.....	205
. Discusión.....	218

Discusión general del capítulo II.....	227
---	------------

SEGUNDA SERIE EXPERIMENTAL:

**CAPÍTULO III: Estimulación eléctrica del núcleo
paraventricular y comportamiento hidromineral.**

Estructuras neurosecretoras y síntesis de Oxitocina.....	237
---	------------

Experimento 6:

Efectos de la estimulación eléctrica del núcleo paraventricular magnocelular lateral sobre la ingesta de ClNa isotónico y de agua, en ratas privadas de líquido.....	240
---	------------

. Método.....	242
. Resultados.....	247

Discusión general del capítulo III.....	252
--	------------

CAPÍTULO IV: Diabetes Insípida, oxitocina y privación de comida.

Alteraciones en la ingesta de agua: la Diabetes Insípida.....	257
Experimento 7: Efectos de la administración de Oxitocina y de la privación de alimento en sujetos con diabetes insípida neurogénica.....	264
. Método.....	266
. Resultados.....	270
. Discusión.....	282
Experimento 8: Oxitocina, privación de alimento y polidipsia diabética: efectos a largo plazo.....	287
. Método.....	289
. Resultados.....	294
. Discusión.....	308
Discusión general del capítulo IV	313
DISCUSIÓN FINAL	321
CONCLUSIONES.....	357
ANEXO I: TABLAS DE DATOS.....	363
ANEXO II: ABREVIATURAS.....	381
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	385

INTRODUCCIÓN

TEÓRICA

CARACTERÍSTICAS BÁSICAS DE LA HOMEOSTASIS CORPORAL.

Para vivir, el ser humano precisa mantener ciertas funciones orgánicas, como la presión arterial y la temperatura corporal, dentro de un rango específico de valores. El término que expresa la necesidad de estabilidad de estos procesos biológicos es el de **homeostasis corporal**, y fue acuñado por Walter B. Cannon en 1929 (Grossman, 1967; Kalat, 1995; Kandel et al, 1997; Robbins y Everitt, 1999).

El concepto de homeostasis permite comprender, por ejemplo, por qué los habitantes de los desiertos y de los polos geográficos, tienen una temperatura corporal similar y próxima a 37 grados centígrados. Así, para mantener la estabilidad del medio interno (Bernard, 1865) con independencia de los cambios ambientales, el organismo cuenta con una serie de mecanismos protectores de índole comportamental, autonómica y endocrina.

Desde un punto de vista biológico, los mecanismos que aseguran la homeostasis corporal son entendidos como **sistemas de feedback negativo** porque se activan cuando algún proceso biológico se desvía de su punto óptimo. Una vez que el organismo ha recuperado la normalidad, la actividad de estos sistemas de retroalimentación cesa.

22 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

La regulación de la temperatura corporal sirve de prototipo común para el estudio de las características y variables implicadas en la homeostasis corporal, entre las que se pueden destacar:

1. El 'rango óptimo' de valores para la Temperatura Corporal: En función de la forma de regular la temperatura corporal, podemos considerar la existencia de dos tipos de especies: los organismos *ectotérmicos* (como los reptiles), obtienen la mayor parte del calor del ambiente, por lo que su mecanismo homeostático fundamental es de índole comportamental. Cuando hace frío, estos animales acuden a zonas soleadas y cuando hace calor, buscan lugares donde enfriarse. Los organismos *endotérmicos* (entre los que se incluye el ser humano), disponen además de ajustes internos o autonómicos (Rosenzweig, 1996).

En condiciones normales, independientemente de la temperatura ambiental, el ser humano mantendrá una temperatura corporal entre 36.5 y 37.0 grados centígrados (Guyton y Hall, 2001). Este valor está determinado por el metabolismo basal o tasa de energía que se utiliza en condiciones de reposo (Kalat, 1995; Rosenzweig, 1996; Silva, 1993).

2. El valor de supervivencia: Si la temperatura corporal se aleja de ese punto crítico, comienzan a observarse serias dificultades que pueden llegar a ocasionar la muerte.

Cuando la temperatura disminuye por debajo de 34.5 ° C, las reacciones químicas del organismo se alteran, y algunas son abolidas por completo. Por debajo de 29.5 °C, un centro nervioso, el Hipotálamo (HT), pierde la capacidad de regular la temperatura y el individuo entra en coma.

Por el contrario, cuando la temperatura corporal aumenta, las moléculas proteicas se pliegan de forma inadecuada, alterando el funcionamiento celular. En este contexto, las neuronas son especialmente sensibles a los aumentos de la temperatura corporal (Guyton y Hall, 2001; Rosenzweig, 1996).

3. Retroalimentación negativa: Con el objetivo de mantener una temperatura corporal estable, el Sistema Nervioso Central (SNC) dispone de centros termorreguladores conectados con los efectores que generan y disipan calor.

Ante los cambios ambientales, la temperatura corporal resultará del equilibrio entre los mecanismos de producción y eliminación de calor. Durante el invierno, con el objeto de mantener la temperatura corporal, se activarán los mecanismos responsables de la producción de calor y se inhibirá a aquellos otros encargados de disiparlo. Lo contrario sucederá durante los períodos estivales.

El enfriamiento de la piel genera escalofríos (Rosenzweig, 1996), piloerección y vasoconstricción cutánea (Bligh, 1986) e incrementa el metabolismo celular (Guyton, 1994; Bligh, 1986; Silva, 1993). Estos son mecanismos autonómicos. Comportamentalmente, cuando sentimos frío, nos abrigamos y buscamos refugio. Por el contrario, ante los aumentos de la temperatura ambiental, nos quitamos ropas, los vasos sanguíneos cutáneos se dilatan y comenzamos a sudar, eliminando el exceso de calor (Guyton, 1994).

Si las condiciones ambientales extremas se mantienen durante un tiempo prolongado, el organismo recurre además a ajustes más finos en los que suele intervenir el Sistema Neuroendocrino. Un ejemplo lo constituye la hipertrofia de la glándula tiroidea (con el objeto de potenciar la producción de calor) que se observa en los habitantes de las regiones polares (Brück y Zeisberger, 1987; Silva, 1993).

La neurobiología se ha interesado por el estudio de la homeostasis corporal, por ejemplo, para identificar los centros nerviosos responsables de estos comportamientos y con capacidad para modular la actividad de los sistemas autónomo y endocrino. Por su significación funcional (modular el control autónomo y endocrino) y por recibir información tanto nerviosa como humoral, **el hipotálamo** está considerado como la estructura cerebral fundamental para el mantenimiento de la homeostasis corporal (Leibowitz, 1978; Le Magnen, 1992; Swanson y Sawchenko, 1983).

24 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

En este contexto, la psicobiología ha centrado su investigación en el estudio y comprensión de las bases biológicas de los mecanismos comportamentales que regulan la homeostasis. Los comportamientos homeostáticos, activados por los distintos déficits corporales, que siempre son fundamentales para nuestra supervivencia, se denominan **conductas motivadas** primarias (Robbins y Everitt, 1999; Kandel et al, 2000).

En este sentido, los estudios psicobiológicos clásicos fomentaron inicialmente la aparición de las denominadas 'teorías hipotálamo-céntricas de la motivación'. La idea fundamental proponía que, para cada proceso homeostático, existirían dos centros hipotalámicos cruciales. Uno de ellos protegería de los aumentos y el otro, de los descensos en relación con el punto óptimo (por ejemplo, HT Anterior como centro para disipar calor e HT Posterior para su ganancia; HT Ventromedial como "centro de saciedad" e HT Lateral como "centro del hambre") (Le Magnen, 1992; Rolls, 1982 y 1994; Rowland, 1996; Stellar, 1954).

Estos puntos de vista no se mantienen en la actualidad, enfatizando, en su lugar, el carácter de interrelación, no sólo entre centros y vías nerviosas, sino también entre los circuitos responsables de los diferentes comportamientos homeostáticos (Cooper y Higgs, 1992; Leibowitz, 1992; Le Magnen, 1992; Robin y Everitt, 1999; Woods y Stricker, 1999). De esta forma, un mismo comportamiento puede influir sobre diversos procesos homeostáticos. Así, por ejemplo, durante los períodos cálidos, se incrementa la ingesta de fluido y se reduce el consumo de alimento (Kalat, 1995; ver también Hori, 1991). En definitiva, los comportamientos que participan en la homeostasis hidromineral y nutritiva, contribuyen a su vez, a mantener una temperatura corporal estable.

El presente trabajo de investigación queda enmarcado en el contexto de las bases biológicas de la **homeostasis hidromineral**, entendida ésta como proceso regulador de la cantidad de agua y solutos así como de su proporción relativa, dentro del organismo. El mantenimiento de dicho proceso dentro del rango de normalidad, dependerá del equilibrio entre la ingesta de agua y sales minerales y, por supuesto, de la pérdida de ambos.

I.-DETERMINANTES DE LA INGESTA Y EXCRECIÓN DE AGUA Y SALES MINERALES:

El agua es el componente más abundante del organismo. De hecho, se estima que sobrepasa el 60% del peso corporal en los hombres y el 50% en la mujer (Ganong, 1995; Saltmarsh, 2001; Verbalis y Johnson, 1997; Verbalis y Stricker, 2000). Este fluido se localiza en diferentes compartimentos corporales que están separados entre sí por membranas biológicas. En general, se asume que existen dos compartimientos principales: el intra- y el extra-celular.

Una parte del líquido corporal se pierde gradualmente a través de la piel, los pulmones y los riñones (Adolph, 1947; Fried y Palevsky, 1997; Johnson et al., 1997; Saltmarsh, 2001) y esa pérdida varía en función de factores como la temperatura ambiental y corporal (fiebre), la actividad física, la retención de fluidos (antidiuresis) y la ingesta de comida (Fried y Palevsky, 1997; Saltmarsh, 2001; Thrasher et al., 1981). Sin embargo, en la mayoría de los casos, la ingesta de agua es dependiente de los cambios en la distribución de los fluidos dentro del organismo, más que de una pérdida real de la misma (Camargo y Abrao, 2001; Johnson y Thunhorst, 1997; Robertson, 1983; Verbalis y Stricker, 2000; Wong, 1976).

26 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

El **espacio intracelular** contiene, aproximadamente, las dos terceras partes del agua corporal. Este agua forma parte del citoplasma de las células. La membrana celular lo separa del **espacio extracelular**, que está formado por (Edelman et al., 1959; Ganong 1995; Johnson y Thunhorst, 1997; Verbalis y Stricker, 2000):

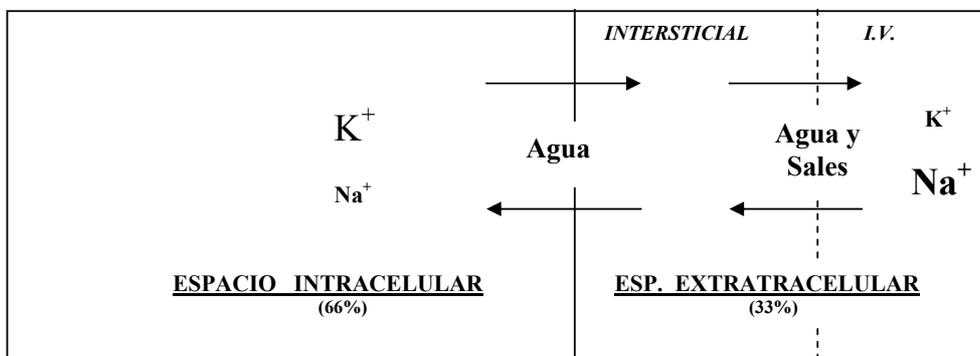
- El *fluido vascular*, con la pared capilar como membrana biológica. Las células sanguíneas constituyen el 45 % del volumen sanguíneo, mientras que el 55% restante lo constituye el plasma, compuesto fundamentalmente por agua y por el que circulan diversos tipos de sustancias (sales, proteínas, nutrientes, hormonas, etc.) (del Abril et al, 2001).
- Entre la membrana celular y la vascular se localiza el *espacio intersticial*, que se forma como resultado del filtrado del plasma a través de las paredes de los capilares.
- El *líquido cefalorraquídeo* (LCR) de los ventrículos cerebrales y del espacio subaracnoideo.
- El *líquido transcelular*, segregado por las glándulas salivares, páncreas, conductos biliares, intestino y piel.
- El *agua del tejido conjuntivo y óseo*, prácticamente inaccesible al intercambio con otros compartimientos del organismo.

En condiciones normales, los capilares (que separan los espacios intersticial e intravascular), permiten el movimiento de todos los componentes plasmáticos (excepto proteínas); sin embargo, la membrana celular es más selectiva y dificulta el paso de sustancias entre los espacios intra y extracelular (Rolls y Rolls, 1982).

La sed (y apetito por sodio), dependerá del volumen y composición relativa de los compartimientos intra y extra-celular, y del mantenimiento del equilibrio entre ambos. Por tanto, la distinción entre los espacios intra- y extra-celular no es meramente anatómica.

En efecto, dentro y fuera de las células, existen diferentes sustancias que no atraviesan la membrana celular y que actúan como solutos. Los dos más importantes son el sodio y el potasio. El potasio intracelular es muy abundante (141 mOsm/l), frente a una alta dilución en el exterior de la célula (5 mOsm/l). Con respecto al sodio, sucede lo contrario (10 mOsm/l en el interior por 144 mOsm/l en el exterior)¹.

Conservar esta distribución es vital para el adecuado funcionamiento celular dado que mantiene el equilibrio y evita el movimiento de agua (Guyton y Hall, 2001; Hussy et al., 2000; Verbalis y Stricker, 2000) (Figura 0.1).



La **figura 0.1** representa la mayor concentración de sodio en el espacio extracelular y de potasio en el intracelular. La membrana celular (línea vertical continua) es impermeable al paso de solutos, con lo que únicamente se puede producir el movimiento de agua. Por su parte, la membrana capilar (línea vertical discontinua) es más permeable, y permite el intercambio de agua y sales entre los espacios intersticial e intravascular.

Dos tipos fundamentales de mecanismos fisiológicos generan sed y la conducta ingestiva:

1.- Sed Osmótica: Determinada por el movimiento de agua a través de la membrana celular, es decir, entre los espacios intracelular e intersticial. El agua puede moverse entre ambos compartimientos por ósmosis².

¹ La presión osmótica de una solución (osmolaridad) se suele expresar en miliosmoles por kilo de solución (y en litros la osmolalidad). Por ejemplo, la osmolalidad de la orina tiene un valor normal entre 500 y 800 mOsm/l agua (Rolls y Rolls, 1982).

² Movimiento de un solvente puro, como el agua, a través de una membrana semipermeable, desde una solución que tiene una menor concentración a una con mayor concentración de solutos. El movimiento de agua continúa hasta que la concentración de ambas soluciones se iguala (Diccionario Mosby de la salud, 1996).

28 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Dado que la concentración intracelular de los solutos es fija, la clave para entender el desplazamiento del agua vendrá determinada por su concentración en el exterior de la célula, y fundamentalmente por la concentración extracelular de sodio, el ión más abundante y que constituye un 90% de la osmolaridad plasmática (Johnson y Thunhorst, 1997). Si la concentración extracelular de solutos aumenta, el agua intracelular tenderá a salir al espacio intersticial.

Cuando el agua sale desde el interior de la célula, provoca **deshidratación celular**. Para compensar esta pérdida, el organismo consumirá y retendrá agua³ (Figura 0.2).

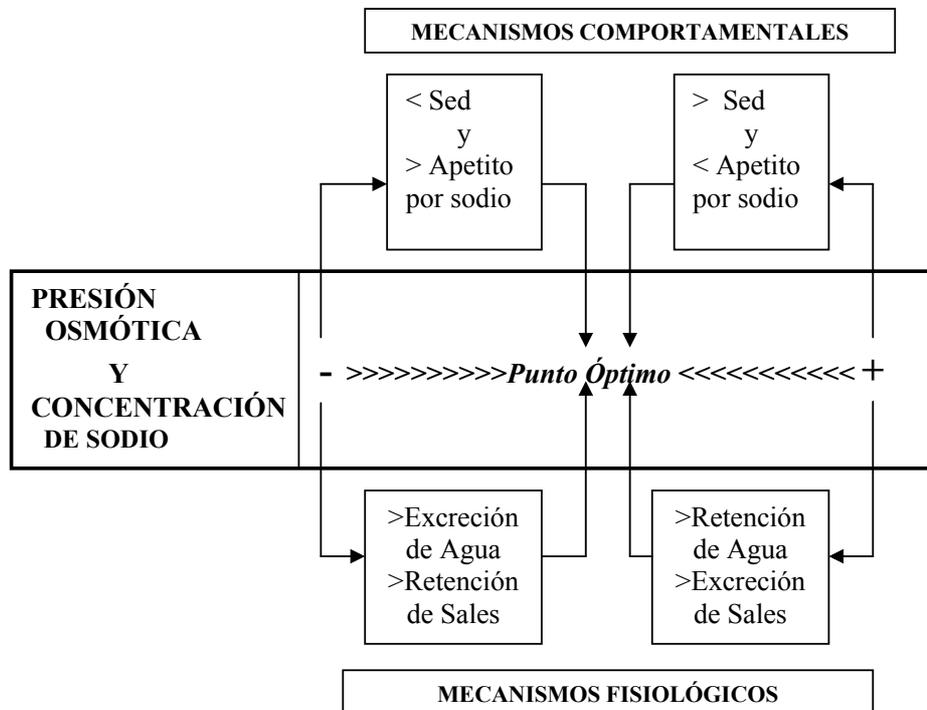


Figura 0.2: Mecanismos fisiológicos y comportamentales ante cambios en la tonicidad extracelular: Los descensos en la presión osmótica y/o concentración de sodio, se normalizan reduciendo la ingesta y retención de agua y aumentando la ingesta y retención de sales. Inversamente, los aumentos en la presión osmótica y/o concentración de sodio, se corrigen aumentando la ingesta y retención de agua y reduciendo la ingesta y retención de sales⁴.

³ Por otra parte, si en el espacio intersticial tiene lugar una pérdida de solutos, el agua tenderá a introducirse en el interior de las células, generándose una necesidad por recuperar la tonicidad intersticial.

⁴ Obsérvese cómo el comportamiento ingestivo y la excreción de fluidos, están inversamente relacionados; al igual que el apetito por agua o por sales minerales.

La salida intracelular de agua aparece típicamente al consumir alimentos ricos en cloruro sódico (ClNa) o también mediante la administración de sustancias hipertónicas que no atraviesen con facilidad la membrana celular. Las sustancias hipertónicas que sí la atraviesan, como la urea, no generan sed (Gilman, 1937).

En estos casos, el ClNa pasará desde el sistema digestivo a la circulación sanguínea, siendo depositado por los capilares en el espacio intersticial de regiones cerebrales concretas (Apartado II.1), y provocando deshidratación celular-sed y la excreción de una orina muy escasa (antidiuresis) y concentrada (natriuresis) (Balment et al 1980; Brimble y Dyball, 1977; Briski y Brandt, 2000; Cheng y North, 1986; Dogterom, 1977; Huang et al., 1995; Hussy et al., 2000; Kadekaro et al., 1995; Mckinley y Oldfield, 1994; Miyata et al., 2001; Morris et al., 1984; Rinaman et al., 1995; Robertson, 1983; Sandgaard et al., 2000; Sevensen et al, 2003; Stricker et al., 1987b; Stricker y Sved, 2000; Verbalis et al., 1991b; Verbalis y Stricker, 2000; Voisin et al., 1999; Weitzman et al., 1978).

2.- Sed Volémica: En el caso expuesto anteriormente, la sed era consecuencia de cambios (aumentos) en la osmolaridad-tonicidad intersticial. Un segundo motivo que estimula la ingesta de agua, es la *pérdida de fluido del espacio intravascular (hipovolemia)*.

Esta pérdida se observa en diferentes circunstancias, tanto anormales (hemorragias, diarreas, etc.), como normales (sudoración) (Fitzsimons, 1998; Johnson y Thunhorst, 1997; Phillips y Sumners, 1998; Share y Schneider, 2000; Stricker y Sved, 2000; Verbalis y Stricker, 2000). En estos casos, además de agua, se pierden otros componentes del plasma sanguíneo⁵ (Share, 1988; Share y Schneider, 2000; Verbalis y Stricker, 2000).

La concentración de cloruro sódico (ClNa) en el fluido extracelular, es del 0.9% ó 0.15 Molar (Rolls y Rolls, 1982). De ahí que los fluidos con esta concentración se denominen isotónicos, y sean el remedio más recomendable para el tratamiento de la sed volémica.

⁵ La concentración plasmática (osmolalidad sérica) normal es de unos 290 mOsm/l de agua (Rolls y Rolls, 1982).

30 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

La pérdida de fluido intravascular, activará un conjunto de reacciones de ajuste cuya misión es retener la mayor cantidad posible de agua y sales (antidiuresis-antinatriuresis) y mantener la presión sanguínea en un estado óptimo (Fitzsimons, 1998; Johnson y Thunhorst, 1997; Phillips, 1987; Phillips y Summers, 1998; Schiltz et al., 1997; Share, 1998; Share y Schneider, 2000; Stricker y Sved, 2000; Verbalis y Stricker, 2000; Weitzman et al., 1978) (Figura 0.3).

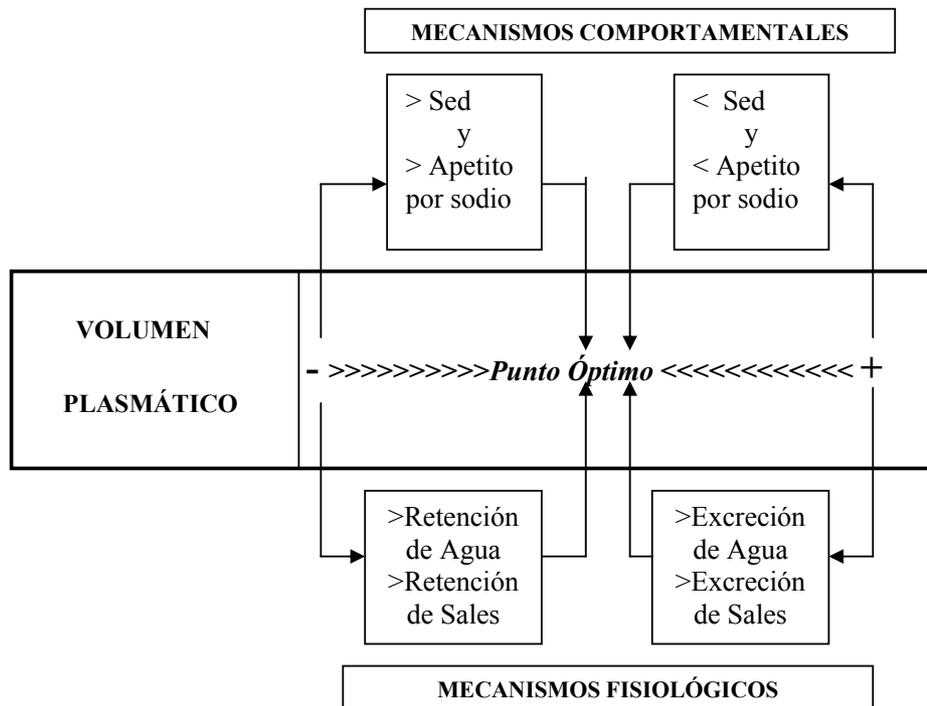


Figura 0.3: Mecanismos fisiológicos y comportamentales ante cambios en el volumen intravascular: Los descensos en el volumen plasmático (hipovolemia) se normalizan aumentando la ingesta de agua y sales y reduciendo su excreción. Inversamente, la hipervolemia se corrige reduciendo la ingesta de agua y sales y aumentando su excreción⁶.

Una forma sencilla de provocar déficit extracelular, consiste en reducir el contenido de sodio en la dieta (ver Fitzsimons, 1979, págs. 199-206). La excreción gradual e inevitable de este ión, arrastrará consigo agua extracelular, provocando hipovolemia (Guyton y Hall, 2001).

⁶ Obsérvese cómo, a diferencia del caso anterior, en la hipovolemia el apetito por agua y sal cursa en paralelo.

En condiciones de laboratorio, un procedimiento experimental ampliamente usado para reducir la cantidad de fluido intravascular consiste en inyectar un coloide, subcutáneamente (Stricker, 1966) o en la cavidad peritoneal (Fitzsimons, 1961b). Sus grandes moléculas hipertónicas no atraviesan las biomembranas y, al acumularse en las zonas donde se inyecta, fuerzan la salida de fluido intravascular isotónico (la osmolaridad plasmática no cambia), provocando hipovolemia, sed y apetito por sales minerales (Fitzsimons, 1961b; Peters, 1980; Verbalis y Stricker, 2000).

Tras la administración del coloide, las ratas retienen agua y sal. Paradójicamente, al principio, estos animales ingieren únicamente agua (pero no ClNa), con lo que la tonicidad plasmática se reduce (hiponatremia). Sólo después de unas horas, consumen adicionalmente la solución hipertónica (Stricker, 1981).

En última instancia, para restaurar el volumen y la concentración extracelular, y por lo tanto equilibrando los espacios intra- y extra-celular, se precisa de la ingesta de fluidos isotónicos (Fitzsimons, 1979; McCance, 1938; Rolls y Rolls, 1982; Wright et al, 1978).

La distribución del agua y su tonicidad en los diferentes espacios corporales, motiva y depende de nuestro comportamiento ingestivo (y de la pérdida de fluido en situaciones hemorrágicas o diarréicas). La homeostasis hidromineral depende, adicionalmente, de un **proceso excretor**. Dado que, de forma general, se toma más agua y se ingiere más sodio del que se necesita, el organismo tendrá que eliminar los excedentes (Fitzsimons, 1979). El órgano responsable de la excreción de agua y solutos es el riñón (ver Rose, 1994).

La importancia del riñón queda patente en los casos experimentales en los que se limita su capacidad excretora, como al practicar una *nefrectomía* o al ligar los uréteres. Tras estas intervenciones, la única forma del organismo para adaptarse a los aumentos osmolares, será comportamental. Así, en animales nefrectomizados, se incrementa la ingesta de agua que resulta de la inyección intravenosa de ClNa (Fitzsimons, 1961).

32 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Ahora bien, el volumen y concentración final de la orina que se excreta y el que comienza a circular por los riñones, no es el mismo. En diferentes puntos de éste órgano, se produce la reabsorción de la mayor parte del fluido y sales que le llegan, desde la circulación general (ver Apartado III. Excreción y reabsorción renal).

En resumen, de acuerdo con esta breve descripción, la composición y el volumen de los compartimientos intracelular e intravascular, han de mantenerse siempre dentro de unos límites muy precisos (Johnson y Thunhorst, 1997; Hussy et al., 2000; Robertson, 1983; Saltmarsh, 2001; Verbalis y Stricker, 2000). El volumen de fluido intersticial no requiere un control tan rígido: cuando los espacios intracelular e intravascular se mantienen dentro del rango normal, el volumen intersticial automáticamente lo hace. Sin embargo, su tonicidad (la concentración de soluto) tiene que ser regulada con precisión, ya que esta variable es la que determina el flujo de agua celular (Carlson, 1999).

El aumento en la concentración intersticial de solutos genera sed, mientras que la pérdida de fluido intravascular provoca sed y apetito por sodio y puede alterar procesos cardiovasculares como la presión sanguínea. Por tanto, un amplio conjunto de señales modulan la ingesta y excreción de agua y sales. Entre éstas, podemos destacar las siguientes (Stricker y Sved, 2000):

- **Concentración plasmática de sodio y osmolaridad intersticial.**
- **Volumen sanguíneo (intravascular).**
- **Presión arterial sanguínea.**

Cada una de esas variables puede, en un momento dado, estar por encima o por debajo de su nivel óptimo y, esas desviaciones, proporcionan señales excitatorias e inhibitorias que influirán en la regulación hidromineral (Stricker y Sved, 2000) y que serán procesadas por el Sistema Neuroendocrino.

II.-NEUROENDOCRINOLOGÍA DE LA SED Y DEL **APETITO POR SODIO:**

El sustrato neural de las variables citadas anteriormente (y de los cambios por exceso o por defecto en cualquiera de ellas), es complejo. Numerosas estructuras controlan el volumen y composición intra- y extra-celular y la presión arterial. Técnicas de trazado neural y de mapeo funcional han señalado la participación de diversas regiones cerebrales (para una revisión, ver Johnson y Thunhorst, 1997), algunas de cuyas células integrarán información de diferentes procesos.

En la regulación hidromineral, la información relevante se refiere a parámetros de carácter osmótico, volémico y cardiovascular (presión arterial) y las células integradoras se localizan, al parecer, en regiones periventriculares que se extienden desde el núcleo supraquiasmático a la banda diagonal de Broca (Nicolaidis et al 1991; Thronton et al., 1984).

Los procesos osmóticos, volémicos y cardiovasculares están íntimamente relacionados. De un lado, la deshidratación intracelular es dependiente de la tonicidad extracelular. De otro lado, la hipovolemia reduce la presión arterial. Sin embargo, adicionalmente, la hipertonicidad extracelular, la hipovolemia y la hipotensión pueden evocar por sí mismos (en ausencia de cambios en los demás), la ingesta de fluido (Stricker y Sved, 2000).

II.1.- VOLUMEN INTRACELULAR DE AGUA Y TONICIDAD INTERSTICIAL: SED OSMÓTICA.

Como se indicó previamente, los aumentos en la concentración extracelular de solutos provocan la salida de agua, por ósmosis, desde el interior celular y estimulan su ingesta (Stricker y Sved, 2000).

Para conocer su sustrato neurobiológico, debe uno remontarse hasta mediados del siglo pasado. En 1947, Verney comprobó que la administración de sustancias hipertónicas en la carótida, estimulaban la liberación de una hormona antidiurética con más facilidad que su inyección en arterias periféricas. Ello sugería la existencia de centros cerebrales de detección, y, considerando las regiones cerebrales irrigadas por esta arteria, delimitaban su localización en el prosencéfalo (Verney, 1947).

Algunos años más tarde, Anderson implantó cánulas intracerebrales en cabras con el objeto de introducir soluciones hipertónicas de ClNa. De esta forma, observó que la administración en la región medial periventricular del HT anterior, era seguida de la ingesta de agua (Anderson, 1953).

Dado que incrementos en la osmolaridad plasmática de sólo un 1 o un 2 % estimulaban la sed y la ingesta de agua en los animales (Fitzsimons, 1963), las células detectoras debían estar en contacto directo con el plasma sanguíneo (Thrasher et al., 1980) y por tanto, carecer de Barrera Hematoencefálica (Sladek y Armstrong, 1985). En el límite rostral del HT, la **Lámina Terminal**, se localizan dos regiones circunventriculares que resultarían fundamentales: el área AV3V (anteroventral al IIIV) y, dorsalmente, el Órgano Subfornical (OSF).

Las primeras evidencias experimentales ya destacaron su posible implicación en estos procesos. Así, las lesiones electrolíticas del **área AV3V**, producían una adipisia temporal o permanente (Anderson et al., 1975; Bealer, 2000; Bealer et al., 1983; Buggy y Johnson, 1977; Johnson y Thunhorst, 1997; Lind y Jonson, 1983; Mckinley et al., 1986; Verbalis y Stricker, 2000). Estas intervenciones afectaban a la expresión de la proteína c-fos en los núcleos neurosecretorios (Rocha et al, 1999) y suprimían la secreción de la hormona antidiurética (Bealer et al., 1983; Cunningham y Sawchenko,

1991; Honda, et al, 1989; Johnson et al., 1978b y 1980; Johnson y Thunhorst, 1997; Mckinley et al., 1984; Schoorlemmer et al., 2000), tras la inyección de soluciones hipertónicas. Por otra parte, la administración de sustancias hipertónicas en la región AV3V, estimularon la ingesta de agua (Anderson et al., 1975; Bealer, 2000; Bealer et al., 1983; Buggy y Johnson, 1977; Johnson y Thunhorst, 1997; Lind y Johnson 1983; Mckinley et al., 1986; Verbalis y Stricker, 2000).

El área AV3V está constituida por diversas estructuras, entre las que se pueden destacar el Órgano Vasculoso de la lámina terminal (OVLT), el Núcleo Preóptico Mediano (MePO) y los Núcleos Periventriculares (Johnson y Thunhorst, 1997). De estos componentes, el OVLT podría ser una estructura crucial, ya que las manipulaciones en éste área reprodujeron los efectos observados al intervenir en la región AV3V. Así, por ejemplo, la destrucción del OVLT parece impedir la respuesta natriurética que se observa al administrar soluciones hipertónicas de ClNa (McKinley et al, 1992b).

Junto con el **OVLT**, el **Órgano Subfornical (OSF)**, ofreció unas respuestas similares (Huang et al., 1996; Johnson y Thunhorst, 1997; Mckinley et al., 1978 y 1999; Thrasher, 1989):

- La destrucción del OVLT y del OSF, interfería con la respuesta antidiurética a la hipertonicidad sistémica (Chiaraviglio y Perez-Guaita, 1984; Hosutt et al, 1981; Huang et al., 1995; Johnson, 1982; Johnson et al., 1980; Leng et al., 1999; Lind y Johnson, 1982; Lind et al, 1984; Mangiapane et al., 1984; McKinley et al., 1982 y 1992b; Starbuck y Fitts, 1998; Stricker y Sved, 2000; Thrasher et al., 1982), al tiempo que se observó la acumulación de sodio corporal (Hartle y Brody, 1984).
- Al aumentar la osmolaridad plasmática, ambas estructuras se activaban (Gutman et al., 1988b; Han y Rowland, 1996; Johnson y Thunhorst, 1997; McKinley y Oldfield, 1994; Sayer et al., 1984; Sibbald et al., 1988; Verbalis y Stricker, 2000; Vivas et al., 1990). Sin embargo, la respuesta del OVLT era de mayor magnitud (Han y Rowland, 1996; Johnson y Thunhorst, 1997; Mckinley y Oldfield et al., 1994; Rowland, 1998).

36 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

- Las dos estructuras mencionadas, proyectan a los núcleos hipotalámicos responsables de la síntesis y liberación de la hormona antidiurética, los núcleos Supraóptico (SON) y Paraventricular (PVT) (Bisset y Chowdrey, 1988; Cunningham y Sawchenko, 1991; Dunn et al., 1973; Fitzsimons, 1979; Hatton, 1990; Hatton y Li, 1998; Hussy et al., 2000; Leng et al., 1989 y 1999; Mckinley et al., 1992; Mckinley y Oldfield, 1994; Miselis, 1981; Morien et al., 1999; Oldfield et al., 1991 y 1999; Renaud y Bourque, 1990; Richard y Bourque 1995; Shereeni et al., 2000).

A pesar de estas similitudes, los efectos generados al intervenir en el OVLT, eran de mayor magnitud que los observados en el OSF. Así, mientras que la estimulación del OVLT activa al 70% de las células del SON (Hatton y Li, 1998; Mckinley y Oldfield et al., 1994; Oldfield et al., 1991; Richard y Bourque, 1995; Verbalis y Stricker, 2000) y su destrucción bloquea la activación del complejo SON/PVT inducida osmóticamente (Ludwig et al., 1994; Rowland y Fregly, 1998; Thrasher et al., 1982; Xu y Herbert, 1996), la destrucción específica del OSF no parecía modificar la expresión c-fos en el SON y PVT tras la administración de ClNa hipertónico (Giovannelli y Bloom, 1992; Han et al., 1996).

El OSF y el OVLT proyectan, adicionalmente, al **Núcleo Preóptico Mediano (MePO)** (Miselis, 1981; Tanaka et al, 1987), una estructura de la región AV3V que también cuenta con eferencias hacia los núcleos SON y PVT (Armstrong, 1995; Chiodera et al, 1998; Cunningham y Sawchenko, 1991; Ferguson y Latchford, 2000; Hatton, 1990; Ihamandas et al., 1989; Leng et al., 1999; Lind et al., 1985; Mckinley y Oldfield 1994; Miselis, 1981; Oldfield et al., 1991; Phillips y Summers, 1998; Renaud y Bourque, 1990). Pequeñas lesiones del núcleo preóptico mediano abolen la ingesta de agua inducida osmóticamente (Mangiapane et al., 1983; Stricker y Sved, 2000; Takahashi et al., 2001) y eliminan la expresión de c-fos en el SON y PVT en condiciones de privación de agua (Leng et al., 1999; McKinley y Oldfield, 1994; Rowland, 1998; Stricker y Sved, 2000; Takahashi et al., 2001; Xu y Herbert, 1996). Evitando los inconvenientes de las técnicas lesivas, los estudios unicelulares han revelado que las células del núcleo preóptico mediano aumentan su tasa de disparo en respuesta a la administración de soluciones hipertónicas (Han y Rowland, 1996; McAllen et al, 1990) y a la privación de agua (Mckinley y Oldfield et al., 1994;

Rowland, 1998). Adicionalmente, este núcleo parece procesar señales de cese (de la ingesta y antidiuresis) procedentes de la periferia (King et al, 1991).

Además de su implicación en la ingesta de agua y respuesta antidiurética, el OSF, el OVLT y el MePO parecen importantes para el apetito por sodio y la respuesta natriurética (Bourque et al, 1994). La estimulación eléctrica de estos centros, activa al SON y PVT (Ferguson et al, 1984; Honda et al, 1990; Leng et al, 1989; Sgro et al, 1984; Tanaka et al, 1985; 1986; 1987; Yang et al, 1994) e induce la secreción de hormonas neurohipofisarias (Blackburn et al, 1987; Leng et al, 1989).

Finalmente, la secreción hormonal por parte de los núcleos **SON y PVT**, parece modulada cuantitativamente por la osmolaridad plasmática. Así, la inyección intraperitoneal de agua (que reduce la osmolaridad), inhibe a las células neurosecretoras (Brimble y Dyball, 1977); mientras que las soluciones hipertónicas, incrementan su tasa de disparo (Bourque et al, 1994; Honda et al, 1999; Leng et al, 1989).

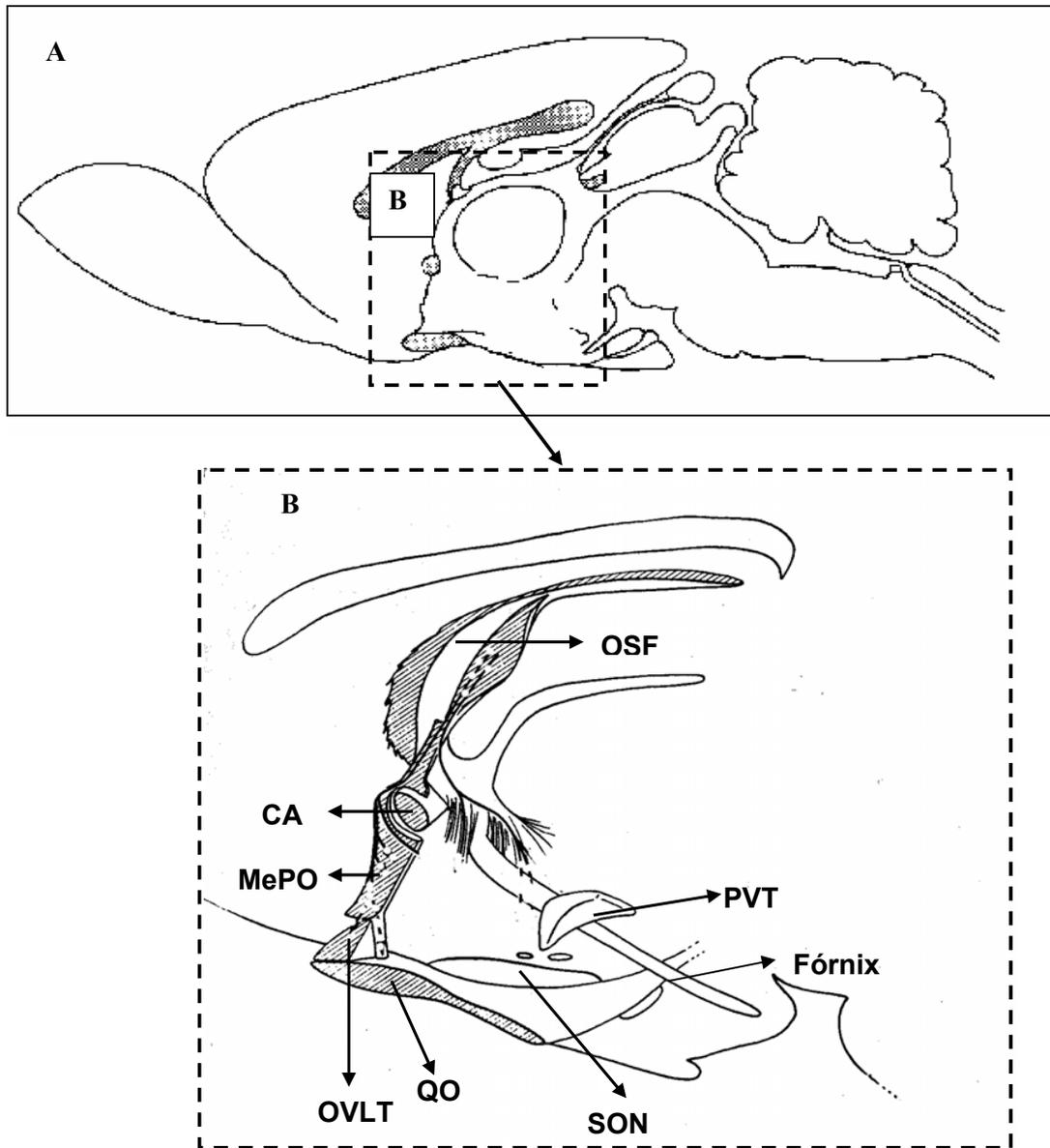


Figura 0.4: Principales estructuras hipotalámicas implicadas en la regulación osmótica de fluidos.

A.- Corte sagital medial del cerebro de una ratona.

El recuadro (B) se amplía en el dibujo inferior.

Abreviaturas: CA (Comisura Blanca Anterior); MePO (Núcleo Preóptico Mediano); OSF (Órgano Subformal); OVLT (Órgano Vasculoso de la Lámina Terminal); PVT (Núcleo Paraventricular); SON (Núcleo Supraóptico); QO (Quiasma Óptico).

Detección de osmolaridad o de sodio plasmático: Uno de los aspectos más polémicos tradicionalmente, es el referido a los eventos o sustancias detectados por las células de la región AV3V. Entre los determinantes más poderosos del aumento en la tonicidad extracelular, se encuentran los incrementos en la osmolaridad intersticial y en los niveles plasmáticos de sodio.

Dado que la mayor parte de la presión osmótica del fluido extracelular se debe al sodio y sus aniones, algunos autores sugirieron que existiría un sistema de detección de este soluto (Bie et al., 2000; Fitzsimons, 1998; Johnson y Thunhorst, 1997; Robertson, 1983 y 1995; Robertson et al., 1982; Rose, 1986 y 1994; Saltmarsh, 2001). Sin embargo, también se propuso que podrían captarse las modificaciones osmolares (Kadekaro et al, 1995; Voisin et al., 1999; Voisin y Bourque, 2002) (para una revisión sobre la controversia tradicional ver Fitzsimons, 1989).

Desde hace algunos años, se asume la existencia de un mecanismo dual (osmolaridad y sodio) de detección (McKinley et al., 1978; Wells et al., 1990): tanto los cambios en osmolaridad (Thrasher et al., 1980), como de Na⁺ en el líquido cefalorraquídeo (Olsson y Kolmodin, 1974; Voisin et al., 1999) y plasma (Hiyama, et al, 2002), podrían detectarse y modular la secreción hormonal (McKinley et al., 1978).

Los canales de sodio implicados parecen pertenecer a una subfamilia de los canales de sodio dependientes de voltaje, aunque cuentan con características diferenciales (Goldin, 2001). Por su parte, los aumentos en la tonicidad extracelular, podrían activar o aumentar el potencial de membrana de las neuronas osmosensitivas (Bourque et al, 1994 y 1997).

Detección de la osmolaridad plasmática y Barrera Hematoencefálica: Lesionando el área AV3V, Morris y asociados observaron, tras la administración de estímulos osmóticos, un aumento en los niveles del ARNm para la hormona antidiurética en el núcleo paraventricular. Sin embargo, la secreción de esta hormona, era deficitaria (Morris et al, 1994). Este resultado sugería que, en ausencia de la región AV3V, la estructura neurosecretora podría detectar la hipertonicidad plasmática, aunque no pudiese incrementar la secreción neurohormonal. Por tanto, otras zonas cerebrales debían estar conectadas con el núcleo PVT para estimular la síntesis neurohormonal, aunque este núcleo, de manera endógena, podría ser osmosensible.

Los estudios *in vitro* permitieron demostrar la osmosensibilidad intrínseca de células cerebrales concretas. Así, si se expone una neurona a un medio hiper- o hipotónico y se modifica su tasa de respuesta, se puede pensar que esa célula detecta cambios en la tonicidad extracelular (Bourque, 1994). De esta forma se ha observado que las células del OSF (Sibbald et al, 1988) y del OVLT (Nissen et al, 1993; Richard y Bourque, 1993), podrían ser osmosensibles.

Sorprendentemente, algunas estructuras protegidas por la Barrera Hematoencefálica (como el Núcleo Preóptico Mediano (Bourque y Oliet, 1997) y el Núcleo Supraóptico (Mason, 1980 y 1980b)), también parecían responder, *in vitro*, a la concentración de soluto. Por ejemplo, la aplicación de soluciones hipertónicas aumenta la liberación de hormonas neurohipofisarias por parte de las neuronas supraópticas. Lo contrario sucede con las soluciones hipotónicas (Yagil y Sladek, 1990).

En efecto, el núcleo supraóptico ha sido abordado como modelo para el estudio de la osmosensibilidad endógena de las estructuras protegidas por la barrera hematoencefálica. La detección de cambios en la osmolaridad plasmática por parte de estas células, parece depender de dos factores (ver Bourque et al, 1994; Bourque y Oliet, 1997; Leng et al, 1999; Voisin y Bourque, 2002):

1. La existencia de canales mecanosensitivos: El SON es un núcleo densamente vascularizado, por lo que la presión osmótica de su fluido intersticial es similar a la del plasma (Leng et al, 1999). En condiciones normales (unos 295 mOsm/L), algunos canales catiónicos permanecen abiertos en la membrana de sus células.

La hipertonicidad y la hipotonicidad, incrementan y reducen, respectivamente, la cantidad de canales abiertos, modificando el potencial de membrana de estas neuronas.

2. Un control paracrino dependiente de la liberación de taurina por parte de los astrocitos presentes en las proximidades del núcleo (Decavel y Hatton, 1995). Los estímulos hiperosmóticos reducen la liberación de taurina, y los estímulos hipo-osmóticos la incrementan (Deleuze et al, 1998). La taurina actúa sobre el receptor de glicina, que al abrirse, provoca la entrada de cloro (Cl^-) en el interior celular (Hussy et al, 1997). De esta forma, la taurina podría reducir el potencial de membrana celular.

Como puede apreciarse, ambos factores contribuirían a aumentar o reducir el potencial de membrana de las neuronas supraópticas. Sin embargo, los cambios en este potencial podrían ser insuficientes para la activación neuronal, requiriéndose de la presencia de potenciales postsinápticos procedentes de la región AV3V para estimular el disparo celular (Bourque et al, 1994; Bourque y Oliet, 1997; Leng et al, 1999; Morris et al, 1994; Voisin y Bourque, 2002).

La administración de soluciones hipertónicas en el sistema circulatorio cerebral ha generado, en este contexto, aplicaciones terapéuticas importantes (para una revisión ver Rapoport, 2000). Así, estas soluciones parecen deshidratar a las células endoteliales que constituyen el soporte anatómico de la barrera hematoencefálica (Reese y Karnovsky, 1967). La pérdida de volumen celular ocasionada por la salida intracelular de agua, aumenta la distancia de separación entre estas células, facilitando el acceso al cerebro, de fármacos hidrosolubles (Rapoport et al, 1980; Zunkeler et al, 1996a y 1996b).

Finalización de la conducta ingestiva: En condiciones normales, el consumo de fluido y la secreción de hormonas neurohipofisarias finaliza antes de que se observe un decremento significativo en la osmolaridad plasmática⁷ (incluso en animales con fístulas intragástricas implantadas) (Andrew et al, 1989; Thompson et al, 1987). Por tanto, debe existir una **señal de cese** previa a la rehidratación (para una revisión, ver Stricker et al, 2002).

Esta información podría proceder de receptores orofaríngeos, gastrointestinales y de otros receptores situados en la vena portal hepática e hígado (Baertschi y Pence, 1995; Kobashi y Adachi, 1992; Morita et al, 1997) y ser procesada por vías neurales que proyectan al Área Postrema (AP) y al Núcleo del Tracto Solitario (NTS) en el tronco cerebral⁸ (Kobashi y Adachi, 1985). Estas estructuras parecen fundamentales para el cese de la ingesta de agua, porque los animales a los que se les interrumpen esas fibras o se les destruye el AP/NTS, se comportan como si esa señal anticipatoria no existiera: continúan bebiendo hasta que la osmolaridad plasmática se reduce (Curtis y Stricker, 1997; Curtis et al, 1996). Sin embargo, como se verá, este sistema también parece implicados en la sed volémica.

⁷ Cuando un organismo toma agua, deben transcurrir entre 30 y 60 minutos para su absorción y distribución por todo el organismo (Guyton y Hall, 2001).

⁸ El NTS también cuenta con eferencias hacia el OSF (Zardetto-Smith y Gray, 1987), MePO (Edwards et al 1989; Saper et al, 1983) y a los núcleos Supraóptico y Paraventricular (Ciriello y Calaresu, 1980; Kannan y Koizumi, 1981).

II.2.- VOLUMEN PLASMÁTICO: HIPOVOLEMIA, SED Y APETITO POR SODIO.

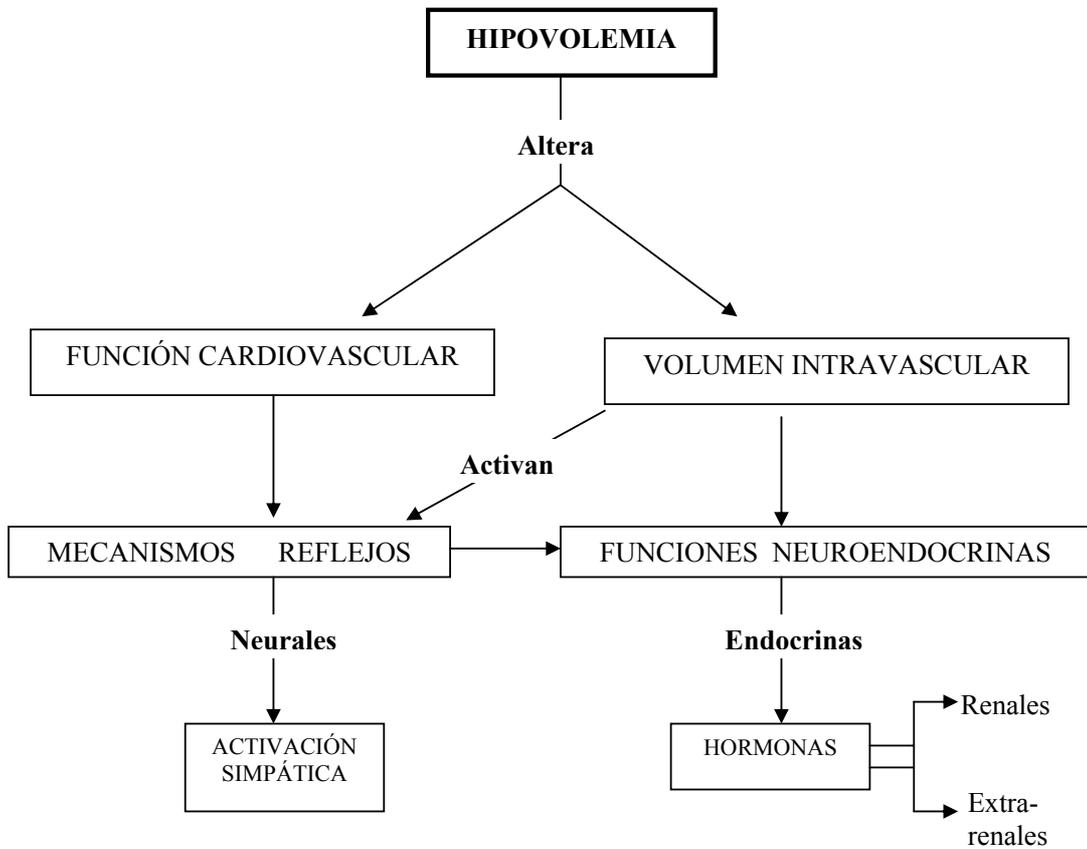
Aunque la cantidad de fluido del compartimiento extracelular sea menor que la del espacio intracelular, es vital su mantenimiento dentro de un rango preciso, porque una reducción en su volumen puede ocasionar un colapso circulatorio (Rolls y Rolls, 1982).

Como se indicó previamente, las hemorragias intensas estimulan la ingesta de agua y la secreción de la hormona antidiurética sin modificar la osmolaridad plasmática (Fitzsimons, 1961b); sin embargo, la pérdida de glóbulos rojos que la acompañan, puede resultar en anemia (Rolls y Rolls, 1982). Por ello, los investigadores se han valido de coloides para el estudio de la sed volémica. La administración de estas sustancias, genera una pérdida de fluido intravascular isotónico, por lo que se hace necesario retener e ingerir fluido y sales minerales para contrarrestar el déficit producido (Fitzsimons, 1961b; Stricker, 1981; Stricker et al, 1971 y 1992). Los coloides estimularán la ingesta de agua y la secreción de hormona antidiurética de forma proporcional a la reducción en el volumen plasmático (Fitzsimons, 1961b; Dunn et al, 1973; Stricker, 1966, 1968; Stricker y Verbalis, 1986).

Mientras la conducta de regulación hidromineral es desencadenada, una serie de mecanismos autonómicos intentan, en primer lugar, mantener la función cardiovascular. Posteriormente, el descenso del volumen plasmático activará a circuitos neuroendocrinos dependientes de la liberación de sustancias renales y extra-renales que intervendrán en la ingesta de agua por hipovolemia (Johnson y Thunhorst, 1997).

Como ocurre en otros procesos, dos sistemas parecen implicados en la ingesta volémica de agua y sales minerales. Uno nervioso y rápido y el otro humoral, más lento y que proporcionará la información al SNC a través de los Órganos Circunventriculares.

Esquemáticamente, los procesos activados por hipovolemia quedarían representados como sigue:



De forma general, se asume que existen **mecanismos extrarrenales y renales** en la ingesta de agua por hipovolemia:

La existencia de **factores extrarrenales** fue demostrada por Fitzsimons en 1961. En su estudio, inyectó un coloide en sujetos nefrectomizados, incrementando la ingesta de agua (Fitzsimons, 1961). Ese comportamiento ingestivo, por tanto, parecía independiente de la excreción renal de fluido.

El resultado de este experimento, llevó a sugerir que los **receptores cardiovasculares**, además de mantener la función cardiovascular (Skorecki, 1981), podrían participar en la ingesta volémica de agua.

Los receptores cardiovasculares se encuentran en el interior de los vasos que conforman los dos grandes componentes del sistema circulatorio⁹. Algunos detectan cambios en el volumen sanguíneo y otros, en la presión arterial.

Los receptores sensibles a los cambios en el volumen vascular (*receptores cardiopulmonares* (Thrasher, 1991)), se localizan en el corazón, grandes venas y circulación pulmonar. Son receptores de estiramiento que captan modificaciones en la tasa de retorno venoso hacia el corazón (Johnson y Thunhorst, 1997). Otro conjunto de receptores detecta variaciones en la presión arterial y se localizan en el cayado de la aorta y seno carotídeo (*barorreceptores sinoaórticos*) y en la arteria renal (*barorreceptores renales*) (Johnson y Thunhorst, 1997). Todos ellos estimulan la liberación de hormona antidiurética y la conservación renal de agua, mientras que su destrucción abole la ingesta de agua que resulta de la hipovolemia (Quillen et al, 1990; Zimmerman et al, 1981).

La coexistencia de receptores de volumen y presión arterial permite explicar por qué se necesita una reducción del plasma sanguíneo de, al menos, un 10% para generar sed volémica. Así, con el objeto de permitir una adecuada distribución del flujo sanguíneo (homeostasis cardiovascular), los receptores cardiopulmonares de estiramiento deben tener un margen amplio de respuesta antes de que los mecanismos homeostáticos hidrominerales entren en juego (Fitzsimons, 1991).

En definitiva, la pérdida de fluido intravascular reducirá la tasa de retorno venoso al corazón, dejando de estimular a los receptores cardiopulmonares; y provocará hipotensión, con lo que los barorreceptores sinoaórticos se inhiben. Ambos formarían parte del sistema extrarrenal en la ingesta volémica de agua. Los barorreceptores renales estarán incluidos en el **circuito renal**:

⁹ El sistema circulatorio está formado por dos grandes vías vasculares (ver Guyton y Hall, 2001; cap. 14):

La **circulación sistémica**: la sangre rica en oxígeno y nutrientes es propulsada por el corazón hacia las arterias, y depositada por los capilares en los tejidos. Las vénulas recogen la sangre cargada de dióxido de carbono y productos de deshecho y las venas lo transportan nuevamente al corazón, que la impulsa a través del sistema circulatorio menor ó

circulación pulmonar hacia los pulmones, donde la sangre venosa se oxigena antes de regresar, limpia, al corazón.

46 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Conforme el volumen plasmático disminuye, se reduce la presión que la sangre ejerce sobre la arteriola renal aferente. En respuesta a esta caída, las células yuxtaglomerulares que forman la pared vascular, liberan renina al interior del vaso (Davis y Freeman, 1976). La renina promueve la formación de Angiotensina II (AII); una sustancia *presora* que estimula la secreción de la hormona antidiurética, de ACTH y aldosterona (para la retención renal de sodio) y la ingesta de agua (Simpson, 1981).

Así, la ingesta de agua mediada por la AII, dependerá de los cambios en la presión arterial: en casos de hipertensión aguda, la AII resulta un agente dipsogénico inefectivo¹⁰ (Johnson y Thunhorst, 1997).

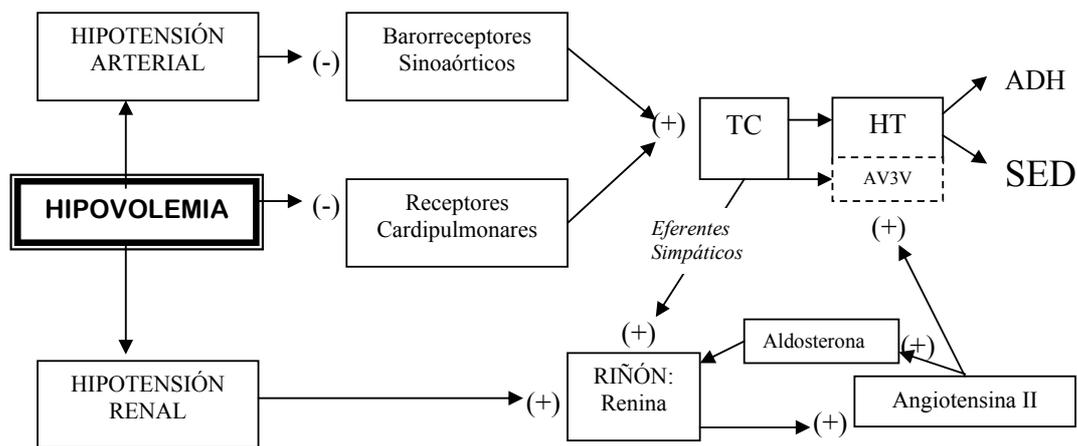
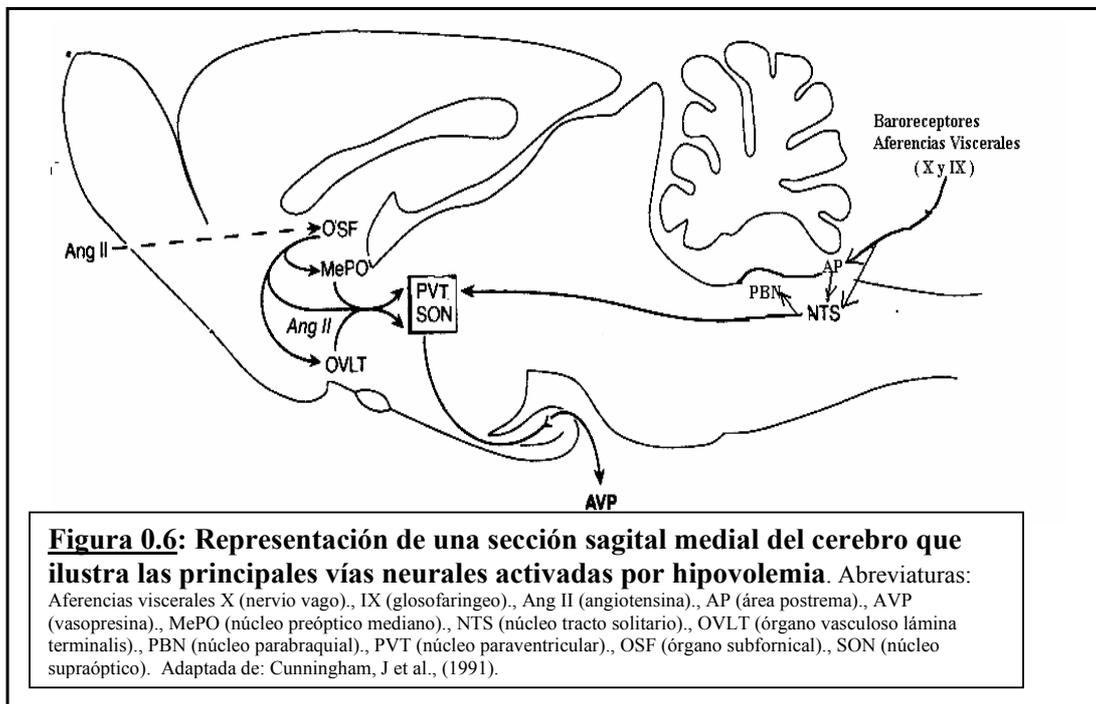


Figura 0.5: La hipovolemia inhibe a los barorreceptores sinoaórticos y a los receptores cardiopulmonares. Esta inhibición, aumenta la actividad simpática (que estimula la liberación renal de renina), y de las estructuras hipotalámicas dipsogénicas y secretoras de la hormona antidiurética (ADH). Adicionalmente, la renina es liberada en respuesta al descenso en la presión arterial renal y se transforma en Angiotensina II que, actuando sobre el Órgano Subfornical (ver más abajo) estimula la síntesis hipotalámica de ADH y la sed. Finalmente, las acciones de la AII sobre la corteza adrenal, inducen la liberación de Aldosterona y la retención renal de sodio.

¹⁰ Curiosamente, la baja potencia dipsogénica de la AII en condiciones de elevada presión arterial ha sido atribuida a los receptores cardiopulmonares (Retting y Johnson, 1986), cuya destrucción reinstaura el efecto ingestivo (Klingbeil et al, 1991).

En resumen, cuando acontece una pérdida intravascular, los mecanismos reflejos se ponen en marcha. La reducción del output cardíaco estimulará las siguientes respuestas fisiológicas desencadenantes de la sed y del aumento de presión arterial (Thraser, 1991) (Figura 0.6):

- 1.- Activación del Sistema Nervioso Simpático que induce la constricción de los vasos e incrementa la tasa cardíaca (para mantener la presión arterial (Johnson y Thunhorst, 1997)) y la reabsorción renal de sodio (DiBona, 1985).
- 2.- Secreción de renina renal y activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona.
- 3.- Secreción de hormona antidiurética o vasopresina (denominada de ambas formas porque sus efectos principales son la retención renal de agua y la contracción de la musculatura lisa vascular) (Share, 1988).



A.-MECANISMO REFLEJO: RECEPTORES CARDIOPULMONARES Y BARORRECEPTORES SINOAÓRTICOS.

Los receptores cardiopulmonares de estiramiento, responden a descensos en el volumen plasmático (sed volémica), pero los barorreceptores arteriales son afectados secundariamente por los cambios hemodinámicos e influirán en la sed (Fitzsimons, 1991). Ambos tipos de receptores serán cruciales en el cese de la ingesta de agua, y su inhibición, en el efecto volémico dipsogénico.

Para comprobar la implicación de estos receptores de volumen y presión, algunos investigadores introdujeron un pequeño globo en el interior de arterias y vasos específicos. De esta forma, al inflar este globo, podían “engañar” a los receptores (estimularlos en ausencia de cambios volumétricos sanguíneos).

En uno de estos experimentos, Fitzsimons y Moore-Gillon (1980), insertaron el globo en la vena cava inferior de perros (reduciendo la tasa de retorno vascular hacia el corazón (“hipovolemia”)), y lograron estimular la ingesta y retención de agua. De forma similar, la mera constricción de esta vena, resultaba dipsogénica (Fitzsimons, 1969; Ramsay et al, 1975).

Por tanto, mediante manipulaciones intravasculares o al ligar la cava, los sujetos emitían el mismo conjunto de respuestas que se activan en situaciones hipovolémicas.

La hipervolemia, por su parte, inhibe la ingesta de agua. Análogamente, al inflar un diminuto globo insertado en la entrada de la vena pulmonar a la aurícula izquierda, se redujo la ingesta ad libitum e inducida por isoproterenol¹¹ (Fitzsimons y Moore-Gillon, 1980b), aunque no en respuesta a la inyección de ClNa hipertónico (Kaufman, 1984). En casos de hipervolemia, el corazón parece liberar una sustancia, el péptido natriurético atrial (ANP), que podría participar en el cese de la ingesta de agua y secreción de la Hormona Antidiurética (ADH) (Goetz, 1988).

¹¹ El isoproterenol es un agonista beta-adrenérgico dipsogénico, hipotensor y que incrementa la actividad plasmática de renina (Evered y Robinson, 1981; Leenen y McDonald, 1974).

La constricción de la vena cava (y reducción del retorno venoso al corazón) aumenta la actividad del sistema renina-angiotensina (y los niveles de AII), la liberación de ADH y la ingesta de agua, a la vez que reduce la presión arterial. Para observar la implicación funcional de cada tipo de receptor en este conjunto de respuestas, el grupo de Quillen practicó denervaciones selectivas o combinadas previas a la obstrucción de la cava. Los resultados obtenidos fueron los siguientes (Quillen et al, 1990):

- La destrucción de los receptores cardiopulmonares bloqueó el incremento en los niveles de la *hormona antidiurética*, mientras que la denervación sinoaórtica no los modificó. Ahora bien, la denervación sinoaórtica sí parece influir sobre la actividad y respuesta neurosecretora de los núcleos supraóptico y paraventricular en situaciones donde se ve afectada la osmolaridad plasmática (al ingerir o inyectar ClNa) (Alexander y Morris, 1986 y 1988; Anderson et al, 1974; Morris y Alexander, 1989; Rocha et al, 1993). Por tanto, los efectos de la denervación sobre los niveles de vasopresina están modulados por el procedimiento empleado y por el tipo de sed (osmótica o volémica) inducida. Si, como en el caso presente, la osmolaridad plasmática no resulta afectada, la respuesta antidiurética podría depender de los receptores cardiopulmonares.
- Con respecto a la *ingesta de agua*, la denervación sinoaórtica y la cardiopulmonar, reducen el consumo de fluido que se observa tras la constricción de la cava. Sin embargo, sólo la denervación combinada (sinoaórtica y cardiopulmonar), consiguió suprimirla por completo (Quillen et al, 1990). Por tanto, la ingesta de agua por obstrucción de la cava, parecía depender de ambos receptores.
- Finalmente, el aumento en los *niveles de angiotensina* (y en la actividad del sistema renina-angiotensina) y el descenso de la *presión arterial*, no resultó modificado por la denervación sinoaórtica, cardiopulmonar o la denervación conjunta. Por tanto, estas respuestas podrían aparecer con independencia de ambos tipos de receptores (Quillen et al, 1990) y depender de los barorreceptores renales.

50 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

La actividad originada en los receptores cardiovasculares parece ser **tónicamente inhibitoria**. La hipervolemia e hipertensión incrementan la tasa de disparo neural, mientras que la hipovolemia e hipotensión la reducen (Moore-Gillon & Fitzsimons, 1982). De esta forma, la expansión del volumen vascular inhibe la sed volémica (Corbit, 1965; Kaufman, 1984).

Que dicha información resultara tónicamente inhibitoria sobre la ingesta de agua, fue sugerido a finales de los 60 por Sobocinska mediante el bloqueo (por sección, anestésicos y enfriamiento) de la rama vagal cervical. Al destruir esta vía, redujo la estimulación osmótica necesaria para estimular la ingesta de agua (Sobocinska, 1969). Como la hipovolemia también reduce el umbral osmótico de sed, su sustrato podría depender de la inhibición del nervio vago. Es decir, la reactividad de los mecanismos hipovolémicos de sed, resultaría de la retirada de impulsos inhibitorios procedentes de los receptores cardiopulmonares y sinoaórticos (Fitzsimons, 1991).

Al no estimular a receptores tónicamente inhibitorios, la hipovolemia activaría el mecanismo reflejo simpático. La activación simpática aumentaría el output cardíaco, provocaría vasoconstricción (ver Thasher, 1991), secreción de renina (Davis y Freeman, 1976), Vasopresina (AVP) (hormona vasoconstrictora y antidiurética) y Adrenocorticotropina (ACTH) (Share, 1988) y la ingesta de agua.

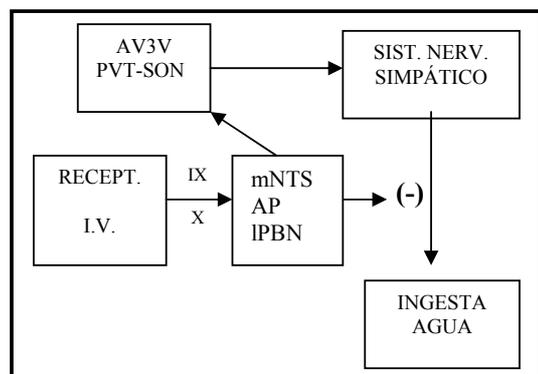
Para someter a prueba esta hipótesis, Moore-Guillón y Fitzsimons (1982), implantaron un pequeño globo en la unión entre una de las grandes venas de los pulmones y la aurícula izquierda del corazón. Extirparon la parte del pulmón irrigada por la vena, de modo que al inflar el globo no se viese afectado el flujo sanguíneo que llegaba al corazón. Los resultados fueron los esperados: al *estimular los receptores* de distensión de la aurícula izquierda ("*hipervolemia*"), se *redujo la ingesta* de agua (en respuesta al isoproterenol) de los animales. Si el cese en la ingesta dependía de un procesamiento vagal inhibitorio, la interrupción de esta vía debería reinstaurar el comportamiento ingestivo. Este resultado fue obtenido anestesiando en estos animales, la rama cervical izquierda del vago (Moore-Guillón y Fitzsimons, 1982). Así, al reducir la actividad de las fibras vagales, la hipovolemia parece estimular el sistema nervioso simpático y la ingesta de agua.

La información originada en los receptores cardiovasculares, sería procesada por los nervios glossofaríngeo (IX par craneal) y vago (X par craneal) (ver Johnson y Thunhorst, 1997). Los pares craneales IX y X proyectan al NTS (Norgren, 1978 (citado por Johnson y Thunhorst, 1997)) y al área postrema (Fitzsimons, 1998; Johnson y Thunhorst, 1997; Ohman y Johnson, 1995).

La lesión de la región lateral del Núcleo Parabraquial Lateral ó IPBN (el segundo relevo), elimina la información ascendente de los receptores de presión/volumen vascular hacia estructuras del cerebro anterior y provoca una ingesta incrementada (Johnson y Thunhorst, 1997). Más aun, el que la destrucción de sus cuerpos celulares sin afectar a las fibras de paso (mediante neurotoxinas) sea dipsogénico, sugiere que el IPBN es lugar de integración de la información neural sobre la ingesta de agua (Edwards y Johnson, 1991). Los efectos de las lesiones IPBN son similares a los de AP/mNTS (Edwards y Ritter, 1982) en el sentido de que incrementan la ingesta volémica de agua (mediante isoproterenol o un coloide) pero no la que resulta de la deshidratación celular (inyección de ClNa hipertónico) (Edwards y Ritter, 1982; Ohman y Jonson, 1989).

Por tanto, la destrucción de esas estructuras genera efectos similares a los observados al bloquear la información vagal. Es decir, las estructuras troncoencefálicas estudiadas, parecen formar parte de ese circuito inhibitorio para el control del volumen sanguíneo.

La actividad espontánea de las estructuras troncoencefálicas participa en el cese de la ingesta de agua, mientras que el aumento en la ingesta, en caso de hipovolemia, está sujeta a su inhibición.



52 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Como se ve arriba, la información originada en los receptores de volumen y barorreceptores sinoaórticos también se dirige, desde estos núcleos, hacia la región AV3V y a núcleos como el SON y PVT (Fitzsimons, 1998), de modo que la denervación sinoaórtica puede generar cambios en la ingesta de agua y en la actividad neurosecretora de estos centros (Alexander y Morris, 1986 y 1988; Morris y Alexander, 1989; Rocha et al, 1993).

El que se procese conjuntamente información sobre volumen y presión implica que la contribución relativa de cualquier proceso variará en función de la severidad de la hipovolemia (p.ej. con o sin hipotensión) (Johnson y Edwards, 1991). Ahora bien, los efectos de hipovolemia sobre la homeostasis hidromineral pueden ocurrir en ausencia de cambios en la presión arterial y de la osmolalidad plasmática (Stricker y Sved, 2000) y a su vez, las sustancias vasodilatadoras (que reducen la presión arterial) pueden estimular la ingesta de agua y secreción de vasopresina en ausencia de cambios en la osmolaridad o en el volumen plasmático (Lehr et al, 1967).

B.- MECANISMO RENAL: LOS BARORRECEPTORES RENALES Y EL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA.

A finales del siglo XIX, Tigersted y Bergman (ver Fitzsimons, 1998) encontraron que la administración de extractos del córtex renal ejercían efectos presores en conejos anestesiados. La sustancia responsable fue llamada renina; era sintetizada en el aparato yuxtglomerular y liberada a la luz de la arteriola renal aferente (Davis y Freeman, 1976).

En 1964, Fitzsimons observó que al reducir el retorno venoso cardíaco, las ratas comenzaban a beber y que esta ingesta se reducía en animales nefrectomizados. Este dato sugería la existencia en los riñones de algún compuesto que incitase al comportamiento ingestivo. Los extractos renales analizados contenían una sustancia dipsogénica que resultó ser idéntica a la **renina** (Fitzsimons, 1964 y 1969).

En sujetos sanos, el principal factor para la secreción de renina es la ingesta de sodio: una ingesta elevada expande el volumen extracelular y reduce la liberación de renina; mientras que la ingesta reducida estimula la secreción de esta enzima (Rose, 1994; pág 31). La renina, en efecto, es una enzima que transforma el angiotensinógeno plasmático en Angiotensina I (AI) (Naftilan et al, 1991). Posteriormente, la enzima convertidora de la angiotensina, convierte la AI en **Angiotensina II** (AII) (Dzau, 1988). En verdad, la responsable de los efectos presores (Braun-Menéndez et al., 1940) y dipsogénicos (Fitzsimons y Simons, 1969) es la AII; la renina, es fisiológicamente inactiva (Fitzsimons, 1979).

Los efectos dipsogénicos y presores de la AII se pueden disociar temporalmente: la respuesta dipsogénica es transitoria, mientras que el aumento en la presión arterial, un efecto más sostenido (DiNicolantonio et al, 1982). El sistema renina-angiotensina requiere de unos 20 minutos para activarse por completo y la AII persiste en la sangre sólo 1 ó 2 minutos porque unas enzimas (angiotensinasas) la inactivan rápidamente (Guyton y Hall, 2001).

La AII provoca vasoconstricción (Davis y Freeman, 1976), activación simpática (y liberación de adrenalina por parte de la médula suprarrenal), secreción de aldosterona, liberación de hormonas hipofisarias (como vasopresina), conservación de agua y sodio y sed (Mahon et al, 1995; Mangiapane et al, 1984). Además, de un potente estímulo dipsogénico (Fitzsimons y Simons, 1969), induce apetito por sodio (Fitzsimons, 1998; Simpson, 1981).

En 1973, Lehr y asociados protagonizarían un descubrimiento inesperado. Estos investigadores trataban de distinguir entre la sed dependiente de la Angiotensina II y la que se produce sin su intervención. Para ello, administraron sustancias hipovolémicas en animales en los que impedían la formación de AII mediante inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (como el captopril). Paradójicamente, la administración periférica de captopril potenció la ingesta volémica de agua (Lehr et al, 1973), sodio (Elfont et al, 1984; Evered y Robinson, 1983; Fregly, 1980; Rowland y Fregly, 1988; Stricker, 1983) y la secreción de ADH (Knepel y Meyer, 1980; Thunhorst et al, 1994).

54 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

En este experimento, el captopril habría impedido la transformación periférica de Angiotensina I. Sin embargo, esa AI podría haber accedido al SNC, transformándose intracerebralmente en AII para estimular el comportamiento ingestivo. Con el objeto de impedir la posible transformación intracerebral de AII, se administró captopril periférica e intracerebroventricularmente, y se interrumpió la ingesta de agua (Fitts y Masson, 1989; Lee et al, 1981). Estos resultados sugerían que la AII podría actuar sobre el SNC.

Efectivamente, los efectos dipsogénicos de la AII se maximizaron cuando era administraba **intracerebralmente** (Booth, 1968; Epstein et al, 1970; Fitzsimons, 1970; Fluharty y Manaker, 1983; Severs y Daniels-Severs, 1973; Simpson, 1981; Simpson et al, 1978), actuando sobre estructuras como la Región Preóptica (Epstein et al, 1970; Buggy y Fisher, 1974; Chiaraviglio, 1976), Septum (Huwlyer y Felix, 1980), SON (Okuya et al, 1987) y PVT (Gutman et al, 1988). El HT Anterior-Región Preóptica fue una de las zonas más estudiadas: la administración intracerebral de pequeñas cantidades de AII en ratas saciadas, incrementaron de forma dosis dependiente la ingesta de agua (Epstein et al, 1970) y sal (Buggy y Fisher, 1974; Chiaraviglio, 1976).

La ingesta de agua en respuesta a la administración intracraneal de AII o renina, puede ser elicitada en ratas adrenalectomizadas o hipofisectomizadas (Avrith et al, 1980b), y en ratas bilateralmente nefrectomizadas (Avrith y Fitzsimons, 1980). Es por tanto, un efecto primario, independiente de las hormonas pituitarias o adrenales, y de la pérdida renal de fluido (Fitzsimons, 1998, pág. 595).

Los receptores cerebrales angiotensinérgicos implicados en la ingesta de agua, parecen ser de tipo AT1 (Allen et al, 1998; Chipodera et al, 1998; Gouldsbrough y Ashton, 2001). Sin embargo, la AI y AII no atraviesan la Barrera Hematoencefálica (Ganten et al, 1971; Volicer y Loew, 1971). Así, de nuevo la región circunventricular de la lámina terminal se convirtió en el centro de atención (Buggy y Johnson, 1978; Okuya et al, 1987).

Los resultados avalaron esta idea, mostrando que:

- Las estructuras de la lámina terminal contienen receptores para la AII (Mendelson et al, 1984; Plunkett et al, 1987) y sus células son sensibles a esta hormona (Gronan y York, 1978; Knowles y Phillips, 1980).
- Las lesiones de la región AV3V bloquean la respuesta a las señales humorales inductoras de sed (Johnson y Thunhorst, 1997; pág. 313). De hecho y al principio, los animales AV3V son adípsicos y no liberan la correspondiente hormona antidiurética ante situaciones hipovolémicas o hiperosmóticas. Más aún, si los animales no son hidratados, estas lesiones podrían provocar la muerte. Por el contrario, si los animales son hidratados habitualmente, a los 7-10 días recuperan la ingesta espontánea. Esta mejora no impide que se aprecie un deterioro crónico en la ingesta de agua, liberación de ADH y en las respuestas presoras emitidas ante cambios osmóticos y volémicos (Johnson y Thunhorst, 1997; Shrager y Johnson, 1980; Simpson, 1981).

En resumen, las lesiones AV3V afectan tanto a receptores de tonicidad, como a posibles fibras de paso y a células que integran la información hidromineral procedente de múltiples sistemas (Johnson y Thunhorst, 1997).

- Finalmente, las lesiones del OSF y de la región AV3V, bloquean el efecto dipsogénico de la AII (Buggy y Johnson, 1977 y 1978; Johnson y Buggy, 1978).

A la hora de dilucidar la implicación funcional del OSF y de las estructuras pertenecientes al área AV3V, se ha observado que las células del OSF son sensibles, in vivo e in vitro, a la AII y que la administración de esta hormona directamente en el OSF estimula, específicamente, la ingesta de agua (ver McKinley et al, 1998). Esta respuesta ingestiva es abolida mediante el empleo previo de antagonistas de la AII como la saralasin (Phillips y Felix, 1976).

También el efecto dipsogénico del isoproterenol ha sido bloqueado lesionando el OSF (Simpson 1981, Thrasher et al 1982b; Thunhorst et al, 1987) o administrando captopril o antagonistas de la AII en las proximidades del OSF (Fitts y Masson, 1989; Lee et al, 1981).

56 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Estos y otros datos sugerían que el OSF podría mediar las acciones dipsogénicas de la AII. Las estructuras AV3V y otras regiones cerebrales, parecen mediar otros comportamientos dependientes de la AII (Fitts y Masson, 1990; Joy y Lowe, 1970; Lane et al, 1997). El OSF, por tanto, podría representar la “puerta de entrada” de la angiotensina periférica (Simpson, 1981; Simpson et al, 1978; Simpson y Routtenberg, 1973). Así, la sección con knife-cut (microbisturí) de las eferencias del OSF, afectaron al efecto ingestivo de la AII administrada sistémicamente (Eng y Miselis, 1981). Sin embargo, por la ruta intracerebroventricular, la angiotensina continuaba siendo dipsogénica (Lind y Johnson, 1982). Por tanto, debían existir otras estructuras cerebrales sensibles a la AII.

En efecto, una serie de estudios posteriores demostraban que el **núcleo preóptico mediano** (MePO) era muy sensible a la acción dipsogénica de la angiotensina. Pero el MePO estaba protegido por la Barrera Hematoencefálica.

El hecho de que estructuras cerebrales carentes y no carentes de barrera hematoencefálica respondieran a la angiotensina llevó a Lind y Johnson a proponer que la AII podría actuar sobre el MePO como **sustancia neurotransmisora**. Es decir, la AII hormonal actuaría sobre el SNC a través del OSF quién a su vez, liberaría Angiotensina como neurotransmisor. Esta AII cerebral podría actuar sobre estructuras como el MePO (Ferguson y Washburn, 1998; Lind y Johnson, 1982), que recibe aferencias del OSF (Miselis, 1981). Por tanto, una sustancia podría actuar como hormona primero y la misma molécula como sustancia transmisora en el SNC.

Esta atrevida proposición contaría poco después con una serie de evidencias experimentales que la avalaron:

- Lesiones electrolíticas del núcleo preóptico mediano, interrumpían la conducta de ingesta que resulta de la administración *i.v* o *i.c.v* de AII (Johnson y Cunningham, 1987).
- La estimulación eléctrica del OSF incrementaba la actividad de las neuronas del núcleo mediano. Estas respuestas se suprimían mediante el bloqueo de los receptores de angiotensina con saralasin (Nelson y Johnson, 1985).

Las vías de AII procedentes del OSF terminan también en el OVLT, Núcleo Lecho de la Estría Terminal (NLST), Córtex Infralímbico, PVT y Rafé (ver Fitzsimons, 1998; Fuxe et al, 1976). A su vez, el núcleo preóptico mediano proyecta también a los núcleos magnocelulares del complejo SON-PVT (Armstrong, 1995; Chiodera et al, 1998; Cunningham y Sawchenco, 1991; Ferguson y Latchford, 2000; Hatton, 1990; Ihamandas et al., 1989; Leng et al., 1999; Lind et al., 1985; Mckinley y Oldfield 1994; Miselis, 1981; Oldfield et al., 1991; Phillips y Sumners, 1998; Renaud y Bourque, 1990). De hecho, lesiones que incluyen al OSF y núcleo preóptico mediano, disminuyen la expresión c-fos en el SON-PVT inducida por AII (Iovino y Steardo, 1984; Johnson, 1982; Phillips, 1987; Rowland, 1998; Thunhorst et al., 1994).

Otros datos apoyan la implicación de las **estructuras neurosecretoras** en las acciones de la AII. Así, el efecto dipsogénico de la administración de AII en el OSF es reducido administrando saralasin (Tanaka et al, 2001) o mediante lesiones neurotóxicas (Gutman et al, 1988) del núcleo paraventricular. Adicionalmente, la administración de AII en el PVT, induce la liberación de ADH y la ingesta de agua (Qadri et al, 1998).

Además de esta propuesta, se ha sugerido que la Angiotensina II podría actuar de forma **paracrina**. Los efectos paracrinos pueden ser ejercidos por sustancias liberadas en los ventrículos cerebrales y transportadas por el fluido cerebroespinal (líquido cefalorraquídeo).

Entre los datos que respaldan esta propuesta, se ha observado la expresión de genes para renina y angiotensina en el cerebro (Dzau et al, 1988; Phillips et al, 1993). Las cantidades cerebrales de renina no resultan afectadas por nefrectomía, sugiriendo que el tejido nervioso puede sintetizar esta enzima independientemente del riñón (Fischer-Ferraro et al, 1971; Ganten et al, 1971 y 1971b). Se ha encontrado angiotensinógeno en el fluido cerebroespinal y su ARNm en astrocitos. También la enzima convertidora de angiotensina está ampliamente distribuida en el cerebro (ver Fitzsimons, 1998).

58 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Ese angiotensinógeno cerebral podría ser procesado intersticialmente y los péptidos activos de angiotensina difundirse hacia el fluido cerebroespinal, y ser detectados por células cercanas con receptores específicos.

En definitiva, la presencia de la molécula de angiotensina en el líquido cefalorraquídeo, la elevada latencia y los efectos prolongados tras su administración central, así como la separación entre las células sintetizadoras y las que cuentan con receptores de angiotensina, sugieren esta acción paracrina (Fischer-Ferraro et al, 1971; Szczepanska-Sadowska, 1991). Estos datos apoyan la posible implicación de los péptidos de angiotensina cerebrales en la homeostasis hidromineral, aunque la extensión y naturaleza de esta implicación no está resuelta por completo (Fitzsimons, 1998, pág. 630).

En resumen, la Angiotensina (como hormona) puede acceder al SNC a través de los Órganos Circunventriculares. En el cerebro, podría actuar como sustancia neurotransmisora o como agente paracrino, dependiente o independientemente de sus acciones hormonales.

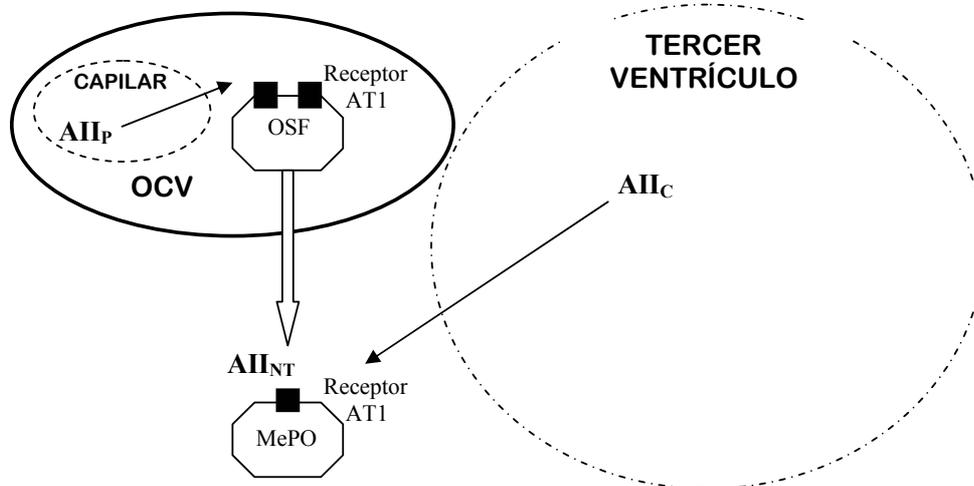


Figura 0.7: Posibles mecanismos de acción de la angiotensina sobre el SNC:

- AII como neurotransmisor:** La AII formada en el plasma sanguíneo (AII_p) es sintetizada a partir de la renina renal y actúa sobre receptores AT1 (■) localizados en órganos circunventriculares (OCVs) como el OSF. El OSF liberaría Angiotensina como neurotransmisor (AII_{NT}), que ya sí podría actuar sobre órganos que disponen de Barrera Hematoencefálica y cuentan con receptores AT1 como el MePO.
- Acción paracrina:** La AII sería sintetizada intracerebralmente (AII_C) y se difundiría al III V para ejercer efectos sobre estructuras cercanas con receptores AT1, como el MePO.

II.3.- CONTRIBUCIÓN RELATIVA DE LOS FACTORES OSMÓTICOS Y VOLÉMICOS EN LA INGESTA DE AGUA.

En los apartados anteriores hemos observado la implicación de un grupo de estructuras, principalmente hipotalámicas, en el control de la ingesta y retención de fluido. Los circuitos osmóticos y volémicos relacionados con la retención de líquidos están conformados por estructuras que proyectan a los núcleos neurosecretorios.

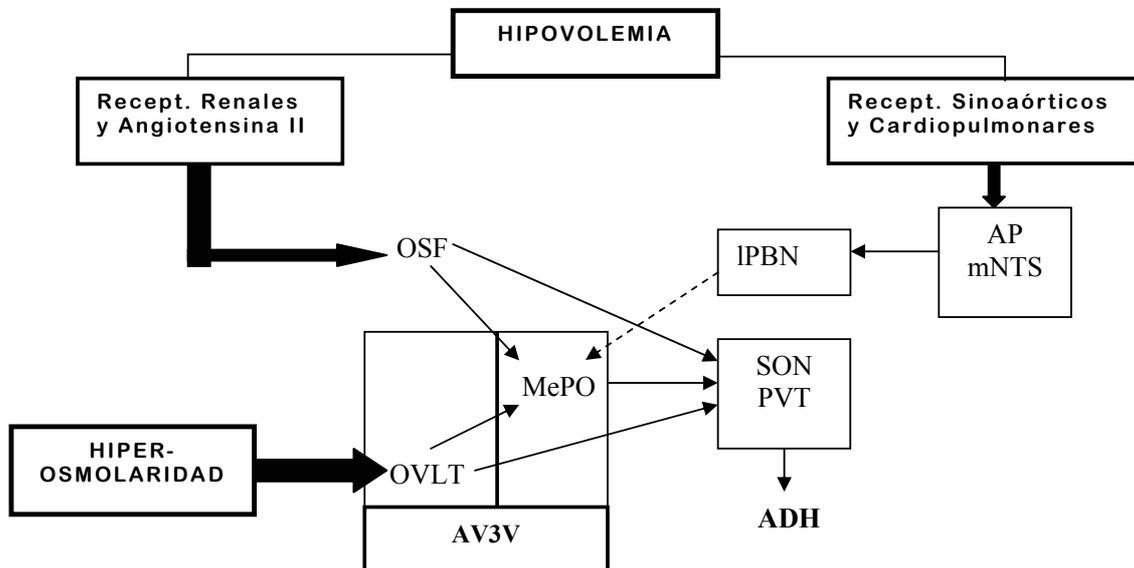


Figura 0.8: Principales estructuras cerebrales implicadas en la sed osmótica y volémica:

- **Sed Osmótica:** La hiperosmolaridad o el exceso de sodio plasmático es detectado por estructuras circunventriculares (especialmente el OVLT). Esta información es enviada al MePO y a los núcleos SON y PVT.
- **Sed Volémica:** Los descensos del plasma sanguíneo son procesados de dos formas:
 - 1.- Mediante **receptores cardiovasculares** que proyectan a estructuras troncoencefálicas como el AP, mNTS y IPBN para llegar al HT (al OSF y AV3V (que incluye al OVLT y MePO)). La línea vertical que separa el OVLT del MePO denota la ubicación de la barrera hematoencefálica.
 - 2.- Mediante la **Angiotensina II** actuando principalmente sobre el OSF (se obvian otros mecanismos posibles de la AII).

60 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Como puede verse, el output del sistema de retención lo constituyen los núcleos Supraóptico y Paraventricular que liberan sus productos hormonales a los capilares neurohipofisarios. Estos núcleos reciben información aferente originada en la región AV3V y en el OSF. El OVLT sería especialmente importante de cara a la detección de los cambios en la osmolaridad o sodio plasmático y el OSF procesaría, eminentemente, información humoral. Ambas estructuras proyectan al MePO, una estructura de la región AV3V que podría integrar toda esta información con la procedente de receptores cardiovasculares (Johnson y Cunningham, 1987).

La inducción conjunta de sed osmótica y volémica, genera un efecto aditivo sobre la ingesta de agua (Oatley, 1964) y sobre la liberación de ADH (Stricker y Verbalis, 1986), en consonancia con la posible independencia funcional entre ambos mecanismos (Fitzsimons, 1979; Stricker, 1966). Ahora bien, la secreción de la hormona antidiurética es estimulada por un aumento osmolar de sólo un 1-2% y por un descenso en el volumen plasmático superior al 10% (Baylis, 1987; Dunn et al, 1973; Mettauer et al, 1986; Robertson, 1987; Wade et al, 1983).

Con el objetivo de estudiar la contribución de los factores osmóticos y volémicos en la ingesta de agua, se ha partido de los resultados que se observan tras la privación de fluido. De hecho, la *privación de agua* es el estímulo más potente para estimular la sed (Fitzsimons, 1979). La ingesta de agua tras privación, está motivada por factores osmóticos (hay aumentos en la osmolaridad plasmática) y volémicos (la privación de agua aumenta la fracción de hematocrito y proteínas plasmáticas con respecto al plasma) (McKinley et al, 1983; Thrasher et al, 1984).

La implicación de factores osmóticos y volémicos en la sed por privación de agua, parece confirmada por estudios que registran la actividad cerebral. Así, pese a que esta manipulación parece reducir la ingesta de alimento (Kadekaro et al, 1992), la retención de sodio y su presencia en la comida, podría incrementar los niveles plasmáticos de este ión, la actividad de los núcleos PVT, SON y de la neurohipófisis (Windle et al, 1993) y la secreción neurohormonal (Chan, 1965). Posteriormente, el volumen extracelular declina y la actividad en el OSF, MePO y OVLT y la formación de AII se incrementa (Windle et al, 1993; Kadekaro et al, 1992; Van Ekelén y Phillips, 1988).

Para averiguar cuál de los dos factores es más relevante, se ha privado de agua a los animales y se ha intentado restablecer de forma independiente el volumen extracelular (mediante la administración de sustancias isotónicas) y el intracelular (mediante agua).

En ratas privadas de agua durante el periodo nocturno, la administración intragástrica, intraoral o intravenosa de 10 ml de agua, reduce la ingesta posterior en un 64-69%. Por el contrario, al restablecer el volumen plasmático con una inyección isotónica de 10 ml (que no modifica la osmolaridad), se reducía la ingesta en un 20-26%. (Ramsay et al, 1977). Estos efectos son bastante similares en animales nefrectomizados o con ligamiento de uréteres, lo cual sugiere que la ingesta no es secundaria a alguna modificación renal generada por la administración de agua o sal isotónica (Fitzsimons, 1979).

En perros se ha observado un resultado similar: la infusión *intracarótida* de agua (a una tasa que normalizaba la osmolaridad plasmática), redujo la ingesta de animales privados en un 72 %. Por su parte, al normalizar el volumen plasmático, la reducción fue sólo de un 27%. La rehidratación conjunta mediante la administración de agua y ClNa isotónico, eliminó casi totalmente la ingesta de agua que resulta de la privación. Además, considerando que en este experimento se administraron las sustancias intracarótidamente, los autores habrían reducido la osmolaridad plasmática de la circulación cerebral, más no la sistémica; sugiriendo el papel determinante de las estructuras cerebrales en la inhibición de la ingesta (Ramsay et al, 1977b).

En resumen, los resultados presentados en este epígrafe sugieren que la ingesta de agua inducida por privación, obedece tanto a señales osmóticas como volémicas, aunque la dependencia de las primeras es mayor. Obviamente, en la vida diaria no es muy común la pérdida de cantidades elevadas de líquido extracelular: como se indicó, se necesita una reducción del 10 al 20% del volumen plasmático para provocar sed por hipovolemia.

II.4.- PRESIÓN ARTERIAL E INGESTA DE AGUA:

La presión sanguínea hace referencia a la fuerza o tensión con que la sangre fluye por el sistema circulatorio. Esa presión proporciona el impulso necesario para propulsarla por las arterias y capilares y retornarla al corazón a través del sistema venoso. Se mide en mm de mercurio (Hg) y fluctúa, en condiciones normales, entre 80 y 120 mmHg en cada ciclo cardíaco¹² (Guyton y Hall, 2001).

Durante la sístole (cuando la sangre es expulsada al árbol arterial), se obtiene el valor más alto de presión arterial (presión sistólica o PSS). El nivel más bajo ocurre entre los ciclos de expulsión o diástole y se denomina presión sanguínea diastólica (PSD). Por tanto, la PSS señala la presión máxima con que la sangre es expulsada durante el pico de contracción cardíaca mientras que la PSD representa la presión sostenida, entre latidos, dentro de la vasculatura (de ahí los valores 120 y 80 mmHg). La **presión arterial media** (PAM) expresa la presión representativa a lo largo de un ciclo cardíaco entero y equivale a la PSD más un tercio de la diferencia entre la PSS y PSD, es decir:

$$PAM = PSD + 1/3 (PSS - PSD).$$

Los receptores de distensión sensibles a las modificaciones en la presión arterial son terminales nerviosas denominadas **barorreceptores sinoaórticos**. Están fundamentalmente localizados el seno carotídeo y cayado aórtico (Jonson y Thunhorst, 1997) y se ocupan de regular la presión arterial y asegurar un adecuado aporte de oxígeno al cerebro. A corto plazo, normalizan la presión ante cambios en su valor: si ésta sube, los barorreceptores reducirán la tasa o frecuencia cardíaca, que aumentará en caso de hipotensión.

Curiosamente, los incrementos sostenidos de la presión arterial, modifican al alza el punto óptimo de la presión arterial y los barorreceptores pierden sensibilidad ante cambios presores en el rango normal (se tornan sensibles en un rango superior) (Fitzsimons, 1991).

¹² Por ejemplo, una presión arterial de 100 mmHg se refiere a la fuerza necesaria para empujar una columna de mercurio contra la gravedad hasta una altura de 100 milímetros.

Existen diversos **mecanismos de control** de la presión arterial. Ante descensos en la presión, los **barorreceptores sinoaórticos** responden rápidamente: tienen una latencia de pocos segundos y se mantienen activos aproximadamente durante un minuto. Cuando ya han transcurrido unos minutos, comienzan a observarse otras respuestas, como el efecto vasoconstrictor dependiente del sistema renina-angiotensina (**barorreceptores renales**) y el intercambio de líquido a través de los capilares (hacia el interior o exterior del sistema circulatorio para reajustar el volumen sanguíneo según sea necesario).

Más a largo plazo, interviene otro mecanismo renal de control: la disminución de la presión arterial provoca la **retención** de líquido corporal, con lo que el volumen sanguíneo aumenta y la presión se normaliza (Cowley, 1992). Éste es un mecanismo potente, pues el volumen sanguíneo continuará ascendiendo hasta que la presión se normalice (Guyton, 1991). Si la retención de fluido y sales es insuficiente, el aumento en el volumen sanguíneo requerirá, adicionalmente, de la **ingesta** de agua y sales minerales (Thrasher, 1991). Ahora bien, es más probable que el incremento en la PAM resulte del aumento en la ingesta de sal (y de su reabsorción) que de un consumo excesivo de agua, porque el agua por sí sola sería renalmente excretada casi a medida que se ingiere, mientras que el cloruro sódico no se elimina con tanta facilidad (Guyton y Hall, 2001).

En efecto, el aumento en los niveles corporales de ClNa incrementará el volumen extracelular por (Guyton y Hall, 2001; cap. 19; Fitzsimons, 1979, pág. 517):

- Aumentar la osmolaridad y estimular la sed (para diluir el exceso de sal y restablecer la concentración extracelular isotónica).
- Activar la secreción de hormona antidiurética, que facilita la reabsorción de agua, reduciendo su volumen en la orina.

El Sistema Nervioso Autónomo (SNA) participa en estos mecanismos rápidos de control: la estimulación de la rama simpática aumenta la presión arterial al incrementar la tasa cardíaca, el volumen de contracción y provocar vasoconstricción. Por su parte, la estimulación vagal parasimpática, reducirá la frecuencia de latido y el volumen de contracción, inhibiendo a los centros bulbares vasoconstrictores con el objeto de reducir la presión arterial.

64 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Los mecanismos humorales, como es habitual, resultan un poco más lentos: la hormona antidiurética o vasopresina, incrementa la reabsorción renal de agua y provoca vasoconstricción. Efectos similares producen las sustancias derivadas del sistema renina-angiotensina-aldosterona (Thrasher, 1991).

Por lo tanto, los barorreceptores sinoaórticos pueden ser conceptualizados como sistemas de retroalimentación negativa. Cuando son estimulados por los incrementos en la presión arterial, su respuesta se dirigirá hacia el bulbo raquídeo para frenar al centro vasoconstrictor e inhibir los impulsos simpáticos hacia el corazón y vasos sanguíneos. De esta forma, se prioriza la función de la rama vagal desaceleradora del ritmo cardíaco. Inversamente, en respuesta a las reducciones de la presión arterial, se relaja la respuesta barorreceptora y la actividad simpática incrementa (Thrasher, 1991).

La información de los barorreceptores carotídeos y aórticos es procesada, respectivamente, por fibras de los pares craneales glossofaríngeo y vago hacia el NTS (donde también finalizan las fibras estimuladas por los receptores cardiopulmonares) (Donogue et al. 1984; Miura y Reis, 1972; Nondinez, 1941). Aquí, los inputs procedentes de diferentes campos, pueden sumarse para generar respuestas neurales autonómicas integradas. Más aun, tras la denervación de algún barorreceptor, los inputs restantes pueden asumir mayor importancia y, con el paso del tiempo, restablecer las respuestas normales y los niveles de presión arterial (Donogue et al, 1985).

Sin embargo, la actividad barorreceptora no es uniforme: las presiones arteriales por debajo de 60 mmHg, no evocan ninguna respuesta, mientras que entre 60 y 120 mmHg, el número de impulsos aumenta progresivamente (alcanzando la tasa máxima de respuesta alrededor de los 180 mmHg). Durante la diástole, estos barorreceptores no responden, debido a la disminución de la presión que la sangre ejerce sobre la pared aórtica y sobre los propios barorreceptores (Stocker et al, 2001).

En cuanto a la relación entre **presión arterial e ingesta de agua**, las primeras investigaciones, asociaron los efectos presores y dipsogénicos derivados de la activación del sistema renina-angiotensina. De hecho, en su estudio pionero con renina, Tigersted y Bergman registraron incrementos en la presión arterial (ver Fitzsimons,

1998) y con posterioridad, otros autores documentaron los aumentos en la ingesta de agua.

De forma general, los cambios en la presión y volumen sanguíneo suelen ir en la misma dirección (Thrasher, 1991): en casos hipovolémicos, conforme la sangre sale del sistema vascular, la tasa de retorno venoso al corazón decae, reduciéndose también la fuerza con la que ésta fluye y la estimulación de los barorreceptores sinoaróticos. El cese de la actividad baroceptora conlleva la des-inhibición simpática que promoverá la secreción de los componentes del sistema renina-angiotensina¹³ y de la ADH. Todas estas sustancias ejercen efectos vasoconstrictores (para aumentar la presión arterial) y estimulan la ingesta-reabsorción de agua. De hecho, la ADH es secretada (por motivos no osmóticos) cuando la hipovolemia produce una reducción de la presión arterial (Bie et al, 1986; Goldsmith et al, 1982). En determinados casos de hipotensión, los niveles circulantes de ADH llegan a superar los observados durante aumentos en la osmolaridad extracelular (Baylis, 1987; Goldsmith et al, 1982).

Algunos experimentos apuntan en la misma dirección: estudiando la ingesta de agua que resulta de la reducción del retorno venoso al corazón, Fitzsimons y Moore-Gillon, encontraron una correlación directa entre los descensos de la presión arterial y venosa central y el volumen de fluido consumido (Fitzsimons y Moore-Gillon, 1980). Maximizando la caída de la presión arterial, estos autores lograron incrementar la ingesta de agua. De esta forma, los descensos en la presión arterial estimulan la secreción de ADH y la ingesta de fluido, aunque ambas respuestas podrían ser activadas por vías diferentes (Stricker y Sved, 2002; Stocker et al, 2000).

Así, las **sustancias vasodilatadoras** (como el isoproterenol) estimulan la ingesta de agua y secreción de ADH (Atkinson et al, 1979; Evered, 1990; Hosutt et al, 1978; Lehr et al, 1967; Stocker et al, 2000). Los sistemas más cruciales en estas respuestas parecen ser el de renina-angiotensina y el sistema baro-receptor (Chiaraviglio, 1979; Houpt y Epstein, 1971; Hosutt et al., 1978; Johnson et al, 1981).

¹³ La renina es liberada ante aumentos en la actividad simpática (por reducción de la actividad barorreceptora sinoarótica) y ante descensos en el flujo sanguíneo renal (barorreceptores renales) (Keeton y Campbell, 1980). De hecho, los efectos dipsogénicos de la AII se potencian lesionando el NTS (Schreinhofer et al, 2000) y mediante denervación sinoarótica (Stocker et al, 1999), hecho coherente con el cese de la señal (inhibitoria) procedente de los barorreceptores arteriales (Stricker y Sved, 2000).

Otros agentes vasodilatadores modulan la ingesta de agua de forma diferente. En humanos, se ha identificado una sustancia hipotensora de origen suprarrenal, la *adrenomedulina* (Kitamura et al, 1993; Samson, 1999; Ueta et al, 2000). Los estudios que la administran intracerebralmente han reportado tanto incrementos (Saita et al, 1998) como descensos en la presión arterial (Smith y Ferguson, 2001). La administración sistémica de adrenomedulina estimula la excreción de agua y sales (Vari et al, 1996); mientras que, centralmente, inhibe su ingesta (Murphy, 1995; Samson et al, 1997; Taylor et al, 1996). Parece acceder al cerebro a través de órganos circunventriculares como el Área Postrema¹⁴ (Allen et al, 1996 y 1997), pero no a través del OSF (Shan et al, 2000). Estudios con c-fos sugieren que esta información se dirige hacia el NTS y PVT donde podría modular la liberación de hormonas neurohipofisarias (Serino et al, 1999). De hecho, la ablación del AP reduce la activación del PVT en respuesta a la adrenomedulina (Shan et al, 2000). Por tanto, en este caso, el Área Postrema parece un candidato excepcional para modular las acciones dipsógenas y presoras.

En caso de hipotensión, la ingesta de agua (y sales minerales) podría colaborar a aumentar la presión arterial. También la hipertensión renal¹⁵ ha sido relacionada con el comportamiento ingestivo de los animales ya que se reduce restringiendo el acceso y la ingesta de agua (ver Rolls y Rolls, 1982).

Los **aumentos en la presión arterial** (mediante agonistas alfa-adrenérgicos como fenilefrina), inhiben la ingesta de agua incluso si ésta es estimulada por hiperosmolalidad, hipovolemia o AII (Johnson y Thunhorst, 1997; Stricker y Sved, 2000; Stocker y Sved, 2001), pero no parecen influir sobre la secreción de ADH (Stocker y Sved, 2001).

El efecto inhibitorio de la hipertensión aguda sobre el comportamiento ingestivo, parece depender del aumento en la actividad vagal parasimpática inducida por los barorreceptores arteriales (Eckberg et al, 1971; Korner et al, 1972) y es bloqueado por denervación sinoaórtica (Stocker et al, 2001b). Así, los incrementos en la presión arterial (desde 120 a 160 mmHg) aumentan progresivamente la descarga barorreceptora

¹⁴ Recuérdese que la AII también parecía ejercer sus efectos presores a través del AP.

¹⁵ La hipertensión renal es provocada mediante la constricción de las arterias renales (Mann et al, 1980).

y reducen la ingesta de agua (Stocker et al, 2001). Esta es otra prueba de la relación inversa entre ambos procesos.

Sin embargo, los aumentos crónicos de la presión arterial no ejercen ningún efecto sobre la ingesta de agua. Este resultado aparentemente contradictorio, podría estar mediado por el aumento en el punto de ajuste para la presión arterial y por la reducida sensibilidad barorreceptora que se observa ante incrementos presores más sostenidos (Fitzsimons, 1991), como se señaló anteriormente.

En definitiva, la hipertensión reduce la ingesta de agua. Sin embargo, algunas sustancias, como la Angiotensina II, son simultáneamente dipsogénicas y presoras. Este dato podría señalar nuevamente la independencia entre ambos mecanismos de acción, ya que si prevenimos el efecto hipertensivo (vasoconstrictor) de la AII administrando simultáneamente sustancias vasodilatadoras, se potencian sus efectos dipsogénicos (Ganten et al, 1985; Everd, 1992; Evered et al, 1988; Robinson y Evered, 1987).

Aunque por lo general la presión y el volumen sanguíneo estén asociados, los cambios en la presión arterial pueden influir sobre la ingesta de agua en ausencia de cambios en la osmolaridad plasmática y del volumen sanguíneo (Stricker y Sved, 2000). Así, se observan diferencias sutiles en la activación (c-fos) de las estructuras cerebrales ante cambios (hiper- e hipo-) volémicos y (hiper- e hipo-) presores (Budzikowski, et al, 1998; Li y Dampney, 1994; Potts et al, 2000), sugiriendo la independencia entre ambos procesos.

III.- EXCRECIÓN Y REABSORCIÓN RENAL DE AGUA Y SALES MINERALES:

En el apartado anterior se ha abordado el componente ingestivo asociado a la regulación hidromineral. Este proceso homeostático también está estrechamente relacionado con la excreción renal de agua y solutos (fundamentalmente sodio). Dado que en la civilización moderna se ingiere mayor cantidad de sodio del que se necesita (lo cuál parece contribuir a la aparición de enfermedades cardiovasculares como la hipertensión (Meneton et al, 1998; Osborn, 1991)), se hace necesaria su excreción. Por el contrario, cuando la excreción de sodio es patológicamente alta (como ocurre en la enfermedad de Addison¹⁶) los sujetos necesitan ingerir grandes cantidades de ClNa (Stricker y Verbalis, 1986; Schulkin, 1991) para paliar su pérdida.

La excreción de los excedentes depende de los riñones. Estos órganos están relacionados fundamentalmente con (Rose, 1994; pág. 3):

- El mantenimiento de un entorno extracelular constante gracias a la excreción de productos del metabolismo celular, como la urea, y al ajuste de la excreción de agua y electrolitos en función de su ingreso en el organismo.

¹⁶ Déficit de la secreción de Aldosterona que provoca la pérdida excesiva de sodio en la orina, disminuyendo el volumen extracelular.

- La secreción de hormonas, como la renina, que participan en la regulación hemodinámica sistémica y renal y en el catabolismo de hormonas peptídicas.

Para mantener la vida, el ser humano debe excretar a largo plazo, una cantidad de sodio semejante a la que ingiere. Los ajustes renales mantienen el equilibrio de sodio sin alterar el volumen de fluido extracelular. Si la capacidad de compensación intrarrenal se dificulta, se ponen en funcionamiento otros mecanismos sistémicos (presión sanguínea, modificaciones autonómicas y hormonales, etc.) que son costosos para la homeostasis global, porque conllevan cambios que pueden resultar nocivos. Por eso, siempre que la función de los riñones sea normal, las variaciones en el aporte de agua y sales podrán compensarse con leves modificaciones del volumen sanguíneo y del líquido extracelular, del gasto cardíaco y de la presión arterial (Guyton y Hall, 2001; cap. 29).

Los riñones filtran el plasma sanguíneo y eliminan las sustancias de deshecho en función de las necesidades del organismo. Las sustancias filtradas que puedan resultar necesarias, son reabsorbidas nuevamente a la circulación general. Como cabría esperar, tienen una capacidad especial para modificar la excreción de sodio.

III.1.- ANATOMO-FISIOLOGÍA RENAL:

Cada riñón está formado por más de un millón de **nefronas**, su unidad funcional. Las nefronas están compuestas por un conjunto de segmentos o túbulos celulares y rodeada, en su mayor parte, de capilares peritubulares. Los componentes más superficiales de cada nefrona conforman la corteza renal y los más profundos, la médula renal. El primer elemento de la nefrona es la *Cápsula de Bowman*. La sangre, es transportada a través de la arteriola renal aferente hacia una malla de capilares que se denomina glomérulo renal (Abrahamson, 1987), donde se filtra antes de depositarse en la cápsula de Bowman (ver figura 0.9).

Sorprendentemente, cada día se filtran unos 180 litros de fluido; sin embargo, el volumen de orina excretado apenas supera el litro y medio. Esto es así porque la mayor parte del filtrado que recorre los diferentes segmentos de la nefrona, reingresa al sistema circulatorio a través de los capilares peritubulares (Auckland et al., 1994; Beeuwkes y Bonventre, 1975); proceso que se denomina reabsorción tubular.

De forma análoga, también existe un flujo de sustancias (secreción tubular) desde los capilares peritubulares hacia el interior de la nefrona. Así (Rose, 1994),

$$\text{excreción} = \text{filtración glomerular} - \text{reabsorción tubular} + \text{secreción tubular}$$

Cada sustancia plasmática tiene unos valores específicos de filtración, reabsorción y secreción antes de ser finalmente excretada. Por ejemplo, los iones sodio, cloruro y bicarbonato, se reabsorben intensamente, por lo que sólo aparecen en la orina (en condiciones normales) en pequeña cantidad. La orina excretada, pasará al uréter y de aquí a la vejiga.

Desde la cápsula de Bowman, el filtrado glomerular entra en el *túbulo proximal* y fluye hacia el asa de Henle, que se extiende hacia la médula renal. El *asa de Henle* está formada por una rama descendente y una ascendente y su configuración en horquilla juega un importante papel en la excreción de orina hiperosmótica (Rose, 1994). El extremo superior de la pared ascendente es más grueso y discurre

perpendicularmente a la parte de la arteriola aferente donde se libera renina¹⁷ (Baumbach y Skott, 1986). Posteriormente, el filtrado alcanza el *túbulo distal* y el *túbulo colector*, que vacía su contenido en el *conducto colector* (Imai, 1979; Madsen y Tisher, 1986). Las paredes de ocho o diez conductos colectores se van uniendo para formar un único conducto colector más grande. En cada riñón hay unos 250 conductos colectores muy grandes que recogen la orina de unas 4000 nefronas (Guyton y Hall, 2001; pág 343) y la dirigen hacia el uréter.

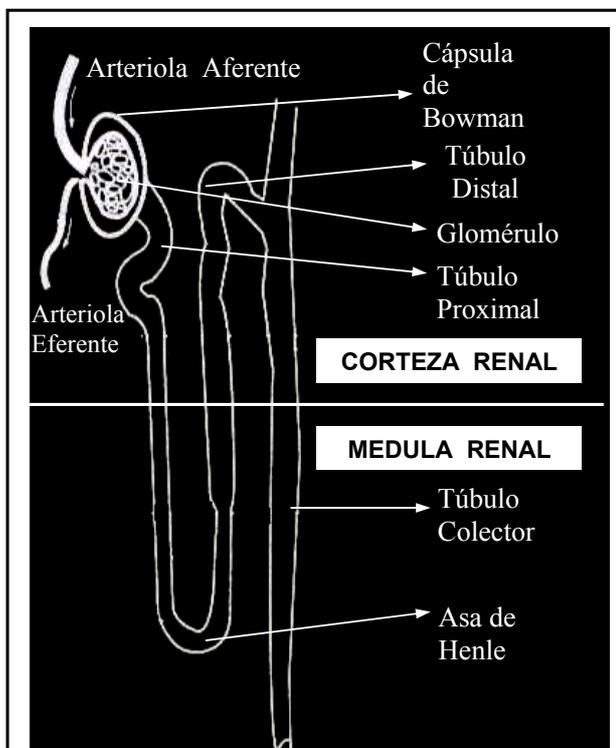


Figura 0.9: LA NEFRONA

Componentes de la nefrona:

La sangre llega a la nefrona a través de la arteriola renal aferente y entra en el glomérulo, siendo filtrada hacia la Cápsula de Bowman. El filtrado glomerular recorre sucesivamente los túbulos o conductos proximal, asa de Henle (descendente, ascendente y ascendente gruesa), el túbulo distal y el conducto colector.

Para mayor claridad, se omiten los capilares peritubulares.

(Adaptado de Binkley, 1995).

La división de la nefrona en segmentos, está basada en características específicas de permeabilidad y transporte de sustancias, y por tanto, en implicaciones funcionales diferentes (Jacobson, 1981).

A continuación se comentan los procesos de filtración glomerular, reabsorción y secreción tubular.

¹⁷ La secreción de renina se lleva a cabo en el aparato yuxtglomerular, que está formado por las células yuxtglomerulares que revisten la arteriola renal aferente y por un conjunto de células denominado mácula densa (Rose, 1994).

A.- FILTRACIÓN GLOMERULAR: En condiciones normales, el filtrado glomerular permite el paso libre del agua, electrolitos (como el sodio) y otros compuestos de pequeño tamaño (Brenner y Humes, 1977). Como se indicó, la tasa de filtrado glomerular (TFG) es de unos 180 litros/día (volumen más de 10 veces superior al del fluido extracelular (Rose, 1994)) y la reabsorción tubular de 178.5 litros/día.

Es importante que la tasa de filtración glomerular no experimente grandes fluctuaciones, que afectarían enormemente al volumen excretado (Rose, 1994; Steinhausen et al, 1990). Así, por ejemplo, un aumento del 5% en la TFG provocaría la excreción de unos 9 litros de orina diarios (si no se produjera una compensación tubular) (Guyton y Hall, 2001; pág. 402).

B.- REABSORCIÓN Y SECRECIÓN TUBULAR: Dado que la filtración glomerular es cuantitativamente importante y que la cantidad final de orina muy reducida, gran parte del fluido y solutos se reabsorben a la sangre. Sin embargo, a diferencia de la filtración glomerular, la reabsorción tubular es muy selectiva (por ejemplo, es muy elevada para electrolitos como el sodio, cloruro y bicarbonato (aunque su tasa es variable en función de las demandas del organismo) y muy baja para productos de deshecho como la urea).

En general, la reabsorción tubular es más importante que la secreción tubular, aunque ésta última, desempeña un importante papel en la excreción de algunos iones (como hidrógeno y potasio) y de otras sustancias, como los derivados farmacológicos (Guyton y Hall, 2001).

La reabsorción se produce desde los túbulos renales hacia el líquido intersticial y, a través de los capilares peritubulares, a la circulación general. La mayor parte del agua y de los solutos contenidos en el filtrado, se reabsorben desde el túbulo proximal y asa de Henle. En los túbulos más distales, la reabsorción de estos componentes es variable en función de su ingesta (Rose, 1994).

El proceso de reabsorción comprende mecanismos activos y pasivos (Gesek y Friedman, 1995; Katz, 1986; Neuman et al, 1976; Schafer, 1984):

- En el caso del sodio, los mecanismos activos dependen de bombas de transporte, como la ATPasa de sodio-potasio (Doucet, 1988), que se localizan en el segmento ascendente del asa de Henle. En otros segmentos, el sodio se reabsorbe pasivamente a través de espacios intercelulares o unido a la reabsorción o secreción de otros productos (Rose, 1991).
- Conforme el sodio es transportado fuera de los túbulos renales, el agua, es reabsorbida por ósmosis en la misma dirección. *Para ello, la membrana de las células tubulares que está en contacto con la luz tubular, ha de ser permeable a su paso.*
- Finalmente, la reabsorción de sodio se acompaña de la reabsorción de cloruro. Como el sodio es positivo, su transporte al intersticio renal, deja al interior tubular cargado negativamente. Por ello, aniones como el cloro difunden, junto al sodio, hacia el exterior tubular.

De esta forma, la reabsorción activa de sodio está íntimamente acoplada a la reabsorción de agua y de cloro (Guyton y Hall, 2001): el átomo negativo del Oxígeno (en la molécula de agua (H₂O)), atrae electrostáticamente a cationes como el sodio (Na⁺), y el átomo positivo del Hidrógeno a aniones como el cloro (Cl⁻) (Guyton y Hall, 2001; Kandel et al, 1997, pág. 125).

Por segmentos, la reabsorción se produce de la siguiente forma:

- Alrededor del 65% del sodio y agua filtrados (y un porcentaje algo menor de cloruro) se reabsorben isotónicamente desde el **túbulo proximal** (Kinne, 1991; Maddox y Gennari, 1987; Rector, 1983). Por ello, la concentración de sodio (y la osmolaridad total) siguen siendo bastante constantes (Green y Giebish, 1989; Preston et al, 1992; Verkman, 1989).
- El 35% del filtrado no reabsorbido del túbulo proximal, entra en el **asa de Henle**, que penetra en la médula renal (Rose, 1994; pag. 104). La osmolaridad del líquido intersticial de la médula renal es mayor que la del

resto del organismo, porque ha acumulado solutos (en mayor proporción que agua) mediante los siguientes mecanismos (Kokko, 1987; Zeidel, 1993):

1. El transporte activo de iones sodio desde el segmento grueso de la rama ascendente del asa de Henle hacia el intersticio renal.
2. Por difusión pasiva de urea desde los túbulos colectores.

El segmento descendente del asa de Henle es muy permeable al agua (que tiende a salir porque la médula renal es hiperosmótica) y poco permeable a la mayoría de solutos, como el sodio. Ello provoca el aumento gradual de la osmolaridad dentro del asa, hasta que se iguala con la del líquido intersticial circundante. La porción ascendente del asa de Henle (y principalmente la sección gruesa) reabsorbe activamente un 25% de las cargas filtradas de sodio, cloruro y potasio pero es impermeable al agua. Por tanto, el líquido tubular se irá diluyendo, permitiendo la posterior concentración o no de la orina en función de las necesidades.

Posteriormente, el resto del filtrado entra en el **túbulo distal**, con unas condiciones muy similares a las del segmento anterior.

- En la última porción del túbulo distal y en el **túbulo colector cortical**, la reabsorción de agua y sales está regulada *hormonalmente*. Las principales hormonas implicadas en este proceso son la angiotensina-aldosterona (para la reabsorción de sodio) y la ADH (para la reabsorción de agua) (ver más adelante).
- Finalmente, el filtrado que queda, alcanza el **túbulo colector medular**. La reabsorción desde este segmento, a pesar de no ser muy elevada, es sumamente importante porque es el último conducto donde pueden producirse ajustes. La reabsorción de agua, nuevamente, requiere de la presencia de ADH. Adicionalmente, este conducto es permeable a la urea, cuya reabsorción ayuda a elevar la osmolaridad en el intersticio renal y contribuye, como se verá, a la capacidad global de los riñones para formar una orina concentrada.

III.2.- REGULACIÓN DE LA OSMOLALIDAD Y DE LA CONCENTRACIÓN EXTRACELULAR DE SODIO:

El hecho de que un soluto llegue o no a concentrarse en el interior tubular depende del grado relativo de reabsorción de ese soluto con respecto a la reabsorción de agua. Si se reabsorbe un porcentaje de agua mayor, la sustancia queda más concentrada. Si se reabsorbe un porcentaje mayor de soluto, esa sustancia estará más diluida. En general, cuando el filtrado glomerular pasa a través de los túbulos renales, se reabsorben más del 99% del agua y la mayoría de solutos (Guyton y Hall, 2001).

Los principales mecanismos que participan en este proceso son:

A.- PRESIÓN ARTERIAL: Pequeños aumentos de la presión arterial elevan la excreción urinaria de sodio y agua (natriuresis y diuresis por presión) al aumentar (ligemente) la tasa de filtración glomerular, disminuir la reabsorción tubular e inhibir la formación de angiotensina (Rose, 1994).

B.- SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO: El mecanismo autonómico de regulación excretora está controlado por mecanismos eferentes del sistema **simpático**. La activación simpática aumenta la reabsorción de sodio y agua al producir constricción de las arteriolas renales, con lo que se reduce la tasa de filtración glomerular.

Los impulsos simpáticos aumentan también la reabsorción de sodio en el túbulo proximal y en la porción gruesa de la rama ascendente del asa de Henle y la liberación de renina y AII, lo que se sobreañade al efecto anterior (DiBona y Kopp, 1997).

C.- CONTROL HORMONAL DE LA REABSORCIÓN TUBULAR: Las hormonas que influyen en la función renal fosforilan proteínas celulares e inducen la síntesis de nuevas proteínas (Breyer y Ando, 1994). Las hormonas no esteroideas, ejercen acciones mediante segundos mensajeros y las esteroideas, adicionalmente, activando la transcripción de ARNm (Bastl y Hayslett, 1992; Berridge, 1993; Funder, 1993; Miller, 1991).

76 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

De forma resumida, las principales hormonas, sus efectos y el lugar de acción se presentan en el siguiente cuadro:

HORMONA	LUGAR DE ACCIÓN	EFECTOS
ALDOSTERONA	Túbulo Colector	Reabsorción de ClNa, H ₂ O y Secreción de potasio
ANGIOTENSINA II	Túbulo proximal, Porción gruesa ascendente del asa de Henle, Túbulo distal	Reabsorción de ClNa, H ₂ O y Secreción de Hidrógeno
PÉPTIDO NATRIURÉTICO ATRIAL	Túbulo distal, Túbulo y Conducto colector	Reduce la reabsorción de ClNa
HORMONA ANTIDIURÉTICA (ADH)	Túbulo distal, Túbulo y Conducto colector	Reabsorción de H ₂ O

1.- Aldosterona: Es secretada por las células de la corteza suprarrenal y aumenta la reabsorción de sodio y la secreción de potasio (Sansom et al, 1987) al estimular la bomba sodio-potasio en los túbulos distal y colector (Garg, et al, 1981; Husted, et al, 1990; Stanton et al, 1987).

La liberación de aldosterona está mediada por el eje HT-Adenohipófisis-Corteza Suprarrenal (CRF-ACTH-Mineralocorticoides) y tiene lugar en situaciones hiponatrémicas (Connell y Fraser, 1991; Merrill et al, 1989; Taylor et al, 1987). Sin embargo, los dos estímulos más importantes para su secreción, son la AII (Aguilera y Catt, 1978) y los aumentos en la concentración plasmática de potasio (Rose, 1994). De hecho, está más implicada en la regulación de la concentración de potasio (Young, 1988) que en la de sodio (que puede mantenerse mientras existan mínimos niveles de aldosterona) (Bastl y Hayslett, 1992; Finn y We, 1963; Funder, 1993; Liddle, 1958; Young, et al 1976).

El péptido natriurético atrial suprime su liberación (Ganguly, 1992; Laragh, 1985).

2.- Angiotensina II: Es la hormona más potente para la retención de sodio, lo cuál conlleva, adicionalmente, la reabsorción de agua. Su liberación es estimulada ante descensos en la presión y volumen sanguíneo (Ichikawa y Harris, 1991) y en condiciones de privación de agua (Harding y cols, 1992) y ejerce esos efectos de tres formas diferentes:

- Estimulando la secreción de aldosterona (Kifor et al, 1991).
- Generando constricción de las arteriolas renales eferentes y favoreciendo la disminución del riego sanguíneo a través de los capilares peritubulares, lo que a su vez, aumenta la reabsorción de sodio y agua (Denton et al, 1992; Yuan et al, 1990).
- Promueve directamente la reabsorción de sodio en los túbulos proximales, asa de Henle y túbulos distales al activar la bomba de sodio-potasio y el intercambio entre sodio e hidrógeno (Cogan, 1990; Ichikawa y Harris, 1991; Hall, 1989).

3.- Péptido Natriurético Atrial (ANP): Incrementa la tasa de filtrado glomerular e inhibe la reabsorción de agua y sodio por parte de los túbulos renales (fundamentalmente por los conductos colectores) aumentando la excreción de orina y ayudando a que se normalice el volumen sanguíneo (Maack, 1985). Adicionalmente, inhibe la secreción de renina y aldosterona durante la expansión de volumen (Cuneo et al, 1987; Laragh, 1985) y reduce la respuesta tubular a la ADH (Ganguly, 1992; Harris et al, 1987; Nonoguchi et al, 1988).

Al administrar una carga de sodio, el volumen extracelular se expande resultando en una respuesta excretora apropiada. Los primeros investigadores sugirieron que este proceso podía depender de un aumento en la tasa de filtración glomerular y/o de una reducción en la secreción de aldosterona. Sin embargo, previniendo los aumentos en la TFG o administrando dosis altas de Aldosterona, no interrumpieron la excreción de esa carga de sodio (ver Rose, 1994; cap. 6). Por tanto, debía estar mediado por otros factores, como el ANP.

78 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

El ANP es liberado por el corazón (DeBold et al, 1981; Goetz, 1988) y por regiones cerebrales (Chrigher et al, 2001; Jacobowitz et al, 1985) en respuesta a la hipervolemia o expansión isotónica de volumen (mediante la inyección de suero fisiológico) (Edwards et al 1988; Garcia et al, 1987; para una revisión ver McCann et al, 2003).

Ejerce tres acciones principales: vasodilatadora (para reducir la presión arterial), diurética y natriurética (para eliminar el exceso de agua y sal). Entre sus mecanismos destacan el aumento de la TFG y la inhibición de la reabsorción tubular de sodio (Gotees, 1988).

Su posible contribución en la regulación día a día de la excreción de sodio es controvertida, ya que las variaciones en los niveles de AII y Aldosterona parecen más importantes para este fin (Cogan, 1990). Así, el bloqueo del ANP no interfiere con la respuesta excretora que se observa al expandir crónicamente el volumen extracelular (Grunwald et al, 1988).

4.- Hormona Antidiurética (ADH): Aumenta la permeabilidad al agua en el túbulo distal, colector y conducto colector y su falta (diabetes insípida) conlleva la excreción de grandes cantidades de orina diluida (Jard, 1998).

La síntesis de hormona antidiurética acontece en el SON y PVT. Algunos gránulos secretores penetran en el tercer ventrículo y en los capilares portales de la eminencia media. Una vez liberada, ejerce sus acciones y es metabolizada rápidamente (su vida media plasmática es de 15 a 20 minutos) en el hígado y riñón.

Existen dos tipos de receptores para la ADH: el receptor V1 se localiza en el útero, intestinos y en la musculatura lisa vascular y media la contracción uterina, la peristalsis intestinal y la vasoconstricción. Los receptores V2 se localizan en el riñón (fundamentalmente en el túbulo distal y en los túbulos colectores) y participan en la reabsorción renal de agua (Jard, 1998).

Como se indicó, la osmolaridad final de la orina se determina en los túbulos colectores de forma dependiente de la ADH: en presencia de ADH, se incrementa la permeabilidad de estos conductos al agua y su reabsorción, y se excreta un volumen

reducido de orina. Esto es así porque, como se indicó previamente, en el segmento ascendente del asa de Henle, el sodio es transportado al intersticio renal, por lo que, al aumentar la permeabilidad al agua en los túbulos colectores por la acción de la ADH, el agua se reabsorbe osmóticamente, con lo que se reduce su excreción. En el caso contrario, si no se produce ADH, la orina excretada está diluida (Rose, 1994).

Cuando la ADH se une a receptores V₂, se inicia una cascada (mediada por el AMPc) que activa determinadas proteínas; resultando en la inserción de canales de agua (acuaporinas) en la membrana tubular (Fushimi et al, 1993; Knepper et al., 1996; Nielsen et al, 1995; Snyder et al, 1992). Estos canales permiten el paso de agua hacia el interior de las células tubulares por gradiente osmótico (Harris et al, 1991). Posteriormente, la membrana (basolateral) en contacto con el intersticio renal, al ser permeable al agua, permite su reabsorción (Strange y Spring, 1987). Cuando cesa la secreción de ADH, estos canales desaparecen de la membrana y se reciclan.

La ausencia de estos canales podría estar relacionada con la Diabetes Insípida renal o nefrogénica, un trastorno caracterizado por la excreción de enormes cantidades de orina diluida (Deen, 1994; King y Agre, 1996). También se han identificado unos canales similares dentro del cerebro (en estructuras Circunventriculares, SON y PVT). A éstos se les ha llamado Aquaporin-4 y se ha sugerido su implicación en el movimiento de agua desde y hacia las células cerebrales, pudiendo ser importantes en el mecanismo osmo-receptivo central. Estos canales cerebrales han sido localizados fundamentalmente en las células gliales (indicando otra posible implicación de este tipo de células en osmorrecepción) (para una revisión ver Wells, 1998).

Por tanto, los estímulos más importantes para la secreción de ADH son la hiperosmolaridad, la hipovolemia y la hipotensión (Baylis, 1987; Robertson, 1987). En seres humanos, el umbral osmótico de liberación de ADH es de unos 280-290 mosmol/Kg: este sistema es tan eficiente que la osmolaridad plasmática no varía más de un 1 o 2%, aunque se den importantes fluctuaciones en la ingesta de agua (Baylis, 1987; Robertson, 1987). El umbral para la sed estaría muy próximo al de la liberación de ADH (Lindheimer et al, 1989; Stricker y Verbalis, 1986; Thompson et al, 1991) aunque como se señaló, ambas respuestas tienen sus diferencias (Stricker y Sved, 2002).

III.3.- LA ADH Y LA EXCRECIÓN DILUIDA O CONCENTRADA DE ORINA:

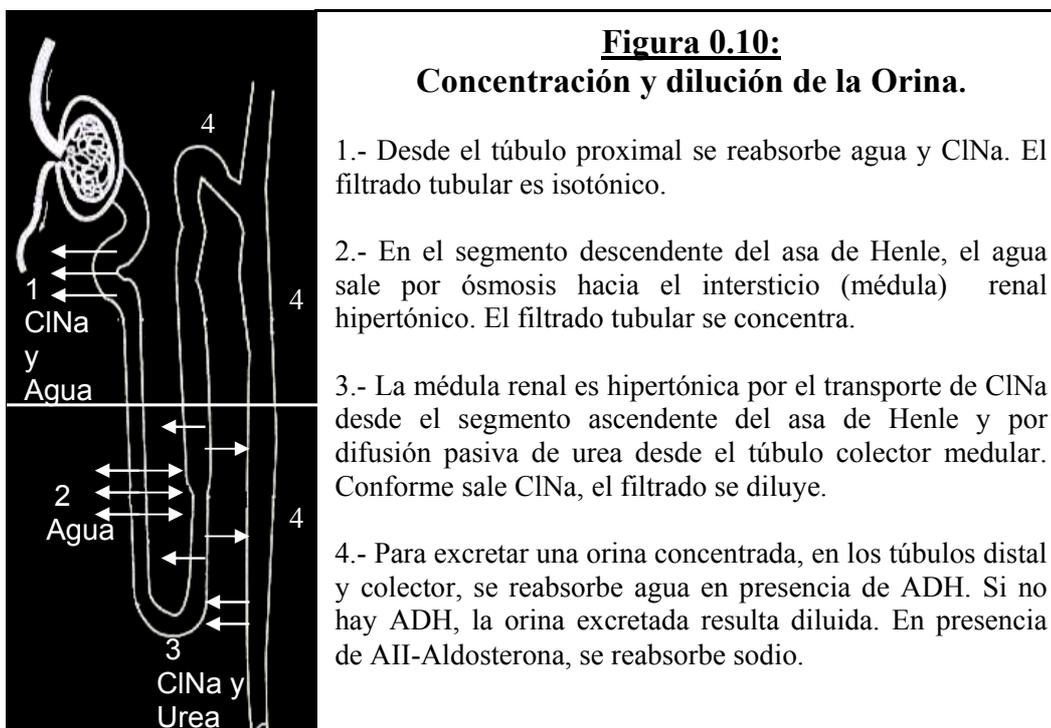
El objetivo de este apartado es, retomando información previa, comprender de forma integrada cómo los riñones forman una orina más diluida o más concentrada. El riñón puede excretar un gran volumen de orina diluida o un pequeño volumen de orina concentrada sin ocasionar cambios importantes en la tasa de excreción de solutos.

Cuando la osmolaridad de los líquidos corporales aumenta, la neurohipófisis libera más ADH, permitiendo la reabsorción de grandes cantidades de agua y reduciendo el volumen excretado. Como el agua del organismo se pierde continuamente a través de los pulmones (por la evaporación en el aire espirado), el aparato digestivo (mediante las heces), la piel (a través de la evaporación y transpiración) y los riñones (mediante la excreción de orina), la capacidad del riñón para formar un pequeño volumen de orina concentrada reduce al mínimo el aporte de líquido necesario para mantener la homeostasis. Esto es especialmente importante cuando la disponibilidad de agua es escasa. En el caso contrario, ante descensos osmolares, disminuye la secreción de ADH y la permeabilidad tubular al agua, con lo que se forman grandes cantidades de orina diluida. Por tanto, además de formar una orina diluida, el riñón puede procesar una orina con una osmolaridad superior a la del plasma (Rose, 1994).

Para excretar un gran volumen de orina **poco concentrada**, los riñones reabsorben continuamente solutos y dejan de reabsorber agua en los segmentos más distales de la nefrona. Ello es posible gracias a la ausencia de ADH. Mientras el líquido avanza por el túbulo proximal, los solutos y agua se reabsorben en la misma proporción. A medida que el filtrado pasa por el asa descendente de Henle, se reabsorbe agua por ósmosis y el líquido tubular alcanza el equilibrio con el intersticial (recuérdese que la osmolaridad de la médula renal es mayor que la del resto del organismo). En la rama ascendente, se reabsorben con avidéz el sodio, potasio y cloruro, pero no el agua. Esta reabsorción activa de sodio provoca la dilución del filtrado en su avance hacia la porción inicial del túbulo distal. Finalmente, en la porción última del túbulo distal y en el túbulo colector, se produce una reabsorción adicional de cloruro sódico. Como no hay apenas ADH, este segmento es también impermeable al agua, y el líquido final estará bastante diluido.

En definitiva, la orina se diluye gracias a la reabsorción de solutos en los componentes más distales del sistema tubular, en tanto que el agua (dada la ausencia de ADH) deja de reabsorberse.

En el polo opuesto, ante déficits de agua en el organismo, el riñón elabora una **orina concentrada** mediante la excreción continua de solutos y la reabsorción de agua, pudiendo producir una concentración urinaria de 1200 a 1400 mOsm/litro (cuatro o cinco veces superior a la osmolaridad plasmática). En este caso, la ADH estimula la reabsorción de agua en los segmentos más distales. Ahora bien, como los iones sodio son los más abundantes (Rolls y Rolls, 1982) y están rodeados electrostáticamente de moléculas de agua (ver Kandel et al, 1997; Rose, 1994), existirá un volumen de orina obligatorio para excretar el exceso de solutos. Esa mínima pérdida de volumen por la orina, junto con las pérdidas de agua por la piel, aparato respiratorio y aparato digestivo, contribuye a la deshidratación celular que se observa cuando no se dispone de agua para beber (Guyton y Hall, 2001).



82 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

En definitiva, para que se reabsorba el agua, deben cumplirse dos requisitos:

- Un incremento en la permeabilidad al agua en los túbulos distales y colectores. Este requisito requiere de la presencia de ADH.
- Una osmolaridad elevada del líquido intersticial medular renal (por el transporte activo de sodio desde el asa de Henle y por difusión pasiva de urea en los túbulos colectores) que proporcione el gradiente osmótico necesario para que tenga lugar la reabsorción de agua en presencia de ADH.

En ausencia de ADH (diabetes insípida central), los segmentos tubulares distales no pueden reabsorber agua, conduciendo a la formación de grandes volúmenes de orina diluida. Para evitar sus consecuencias negativas, el organismo se ve obligado a ingerir mayores cantidades de fluido con el objeto de paliar su pérdida. En otras circunstancias (diabetes insípida nefrogénica), los niveles de ADH son normales o elevados, pero los segmentos tubulares distales no responden adecuadamente a esta hormona. En cualquier caso, se forman grandes volúmenes de orina diluida, lo que tiende a producir deshidratación, a no ser que el ingreso de líquido se incremente en la misma cuantía con la que aumenta el volumen urinario.

Adicionalmente, el riñón puede *excretar una orina muy concentrada pero que contenga poco cloruro sódico* (Rose, 1994). En tales circunstancias, la hiperosmolaridad de la orina se debe a otras sustancias hipertónicas, principalmente urea. Este fenómeno sucede en los casos de deshidratación que se acompañan de ingresos bajos de sodio (que estimulan la liberación de AII y aldosterona y dan lugar a su reabsorción tubular). Es decir, cuando el exceso en la osmolaridad plasmática no es consecuencia de la acumulación de sodio, será excretado en forma de urea. La presencia de ADH promoverá la reabsorción de agua, y la de Aldosterona y Angiotensina II, la reabsorción de sodio.

La importancia de la AII y Aldosterona en la regulación de la excreción renal de sodio, no significa que también desempeñen un papel importante en la regulación de la concentración extracelular de sodio. En efecto, como se indicó previamente, ambas hormonas aumentan la reabsorción de agua junto con la de sodio, con lo que la

concentración relativa se preserva (el aumento de sodio se mantiene en equilibrio con el aumento del volumen plasmático). De hecho, tras una copiosa ingesta de cloruro sódico, los animales mantienen un nivel normal de sodio plasmático aunque se bloquee el sistema Angiotensina II-Aldosterona (Young et al, 1977). Por tanto, los aumentos en la concentración plasmática de sodio se compensarán aumentando la ingesta de agua y la secreción de ADH, que tiende a diluir el líquido extracelular (Young et al, 1977).

Algunas enfermedades renales deterioran el mecanismo de concentración. Por el contrario, las sustancias diuréticas (como la furosemida), inhiben la reabsorción de electrolitos por parte del asa de Henle (natriuresis). Así, la excreción de esos electrolitos conllevará la pérdida urinaria de fluido extracelular.

IV.- OXITOCINA Y REGULACIÓN HIDROMINERAL:

IV.1.- INTRODUCCIÓN : OXITOCINA Y VASOPRESINA.

La Oxitocina (OX) es una neurohormona¹⁸ que accede al sistema circulatorio a través de los capilares neurohipofisarios. En el lóbulo posterior de la hipófisis (neurohipófisis) también se libera la Hormona Antidiurética o Vasopresina (ADH), referida en apartados anteriores (Binkley, 1995). La descripción de la OX como polipéptido se la debemos a Du Vignaud y asociados (Du Vignaud et al, 1953 y 1954).

Los primeros estudios observaron que la administración de extractos neurohipofisarios ejercían efectos presores y antidiuréticos, y que estimulaban la eyección mamaria de leche (ver Sawyer, 1993). Los fenómenos presores y antidiuréticos, como se ha visto, estarían mediados por la ADH, mientras que la contracción de las células mamarias durante los periodos de lactancia, dependería de la Oxitocina (ver Crowley y Armstrong, 1992). Posteriormente fueron surgiendo otras implicaciones funcionales para la Oxitocina, aunque todas ellas estaban relacionadas con conductas y procesos sexo-dimórficos, como el parto (estimula las contracciones uterinas) y la conducta maternal (interviniendo en el circuito central) (Barberis et al, 1998; Hansen y Ferreira, 1986; Hertog et al, 2001; Ivell et al, 1997; Kendrick et al, 1987; Luckman y Larsen, 1997; Ludwig, 1998; Neumann et al, 1993; Richard et al, 1991; Rinaman et al, 1995).

¹⁸ El concepto 'neurohormona' hace referencia a aquellas sustancias con acción hormonal, que son sintetizadas por estructuras cerebrales y liberadas en el sistema circulatorio general.

Algunos años después, y siendo común la idea de que la Oxitocina participaría en procesos exclusivamente femeninos, se observó que la concentración plasmática de esta hormona era similar en varones y hembras (Crowley y Armstrong, 1992; Favaretto et al, 1997; Leake et al, 1981; Swaab et al, 1975; van Dyke et al, 1955, citado por Brooks y Pickford, 1958). Con el objeto de dilucidar su posible contribución en el género masculino, surgieron dos campos de investigación claramente diferenciados:

1. El primero de ellos se basaba en la posibilidad de que la Oxitocina interviniera en comportamientos sexuales masculinos. Esta línea prosperó con el descubrimiento de su participación en la recepción de información sensorial genital y en la erección del pene y eyaculación (Arletti et al, 1992; Argiolas y Gessa, 1991; Honda et al, 1999; Richard et al, 1991).

2. La otra línea de investigación se centró en las similitudes entre la Hormona Antidiurética y la Oxitocina. Así:
 - Las dos neurohormonas son nonapéptidos con una estructura química similar (sólo difieren en los aminoácidos 3 y 8) (Barberis et al, 1998; Brownstein, 1983; Brownstein et al, 1980).

 - Ambas hormonas se unen a los mismos receptores con una alta afinidad (Tribollet et al, 1992; Han et al, 1993).

 - Los centros de síntesis son, en ambos casos, los núcleos Supraópticos (SON) y Paraventriculares (PVT) del Hipotálamo. Los axones del conjunto magnocelular de ambos núcleos se dirigen a la neurohipófisis, donde liberan a las dos hormonas (Hayward, 1975). En este sentido, se observó que la estimulación eléctrica de la neurohipófisis elicita respuestas antitrónicas en muchas de las neuronas Supraópticas y Paraventriculares registradas (Cross et al, 1969; Dyball y Koizumi, 1969).

Estas similitudes, sugerían que la Oxitocina podría estar implicada en procesos homeostáticos hidrominerales y/o cardiovasculares. Así, la tasa de disparo de estas neuronas (Cross y Green, 1959) y la concentración plasmática de OX y ADH, aumentaba al administrar sustancias hipertónicas (Dyball, 1968 y 1971;

Balment et al, 1986; Blackburn et al, 1995; Huang et al, 1995 y 1996; Kadekaro et al, 1997) o hipovolémicas (Blackburn et al, 1992). Lo contrario sucedía durante las situaciones hipotónicas (Verbalis y Drutarosky, 1988).

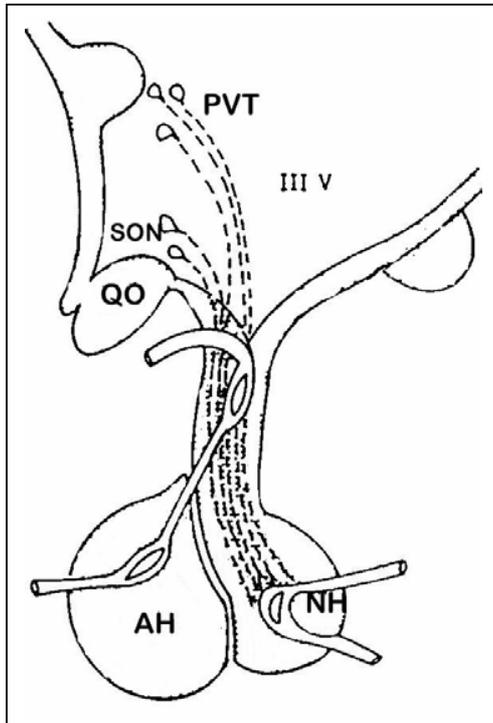


Figura 0.11:

El sistema magnocelular: Centros de síntesis y liberación de las neurohormonas.

Abreviaturas: III V (tercer ventrículo), AH (adenohipófisis), NH (neurohipófisis), PVT (núcleo paraventricular), QO (quiasma óptico), SON (núcleo supraóptico).

Adaptado de: Legros, JJ (1992).

A pesar de ello, existen diferencias entre las dos hormonas neurohipofisarias. En este contexto, la aproximación electrofisiológica predominó en los estudios clásicos para mostrar cómo dentro del SON y PVT se podía distinguir entre varias poblaciones neuronales distintas. Así, por ejemplo, durante el proceso de amamantamiento, un grupo de células desarrollaban ráfagas ('bursts') de actividad que precedían a la eyección de leche, mientras que otras células permanecían en reposo (Poulain et al, 1977). La activación de las células eyectoras era seguida de un incremento en la concentración plasmática de oxitocina. Las células no-eyectoras fueron consideradas vasopresinérgicas y por su parte, respondían a la privación de agua adoptando una tasa fásica de disparo.

Sin embargo, en situaciones de deshidratación, muchas de las células "eyectoras" incrementaron su tasa de disparo. Es decir, las células oxitocinérgicas también parecían responder a la deshidratación, aunque no adquirían el patrón fásico vasopresinérgico (Binkley, 1995; Brimble y Dyball, 1977; Poulain et al, 1977; Warkeley et al, 1978).

Además de estas diferencias electrofisiológicas, más recientemente se ha propuesto que las neuronas oxitocinérgicas, pero no las vasopresinérgicas, promoverían una serie de cambios plásticos (Ludwig, 1998; Theodosis, 2002). Los cambios que se observan durante el parto, lactancia y tras la estimulación osmótica incluyen:

- Una aceleración del proceso de transcripción del ARNm implicado en la síntesis neurohormonal durante los períodos de hiperosmolaridad y enlentecimiento durante los estados hipotónicos (Perlmutter, 1984; Young, 1992).
- Cambios en el tamaño del soma y núcleo de las células neurosecretoras en paralelo con la tonicidad extracelular y con la biosíntesis protéica (Miyata et al, 1994; Zhang et al, 2001).
- Retracción, durante las condiciones hiperosmóticas, de los procesos gliales que rodean a las células neurosecretoras, dando lugar al desarrollo de largas áreas asociadas con remodelamiento sináptico (Chapman et al, 1986; Hatton, 1990 y 1997; Perlmutter et al, 1985; Richard et al, 1991; Theodosis, 2002; Theodosis et al, 1986, 1987, 1993 y 1996).

Este tipo de cambios en la morfología y conectividad neuronal, potenciarían la secreción de las neurohormonas ante desafíos homeostáticos (desequilibrios osmóticos y volémicos) y ante estados fisiológicos modificados (embarazo, parto y lactancia).

La implicación de la oxitocina en esos procesos de plasticidad fue sugerida al observar que también ocurrían cuando se administraba esta hormona intracerebroventricularmente (Theodosis et al, 1986). En efecto, la infusión icv de OX, parece incrementar la tasa de disparo de las neuronas oxitocinérgicas (Richard et al, 1991) y la respuesta del sistema vasopresinérgico (Koehler-Stec, 1998).

La oxitocina intracerebroventricular, podría actuar sobre neuronas supraópticas y paraventriculares, que poseen receptores oxitocinérgicos (Freund-Mercier et al, 1994), para estimular la secreción neurohormonal y la plasticidad nerviosa. Este hecho era coherente con el incremento en la tasa de disparo de las células neurosecretoras que se había observado al administrar oxitocina directamente en el núcleo paraventricular (Cross et al, 1972).

88 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Así, la inducción de hemorragias (Chapman et al, 1983; Hattori et al, 1990; Landgraf et al, 1991; Mason et al, 1986; Moos et al, 1984; Neumann et al, 1993b; Ota et al, 1992; Pow et al, 1989; Theodosis, 1985), la administración intraperitoneal de sustancias hipertónicas (Ludwig et al, 1994; Neumann et al, 1993) y la privación de agua (Ludwig et al, 1996), además de aumentar los niveles plasmáticos de oxitocina, promueven su liberación en el espacio intersticial de los núcleos supraóptico y paraventricular.

Pese a que los axones magnocelulares emiten colaterales intrahipotalámicos, las dendritas parecen la principal fuente de los neuropéptidos liberados intersticialmente (Morris et al, 2000; Pow y Morris, 1989).

En definitiva, las principales funciones de esta liberación dendrítica de OX podrían ser (ver Ludwig, 1995 y 1998):

- Contribuir a los fenómenos de plasticidad morfológica de los núcleos Supraóptico y Paraventricular (Hatton, 1990; Theodosis y Poulain, 1992) con el objeto de incrementar la síntesis y secreción neuropeptídica (Beagley y Hatton, 1992; Perlmutter et al, 1985; Tweedle et al, 1984) durante los estados reproductivos (Landgraf et al, 1992; Neumann et al, 1993b; Russell et al, 2003) y osmóticos (Ludwig et al, 1994; Neumann et al, 1993).
- Sincronizar el disparo neuronal de las células neurosecretoras (Freund-Mercier et al, 1988; Moos et al, 1989; Theodosis y Poulain, 1984) con el objeto de mantener la actividad de estas estructuras durante un tiempo prolongado (Ludwig, 1995). Obviamente, la actividad neural sostenida se torna imprescindible durante períodos hipernatremicos prolongados (Koehler-Stec, 1998; Ludwig, 1998; Ludwig et al, 1996; Walters y Hatton, 1974).

IV.2.- SECRECIÓN DE LAS HORMONAS NEUROHIPOFISARIAS EN FUNCIÓN DEL ESTADO CORPORAL OSMÓTICO Y VOLÉMICO:

La rata tiene un ritmo de actividad nocturno: disponiendo de agua y comida, estos mamíferos consumen casi un 90% del total diario durante las horas de oscuridad. El flujo nocturno de orina también supera al diurno, y contiene un 73% del sodio urinario. El comportamiento ingestivo de estos animales provocará que el pico de osmolaridad plasmática se observe hacia la medianoche (Armstrong, 1980; Windle et al, 1992) .

En condiciones normales, las neurohormonas tienen un ritmo cíclico de liberación que parece depender de la actividad del animal y que podría estar regulado por el Núcleo Supraquiasmático (Lombardelli y Dyball, 1997; Forsling, 1993; Saeb-Parsy et al, 2000; Windle et al, 1992). Durante la noche, la secreción de OX y ADH se suprime (Franci et al, 1989). Este ritmo basal de liberación se altera en función del estado osmótico y volémico del organismo.

En primer lugar, los aumentos de la osmolaridad plasmática (**hiperosmolaridad e hipernatremia**) potencian la liberación de Oxitocina y Vasopresina (Kadekaro et al, 1992 y 1992b). El procedimiento que se sigue habitualmente suele consistir en la administración de sustancias hipertónicas o la privación de agua. De ambas formas, a partir del momento en que se alcanza el valor de unos 140 mEq/l de sodio plasmático (y poco más de 300 mOsm/kg de osmolaridad) la concentración de las dos hormonas en sangre se multiplica (Balment et al, 1980; Dyball, 1968; Giovanelli et al, 1992; Landgraf, 1988; Stricker y Verbalis, 1986; Verbalis et al, 1986; Windle et al, 1993).

Una estructura circunventricular, el Órgano Vasculoso de la Lámina Terminal (ver Figura 0.4), parece implicado en la detección de los aumentos en la osmolaridad-sodio plasmático y la activación de la respuesta neurohormonal (Huang et al, 1995; Fitts et al, 2003; McKinley et al, 1992b).

90 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Sin modificar la osmolaridad, la producción de hemorragias, la inyección de coloides y las dietas deficientes en sodio (**hipovolemia**), también estimulan la liberación neurohormonal (Blackburn et al, 1995; Stricker y Verbalis, 1986 y 1987b; Windle et al, 1993). Por su parte, la administración icv de AII, provoca un aumento en la concentración plasmática de OX y ADH que es abolido mediante el empleo de antagonistas de los receptores AT1 (Chipodera et al, 1998; Lang et al, 1981; Mahon et al, 1995).

Como se indicó, la hipovolemia estimula la ingesta de agua y, demoradamente, el apetito por sodio. Pues bien, la ingesta de agua durante los períodos hipovolémicos, interrumpe la secreción de las dos neurohormonas (Blackburn et al, 1992; Stricker y Verbalis, 1986; Stricker et al, 1987).

Otra situación que parece suprimir la secreción de OX y ADH es la **hiponatremia** (niveles reducidos de sodio corporal) (Verbalis et al, 1986). En esta condición, la inyección de soluciones hipertónicas adelantarán la secreción neurohormonal (que comienza a observarse hacia los 120-125 mEq de sodio por litro de plasma). Sin embargo, una vez que se alcanzan los 145 mEq/l, los niveles plasmáticos de OX y ADH siguen su patrón habitual (Verbalis y Dohanics, 1991).

En resumen, la secreción neurohipofisaria se activa cuando los niveles osmolares absolutos alcanzan un determinado umbral que es reducido por hiponatremia. En el rango normal de estimulación (a partir de 140 mEq/l), la cantidad de hormona en sangre aumenta progresivamente. Ahora bien, mientras que para la vasopresina ese incremento es lineal, el aumento de la concentración plasmática de Oxitocina sigue una tendencia exponencial (Stricker y Verbalis, 1986). De esta forma, los niveles de Oxitocina resultan normalmente superiores a los de vasopresina (Cheng y North, 1986; Kadekaro et al, 1992 y 1992b; Morris et al., 1984; Xiong y Hatton, 1996).

Finalmente, el empleo concurrente de varios estímulos hipertónicos (Kadekaro et al, 1995), o de ClNa y un coloide (Stricker y Verbalis, 1986) potencia la secreción de OX.

IV.3.- OXITOCINA Y NATRIURESIS.

Todos estos estudios venían a sugerir que la Oxitocina, al igual que la Vasopresina, podría participar en procesos hidrominerales y/o cardiovasculares. Con respecto a los primeros (ver Gutkowska et al, 2000 para los cardiovasculares), uno de los datos más documentados, la relacionan con la excreción de los excedentes de sodio. Así, por ejemplo, la inyección de soluciones hipertónicas estimulan la liberación de Oxitocina y la excreción de este ión.

En una situación de deshidratación celular provocada por la ingesta copiosa de alimentos hipertónicos, el organismo retiene la mayor cantidad posible de fluidos (papel dependiente de la hormona antidiurética). Adicionalmente, el reducido volumen de orina excretado, debe contener una gran cantidad de sodio (natriuresis), proceso en el que se sugirió que podría intervenir la oxitocina (Balment et al, 1980 y 1986; Conrad, 1986; Haanwinckel et al, 1995; Huang, 1994; 1995 y 1996; Kadekaro et al, 1992, 1997; Verbalis et al, 1991b; Windle et al, 1995 y 1997). Si esa misma cantidad de ClNa es administrada como solución isotónica, la liberación de oxitocina y excreción de sales se reduce (Dyball, 1968; Huang et al, 1995 y 1996).

Los estudios iniciales llevados a cabo en la Universidad de Manchester por el grupo de Balment, trataron de analizar si la Oxitocina liberada durante la deshidratación celular, podía ejercer efectos natriuréticos. Estos investigadores observaron que la administración de una cantidad de ClNa (que elevaba la osmolaridad plasmática desde menos de 300 mOsm/kg a un rango de 303 a 344 mOsm/kg), aumentaba la concentración plasmática de OX y la excreción de sodio. Ambos efectos parecían relacionados, porque los niveles Oxitocina en sangre correlacionaban positivamente con la osmolaridad plasmática. Sin embargo, las dosis exógenas requeridas para evocar la respuesta excretora, inducían una concentración de oxitocina en plasma que sólo se observaba en situaciones de gran deshidratación celular, cuestionando la posible participación de esta hormona en la regulación diaria del balance de sodio (Balment et al, 1980).

92 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Como la Hormona Antidiurética también estimula la excreción renal de sodio (Huang et al, 1996; Smith y Balment, 1993), este grupo sugirió que la OX y la ADH podrían actuar de forma **sinérgica**. A mediados de los 80, estos investigadores observaron que la administración conjunta de dosis bajas de Oxitocina y Vasopresina (que no ejercían de forma aislada ningún efecto), reinstauraban la excreción de sodio en animales con una importante pérdida renal de fluido y retención de electrolitos provocada por hipofisectomía (Balment et al, 1985) o neurohipofisectomía (Balment et al, 1985b y 1986b). De esta forma, la administración de OX y ADH resulta en un efecto antidiurético similar al de la Vasopresina (aisladamente) y un efecto natriurético sinérgico (en cuánto a magnitud y duración) (Andersen et al, 1992; Windle et al, 1995).

Sin la utilización de ADH, Verbalis, Mangione y Stricker observaron una respuesta natriurética administrando **dosis fisiológicas** de Oxitocina mediante minibombas implantadas subcutáneamente que liberaban la hormona de forma progresiva (Verbalis et al, 1991b). Para ello, los animales empleados (ratas) fueron mantenidos con dietas hiposódicas. Es decir, las dietas hiposódicas reducían la dosis de Oxitocina necesaria para estimular la excreción de sodio. A pesar de este resultado positivo, la capacidad natriurética de la Oxitocina se reducía conforme aumentaba el tiempo de alimentación con estas dietas.

Por tanto, dos variables (la administración de Oxitocina en sujetos mantenidos con dietas hiposódicas y la administración conjunta de Oxitocina y Vasopresina), fomentan la aparición de la respuesta natriurética. La forma de administrar la hormona también parece importante. Así, la administración pulsátil, carece de los efectos natriuréticos que se observan mediante administraciones continuas (Sjöquist et al, 1999).

Receptores implicados en la respuesta natriurética: En un principio, se pensó que la Oxitocina podría ejercer sus efectos natriuréticos a través de los receptores vasopresinérgicos (Han et al, 1993). Sin embargo, los antagonistas de los receptores V1 y V2, no consiguieron bloquear la excreción de sodio (Chan y Hruby, 1988; Verbalis et al, 1991), sugiriendo la existencia de un subtipo de receptor desconocido.

Estos datos llevaron a la detección de lugares de unión para la Oxitocina (en el riñón, útero y glándula mamaria) que no respondían a las sustancias afines a los receptores de vasopresina (Barberis et al, 1998; Stoekel et al, 1987 y 1989; Tribollet et al, 1992). En la actualidad, se conoce la existencia de receptores renales de Oxitocina que se localizan en la mácula densa (Stoekel y Freund-Mercier, 1989) (donde se regula la secreción de renina (Harris, 1996)). Estos receptores están acoplados a proteínas G (Barberis et al, 1998).

La implicación de los receptores de Oxitocina en la respuesta natriurética (inducida por concentraciones fisiológicas de Oxitocina), fue demostrada en 1991 por el grupo de Stricker mediante el empleo de antagonistas específicos (Verbalis et al, 1991). Posteriormente, Huang y colaboradores confirmaron y ampliaron estos resultados (Huang, et al, 1994, 1995 y 1996). De hecho, las acciones natriuréticas de la ADH también parecían depender, aunque no en todos los casos (por ejemplo, Huang et al, 1994, Windle et al, 1997), del receptor de Oxitocina (Smith et al, 1993).

Además del efecto natriurético, la administración de OX estimula la excreción de fluido (Balment et al, 1980; Conrad et al, 1986; Stoekel y Freund-Mercier, 1989; Schmidt et al, 1990; Windle, 1995 y 1997). Sin embargo, el mecanismo responsable de la respuesta diurética, pese a implicar a segundos mensajeros (Favaretto et al, 1997; Soares et al, 1999), parece depender de otros receptores, porque no resulta bloqueada con los antagonistas específicos de la oxitocina (Huang et al, 1994).

94 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Mecanismos responsables del efecto natriurético: Dosis elevadas de Oxitocina (equivalentes a la privación de agua durante unas 39 horas) pueden incrementar la *tasa de filtración glomerular* (TFG). Sin embargo, la natriuresis también se observa en ausencia de cambios en la TFG (Forsling et al, 1994).

Así, la OX afecta, además, a la *manipulación tubular de sodio*, actuando sobre receptores específicos localizados en los túbulos colectores (Chan, 1976; Chan et al, 1968 y 1970; Conrad et al, 1986 Garland et al, 1983; Inoue et al, 1993; Huang et al, 1995).

En los túbulos renales más distales, la excreción de agua y sodio está modulada parcialmente por el sistema calicreina-cinina (Schuster et al, 1984). Ésto parece ser así porque la orina excretada por parte de los sujetos inyectados con oxitocina, contiene cantidades elevadas de calicreina y de cinina y porque el bloqueo de este sistema antes de la administración de la hormona, reduce el aumento en el volumen de orina y en la excreción de Na⁺ y Cl⁻ (Adachi et al, 1995).

IV.4.- OXITOCINA Y COMPORTAMIENTO HIDROMINERAL REGULATORIO.

En el campo de la Homeostasis Hidromineral, se ha sugerido que la OX inhibiría el apetito por sodio. Esta propuesta tiene como punto de partida el efecto natriurético de la hormona, que sería imprescindible en aquellas situaciones donde los niveles elevados de sodio corporal podrían perjudicar el equilibrio osmótico del organismo. De esta forma, la Oxitocina nos ayudaría a protegernos de los aumentos en los niveles de sodio, al potenciar su excreción y al inhibir el apetito por sales minerales (Arletti et al, 1989; Antunes-Rodrigues et al, 1986; Blackburn et al, 1992 y 1995; Brimble et al, 1978; Demontes-Mainard et al, 1986; Ehrlich y Fitts, 1990; Fitts et al, 1985 y 2003; Giovannelli, 1992; Olson et al, 1991 y 1991b; Rinaman et al, 1995; Schulkin, 1991; Stricker, 1981; Stricker et al, 1986; Stricker y Verbalis, 1986, 1987 y 1987b; Windle et al, 1992).

Los avances de la Genética han posibilitado la obtención de especies animales que carecen del gen de la Oxitocina. Los estudios realizados, han observado un mayor consumo de soluciones hipertónicas por parte de estos animales (Amico et al, 2001 y 2003; Puryear et al, 2001), en la línea anteriormente sugerida. Sin embargo, algunos resultados experimentales parecen discrepar de esta propuesta.

A.- ACCIONES PERIFÉRICAS DE LA OXITOCINA:

Los principales estudios que señalan que la OX inhibiría la ingesta de comida-apetito por sodio, han observado que:

- Los niveles plasmáticos de Oxitocina son mínimos por la noche, cuando el comportamiento ingestivo de las ratas suele tener lugar (Windle et al, 1992).
- Ciertas intervenciones que estimulan el apetito por sodio (como la adrenalectomía), cursan con bajos niveles plasmáticos de Oxitocina (Schulkin, 1991; Stricker, 1983; Stricker y Verbalis, 1987).

96 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

- En algunos síndromes hiperfágicos, como el de Prader-Willi, se ha observado una reducción en el número de células paraventriculares del sistema neurohipofisario (Aravich y Sclafani, 1983; Leibowitz et al, 1981; Swaab et al, 1993 y 1995).
- Algunas sustancias que reducen la ingesta de comida (como el cloruro de litio, el sulfato de cobre y la colecistoquinina), estimulan la secreción de oxitocina (Gibbs et al, 1973; McCann et al, 1989; Verbalis et al, 1986b y 1986c).
- La administración de coloides provoca la pérdida de fluido intravascular, generando sed y apetito por sodio. Sin embargo, durante las primeras horas que siguen a su inyección, los animales rechazan las bebidas hipertónicas, ingiriendo únicamente agua. Posteriormente, cuando esa ingesta de agua (o su administración intragástrica) reduce la osmolaridad plasmática, emerge el apetito por sodio. Pues bien, en ese momento de dilución osmótica, se inhibe la secreción neurohipofisaria de oxitocina (Blackburn et al, 1992; Stricker, 1981; Stricker et al, 1986; Stricker y Verbalis, 1987).

En resumen, los niveles plasmáticos de Oxitocina y la ingesta de comida-sales minerales, parecían inversamente relacionados. Estos estudios dieron paso a un conjunto de investigaciones de corte psicofarmacológico que ofrecerían resultados más controvertidos.

En uno de estos experimentos, el grupo de Verbalis inyectó, periférica y conjuntamente, oxitocina y agentes aversivos, sin potenciar el descenso en la ingesta de alimento (Verbalis et al, 1986b y 1986c). Evitando el empleo de sustancias aversivas, administraron subcutáneamente la hormona en ratas hipovolémicas (por coloide y dietas deficientes en sodio), sin reducir el apetito por agua y sodio. Los antagonistas empleados tampoco lograron modificar el comportamiento ingestivo de estos animales (Stricker y Verbalis, 1987b). De hecho, los resultados de este experimento indicaban que la Oxitocina incrementaba el consumo de agua y del fluido hipertónico (Stricker y Verbalis, 1987b).

Tampoco las lesiones AV3V (que dificultan la secreción de oxitocina), parecen interrumpir el cese de la conducta ingestiva evocado al administrar soluciones hipertónicas (Flanagan et al, 1992).

A finales de los 80, Arletti y colaboradores sí consiguieron reducir la ingesta de comida mediante la administración intraperitoneal de oxitocina (Arletti et al, 1989 y 1990; Benelli et al, 1991). Otra variable hidromineral que ha sido inhibida inyectando oxitocina, ha sido la ingesta de agua (en animales ad lib y en varios modelos de sed) (Arletti et al, 1989 y 1990; Benelli et al, 1991). Sin embargo, en todos esos casos, las dosis empleadas fueron muy elevadas (ver también Arletti et al, 1993), por lo que se ha cuestionado su relevancia fisiológica (Olson et al, 1991).

B.- OXITOCINA COMO SUSTANCIA TRANSMISORA EN EL SNC:

La discrepancia generada por estos estudios psicofarmacológicos llevaron a sugerir que posiblemente fuera la Oxitocina central la que inhibiese el apetito por sodio (Blackburn et al, 1992; Brimble et al, 1991; Flanagan et al, 1992b; McCann et al, 1989; Sato et al, 1997; Verbalis et al, 1986b, 1986c y 1991b): la liberación periférica de oxitocina podría mimetizar una liberación central que bloqueara el apetito por sodio (Wolf et al, 1984).

Los núcleos Supraóptico y Paraventricular constituyen las estructuras neurosecretoras. El Núcleo Supraóptico está formado por un conjunto de células de gran tamaño que secretan las dos neurohormonas a la neurohipófisis. Por su parte, el núcleo Paraventricular es menos homogéneo (Hatton et al, 1976) y además del componente magnocelular, cuenta con un grupo parvocelular que proyecta fundamentalmente al Tronco Cerebral y ME (para modular funciones autonómicas) y a la región AV3V (Caldeira y Franci, 2000; Jezova et al, 1993; Larsen y Mikkelsen, 1995; Neumann et al, 2000; Palkovits, 2000; Wotjak et al, 1996).

De esta forma, la Oxitocina podría ser liberada como neurotransmisor por parte de esas fibras. De hecho, se han detectado niveles elevados del ARNm del receptor de oxitocina en AV3V y en el Núcleo Dorsal del Vago (Franchini et al, 1999; Sherman et al, 1988; Verbalis, 1999). Otros lugares donde se han encontrado receptores cerebrales de Oxitocina han sido el Núcleo Olfatorio Anterior, NLST, Núcleo Ventral de la

98 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Amígdala, Subiculum Ventral, HT Ventromedial (HTVM), y también en la Sustancia Gelatinosa y Columna Celular Intermediolateral de la Médula Espinal (Verbalis, 1999).

Adicionalmente, las estructuras neurosecretoras parecen liberar Oxitocina al tercer ventrículo cerebral. De hecho, la concentración de esta hormona en el Fluido Cerebroespinal suele superar a la plasmática (Binkley et al, 1995; Challinor et al, 1992; Dogterom et al, 1977; Jones et al, 1983; Rinaman et al, 1995; Sawchenko et al, 1982; Toth et al, 1999; Zhang et al, 1999).

Los estudios *in vitro* han permitido observar que la Oxitocina afecta la excitabilidad de las neuronas donde se localizan estos receptores (Raggenbass, 2001).

En definitiva, la molécula de Oxitocina es liberada al sistema circulatorio como neurohormona y a diversas estructuras cerebrales como sustancia transmisora. La OX actuando como neurotransmisor influye en numerosos procesos, tanto fisiológicos (regula la liberación de determinadas hormonas, procesos autonómicos, efectos somáticos, etc.), como comportamentales (conducta sexual, maternal, procesos de memoria, refuerzo, etc.) (Caldeira y Franci, 2000; Jezova et al, 1993; Larsen y Mikkelsen, 1995; Neumann et al, 2000; Palkovits, 2000; Pedersen et al, 1982; Richard et al, 1991; Rinaman et al, 1995; Wotjak et al, 1996). Por tanto, esa Oxitocina cerebral podría inhibir el apetito por sodio-ingesta de comida.

Anteriormente se señaló que la inyección de sustancias hipertónicas y en general los tratamientos que inhiben la ingesta de comida estimulaban la liberación neurohipofisaria de OX. Pues bien, estos tratamientos también promueven su liberación central (parvocelular) (Arletti et al, 1989; Antunes-Rodrigues et al, 1986; Blackburn et al, 1992 y 1995; Brimble et al, 1978; Demontes-Mainard et al, 1986; Dreifuss et al, 1988; Ehrlich et al, 1990; Fitts et al, 1985; Giovannelli, 1992; Iványi et al, 1995; Kirchgessner et al, 1988; Olson et al, 1991 y 1991b; Rinaman et al, 1995; Stricker, 1981; Stricker y Verbalis, 1986, 1987 y 1987b). La secreción central y periférica de Oxitocina, por tanto, podría estar regulada de una forma coordinada, ya que ambas respuestas parecen cursar en paralelo.

En relación al comportamiento hidromineral, algunos experimentos lograron suprimir la ingesta de alimento o de sales minerales mediante infusiones intracerebrales de Oxitocina (Arletti et al, 1989 y 1990; Benelli et al, 1991; Blackburn et al, 1992; Olson et al, 1991b; Verbalis et al, 1993), mientras que los antagonistas la incrementaron (Blackburn et al, 1992b).

De las eferencias parvocelulares del núcleo paraventricular, las investigaciones se centraron en aquellas hacia el tronco cerebral, donde la Oxitocina podría modular el output a las vísceras abdominales (Dreifuss et al, 1988; Kirchgessner et al, 1988; ver también Olson et al, 1991). Sin embargo, las soluciones hipertónicas no parecían modificar la cantidad de oxitocina y vasopresina liberadas por estas fibras (Landgraf et al, 1990). Tampoco la sección de estas eferencias alteró el descenso en la ingesta de comida observado al administrar las soluciones hipertónicas (Flanagan et al, 1992b). De hecho, la reducción en la ingesta de comida (tras estimulación osmótica o por colecistoquinina) también se observa en ratas descerebradas, sugiriendo la suficiencia de los circuitos troncoencefálicos (Flynn et al, 1995).

Estos resultados cuestionan los estudios anteriores y se vieron reforzados por un experimento de Björkstrand y Uvnas-Moberg, quienes observaron un incremento en la ingesta de comida 24 horas después de la administración intracerebroventricular de Oxitocina (Björkstrand y Uvnas-Moberg, 1996).

Mediante inactivación de los receptores de Oxitocina, se ha sugerido que el apetito por sodio podría ser regulado por mecanismos duales detectores de sodio y de osmolaridad. La Oxitocina, en este contexto, sería importante en la inhibición del apetito por sodio relacionado con la osmolaridad, pero no en el sistema de detección de los niveles de sodio (Blackburn et al, 1993).

Con otras variables dependientes, también se han observado resultados difícilmente conciliables: en algún experimento se ha inhibido la ingesta de agua en ratas tratadas con Oxitocina (Arletti et al, 1990; Benelli et al, 1991) sin que ésta resultase afectada en otros experimentos (Olson et al, 1991).

C.- CONSIDERACIONES FINALES:

Como se ha descrito en apartados anteriores, la Homeostasis Hidromineral esta doblemente coordinada a partir de mecanismos fisiológicos de índole renal y mecanismos comportamentales (ingesta o rechazo de agua y sales minerales). La Oxitocina parece contribuir, con su efecto natriurético, en los procesos de adaptación a los aumentos en la osmolaridad plasmática. Sin embargo y con independencia del tipo de acción, su implicación en los comportamientos hidrominerales constituye un tema por resolver.

Una característica común de la mayor parte de los experimentos citados, es que registran el comportamiento ingestivo del animal durante un *período de tiempo* relativamente pequeño (no suele ir más allá de unas horas). Los resultados contradictorios observados en los experimentos mencionados podrían ser consecuencia, por tanto, de que la Oxitocina ejerciera efectos diferentes con el paso del tiempo. En esta línea, a finales de los 90, el grupo de Lokrantz observó una reducción inicial y un aumento posterior en la ingesta de comida mediante el empleo de antagonistas de oxitocina (Lokrantz et al, 1997). Algo similar sucedió en el estudio de Björkstrand y Uvnäs-Moberg anteriormente comentado (Björkstrand y Uvnäs-Moberg, 1996).

Otra variable importante podría ser la *presencia-ausencia de alimento*. Así, en situación ad lib, los antagonistas de Oxitocina han aumentado la ingesta de comida (Arletti et al, 1989 y 1990). Sin embargo, con restricción alimenticia, no se ha observado esta respuesta (Olson et al, 1991). Con otras variables dependientes, como la ingesta intraoral de glucosa (Lokrantz et al, 1997), el peso corporal (Sohlstrom et al, 1999) se han observado resultados parecidos: la administración de oxitocina ha influido sobre esas variables en ratas privadas de alimento, pero no en los sujetos que disponían de comida. Así, para Lokrantz, la efectividad de la administración exógena de Oxitocina podría depender del estado fisiológico del organismo en el momento de la infusión o durante el tiempo de evaluación (Lokrantz et al, 1997; pág. 350). De hecho, la presencia-ausencia de alimento (y más concretamente de sodio en la dieta), podría ser una variable relevante no sólo para los efectos ingestivos de la oxitocina, también para su efecto excretor-natriurético. En efecto, la capacidad natriurética de la Oxitocina parece mayor en sujetos mantenidos con dietas hiposódicas

(Verbalis et al, 1991b), que en animales alimentados con la dieta habitual (Balment et al, 1980).

Estas dos variables (intervalo de registro y la presencia-ausencia de comida) podrían por tanto, ayudarnos a esclarecer algunos de los resultados observados al administrar oxitocina. En el apartado dedicado a los estudios experimentales se examinará la conducta ingestiva de ratas a quienes se inyecta Oxitocina subcutáneamente en situaciones de privación de alimento.

V.- HIPÓTESIS DE TRABAJO:

La presente serie experimental intentará examinar algunas de las cuestiones que se han venido describiendo a lo largo de la Introducción Teórica a fin de proporcionar un conocimiento más detallado de la participación de la Oxitocina en la regulación hidromineral.

La Oxitocina y la Vasopresina son hormonas liberadas a la neurohipófisis por las terminales nerviosas del núcleo supraóptico y del componente magnocelular del núcleo paraventricular (Armstrong, 1995; Legros, 1992; Renaud y Bourque, 1991; Rinaman et al, 1995; Saeb-Parsy et al, 2000; Swaab, 1993).

Ambas hormonas ejercen acciones renales, aunque la vasopresina u hormona antidiurética promueve principalmente la retención y concentración de fluido mientras que la oxitocina fomenta la excreción de sodio (natriuresis) (Balment et al, 1980 y 1986; Conrad, 1986; Haanwinckel, 1995; Huang, 1994; 1995 y 1996; Kadekaro et al, 1992, 1997; Verbalis et al, 1991b; Windle et al, 1995 y 1997). Estas respuestas son apropiadas ante aumentos en la osmolaridad plasmática, y van encaminadas al mantenimiento de la proporción líquido/soluto del organismo, al tiempo que reducen el aumento de los niveles de sodio corporal generado en esas situaciones (Balment et al 1980; Brimble y Dyball, 1977; Briski y Brandt, 2000; Cheng y North, 1986; Dogterom, 1977; Huang et al., 1995; Hussy et al., 2000; Kadekaro et al., 1995; Mckinley y Oldfield, 1994; Miyata et al., 2001; Morris et al., 1984; Rinaman et al., 1995; Robertson, 1983; Sandgaard et al., 2000; Stricker et al., 1987b; Stricker y Sved, 2000; Verbalis et al., 1991b; Verbalis y Stricker, 2000; Voisin et al., 1999; Weitzman et al., 1978).

De forma endógena y en paralelo con el incremento en los niveles de osmolaridad plasmática, se observa un aumento en la actividad de los núcleos supraóptico y paraventricular y en la secreción plasmática de ambas neurohormonas. La actividad de estos núcleos se mantiene hasta el momento en que la osmolaridad del organismo retorna a la normalidad (Balment et al 1980; Brimble y Dyball, 1977; Briski y Brandt, 2000; Cheng y North, 1986; Dogterom, 1977; Huang et al., 1995; Hussy et al., 2000; Kadekaro et al., 1995; Mckinley y Oldfield, 1994; Miyata et al., 2001; Morris et al., 1984; Rinaman et al., 1995; Robertson, 1983; Sandgaard et al., 2000; Stricker et al., 1987b; Stricker y Sved, 2000; Verbalis et al., 1991b; Verbalis y Stricker, 2000; Voisin et al., 1999; Weitzman et al., 1978).

En la serie experimental, la conducta de ingesta de agua, constituirá nuestra variable dependiente fundamental. Sin embargo, el estudio del comportamiento hídrico de los animales requiere del estudio simultáneo de la excreción renal (Fitzsimons, 1961 y 1979; Rose, 1994). Por ello, en la mayor parte de los casos, se registra también el volumen de orina excretado.

La participación de la oxitocina en la ingesta de agua (o en su inhibición) ha sido, poco investigada. Se asume que, dada su acción renal, esta hormona podría estar implicada en los circuitos de inhibición del apetito por sodio (los aumentos en la osmolaridad plasmática no sólo estimulan la excreción de soluto, sino también el rechazo de las soluciones salinas), más que en los de ingesta de agua (papel que podría depender más bien de la hormona antidiurética) (Cheng y North, 1986; Kadekaro et al, 1992 y 1992b; Morris et al., 1984; Stricker y Verbalis, 1986; Xiong y Hatton, 1996). Por otra parte, los experimentos que abordan el efecto de la administración de oxitocina sobre la ingesta de agua han encontrado resultados muy dispares y difícilmente conciliables: en algunos casos, la oxitocina ha incrementado la ingesta de agua, en otros no la ha modificado y finalmente, otras investigaciones han observado un descenso en la ingesta de agua tras la administración de la hormona (Arletti et al, 1990 y 1993; Bennelli et al, 1991; Björkstrand y Uvnäs-Moberg, 1996; Franci et al, 1989; Olson, 1991; Stricker y Verbalis, 1987b). Los factores determinantes de tales discrepancias no han sido dilucidados.

104 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Nuestra hipótesis de partida será que los posibles efectos de la Oxitocina sobre el comportamiento hidromineral, podrían relacionarse con su efecto renal: la Oxitocina podría influir sobre el comportamiento ingestivo en las situaciones donde parece estimular la respuesta natriurética. Como la potencia natriurética de la OX parece menor en sujetos con agua y comida disponible ad lib (Balment et al, 1980) que en animales mantenidos con dietas hiposódicas (Verbalis et al, 1991b) se abordará el posible efecto de la hormona sobre la ingesta de agua en situaciones de privación de alimento (o con dietas hiposódicas) y en ratas mantenidas ad lib con la dieta habitual.

En ratas, la privación de comida se asocia con un descenso en la ingesta de agua y con la excreción de una orina poco concentrada (Bauman et al, 1964; Burlet et al, 1992; Cumming y Morrison, 1960; Morrison, 1967 y 1968b; Morrison et al, 1967; Oatley y Tonge, 1969; Walsh, 1980; Weisinger et al, 1985; Wright, 1978). En otras especies, por el contrario, la privación de alimento conlleva un aumento en el consumo de fluido que ha sido relacionado con la cantidad de soluto excretado (Cizek, 1961; Cizek et al, 1966; Holmes y Cizek, 1951; Kutscher y Steilen, 1973). Desde este punto de vista, si la excreción de sodio es aumentada mediante la administración de oxitocina a ratas privadas de alimento, se podría bloquear o invertir el descenso en la ingesta de agua normalmente asociado a esta situación (Capítulo 1).

Por otra parte, si los efectos ingestivos que se observen en animales intactos privados de alimento tratados con oxitocina resultan del efecto natriurético de la hormona, deberían ser bloqueados mediante inyecciones intraperitoneales de cloruro sódico hipertónico. Este aspecto será puesto a prueba en el Capítulo 2 del presente trabajo de investigación.

La segunda serie experimental pretenderá examinar los mecanismos cerebrales que subyacen a los efectos hidrominerales de la Oxitocina. Dentro de este bloque de manipulación cerebral, se estimulará la liberación endógena de oxitocina con el objeto de observar si sus efectos coinciden con los resultados de los estudios psicofarmacológicos. Esa liberación endógena será promovida mediante la estimulación eléctrica del núcleo paraventricular (Capítulo 4).

El último capítulo de esta investigación, pretenderá estudiar la implicación de la OX en un tipo de alteración hidromineral, la Diabetes Insípida (DI). La destrucción de las fibras hipotalámicas magnocelulares que proyectan a la neurohipófisis, genera Diabetes Insípida, un trastorno caracterizado por la pérdida de un gran volumen de orina diluida, por la ingesta paralela de grandes cantidades de líquido y por el aumento en los niveles plasmáticos de sodio (hipernatremia) (Bacic et al., 1999; Balment et al., 1986; Bronstein et al., 2000; Friedman et al., 1958, 1962; Hollinshead, 1964; Huang y Dellman, 1996; Kavelaars et al., 2001; Laszlo y Wied, 1996; Lichardus y Ponec, 1973; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Pivonello et al., 2000; Price y Kallenborn, 2000; Robertson, 1983; Saborio et al., 2000; Seckl y Dunger, 1992; Swann et al., 1939; Titlebaum et al, 1960).

La DI ha sido tradicionalmente relacionada con déficits neurosecretorios: los síntomas descritos serían resultado de la excreción de gran cantidad de fluido (por lo que se haría necesario ingerirlo: polidipsia), poco concentrado (por lo que los niveles de sodio plasmático incrementarían: hipernatremia) (Baisset y Montastruc, 1976; Bourque et al., 1994; Brimble y Dyball, 1977; Brimble et al, 1991; Cunningham y Sawchenko, 1991; Han y Rowland, 1996; Huang y Dellman, 1996; Hussy et al., 2000; Jones y Pickering, 1969; Lightman, 1990; McKinley y Oldfield, 1994; Morris et al., 1984; Rowland, 1998; Samson, 1992; Shojo y Kaneko, 2000; Sladek y Olschowka, 1994; Soares et al., 1999; Van Tol et al., 1987; Xu y Herbert, 1996).

Como la vasopresina es la hormona encargada de la retención y concentración renal de líquido, este trastorno ha sido relacionado con su falta. Los sujetos diabéticos han sido tratados farmacológicamente mediante la administración exógena de análogos de la vasopresina (Bacic et al., 1999; Balment et al., 1986; Fried et al, 1997; Guyton y Hall, 2001; Huang et al., 1996; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Robertson, 1983 y 1995; Seckl et al., 1992; Simmons, 2002; Swaab et al, 1993; Swann et al., 1939; Titlebaum et al., 1960; Verbalis, 2003; Wolf, 1950).

La polidipsia diabética, por tanto, parece secundaria al problema renal de los individuos diabéticos, por lo que la mayor parte de investigaciones han evaluado funciones renales de diversa índole (tasa de filtración glomerular, concentración y sodio en orina, volumen de excreción, etc...), quedando en un segundo plano el

106 INTRODUCCIÓN TEÓRICA

comportamiento ingestivo de los sujetos (Bronstein et al., 2000; Brooks et al., 1958; Heinbecker et al., 1941, 1944; Hollishead, 1964; Laszlo et al., 1966; Lipsett et al., 1956; O'Connor, 1946, 1952; Robertson, 1995).

Pocos trabajos han estudiado la implicación de la oxitocina en el desarrollo de la DI. Algunos estudios clásicos, observaron que la administración de fragmentos neurohipofisarios o de oxitocina, restauraban el funcionamiento renal de animales diabéticos, sin embargo, estos efectos eran de breve duración (Balment et al, 1985 y 1986; Brooks y Pickford, 1958; Brunner et al., 1956; Dicker, 1957; Demunbrun et al., 1954; Hollinshead, 1964; Laszo y Wied, 1966; Lichardus y Ponec, 1973; Sawyer, 1952).

Uno de los objetivos fundamentales de este trabajo de investigación lo constituye el estudio del posible efecto de la administración de oxitocina en animales diabéticos. Considerando el déficit de oxitocina que concurre en este trastorno, la hipótesis de partida será que el tratamiento con oxitocina reducirá la polidipsia diabética.

En definitiva, una de las características del trastorno diabético es la escasa concentración urinaria (Czernichow et al., 1985; Laszlo y Wied, 1966; Lichardus y Ponec, 1973; Robertson, 1983; Seckl et al., 1987, 1992; Titlebaum et al, 1960) y como la oxitocina es una hormona natriurética, este efecto podría reducir la polidipsia diabética. Dado que la mayor parte de los estudios relacionados registran las variables dependientes durante un periodo de tiempo bastante limitado, un objetivo adicional será analizar la ingesta de agua de los animales diabéticos a más largo plazo, y tratar de descubrir si nuestros efectos son transitorios o permanentes (Capítulo 5).

Con todo ello, pretendemos llevar a cabo una serie de estudios que, continuando con líneas de investigación desarrolladas en nuestro laboratorio, permitan arrojar nuevos resultados que contribuyan al esclarecimiento de los mecanismos anatomofisiológicos implicados en los procesos regulatorios de carácter homeostático. La serie experimental que se presenta a continuación, comienza con los estudios realizados en animales intactos y finaliza con las investigaciones en animales diabéticos por lesión electrolítica de la Eminencia Media (siguiendo el modelo de Rolls de 1970).

PRIMERA SERIE

EXPERIMENTAL:

**ADMINISTRACIÓN SISTÉMICA DE
OXITOCINA Y
REGULACIÓN HIDROMINERAL
EN RATAS MACHO**

CAPÍTULO 1: EFECTOS

HIDROMINERALES DE LA

ADMINISTRACIÓN DE OXITOCINA Y

DE LA PRIVACIÓN DE ALIMENTO

INTRODUCCIÓN: PRIVACIÓN DE ALIMENTO Y REGULACIÓN HIDROMINERAL

Como se ha indicado en la Introducción Teórica, la homeostasis hidromineral depende de la ingesta y excreción del agua y de las sales minerales. En la rata, estos comportamientos (ingestivo y excretor) tienen lugar fundamentalmente durante el período de oscuridad (Armstrong, 1980; Franci et al, 1989; Rolls y Rolls, 1982), cuando estos animales se muestran más activos.

En condiciones ad libitum, la cantidad de fluido y alimento consumido, el volumen de orina excretado y su concentración, se encuentran relacionados linealmente (Morrison et al, 1967; Windle et al, 1992). Sin embargo, en situaciones de privación, los animales modifican su conducta ingestiva y excretora.

Con respecto al **comportamiento ingestivo** y durante los períodos de sed osmótica o sed volémica, los animales suelen reducir el consumo de alimento (Bolles, 1961; Deaux y Kakolewski, 1971; Gutman y Krausz, 1969; Kiss et al, 1994). En ausencia de comida, en cambio, el consumo de agua de la rata podría oscilar entre un 25% (Milgram et al, 1974) y un 120% (Morrison et al, 1967) de su ingesta ad lib; aunque el resultado más comúnmente documentado señala que la privación de alimento reduce el consumo de fluido en un 40-50% (Bolles, 1961; Cizek y Nocenti, 1965; Gutman y Krausz, 1969; Kiss et al, 1994; Kutscher, 1972; Verplanck y Hayes, 1953) (para una estudio realizado con diversas cepas de ratas, ver Walsh, 1980).

Esta interacción entre nutrición y regulación hídrica es el resultado de la necesidad del animal por mantener una osmolaridad constante en el fluido extracelular: al ser privados de alimento, la osmolaridad disminuiría y, por ello, el animal evita el consumo de grandes cantidades de agua. De forma análoga, la reducida ingesta de comida que se observa cuando no se dispone de líquido para tomar, protege frente a los aumentos en la osmolaridad extracelular (Adolph, 1947; Bolles, 1961; Burlet et al, 1992; Cizek y Nocenti, 1965; Finger y Reid, 1952; Gutman y Krausz, 1969; Kadekaro et al, 1992; Kiss et al, 1994; Kutscher, 1969 y 1972; Verplanck y Hayes, 1953).

En resumen y como regla general, la privación de alimento tiende a reducir el consumo de fluido (ver Walsh, 1980). Sin embargo, los cambios internos asociados con la privación son complejos (Toates, 1979) y en determinadas situaciones, la ausencia de alimento puede facilitar la ingesta de agua. En relación con esta temática, se han obtenido resultados como los siguientes:

- Ofreciendo simultáneamente agua y ClNa al 1%, los animales mantenidos ad lib, muestran preferencia por la solución con ClNa, mientras que los animales privados de comida suelen incrementar el consumo del fluido isotónico, pero sin modificar la ingesta de agua. De esta forma, la ingesta total de líquido durante la restricción de alimento, podría superar el consumo que se observa en situación ad lib (Kaunitz et al, 1960).

- La administración de soluciones hipertónicas en ratas privadas de alimento, estimula la ingesta de una cantidad de agua igual o superior a la que se obtiene en ratas mantenidas ad lib, un fenómeno que podría depender de la excreción de una orina diluida durante la privación de comida (Oatley y Tonge, 1969).
- Si, los animales han de esforzarse para obtener agua durante el período de privación de alimento (p.ej. presionando una palanca), su ingesta de fluido disminuye (Morrison, 1968). Es decir, la cantidad de agua que se ingiere, no obedece únicamente a la privación de comida.
- La polidipsia “inducida por programa”¹ se caracteriza por una mayor ingesta de agua que la que se observa en animales mantenidos ad lib.
- En un interesante estudio realizado a finales de los años 60, Joseph Mendelson, implantó electrodos en el “centro de la sed” del HT Lateral de un grupo de ratas y manipuló la presencia-ausencia de comida. Pues bien, durante los días de privación de alimento, se podía reducir la intensidad de corriente mínima necesaria para estimular la ingesta de agua (Mendelson, 1970). Es decir, la privación de alimento facilitaba la emergencia de la conducta ingestiva por estimulación eléctrica.

Junto con los anteriores, estos estudios revisados (y no siempre con explicaciones conocidas), sugieren que la privación de alimento podría generar, según los casos, tanto incrementos como descensos en la ingesta de agua (Bolles, 1961; Burlet et al, 1992; Cizek y Nocenti, 1965; Kutscher, 1969; O’Shea, 1993 y 1996; Milgram et al, 1974; Walsh, 1980; Wishart y Mogenson, 1970).

¹ En la polidipsia “inducida por programa”, se reduce la disponibilidad de alimento al sujeto que es mantenido con agua ad lib. En una caja de Skinner, estos animales pueden obtener comida presionando una palanca. Pues bien, entre los períodos de presión, consumen cantidades elevadas de agua (Falk, 1961).

Además de modificar el comportamiento ingestivo, la privación de alimento influye sobre la **excreción renal** de agua y sales minerales: en efecto, las ratas privadas de comida, excretan un volumen de orina mayor y menos concentrado que el de animales ad lib (Bauman et al, 1964; Burlet et al, 1992; Cumming y Morrison, 1960; Kaunitz et al, 1960; Morrison, 1967 y 1968b; Morrison et al, 1967; Oatley y Tonge, 1969; Weisinger et al, 1985).

En otras palabras, la privación de alimento suele generar efectos variables sobre la ingesta de agua y más uniformes, sin embargo, en el caso del volumen y la concentración urinaria. Más representativa y también más estable que los valores absolutos característicos del comportamiento ingestivo y excretor inducido por privación, es la función “Agua *menos* Orina” ó “Agua/Orina”; en ella quedaría reflejado la ganancia o pérdida de **volumen hídrico corporal** de los sujetos en un momento dado. Sin embargo, y a pesar de su relevancia, esta variable no ha sido objeto de una utilización sistemática.

En este sentido, uno de los escasos artículos que han empleado esta variable “agua *menos* orina”, fue publicado por Edward Stricker en 1981. Concretamente en sujetos hipovolémicos (tras la administración de un coloide), Stricker identificó la existencia de un comportamiento ingestivo tri-fásico: durante la primera fase, los animales ingerían únicamente agua, mostrando así un estado hídrico (“agua *menos* orina”) positivo. Durante la segunda fase, los animales consumen CINA además de agua, con lo que tanto el volumen hídrico (“agua *menos* orina”) como el salino (“ingesta de sales *menos* excreción de sales”), tienen valores positivos. Finalmente, durante la tercera fase, el volumen ingerido de CINA supera al hídrico (Stricker, 1981). El análisis conjunto de estas variables, permitió a Stricker descubrir que el apetito por sodio tras la administración de un coloide, aparece de forma demorada.

EXPERIMENTO 1: EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE OXITOCINA SOBRE LA INGESTA DE AGUA, LA EXCRECIÓN DE ORINA Y SOBRE EL VOLUMEN HÍDRICO CORPORAL DE ANIMALES PRIVADOS DE ALIMENTO.

El comportamiento ingestivo de carácter hídrico, puede verse modificado en función de la disponibilidad de comida. En *ratas*, la privación de alimento ha sido relacionada con una pérdida gradual de agua y de sales minerales (Fitzsimons, 1979; McCance, 1936; Rolls y Rolls, 1982) y por tanto, del volumen extracelular (ver Wright, 1978). Generalmente, y a pesar de ello, esta especie animal reduce el consumo de líquidos durante la privación de alimento (Bolles, 1961; Burlet et al, 1992; Cizek y Nocenti, 1965; Gutman y Krausz, 1969; Huang et al, 1996; Kiss et al, 1994; Kutscher, 1969 y 1972; O'Shea, 1993 y 1996; Milgram et al, 1974; Verplanck y Hayes, 1953; Walsh, 1980; Wishart y Mogenson, 1970; Weisinger et al, 1985). Para Bolles, este agua no ingerida durante los periodos de privación, correspondería a la que los animales mantenidos ad lib utilizan para digerir el alimento seco de laboratorio y así, "el animal privado de alimento habría sido liberado de una de sus necesidades de agua" (Bolles, 1961; pág. 583).

Además de reducir la ingesta de fluido, la privación de alimento suele aumentar el volumen de excreción al tiempo que disminuye la concentración urinaria (Bauman et al, 1964; Burlet et al, 1992; Cumming y Morrison, 1960; Morrison, 1967 y 1968b; Morrison et al, 1967; Oatley y Tonge, 1969). Para Morrison, la excreción de orina diluida indicaría que, con independencia de la cantidad de agua ingerida, los animales beberían mayor cantidad de la necesaria estando privados de alimento (Morrison, et al 1967). Estos efectos de la privación de comida, señala Morrison, serían una consecuencia de una función córtico-adrenal incrementada (Kaunitz, 1960) (y de la retención renal de sodio inducida por acción de los mineralocorticoides), y así, la adrenalectomización de los animales reduce la excreción de orina y la ingesta de agua a la vez que aumenta la concentración urinaria en situación de privación (Morrison, 1967). Adicionalmente, los efectos renales observados cuando no se dispone de comida, también podrían depender de la ausencia de Hormona

Antidiurética (ADH), puesto que la administración de Pitressin Tannato (un análogo de la ADH), reduce el volumen de excreción y aumenta la concentración urinaria de los sujetos privados de alimento (Morrison et al, 1967).

Así pues, los mecanismos específicos implicados en la regulación del comportamiento hidromineral constituyen un tema por dilucidar. En este sentido, podría hipotetizarse que el efecto hidromineral observado dependería de la mera privación o, alternativamente, de otros factores, entre ellos la presencia o no de sodio en la dieta y consecuentemente, a nivel corporal; unos niveles que podrían ser modificados mediante la administración de Oxitocina.

Por su carácter de hormona natiurética (Balment et al, 1980 y 1986; Conrad, 1986; Haanwinckel, 1995; Huang, 1994; 1995 y 1996; Kadekaro et al, 1992, 1997; Verbalis et al, 1991b; Windle et al, 1995 y 1997), la Oxitocina podría ser relevante a la hora de determinar la influencia del sodio corporal en la regulación hidromineral inducida por privación. Sin embargo, los experimentos que han examinado el efecto de la oxitocina sobre el comportamiento hidromineral, han obtenido resultados difícilmente compatibles. Así, administrando oxitocina subcutáneamente, Stricker y Verbalis (1987b) observaron un aumento en la ingesta de agua y ClNa, una conducta que habitualmente se manifiesta tras la inyección de coloides. Algún tiempo después y mediante inmunoneutralización, Franci y colaboradores sugirieron que la Oxitocina ejercería una acción facilitadora sobre la ingesta de agua cuando los déficits volémicos y osmóticos están presentes conjuntamente, como ocurre concretamente durante los períodos de privación de agua (Franci et al, 1989). Sin embargo, Arletti et al. (1990) y Benelli et al. (1991) observaron una reducción en la ingesta de agua en sujetos mantenidos ad lib y en animales previamente privados de agua, tras la administración de esta hormona. Finalmente, Olson (1991) y Uvnäs-Moberg (1996) (citado por Björkstrand y Uvnäs-Moberg (1996)), no observaron ningún efecto, tras la administración de la hormona, sobre la ingesta de agua.

En este último sentido, se puede constatar que mientras Björkstrand y Olson, por ejemplo, mantuvieron a sus animales ad lib con la dieta habitual (con ClNa), la comida empleada en el estudio de Stricker y Verbalis tenía un contenido reducido en sodio.

Por todo ello, el presente experimento pretende comprobar concretamente si los efectos hidrominerales de la privación de alimento pueden verse modificados mediante la manipulación de los niveles corporales de sodio a través del empleo de Oxitocina tanto en animales privados como en animales con la dieta habitual disponible.

OBJETIVOS:

- Analizar el comportamiento de ingesta y excreción de fluido y el volumen hídrico corporal de los animales (“Agua *menos* Orina”) en situación de privación de alimento.
- Analizar el comportamiento de ingesta y el de excreción de fluido, así como el volumen hídrico corporal (“Agua *menos* Orina”), después de la administración de Oxitocina en condiciones de disponibilidad o no-disponibilidad de alimento.

MÉTODO:**SUJETOS Y GRUPOS:**

Se emplearon 32 ratas macho de la raza Wistar (suministradas por el estabulario de la Universidad de Granada), cuyos pesos (al inicio del experimento) oscilaban entre 350 y 380 gramos.

Los animales fueron alojados en jaulas individuales. La temperatura de la sala experimental se mantuvo entre 21 y 23 grados centígrados y el ciclo de luz-oscuridad se estableció en períodos alternos de 12 horas (la luz se encendía a las 8:00 AM y se apagaba a las 20:00 horas PM).

Tras varios días de adaptación al laboratorio, se asigna aleatoriamente a cada sujeto a uno de cuatro grupos y se aloja en jaulas metabólicas (Tecniplast 3701MO-000) (ver Fotografía 1.1) con agua y comida (pienso compuesto Sandermus para animales de laboratorio, Unión Alimentaria Sanders, Granada) (Línea Base).

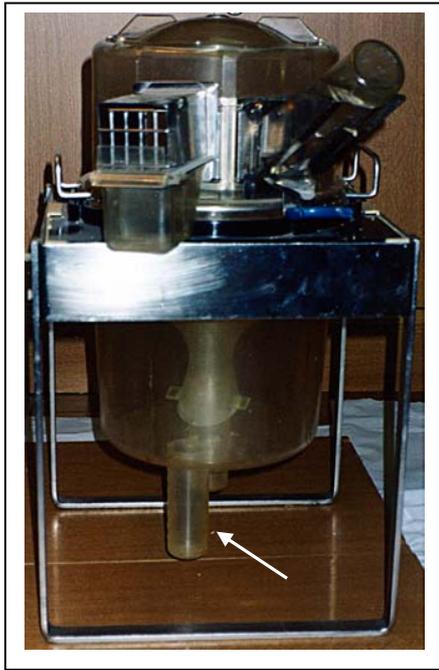
Veinticuatro horas después, se anota la ingesta basal de agua y comida y el volumen de orina excretado y se procede a la administración de Oxitocina a la mitad de los sujetos (n=16) y de Suero Fisiológico (SF) a la otra mitad (n=16). A su vez, la mitad de los sujetos de Oxitocina y de Suero Fisiológico (n=8), son privados de comida durante las 48 horas siguientes, mientras que la otra mitad de cada grupo se mantiene con comida ad lib.

De esta forma, como se muestra en el **Cuadro 1.1**, se utilizan 4 grupos de animales:

VARIABLES INDEPENDIENTES	COMIDA	
	SIN COMIDA (S/C)	CON COMIDA (C/C)
SUSTANCIA		
OXITOCINA (OX)	OX S/C (n=8)	OX C/C (n=8)
SUERO FISIOLÓGICO (SF)	SF S/C (n=8)	SF C/C (n=8)

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL:

El experimento tuvo una duración de 72 horas (3 días). Durante las primeras 24 horas, se aloja a los animales en jaulas metabólicas (Fotografía 1.1) con agua y comida ad lib (**Período de Línea Base**) con el propósito de conocer la ingesta y excreción basal.



Fotografía 1.1
JAULA de METABOLISMO:

La base de la jaula está formada por un suelo enrejado por el que pasa la orina excretada para ser depositada en el recipiente ubicado en su base (flecha blanca).

Transcurridas las 24 horas basales, se retira la comida (durante las 48 horas siguientes) a la mitad de los sujetos (16 animales). La otra mitad de animales se mantiene con agua y comida durante la totalidad del experimento. A su vez, la mitad de cada uno de esos grupos (con y sin comida), recibe s.c. un total de 1 ml de Oxitocina (Oxitocina ®, 10 U.I./ml. Laboratorios Iven, Madrid: grupos OX S/C y OX C/C); ó 1 ml de Suero Fisiológico (Braun ®: grupos SF S/C y SF C/C).

Cada sujeto recibe la cantidad mencionada (1 ml) en dos inyecciones, suministradas a las 8:30 y 14:30 horas. El volumen que se inyecta en cada ocasión es de 0.5 ml, y se administra en la línea media de la región dorsal del animal, unos 5 centímetros rostral al lugar de inicio de la cola. Antes de recibir la segunda inyección, se anota la cantidad de agua ingerida y el volumen de orina excretado durante las 6 horas previas.

Aunque el volumen de fluido inyectado es muy reducido (1 ml), la administración de Suero Fisiológico isotónico mantendría estable la osmolaridad plasmática en los sujetos del grupo control. Por otra parte, se opta por la vía subcutánea por sus propiedades farmacocinéticas, es decir, por facilitar un acceso más lento y gradual de la sustancia al sistema circulatorio.

Durante las 48 horas siguientes, se registra diariamente (a las 8:30 horas) la ingesta de agua y el volumen de orina, y, para los grupos sin privar, la ingesta de comida.

El *Cuadro 1.2* presenta, de forma abreviada, el procedimiento seguido por cada grupo de animales y las variables dependientes registradas:

DIA 1		6 HORAS Y DIAS 2 Y 3			
LINEA BASE	V. Dep.	GRUPOS	SUSTANCIA INYECTADA	COMIDA	V. Dep.
Ad-Lib	Agua	OX S/C	Oxitocina	NO	Agua
	Volumen de orina	SF S/C	Suero Fisiológico		Orina
		Comida	OX C/C	Oxitocina	SI
	SF C/C		Suero Fisiológico	Orina Comida	

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Para el análisis de los datos, se ha usado el módulo Anova/Manova del paquete informático 'Statistica', con un diseño mixto 2x2(x3) para las siguientes variables:

- * Variables manipuladas entre-grupos:
 - . Comida (privado - comida ad lib).
 - . Sustancia inyectada (Oxitocina - Suero Fisiológico).
- * Medidas Repetidas: Días: Día 1, 2 y 3.
- * Variables dependientes:
 - . Ingesta de agua.
 - . Volumen de orina.
 - . Ingesta de agua menos volumen de orina ("Agua *menos* Orina").
 - . Ingesta de comida (para los grupos sin privar).

Dado que se registran variables dependientes relacionadas, los análisis estadísticos han recomendado los Diseños Multivariados de Varianza (Manova); éstos son apropiados para comprobar si las variables independientes producen efectos diferenciales sobre dos o más variables dependientes o medidas repetidas y particularmente, si las variables dependientes están relacionadas (Catena et al, 2003). La significación estadística mediante este diseño, denota la presencia de efectos significativos sobre el *conjunto* de variables dependientes, posibilitando la obtención de efectos que podrían no alcanzar la significación estadística mediante los Análisis Univariados tradicionales.

Las variables "ingesta de agua" y "volumen de orina" son analizadas mediante tres Manovas. El primero de ellos, para el día de línea base (con el objeto de descartar diferencias previas entre los 2 x 2 grupos de animales); el segundo para las 6 horas iniciales (antes de administrar la segunda dosis) y el tercero para los tres días. Adicionalmente se realizan dos Análisis de Varianza (Anova), sobre el volumen hídrico corporal ("Agua *menos* Orina"): uno con los datos de las 6 horas iniciales y el segundo con los datos de los tres días. En ambos casos (Manova y Anova), se analizan los efectos significativos mediante Comparaciones Planeadas.

RESULTADOS:

En la Tabla 1.0 (incluida en el *Anexo*) se muestra el valor medio y la desviación típica del consumo de agua y comida y del volumen de orina excretado por los cuatro grupos de sujetos durante los tres días.

ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO EN CONDICIONES BASALES

Durante las 24 horas de línea base, no se introdujo ninguna manipulación experimental: todos los animales disponían de agua y comida ad lib. Sin embargo, el contexto (la jaula metabólica), era novedoso. El Manova revela que no existen diferencias significativas entre los cuatro grupos de sujetos en las variables dependientes estudiadas ($Rao(9,63) = 0.74; p < 0.671$) (ver **Figura 1.1**).

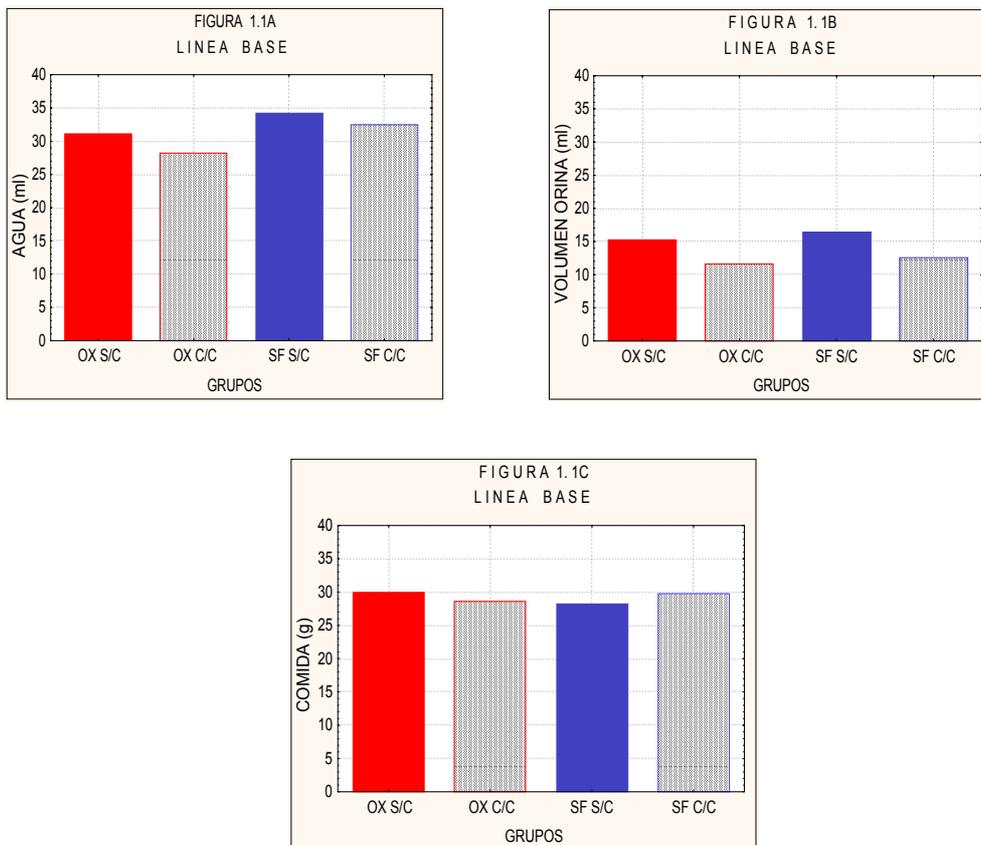


Figura 1.1: *Ingesta de agua y comida y volumen de orina excretado por los cuatro grupos de animales durante el día de línea base.*

ANÁLISIS DE LAS 6 HORAS INICIALES

*** INGESTA DE AGUA Y VOLUMEN DE ORINA:**

Seis horas después de la primera inyección (y antes de administrar la segunda dosis), se observa un efecto significativo de la privación de alimento sobre las dos variables dependientes consideradas de forma conjunta (Rao (2,27)= 3.7; p< 0.04)(Tabla 1.1; Fig. 1.2).

EFEECTO	g.l efecto	g.l. error	Rao`R	p
Comida	2	27	3.679999	.038609
Sustancia	2	27	.460942	.635561
Interacción	2	27	2.031827	.150661

Tabla 1.1: MANOVA sobre la ingesta de agua y el volumen de orina después de 6 horas.

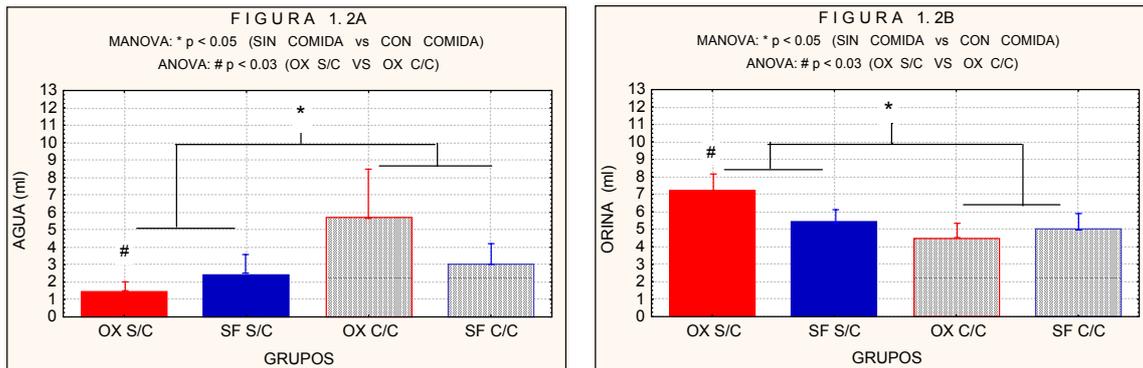


Figura 1.2: Ingesta de agua y volumen de excreción seis horas después del inicio de la privación y de la primera inyección subcutánea.

Sin embargo, al comparar los grupos privados con los no privados, el análisis no alcanza la significación estadística (F(1,28)= 3.396; p< 0.076 para el agua y F(1,28)= 3.971; p< 0.057 para el volumen de excreción). Entre pares de grupos, sólo se observan diferencias significativas cuando se comparan los dos grupos de *Oxitocina*: el grupo sin comida consume menos agua (F(1,28)= 5.24; p< 0.03) aunque excreta un volumen de orina superior (F(1,28)= 5.95; p<0.022). Entre los dos grupos Control, por el contrario, no se observan diferencias significativas (F(1,28)= 0.1; p< 0.76 para el agua y F(1,28)= 0.14; p< 0.71 para la excreción de orina) (ver **Figura 1.2**).

* VOLUMEN HÍDRICO CORPORAL (“AGUA *menos* ORINA”):

El ANOVA sobre la variable dependiente “Agua *menos* Orina” resulta significativo para la variable independiente “Comida” ($F(1,28)= 7.1$; $p < 0.02$) (Tabla 1.2 y Figura 1.3):

EFEECTO	gl efecto	gl error	F	p
Comida	1	28	7,069682	,012816
Sustancia	1	28	,018392	,893095
Interacción	1	28	3,939903	,057029

Tabla 1.2: Manova sobre el volumen hídrico después de 6 horas.

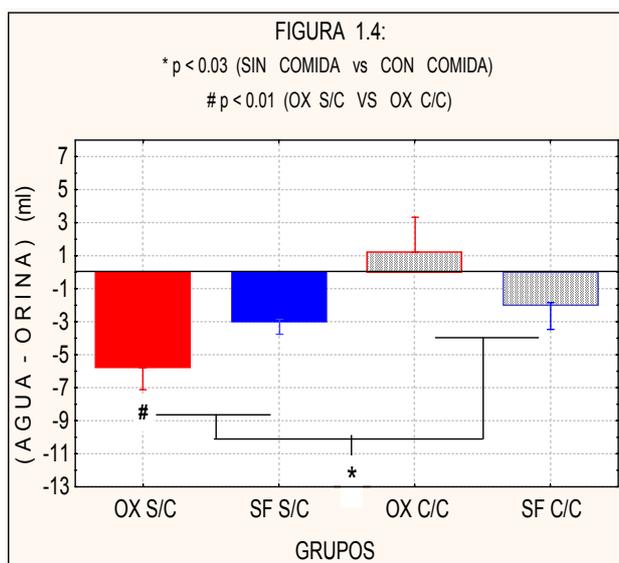


Figura 1.3: “Agua – Orina” seis horas después del inicio de la privación y de la primera inyección subcutánea.

Los grupos privados obtienen un valor hídrico corporal significativamente menor que los grupos no privados ($F(1,28)= 7.07$; $p < 0.02$). Entre pares de grupos, la única diferencia significativa se observa al comparar los grupos de *Oxitocina* ($F(1,28)= 10.8$; $p < 0.01$): el grupo privado muestra un volumen hídrico corporal (“Agua *menos* Orina”) significativamente inferior que el grupo con comida. Entre los dos grupos Control, por el contrario, no se observan diferencias significativas ($F(1,28)= 0.2$; $p < 0.64$) (Figura 1.3).

ANÁLISIS GLOBAL: DIAS 1, 2 Y 3

*** INGESTA DE AGUA Y VOLUMEN DE ORINA:**

En la columna de la izquierda de la **Tabla 1.3**, se muestran las “Variables Independientes” (Variable 1: Comida; Variable 2: Sustancia; Variable 3: Días). Los números 12; 13; 23 y 123 denotan la interacción entre las variables independientes correspondientes.

VARIABLES INDEPPENDIENTES	W. Lambda	Rao's R	gl efecto	gl error	p
1 Comida	,221699	47,39331	2	27	,000000
2 Sustancia	,834900	2,66960	2	27	,087511
3 Días	,258341	17,94279	4	25	,000000
12	,801346	3,34666	2	27	,050300
13	,173625	29,74704	4	25	,000000
23	,516360	5,85395	4	25	,001819
123	,499507	6,26233	4	25	,001237

Tabla 1.3: Manova sobre la ingesta de agua y el volumen de excreción durante los 3 días.

Como puede observarse, la ingesta de agua y el volumen de orina excretado, está modulado por la interacción entre las tres variables independientes: la interacción 123 (Interacción Comida x Sustancia x Días) es significativa (Rao (4,25)= 6.26; $p < 0.002$).

Para analizar el efecto de la privación de alimento y el de la Oxitocina, sobre la ingesta de agua y sobre el volumen de orina excretado, se comparan los resultados obtenidos durante *el día de línea base frente a los días 2 y 3*. La **Figura 1.4** muestra la ingesta de agua y el volumen de orina excretado por los 4 grupos de sujetos en función de la disponibilidad/no-disponibilidad de comida.

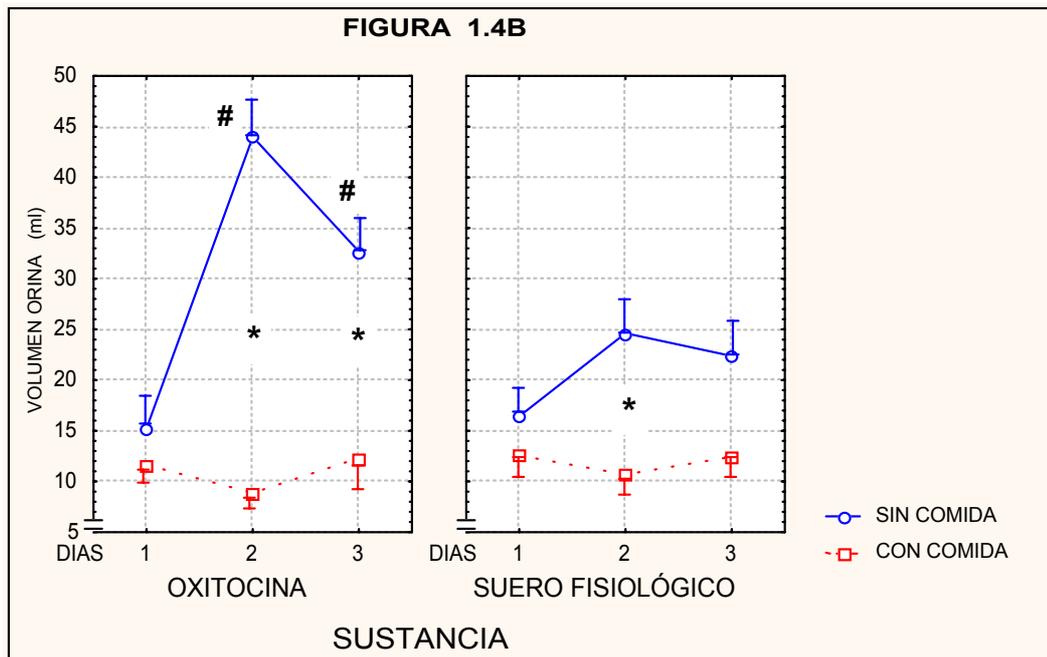
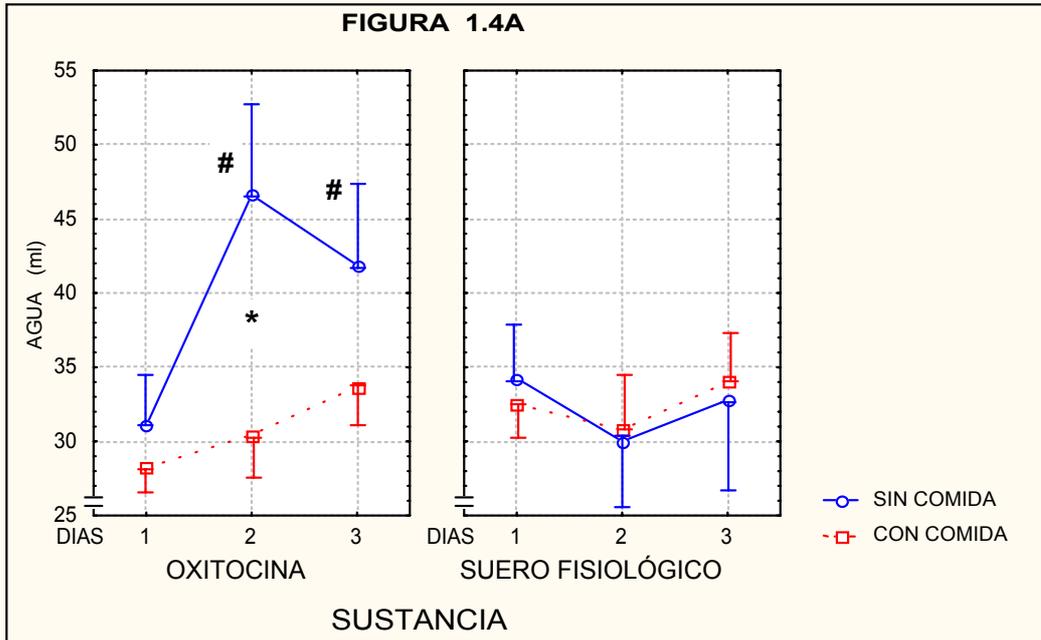


Figura 1.4: Ingesta de agua (fig. 1.4A) y volumen de orina excretado (fig. 1.4B) durante los tres días por los grupos de Oxitocina y Suero Fisiológico.

Las comparaciones significativas ($p < 0.01$ S/C vs C/C y # $p < 0.05$ OX S/C vs SF S/C) se refieren a datos diferenciales (respecto al día 1 (Linea Base)).*

La administración de Oxitocina, no modifica el comportamiento hidromineral de los sujetos *mantenidos ad-lib*: los grupos OX C/C y SF C/C (líneas rojas en la figura 1.4) ingieren y excretan, durante los tres días, una cantidad similar de fluido (Rao (2,27)= 0,07; $p < 0,935$; $F(1,28) = 0,14$; $p < 0,712$ para la ingesta de agua y $F(1,28) = 0,10$; $p < 0,753$ para el volumen de orina) (Tabla 1.4 y Figura 1.4). Adicionalmente, el consumo y excreción de orina en ambos grupos, es similar al comparar los días 2 y 3 frente al día de línea base (Grupo SF C/C; Línea Base vs Día 2: Agua $F(1,28) = 0,30$; $p < 0,6$; Orina $F(1,28) = 0,82$; $p < 0,4$; Línea Base vs Día 3: Agua $F(1,28) = 0,15$; $p < 0,8$; Orina $F(1,28) = 0,00$; $p < 1,0$; Grupo OX C/C; Línea Base vs Día 2: Agua $F(1,28) = 0,50$; $p < 0,5$; Orina $F(1,28) = 1,77$; $p < 0,2$; Línea Base vs Día 3: Agua $F(1,28) = 1,9$; $p < 0,2$; Orina $F(1,28) = 0,08$; $p < 0,8$) (Figura 1.4).

Por su parte, la *privación de alimento* en los sujetos tratados con oxitocina (**OX S/C vs OX C/C**) incrementa la ingesta de agua (LB vs Día 2: $F(1,28) = 9,17$; * $p < 0,005$) (Tabla 1.4 y Figura 1.4A) y el volumen de orina excretado (LB vs Día 2: $F(1,28) = 116,4$; * $p < 0,0001$; LB vs Día 3: $F(1,28) = 23,31$; * $p < 0,001$) (Tabla 1.4 y Figura 1.4B).

Los sujetos del grupo OX S/C, adicionalmente, ingieren y excretan cantidades de fluido superiores que las del grupo SF S/C (**OX S/C vs SF S/C**) (Agua: LB vs Día 2: $F(1,28) = 20,2$; # $p < 0,0001$; LB vs Día 3: $F(1,28) = 4,97$; # $p < 0,034$ (líneas azules de la Figura 1.4A y Tabla 1.4) y Orina: LB vs Día 2: $F(1,28) = 49,59$; # $p < 0,001$; LB vs Día 3: $F(1,28) = 23,31$; # $p < 0,002$) (líneas azules de la Figura 1.4B y Tabla 1.4).

Finalmente, al comparar los dos grupos inyectados con Suero Fisiológico (SF S/C vs SF C/C), se observa un efecto significativo sobre el volumen de orina (entre el día basal y el día dos): el grupo privado excreta un volumen de orina superior al de los sujetos con comida ($F(1,28) = 11,88$; * $p < 0,002$) (Tabla 1.4 y Figura 1.4B). No se observan diferencias significativas entre ambos grupos, en la ingesta de agua (Tabla 1.4 y Figura 1.4A).

TABLA 1.4	INGESTA DE AGUA				VOLUMEN DE ORINA			
	LB VS DIA 2		LB VS DIA 3		LB VS DIA 2		LB VS DIA 3	
	F(1,28)	P	F(1,28)	P	F(1,28)	P	F(1,28)	P
SF S/C vs SF C/C	0.33	0.57	0.29	0.59	11.88	0.0018	3.05	0.09
OX C/C vs SF C/C	0.793	0.381	0.51	0.48	0.09	0.76	0.055	0.82
OX C/C vs OX S/C	9.17	0.005	0.936	0.342	116.4	0.0001	23.31	0.0001
OX S/C vs SF S/C	20.2	0.0001	4.97	0.034	49.59	0.0001	10.99	0.002

Tabla 1.4: Comparación entre el día de línea base y los días experimentales entre pares de grupos.

*** VOLUMEN HÍDRICO CORPORAL (“AGUA menos ORINA”):**

El ANOVA sobre la variable “Agua menos Orina” en condiciones basales (día 1) y durante los días 2 y 3, revela un efecto que es resultado de la interacción entre las variables independientes “Comida” y “Días” ($F(2,56)= 18.4$; $p < 0.01$) (Tabla 1.5 y Figura 1.5):

VARIABLES INDEPENDIENTES	gl efecto	gl error	F	p
1 Comida	1	28	29.46630	.000009
2 Sustancia	1	28	.53031	.472522
3 Días	2	56	8.09271	.000818
12	1	28	.12566	.725630
13	2	56	18.45984	.000001
23	2	56	.39981	.672345
123	2	56	.58449	.560753

Tabla 1.5: Anova sobre el volumen hídrico durante los 3 días.

Durante el día de línea base, no se observan diferencias significativas entre los grupos con comida y los que posteriormente serían privados de alimento ($F(1,28)= 0.43$; $p< 0.517$); sin embargo, durante los días 2 y 3, los sujetos privados obtienen una relación “Agua *menos* Orina” significativamente menor que los grupos no privados ($F(1,28)= 36.97$; * $p< 0.001$ cuando se compara el día de línea base frente al día 2 y $F(1,28)= 17.53$; * $p< 0.001$ cuando se compara el día de línea base frente al día 3 (Figura 1.5).

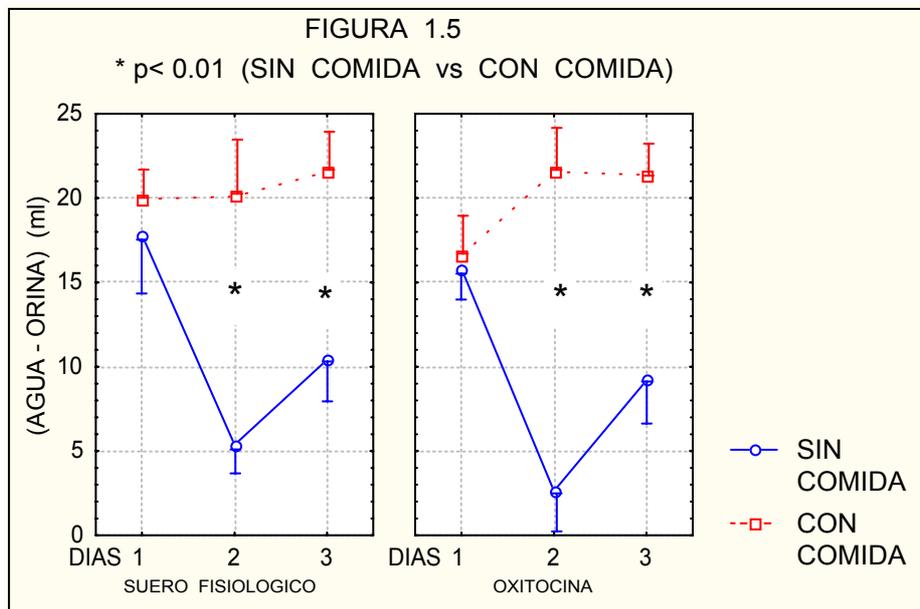


Figura 1.5: Efecto de la privación de alimento durante 48 horas, sobre la variable “Agua *menos* Orina” en los grupos de Oxitocina y Suero Fisiológico.
* $p< 0.01$ S/C vs C/C (con respecto al día de línea base).

No se aprecian diferencias significativas en función de la administración de Oxitocina o de Suero Fisiológico: los dos grupos sin comida (líneas azules) y los dos mantenidos ad lib (líneas rojas), muestran una relación “Agua *menos* Orina” similar a lo largo del experimento (Figura 1.6).

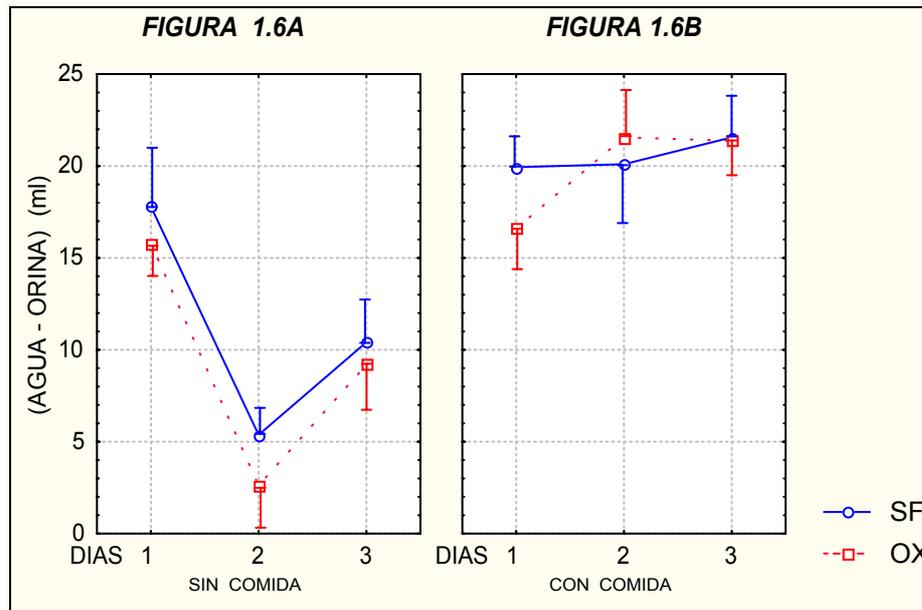


Figura 1.6: Ausencia de efectos de la Oxitocina sobre la variable “Agua – Orina” en los grupos con comida y privados de alimento.

INGESTA DE COMIDA

El Anova con los datos de la cantidad de alimento ingerido por los grupos con comida (durante los tres días) (**OX C/C** y **SF S/C**), revela que no existen diferencias significativas debidas a la sustancia inyectada o al paso de los días (**Tabla 1.6** y Tabla 1.0 (Anexo)):

EFEECTO	gl efecto	gl error	F	P
Sustancia s.c.	1	14	.798858	.386542
Días	2	28	1.184746	.320691
Interacción	2	28	.516362	.602259

Tabla 1.6: Anova sobre la ingesta de comida durante los 3 días para los grupos mantenidos ad lib.

DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO:

En este experimento, se ha examinado el efecto de la privación de alimento y el de la administración de oxitocina, sobre el comportamiento hidromineral de los roedores macho. Los resultados más relevantes que se han obtenido, ponen de manifiesto que la administración de 10 U.I. de Oxitocina estimula la ingesta y excreción de agua en sujetos privados de alimento, aunque no genera efectos significativos en el caso de que los animales dispongan de comida. Adicionalmente, este estudio podría facilitar la comprensión de los efectos ingestivos y excretorios que se observan cuando se priva de alimento a las ratas; unos efectos conocidos desde hace décadas pero cuyos mecanismos fisiológicos no son tan bien conocidos.

El efecto de la Oxitocina no es significativo **6 horas** después del inicio de la privación de alimento (cuando los animales han recibido una primera dosis de 5 U.I. de Oxitocina). Sí resulta significativo durante este intervalo, el efecto de la **privación de alimento** sobre las variables dependientes registradas. Concretamente, la ausencia de comida parece facilitar la excreción de orina (figura 1.2B) y reducir la ingesta de agua (figura 1.2A) y, en consecuencia, el volumen hídrico corporal (“Agua *menos* Orina”) (figura 1.3) de los animales. El descenso en el estado hídrico del organismo (“Agua *menos* Orina”), resulta significativo en el análisis univariado (Anova); mientras que el aumento en el volumen de excreción y el descenso en la ingesta de agua, resulta significativo cuando se consideran de forma conjunta (Manova), aunque no alcanzan significación estadística, pese a su proximidad, en el análisis univariado (Anova). De esta forma, el análisis multivariado y la variable “Agua *menos* Orina”, parecen contar con una mayor potencia estadística que el análisis univariado (para las variables ingestiva y excretora), pudiendo ser herramientas de gran utilidad en el estudio de la homeostasis hidromineral.

El aumento en la excreción de fluido y la disminución en la ingesta de agua durante los periodos de privación de comida, han sido descritos previamente (Bauman et al, 1964; Bulet et al, 1992; Cumming y Morrison, 1960; Franci et al, 1989; Kaunitz et al, 1960; Morrison, 1967 y 1968b; Morrison et al, 1967; Oatley y Tonge, 1969; Rolls y Rolls, 1982;

Walsh, 1980; Weisinger et al, 1985). Sin embargo y a pesar de la evidencia conductual conocida desde hace décadas, el mecanismo fisiológico desencadenante de tales efectos, no ha sido dilucidado.

La poliuria y la dilución de la orina por privación de comida, han sido relacionados con la ausencia de hormona antidiurética (ADH) (Morrison et al, 1967) y con la hipersecreción de mineralocorticoides (Morrison, 1967). Adicionalmente y dado que la Oxitocina (OX) también ejerce acciones renales (natriuréticas), esta neurohormona podría influir igualmente en los efectos renales de la privación. Así, la privación de alimento, con la correspondiente ausencia de ClNa y su excreción inevitable (Fitzsimons, 1979; McCance, 1936; Rolls y Rolls, 1982) podría reducir los niveles corporales de sodio y desencadenar un estado hiponatémico (Verbalis et al, 1986). Conforme la hiponatremia aumenta, disminuye la liberación de OX y ADH (Dohanics et al, 1991; Sato et al, 1997; Verbalis, 1993; Verbalis y Dohanics, 1991; Verbalis et al, 1986 y 1986b). De esta forma, la respuesta poliúrica y la dilución de la orina que se observa durante la privación de fluido (Bauman et al, 1964; Burlet et al, 1992; Cumming y Morrison, 1960; Morrison, 1967 y 1968b; Morrison et al, 1967; Oatley y Tonge, 1969), podrían estar relacionadas respectivamente, con la carencia de ADH y de OX.

El efecto poliúrico de la privación de alimento (Bauman et al, 1964; Morrison et al, 1967), sugiere que la comida o alguna sustancia presente en ella, podría resultar necesaria para la retención de líquido. En el presente experimento, la *poliuria por privación* (SF S/C vs SF C/C), se observa en los sujetos del grupo control ***24 horas*** después de la retirada del alimento (día 2), aunque desaparece durante las 24 horas siguientes (día 3) (Figura 1.4 y Tabla 1.4). Como cabría esperar, este efecto no parece depender de la administración de 1 ml de Suero Fisiológico, puesto que el grupo SF C/C mantiene un comportamiento hidromineral similar durante los tres días experimentales. El *comportamiento ingestivo*, por el contrario, no resulta estadísticamente diferente (después de 24 y 48 horas de privación (días 2 y 3)) entre los dos grupos de control (Figura 1.4 y Tabla 1.4). Sin embargo, la variable “Agua *menos* Orina” calculada a partir de los datos ingestivo y excretor, resulta significativamente menor en el grupo SF S/C (vs SF C/C) durante las 48 horas que siguen a la línea base (ver figura 1.5), mostrando nuevamente una

mayor sensibilidad a la privación de comida que las variables ingestiva y excretora tomadas por separado.

Como se indicaba anteriormente, los resultados más relevantes del presente experimento, se observan con posterioridad a la privación de alimento y están relacionados con el *efecto hidromineral de la Oxitocina* y su dependencia del estado nutricional de los sujetos. Así, la administración de 10 U.I. de Oxitocina, aumenta el volumen de excreción y la ingesta de agua en los sujetos privados de alimento, pero no influye sobre el comportamiento hidromineral de los animales mantenidos ad lib.

Dado que la Oxitocina incrementa la ingesta de agua (figura 1.A y tabla 1.4) y el volumen de excreción (figura 1.4B y tabla 1.4) cuando los animales que la reciben están privados de alimento (OX S/C vs OX C/C), aunque no modifica el comportamiento hidromineral de los sujetos mantenidos ad lib (OX C/C vs SF C/C); se podría sugerir que este efecto depende únicamente de la ausencia de comida. Sin embargo, los efectos polidíptico y poliúrico de la Oxitocina también se observan cuando se comparan los dos grupos sin comida (OX S/C vs SF S/C) (líneas azules en las figuras 1.4A y 1.4B y tabla 1.4), por lo que deben incluirse otros factores explicativos adicionales.

En efecto, este último resultado permite evaluar el planteamiento efectuado en la introducción, a saber, la relevancia de la disponibilidad de comida sobre la regulación hidromineral, su carácter primario o su repercusión indirecta, o, en otras palabras, si los efectos hidrominerales de la privación pueden deberse a la ausencia de alimentos o, particularmente, de alguno de sus componentes. Cuando uno de éstos, los niveles de sodio, es manipulado específicamente a través de la Oxitocina, el efecto hidromineral se manifiesta en toda su plenitud. Este hecho puede interpretarse en el sentido de que no es la ausencia de comida, per se, lo que repercute en la regulación hidromineral, sino la reducción en los niveles de sodio, generada tanto por la privación como por la administración de oxitocina.

En este sentido la Oxitocina podría reducir los niveles de sodio corporal al aumentar la excreción de sodio (Balment et al, 1980 y 1986; Conrad, 1986; Haanwinckel, 1995; Huang, 1994; 1995 y 1996; Kadekaro et al, 1992, 1997; Verbalis et al, 1991b; Windle et al, 1995 y 1997). Dado que la excreción renal de ClNa siempre se acompaña de la pérdida de agua del organismo (Guyton y Hall, 2001; Kandel et al, 1997), la administración de Oxitocina podría estimular, simultáneamente, la excreción de agua y sales minerales.

Así pues, en el grupo OX S/C y junto al efecto poliúrico de la propia privación de alimento, podrían haberse añadido los efectos natriurético y diurético de la Oxitocina. Ambos efectos (diurético y natriurético) podrían ser los responsables de la *respuesta polidíptica* observada en el grupo OX S/C.

Una respuesta polidíptica similar a la que muestran los sujetos de Oxitocina sin comida, se observa cuando *únicamente* se priva de alimento a otras especies animales (como conejos, perros y alguna cepa de ratón). Así, estos animales parecen responder a la privación incrementando la ingesta de agua además del volumen de excreción (Cizek, 1961; Cizek et al, 1966; Huang, 1956; Kutscher y Steilen, 1973). Las respuestas polidíptica y poliúrica que muestran los conejos privados de alimento (Cizek, 1961; Cizek et al, 1966; Huang, 1956; Kutscher y Steilen, 1973), han sido relacionadas en estos animales, con una mayor pérdida de sodio a través de la orina que puede ser suprimida mediante la administración o la ingesta de soluciones con ClNa (Cizek, 1961; Kutscher y Steilen, 1973). Este resultado que implicaría a los niveles de sodio corporal, apoyaría nuevamente una interpretación en términos del efecto natriurético de la Oxitocina, y su repercusión sobre los niveles de sodio corporal, como causa determinante de su efecto polidíptico en *ratas* privadas de comida.

De esta forma, el efecto polidíptico de la privación de comida en algunas especies y el de la Oxitocina en *ratas* privadas de alimento, podrían estar estrechamente relacionados con los niveles de sodio corporal. Más aún, la natriuresis y la hiperdipsia oxitocinérgica también podría ayudar a comprender el descenso en la ingesta de agua que se suele observar cuando se priva de alimento a las *ratas* (Bolles, 1961; Cizek y Nocenti, 1965; Gutman y Krausz, 1969; Kiss et al, 1994; Kutscher, 1971; Verplanck y Hayes, 1953) (para

una revisión con diferentes cepas de ratas, ver Walsh, 1980). Las *ratas* podrían no incrementar la ingesta de agua cuando son privadas de alimento porque, pese a aumentar el volumen de excreción, la orina que excretan está muy diluida (Bauman et al, 1964; Burlet et al, 1992; Cumming y Morrison, 1960; Kaunitz et al, 1960; Morrison, 1967 y 1968b; Morrison et al, 1967; Oatley y Tonge, 1969; Weisinger et al, 1985), un hecho que permite mantener los niveles de sodio corporal en ausencia de comida. Al aumentarse la concentración urinaria en ratas privadas de alimento (por ejemplo mediante la administración de oxitocina), los niveles de sodio corporal se reducirían; y este descenso podría estimular la ingesta de agua.

Si el efecto de la Oxitocina sobre el comportamiento hidromineral es consecuencia, como se ha propuesto, de su efecto natriurético; sería lógico pensar que la Oxitocina tendría un menor efecto hidromineral en sujetos que disponen de comida, ya que ahora y a través de los alimentos, podrían recuperar las pérdidas natriuréticas. En efecto, en estos animales con comida disponible, se aprecian escasas modificaciones en la ingesta y excreción de agua (figura 1.4) y en el volumen hídrico corporal (figura 1.6B). El hecho de que en las pruebas experimentales se necesiten administrar dosis menores de oxitocina para estimular la excreción de sodio en animales mantenidos con dietas hiposódicas (Verbalis, et al, 1991b) que en el caso de las ratas alimentadas con comida habitual (Balment et al, 1980), apoyaría dicha interpretación y consideraría al sodio como el componente esencial de la dieta a la hora de anular la polidipsia oxitocinérgica.

En resumen los datos presentados en este experimento sugieren que la polidipsia y poliuria oxitocinérgica resultan procesos que podrían requerir para su manifestación, de la ausencia de comida, pero sólo en tanto en cuanto esta manipulación supone un aumento en la excreción de sodio. En otras palabras, bastaría un incremento en la excreción de sodio que no pudiese ser compensado mediante la dieta, para que se manifestase el cuadro polidíptico observado en este experimento.

EXPERIMENTO 2: EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE OXITOCINA SOBRE LA INGESTA DE AGUA EN RATAS MANTENIDAS AD LIB CON DIETAS HIPOSÓDICAS.

INTRODUCCIÓN:

La Oxitocina es una hormona natriurética (Balment et al, 1980 y 1986; Conrad, 1986; Haanwinckel, 1995; Huang, 1994; 1995 y 1996; Kadekaro et al, 1992, 1997; Verbalis et al, 1991b; Windle et al, 1995 y 1997) y la natriuresis un mecanismo que podría potenciar la ingesta de agua en sujetos privados de alimento (Experimento 1).

La dieta habitual (con ClNa), por el contrario, parece reducir la capacidad natriurética (Balment et el, 1980) a la vez que enmascara el efecto ingestivo de la Oxitocina (Experimento 1). De los componentes de la comida, el ClNa podría ser el elemento responsable de la ausencia de efectos de la Oxitocina sobre el comportamiento ingestivo ya que la disponibilidad de comida hiposódica, favorece la natriuresis oxitocinérgica (Verbalis et al, 1991b).

De esta forma, si la polidipsia oxitocinérgica precisa, como se ha propuesto, del efecto natriurético de la hormona; cabría esperar que la natriuresis oxitocinérgica que se observa en los individuos mantenidos con dietas hiposódicas (Verbalis et al, 1991b), pudiese potenciar, adicionalmente, la conducta de ingesta de agua.

OBJETIVO E HIPÓTESIS:

- El objetivo de este experimento ha consistido en examinar los efectos de la administración de Oxitocina en animales mantenidos ad lib con comida hiposódica. De acuerdo con los estudios mencionados anteriormente, cabría esperar un incremento en la ingesta de fluido a pesar de la disponibilidad de alimento (hiposódico) ad lib.

MÉTODO:

SUJETOS Y GRUPOS:

Se emplearon 24 ratas macho de la raza Wistar, que fueron alojadas en jaulas individuales (alto:11 cm; largo:32 cm y ancho: 22 cm). La sala experimental disponía de un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas y la temperatura ambiental se mantuvo entre 21 y 23 grados centígrados.

Tras un período de adaptación a las condiciones del laboratorio, los animales fueron asignados aleatoriamente (n=8) a cada uno de los grupos (OX 10 UI; OX 5 UI y Vehículo), registrándose como línea base, el peso corporal y la cantidad de agua y comida ingeridas durante esas primeras 24 horas (antes de pasar a la siguiente fase experimental).

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL:

Este estudio tuvo una duración de 4 días. El protocolo seguido durante los tres primeros días es idéntico para todos los animales, mientras que en el último se establecen los 3 grupos de animales mencionados en función del tratamiento experimental: 1 ml Oxitocina (10 U.I.; laboratorios Iven, Madrid) para el grupo OX 10; 1 ml de Oxitocina (5 U.I.) para el grupo OX 5 y 1 ml de Agua destilada para el grupo control. El procedimiento a seguir es el siguiente:

DÍA 1: Línea Base con una dieta habitual. Durante 24 horas, cada animal permanece en una jaula individual con agua y comida (pienso Sandermus para animales de laboratorio, Unión Alimentaria Sanders, Granada) (*0.25% de Na⁺*). Transcurrido este primer día, se anota la cantidad de agua y comida consumida y el peso corporal de cada animal.

DÍAS 2 y 3: Línea Base con una dieta deficiente en sodio. Durante las 48 horas siguientes, los animales son mantenidos ad lib en jaulas individuales. Sin embargo, la comida disponible tiene una menor concentración de sodio (*0.04% de Na⁺*) (Dieta Mucedola, Debiomed S.L., Barcelona).

Durante ambos días se registra la ingesta de agua, de comida y el peso corporal, a las 8:00 horas. Tras el registro del día 3, los animales reciben los siguientes tratamientos:

. Grupo 1 (Oxitocina 10 U.I.; n=8): Se administran dos dosis subcutáneas de 0.5 ml (cada dosis) de Oxitocina a cada animal (de la misma forma que en el experimento anterior). La Oxitocina fue suministrada a las 8:00 y a las 14:00 horas.

. Grupo 2 (Oxitocina 5 U.I.; n=8): 1 ml de Oxitocina (0.5 ml por inyección) disuelta al 50%.

. Grupo 3 (Agua Destilada; n=8): 1 ml de agua destilada (0.5 ml por inyección).

Después de cada inyección, se vuelve a alojar a los animales en sus jaulas con agua y con la comida hiposódica ad lib durante 24 horas más, tras las cuales se vuelven a registrar las mismas variables dependientes:

VARIABLES DEPENDIENTES	DÍA 1 LINEA BASE	DIAS 2 y 3 DIETA HIPOSÓDICA	DÍA 4 DIETA HIPOSÓDICA	
			GRUPOS	DOSIS DE OX
Agua Comida Peso Corporal	Comida con un 0.25% de ClNa	Comida Hiposódica (0.04% de ClNa)	OX 10	10 U.I. (en 1 ml)
			OX 5	5 U.I. (en 1 ml)
			AD	0 U.I. (en 1 ml de agua destilada)

Cuadro 2.1: Diseño experimental.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

En primer lugar se analizaron los resultados obtenidos tras las 24 horas de línea base con la dieta habitual. Para ello se realiza un Manova (para los tres grupos de sujetos) sobre la ingesta de agua, comida y peso corporal.

Los días dos y tres (cuando los animales fueron mantenidos con dietas hiposódicas) fueron analizados mediante un Manova 3 x (2) (grupos x (días)). A pesar de que todos los sujetos habían sido mantenidos en las mismas condiciones experimentales, se incluyó en este análisis la variable independiente “Grupos” con el objeto de descartar la existencia de diferencias previas entre los animales que posteriormente recibirían cada uno de los tratamientos (ver Procedimiento Experimental).

El análisis final tuvo por objeto comprobar el efecto de la administración de Oxitocina (sobre la ingesta de agua y comida y sobre el peso corporal) en sujetos mantenidos con dietas deficientes en sodio. Para ello, se realizó un diseño mixto de medidas repetidas durante los días 2,3 y 4 (con comida hiposódica), es decir, se efectuó un Manova 3 x (3) (3 Grupos x (3 Días)).

RESULTADOS:

En la Tabla 2.0 (ver Anexo) y en la Figura 2.1, se presentan las cantidades de agua y comida ingeridas y el peso corporal de cada grupo de animales durante las 96 horas experimentales.

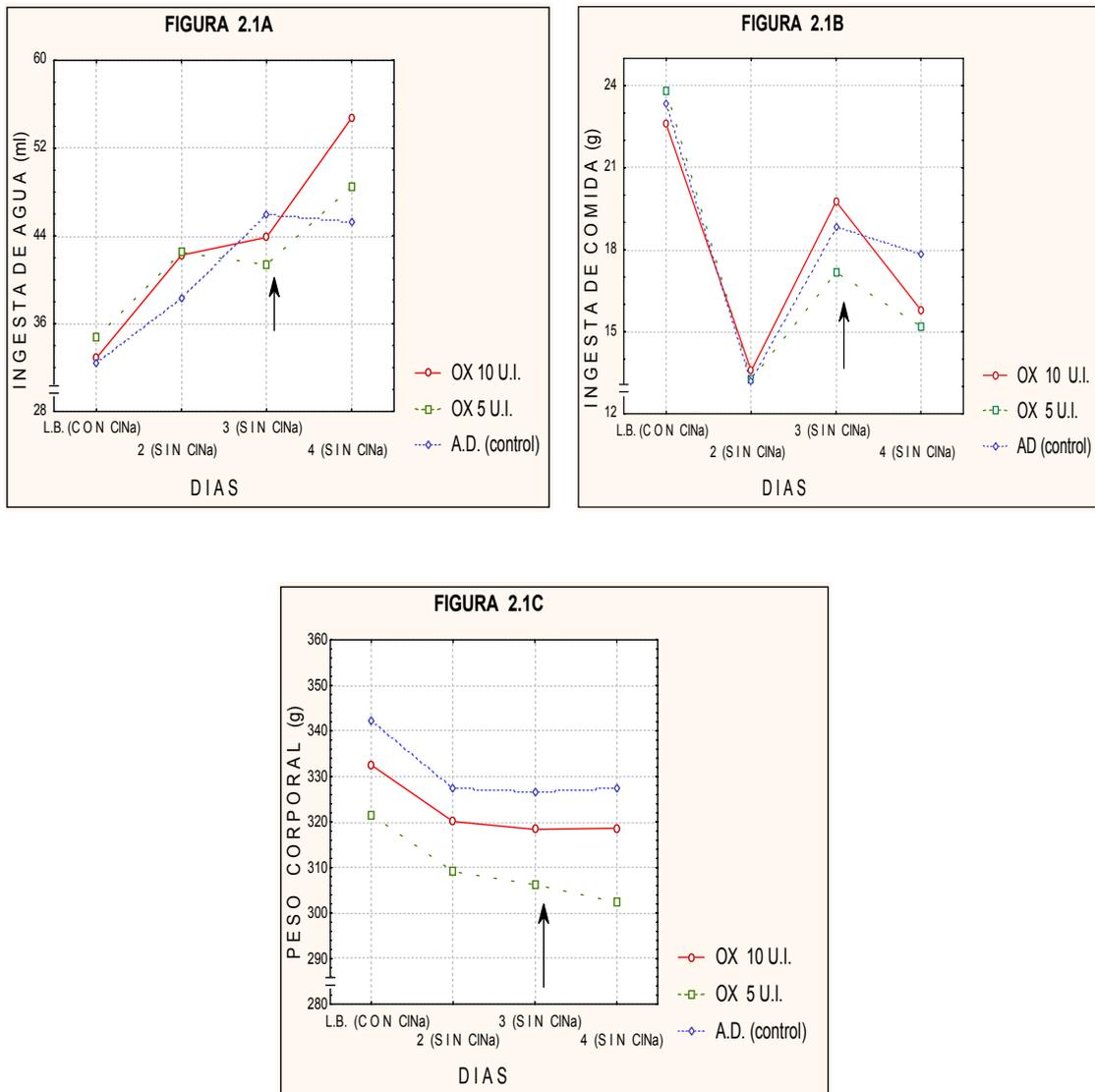


Figura 2.1: *Ingesta de agua, comida y peso corporal de los tres grupos de animales durante los cuatro días experimentales.* En el eje de abscisas, entre paréntesis, se indica el tipo de dieta empleada. La flecha señala el momento en que se administraron las sustancias.

ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO BASAL

- **DÍA 1: LINEA BASE CON LA DIETA HABITUAL:**

El Manova para las 24 horas de línea base (con la comida habitual), revela que no existen diferencias significativas entre los tres grupos de sujetos (Rao (6,38)= 0.38; $p < 0.888$) (Figura 2.2).

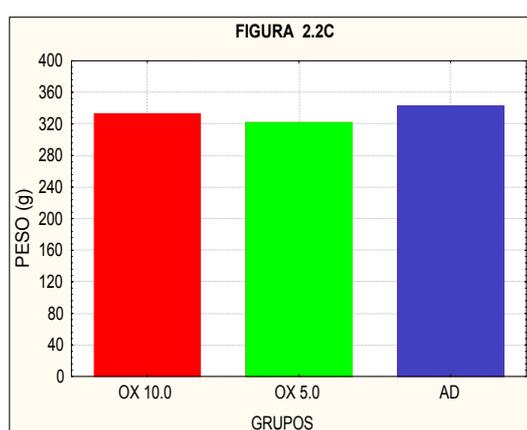
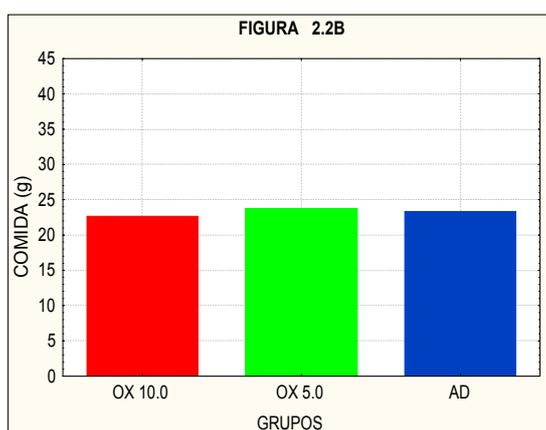
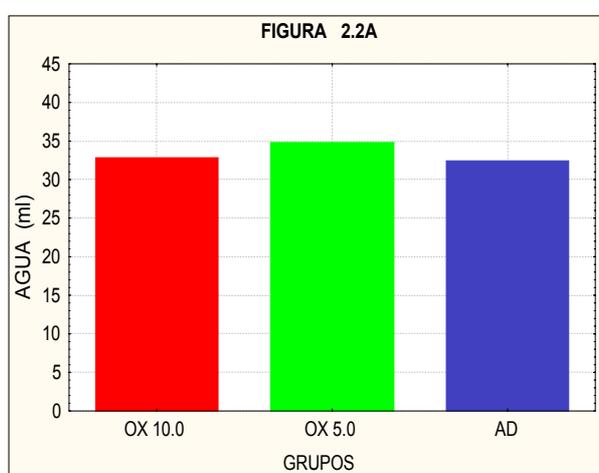


Figura 2.2: *Ingesta de agua, comida y peso corporal para los tres grupos de animales durante el día de línea base (dieta habitual).*

- **DÍAS 2 Y 3: LINEA BASE CON LA DIETA HIPOSÓDICA:**

El Manova Grupos x (Días) muestra un efecto significativo para la variable “Días” (Rao (6,16)= 194.39; $p < 0.001$) (Tabla 2.1), sin que se observen diferencias significativas entre los tres grupos de animales ni en la interacción grupos x días.

VARIABLES INDEPENDIENTES	W. Lambda	Rao's R	gl efecto	gl error	p
Grupo	.950507	.16279	6	38	.985067
Días	.179181	29.01265	3	19	.000000
Interacción	.740898	1.02455	6	38	.424412

Tabla 2.1: Manova sobre la ingesta de agua, comida y peso corporal durante los días 2 y 3.

Al comparar los días 2 y 3 (48 y 72 horas), se aprecia un efecto significativo sobre el conjunto de variables dependientes (Rao (3,19)= 29.01; $p < 0.001$). Sin embargo, en el análisis univariado, esta comparación es significativa únicamente para la ingesta de comida ($F(1,21)= 18.95$; $p < 0.001$). Como se muestra en la **Figura 2.3**, los animales incrementan significativamente el consumo de alimento hiposódico a lo largo de las 48 horas de adaptación a esta dieta (tras 72 horas (Día 3)).

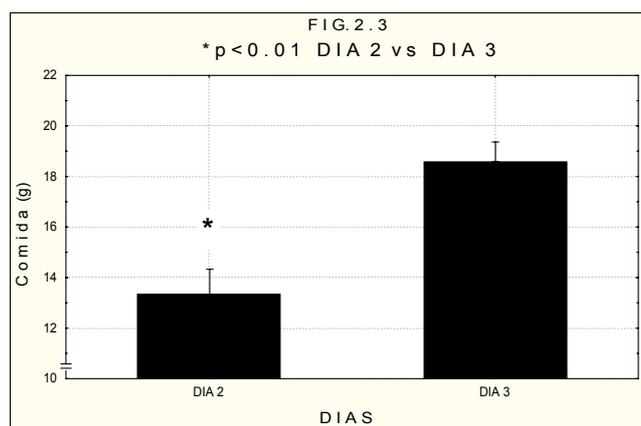


Figura 2.3: Cantidad de alimento (dieta hiposódica) consumido por los animales durante los días 2 y 3 (48 y 72 horas).

EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE OXITOCINA

El Manova Grupos x Días (días 2, 3 y 4) revela la existencia de un efecto significativo para la interacción de las dos variables independientes (Rao (12,32)= 2.2; $p < 0.04$) (**Tabla 2.2**):

VARIABLES INDEPENDIENTES	W. Lambda	Rao's R	gl efecto	gl error	p-level
Grupo	.870326	.45544	6	38	.836554
Días	.145832	15.61921	6	16	.000007
Interacción	.296939	2.22701	12	32	.035189

Tabla 2.2: Manova sobre la ingesta de agua, comida y peso corporal durante los días 2, 3 y 4.

Entre pares de grupos, la comparación entre los días 3 y 4 muestra un efecto significativo de la Oxitocina sobre la ingesta de agua:

DIA 3 vs DIA 4	AD S/C vs OX 10.0 Rao (3,19)=3.2; $p < 0.047$		AD S/C vs OX 5.0 Rao (3,19)= 3.9 ; $p < 0.025$	
	F (1,21)	p	F (1,42)	p
Agua	10.23	0.004	4.65	0.043
Comida	2.65	0.118	0.29	0.594
Peso	0.09	0.773	7.31	0.013

Tabla 2.3: Comparación de los días 2 y 3 entre cada grupo de oxitocina y el grupo control.

Sin embargo, dado que en los distintos grupos empleados la dosis de oxitocina se incrementa de forma constante (0 U.I para el grupo control, 5 U.I para el grupo OX 5.0 y 10 U.I para el grupo OX 10.0), se pueden comparar los días 3 y 4 mediante una tendencia lineal para la variable grupo. Sobre el conjunto de variables dependientes, esta comparación es significativa (Rao (3,19)= 3.20; $p < 0.046$).

El análisis Univariado muestra un aumento lineal (dependiente de la dosis), en la ingesta de agua ($F(1,21)= 10.23$; $p< 0.004$); sin que la ingesta de comida y el peso corporal difieran significativamente ($F(1,21)= 2.65$; $p< 0.118$ para la ingesta de comida y $F(1,21)= 0.08$; $p< 0.772$, para el peso corporal) al comparar los días 3 y 4 (**Figura 2.4**).

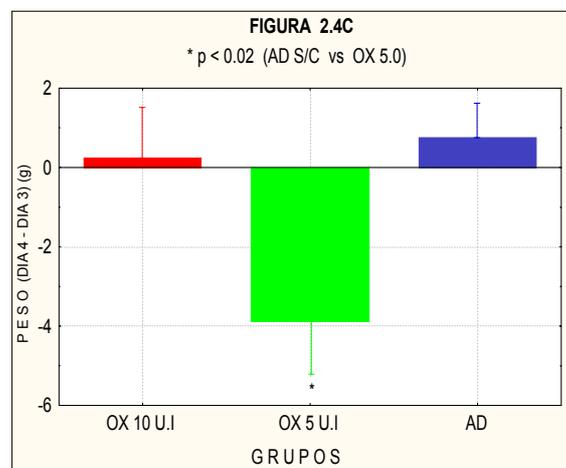
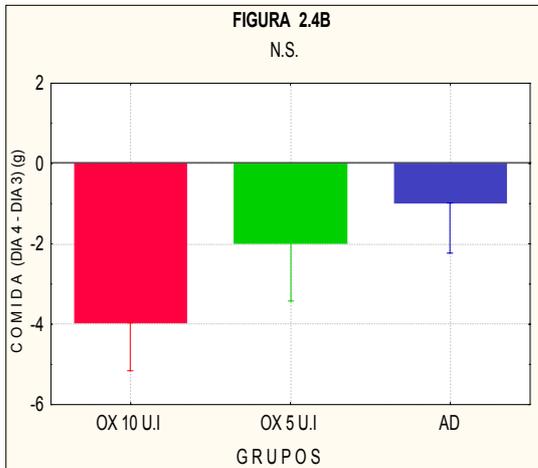
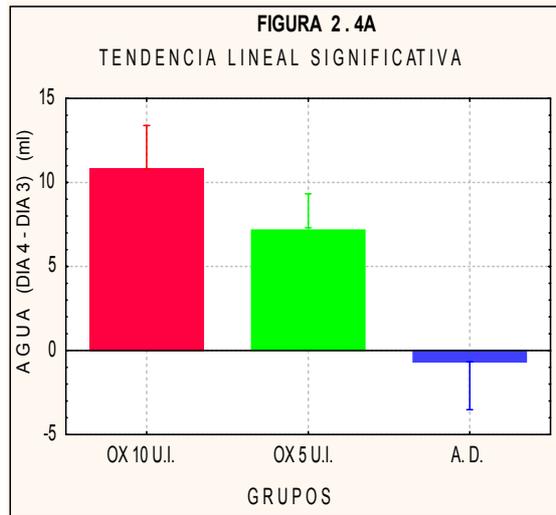


Figura 2.4: Resultados obtenidos en relación a la ingesta de agua, comida y al peso corporal tras la administración de Oxitocina en animales alimentados con dietas hiposódicas.

DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO:

Los resultados obtenidos en este experimento ponen de manifiesto que la administración de oxitocina en sujetos mantenidos ad lib con dietas hiposódicas, incrementa la ingesta de agua; un efecto que depende linealmente de la dosis inyectada.

Junto con los datos del experimento anterior y en resumen, la oxitocina parece incrementar la ingesta de agua en animales privados de alimento (experimento 1) o mantenidos con dietas hiposódicas (experimento 2); aunque no modifica el comportamiento ingestivo en los animales que disponen de agua y comida (con ClNa) ad lib (experimento 1; Olson, 1991; Uvnäs-Moberg, 1996 (citado por Björkstrand y Uvnäs-Moberg, 1996). Así, el empleo de dietas hiposódicas permite sugerir que de los distintos componentes de la comida, el ClNa podría ser el elemento esencial que determina la ausencia de efectos comportamentales en los sujetos mantenidos con la dieta habitual.

Las dietas hiposódicas son usadas con frecuencia en el estudio de la homeostasis hidromineral, y la carencia de sodio parece estimular la ingesta de agua (Cizek et al, 1951; Holmes y Cizek, 1951; McCance, 1936, citado por Fitzsimons, 1979; Radford, 1959; Swanson et al, 1935). Esta respuesta ingestiva podría ser de naturaleza volémica (ver Fitzsimons, 1979, págs. 199-206) y la excreción de fluido extracelular ser promovida, previsiblemente, como consecuencia de la pérdida gradual e inevitable del sodio corporal (Guyton y Hall, 2001). Como la Oxitocina estimula la excreción de sodio (Balment et al, 1980 y 1986; Conrad, 1986; Haanwinckel et al, 1995; Huang, 1994; 1995 y 1996; Kadekaro et al, 1992, 1997; Verbalis et al, 1991b; Windle et al, 1995 y 1997), se podría pensar, igualmente, que la polidipsia oxitocinérgica podría ser de naturaleza volémica, pudiendo explicarse desde esta óptica, los resultados obtenidos en algunas de las investigaciones mencionadas. Concretamente, por ejemplo, los resultados observados por Stricker y Verbalis (1987b), que tras mantener a sus animales con dietas hiposódicas observaron, *inesperadamente*, un incremento en el consumo de agua y ClNa en las ratas inyectadas con un coloide y pretratadas con oxitocina (ver página 565 del mencionado artículo).

Desde este punto de vista, la Oxitocina debería estimular la ingesta de agua sólo en aquellas situaciones en las que se mantuvieran sus efectos natriuréticos. En este sentido, es bien sabido que la natriuresis oxitocinérgica se observa con más facilidad cuando los animales consumen dietas hiposódicas (Verbalis et al, 1991b) que en sujetos mantenidos con la comida habitual (con ClNa) (Balment et el, 1980). Así, y a la vez que aumentan la capacidad natriurética de la Oxitocina, las dietas hiposódicas podrían reinstaurar la polidipsia oxitocinérgica (Experimento 2) que se observa en sujetos privados de todo alimento, pero que desaparece si los animales disponen de la comida habitual (con ClNa) (Experimento 1). Sin embargo, las dosis natriuréticas de la Oxitocina en sujetos mantenidos con dietas hiposódicas (Verbalis et al, 1991b), han sido más bajas (entre 0.24 y 2.4 microgramos diarios de Oxitocina administradas mediante minibombas subcutáneas) que las dosis polidípsicas empleadas en este experimento, señalando la conveniencia de abarcar un rango de dosis más amplio en los estudios con Oxitocina.

Por otro lado, el paralelismo propuesto entre las respuestas fisiológica y conductual (natriurética y polidípsica), permite pensar que la administración de oxitocina en sujetos privados de todo alimento, además de estimular la ingesta de agua (Experimento 1), podría promover la excreción de sodio. Sin embargo, la capacidad natriurética de la oxitocina en situaciones de privación de alimento no ha sido establecida.

EXPERIMENTO 3: OXITOCINA E INGESTA Y EXCRECIÓN HIDROMINERAL: UN ESTUDIO DOSIS-DEPENDIENTE EN RATAS PRIVADAS DE ALIMENTO.

INTRODUCCIÓN:

La Oxitocina podría ser una hormona que estimule inicialmente la excreción de sodio (Balment et al, 1980 y 1986; Conrad, 1986; Haanwinckel, 1995; Huang, 1994; 1995 y 1996; Kadekaro et al, 1992, 1997; Verbalis et al, 1991b; Windle et al, 1995 y 1997) y manifestarse posteriormente en un incremento en la ingesta de agua; tanto en situaciones de privación de alimento (Experimento 1), como en individuos mantenidos con dietas hiposódicas (Experimento 2). Sin embargo, en sujetos alimentados con la dieta habitual; donde la capacidad natriurética de la Oxitocina parece ser menor (Balment et al, 1980), no se observan efectos ingestivos significativos (Experimento 1; Olson, 1991; Uvnäs-Moberg, 1996 (citado por Björkstrand y Uvnäs-Moberg, 1996). Así, el efecto ingestivo de la hormona podría depender de su función excretora y ésta, a su vez, de la ausencia de sodio en la dieta. Ahora bien, aunque la capacidad natriurética de la oxitocina en individuos mantenidos con dietas hiposódicas se conoce desde hace años (Verbalis et al, 1991b), la natriuresis oxitocinérgica en sujetos privados de alimento, está por determinar.

La **respuesta natriurética** es promovida ante aumentos en la osmolaridad plasmática y estos aumentos se acompañan de una concentración plasmática de Oxitocina entre 32-36 pmol/l (Balment et al, 1980; Dogterom et al, 1977). Como se puede recordar, en 1991, Verbalis y asociados observaron, por el contrario, que el efecto natriurético de la Oxitocina podía ser estimulado con una administración de oxitocina que inducía una concentración plasmática menor (de 15 pmol/l). Concretamente, la administración de 0.24 µg de Oxitocina/día, originó una concentración plasmática de 15 pmol/l mientras que la administración de 2.4 µg de Oxitocina/día, dio lugar a una concentración en plasma de 72 pmol/l (Verbalis et al, 1991b) (ver Tabla 3.1).

Como se ha mencionado previamente, Balment y Dogteron realizaron sus experimentos en animales mantenidos ad lib con la dieta habitual y el empleo de dietas hiposódicas en el experimento de Verbalis pudo resultar crucial para la obtención de efectos tan potentes. Sin embargo, además del tipo de comida empleada, el experimento de Balment y el de Stricker, difieren en aspectos farmacocinéticos que podrían resultar fundamentales. Así, mientras que Verbalis y asociados implantaron subcutáneamente minibombas y las programaron para liberar Oxitocina durante 24 horas y de forma ininterrumpida, el grupo de Balment administró la Oxitocina a través de cánulas intravenosas y durante dos períodos de 20 minutos (separados por un intervalo temporal de 30 minutos). De esta forma y teniendo en cuenta que la Oxitocina es una hormona con una vida media plasmática inferior a tres minutos (ver Binkley, 1995), la capacidad farmacodinámica de la Oxitocina empleada por Verbalis pudo ser mayor que la usada en el experimento de Balment.

Además de un agente natriurético, la Oxitocina podría participar en los comportamientos ingestivos. En el estudio del **comportamiento ingestivo**, suelen emplearse dosis de Oxitocina más elevadas que las usadas para estimular la excreción de sodio (ver Tabla 3.2), y este dato podría cuestionar la posible relación entre la natriuresis y la polidipsia oxitocinérgica. Así por ejemplo, en el experimento 2 (realizado con animales mantenidos con dietas hiposódicas), la dosis más baja de Oxitocina que se ha administrado, ha sido de 11 μg (5 U.I.) (Experimento 2). A pesar de estimular la ingesta de agua, esta dosis es mayor que las dosis natriuréticas usadas por Verbalis y asociados en esta misma condición alimenticia. Sin embargo, también en el experimento 2, la oxitocina fue administrada en dos únicas inyecciones (separadas por un intervalo temporal de 6 horas), con lo que, previsiblemente, la capacidad farmacodinámica de la hormona podría ser más reducida que la Oxitocina empleada por el grupo de Verbalis.

VÍA DE ADTRACION.	DURACIÓN ADTRACION.	DOSIS EN µg	[OT] _p pmol/l	EFECTO	DURACIÓN EFECTO	REFERENCIA
iv	20 minutos	0.002	10	No efecto	Duración infusión	Balment et al, 1980
		0.006	32	Diurético y Natriurético		
		0.06	358			
iv	3 horas	0.006	3.24	Diurético Natriurético	Duración infusión	Balment et al, 1986
iv (ratas Brattleboro)	2 horas	0.018	19	Natriurético	Duración infusión	Brimble et al, 1991
iv	1 hora	12	16	Diuresis Natriuresis	Duración infusión	Windle et al, 1995
Minibombas sc	1 día	2.64 5.28	50-100 1000	Aumenta ing. sodio Natriurético	7 horas	Stricker y Verbalis, 1987b
Minibombas sc	3 días	0.048/día	6.2	No efecto	Duración infusión	Verbalis et al, 1991b
		0.24/día	15.24	Natriurético		
		0.48/día	15.0	Natriurético		
		2.4/día	72.2	Natriurético		
ip		10	---	Antidiuresis Natriuresis	2 horas	Haanwinckel et al, 1995

Tabla 3.1: Administración exógena de OX, efectos renales y concentración plasmática de la hormona (negrilla: estudio de referencia sobre los efectos natriuréticos de la hormona mediante el empleo de dosis fisiológicas).

VÍA DE ADMINISTRACIÓN	MANTENIMIENTO DE LOS ANIMALES	DOSIS (µg/Kg)	EFECTO	REFERENCIA
Minibombas s.c. durante 24 horas	Dieta hiposódica (48 horas)	8.8	Aumenta ing. volémica de H ₂ O y ClNa	Stricker y Verbalis, 1987b
		17.6		
Inyección i.p.	Agua y Comida ad lib	187	No efecto	Arletti et al, 1990
		375	Reduce Agua	
	750 y 1500	Inhibe agua		
	Privación de agua (16 horas previas)	375	Reduce Agua	
	750 y 1500	Inhibe agua		
Administración ClNa	93	Reduce Agua		
		187,375 y 750	Inhibe agua	
Inyección s.c.	Agua y Comida ad lib	1000	No efecto	Uvnäs-Moberg, 1996

Tabla 3.2: Efectos de la administración sistémica de la OX sobre la ingesta de agua.

Como se muestra en las Tablas 3.1 y 3.2, la dosis, vía de administración y procedimiento (ritmo de administración), son una materia muy controvertida en esta línea de investigación, y así, la capacidad farmacocinética, vida media plasmática, por ejemplo, podría ser decisiva a la hora de establecer los efectos fisiológicos y comportamentales de la Oxitocina. Por todo ello, uno de los objetivos de Experimento 3, lo constituye el estudio de la capacidad natriurética y de los efectos ingestivos de la Oxitocina, en sujetos privados de alimento, mediante un *estudio dosis-dependiente*.

Un segundo objetivo ha consistido en indagar en la naturaleza de la polidipsia oxitocinérgica a través del estudio de la preferencia-rechazo por soluciones con ClNa. En condiciones fisiológicas normales, la ingesta de soluciones con diferentes concentraciones de ClNa adopta una forma de “U” invertida; observándose una ingesta máxima en el rango isotónico (Bare, 1949; Breslin et al, 1993; Epstein y Stellar, 1955; Smith et al, 1969; Young y Falk, 1956). En otras palabras, disponiendo de agua, comida, y de diversas soluciones de cloruro sódico, los sujetos prefieren los fluidos isotónicos (en un rango entre 0.7 y 1 % de ClNa) antes que el agua o que soluciones de ClNa con otras concentraciones (Kaunitz et al, 1960; Weiner y Stellar, 1951). Esta preferencia se mantiene al restringir el acceso a la comida (Kaunitz et al, 1960), pero se interrumpe siempre que se genere sed osmótica, por ejemplo, al privar de agua a los animales (Young y Falk 1956) o al administrar sistémicamente soluciones hipertónicas (Stellar et al, 1954). Es decir, la inducción de sed osmótica elimina la preferencia natural por las soluciones isotónicas.

De acuerdo con estos estudios, las preferencias que los sujetos establezcan con respecto a la ingesta de diversas concentraciones de ClNa, podrían permitir inferir la base osmótica (rechazo de las soluciones de ClNa) o volémica (preferencia por las soluciones isotónicas) de la polidipsia oxitocinérgica en sujetos privados de alimento. Resulta previsible que, si la Oxitocina estimula la excreción de agua y sodio (como ha sido descrito en diversas condiciones), los animales podrían mostrar déficits de naturaleza volémica y preferir las soluciones isotónicas.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS:

- Comprobar si el efecto de la Oxitocina sobre la ingesta de agua, en animales privados de alimento, es dependiente de la dosis proporcionada y simultáneamente, si su administración estimula en alguna medida la excreción de sodio (natriuresis).
- Estudiar la posible naturaleza volémica de la polidipsia oxitocinérgica, en cuyo caso, la oxitocina debería incrementar la ingesta de soluciones isotónicas.

MÉTODO:

SUJETOS:

Para realizar este tercer experimento, se emplearon 48 ratas macho de la cepa Wistar (suministradas por el estabulario de la Universidad de Granada), que fueron alojadas en nuestro laboratorio con un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas y una temperatura ambiental de 21 a 23 grados centígrados.

Tras varios días de adaptación a las condiciones del laboratorio, se sitúa a los animales en jaulas metabólicas con agua y comida ad lib (pienso compuesto Sandermus) durante 24 horas (línea base).

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

- **PRIMERA FASE. Estudio dosis-dependiente:** Una vez transcurridas 24 horas de línea base en jaulas metabólicas y en situación ad lib, se anota la ingesta de agua y comida, el volumen de orina y el peso corporal de cada animal. Posteriormente se administra oxitocina (y agua destilada para los grupos control) en dos dosis de 0.5 ml y se establecen 6 grupos (n=8) de animales:

- . Grupo AD C/C: Se inyectan 0.5 ml de agua destilada (s.c.) a las 8:00 horas, y, 6 horas después, una segunda dosis. Este grupo de animales permanece con comida ad lib durante las 48 horas siguientes.

- . Grupo AD S/C: Reciben el mismo tratamiento s.c.; aunque son privados de comida durante las 48 horas siguientes.

- . Grupos OX 2,5; OX 5,0; OX 7,5 y OX 10,0: Se administran dos dosis de 0.5 + 0.5 ml (a las 8:00 y 14:00 horas) conteniendo un total de 2.5; 5.0; 7.5 y 10 U.I. de Oxitocina/ml, respectivamente. Los sujetos de los grupos de oxitocina son privados de alimento durante las 48 horas que siguen a la primera administración de la hormona.

La administración subcutánea fue realizada de la misma forma a la descrita en el experimento anterior. Igualmente y antes de recibir la segunda dosis (6 horas después de la primera), se anota la ingesta de agua y el volumen de orina excretado por cada sujeto. Durante las 48 horas siguientes y una vez al día (a las 8:00 horas), se registra la cantidad de agua ingerida, el volumen de orina excretado y el peso corporal de cada animal.

La concentración de sodio en la muestra de orina (en mEq/l) se determinó mediante un analizador automático (Beckman Instruments, Synchron CX7 Delta, USA). A partir de estos valores y del volumen de orina excretado por cada sujeto, se calcula la cantidad de sodio excretado (respuesta natriurética) (en mEq).

- **SEGUNDA FASE. Ingesta de agua y de varias concentraciones de ClNa:** Cuarenta y ocho horas después de la primera administración s.c., se introduce a los animales en jaulas de metacrilato (de 30x30x30 cm) y sin comida (a excepción del grupo AD C/C), durante 2 horas. En esta jaula y como se ilustra en la Fotografía 3.1, los animales disponen de 4 fluidos: uno con agua y tres soluciones de ClNa (Acros Organics, Geel, Bélgica) al 0.45; 0.9 y 1.8%. Se anota, para cada animal, la cantidad y el tipo de fluido ingerido después de cada hora.



Fotografía 3.1

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Inicialmente se analizan las 24 horas de Línea Base (mediante un Manova para los seis grupos de sujetos) con el objeto de comprobar si existen diferencias iniciales.

- **Primera Fase:** Para el análisis de la **ingesta y excreción de fluido seis horas** después de iniciada la privación de alimento (y antes de administrar la segunda dosis de Oxitocina o Agua), se emplea un Manova para los 6 grupos de sujetos. Las otras variables renales (**concentración y cantidad de sodio** en la orina), fueron analizadas de la misma forma, es decir, mediante un Manova para los 6 grupos de animales. Por otra parte, la variable **“Agua menos Orina”** es analizada mediante un Anova para los 6 grupos.

Para el análisis del **comportamiento ingestivo y excretor y del peso corporal durante los tres días** (72 horas), se utiliza un Manova 6 x (3) (6 grupos x (3 días)). Por otra parte, la variable **“Agua menos Orina”** es analizada mediante un Anova para los tres días de esta primera fase. La cantidad de sodio excretado veinticuatro horas después de iniciarse la privación de alimento, resultó estar por debajo del umbral de detección del equipo empleado (5 mEq/l), por lo que no pudo ser analizada.

- **Segunda Fase:** Se analizan la cantidad total de agua y de ClNa ingerido por cada grupo mediante un Análisis Multivariado (Manova). La **cantidad total de agua** ingerida fue calculada sumando, para cada animal, el volumen ingerido en cada uno de los cuatro recipientes durante las dos horas. Para calcular el **consumo total de ClNa**, se sumó el ClNa consumido en cada recipiente de la siguiente forma:

$$((\text{Ingesta } 0.45\% \times 0.45/100) + (\text{Ingesta } 0.9\% \times 0.9/100) + (\text{Ingesta } 1.8\% \times 1.8/100))$$

A partir de estos datos, se calcula la **concentración media** del fluido consumido por cada sujeto $((\text{consumo total de ClNa} \times 100) : (\text{cantidad total de agua}))$, y se analiza mediante un Análisis de Varianza (Anova).

Al igual que en los experimentos anteriores, los efectos significativos son analizados mediante Comparaciones Planeadas (entre los dos grupos control). Se emplea, adicionalmente, el Análisis de Tendencias en los sujetos privados de alimento.

RESULTADOS:

La Tabla 3.0 (ver Anexo) muestra las medias y desviaciones típicas del experimento.

ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO EN CONDICIONES BASALES

La ingesta de agua, volumen de orina, peso corporal y la cantidad de sodio excretada² (mEq) durante el día de línea base (24 horas ad lib), no difiere entre los 6 grupos de sujetos (Rao (20,117)= 0.706; $p < 0.81311$) (Figura 3.1):

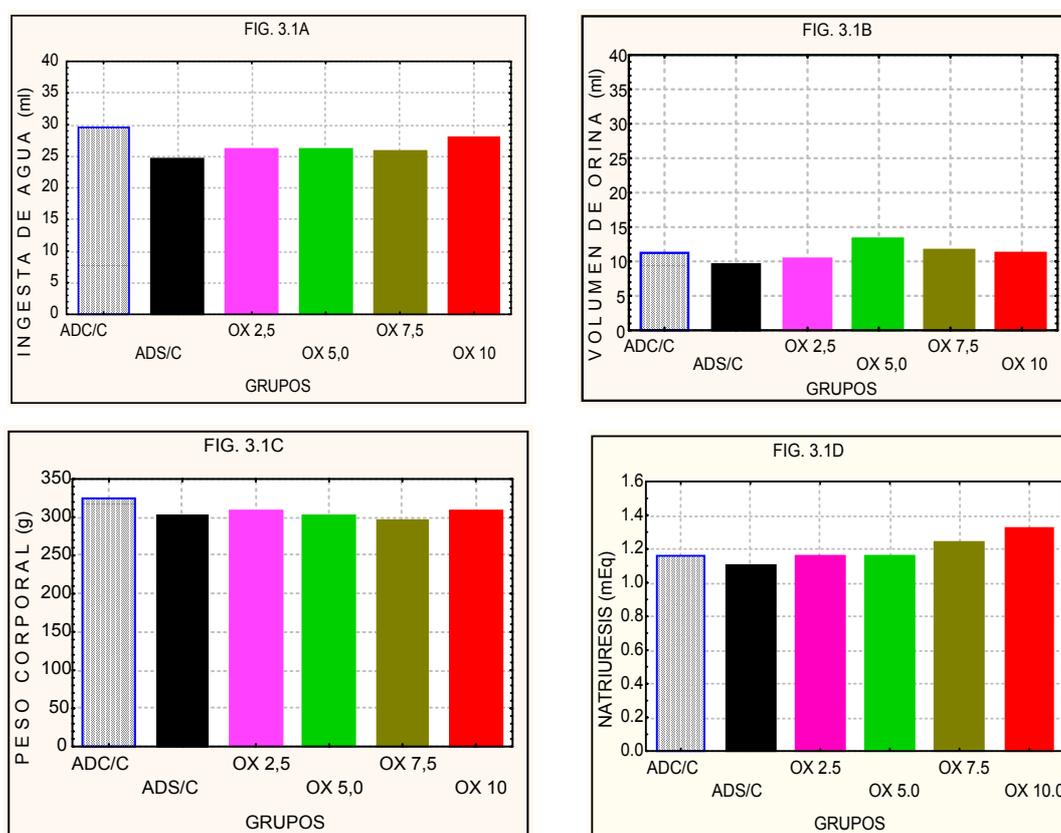


Figura 3.1: *Ingesta de agua, volumen y sodio excretado en la orina y peso corporal de los seis grupos de animales tras 24 horas ad lib.*

² Los valores presentados sobre la respuesta natriúrica, son similares a los observados por otros grupos de investigación de la Universidad de Granada (y por tanto, con las mismas condiciones alimenticias y el mismo tipo de animales) (de García et al., 2000; Wangenstein et al., 2003), sugiriendo que los datos renales del grupo AD C/C (6 horas después de la primera inyección), podrían considerarse como medidas basales de comparación (ver Análisis de la Excreción de sodio).

ANÁLISIS DE LAS 6 HORAS INICIALES
--

*** INGESTA DE AGUA Y VOLUMEN DE ORINA:**

Seis horas después de la primera inyección s.c. y de la retirada de comida para los grupos privados, se obtiene un Manova significativo de la variable “Grupos” sobre la ingesta y excreción de fluido (Rao (10,82)= 2.41; $p < 0.015$) (**Figura 3.2**):

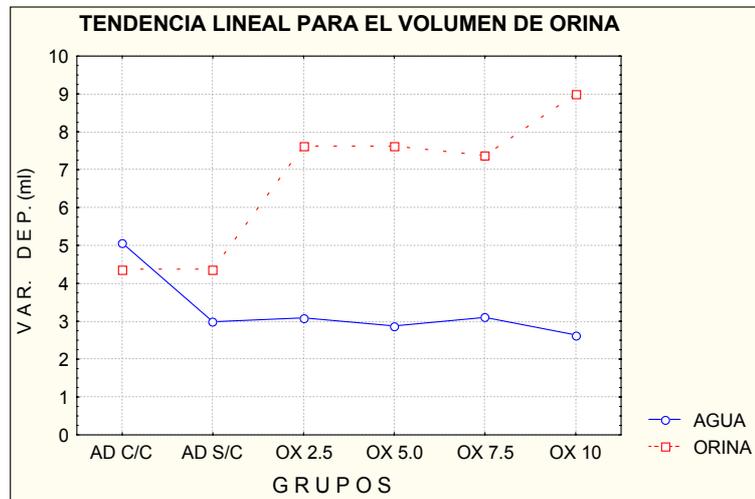


Figura 3.2: *Ingesta y excreción de agua 6 horas después de la privación de alimento y de la primera administración de Oxitocina o Agua destilada.*

El Anova para la *excreción renal* resulta significativo ($F(5,42) = 4.58$; $p < 0.002$), así como la tendencia lineal (para los seis grupos de sujetos ($F(1,42) = 18.49$; $p < 0.001$) y también para el caso de los grupos privados ($F(1,35) = 9.53$; $p < 0.004$)).

Sin embargo, los análisis efectuados sobre la *ingesta de agua* (tanto para los seis grupos ($F(5,42) = 0.69$; $p < 0.629$), como para los cinco grupos privados ($F(4,35) = 0.03$; $p < 0.998$)), no resultan significativos.

*** VOLUMEN HÍDRICO CORPORAL (“Agua menos Orina”):**

Seis horas después de la primera inyección s.c. y de la retirada de comida para los grupos privados, se obtiene un Anova significativo de la variable “Grupos” sobre la variable “Agua menos Orina” ($F(5,42) = 3.72; p < 0.008$)

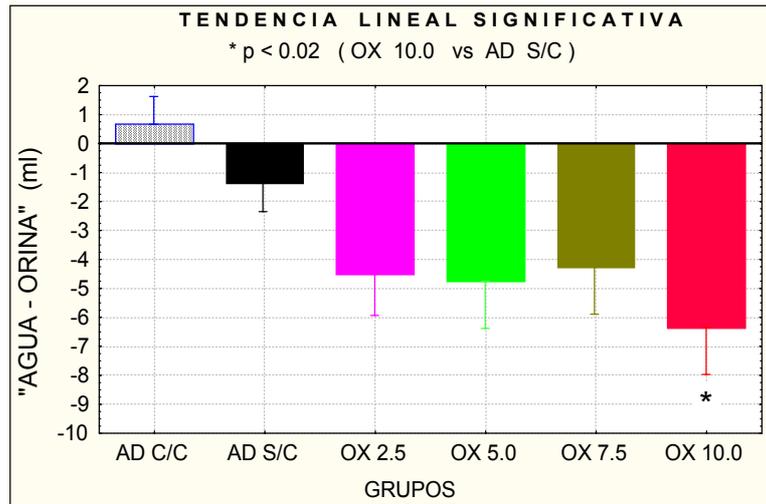


Figura 3.3: “Agua – Orina” 6 horas después de la privación de alimento y de la primera administración de Oxitocina o Agua destilada.

La tendencia lineal (para los seis grupos de sujetos ($F(1,42) = 15.47; p < 0.001$) y también para el caso de los grupos privados ($F(1,35) = 4.77; p < 0.036$)), resulta significativa. Sin embargo, comparando cada grupo con el grupo AD S/C, sólo se observan diferencias estadísticamente significativas para los sujetos inyectados con la dosis más alta de Oxitocina (OX 10.0) (Tabla 3.3):

Tabla 3.3	“Agua – Orina”	
	F(1,42)	p
AD S/C vs AD C/C	1.20	0.28
AD S/C vs OX 2.5	2.76	0.10
AD S/C vs OX 5.0	3.14	0.08
AD S/C vs OX 7.5	2.32	0.13
AD S/C vs OX 10	6.88	0.013

Tabla 3.3: Comparación entre pares de grupos en la variable “Agua – Orina”.

* ANÁLISIS DE LA EXCRECIÓN DE SODIO:

La cantidad de sodio excretada por litro de orina (mEq/l) se muestra en la **Figura 3.4** y, teniendo en cuenta el volumen de orina excretado por cada animal, se calcula la excreción total de sodio (*natriuresis*) (mEq) (**Figura 3.5**). El Manova para los 6 grupos de sujetos (en ambas variables dependientes) resulta significativo (Rao (10,74)= 2.71; $p < 0.007$). Entre pares de grupos, las comparaciones realizadas muestran un efecto significativo de cada grupo de Oxitocina (frente al grupo control), sobre la *respuesta natriurética* (ver Tabla 3.4 y Figura 3.5):

Tabla 3.4	Concentración Orina		Natriuresis	
	F(1,38)	p	F(1,38)	p
<i>AD S/C vs AD C/C</i>	2.667205	.110696	1.043439	.313482
<i>AD S/C vs OX 2.5</i>	2.252938	.141625	8.416140	.006154
<i>AD S/C vs OX 5.0</i>	2.090064	.156457	6.909307	.012305
<i>AD S/C vs OX 7.5</i>	3.72878	.060968	11.43935	.001678
<i>AD S/C vs OX 10</i>	3.03104	.089778	20.22240	.000063

Tabla 3.4: Comparación entre pares de grupos en la respuesta natriurética y en la concentración urinaria.

Considerando únicamente los cinco grupos privados, el Manova para ambas variables dependientes también resulta significativo (Rao (8,62)= 2.23; $p < 0.037$) y los grupos de Oxitocina conjunta y estadísticamente diferentes que el grupo AD S/C (F(1,32)= 4.80; $p < 0.036$ para la concentración y F (1,32)= 16.1; $p < 0.001$ para la respuesta natriurética) (ver Figura 3.4 y 3.5).

La tendencia lineal resulta, considerando los cinco grupos privados, significativa para la *natriuresis* (F(1,32)= 15.76; $p < 0.001$). Con respecto a la *concentración urinaria*, esta variable no difiere estadísticamente entre los cuatro grupos de oxitocina

(F (3,25)= 0.18; $p < 1.0$), ni cuando estos cuatro grupos se comparan con el grupo AD C/C³ (F (1,38)= 0.0; $p < 1.0$).

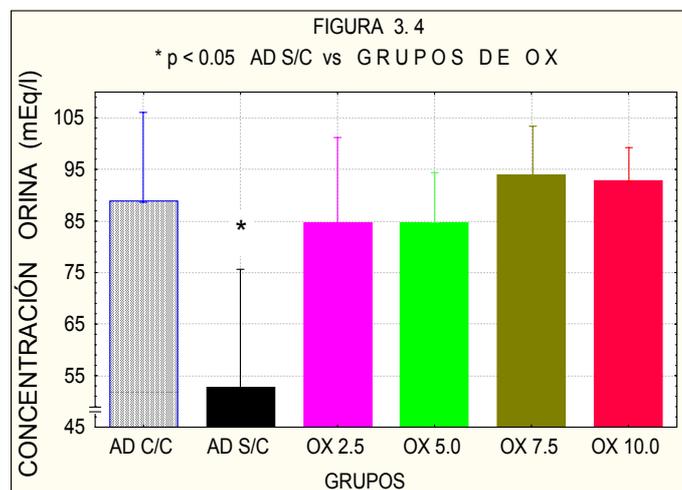


Figura 3.4: Concentración urinaria (mEq/l) para los seis grupos de animales, seis horas después de iniciada la privación de alimento y de la primera administración s.c. de oxitocina o agua destilada.

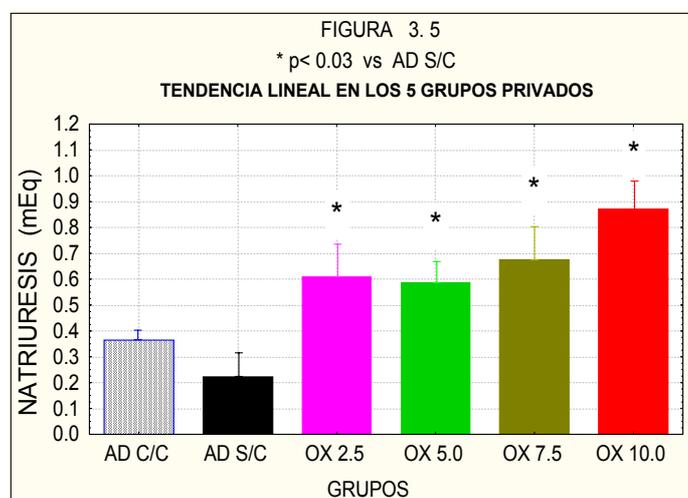


Figura 3.5: Cantidad de sodio (mEq) excretada en la orina de los seis grupos de animales, seis horas después de iniciada la privación de alimento y de la primera administración s.c. de oxitocina o agua destilada.

³ Pese a que estos grupos no sean experimentalmente comparables (difieren en la sustancia inyectada y en la disponibilidad o no de comida), el grupo AD C/C supone una medida de la concentración urinaria en condiciones normales. Por tanto, este resultado sugiere que la administración de Oxitocina en *sujetos privados de alimento* podría promover una concentración urinaria similar a la que se observa en sujetos mantenidos *ad lib* (ver Análisis del comportamiento en condiciones basales).

ANÁLISIS DE LA PRIMERA FASE EXPERIMENTAL (24 y 48 HORAS)

*** INGESTA DE AGUA, VOLUMEN DE EXCRECIÓN Y PESO CORPORAL:**

El Manova sobre la ingesta de agua, el volumen de orina y el peso corporal durante los tres días, para los 6 grupos de sujetos ofrece los siguientes resultados (**Tabla 3.5 y Figura 3.6**):

VARIABLES INDEPENDIENTES	W. Lambda	Rao's R	gl efecto	gl error	p
GRUPOS	,377786	3,1237 15	15	110	,000294
DÍAS	,017014	356,2845	6	37	0,000000
INTERACCIÓN	,033447	6,6918 30	30	150	,000000

Tabla 3.5: Manova para las 72 horas de la primera fase en los seis grupos de sujetos.

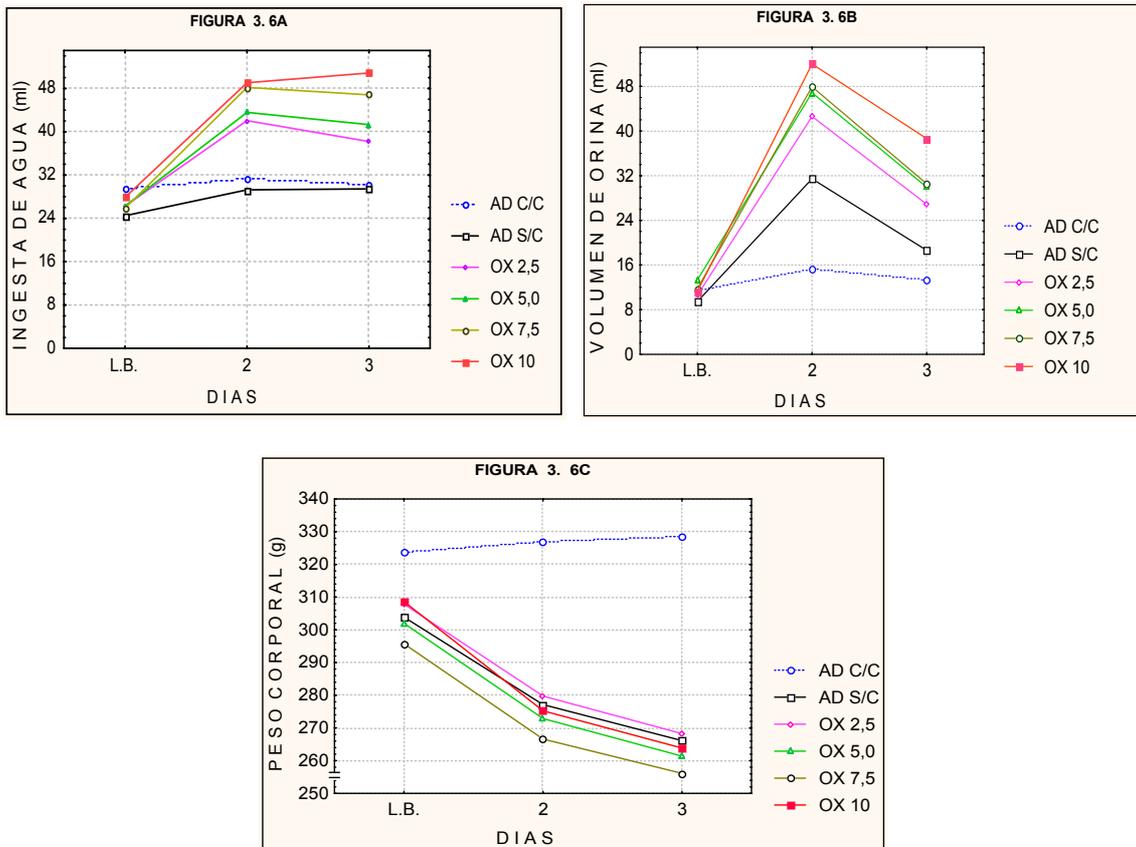


Figura 3.6: Ingesta de agua (figura 3.6A); volumen de orina (figura 3.6B) y peso corporal (figura 3.6C) de los seis grupos de animales durante las 72 horas de la primera fase.

En el Apartado A, se compara (al igual que en el primer experimento) el día de línea base (día 1) con los días experimentales (días 2 y 3) en función de los objetivos expuestos. En el Apartado B, se comparan los dos días experimentales (2 y 3) entre sí.

A.- Día de Línea base frente a días Experimentales:

Los dos **grupos control** difieren significativamente entre sí: el grupo AD S/C excreta un volumen de orina significativamente superior (después de 24 horas de privación) (figura 3.7B) y experimenta un descenso en el peso corporal (figura 3.7C) también significativo frente al grupo AD C/C; sin embargo, no se aprecian diferencias significativas entre ambos grupos, en la ingesta de agua (**Tabla 3.6**):

AD S/C vs AD C/C	LB vs DIA 2		LB vs DIA 3	
	Rao (3,40)=61.14; p< 0.001		Rao (3,40)= 108.65; p< 0.001	
	F (1,42)	p	F (1,42)	p
Agua	.2343	.630836	.3848	.538378
Orina	7.5801	.008681	1.3331	.254774
Peso	181.4037	.000000	256.6100	.000000

Tabla 3.6: Efecto de la privación de alimento durante 24 (LB vs día 2) y 48 horas (LB vs día 3) sobre la ingesta de agua, peso corporal y excreción de orina.

Para estudiar el efecto de la **Oxitocina** en animales privados de alimento y dado que la dosis de oxitocina proporcionada en cada grupo es incrementada de forma constante (partiendo de las 0 U.I. para el grupo AD S/C y aumentando 2,5 U.I. en cada grupo de oxitocina hasta las 10 U.I. del grupo OX 10,0), se compara mediante análisis de tendencias, el día de línea base frente a cada uno de los días experimentales. En los cinco *grupos privados de alimento*, la tendencia lineal resulta significativa para las tres variables dependientes. Como se muestra en la **Tabla 3.7**, la administración de Oxitocina, linealmente, incrementa la ingesta de agua (figura 3.7A) y el volumen de excreción (figura 3.7B), y reduce el peso corporal (figura 3.7C).

GRUPOS PRIVADOS	LB vs DIA 2		LB vs DIA 3	
	Rao (3,33)= 5.77; p< 0.003		Rao (3,33)= 3.28; p< 0.033	
	F (1,35)	p	F (1,42)	p
Agua	6.794333	.013346	7.020302	.012014
Orina	6.813845	.013225	6.661586	.014202
Peso	9.382425	.004196	6.318031	.016705

Tabla 3.7: Tendencia lineal, para los grupos privados de alimento, en la ingesta de agua, el peso y el volumen de excreción durante 24 (LB vs día 2) y 48 horas (LB vs día 3).

Entre pares de grupos y como se muestra en la Tabla 3.8, la potencia estadística de las comparaciones (entre el día de línea base y los días 2 y 3) se reduce significativamente. Así por ejemplo, si el análisis de tendencia señala que la administración de la dosis mínima (5.5 µg) de Oxitocina incrementa la ingesta de agua (con respecto a los sujetos del grupo control sin comida), la menor dosis de Oxitocina que resulta polidípica entre pares de grupos, corresponde a 7.5 U.I (16.5 µg de hormona) ya que el grupo OX 5.0 (frente al grupo AD S/C) cuenta con una probabilidad igual a 0.052 al comparar el día de línea base frente al día 2 (ver Tabla 3.8):

Tabla 3.8	AGUA				PESO				ORINA			
	LB vs DIA 2		LB vs DIA3		LB vs DIA2		LB vs DIA3		LB vs DIA2		LB vs DIA3	
	F	p	F	p	F	P	F	p	F	P	F	p
AD S/C vs AD C/C	.2	.63	.4	.54	181	0.00	257	0.00	7.6	0.01	1.3	.25
AD S/C vs OX 2.5	3.1	.09	1.0	.32	.4	.54	.5	.48	2.4	.13	1.3	.25
AD S/C vs OX 5.0	4.0	0.05	2.1	.16	1.1	.29	1.2	.29	3.1	.08	1.5	.23
AD S/C vs OX 7.5	7.8	0.01	5.2	0.03	1.1	.29	.5	.48	4.7	0.04	2.4	.13
AD S/C vs OX 10	6.8	0.01	6.6	0.01	8.8	0.00	6.9	0.01	8.2	0.01	8.7	0.01

Tabla 3.8: Comparaciones entre pares de grupos.

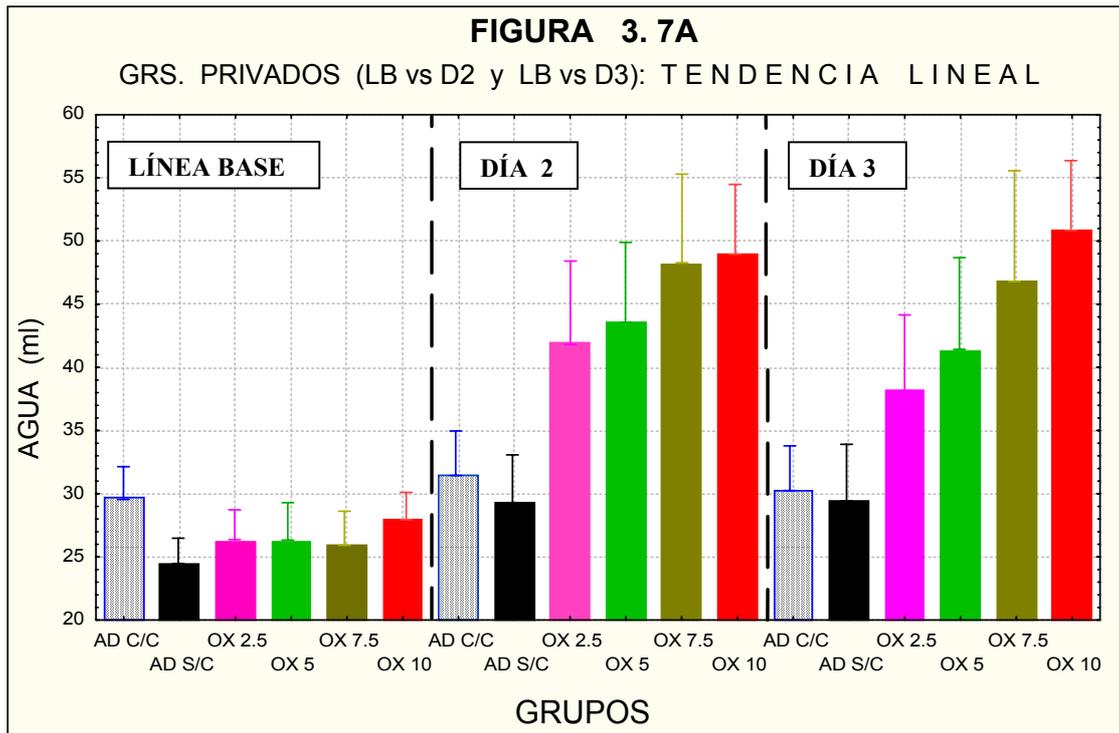


Figura 3.7A: Cantidad de agua ingerida por los 6 grupos de sujetos durante el día de línea base y los días 2 y 3.

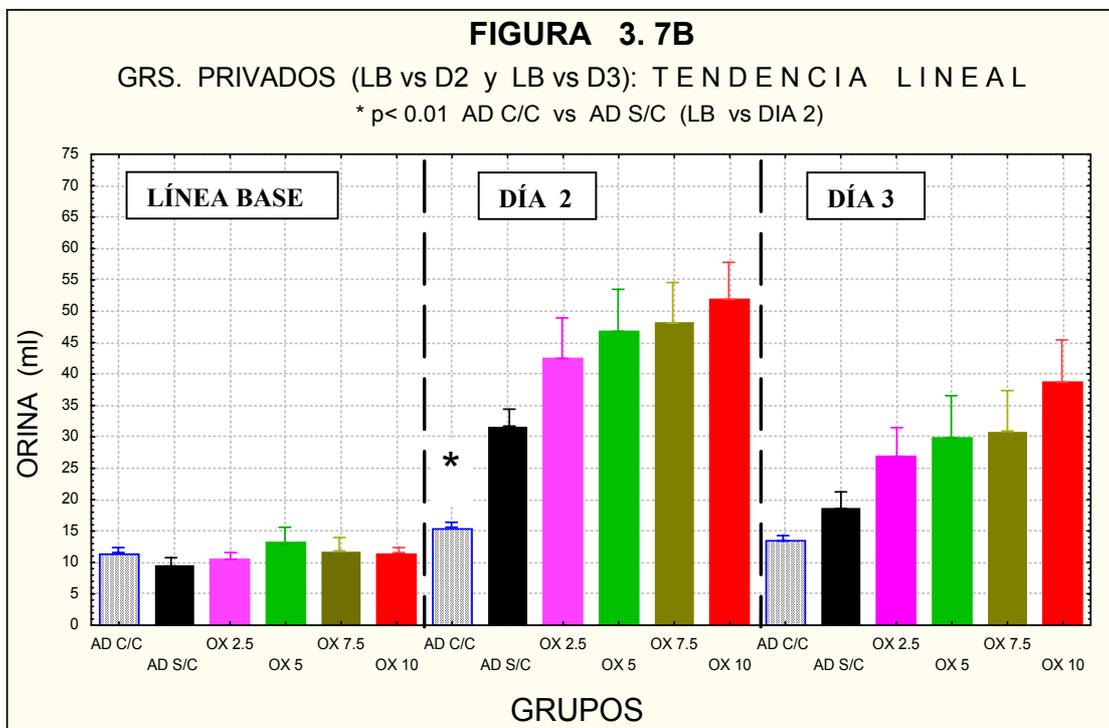


Figura 3.7B: Volumen de orina excretado por los 6 grupos de sujetos durante el día de línea base y los días 2 y 3.

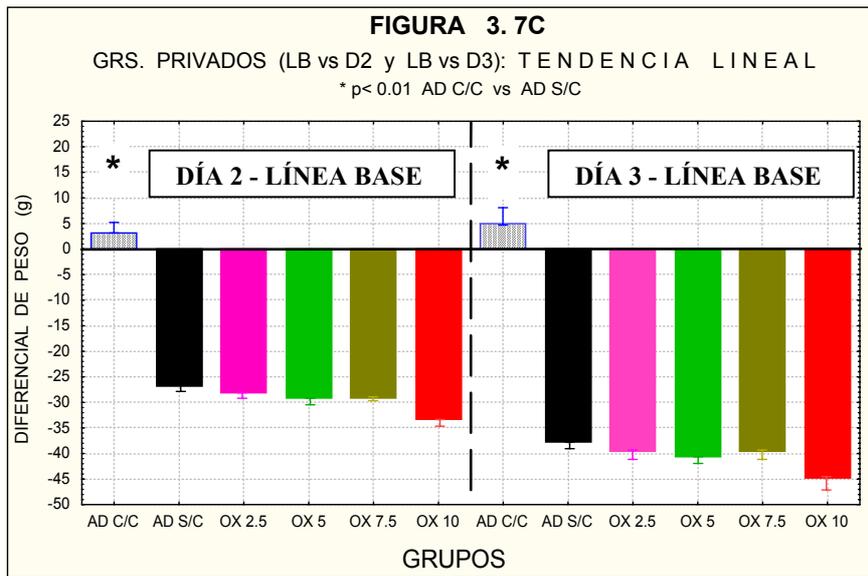
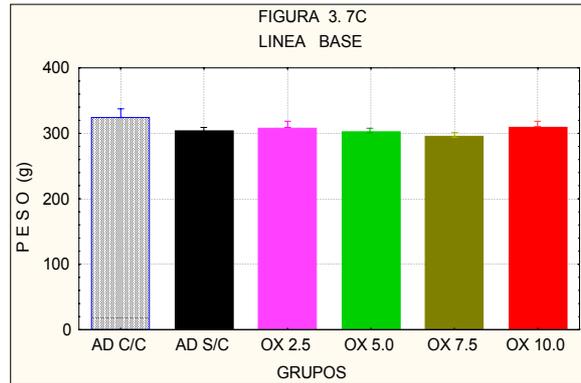


Figura 3.7C: Arriba: Peso corporal de los 6 grupos de sujetos durante el día de línea base. Debajo: Diferencial de peso corporal al comparar el día de línea base frente al día 2 y frente al día 3.

B.- Día 2 (24 horas) frente a día 3 (48 horas):

Al comparar el Día 2 frente al Día 3 se aprecian diferencias significativas en el análisis Multivariado (Rao (3,40)= 282.8; $p < 0.0001$). Durante las segundas 24 horas sin comida (día 3), se reduce el peso corporal ($F(1,42)= 649.5$; $p < 0.0001$) y el volumen de excreción ($F(1,42)=178.7$; $p < 0.0001$); aunque no se aprecian diferencias significativas, entre el día 2 y el día 3, en la ingesta de agua ($F(1,42)= 1.04$; $p < 0.32$) (ver Figura 3.6). Por grupos, las diferencias que resultan significativas afectan a los grupos control, pero no cuando se compara cada grupo de oxitocina frente a los animales del grupo control sin comida (Tabla 3.9):

DÍA 2 vs DÍA 3	Peso Corporal		Volumen de Orina		Ingesta de Agua	
	F (1,42)	p	F (1,42)	p	F (1,42)	p
<i>AD S/C vs AD C/C</i>	105.5	0.00	10.37	0.002	0.12	0.73
<i>AD S/C vs OX 2.5</i>	0.16	0.69	0.76	0.39	1.12	0.30
<i>AD S/C vs OX 5.0</i>	0.16	0.69	1.49	0.23	0.40	0.53
<i>AD S/C vs OX 7.5</i>	0.16	0.69	1.83	0.18	0.16	0.69
<i>AD S/C vs OX 10.0</i>	0.093	0.76	0.03	0.87	0.19	0.66

Tabla 3.9: Comparaciones entre los días 2 y 3 entre pares de grupos.

*** VOLUMEN HÍDRICO CORPORAL (“Agua menos Orina”):**

El ANOVA sobre la variable “Agua menos Orina” para los seis grupos de sujetos durante los tres días experimentales, muestra un efecto significativo; resultado de la interacción entre las variables “Grupos” y “Días” ($F(10,84) = 21.7$; $p < 0.01$) (**Tabla 3.10**):

EFEECTO	gl Efecto	Ms efecto	gl Error	Ms error	F	p
Grupos	5	320.500	42	65.51753	4.8918	.001290
Días	2	2802.221	84	21.73006	128.9560	.000000
Interacción	10	102.085	84	21.73006	4.6979	.000025

Tabla 3.10: Anova sobre la variable “Agua menos Orina” para los seis grupos de sujetos durante los tres días de la primera fase.

Entre pares de grupos, únicamente resulta significativo la disminución en el volumen hídrico después de 24 horas de privación de alimento (día 2) en los grupos control (AD S/C vs AD C/C) (Tabla 3.11; Figura 3.8). El valor del grupo AD S/C y el de cada grupo de Oxitocina es similar entre sí.

"AGUA menos ORINA"	Línea Base		Día 2		Día 3	
	F (1,42)	p	F (1,42)	p	F (1,42)	p
<i>AD S/C vs AD C/C</i>	1.63	0.21	30.62	0.000	3.67	0.06
<i>AD S/C vs OX 2.5</i>	0.06	0.81	0.22	0.64	0.02	0.87
<i>AD S/C vs OX 5.0</i>	0.70	0.41	0.12	0.73	0.03	0.86
<i>AD S/C vs OX 7.5</i>	0.13	0.71	0.53	0.47	2.98	0.09
<i>AD S/C vs OX 10.0</i>	0.38	0.54	0.061	0.81	0.20	0.66

Tabla 3.11: Comparación entre pares de grupos durante los días basal, día 2 y día 3 en la variable "Agua menos Orina".

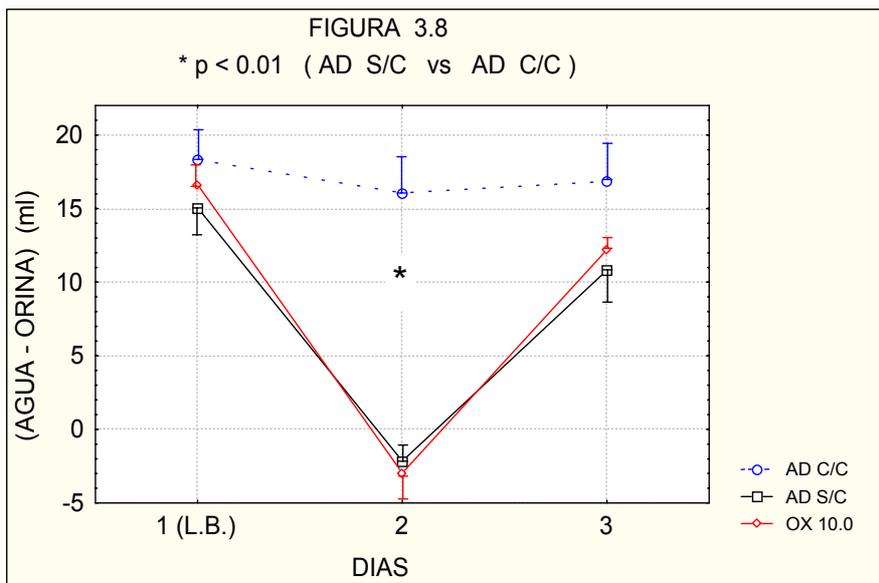


Figura 3.8: Volumen hídrico ("Agua – Orina") durante los tres días experimentales para los sujetos control y para el grupo Oxitocina 10 U.I. (se omiten, por claridad, los demás grupos de oxitocina)

ANÁLISIS DE LA SEGUNDA FASE EXPERIMENTAL

En la Tabla 2.0 (Anexo), se muestra el consumo de agua y de cada concentración de ClNa durante las dos horas de la segunda fase. El Anova realizado (sobre el consumo después de las dos horas) revela la existencia de un efecto que resulta significativo para la interacción Grupos x Concentración de ClNa ($F(15,123)= 7.55$; $p < 0.01$) (**Tabla 3.12**):

VARIABLES INDEPENDIENTES	gl efecto	MS Efecto	gl error	MS Error	F	p
Grupos	5	34.8735	41	6.952635	5.01587	.001123
Concentración ClNa	3	152.3246	123	7.549035	20.17803	.000000
Interacción	15	32.3674	123	7.549035	4.28762	.000002

Tabla 3.12: Resultados del Anova sobre la ingesta de agua y de diversas concentraciones de ClNa en los seis grupos de sujetos.

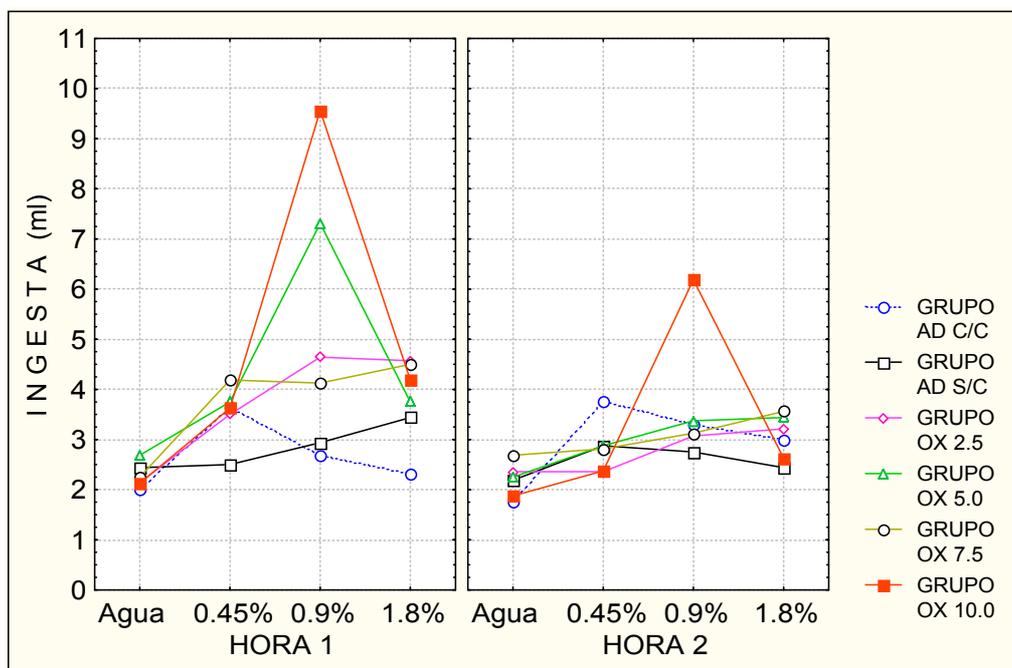


Figura 3.9: Cantidad de agua y de diversas concentraciones de ClNa consumida por los seis grupos de sujetos durante los dos tests de la segunda fase.

Los datos obtenidos muestran que la tendencia cuadrática para la concentración de ClNa (punto de inflexión o máximo para la concentración de ClNa al 0.9%) y lineal (en función de la dosis administrada) para la variable grupo, resulta significativa ($F(1,41)= 5.61$; $p< 0.022$). Dicho de otra forma, la solución preferida es el ClNa al 0.9% (ver figura 3.9) y la cantidad de fluido ingerido por cada grupo, proporcional a la dosis inyectada.

A partir de estos datos, se calcula el volumen total consumido por cada sujeto (**Figura 3.10**) y el consumo de ClNa (**Figura 3.11**). El Manova sobre ambas variables resulta significativo (Rao (10,80)= 2.60; $p< 0.008$), así como la tendencia lineal para los seis grupos de sujetos ($F(1,41)= 20.83$; $p< 0.001$ para el total de fluido ingerido y $F(1,41)=21.85$; $p< 0.001$ para el consumo de ClNa) (considerando únicamente los cinco grupos privados, los resultados también son significativos: Rao (8,66)= 2.28; $p< 0.032$; $F(1,34)= 14.9$; $p< 0.001$ y $F(1,34)= 12.8$; $p< 0.0011$ respectivamente).

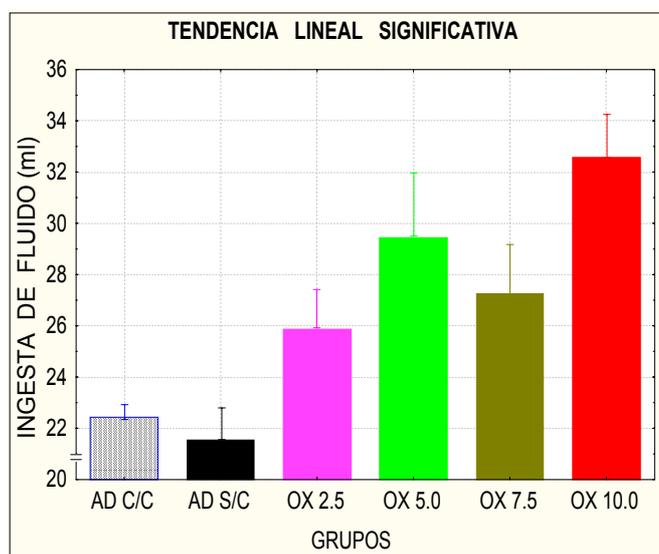


Figura 3.10: *Volumen total (ml) de líquido ingerido por cada grupo de animales.*

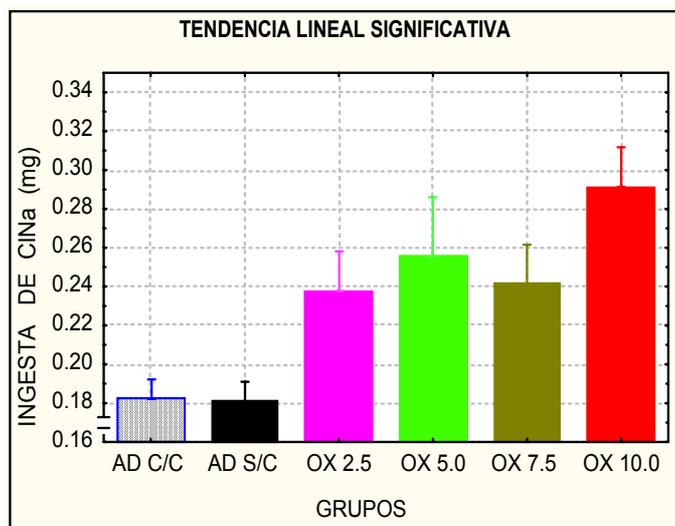


Figura 3.11: Consumo total de CINa (mg) en los 6 grupos de sujetos.

Finalmente y a partir de estos datos, también se ha calculado la **concentración media del CINa** consumido por los diferentes grupos (**Figura 3.12**). En este caso, no se observan diferencias significativas entre los 6 grupos de sujetos ($F(5,41)= 1.24$; $p< 0.308$) (la concentración media ingerida por cada grupo fue del 0.82 % para los sujetos del grupo AD C/C; 0.84% para los de AD S/C; 0.91% para los de OX 2.5; 0.87% para OX 5.0 y 0.89% para OX 7.5 y 10.0 UI).

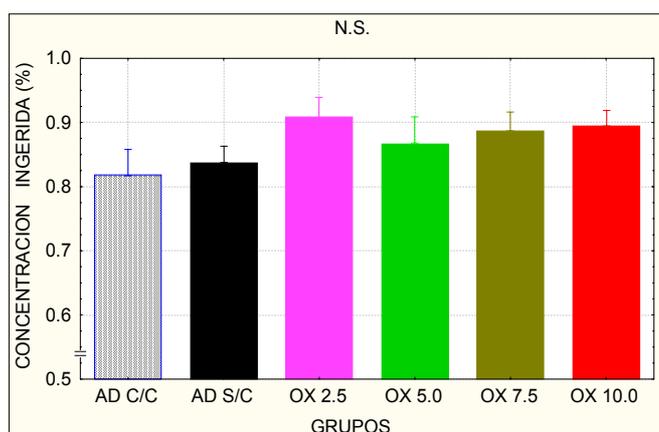


Figura 3.12: Concentración media (%) de CINa consumido por cada grupo.

DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO:

Los resultados obtenidos en el presente experimento muestran que la administración de Oxitocina en sujetos privados de alimento, promueve la excreción renal de agua y de sodio (aumentando la concentración urinaria) y potencia la ingesta de agua, a la vez que reduce el peso corporal. Estos efectos dependen linealmente de la dosis empleada. Sin embargo, la hormona no parece influir linealmente sobre la concentración urinaria (que parece similar en todos los grupos de Oxitocina con independencia de la dosis administrada), ni modificar el volumen hídrico de los animales (24 y 48 horas después de su primera administración).

Seis horas después de la primera administración de Oxitocina, se observa un incremento (dosis-dependiente) en la cantidad de sodio excretado (respecto a los sujetos únicamente privados de alimento) (figura 3.5). Este efecto natriurético ha sido previamente descrito en sujetos ad lib (Balment et al, 1980) y en ratas mantenidas con dietas hiposódicas (Verbalis et al, 1991b); además de en individuos inyectados con soluciones isotónicas (Conrad et al, 1986) e hipertónicas (Huang et al, 1995); pero no en animales privados de alimento.

Adicionalmente y durante el mismo intervalo temporal de 6 horas, el volumen de orina excretado por los grupos que reciben oxitocina (figura 3.2), aumenta de forma dosis-dependiente. Sin embargo, y a pesar de estar más concentrada que en los sujetos control, la orina excretada tiene una concentración similar en todos los grupos de Oxitocina, es decir, con independencia de la dosis empleada (figura 3.4). De esta forma, el efecto poliúrico de la hormona podría ser un proceso secundario a la excreción de ClNa y el volumen de orina excretado por cada sujeto, el que necesariamente acompaña la excreción de cualquier soluto (Guyton y Hall, 2001; Kandel et al, 1997). De esta forma, si la excreción de sodio es una respuesta dosis-dependiente, el volumen de excreción también debe serlo.

A diferencia de lo que ocurre tras administrar Oxitocina y aunque también se aumente el volumen de excreción, la privación de alimento en sujetos intactos (AD S/C), parece reducir la concentración urinaria (Bauman et al, 1964; Burlet et al, 1992; Cumming

y Morrison, 1960; Kaunitz et al, 1960; Morrison, 1967 y 1968b; Morrison et al, 1967; Oatley y Tonge, 1969; Weisinger et al, 1985), un efecto que no ha alcanzado significación estadística en el Experimento realizado pero que apunta en la misma dirección. La administración de Oxitocina, de este modo, parece interrumpir el proceso de dilución de la orina asociado a la ausencia de alimento. De esta forma, la concentración de la orina excretada por los grupos privados de alimento que reciben Oxitocina resulta, con independencia de la dosis suministrada, similar a la que excretan los sujetos mantenidos con agua y comida ad lib (AD C/C). Dicho de otra forma, la Oxitocina podría estimular la excreción de fluido extracelular en sujetos privados de alimento de forma parecida a como lo hacen los sujetos control con comida.

A pesar de la diuresis y natriuresis oxitocinérgica, la *ingesta de agua* no parece influida por la primera administración de oxitocina (datos de 6 horas) (figura 3.2). Estas modificaciones renales junto con la ausencia inicial de efectos ingestivos, permiten sugerir que la Oxitocina podría generar un descenso en el volumen hídrico corporal; como parece indicar el descenso dosis-dependiente del volumen hídrico corporal (variable "*Agua menos Orina*"). Frente al grupo control (AD S/C), este descenso resulta significativo en los sujetos que reciben la dosis más elevada de oxitocina (figura 3.3).

En resumen, los datos observados durante las primeras 6 horas, sugieren que la oxitocina genera déficits hidrominerales en sujetos privados de alimento. El déficit mineral sería resultado del efecto natriurético de la hormona (en animales que no disponen de comida para ingerir) y el déficit hídrico del efecto diurético y la no ingesta de agua.

Después de **24 y 48 horas** de privación, por el contrario, se puede observar un incremento (dosis-dependiente) en la cantidad de *agua* (figura 3.7A) consumida por los sujetos que recibieron la Oxitocina; un efecto que podría depender de la deficiencia hidromineral previa. Así, la secuencia temporal de los efectos observados sugieren que la Oxitocina desencadena, inicialmente, la pérdida de fluido y ClNa; para estimular, *posteriormente*, la ingesta de agua (polidipsia) de una forma dosis-dependiente.

A pesar del efecto polidipsico, la ingesta de agua no parece normalizar por completo el estado corporal de los sujetos que reciben oxitocina; puesto que el *peso corporal* (figura 3.7C) se ve más afectado por la privación de alimento en los grupos de Oxitocina que en los sujetos del grupo control. Este efecto podría depender del déficit mineral generado por la natriuresis oxitocinérgica, un déficit que no habría sido corregido mediante la ingesta de agua.

En resumen, la polidipsia oxitocinérgica aparece con posterioridad al efecto (diurético y natriurético) renal y podría depender de éste. Sin embargo, y a pesar de que tanto las acciones renales como la ingesta de agua (Tabla 3.7), han resultado efectos linealmente significativos o dosis-dependiente; al comparar individualmente cada grupo de Oxitocina frente al grupo control (AD S/C), la respuesta natriurética ha resultado estadísticamente significativa con dosis de 1.25 U.I. de Oxitocina (ver Tabla 3.4) mientras que la polidipsia oxitocinérgica parece requerir de más de 5 U.I. para alcanzar la significación estadística (Tabla 3.8). De esta forma, también los datos obtenidos podrían indicar que los efectos ingestivos de la oxitocina precisarían de un mayor *intervalo temporal* que las acciones renales (ya que no se observan hasta que no han transcurrido 24 horas; mientras que los efectos oxitocinérgicos renales resultan significativos 6 horas después de la primera administración) o que la polidipsia oxitocinérgica requiere de *dosis más elevadas* que los efectos natriurético y diurético (ya que el efecto ingestivo sólo se observa después de administrar una segunda dosis de la hormona).

Resulta complicado, a partir de la bibliografía disponible, poder discernir si las dosis natriuréticas y menores de la Oxitocina podrían ejercer efectos simultáneos sobre el comportamiento ingestivo o no. En condiciones fisiológicas, la privación de agua o la administración de soluciones hipertónicas podrían generar una concentración plasmática de OX de unos 32-36 pmol/l. El primer estudio realizado en esta dirección fue llevado a cabo por Dogterom y cols., en 1977. Este grupo observó que al privar de agua durante 48 horas, los niveles plasmáticos de Oxitocina alcanzaban los 36 pmol/l (Dogterom et al, 1977). Como ya es conocido, unos años después, el grupo de Balment administró soluciones hipertónicas que aumentaban la osmolaridad plasmática desde alrededor de 300 a 340 mosm/l (aumento similar al registrado por Dogterom), observando una concentración

plasmática de Oxitocina de 32 pmol/l (Balment et al, 1980). A partir de entonces, se consideró que una dosis fisiológica de Oxitocina exógena tendría que generar una concentración plasmática igual o inferior a los 32-36 pmol/l.

Sin embargo, mediante el empleo de diversos procedimientos experimentales, se han obtenido niveles plasmáticos de Oxitocina muy superiores (Tabla 3.13). Así, por ejemplo, la administración iv de 2 ml/100g ClNa (1.8%) genera una concentración de 120 pmol/l de Oxitocina en sangre, mientras que la administración de 2 ml/100g de Suero Fisiológico (también iv), provoca niveles de 80 pmol/l (Haanwinckel et al, 1995). Inyectando ClNa, se han llegado a encontrar concentraciones plasmáticas de Oxitocina de hasta 300 pmol/l (Verbalis et al, 1986) (ver Tabla 3.13).

PROCEDIMIENTO	[OT] _p (pmol/l)	REFERENCIA
1-5 ml ClNa (9%)	50	Balment et al, 1980
30% PEG (Privación agua)	130	Verbalis et al, 1986
30 % PEG + 2 ml ClNa 12%	90	
2 ml NaCl 12% ip	300	
LiCl	130	Verbalis et al, 1986b
CuSO ₄	120-160	
Apomorfina	40	
DDAVP + 2 ml ClNa (12%) ip	160	
ADX + 2 ml ClNa (6-12%) ip	69.4 (30 min. después)	Stricker y Verbalis, 1987b
ADX + Dieta defic. Sodio + ClNa	240 (30 min. después)	
5 ml PEG (30%) sc	56.9 (24 h después)	Blackburn et al, 1992
24 h PEG + Naloxona	252 (30 min. después)	
24 h PEG + 2 ml ClNa (12%)	120 (30 min. después)	
2 ml/100g ClNa (1.8%) iv	120	Haanwinckel et al, 1995
2 ml/100g SF iv	80	

Tabla 3.13: Concentraciones plasmáticas máximas de Oxitocina detectadas ante diversos tratamientos experimentales

(Abreviaturas: LiCl (cloruro de litio); CuSO₄ (Sulfato de cobre); DDAVP (Desmopresina); ClNa (Cloruro sódico); ip (intraperitoneal); iv (intravenoso); SF (Suero Fisiológico); PEG (Glicol de Polietileno (Coloide)); ADX (Adrenalectomía)).

Independientemente de la disparidad observada, estos resultados indican que la capacidad del organismo y la cantidad de Oxitocina *liberada de forma endógena* (ante diversos tratamientos relacionados), no es suficientemente conocida, resulta muy variada y en cualquier caso, puede ser muy superior a los 32 pmol/l (ver Tabla 3.13). Ello, podría

depender de un número de factores, como puede ser la propia dosis, la vía de administración o el registro realizado, entre otros (ver Tabla 3.1).

En este sentido, por ejemplo, Verbalis y colaboradores, en un estudio ya mencionado, observaron unos valores plasmáticos de Oxitocina en ese mismo rango utilizando minibombas que eran implantadas subcutáneamente con el objeto de administrar dosis de oxitocina que oscilaban entre 0.24 y 2.4 microgramos diarios (Verbalis et al, 1991b). Si bien, mientras que la dosis continuada de 0.24 microgramos diarios generó una concentración plasmática de Oxitocina (24 horas después del comienzo de la infusión) de 15.2 pmol/l, una dosis doble de la anterior (0.48 microgramos) provocó una concentración similar (de 15.0 pmol/l). Finalmente, la dosis de 2.4 microgramos diarios (diez veces superior a la de 0.24) resultó en una concentración de 72.6 pmol/l (menos de cinco veces superior a la obtenida con la dosis inferior) (ver Verbalis et al, 1991b) (ver Tabla 3.1). Estos datos, por tanto, cuestionan la existencia de una relación lineal exacta entre la dosis inyectada y la concentración plasmática de Oxitocina

La vía de administración resulta igualmente crucial y así, Balment y cols. (1980) obtuvieron una concentración plasmática de 32 pmol/l en respuesta a 0.003 microgramos de Oxitocina intravenosos. Sin embargo en un estudio más reciente, estos mismos autores (Windle et al, 1995) han observado una concentración plasmática de Oxitocina más reducida (16 pmol/l) y equivalente a la observada durante la deshidratación (ver página 443), administrando por la misma ruta 12 microgramos de oxitocina (Windle et al, 1995). Es decir, incluso mediante la vía intravenosa, los resultados obtenidos son poco concluyentes; cuestión que permanece por dilucidar.

En fin, para Uvnas-Moberg (1996), la cantidad de Oxitocina necesaria, podría depender de la conducta que se está estudiando. Así, mientras que para observar efectos ansiolíticos o para el análisis de la conducta sexual es suficiente una administración en el rango de los nanogramos, para la obtención de efectos hidrominerales, se necesita una administración del orden de microgramos de Oxitocina. De hecho, estos autores suelen utilizar alrededor de 200 microgramos (1 mg/Kg) de Oxitocina administrados subcutáneamente (ver Tabla 3.2). De forma similar, Arletti y asociados, utilizan también

dosis próximas a 150 microgramos de Oxitocina inyectados intraperitonealmente (ver Arletti et al, 1993).

Esta ausencia de consenso, pone de manifiesto la necesidad de utilizar dosis variadas de oxitocina para el estudio de los efectos hidrominerales asociados a su administración. Este tipo de aproximación permitiría, cuanto menos, conocer aspectos tales como el carácter cuantitativo (dependiente de la dosis) o cualitativo (específico para cada dosis) de los efectos que se analicen. En el experimento 3, se ha puesto de manifiesto que la administración de varias dosis (2.75; 5.5; 8.25 y 11 microgramos) de oxitocina en animales privados de alimento, ejerce efectos dosis-dependiente sobre el volumen y sobre la excreción de sodio (datos de 6 horas, previos a la segunda administración). El efecto polidíptico de la oxitocina, por su parte, ha sido observado 24 horas después del inicio de la privación de alimento y tras la administración de una segunda dosis de igual magnitud (seis horas después de la primera) (Experimentos 1, 2 y 3). De esta forma y en comparación con los sujetos del grupo control (AD S/C), la cantidad más reducida de Oxitocina que se ha empleado para observar la respuesta polidíptica en animales privados de alimento, supera los 11 microgramos (Experimento 3). Como se ha señalado previamente, la ingesta de agua inducida por Oxitocina podría requerir, por tanto, de un intervalo temporal mayor o de una dosis superior a la que se necesita para estimular las respuestas renales, o ser fruto de la excreción renal previa de agua y ClNa.

La **Segunda Fase** realizada (en relación con la ingesta de diversas soluciones con ClNa 48 horas después de la primera administración de oxitocina (figura 3.9)), podría discriminar entre esas posibilidades. La ingesta de soluciones isotónicas, como la que se observa en los grupos de Oxitocina de manera dosis-dependiente, parece apoyar la propuesta de que, además de reducir el volumen hídrico corporal, la hormona habría generado un déficit en los niveles de sodio del organismo y así, motivar la ingesta volémica de agua y sales minerales.

En el experimento aquí presentado, los animales han consumido una concentración final cercana al rango isotónico (figura 3.12) combinando la ingesta de las cuatro soluciones disponibles (agua y ClNa al 0.45; 0.9 y 1.8%). De forma similar, Cort observó

en 1963 que durante las condiciones hiponatémicas (por lesión electrolítica del hipotálamo posterior), las ratas reconocían la importancia de incrementar la ingesta de ClNa. En tests de elección entre agua, ClNa al 0.9% y ClNa al 3%, estos animales también preferían, a pesar de su estado hiponatémico, la solución isotónica, rechazando el fluido hipertónico (Cort, 1963).

En resumen, la carencia de sodio podría ser corregida adecuadamente mediante la ingesta de soluciones isotónicas; todo lo contrario de lo que se observa en situaciones de sed osmótica, durante las cuales aparece un rechazo de las soluciones con ClNa (Kutscher y Steilen, 1973; Stellar et al, 1954; Young y Falk, 1956). A pesar de ello, los datos disponibles no permiten descartar que el apetito por las soluciones isotónicas observado durante la segunda fase, sea consecuencia de un estado de hiponatremia que habría aparecido como consecuencia de la ingesta de cantidades elevadas de agua durante las 48 horas previas y en ausencia de alimento. Esta posibilidad plantea la necesidad de diseñar nuevos experimentos que permitan dilucidar la naturaleza fisiológica de los efectos oxitocinérgicos y su dependencia de la excreción renal de sodio.

DISCUSIÓN GENERAL DEL CAPÍTULO 1

En este Capítulo se ha estudiado la influencia de la Oxitocina sobre la ingesta y excreción de fluido. La administración subcutánea de esta neurohormona, incrementa la ingesta y excreción de líquido en sujetos privados de alimento (Experimentos 1 y 3) y en animales mantenidos ad lib con una dieta hiposódica (Experimento 2), pero no en los sujetos alimentados con la dieta habitual (con ClNa) (Experimento 1). Este hecho sugiere que es el consumo de sodio a través de la dieta el que podría enmascarar los efectos hidrominerales de la oxitocina.

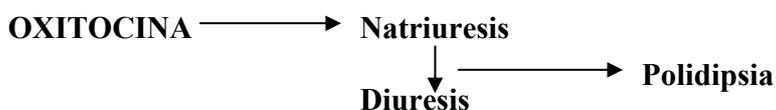
En los *sujetos privados de alimento*, la oxitocina modifica en primer lugar el **volumen** y la **concentración de la orina**. Así, *seis horas* después de administrar la hormona ya se aprecia un incremento en la excreción de sodio (**Figura 3.5**) y en el volumen de orina (**Figura 3.2**) como consecuencia de la administración de Oxitocina a las ratas privadas de alimento. Estos efectos dependen linealmente de la dosis de Oxitocina administrada, sin embargo, la concentración urinaria de los animales, resulta similar con independencia de la cantidad de Oxitocina inyectada (**Figura 3.4**). De esta forma, el *efecto diurético* podría ser secundario a la natriuresis oxitocinérgica ya que la excreción de Na^+ conlleva la salida de ClNa y agua del organismo (Guyton y Hall, 2001; Kandel et al, 1997). Al aumentar la excreción de sodio, la Oxitocina podría inactivar el mecanismo de dilución de la orina que se activa en situación de privación de comida (**Figura 3.4**). Los efectos natriurético y diurético de la Oxitocina han sido habitualmente descritos en diversas preparaciones fisiológicas (Balment et al, 1980 y 1986; Conrad, 1986; Haanwinckel, 1995; Huang, 1994; 1995 y 1996; Kadekaro et al, 1992, 1997; Stoeckel y Freund-Mercier, 1989; Schmidt et al, 1990; Verbalis et al, 1991b; Windle et al, 1995 y 1997).

En esta Tesis se ha comprobado que al tiempo que la Oxitocina modifica el proceso de excreción, también afecta al **comportamiento ingestivo**. Sin embargo, los datos disponibles, muestran que los efectos renales de la Oxitocina no se ven inicialmente acompañados de ningún cambio en la ingesta de agua (datos de 6 horas): durante este intervalo de tiempo, los sujetos del grupo OX S/C, excretan una cantidad mayor de sodio y fluido que los sujetos privados del grupo Control pero no consumen mayor cantidad de

agua (**Figura 3.2**). El efecto poliúrico de la Oxitocina y la ausencia de efectos ingestivos, provoca la pérdida de un volumen hídrico corporal (“Agua *menos* Orina”) mayor que en los sujetos privados del grupo control (**Figura 3.3**).

La ausencia de efectos ingestivos iniciales contrasta con el incremento en la ingesta de agua, que se observa *24 y 48 horas* después de administrar la hormona, tanto en sujetos privados de alimento (Experimento 1: **figura 1.4A**; Experimento 3: **figura 3.7A**) como en animales mantenidos con dietas hiposódicas (Experimento 2; **figura 2.4A**).

Considerando todos estos resultados de manera conjunta, es decir, los efectos natriurético y diurético y la ausencia de efectos ingestivos iniciales, se podría proponer a la pérdida de volumen hidromineral como la causa primaria del desequilibrio regulatorio orgánico y desencadenante de la polidipsia posterior. Es decir,



La pérdida de agua y sales minerales (hipovolemia), activa la ingesta de agua y sales minerales y en este sentido, la Oxitocina no sólo estimula la ingesta de agua (Experimentos 1 y 3), también aumenta el consumo de soluciones isotónicas (Segunda Fase del tercer Experimento) (**Figura 3.10**). La secuencia de efectos presentada, parece apuntar pues al efecto natriurético de la Oxitocina como desencadenante y factor primario de la respuesta polidíptica.

Una posible relación entre la ingesta de agua, la natriuresis oxitocinérgica (y su efecto sobre los niveles corporales de sodio), se ha observado a través de diversos estudios clínicos. Así, Yeu-Wang y colaboradores han descrito el caso de mujeres embarazadas con un cuadro de intoxicación por agua e hiponatremia como consecuencia de la administración de Oxitocina (Yeu-Wang, et al, 2000). De hecho, la administración de esta hormona se ha propuesto como una de las causas de los estados hiponatémicos (Adrogué y Madias, 2000).

Los efectos ingestivos de la Oxitocina constituyen un tema por dilucidar dada la presencia de resultados dispares. Para Stricker y Verbalis, esta hormona podría inhibir la ingesta de agua y ClNa, sin embargo, al inyectar un coloide en ratas pretratadas con Oxitocina y mantenidas con dietas hiposódicas, obtuvieron el efecto contrario (Stricker y Verbalis, 1987b). Los resultados de la presente Tesis Doctoral muestran que de por si sola, la Oxitocina estimula la ingesta de agua en sujetos mantenidos con dietas hiposódicas (Experimento 2) y sugieren que el efecto natriurético que la hormona ejerce en este tipo de condición alimenticia (Verbalis et al, 1991b), podría potenciar el efecto volémico del coloide y la ingesta de ambos fluidos (Stricker y Verbalis, 1987b).

Para otros autores, por el contrario, la oxitocina no modificaría la ingesta de agua (Olson et al, 1991; Uvnäs-Moberg, 1996). Sin embargo, en ambos casos, los animales empleados en estos estudios disponían ad lib del alimento habitual (con ClNa). Los datos obtenidos en los *animales con comida disponible* del Experimento 1, confirman estos resultados (**ver Figura 1.4A**). De forma análoga, la dieta habitual parece reducir la capacidad natriurética de la Oxitocina (Balment et al, 1980).

En contra de estos resultados Arletti y asociados sugieren que la Oxitocina inhibe la ingesta de agua en animales mantenidos ad lib con la dieta habitual (Arletti et al, 1989 y 1990 y Benelli et al, 1991). Sin embargo, estos autores suministran intraperitonealmente 150 microgramos de Oxitocina (ver Arletti et al, 1993, página501), unas dosis superiores a las usadas en los experimentos del presente capítulo y posiblemente suprafsiológicas (ver Olson et al, 1991) puesto que el comportamiento ingestivo es registrado inmediatamente después (y durante 15 minutos) de finalizar la administración de la hormona (Arletti et al, 1990).

A pesar de su efecto sobre la ingesta y excreción de agua, la Oxitocina no parece modificar (después de 24 y 48 horas) el volumen hídrico corporal, ya que la variable “**Agua menos Orina**” es similar en los grupos de Oxitocina y en el grupo control sin comida. Así, el volumen hídrico corporal (“Agua menos Orina”) se ve afectado por la privación de comida (que aumenta la pérdida de fluido del organismo), pero no por la administración de la hormona (Experimento 1: **figura 1.6**; Experimento 3: **figura 3.8**).

De esta forma, el descenso en el volumen hídrico de los sujetos (control y oxitocina) privados de alimento durante 24 horas, es de magnitud similar. Sin embargo, y dado que seis horas después de su primera administración, la oxitocina había reducido el volumen hídrico corporal de los sujetos (“Agua *menos* Orina”) (**figura 3.3**), este descenso inicial en el volumen hídrico corporal ha de ser invertido con posterioridad; una posibilidad que será abordada en los siguientes experimentos.

En resumen, los resultados obtenidos sugieren que la oxitocina incrementa la ingesta de agua en sujetos privados de alimento (Experimento 1 y 3) y en animales mantenidos ad lib con dietas hiposódicas (Experimento 2), pero no si la dieta disponible cuenta con ClNa (Experimento 1). Los efectos ingestivos de la Oxitocina podrían depender de su efecto renal excretor y de la ausencia de sodio en la dieta, y por tanto, de un efecto volémico o al menos, de alguna alteración relacionada con el metabolismo del sodio. Desde este punto de vista, si fuese cierto que el efecto comportamental de la oxitocina depende de la pérdida de sodio, la administración de ClNa podría suprimir el comportamiento hiperdipsico de los animales que reciben Oxitocina.

CAPÍTULO 2: INVERSIÓN DE LA **POLIDIPSIA OXITOCINÉRGICA Y** **EVOLUCIÓN DEL VOLUMEN HÍDRICO** **CORPORAL.**

INTRODUCCIÓN: EFECTOS DEL ClNa SOBRE LA **INGESTA OSMÓTICA Y VOLÉMICA DE AGUA**

En un contexto general, los dos factores desencadenantes de la sed más investigados en el ámbito de la homeostasis hidromineral, han sido la deshidratación intra-celular (sed osmótica) y el descenso del volumen extra-celular (sed volémica).

La **deshidratación celular**, cursa con unos niveles elevados de sodio corporal que comportamentalmente, provoca el rechazo de las soluciones con cloruro sódico (Kutscher y Steilen, 1973; Stellar et al, 1954; Young y Falk, 1956). Así, las ratas osmóticamente sedientas prefieren agua antes que sustancias que incluyan ClNa y cuando de hecho han de escoger entre dos soluciones con ClNa, seleccionan aquella que está menos concentrada (Young y Falk, 1956).

La sed y la consiguiente retención renal de fluido que se produce tras la administración de soluciones hipertónicas (Balment et al 1980; Brimble y Dyball, 1977; Briski y Brandt, 2000; Cheng y North, 1986; Dogterom, 1977; Gilman, 1937; Huang et al., 1995; Hussy et al., 2000; Kadekaro et al., 1995; Mckinley y Oldfield, 1994; Miyata et al., 2001; Morris et al., 1984; Rinaman et al., 1995; Robertson, 1983; Sandgaard et al., 2000; Stricker et al., 1987b; Stricker y Sved, 2000; Verbalis et al., 1991b; Verbalis y Stricker, 2000; Voisin et al., 1999; Weitzman et al., 1978), también se observa en sujetos privados de alimento. Así, la administración de una determinada concentración de ClNa estimula la ingesta de una cantidad de agua similar tanto en los animales privados de comida como en los sujetos mantenidos ad lib (Oatley y Tonge, 1969).

Por el contrario, la **sed volémica** conlleva la pérdida de sales minerales y en este caso, la ingesta de agua está asociada con el apetito y consumo de ClNa (Fitzsimons, 1979 y 1998; Johnson et al., 1997; McCance, 1938; Phillips et al., 1998; Rolls y Rolls, 1982; Share, 1988; Share y Schneider, 2000; Verbalis y Stricker, 2000). En efecto, el fluido que se pierde en estas situaciones es isotónico; con lo cual, la osmolaridad plasmática de los individuos hipovolémicos no se modifica (Fitzsimons, 1961b; Peters, 1980; Verbalis y Stricker, 2000). Como el organismo debe corregir el déficit de agua y también el de ClNa, cuando los sujetos hipovolémicos disponen de suero fisiológico o de ClNa hipertónico y agua, toman la cantidad de líquido isotónico suficiente para restaurar el volumen y la composición extracelular (Kutscher y Steilen, 1973; Stricker y Jalowiec, 1970).

En resumen, el comportamiento de ingesta o no de soluciones con diversas concentraciones de ClNa, se convierte en una variable dependiente clarificadora a la hora de dilucidar si la ingesta de agua está motivada por déficits volémicos o por incrementos en la tonicidad plasmática (sed osmótica).

EXPERIMENTO 4: EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE OXITOCINA SOBRE LA INGESTA Y RETENCIÓN DE AGUA: REPERCUSIONES REGULATORIAS DE LA DISPONIBILIDAD Y CONSUMO DE SOLUCIONES SALINAS HIPERTÓNICAS.

En el Capítulo 1 se ha propuesto que el sodio es el constituyente esencial de la dieta a la hora de explicar los efectos de la Oxitocina y que la natriuresis, podría constituir el mecanismo regulatorio primario en el comportamiento hiperdipsico que esta hormona genera en los sujetos privados de alimento. Asimismo, se ha sugerido que la oxitocina podría estimular la ingesta de agua al desencadenar déficits volémicos o quizá simplemente por alguna alteración específica en el metabolismo del sodio.

La respuesta natriurética de la oxitocina en animales privados de alimento es un efecto dosis-dependiente (Experimento 3) y la eliminación de sodio conlleva la excreción simultánea de cloro y agua (Guyton y Hall, 2001; Kandel et al, 1997; Rose, 1994). El fluido excretado por los sujetos privados de alimento que reciben Oxitocina parece ser isotónico, ya que, como se ha visto (Experimento 3), estos animales excretan una orina con una concentración similar a la que se observa en los sujetos del grupo control con comida. Así pues, la administración de Oxitocina en sujetos privados de alimento podría reducir el volumen de fluido extracelular (hipovolemia), como consecuencia de la excreción conjunta de ClNa y agua.

Siguiendo un planteamiento teórico característico de la sed volémica, la hipovolemia oxitocinérgica debería estimular la ingesta de soluciones isotónicas, tal y como se observó en la segunda fase del Experimento 3. En este Experimento 4 se pretenden examinar las consecuencias que la disponibilidad y el consumo de soluciones hipertónicas tienen sobre la polidipsia que se aprecia al administrar oxitocina en ratas privadas de alimento. Otras especies animales como el conejo, responden a la administración o la ingesta de soluciones hipertónicas reduciendo la respuesta consumatoria que se manifiesta

durante la privación de comida (Cizek, 1961; Cizek et al, 1966; Holmes y Cizek, 1951; Huang, 1956; Kutscher y Steilen, 1973).

Además de examinar los factores implicados en la polidipsia oxitocinérgica, este experimento pretende estudiar las consecuencias de la acción de la Oxitocina a lo largo del tiempo (time course). En el Experimento 3 se ha observado que, 6 horas después de su primera administración, la Oxitocina reduce el volumen hídrico (“Agua *menos* Orina”) de los animales. Sin embargo, después de 24 horas, la administración de Oxitocina no parece modificar el volumen hídrico de los sujetos (Experimentos 1 y 3). Estos datos sugieren que, durante el intervalo temporal intermedio entre ambos registros, la Oxitocina habría ejercido el efecto contrario, es decir, habría aumentado el volumen hídrico de los animales. Esta posibilidad se ve respaldada por los resultados de algunos estudios que, registrando diversas variables dependientes, han observado que la Oxitocina ejerce *efectos opuestos* con el paso del tiempo y concretamente, el de Björkstrand y Uvnäs-Moberg (1996) (con la ingesta de alimento y el peso corporal), el de Lokrantz y asociados (1997) (con la ingesta intraoral de glucosa), y más recientemente el de Petersson y colaboradores (1999) (con la presión arterial). En este experimento se examina, en función de la disponibilidad o no de alimento, el comportamiento ingestivo, la excreción de orina, el volumen hídrico y el peso corporal de los animales *12 y 24 horas* después de la primera administración de Oxitocina.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS:

- Analizar la evolución de la administración de Oxitocina sobre la ingesta y excreción de orina y sobre el volumen hídrico corporal (“Agua *menos* Orina”).
- Estudiar las repercusiones de la disponibilidad de soluciones hipertónicas de cloruro sódico sobre la polidipsia oxitocinérgica en sujetos privados de alimento. Se considera que el consumo de estas soluciones salinas debería reducir el efecto hiperdípico sobre la ingesta de agua inducido por la hormona.

MÉTODO:

SUJETOS Y GRUPOS:

Se han empleado en este experimento 28 ratas Wistar macho que fueron aleatoriamente asignadas a uno de los siguientes grupos: AD S/C; OX S/C; AD C/C y OX C/C (n=7 para cada grupo). Las condiciones generales restantes fueron las mismas que en los experimentos anteriores.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL:

Tras un período de adaptación al laboratorio, los animales son alojados en jaulas de metabolismo con agua y comida ad lib durante 24 horas (Línea Base). Una vez transcurrido ese período, se retira la comida a la mitad de sujetos. La otra mitad se mantiene con agua y comida ad lib. A su vez, la mitad de cada uno de esos grupos (con y sin comida), recibe un total de 1 ml de Oxitocina s.c. (10 U.I.) ó 1 ml de Agua Destilada, repartido en dos dosis de 0.5 ml que se administran a las 8:30 y a las 14:30 horas, es decir, de manera análoga a la descrita en los experimentos anteriores.

Doce horas después de la primera inyección y ya en el período de oscuridad, se registra¹ la ingesta de agua, el volumen de orina y el peso corporal de los animales (*comportamiento regulatorio durante el ciclo de luz*).

A continuación, se añade en la jaula metabólica un depósito de agua con cloruro sódico al 1.5%, además del agua propiamente dicha y, doce horas después, se registra de nuevo la ingesta de agua y de ClNa, el volumen de orina excretado y el peso corporal (*comportamiento regulatorio durante el ciclo de oscuridad*).

¹ Dado que estas ratas Wistar son albinas y con el objeto de interrumpir en el menor grado posible con el ciclo de oscuridad (durante el que estos roedores permanecen activos), se usó luz roja para el registro e inyecciones nocturnos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Como se ha indicado anteriormente, uno de los objetivos de este experimento, es comprobar si la ingesta de ClNa hipertónico puede reducir la polidipsia oxitocinérgica que se observa en sujetos privados de alimento. Por ello, las variables independientes de este experimento han sido las mismas que en los experimentos anteriores: la sustancia inyectada (Oxitocina-Agua Destilada) y la disponibilidad de comida (grupos con comida y grupos sin comida).

Para el Análisis estadístico del *Comportamiento Regulatorio durante el período de inactividad (ciclo de luz)*, se realizan dos análisis multivariados. El primero de ellos (Manova 2x2) con la ingesta de agua y el volumen de orina excretado como variables dependientes y el segundo (Manova 2x2) para las variables “Agua menos Orina” y “cambio en el peso corporal”².

Por su parte, para el análisis del *Comportamiento Regulatorio durante el período de actividad (oscuridad)*, cuando los animales disponen de agua y ClNa, se emplea un Manova 2x2 con las mismas variables independientes y con la ingesta de agua, de ClNa hipertónico y el volumen de orina, como variables dependientes.

A partir de la ingesta de ambos fluidos (agua y ClNa), se ha calculado la concentración media de ClNa ingerido (variable que se analiza mediante un Anova para los 2x2 grupos de sujetos). No pudo analizarse, durante este período, la variable “Agua menos Orina” (dada la presencia de ClNa).

Inicialmente se analiza el día de línea base (ad lib) con el objeto de examinar la existencia de diferencias previas entre los grupos de animales. En todos los casos, se usan Comparaciones Planeadas para el estudio de los efectos significativos.

² Se incluyen las dos variables dependientes dada la previsible relación entre ambas (al menos en los sujetos privados de alimento): si los sujetos pierden un volumen de fluido importante y no ingieren la misma o una cantidad superior de agua (valor negativo de “Agua menos Orina”), perderán peso. En el polo opuesto, cuando el ingreso de fluido supera a su pérdida (valor positivo de “Agua menos Orina”), el peso corporal podría cambiar en el mismo sentido.

RESULTADOS:

La **Tabla 4.0** (ver Anexo) muestra las medias y desviaciones típicas obtenidas en este experimento.

ANÁLISIS DE LINEA BASE

El Manova para la ingesta de agua, comida y peso corporal en condiciones basales, señala la ausencia de diferencias significativas entre los cuatro grupos de animales (Rao (9, 43)=1.00; $p < 0.450$) (**Figura 4.1**).

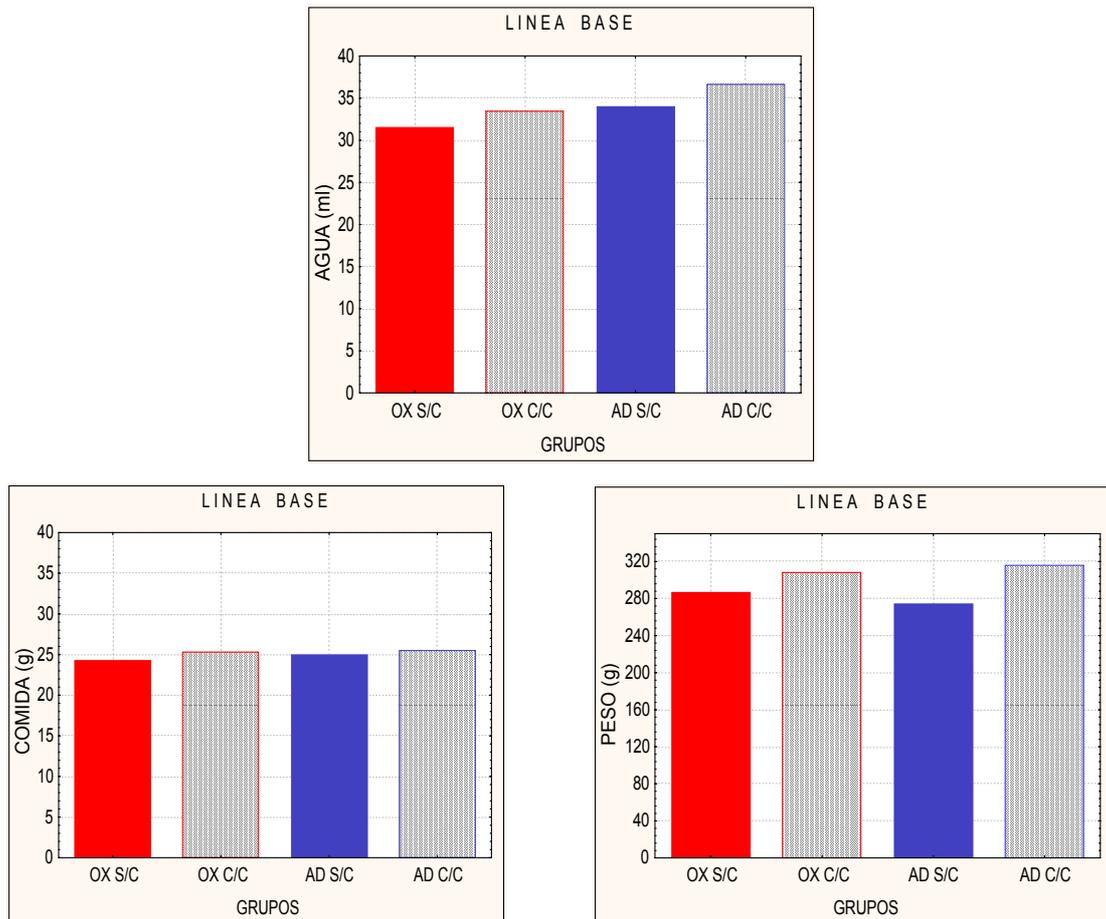


Figura 4.1: Ingesta de agua, comida y peso corporal durante 24 horas en situación ad lib.

**ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO REGULATORIO DIURNO
(12 PRIMERAS HORAS)**

• **INGESTA DE AGUA Y VOLUMEN DE ORINA:**

El Manova con los datos de la ingesta de agua y de la excreción de orina durante el ciclo de luz (12 horas), muestra un efecto significativo para la interacción de las dos variables independientes (Rao (2,23)= 3.8; $p < 0.04$) (Tabla 4.2 y Figura 4.2):

VARIABLES	Lambda de Wilk's	Rao's R	gl 1	gl 2	p
SUSTANCIA	.503525	11.33898	2	23	.000374
COMIDA	.568729	8.72052	2	23	.001518
INTERACCIÓN	.752292	3.78661	2	23	.037883

Tabla 4.2: Manova sobre la ingesta y excreción de agua durante las 12 horas de luz para los 2 x 2 grupos de sujetos.

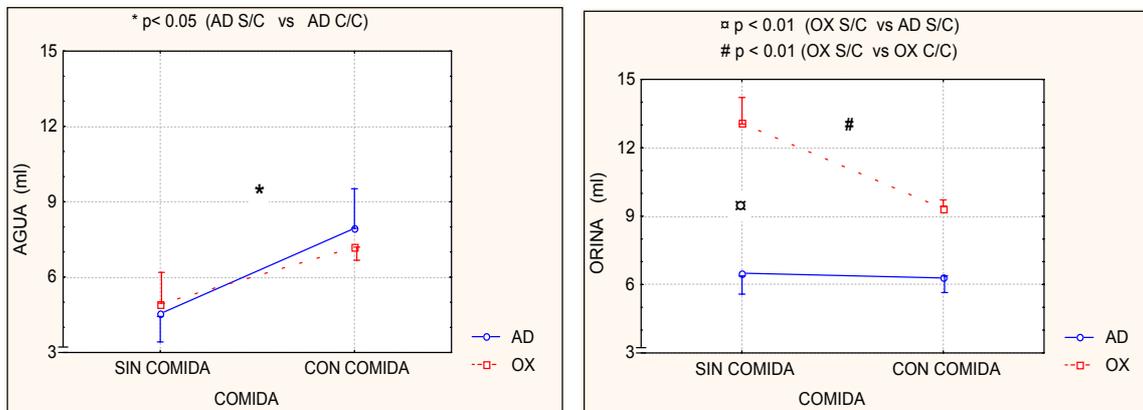


Figura 4.2: Efecto de la privación de alimento y/o administración de oxitocina sobre la ingesta de agua y el volumen de excreción durante el periodo de inactividad (12 h luz).

La *ingesta de agua* difiere únicamente en los grupos control: los sujetos privados de comida, consumen menos agua que el grupo control con comida ($F(1,24) = 4.31$; $p < 0.05$). El *volumen de orina* excretado, por el contrario, difiere significativamente entre los dos grupos de Oxitocina (el grupo sin comida excreta un volumen de orina superior

($F(1,24)=17.22$; $p < 0.001$); y entre los dos grupos Sin Comida (el grupo de Oxitocina excreta un volumen de orina superior ($F(1,24)= 28.75$; $p < 0.001$)).

Entre los grupos mantenidos ad lib, no se observan diferencias significativas en la cantidad de comida ingerida durante este período de tiempo ($F(1,12)= 2.42$; $p < 0.15$) (ver Anexo).

• **VOLUMEN HIDRICO ORGÁNICO Y PESO CORPORAL:**

El Manova sobre las variables dependientes “Agua menos Orina” y “Diferencial de peso” doce horas después del inicio de la privación y de la primera administración, muestra significación para los efectos principales, pero no para la interacción de las dos variables independientes (**Tabla 4.3 y Figura 4.3**):

VARIABLES INDEPENDIENTES	Rao	gl 1	gl 2	p
Comida	14,69459	2	23	,000077
Sustancia	6,52235	2	23	,005704
Interacción	,99241	2	23	,386005

Tabla 4.3: Manova sobre el volumen hídrico y peso corporal durante las 12 horas de luz para los 2 x 2 grupos de sujetos.

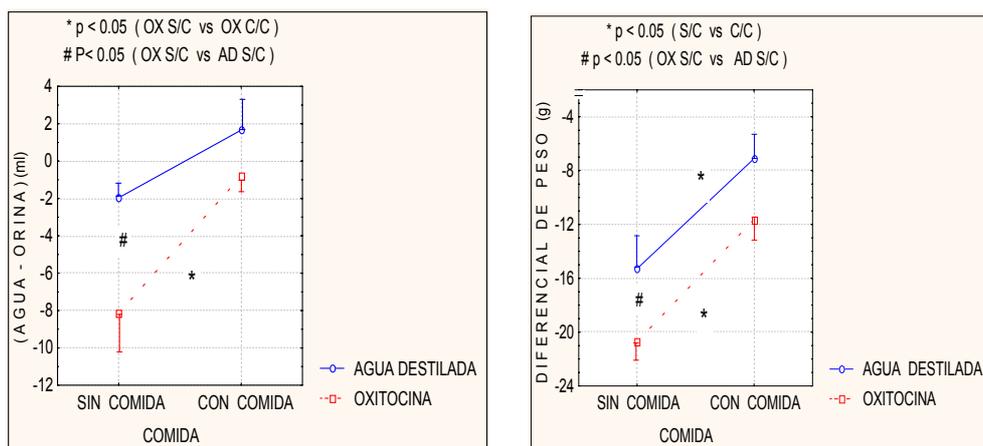


Figura 4.3: Efecto de la privación de alimento y/o administración de oxitocina sobre el volumen hídrico y sobre el peso corporal durante el período de inactividad (12 h luz).

La *privación de alimento* (grupos con comida vs grupos sin comida) reduce el valor de la variable “Agua menos Orina” y genera un descenso del peso corporal (Rao (2,23)= 14,69; $p < 0,001$: $F(1,24)= 16,97$; $p < 0,001$ para la relación “Agua menos Orina” y $F(1,24)= 25,46$; $p < 0,001$ para el diferencial de peso). Por su parte y de forma similar (Rao (2,23)= 6,52; $p < 0,006$), la *administración de Oxitocina* (grupos de oxitocina vs grupos de agua) también reduce la la relación “Agua menos Orina” ($F(1,24)= 10,56$; $p < 0,004$) y el peso corporal ($F(1,24)= 8,45$; $p < 0,008$). En la Tabla 4.4, se muestran los efectos significativos entre pares de grupos (ver también la figura 4.3):

Tabla 4.4	“AGUA menos ORINA”		DIFERENCIAL DE PESO	
	F (1,24)	p	F (1,24)	p
OX S/C vs OX C/C	15.25	0.001	14.11	0.001
AD S/C vs AD C/C	3.7	0.068	11.4	0.003
OX S/C vs AD S/C	10.8	0.004	5.04	0.035
OX C/C vs AD C/C	1.70	0.204	3.48	0.08

Tabla 4.4: Comparación entre pares de grupos.

ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO REGULATORIO NOCTURNO (12 HORAS DE OSCURIDAD)

- **INGESTA DE AGUA Y ClNa Y VOLUMEN DE ORINA:**

El Manova con los datos de la ingesta de agua, del fluido hipertónico y de la excreción de orina durante las horas de oscuridad, muestra un efecto significativo para la interacción de las dos variables independientes (**Tabla 4.5 y Figura 4.4**):

VARIABLES	Lambda de Wilk's	Rao's R	gl 1	gl 2	p
SUSTANCIA s.c.	,322214	15,42584	3	22	,000013
COMIDA	,266194	20,21549	3	22	,000002
INTERACCIÓN	,536733	6,32958	3	22	,002934

Tabla 4.5: Manova sobre la ingesta de agua y ClNa y sobre la excreción de agua durante las 12 horas de oscuridad para los 2 x 2 grupos de sujetos.

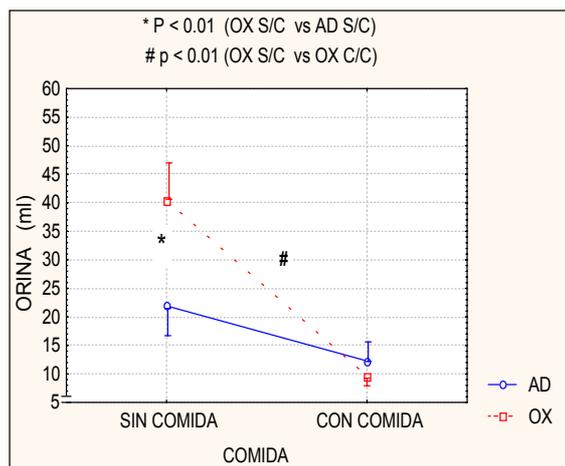
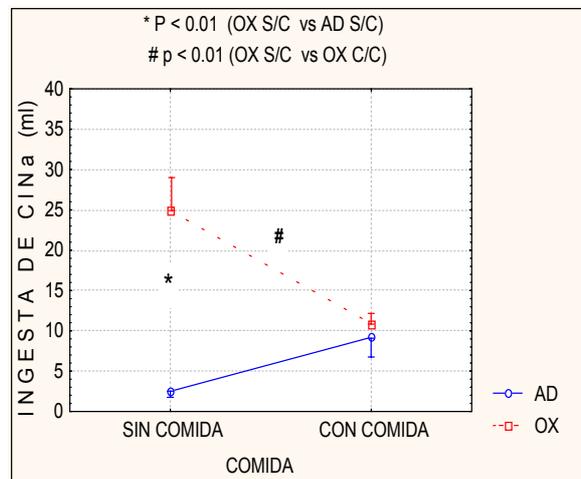
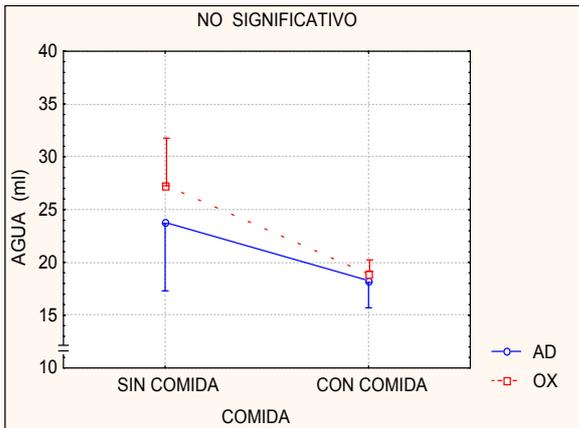


Figura 4.4: Efecto de la privación y/o Oxitocina sobre la ingesta de agua (figura 4.4A), CINA (figura 4.4B) y sobre el volumen de orina (figura 4.4C) excretado durante las horas de actividad (período de oscuridad).

Como se muestra en la figura anterior y en relación al **efecto de la Oxitocina (OX S/C vs OX C/C)**, se obtienen diferencias significativas en el análisis Multivariado (Rao (3,22)= 12.93; $p < 0.001$). El grupo privado de comida, ingiere una cantidad de ClNa (F(1,24)= 17.10; $p < 0.001$) y excreta un volumen de orina (F(1,24)= 24.99; $p < 0.001$) superior al grupo que dispone de comida. Sin embargo hay que destacar que no se observan diferencias significativas en la ingesta de agua (F(1,24)= 2.07; $p < 0.163$).

El grupo OX S/C también muestra un comportamiento diferente al grupo de AD S/C (**OX S/C vs AD S/C**) (Rao (3,22)= 19.55; $p < 0.001$) y concretamente un consumo más elevado de ClNa (F(1,24)= 43.71; $p < 0.001$) y un mayor volumen de excreción (F(1,24)= 9.03; $p < 0.006$); sin que se observen diferencias significativas en la ingesta de agua (F(1,24)= 0.36; $p < 0.552$).

Entre los dos grupos **mantenidos ad lib (AD C/C vs OX C/C)** no se aprecian diferencias significativas: Rao (3,22)= 2.20; $p < 0.116$ (F(1,24)= 0.01; $p < 0.917$ para la ingesta de agua, F(1,24)= 0.25; $p < 0.619$ para la ingesta de ClNa y F(1,24)= 0.18; $p < 0.671$ para el volumen de orina).

Finalmente, entre los **grupos de Agua Destilada** (con y sin comida), se observan diferencias en el Multivariado (Rao (3,22)= 13.62; $p < 0.001$) que no alcanzan a ser significativas cuando se comparan los dos grupos individualmente (F(1,24)= 0.89; $p < 0.355$ para la ingesta de agua; F(1,24)= 3.89; $p < 0.060$ para el consumo de ClNa y F(1,24)= 2.45; $p < 0.130$ para el volumen de orina excretado) (ver figura 4.4).

La suma de ambos fluidos (agua y ClNa) ingeridos, representa el **consumo total** de cada sujeto. El análisis de esta variable resulta significativo para la interacción de las dos variables independientes (“sustancia” y “comida”) (F(1,24)= 6.7; $p < 0.017$). La ingesta total del grupo **OX S/C** es superior a la del grupo de control sin comida (F(1,24)= 16.10; $p < 0.001$) y a la del grupo de oxitocina con comida (F(1,24)= 12.07; $p < 0.002$). No se aprecian diferencias estadísticas entre los dos grupos control ni entre los grupos con comida (**Figura 4.5**).

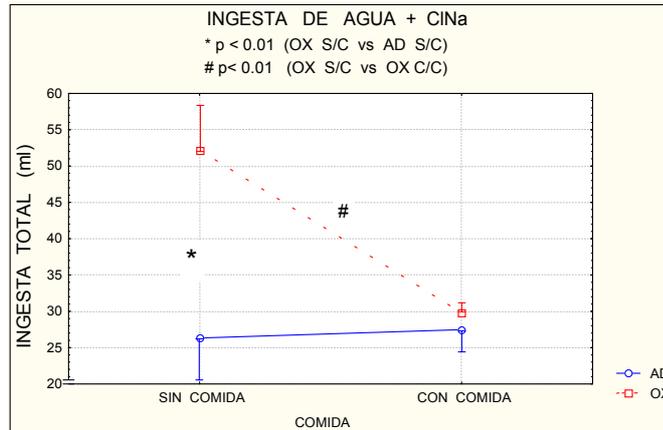


Figura 4.5: Efecto de la privación de alimento y de la administración de Oxitocina sobre el consumo total (agua + ClNa), durante las 12 horas de actividad.

Por último, a partir de los datos del consumo de ambos fluidos (agua y ClNa al 1.5%), se calcula la **concentración media del ClNa ingerido**. El Anova realizado sobre esta variable dependiente resulta significativo para la interacción de las variables independientes “Sustancia” y “Comida” ($F(1,24)= 6.7$; $p < 0.017$). En este caso, el grupo de OX S/C ingiere una concentración media superior que la de los grupos OX C/C ($F(1,24)= 12.07$; $p < 0.002$) y AD S/C ($F(1,24)= 16.10$; $p < 0.001$) (**Figura 4.6**).

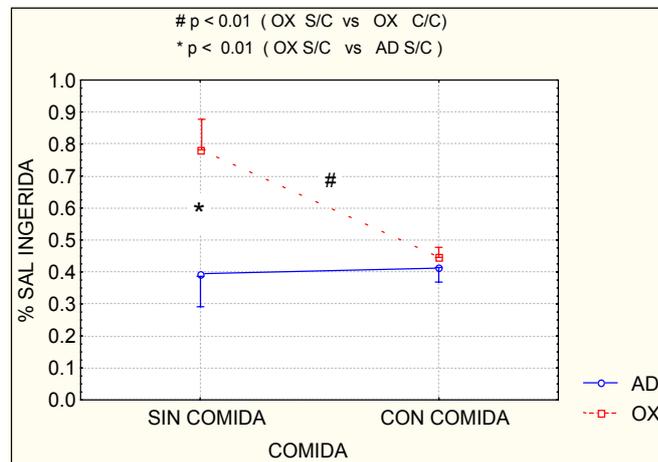


Figura 4.6: Efecto de la privación de alimento y/o administración de oxitocina sobre la concentración del ClNa ingerido durante las horas de actividad.

Entre los grupos mantenidos ad lib, no se observan diferencias significativas en la cantidad de *comida* ingerida durante este período de tiempo ($F(1,12)= 0.62$; $p < 0.45$) (ver Anexo).

DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO:

Los resultados obtenidos en este experimento ponen de manifiesto la evolución de los efectos de la privación de alimento y de la administración de Oxitocina, por una parte y, por otra, el efecto de la ingesta de ClNa sobre la polidipsia oxitocinérgica.

- **Efecto de la privación de alimento y de la administración de oxitocina, sobre diversas variables regulatorias hidrominerales durante el ciclo de inactividad de los animales (período de luz):**

Durante el ciclo de luz (12 primeras horas) se observa que los dos grupos privados de comida (AD S/C y OX S/C) ingieren una menor cantidad de *agua* que sus respectivos grupos de control con comida (Figura 4.2A). Adicionalmente, el grupo OX S/C excreta un *volumen de orina* significativamente superior al de sus grupos control (AD S/C y OX C/C) (Figura 4.2B). Estos efectos ya han sido observados previamente y relacionados, respectivamente, con la ingesta de agua en asociación con el consumo de alimento (por parte de los grupos con comida) y con el efecto natriurético-diurético de la Oxitocina en los sujetos sin comida.

Adicionalmente, durante este intervalo temporal de 12 horas, tanto la privación de alimento como la administración de Oxitocina, parecen reducir el *volumen hídrico corporal* y el *peso* de los animales (Tabla 4.2 y Figura 4.3). Con respecto a la *oxitocina* (considerando su efecto diurético y la ausencia de efectos ingestivos iniciales), se había sugerido que esta hormona debería reducir el volumen hídrico corporal; un efecto que resultó significativo 6 horas después de la administración de 5 U.I. de Oxitocina (ver Tabla 3.3 del Experimento 3) y que ahora, 12 horas después de la primera administración de oxitocina (con un total de 10 U.I. suministradas en dos dosis), vuelve a repetirse.

En este estudio también se pone de manifiesto que la Oxitocina ejerce efectos diferenciales sobre la variable “Agua *menos* Orina” a lo largo del tiempo, de manera

análoga a como habían sugerido algunos autores registrando otras variables dependientes (Björkstrand y Uvnäs-Moberg, 1996; Lokrantz et al, 1997; Petersson et al, 1999). En el caso del volumen hídrico corporal, si bien durante el período de inactividad los animales con oxitocina disponen de un volumen hídrico menor que el de los sujetos control (Experimento 4: figura 4.3), éste podría normalizarse después de 24 horas (como sugieren los Experimentos 1 y 3). Para ello, durante el ciclo de actividad (período de oscuridad) los animales que reciben oxitocina habrían tenido que aumentar el volumen hídrico para recuperar el líquido perdido durante el ciclo de luz. Así, mientras que la excreción de orina que se observa durante el día en los sujetos que reciben oxitocina podría determinar primariamente el descenso en el volumen hídrico corporal, la ingesta de agua durante la noche, podría aumentarlo de forma similar.

Por su parte, *la privación de alimento*, reduce el volumen hídrico corporal en todo momento. Así, en los Experimentos 1 y 3, los animales privados de alimento muestran un valor significativamente reducido en la variable “Agua *menos* Orina” por comparación con los animales con comida (6 y 24 horas después de iniciar la privación). Con un lapso intermedio entre ambos registros (12 horas de privación), se ha observado el mismo efecto (Experimento 4). En resumen, la privación de alimento parece generar un descenso en el volumen hídrico y en el peso corporal que parece independiente del intervalo de registro.

- **Efecto de la ingesta de CINA durante el ciclo de actividad-oscuridad, sobre la polidipsia oxitocinérgica:**

Los resultados observados en el Capítulo anterior sugerían que el efecto ingestivo de la Oxitocina podría ser el resultado de su acción natriurética, o lo que es lo mismo, que la excreción de sodio en sujetos privados de alimento e inyectados con Oxitocina, podría ser la variable fundamental para estimular la ingesta de agua. Desde esta perspectiva, la ingesta voluntaria de CINA podría reducir o contrarrestar la polidipsia oxitocinérgica. En el Experimento 4, se ha comprobado que, tal y como se esperaba, la ingesta de soluciones hipertónicas, bloquea la polidipsia oxitocinérgica en lo referente al consumo de agua.

En efecto, mediante el empleo de un test de doble elección (agua-CINa al 1.5%) durante el ciclo de actividad de los animales (12 horas de oscuridad), los sujetos del grupo Oxitocina sin comida, han consumido una cantidad de *agua* similar a la de los animales inyectados con el vehículo y a la del grupo oxitocina con comida. Sin embargo, el consumo de la *solución salina hipertónica* (en el grupo OX S/C) ha sido significativamente superior que la de sus dos grupos de control (AD S/C y OX C/C) (Figura 4.4). Calculando la concentración media ingerida, los animales (OX S/C) han consumido un fluido isotónico (0.8%) (concentración similar a la que se observó durante la Segunda Fase del Experimento 3). Los tres grupos restantes (AD S/C; AD C/C y OX C/C), reducen significativamente el consumo de la solución hipertónica (CINa al 1.5%) (Figura 4.6).

Uno de los resultados más destacables de este experimento, lo constituye precisamente la supresión de la polidipsia oxitocinérgica (sobre el consumo de agua) mediante la ingesta espontánea de CINa. En efecto, en el Capítulo anterior, se sugería la existencia de un paralelismo entre los efectos de la Oxitocina (en sujetos privados de alimento) y los de la mera privación de alimento en conejos, perros y ratones (Cizek, 1961; Cizek et al, 1966; Holmes y Cizek, 1951; Kutscher y Steilen, 1973). En estas especies, se había observado una respuesta polidíptica mediante privación de alimento, que podría estar relacionada con la pérdida de fluido extracelular (Cizek, 1961; Kutscher y Steilen, 1973), ya que era abolida al sustituir el agua por CINa (al 0.85%) (Cizek, 1961). Posteriormente, Kutscher y Steilen observaron un bloqueo similar ofreciendo agua y CINa al 1.5% (Kutscher y Steilen, 1973).

Así pues, todos estos resultados sugieren que, los animales son capaces de combinar la ingesta de los fluidos disponibles con el objetivo final de obtener y mantener estados isotónicos (Kutscher y Steilen, 1973; Stricker y Jalowiec, 1970). Ésta parece ser la mejor alternativa para paliar la sed volémica (Smith y Stricker, 1969). Por tanto, la mayor ingesta de soluciones isotónicas (segunda fase del Experimento 3 y Experimento 4), junto con la respuesta polidíptica de los animales privados de alimento que reciben oxitocina (Experimentos 1 y 3) además del hecho de que la natriuresis oxitocinérgica aparece con

anterioridad a la ingesta de agua (Experimento 3), podrían señalar a la Oxitocina como una hormona asociada con la regulación volémica y consecuentemente del apetito por sodio.

Como regla general, la preferencia por las soluciones hipertónicas suele estar relacionada con la pérdida de sodio o con la existencia de bajos niveles corporales de este ión (ver Schulkin, 1991). Así, los modelos más comunes de apetito por sodio en ratas han empleado, por ejemplo, adrenalectomías bilaterales (Richter, 1936) (animales que carecerían del mecanismo de retención de sodio mediado por la Aldosterona (Fregly y Waters, 1966)), inyecciones sistémicas de mineralocorticoides (Rice y Richter, 1943; Wolf, 1964), tratamientos con coloides (Stricker, 1983), Angiotensina II (Fluharty y Epstein, 1983), la administración de sustancias diuréticas (Jalowiec, 1974) o la supresión de sodio en la dieta durante periodos prolongados (Thiels et al, 1990). La Oxitocina podría ser un ejemplo más en esta misma dirección.

Como ya se ha indicado más arriba, a diferencia del grupo OX S/C, los tres grupos restantes del experimento (OX C/C; AD C/C y AD S/C), rechazan el consumo de ClNa al 1.5%, una concentración que suele resultar aversiva a los animales (Kutscher y Steilen, 1973; Stellar et al, 1954; Young y Falk, 1956; Weiner y Stellar, 1951). La preferencia o rechazo hacia una solución de cloruro sódico se estudia habitualmente comparando la cantidad de agua y la de la solución que los sujetos consumen. En el rango de 0.7 a 1.0 % de ClNa, las ratas eligen esta concentración antes que el agua (Bare, 1949; Kaunitz et al, 1960; Stellar y McCleary, 1952; Young y Falk, 1956; Weiner y Stellar, 1951).

Curiosamente, algunos autores han observado que, en sujetos mantenidos con dietas hiposódicas se requiere de más de una semana para que se produzca un aumento en el consumo compensatorio de soluciones hipertónicas (Curtis et al, 2001; Jalowiec y Stricker, 1973; Stricker, 1981; Stricker et al, 1991). De forma similar, los sujetos del grupo control privados de alimento (con su correspondiente carencia de sodio), no ingieren una mayor cantidad de la solución hipertónica que los sujetos con comida. Estos resultados permiten suponer que, en esas situaciones, se podrían movilizar las reservas de sodio corporal (ver Stricker, 1981) con el objeto de minimizar la repercusión que supondría su carencia.

En los *sujetos mantenidos ad lib* y al igual que sucedió en el experimento anterior, no se observan influencias significativas de la Oxitocina sobre el comportamiento regulatorio (ingesta de agua, ClNa, comida, peso y volumen de orina) durante el ciclo de actividad.

En resumen, los resultados obtenidos sugieren que la administración de Oxitocina en sujetos privados de alimento (y posiblemente en animales mantenidos con dietas hiposódicas), podría ocasionar un déficit de sodio que estimularía la ingesta y excreción de agua. Si, además de agua, los sujetos disponen de ClNa, su consumo parece anular el incremento en la ingesta de agua. Sin embargo, a pesar de suprimir el efecto polidíptico, el consumo de ClNa no bloquea la *respuesta poliúrica* de los sujetos con oxitocina (ver Figura 4.4). Este incremento en el volumen de excreción podría ser consecuencia de la mayor ingesta total (agua + ClNa) que se observa en los animales con Oxitocina y sin comida (Figura 4.5) y que podría demandar la excreción de los excedentes o también de una tardía inversión en la situación de hiponatremia que habría inducido la administración de Oxitocina.

La mayor *ingesta total* del grupo OX S/C resulta del aumento en el consumo de la solución hipertónica y de la ausencia de cambios en la ingesta de agua conjuntamente con la pérdida de líquido que se observa en las 12 primeras y 12 horas posteriores a la administración de Oxitocina. Un efecto similar al obtenido por Kutscher y Steilen, (1973) quienes, al ofrecer agua y ClNa al 1.5% a ratones privados de alimento, observaron un incremento en la ingesta de la solución hipertónica sin modificaciones en el consumo de agua.

A pesar de todo ello, la administración de Oxitocina o la ingesta de soluciones hipertónicas, ha generado en el grupo OX S/C, un mayor consumo de fluido y un volumen de excreción superior que en los grupos restantes, y por tanto, unas respuestas polidíptica y poliúrica.

EXPERIMENTO 5: EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE ClNa SOBRE LA POLIDIPSIA Y POLIURIA OXITOCINÉRGICA.

En el experimento anterior se ha reducido la ingesta de agua oxitocinérgica en sujetos privados de alimento a los que se les ofrece soluciones hipertónicas para beber. El que los sujetos consuman concentraciones salinas en el rango isotónico, similar a la observada en la Segunda Fase del Experimento 3, apoya la posible relación entre el comportamiento hiperdípico y la pérdida extracelular de sodio: los sujetos combinan la ingesta de diversas concentraciones de ClNa para así corregir el déficit subyacente consumiendo finalmente fluido isotónico. En resumen, el consumo de ClNa parece reducir la ingesta de agua en los animales privados de alimento que reciben la administración de Oxitocina (OX S/C) para igualarla con la de sus grupos de control (OX C/C y AD S/C).

Sin embargo, la cantidad total de fluido ingerido y el volumen de excreción (del grupo OX S/C), supera a la de los grupos de control (en consonancia con Kutscher y Steilen, 1973 sobre la ingesta de fluido en sujetos intactos con y sin comida). Por ello, cabría plantearse si sería posible reducir la polidipsia oxitocinérgica sin aumentar la ingesta total de fluido. Teóricamente, esta posibilidad debería ser factible si el ClNa fuese administrado intraperitonealmente y los sujetos dispusieran de agua como único fluido.

En sujetos intactos, la administración de soluciones hipertónicas activa los mecanismos homeostáticos relacionados con el aumento en la tonicidad plasmática (sed osmótica) estimulando la ingesta y retención de agua (Balment et al 1980; Brimble y Dyball, 1977; Briski y Brandt, 2000; Cheng y North, 1986; Dogterom, 1977; Gilman, 1937; Huang et al., 1995; Hussy et al., 2000; Kadekaro et al., 1995; Mckinley y Oldfield, 1994; Miyata et al., 2001; Morris et al., 1984; Rinaman et al., 1995; Robertson, 1983; Sandgaard et al., 2000; Stricker et al., 1987b; Stricker y Sved, 2000; Verbalis et al., 1991b; Verbalis y Stricker, 2000; Voisin et al., 1999; Weitzman et al., 1978). Ese comportamiento ingestivo se observa también en ratas privadas de alimento (Oatley y Tonge, 1969).

Por el contrario, ahora podría hipotetizarse que estas mismas soluciones hipertónicas deberían bloquear la polidipsia oxitocinérgica sin aumentar la excreción de fluido característica de los sujetos privados de alimento.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS:

- Analizar la evolución de los efectos hidrominerales de la Oxitocina durante los ciclos de luz y de oscuridad en sujetos privados de alimento y en animales mantenidos ad lib.
- Una vez reproducidos los efectos de la administración de Oxitocina en sujetos privados de alimento cabría esperar un bloqueo de los mismos mediante la administración intraperitoneal de soluciones con diversa concentración en C1Na.

MÉTODO:

SUJETOS:

Se han empleado para este experimento 160 ratas Wistar macho. Durante el período de adaptación, son alojadas en una sala experimental con un ciclo de luz de 12 horas (desde las 8:00 AM hasta las 20:00 PM) y con una temperatura ambiental entre 21 y 23 °C.

Pasado el período de adaptación, los sujetos son asignados aleatoriamente a uno de cuatro grupos (**Cuadro 5.1**) y se registra la ingesta de agua y comida así como el peso corporal de los animales durante 24 horas (LÍNEA BASE).

VARIABLES INDEPENDIENTES	COMIDA	
	SIN COMIDA	CON COMIDA
SUSTANCIA s.c.		
OXITOCINA	OX S/C n= 40	AD S/C n= 40
AGUA DESTILADA	AD S/C n= 40	AD C/C n= 40

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL:

Como se ha indicado más arriba, los sujetos, distribuidos en cuatro grupos, son instalados en jaulas metabólicas con agua y comida durante 24 horas (Línea Base).

Una vez transcurrido ese período, se retira la comida a la mitad de sujetos, y se les administra Oxitocina o Agua Destilada de forma análoga a la descrita en los experimentos anteriores (una dosis de 5 U.I. de Oxitocina o Agua Destilada en un volumen de 0.5 ml a las 8:30 horas y otra a las 14:30 horas). Doce horas después de la primera inyección y ya en el período de oscuridad, se registra la ingesta de agua, el volumen de orina excretado y el peso corporal (*Comportamiento Regulatorio Diurno*).

A continuación, cada animal recibe una *inyección intraperitoneal* de 2 ml de Agua Destilada o ClNa al 0.9; 1.5; 3 ó 5% (en función del grupo). Doce horas después de esta inyección, se anota la ingesta de agua, el volumen de orina excretado y el peso corporal de cada animal (*Comportamiento Regulatorio Nocturno*). Por tanto y durante el período de actividad (ciclo de oscuridad), se establecen 20 (2x2x5) grupos de animales (**Cuadro 5.2**):

VAR. INDEP.	SUSTANCIA s.c.	OXITOCINA		AGUA DESTILADA	
	ALIMENTO	SIN COMIDA	CON COMIDA	SIN COMIDA	CON COMIDA
INYECCIÓN i.p.	AGUA DESTILADA	GRUPO 1 n= 8	GRUPO 6 n= 8	GRUPO 11 n= 8	GRUPO 16 n= 8
	ClNa 0.9 %	GRUPO 2 n= 8	GRUPO 7 n= 8	GRUPO 12 n= 8	GRUPO 17 n= 8
	ClNa 1.5 %	GRUPO 3 n= 8	GRUPO 8 n= 8	GRUPO 13 n= 8	GRUPO 18 n= 8
	ClNa 3.0 %	GRUPO 4 n= 8	GRUPO 9 n= 8	GRUPO 14 n= 8	GRUPO 19 n= 8
	ClNa 5.0 %	GRUPO 5 n= 8	GRUPO 10 n= 8	GRUPO 15 n= 8	GRUPO 20 n= 8

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Inicialmente, se analiza el día de línea base con el objeto de descartar la existencia de diferencias previas entre los 20 grupos de sujetos. Posteriormente, se analiza el efecto de la privación de alimento y el de la administración de oxitocina **sobre el comportamiento regulatorio durante el ciclo de inactividad** (período de luz) mediante el empleo de dos pruebas de Manova. El primero sobre la ingesta de agua y el volumen de orina excretado y el segundo para las variables “Agua *menos* Orina” y “modificación del peso corporal”.

A continuación se analiza el **comportamiento regulatorio** (ingesta de agua y volumen de excreción para los 2x2x5 grupos) **durante el período de actividad** (ciclo de oscuridad) mediante un Análisis Multivariado. Las variables “Agua *menos* Orina” y “modificación del peso corporal” también son analizadas mediante un Manova, aunque sólo para los 2x2 grupos de sujetos inyectados intraperitonealmente con agua destilada.

Con el objeto de reproducir el efecto observado en el capítulo anterior (Experimentos 1 y 3) sobre la variable “Agua *menos* Orina” y “modificación del peso corporal”, se calcula el valor obtenido en ambas variables para las 24 horas. Para ello se suman los datos obtenidos en los dos intervalos temporales (período de luz y de oscuridad), es decir:

$$(\text{“Agua – Orina”}_{12 \text{ HORAS DIA}}) + (\text{“Agua – Orina”}_{12 \text{ HORAS NOCHE}}) = \text{“Agua – Orina”}_{24 \text{ HORAS}}$$

y

$$(\text{Diferencial diurno de peso}) + (\text{Diferencial nocturno de peso}) = \text{Diferencial peso}_{24 \text{ HORAS}}$$

La ingesta de agua y el volumen de excreción durante 24 horas (suma de los períodos de luz y oscuridad), también son calculadas y analizadas mediante un Manova para los 2x2 grupos de sujetos inyectados i.p. con agua destilada.

Los efectos significativos se analizan mediante Comparaciones a Priori.

RESULTADOS:

En la Tabla 5.0 (ver Anexo) se muestran los valores medios y las desviaciones típicas obtenidas en el experimento.

ANÁLISIS DE LA LÍNEA BASE

No se observan diferencias significativas entre los 20 grupos de sujetos en condiciones basales (Rao (57, 394)= 0.95; $p < 0.587$) (**Figura 5.1**).

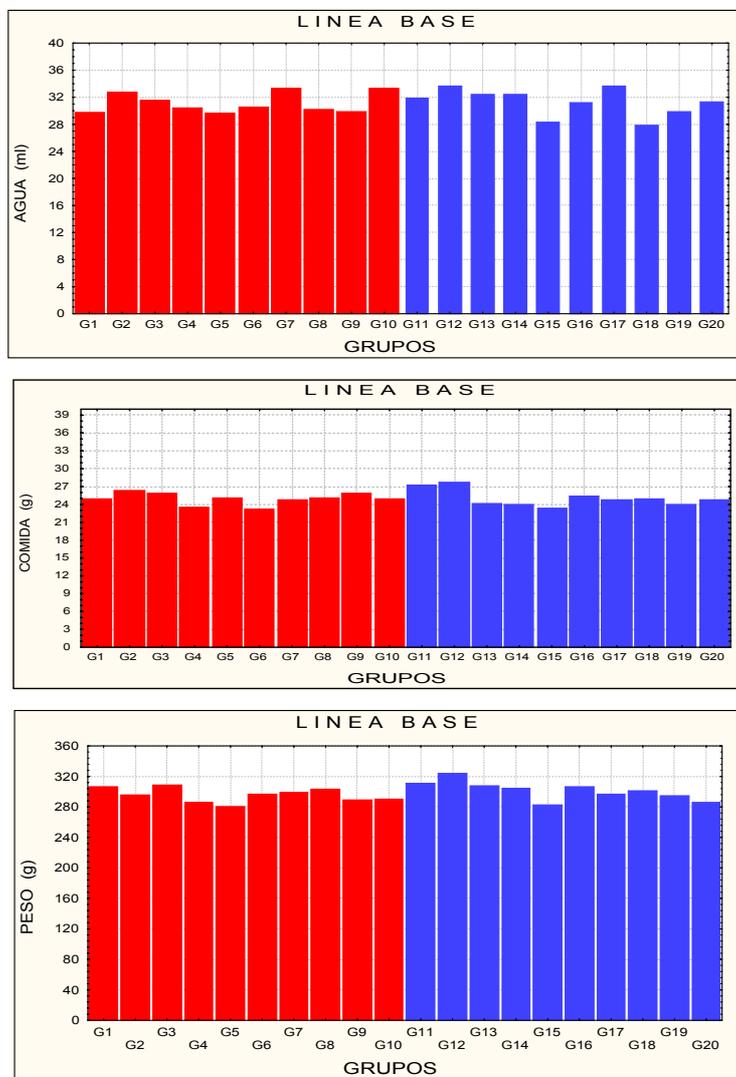


Figura 5.1: Ingesta de agua, comida y peso corporal durante 24 horas en situación ad lib.

**ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO REGULATORIO DIURNO
(12 PRIMERAS HORAS)**

• **INGESTA DE AGUA Y VOLUMEN DE ORINA:**

Durante el ciclo de luz se manipulan las variables “Sustancia” y “Comida”. El Manova sobre la ingesta de agua y el volumen de orina es significativo para la interacción de ambas variables independientes (Rao (2,154)= 6.3; $p < 0.01$) (Tabla 5.2 y Figura 5.2):

VARIABLES INDEPENDIENTES	Wilks' Lambda	Rao R	gl 1	gl 2	p
COMIDA	,627630	45,68368	2	154	,000000
SUSTANCIA s.c.	,598377	51,68152	2	154	,000000
INTERACCION	,924559	6,28292	2	154	,002382

Tabla 5.2: Efecto de la administración de OX u AD en grupos con y sin comida sobre la ingesta de agua y sobre el volumen de excreción durante el ciclo de luz.

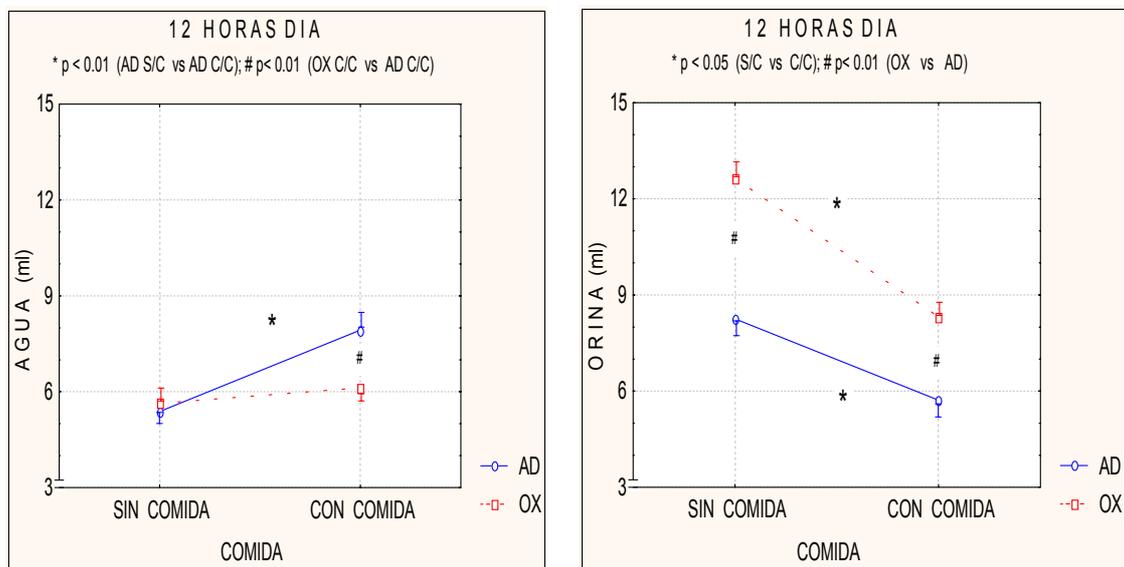


Figura 5.2: Efecto de la privación de alimento y de la administración de oxitocina sobre la ingesta de agua y el volumen de excreción durante el período de inactividad (12 h luz).

Durante las 12 horas de luz, se observan diferencias significativas entre los grupos mantenidos ad lib (**OX C/C vs AD C/C**) (Rao (2,154)= 18.77; $p < 0.001$): el grupo de Oxitocina C/C, ingiere una cantidad de agua inferior ($F(1,155)= 12.07$; $p < 0.001$) y excreta un volumen de orina superior ($F(1,155)= 23.29$; $p < 0.001$) que el grupo AD C/C (Figura 5.2). No se observan diferencias significativas en la ingesta de comida entre los grupos OX C/C y AD C/C ($F(1,58)= 3.03$; $p < 0.088$) (ver Anexo).

La privación de alimento en los sujetos inyectados con Oxitocina (**OX S/C vs OX C/C**), genera diferencias significativas (Rao (2,154)= 33.39; $p < 0.001$). Durante el período de inactividad (12 horas de luz), el grupo privado excreta un volumen de orina superior ($F(1,155)= 65.03$; $p < 0.001$), sin que la ingesta de agua difiera significativamente entre ambos grupos ($F(1,155)= 0.88$; $p < 0.35$) (Figura 5.2).

Entre los grupos privados (**OX S/C vs AD S/C**), se observan diferencias significativas (Rao (2,154)= 33.29; $p < 0.001$). El Análisis Univariado, revela un volumen de orina superior para el grupo de oxitocina ($F(1,155)= 67.01$; $p < 0.001$), sin que la ingesta de agua difiera estadísticamente entre ambos grupos ($F(1,155)= 0.26$; $p < 0.611$) (Figura 5.2).

Finalmente, entre los grupos Control (**AD S/C vs AD C/C**), se observan diferencias significativas (Rao (2,154)= 24.63; $p < 0.001$). Durante el ciclo de luz, el grupo privado ingiere cantidades de fluido menores que el grupo con comida ($F(1,155)= 24.11$; $p < 0.001$) y excreta un volumen de orina superior ($F(1,155)= 22.14$; $p < 0.001$) (Figura 5.2).

- **VOLUMEN HIDRICO (“AGUA *menos* ORINA”) Y PESO CORPORAL:**

El Manova sobre las variables dependientes “Agua *menos* Orina” y sobre el “cambio en el peso corporal” doce horas después del inicio de la privación y de la primera administración de las sustancias (OX y AD), muestra resultados significativos para los efectos principales, pero no para la interacción (**Tabla 5.3**):

VAR. INDEP.	Rao R	gl 1	gl 2	p
Comida	103,5592	2	154	,000000
Sustancia	34,7379	2	154	,000000
Interacción	,0559	2	154	,945675

Tabla 5.3: Efecto de la administración de OX o AD en grupos con y sin comida sobre la variable “Agua menos Orina” y sobre el “cambio en el peso corporal” durante el ciclo de luz.

La *privación de alimento* y la *administración de Oxitocina*, reducen el valor de la variable “Agua menos Orina” y generan una caída del peso corporal: **Efecto Privación:** Rao (2,154)= 103; $p < 0.001$: $F(1,155) = 94.1$; $p < 0.001$ para el “Agua menos Orina” y $F(1,155) = 208.3$; $p < 0.001$ para el peso corporal. **Efecto Oxitocina:** Rao (2,154)= 34.7; $p < 0.001$: $F(1,155) = 69.9$; $p < 0.001$ para el “Agua menos Orina” y $F(1,155) = 29.9$; $p < 0.001$ para el peso corporal (**Figura 5.3**). En la Tabla 5.4 se muestran las comparaciones entre pares de grupos.

Tabla 5.4	“AGUA menos ORINA”		DIFERENCIAL DE PESO	
	F (1,155)	p	F (1,155)	p
OX S/C vs OX C/C	44.6	0.001	104.1	0.001
AD S/C vs AD C/C	49.5	0.001	104.1	0.001
OX S/C vs AD S/C	32.8	0.001	14.8	0.001
OX C/C vs AD C/C	37.1	0.001	15.1	0.001

Tabla 5.4: Comparación entre pares de grupos.

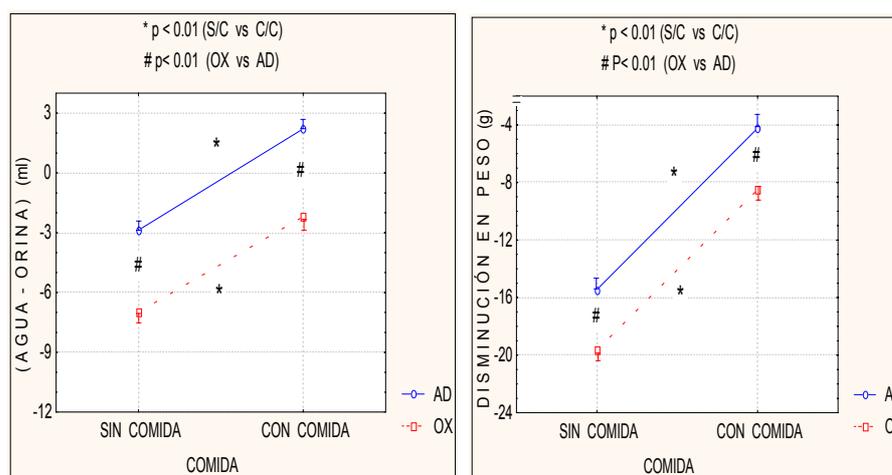


Figura 5.3: Efecto de la privación de alimento y de la administración de oxitocina sobre el volumen hídrico y sobre el peso corporal durante el período de inactividad (12 h luz).

**ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO REGULATORIO NOCTURNO
(12 HORAS DE OSCURIDAD)**

• **INGESTA DE AGUA Y VOLUMEN DE ORINA:**

El MANOVA revela un efecto significativo que es resultado de la interacción entre las tres variables independientes (“Comida”, “Sustancia” e “Inyección *i.p.*”) (Rao (8,278)= 2.0; $p < 0.05$) (Tabla 5.5 y Figura 5.4):

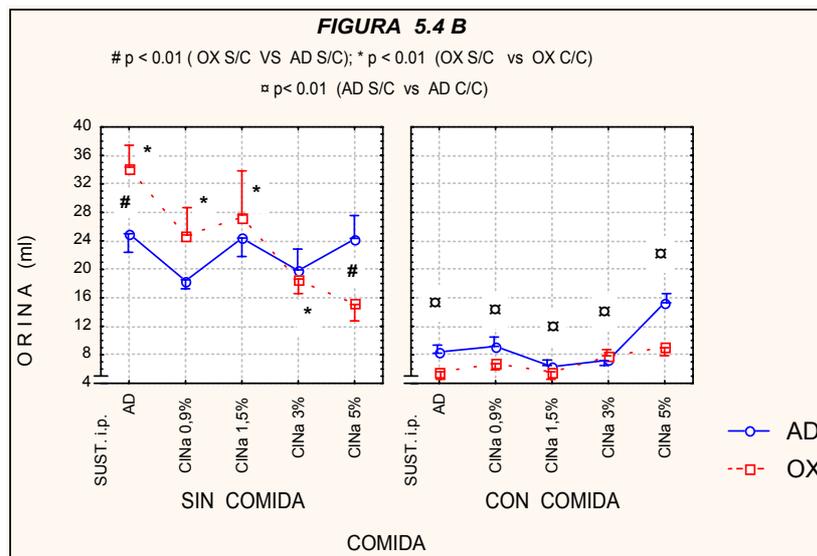
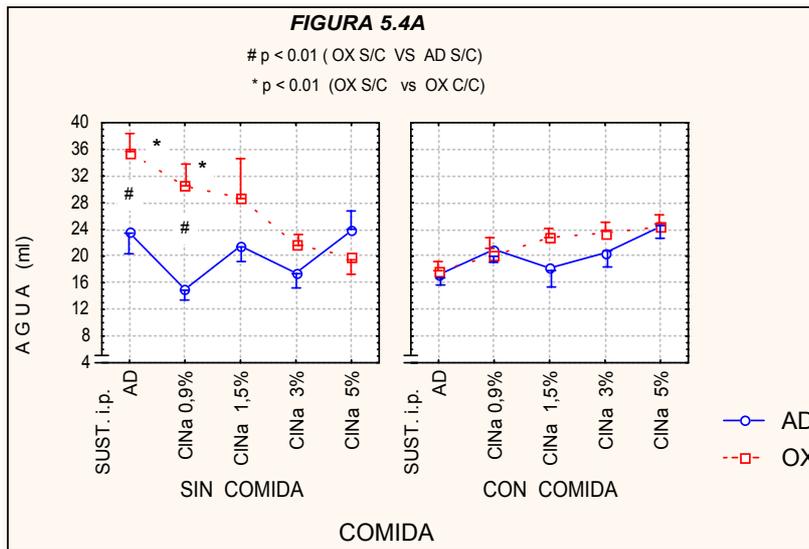


Figura 5.4: Efecto de la inyección *i.p.* de soluciones salinas de diversa concentración sobre la ingesta de agua (fig. 5.4A) y el volumen de orina (fig. 5.4B) durante el ciclo de actividad en los grupos de Oxitocina y Agua destilada con y sin comida.

EFFECTOS	W. Lambda	Rao's R	gl 1	gl 2	p
1 Sustancia s.c	,707456	28,7393	2	139	,000000
2 Comida	,191983	292,5116	2	139	0,000000
3 Inyección i.p	,896961	1,9417	8	278	,053976
12	,960074	2,8903	2	139	,058907
13	,898962	1,9009	8	278	,059846
23	,772057	4,7985	8	278	,000015
123	,894988	1,9821	8	278	,048695

Tabla 5.5: Efecto de la administración de OX o AD, en grupos con y sin comida inyectados i.p con diversas concentraciones de ClNa, sobre la ingesta de agua y el volumen de excreción durante el ciclo de oscuridad.

Entre los distintos grupos de animales de Oxitocina y Agua Destilada **mantenidos ad lib** (OX C/C vs AD C/C) no se observan diferencias significativas en la ingesta de agua (Figura 5.4A) o en el volumen de excreción (Figura 5.4B) (ver **Tabla 5.6**). Ambos grupos aumentan linealmente la ingesta de agua conforme incrementa la concentración del ClNa inyectado ($F(1,14)= 6.92$; $p < 0.001$).

SUSTANCIA i.p.	AGUA		ORINA	
	F	p	F	p
Agua D.	.025572	.873180	.749315	.388174
ClNa 0.9%	.063392	.801581	.557849	.456381
ClNa 1.5%	1.559216	.213864	.051068	.821544
ClNa 3%	.650236	.421396	.023473	.878454
ClNa 5%	.000012	.997290	3.652992	.058012

Tabla 5.6: Comparación entre los grupos de OX y AD con comida que reciben i.p. la inyección de agua destilada o de diversas concentraciones de ClNa.

En estos grupos mantenidos ad lib, la ingesta de comida no es significativamente diferente en función de la “sustancia administrada” ($F(1,50)= 0.64$; $p < 0.43$), de la “inyección i.p. de agua o ClNa” ($F(4,50)= 1.2$; $p < 0.32$) o de la interacción entre ambas variables independientes ($F(4,50)= 1.6$; $p < 0.2$) (ver Anexo).

Los **grupos privados (OX S/C vs AD S/C)**, difieren entre sí ($Rao(2,139)= 5.36$; $p < 0.005$). La *ingesta de agua* de los grupos de OX S/C inyectados i.p. con agua destilada y con ClNa al 0.9%, es superior que la de sus grupos de control (AD S/C), sin que se observen diferencias significativas en el resto de grupos (inyectados con ClNa al 1.5, 3 y 5%) (grupos sin comida de la Figura 5.4A). El *volumen de excreción* del grupo de OX S/C inyectado i.p. con agua destilada, es superior que el de su grupo de control (AD S/C); mientras que el volumen de excreción del grupo AD S/C inyectado i.p. con ClNa al 5% es significativamente superior que el del grupo de OX S/C y ClNa al 5%. No se observan diferencias significativas entre el resto de grupos (de ClNa al 0.9; 1.5 y 3%) (grupos sin comida de la Figura 5.4B) (**Tabla 5.7**).

SUSTANCIA i.p.	AGUA		ORINA	
	F	p	F	p
Agua D.	10.80	0.001	7.92	0.005
ClNa 0.9%	17.71387	0.001	3.81582	0.053
ClNa 1.5%	3.907746	0.051	.810183	0.370
ClNa 3%	1.338233	0.250	.177514	0.675
ClNa 5%	1.170653	0.282	7.711230	0.007

Tabla 5.7: Comparación entre los grupos de OX y AD sin comida que reciben i.p. la inyección de agua destilada o de diversas concentraciones de ClNa.

Específicamente en los grupos de **oxitocina sin comida**, se reduce linealmente la ingesta de agua y el volumen de orina conforme aumenta la concentración del ClNa administrado: ($Rao(2,139)= 18.46$; $p < 0.001$; $F(1,140)= 23.98$; $p < 0.001$ para la ingesta de agua y $F(1,140)= 36.87$; $p < 0.001$ para la excreción de orina) (**Figura 5.5**):

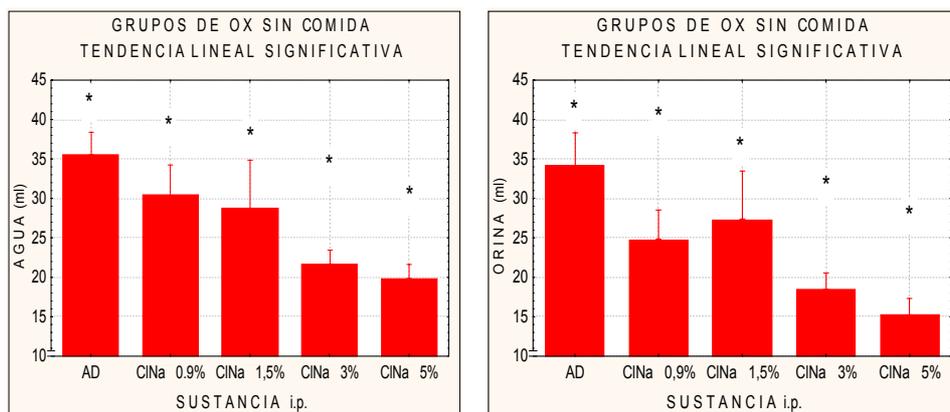


Figura 5.5: Efecto de la administración de diversas concentraciones de ClNa sobre la ingesta y excreción de agua (durante el período de actividad) en sujetos de Oxitocina privados de alimento.

Los dos **grupos con oxitocina (OX S/C vs OX C/C)** difieren entre sí (Rao (2,139)= 51.08; $p < 0.001$). Concretamente, los grupos de OX S/C inyectados i.p. con agua destilada o con ClNa al 0.9%, ingieren una mayor cantidad de agua que sus respectivos grupos de OX C/C, sin que se observen diferencias significativas entre el resto de grupos (de ClNa al 1.5; 3 y 5%)(líneas rojas de la figura 5.4A) . Por su parte, los grupos de OX S/C inyectados i.p. con agua destilada o con ClNa al 0.9; 1.5 y 3%, excretan un volumen de orina superior que sus grupos de control, sin que se observen diferencias significativas entre los dos grupos de ClNa al 5%) (líneas rojas de la figura 5.4B) (**Figura 5.4 y Tabla 5.8**).

SUSTANCIA i.p.	AGUA		ORINA	
	F	p	F	p
Agua D.	23,4414	0,001	76,7997	0,001
ClNa 0.9%	8,01347	0,005	30,46321	0,001
ClNa 1.5%	2,6340	0,107	44,3146	0,001
ClNa 3%	,22690	0,635	10,72457	0,002
ClNa 5%	1,54227	0,216	3,49371	0,064

Tabla 5.8: Comparación entre los grupos de **OX S/C** y **OX C/C** que reciben i.p. la inyección de agua destilada o de diversas concentraciones de ClNa.

Finalmente, la privación de alimento (**AD S/C vs AD C/C**), también modifica el comportamiento hidromineral (Rao (2,139)= 25.58; $p < 0.001$). Con independencia de la inyección i.p., los grupos privados excretan un volumen de orina superior que los grupos no privados (líneas azules de la Figura 5.4B), sin que se observen diferencias significativas en la ingesta de agua (líneas azules de la Figura 5.4A) (**ver Tabla 5.9**).

SUSTANCIA i.p.	AGUA		ORINA	
	F	p	F	p
Agua D.	2.94059	.088592	25.83387	.000001
ClNa 0.9%	2.656104	.105401	7.947001	.005515
NaCl 1.5%	.80073	.372411	30.59018	.000000
NaCl 3%	.68358	.409765	14.81767	.000179
NaCl 5%	.026672	.870505	7.479010	.007050

Tabla 5.9: Comparación entre los grupos de **AD S/C** y **AD C/C** que reciben i.p. la inyección de agua destilada o de diversas concentraciones de ClNa.

• **VOLUMEN HIDRICO (“AGUA *menos* ORINA”) Y PESO CORPORAL:**

El MANOVA para los datos obtenidos en las variables “Agua *menos* Orina” y “Diferencial nocturno de peso” de los sujetos inyectados *intraperitonealmente con AD*, muestra los siguientes resultados (Tabla 5.10):

VARIABLES INDEPENDIENTES	Rao	gl 1	gl 2	p
Comida	180,0889	2	27	,000000
Sustancia	5,5683	2	27	,009447
Interaccion	1,9551	2	27	,161080

Tabla 5.10: Efecto de la administración de OX o AD, en grupos con y sin comida inyectados i.p con AD, sobre el volumen hídrico y sobre el peso corporal registrado durante el ciclo de oscuridad.

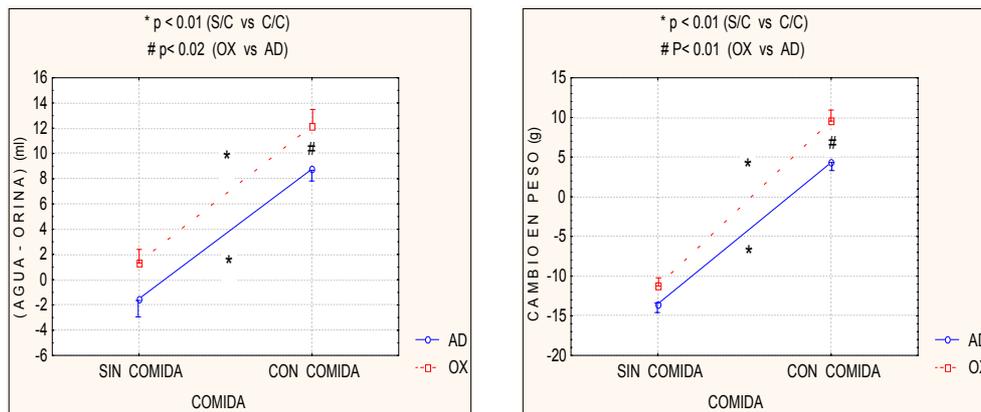


Figura 5.6: Efecto de la administración de Oxitocina y de la privación de alimento sobre el volumen hídrico (figura 5.6A) y sobre el peso corporal (figura 5.6B) durante las horas de actividad.

La privación de alimento reduce el valor de la variable “Agua *menos* Orina” y genera una caída en el peso corporal (Rao (2,27)= 180; $p < 0.001$: $F(1,28)= 84.9$; $p < 0.001$ para el “Agua *menos* Orina” y $F(1,28)= 305.1$; $p < 0.001$ para el peso corporal). Por su parte, la administración de Oxitocina, incrementa la relación “Agua *menos* Orina” y el peso corporal (Rao (2,27)= 5.56; $p < 0.01$: $F(1,28)= 7.56$; $p < 0.011$ para el “Agua *menos* Orina” y $F(1,28)= 11.55$; $p < 0.0021$ para el peso corporal) (Figura 5.6).

En la Tabla 5.11 se muestran las comparaciones entre pares de grupos:

Tabla 5.11	“AGUA menos ORINA”		DIFERENCIAL DE PESO	
	F (1,28)	p	F (1,28)	p
OX S/C vs OX C/C	44	0.001	177	0.001
AD S/C vs AD C/C	40	0.001	129	0.001
OX S/C vs AD S/C	3.2	0.086	2.1	0.16
OX C/C vs AD C/C	4.4	0.045	11.3	0.002

Tabla 5.11: Comparación entre pares de grupos.

ANÁLISIS DE LAS 24 HORAS

Resultados de los análisis estadísticos que se obtienen al sumar los valores de la ingesta de agua, el volumen de excreción y el peso corporal durante los ciclos de luz y oscuridad *exclusivamente* en los grupos de OX y AD con y sin comida e inyectados i.p. con Agua Destilada.

- **INGESTA DE AGUA Y VOLUMEN DE ORINA:**

El Manova sobre la ingesta de agua y el volumen de excreción después de 24 horas, muestra un efecto significativo para la interacción de las variables independientes “Comida” y “Sustancia” (Rao (2,27)= 4.7; $p < 0.02$) (Tabla 5.12):

VARIABLES INDEPENDIENTES	Rao	gl 1	gl 2	p
Comida	3.5990	2	27	.041154
Sustancia	132.5335	2	27	.000000
Interacción	4.7457	2	27	.017133

Tabla 5.12: Efecto de la administración de OX o AD, en grupos con y sin comida inyectados i.p con AD, sobre la ingesta de agua y el volumen de excreción durante 24 horas.

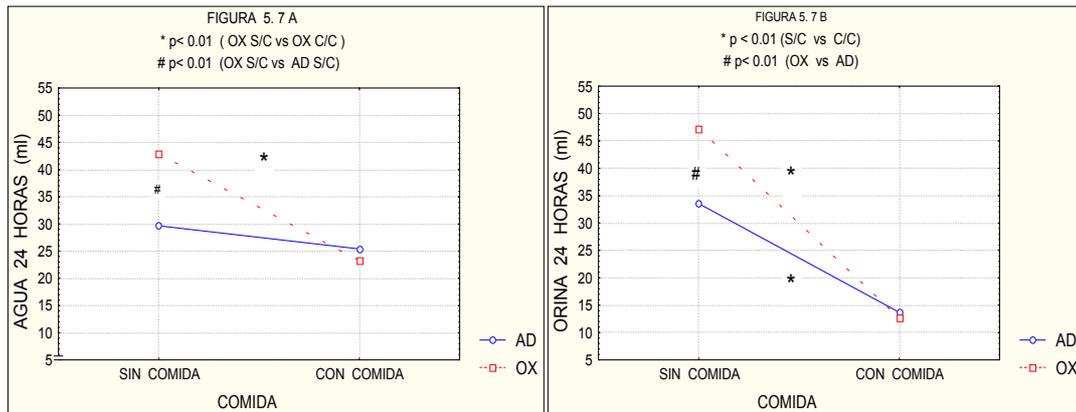


Figura 5.7: Ingesta de agua (figura 5.7A) y volumen de excreción (figura 5.7B) durante 24 horas, para los grupos de OX y AD con y sin comida inyectados i.p. con AD.

Entre los dos grupos privados de comida (**OX S/C vs AD S/C**) también se observan diferencias significativas (Rao (2,27)= 8.1; $p < 0.002$): el grupo de oxitocina ingiere una cantidad de fluido ($F(1,28)= 12.35$; $p < 0.002$) y excreta un volumen de orina ($F(1,28)= 16.75$; $p < 0.001$) superior que el de agua destilada (**Figura 5.7**).

Entre los grupos con comida (**OX C/C vs AD C/C**) no se aprecian diferencias significativas (Rao (2,27)= 0.25; $p < 0.79$; $F(1,28)= 0.34$; $p < 0.57$ para la ingesta de agua y $F(1,28)= 0.10$; $p < 0.76$ para el volumen de excreción) (**Figura 5.7**).

Por su parte, entre los grupos de Oxitocina (**OX S/C vs OX C/C**), se observan diferencias significativas (Rao (2,27)= 84; $p < 0.001$): el grupo privado de alimento ingiere una cantidad de fluido ($F(1,28)= 27.4$; $p < 0.001$) y excreta un volumen de orina ($F(1,28)= 107$; $p < 0.001$) superior al del grupo con comida (**Figura 5.7**).

Finalmente, entre los dos grupos de control (**AD S/C vs AD C/C**), se observan diferencias significativas (Rao (2,27)= 53.15; $p < 0.001$): el grupo privado excreta un volumen de orina superior al del grupo con comida ($F(1,28)= 35.2$; $p < 0.001$), sin que se observen diferencias significativas entre ambos grupos en la ingesta de agua ($F(1,28)= 1.27$; $p < 0.27$) (**Figura 5.7**).

- **VOLUMEN HÍDRICO (“Agua menos Orina”) Y PESO CORPORAL**

El Manova sobre las variables “Agua menos Orina” y “Peso Corporal” después de 24 horas, muestra un efecto significativo para la variable independiente “Comida” (Rao (2,27)= 256.7; $p < 0.001$) (Tabla 5.13):

VARIABLES INDEPENDIENTES	Rao	gl 1	gl 2	p
Comida	256,7444	2	27	,000000
Sustancia	,9196	2	27	,410797
Interacción	,4383	2	27	,649669

Tabla 5.13: Efecto de la administración de OX o AD, en grupos con y sin comida inyectados i.p con AD, sobre el volumen hídrico y sobre el peso corporal (24 horas).

La privación de comida reduce el valor de la variable “Agua menos Orina” y el “peso corporal” (AD C/C vs AD S/C: $F(1,28)= 76.9$; $p < 0,001$ para el “Agua menos Orina” y $F(1,28)= 251.8$; $p < 0,001$ para el peso corporal. OX C/C vs OX S/C: $F(1,28)= 70.5$; $p < 0,001$ para el “Agua menos Orina” y $F(1,28)= 281$; $p < 0,001$ para el peso corporal) (Figura 5.8).

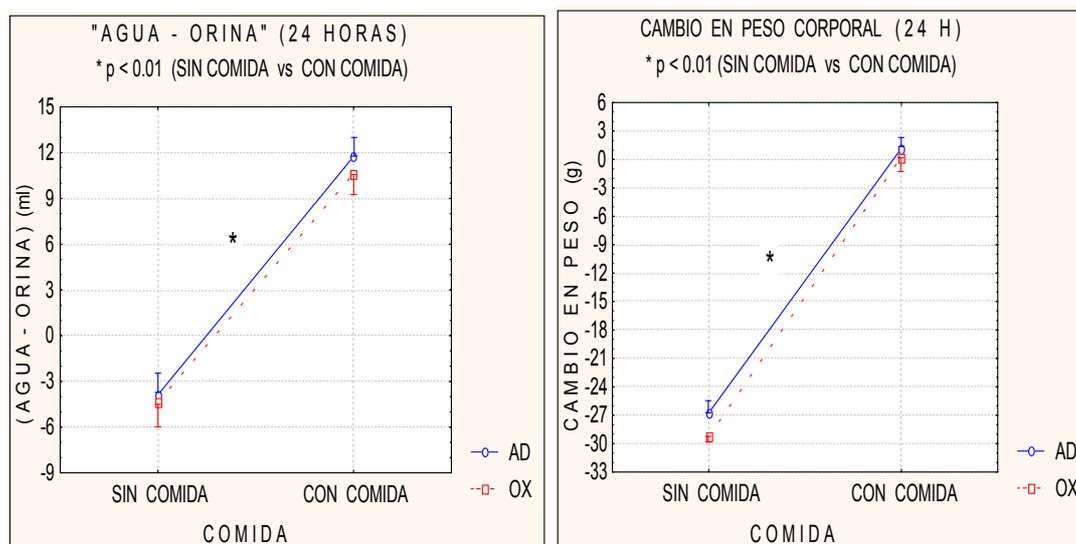


Figura 5.8: Efecto de la administración de Oxitocina y de la privación de alimento sobre el volumen hídrico corporal y sobre el cambio en el peso corporal (24 horas).

Los efectos de la privación de alimento y la ausencia de diferencias entre los grupos de OX y los de AD en estas variables dependientes, se mantienen cuando se consideran *todos los grupos* del experimento (Figura 5.9) (*Efecto privación*: Rao (2,138)= 786.8; $p < 0.001$; *Efecto Sustancia*: Rao (2,138)= 0.21; $p < 0.81$; *Interacción privación x sustancia*: Rao (2,138)= 0.65; $p < 0.52$).

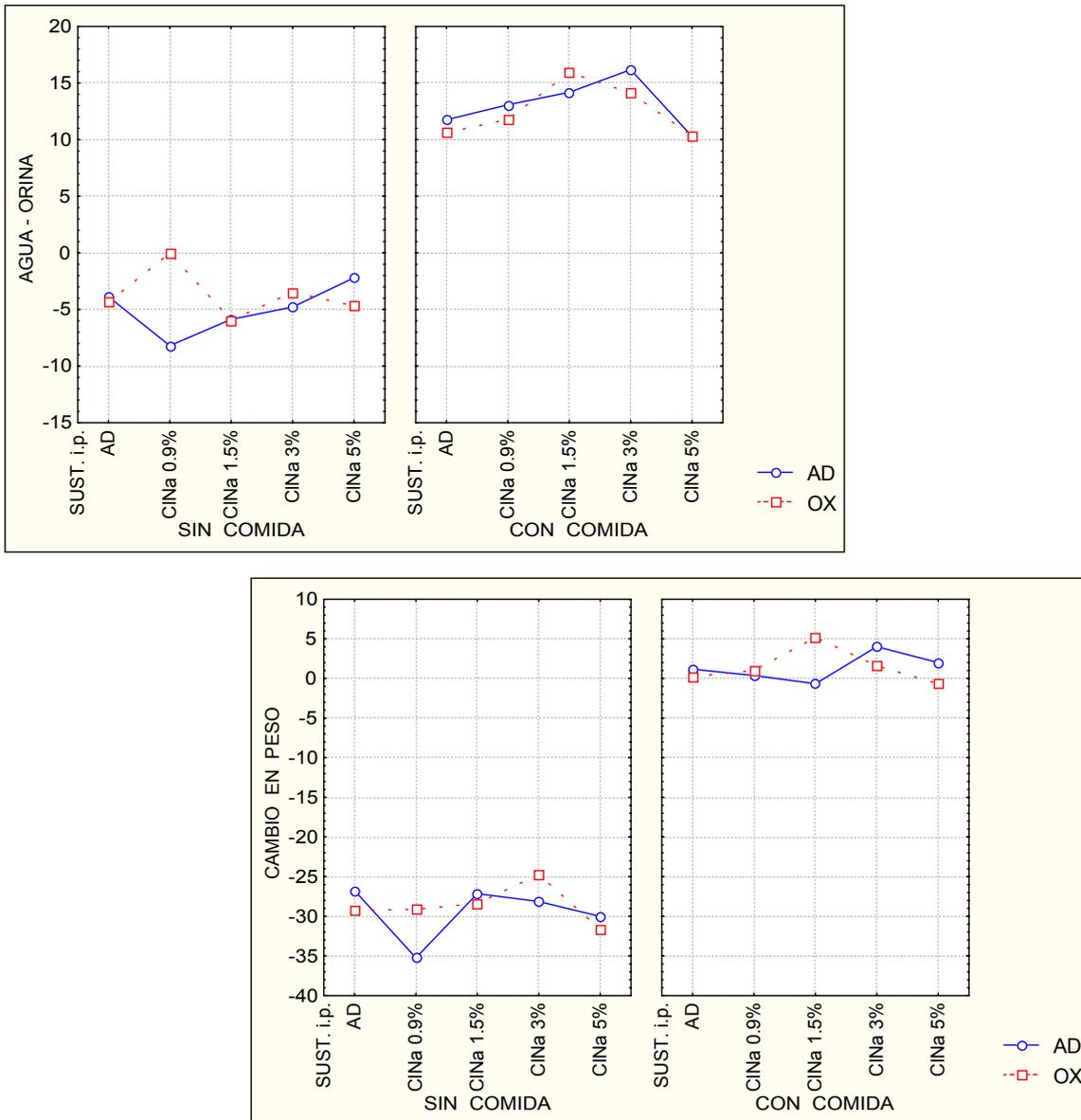


Figura 5.9: Efecto de la administración de Oxitocina y de la privación de alimento sobre el volumen hídrico y sobre el cambio en el peso corporal (24 horas) en los grupos inyectados i.p. con AD o con diversas concentraciones de CINa.

DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO:

- **Efectos observados durante el ciclo de inactividad (período diurno):**

Es bien sabido que en situación ad lib, los roedores ingieren una cantidad reducida de agua y comida durante el ciclo de luz (Armstrong, 1980; Windle et al, 1992) y que la *ingesta diurna de agua* suele estar asociada al consumo de alimento (Franci et al, 1989; Rolls y Rolls, 1982). Por ello, cuando son **privados de comida**, los animales reducen la ingesta de líquido (Figura 5.2A), en consonancia con estudios previos (Bauman et al, 1964; Cumming y Morrison, 1960; Morrison, 1967 y 1968b; Morrison et al, 1967; Oatley y Tonge, 1969).

Pero, además de estimular la ingesta de agua, el consumo de alimento parece necesario para la retención renal de fluido. Esta sería la razón por la cual, los animales privados de comida aumentan el *volumen de excreción* (Figura 5.2B); un efecto que tampoco es novedoso (Cizek et al, 1951; Holmes y Cizek, 1951; Radford, 1959; Swanson et al, 1935) y que ha sido reproducido en todos los experimentos de esta Tesis Doctoral.

Los efectos ingestivos y excretorios inducidos por privación de comida, provocan un descenso significativo del *volumen hídrico* y del *peso corporal* de los animales (Figura 5.3). Esta disminución podría reducir la repercusión de la ausencia de comida sobre la osmolaridad plasmática. Así, si el volumen hídrico corporal disminuye, también se reduce la necesidad de CINA para mantener la tonicidad plasmática normal.

Ahora se ha observado que durante el día, en los animales con comida pero no en los animales privados, la **administración de Oxitocina** provoca una reducción en la *ingesta de agua* (Figura 5.2A), y lo hace sin modificar la ingesta de comida de estos animales mantenidos ad lib. Esta disminución en la ingesta de agua mediante administración de oxitocina ha sido descrita previamente (Arletti et al, 1990; Benelli et al, 1991) e interpretada como consecuencia de la posible participación de la Oxitocina en los circuitos cerebrales de inhibición del comportamiento ingestivo (Arletti et al, 1989;

Antunes-Rodrigues et al, 1986; Blackburn et al, 1992 y 1995; Brimble et al, 1978; Demontes-Mainard et al, 1986; Ehrlich y Fitts, 1990; Fitts et al, 1985 y 2003; Giovannelli, 1992; Olson et al, 1991 y 1991b; Rinaman et al, 1995; Schulkin, 1991; Stricker, 1981; Stricker et al, 1986; Stricker y Verbalis, 1986, 1987 y 1987b; Windle et al, 1992). Sin embargo, es posible ofrecer una interpretación alternativa, ya que podría suceder que el efecto natriurético de la hormona, disminuya la osmolaridad plasmática y por consiguiente, la necesidad de agua. A pesar de que según algunos autores, la capacidad de la Oxitocina para estimular la excreción de sodio en sujetos con comida disponible parece limitada (Balment et al, 1980), la reducida cantidad de alimento que los roedores ingieren durante el día (Armstrong, 1980; Windle et al, 1992), podría facilitar la respuesta natriurética.

En efecto, como se ha señalado anteriormente, la excreción renal de sodio se acompaña de una pérdida de Cl⁻ y agua en el organismo (Guyton y Hall, 2001; Kandel et al, 1997). Desde este punto de vista si, como parece, la Oxitocina estimula la excreción de sodio durante el ciclo de inactividad en los sujetos mantenidos ad lib, cabría esperar que su administración incrementase la excreción, un resultado que se confirma en el presente experimento (Figura 5.2B). Dicho de otro modo, la ingesta disminuida de agua y la respuesta poliúrica del grupo OX C/C podrían resultar del efecto natriurético de la hormona.

En el **grupo OX S/C**, el efecto diurético de la privación de alimento y el de la oxitocina, parecen sumarse para estimular la excreción de un volumen de orina más elevado que el de sus grupos de control (Figura 5.2). En consecuencia, el volumen hídrico y el peso corporal de este grupo de animales también es menor que el de sus grupos de control (Figura 5.3).

Por estar privado de comida y por ser tratado con Oxitocina, sería esperable que este grupo de animales redujera su ingesta de agua. Sin embargo, este efecto no se observa (Figura 5.2), posiblemente para evitar descensos más serios en el volumen hídrico corporal.

- **Efectos observados durante el ciclo de actividad (período de oscuridad):**

En los animales **privados de comida**, el tratamiento con *Oxitocina* provoca un incremento en la ingesta de agua y en el volumen de excreción (Figura 5.4). La dificultad para retener fluido que se manifiesta en este grupo, podría ser una consecuencia de la ausencia de comida y del efecto natriurético-diurético de la Oxitocina. Esa respuesta poliúrica reduce el volumen hídrico. El descenso del volumen hídrico podría estimular la ingesta de agua. Así y sólo durante la noche, al consumir más líquido del que excretan, el volumen hídrico de estos animales se incrementa (Figura 5.6), un efecto que había sido sugerido a partir de los resultados obtenidos en los experimentos anteriores y que ahora, en el Experimento 5, puede observarse con claridad.

Estos efectos contrastan y son consecuencia de los efectos observados *durante el ciclo de luz*, momento en el que la administración de Oxitocina incrementó el volumen de excreción sin modificar la ingesta de agua de los animales privados de alimento, generando en consecuencia una pérdida significativa en el volumen hídrico corporal.

Por su parte, el correspondiente grupo control sólo *privado de comida*, excreta un volumen de orina inferior que el grupo tratado con Oxitocina, pero además, no es compensado por la ingesta de agua (Figura 5.4). De esta forma, los animales privados de comida del grupo control, excretan durante la noche una cantidad de líquido mayor de la que consumen y en consecuencia, su volumen hídrico disminuye (Figura 5.6), una pérdida hídrica que se añade a la ya observada durante el período de luz.

El hecho de que los animales reduzcan su volumen hídrico a pesar de disponer de agua ad lib, podría explicarse como un mecanismo de adaptación ante la falta de alimento. En efecto, la reducción en el volumen hídrico corporal que se manifiesta en los animales controles privados de comida, junto con la necesaria retención renal de sales minerales (Bauman et al, 1964; Burlet et al, 1992; Cumming y Morrison, 1960; Kaunitz et al, 1960; Morrison, 1967 y 1968b; Morrison et al, 1967; Oatley y Tonge, 1969; Weisinger et al,

1985), podría evitar que la osmolaridad plasmática de estos sujetos se vea afectada por la ausencia de alimento.

En este experimento, la *administración de soluciones con ClNa* evita la aparición del cuadro polidipsico del grupo *privado tratado con Oxitocina* (Figura 5.4A). Lo mismo sucede con la respuesta poliúrica (Figura 5.4B). Más aun, la administración de diversas concentraciones de ClNa reduce linealmente la ingesta de agua y el volumen de excreción de estos animales (ver Figura 5.5).

Estos resultados están en consonancia con la idea propuesta que sugería que los efectos ingestivos y excretorios que la oxitocina genera en los sujetos privados de comida, podrían ser una consecuencia de la pérdida inicial de ClNa a través de la orina. De esta forma, en los sujetos privados tratados con Oxitocina, el ClNa consigue reducir los déficits hidrominerales oxitocinérgicos, hasta hacerse semejantes a los controles. En los animales únicamente *privados de comida*, las soluciones con ClNa no modifican significativamente la ingesta de agua ni el volumen de excreción.

En los sujetos **mantenidos ad lib**, por el contrario, la administración de *Oxitocina* no modifica la ingesta de agua ni el volumen de excreción (Figura 5.4). Estos resultados contrastan con los observados durante el *ciclo de luz*, momento en el que la Oxitocina redujo la ingesta de agua y aumentó la excreción de orina (disminuyendo el volumen hídrico corporal). El efecto ingestivo y excretor que la administración de Oxitocina provoca durante el ciclo de luz en estos animales, podría haberse visto facilitado por la escasa cantidad de comida que los roedores ingieren durante el día (Armstrong, 1980; Windle et al, 1992). De este modo, la comida ingerida durante el período de actividad, podría interrumpir los efectos oxitocinérgicos. A pesar de ello, en estos animales con comida disponible y tratados con Oxitocina, el volumen hídrico corporal aumenta durante la noche, un mecanismo que podría servir para recuperar la pérdida hídrica manifestada durante el día.

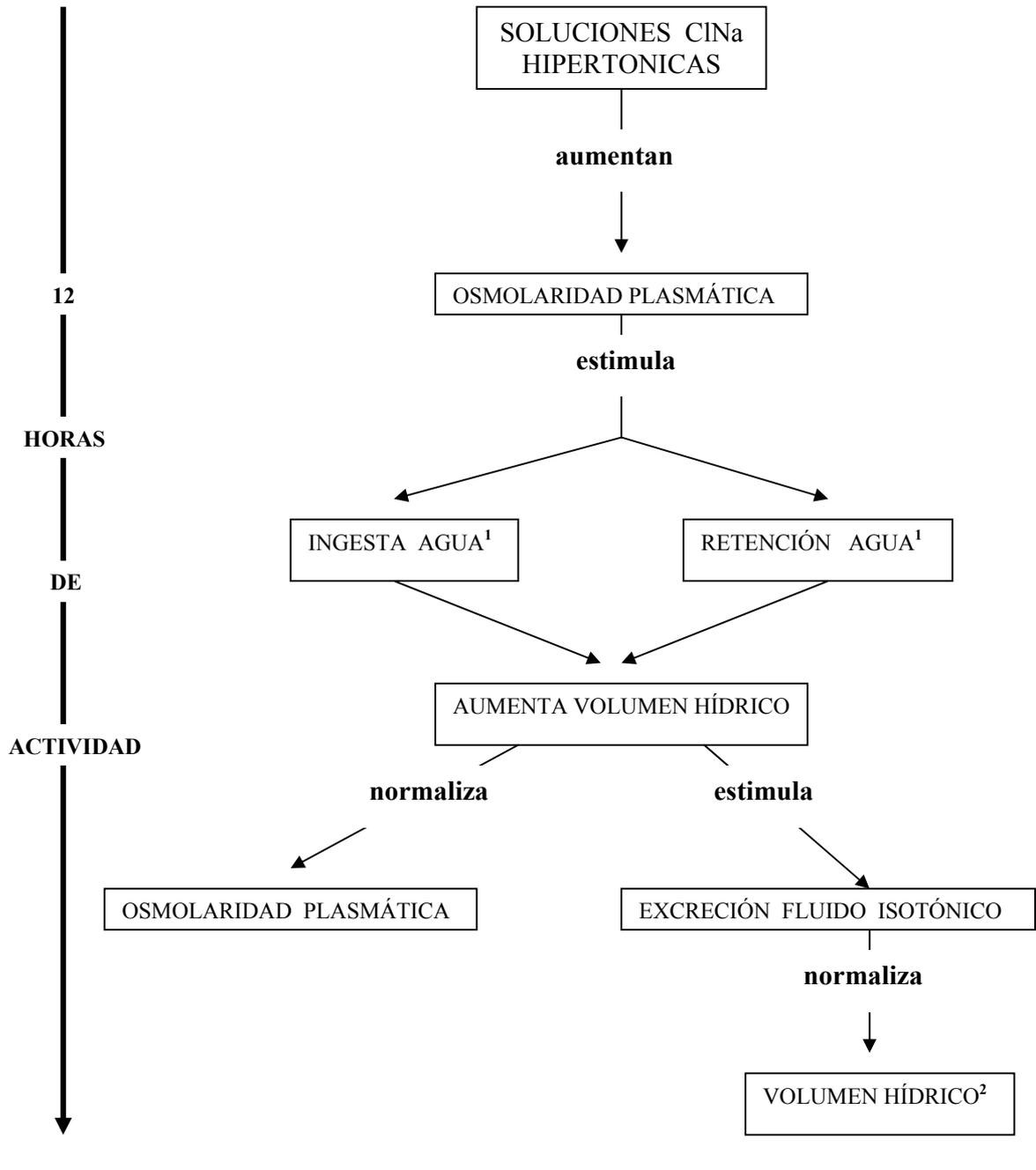
Como cabría esperar, los animales con comida disponible, responden a la administración de soluciones hipertónicas incrementando la ingesta y retención de fluido (Balment et al 1980; Brimble y Dyball, 1977; Briski y Brandt, 2000; Cheng y North, 1986; Dogterom, 1977; Gilman, 1937; Huang et al., 1995; Hussy et al., 2000; Kadekaro et al., 1995; Mckinley y Oldfield, 1994; Miyata et al., 2001; Morris et al., 1984; Rinaman et al., 1995; Robertson, 1983; Sandgaard et al., 2000; Stricker et al., 1987b; Stricker y Sved, 2000; Verbalis et al., 1991b; Verbalis y Stricker, 2000; Voisin et al., 1999; Weitzman et al., 1978).

El efecto ingestivo que las soluciones hipertónicas provocan en los sujetos *ad lib*, no sólo se manifiesta en este Experimento 5 en los sujetos del grupo control, sino también en los animales tratados con Oxitocina (Figura 5.4A). En el caso de este último grupo, los efectos oxitocinérgicos podrían haber sido interrumpidos por la ingesta de comida, permitiendo que este grupo responda a la administración de soluciones hipertónicas incrementando la ingesta de agua.

Sin embargo, mientras que a corto plazo las soluciones hipertónicas parecen promover una retención renal de fluido, 12 horas después de su administración, no se observa un volumen de excreción más reducido en los grupos inyectados con las concentraciones más elevadas de ClNa (Figura 5.4B).

Sería posible que las soluciones hipertónicas estimulen rápidamente la ingesta y retención de fluido para normalizar la osmolaridad plasmática. Adicionalmente, el aumento en el volumen hídrico que esta ingesta y retención de fluido producen, podría estimular la excreción de fluido isotónico. De esta forma, los animales tratados con las soluciones hipertónicas más concentradas, serían los que más fluido retuviesen inicialmente pero también los que más fluido isotónico excretarían con posterioridad.

Esquemáticamente, esos efectos podrían representarse de la siguiente forma:



- 1.- La ingesta y retención osmótica de agua constituyen fenómenos muy documentados.
- 2.- La normalización del volumen hídrico es un fenómeno observado en el Experimento 5 (ver Figura 5.9).

Entre los grupos de animales **tratados con Oxitocina** (líneas rojas de la figura 5.4), se obtienen unos resultados similares a los que se observan al comparar los dos grupos de animales privados de comida: los sujetos privados de comida consumen y excretan una cantidad de fluido superior que los sujetos con comida disponible (Figura 5.4). Si en los sujetos privados los efectos oxitocinérgicos son una consecuencia de la pérdida de ClNa, el ClNa presente en la comida podría contrarrestarlo en los sujetos ad lib.

A pesar de consumir más agua, el volumen hídrico y el peso corporal de los animales privados tratados con Oxocina, es inferior que el de los animales ad lib (Figura 5.6). Como se comentó anteriormente, la reducción del volumen hídrico que manifiestan los sujetos privados podría ser necesaria para mantener la osmolaridad plasmática.

Finalmente, en los grupos de animales **tratados con agua destilada** (líneas azules de la figura 5.4), se observa el efecto diurético característico de la privación de comida (Bauman et al, 1964; Burlet et al, 1992; Cumming y Morrison, 1960; Morrison, 1967 y 1968b; Morrison et al, 1967) y una ausencia de diferencias ingestivas estadísticamente significativas.

En consonancia con Oatley y Tonge (1969), las soluciones hipertónicas estimulan la ingesta de una cantidad similar de agua en los sujetos sin comida y en los animales que disponen de alimento y no interrumpen la poliuria inducida por privación (Figura 5.4). Al igual que sucede en los grupos tratados con Oxitocina, el volumen hídrico y el peso corporal de los animales control privados de comida, es inferior al que se observa en el grupo con comida disponible (Figura 5.6).

- **Efectos conjuntos del período de 24 horas:**

El análisis conjunto de los datos obtenidos durante los ciclos de luz y oscuridad (**24 horas**), reproduce los efectos observados en los experimentos presentados en el Capítulo anterior, a saber, el efecto polidíptico y poliúrico de la Oxitocina en los sujetos privados de alimento, la ausencia de diferencias ingestivas y excretoras entre los grupos mantenidos ad lib, el efecto polidíptico y poliúrico de la privación de alimento en los sujetos tratados con Oxitocina y el efecto poliúrico y la ausencia de diferencias ingestivas inducidas por privación de comida en los sujetos tratados con agua destilada (ver figura 5.7). También los datos obtenidos en este experimento reproducen el descenso en el volumen hídrico (y en el peso corporal) de los grupos privados de alimento como mecanismo de mantenimiento de la osmolaridad plasmática (Figura 5.8).

Asimismo, después de 24 horas, el volumen hídrico y peso corporal de los animales no se ve afectado por el tratamiento con Oxitocina, como consecuencia del descenso que la hormona provoca en estas variables durante el ciclo de luz y del aumento posterior que se observa durante el período de oscuridad. Ese aumento posterior podría ser un mecanismo compensatorio que normaliza la pérdida hídrica y en peso corporal que tiene lugar durante el período de luz. Este resultado sugiere que los efectos iniciales de la Oxitocina sobre el volumen hídrico y sobre el peso corporal, son contrarrestados con posterioridad por los animales. Examinando otras problemáticas, algunos autores han observado, sin explicar, este mismo resultado tras la administración de Oxitocina. Así, Lokrantz y colaboradores (1997) mostraron un descenso en el consumo intraoral de glucosa en ratas tratadas con oxitocina. Sin embargo, en un segundo test realizado una hora después, estos autores obtuvieron el efecto contrario, de modo que, al sumar la ingesta observada en ambos tests, los sujetos inyectados con Oxitocina consumieron una cantidad de glucosa semejante a la ingerida por los animales del grupo control. Resultados similares observaron Björkstrand y Uvnäs-Moberg en 1996, registrando la ingesta de alimento y el peso corporal (en ambos casos se observó un descenso inicial seguido por un incremento posterior). Utilizando la presión arterial como variable dependiente también se han registrado efectos diferentes a lo largo del tiempo. En efecto, Petersson y colaboradores (1999), observaron que la

administración de Oxitocina incrementaba transitoriamente la presión arterial; sin embargo, posteriormente, la reducía. A la luz de los efectos observados en la presente Tesis Doctoral, el efecto posterior que todos estos autores observan, podría ser explicado en términos de una adaptación de los animales al déficit inicial generado por la Oxitocina.

Tomados en conjunto, estos resultados muestran que mientras los desequilibrios regulatorios inducidos por Oxitocina son compensados dentro del período de 24 horas, la privación de comida genera estados hídricos significativamente diferentes, con un menor volumen hídrico y peso corporal en el caso de privación alimenticia (Figura 5.8).

Finalmente, los resultados del Experimento reflejan que las soluciones hipertónicas no modifican el volumen hídrico o el peso corporal de los animales (Figura 5.9). Este resultado puede ser explicado a través de la activación rápida de respuestas correctoras o normalizadoras de déficit hídrico y del peso corporal generado durante las horas previas, como se indicó en el apartado relativo a los efectos observados durante el ciclo de actividad. Brevemente, poco después de su administración, las soluciones hipertónicas aumentan la osmolaridad plasmática y estimulan la ingesta y retención de agua. Estos efectos ingestivos y excretorios desencadenarían un aumento en el volumen hídrico corporal que normalizaría la osmolaridad plasmática. Posteriormente, la excreción de fluido isotónico podría normalizar el volumen hídrico corporal de estos animales (como se aprecia en la Figura 5.9).

DISCUSIÓN GENERAL DEL CAPÍTULO 2

Los experimentos presentados en este capítulo han examinado los efectos temporales de la Oxitocina y de la privación de alimento (en períodos de 12 horas), sobre la regulación hidromineral, incluyendo la evolución del volumen hídrico corporal. Asimismo, estas investigaciones han comprobado el efecto de la administración e ingesta de soluciones hipertónicas sobre los comportamientos regulatorios hidrominerales motivados por la privación de comida y por el tratamiento con Oxitocina.

Con respecto al comportamiento de los animales **12 horas** después de la primera administración de Oxitocina, los datos obtenidos constatan en los sujetos mantenidos *ad lib*, un aumento en el volumen de excreción y una disminución simultánea en la ingesta de agua. Estos efectos han resultado estadísticamente significativos en el Experimento 5 (figura 5.2), sin llegar a alcanzar significación en el Experimento 4 (figura 4.2), aunque la tendencia de los valores obtenidos en ambos casos, han sido muy similares (esta discrepancia podría ser consecuencia del mayor número de sujetos que participan en el experimento 5 con $n= 40$ sujetos por grupo frente a los 7 sujetos por grupo del experimento 4).

Los efectos de la *Oxitocina* observados en estos animales *ad lib*, han sido relacionados con el efecto natriurético de la hormona. Así, y aunque la capacidad natriurética de la Oxitocina en sujetos con comida disponible parece limitada (Balment et al, 1980), podría verse facilitada por la escasa cantidad de alimento que los roedores ingieren durante el día (Armstrong, 1980; Windle et al, 1992). Al ir acompañada de la excreción de Cl^- y agua (Guyton y Hall, 2001; Kandel et al, 1997), la natriuresis conlleva una reacción diurética. Al potenciar la excreción de sodio, la natriuresis oxitocinérgica reduciría el estado osmótico y así, la ingesta de agua relacionada con el consumo de alimentos.

Un segundo efecto reproducido durante este intervalo temporal (12 horas de luz), ha sido, como cabría esperar, la reducción en la ingesta de agua y el aumento en el volumen de excreción inducido por *privación de alimento* (figuras 4.2 y 5.2), en consonancia con los estudios descritos previamente (Bauman et al, 1964; Burlet et al, 1992; Cumming y Morrison, 1960; Morrison, 1967 y 1968b; Morrison et al, 1967; Oatley y Tonge, 1969).

El efecto poliúrico de la Oxitocina en los sujetos privados de comida (figuras 4.2B y 5.2B) (por su efecto natriurético-diurético) y la ausencia de diferencias iniciales en la ingesta de agua entre los grupos de Oxitocina S/C y los de AD S/C (figuras 4.2A y 5.2A), han sido ya comentados anteriormente con respecto a otros intervalos temporales.

Por su parte, durante las **12 horas de oscuridad**, el tratamiento con *Oxitocina* incrementa el volumen de excreción y la ingesta de agua en los *sujetos privados*, sin modificar el comportamiento ingestivo y excretor de los sujetos *ad lib* (Figura 5.4). Dado que las horas de oscuridad constituyen el período de actividad de los roedores (en los que se consume el 80% del agua y comida total), estos mismos efectos se observan al considerar la cantidad de agua ingerida y excretada después de **24 horas** (Figura 5.7 y Cuadro 5.A).

		12H DIA	12H NOCHE	24 y 48 H
EFECTO PRIVACIÓN (S/C vs C/C)	GRUPOS DE AG. DEST.	↓ Agua ↑ Orina	= Agua ↑ Orina	= Agua ↑ Orina
	GRUPOS DE OXITOCINA	= Agua ↑ Orina	↑ Agua ↑ Orina	↑ Agua ↑ Orina
EFECTO OXITOCINA (OX vs AD)	GRUPOS CON COMIDA	↓ Agua ↑ Orina	= Agua = Orina	= Agua = Orina
	GRUPOS SIN COMIDA	= Agua ↑ Orina	↑ Agua ↑ Orina	↑ Agua ↑ Orina

Cuadro 5.A: Efectos comportamentales y excretores en diversos momentos temporales. Los símbolos ↓, ↑ y = denotan, respectivamente, descensos, incrementos y ausencia de diferencias estadísticamente significativas en las variables dependientes indicadas.

El *efecto polidíptico* que el tratamiento con oxitocina provoca durante las horas de actividad en los sujetos privados podría resultar del déficit volémico, con pérdida de agua y ClNa, que habría tenido lugar durante las horas previas. Todo ello permitiría explicar por qué la administración de *soluciones hipertónicas* contrarrestan la sed y la dificultad para retener fluido que se observa en los grupos privados tratados con Oxitocina. Este resultado apoya una interpretación del efecto nocturno de la Oxitocina en términos de una pérdida urinaria de ClNa.

Como se ha indicado, en el grupo privado con administración de Oxitocina, la pérdida de ClNa sería compensada por la administración de las soluciones hipertónicas de ClNa, mientras que en el grupo ad lib, este efecto compensatorio se lleva a cabo por la propia ingesta de alimento.

Los datos obtenidos en el Experimento 4 muestran cómo los animales privados tratados con Oxitocina, reconocen de forma espontánea el déficit sódico (ver Schulking, 1991) generado y así, estos animales ingieren durante la noche soluciones de ClNa al 1.5% que habitualmente resultan aversivas para los restantes animales.

Durante el *período diurno*, los efectos ingestivos y excretorios de la privación de alimento y del tratamiento con Oxitocina han sido estudiados en relación con el **volumen hídrico** y **peso corporal**. La disminuida ingesta de agua y la poliuria inducida por privación, disminuyen el volumen hídrico y el peso corporal de los animales y esa disminución se ve potenciada en los grupos de oxitocina (figuras 4.3 y 5.3). Durante el *período nocturno*, la poliuria por privación se mantiene y así el volumen hídrico y el peso corporal de los sujetos privados de comida sigue siendo menor que el de los animales mantenidos ad lib (figura 5.6). Por el contrario, la Oxitocina potencia la ingesta nocturna de agua y de esta manera, aumenta el volumen hídrico de los sujetos privados de comida (figura 5.6).

El efecto compensatorio de la Oxitocina sobre el volumen hídrico y sobre el peso corporal durante las horas de oscuridad, también se observa en los animales con comida disponible (figura 5.6). Transcurridas las **24 horas**, los animales privados de comida tienen un volumen hídrico menor que el de los grupos mantenidos ad lib (dado el descenso diurno y nocturno en el volumen hídrico corporal), mientras que los grupos de Oxitocina cuentan con un volumen hídrico similar al de los grupos de AD (Figura 5.8).

De esta forma, la privación de alimento altera el volumen hídrico corporal de los animales, mientras que tras el tratamiento con Oxitocina, los sujetos parecen adaptarse y normalizar su volumen hídrico.

Considerando conjuntamente todas las variables dependientes analizadas, puede observarse que, durante las primeras 12 horas (luminosidad), el **grupo privado AD** manifiesta una conducta poliúrica (Cizek et al, 1951; Holmes y Cizek, 1951; Radford, 1959; Swanson et al, 1935) consumiendo menos agua que el grupo ad lib, en consonancia con los estudios de otros autores (Bauman et al, 1964; Burlet et al, 1992; Cumming y Morrison, 1960; Morrison, 1967 y 1968b; Morrison et al, 1967; Oatley y Tonge, 1969). Todo ello provoca una reducción en el volumen hídrico y en el peso corporal de estos animales. A pesar de esta pérdida hídrica, los animales exclusivamente privados de alimento no aumentan su volumen hídrico durante la noche, posiblemente porque al no incrementar significativamente la ingesta de agua, estos animales evitan la dilución de la osmolaridad plasmática.

Al administrar **Oxitocina en los sujetos privados**, el efecto natriurético inicial (Experimento 3) aumenta la excreción de orina y genera una pérdida hídrica más elevada que en el resto de grupos. La ingesta de agua es incrementada por estos animales durante las horas de oscuridad, logrando así recuperar el volumen hídrico perdido hasta igualarlo (después de 24 horas), al de los sujetos exclusivamente privados de alimento.

Sin embargo, en estos animales tratados con Oxitocina, la ausencia de comida facilita la polidipsia pero también la poliuria. De esta forma, se genera un mecanismo redundante donde la pérdida de fluido, es remplazada por su ingesta; pero el agua consumida se excreta rápidamente y los sujetos siguen necesitando tomar más agua y así sucesivamente. Es decir,

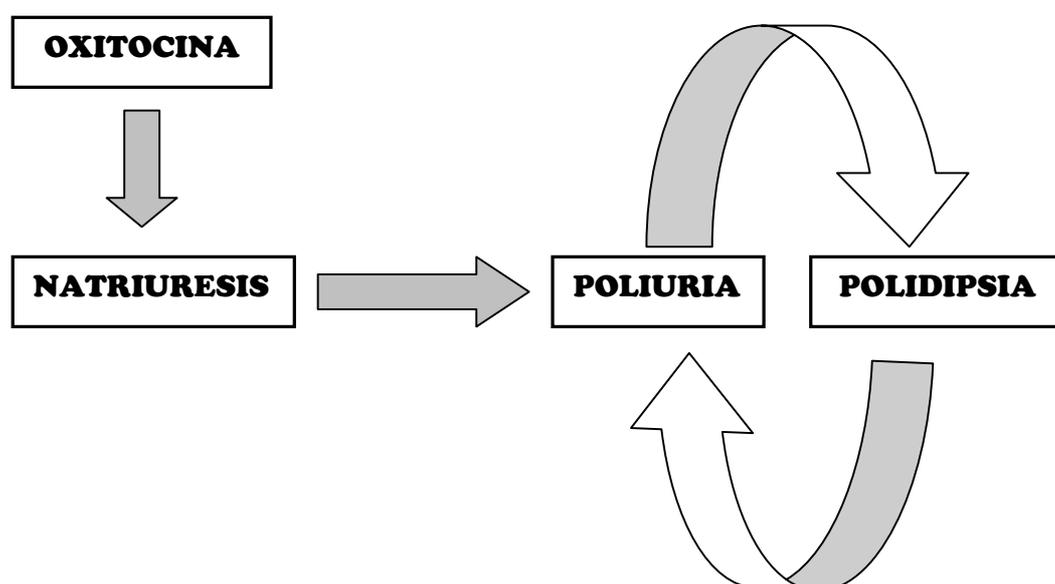


Figura 5.10: Efectos fisiológicos y comportamentales de la Oxitocina en sujetos privados de alimento: *En los animales privados de comida, la administración de Oxitocina estimula en primer lugar la excreción de sodio (natriuresis), una respuesta que aumenta el volumen de excreción urinaria (poliuria). Con posterioridad, la pérdida de volumen hidromineral corporal podría ser la responsable del incremento en la ingesta de agua (polidipsia) que estos animales manifiestan. Ahora bien, considerando que la ausencia de comida dificulta la retención renal de fluido, el agua ingerida por estos animales no podría ser retenida, con lo que los efectos poliúrico y polidipsico se mantienen a lo largo del tiempo y en un grado que evita que se acentúen las pérdidas de volumen hídrico corporal generadas como consecuencia de la ausencia de comida.*

Finalmente, los animales del **Grupo OX ad lib** excretan durante el período de inactividad, un volumen de orina superior y consumen menos agua que el grupo control con comida, con lo que su volumen hídrico se reduce. Estos efectos podrían resultar de la acción natriurética de la Oxitocina, que sería favorecida por la escasa cantidad de comida que las ratas ingieren durante el ciclo de luz (Franci et al, 1989; Rolls y Rolls, 1982).

Durante el período nocturno, el consumo de alimento permitiría al grupo OX ad lib retener agua, reduciendo así las manifestaciones poliúrica y polidipsica. Por ello, sin aumentar significativamente la ingesta de agua y la retención de fluido, este grupo logra recuperar el volumen hídrico perdido durante el día.

Teniendo en cuenta que la Oxitocina está considerada como un agente natriurético, su función podría estar relacionada con aquellas situaciones en las que se producen aumentos de la tonicidad plasmática (tal y como ocurre al privar de agua a los sujetos o al administrar soluciones hipertónicas) (Balment et al 1980; Brimble y Dyball, 1977; Briski y Brandt, 2000; Cheng y North, 1986; Dogterom, 1977; Huang et al., 1995; Hussy et al., 2000; Kadekaro et al., 1995; Mckinley y Oldfield, 1994; Miyata et al., 2001; Morris et al., 1984; Rinaman et al., 1995; Robertson, 1983; Sandgaard et al., 2000; Stricker et al., 1987b; Stricker y Sved, 2000; Verbalis et al., 1991b; Verbalis y Stricker, 2000; Voisin et al., 1999; Weitzman et al., 1978).

SEGUNDA SERIE

EXPERIMENTAL:

MECANISMOS CEREBRALES

CAPÍTULO 3:

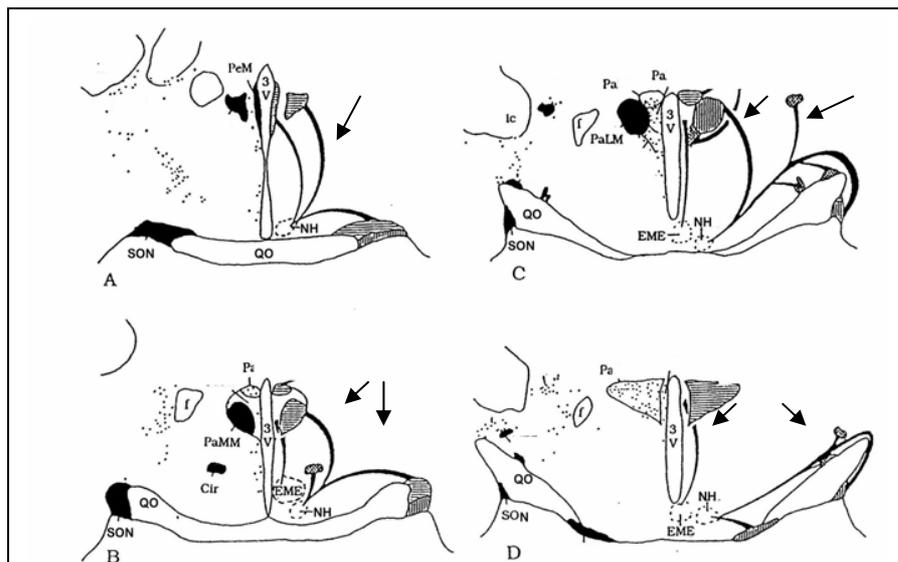
ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL NÚCLEO PARAVENTRICULAR Y COMPORTAMIENTO HIDROMINERAL

ESTRUCTURAS NEUROSECRETORAS Y SÍNTESIS DE OXITOCINA.

La Oxitocina y la Vasopresina son liberadas a la circulación sanguínea a través de las terminales de neuronas *magnocelulares* de los núcleos Supraóptico y Paraventricular (SON y PVT). Durante años, se pensó que la Vasopresina sería sintetizada en el Núcleo Supraóptico y la Oxitocina en el Paraventricular (Armstrong, 1995b; Olivecrona, 1957), sin embargo, los estudios electrofisiológicos posteriores (revisados en la Introducción Teórica) demostraron que ambas estructuras liberaban las dos neurohormonas (Binkley, 1995; Brimble y Dyball, 1977; Poulain et al, 1977; Swaab et al, 1975; Warkeley et al, 1978).

Los axones del conjunto magnocelular discurren por la parte interna de la Eminencia Media, forman el tallo neurohipofisario y terminan en la Hipófisis Posterior o Neurohipófisis. Tanto en la Eminencia Media (Page y Dovey-Hartman, 1984), como en la Neurohipófisis (Armstrong, 1995; Legros, 1992; Renaud y Bourque, 1991; Rinaman et al, 1995; Saeb-Parsy et al, 2000; Swaab, 1993), se han identificado terminales nerviosas y capilares sanguíneos que permiten el transporte de las neurohormonas a los tejidos diana.

Aunque ambos núcleos liberan las dos neurohormonas, se observa una segregación anatómica entre las células vasopresinérgicas y oxitocinérgicas (Dibujo 6.1) (Hou-You et al, 1986). En el **núcleo supraóptico** predominan las células productoras de vasopresina y las neuronas oxitocinérgicas se encuentran confinadas a la región rostral y dorsal del núcleo (Armstrong, 1995b). Por su parte, y con menos células que el SON, el **núcleo paraventricular** cuenta con un número similar de neuronas oxitocinérgicas y vasopresinérgicas (Armstrong, 1995b). La región medial magnocelular de este núcleo (localizada anteromedialmente) consta principalmente de células oxitocinérgicas, mientras que la división lateral magnocelular, contiene un centro vasopresinérgico (Armstrong, 1995) rodeado de células que liberan oxitocina (Crowley y Armstrong, 1992). Ambos conjuntos (medial y lateral magnocelular) constituyen el grupo posterior magnocelular según la nomenclatura de Swanson y Kuypers (Swanson y Kuypers, 1980). En el extremo posterior del núcleo paraventricular, las neuronas magnocelulares se encuentran dispersas y son, en su mayoría, oxitocinérgicas (Armstrong, 1995).



Dibujo 6.1: Subdivisiones y localización de las células neurosecretoras:

Desde la sección más rostral (A) a la más caudal (D) se observan 4 cortes transversales de las estructuras neurosecretoras. La mitad izquierda de cada sección muestra la densidad de neuronas magnocelulares (los puntos aislados representan células dispersas y en oscuro se muestran las agrupaciones más densas). En la mitad derecha, las líneas horizontales corresponden a células oxitocinérgicas y las verticales a las vasopresinérgicas. Las flechas señalan las eferencias a la capa externa de la Eminencia Media (EME) y a la Neurohipófisis (NH). Abreviaturas: "Pa" subconjunto parvocelular, PeM (periventricular magnocelular), QO (quiasma óptico), SON (núcleo supraóptico), PaLM (lateral magnocelular), PaMM (medial magnocelular). Adaptado: Armstrong, WE (1995).

Además del componente magnocelular, como se muestra en el dibujo 6.1, el núcleo paraventricular cuenta con varios *subnúcleos parvocelulares*. La subdivisión periventricular parvocelular del núcleo (Tóth y Palkovits, 1998) está formada por células neurosecretoras que liberan las hormonas a la lámina Externa de la Eminencia Media. Las terminales vasopresinérgicas contienen adicionalmente CRF (Factor liberador de corticotropina) e influyen en la liberación de hormonas adenohipofisarias como la ACTH (Armstrong, 1995; Legros, 1992; Saeb-Parsy et al, 2000; Swanson y Sawchenko, 1983). Por su parte, las terminales parvocelulares oxitocinérgicas liberan este neurotransmisor en estructuras del tronco cerebral, como el Núcleo del Tracto Solitario (NTS) (Buijs y Van Heerikhuize, 1982; Voorn y Buijs, 1983) y el Núcleo Dorsal motor del Vago (DMV) (Armstrong et al, 1980; Buijs, 1978; Duan et al, 1999; Kannan y Yamashita, 1983; Saechenko y Swanson, 1982; Zerihun y Harris, 1983). Estas eferencias oxitocinérgicas regulan funciones autonómicas (Kannan y Yamashita, 1983; Landgraf et al, 1990; Legros, 1992) y parecen participar en procesos gastrointestinales así como en la ingesta de alimento (Kirchgessner et al, 1988; Rogers y Hermann, 1986: citado por Zhang et al, 1999).

EXPERIMENTO 6: EFECTOS DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL NÚCLEO PARAVENTRICULAR MAGNOCELULAR LATERAL SOBRE LA INGESTA DE CINA ISOTÓNICO Y DE AGUA, EN RATAS PRIVADAS DE LÍQUIDOS.

El núcleo Paraventricular del Hipotálamo participa en numerosos procesos autonómicos, endocrinos y comportamentales tales como la presión sanguínea, la liberación de ADH y OX, la excreción renal de fluido y sodio y la ingesta de agua (Brownstein et al, 1980; de Arruda Camargo y Saad, 1999; Jensen et al, 1992; Harding y Felix, 1987; Leibowitz, 1978; Lind et al, 1982; Miselis, 1981; Nelson et al, 1986; Phillips, 1987; Porter, 1988; Sawchenko y Swanson, 1983; Swanson y Sawchenko, 1983).

Las células paraventriculares pueden secretar Oxitocina como sustancia neurotransmisora o como neurohormona, si bien, mientras que la estimulación de las regiones nucleares más mediales, fomentan tanto la secreción plasmática como la intracerebral, la estimulación de las regiones más laterales parecen activar, específicamente, la secreción neurohormonal (Jones et al, 1983). Estos resultados están en consonancia con los datos neuroanatómicos que han identificado la presencia de células oxitocinérgicas neurosecretoras en la región anatómica del núcleo paraventricular que constituye el borde del subnúcleo magnoelular lateral (Crowley y Armstrong, 1992).

Esta última región mencionada y la liberación plasmática de oxitocina son activadas tras la administración periférica de soluciones hipertónicas (Landgraf et al, 1990; Pirnik y Kiss, 2002). La Oxitocina liberada en tales circunstancias parece fomentar la excreción de sodio, ya que esta respuesta ha sido evocada tanto mediante la administración de soluciones hipertónicas como de la propia Oxitocina (Balment et al 1980; Conrad, 1986; Huang et al., 1995 y 1996; Kadarko et al, 1992; Robertson, 1983; Sandgaard et al., 2000; Sevensen et al, 2003; Stricker y Sved, 2000; Verbalis et al., 1991b; Verbalis y Stricker, 2000; Windle et al, 1997).

A través de esta acción natriurética, la oxitocina secretada por las células paraventriculares, reduce indirectamente el incremento en la osmolaridad plasmática asociado a la administración de soluciones hipertónicas o a la privación de agua (Balment et al, 1980; Dyball, 1968; Giovanelli et al, 1992; Kadekaro et al, 1992 y 1992b; Landgraf, 1988; Stricker y Verbalis, 1986; Verbalis et al, 1986; Windle et al, 1993).

Comportamentalmente, un incremento osmótico provoca el rechazo hacia las soluciones con ClNa y la preferencia por agua en tests con esta doble opción (Kutscher y Steilen, 1973; Stellar et al, 1954; Young y Falk, 1956). Si en efecto, este rechazo está relacionado con los aumentos de la osmolaridad plasmática generados por el tratamiento osmótico, sería posible suprimirlo mediante intervenciones cerebrales en regiones que potencien la excreción de sodio.

El presente experimento pretende examinar esta posibilidad mediante la estimulación eléctrica del núcleo paraventricular magnocelular lateral, comprobando la ingesta de agua y de suero fisiológico en sujetos privados de líquido durante 24 horas (desequilibrio osmótico).

OBJETIVOS E HIPÓTESIS:

- Estimular eléctricamente el núcleo paraventricular magnocelular lateral con el fin de comprobar si la activación de esta región cerebral puede generar efectos regulatorios semejantes a los obtenidos tras la administración de Oxitocina. Cabría esperar que en los sujetos privados de agua durante 24 horas, la estimulación modifique el rechazo osmótico hacia las soluciones salinas en un test de doble elección (agua-suero fisiológico).

MÉTODO:**SUJETOS Y GRUPOS:**

Se emplearon 36 ratas macho de la cepa Wistar (suministradas por el estabulario de la Universidad de Granada) cuyos pesos (al inicio del experimento) oscilaban entre 280 y 320 gramos. La temperatura de la sala experimental se mantuvo entre 21 y 23 grados centígrados y el ciclo de luz-oscuridad se estableció en períodos alternos de 12 horas (la luz se encendía a las 8:00 y se apagaba a las 20:00 horas).

Una vez alojados en jaulas individuales, los animales fueron asignados aleatoriamente a uno de los cuatro grupos que se muestran en el **Cuadro 6.1**. Los animales dispusieron en todo momento de comida ad lib.

<i>VARIABLES INDEPENDIENTES</i>		<i>ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA</i>	
		<i>Estimulado</i>	<i>Control</i>
<i>AGUA</i>	<i>Ad lib</i>	<i>N= 9</i>	<i>N= 9</i>
	<i>Sin agua</i>	<i>N= 9</i>	<i>N= 9</i>

Cuadro 6.1

PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO: Implante intracerebral de electrodos.

La cirugía para el implante de electrodos fue llevada a cabo utilizando como anestésico inyecciones i.p. de Pentotal Sódico (50 mg/Kg) (Thiopental Sódico, Laboratorios Abbot S.A., Madrid).

Tras rasurar la cabeza, se sitúa a los animales en un instrumental estereotáxico, (Stoelting, Mod. 51600), donde quedan inmovilizados. A continuación, se realiza una pequeña incisión longitudinal de unos 2 cm. de largo, retirando el tejido perióstico conjuntivo y raspando ligeramente el cráneo hasta dejarlo completamente limpio y seco.

Seguidamente, con un torno, se trepanan 4 orificios en una posición anterior (dos a cada lado de la línea media), a través de los que se insertan cuatro pequeños tornillos de acero inoxidable. Alrededor de los tornillos se fija el electrodo de referencia (acero inoxidable de uso odontológico, de 0,9 mm. de diámetro).

A continuación se perfora un nuevo orificio de mayor diámetro que los anteriores, a través del cual se introduce unilateralmente, un electrodo monopolar de aproximadamente 200 micras de diámetro hasta el lugar de localización del subnúcleo magnocelular lateral del núcleo paraventricular (Coordenadas respecto al punto 0 interaural: AP= 7.2; L= 0.6; V= 2.2 mm, con una inclinación del cráneo de -3,3 mm. según el atlas de Paxinos & Watson (1986)).

Los electrodos monopolares fueron fabricados con alfileres entomológicos de acero inoxidable (nº 00) a los que se soldaba una sección de hilo dental de unos 3 cm. de largo (igualmente de acero inoxidable) curvado en ángulo recto. Se aisló el electrodo con INSL-X desde el punto de unión de ambas secciones hasta los últimos 0.5 mm del extremo distal.

Una vez situado en la zona establecida por las coordenadas estereotáxicas, se procedió a la fijación del electrodo activo con resina acrílica (S.R. Denture Base, Quick 3/60, Ivoclar) recubriéndolo todo junto con los tornillos y el electrodo masa hasta dejar el implante totalmente cubierto y fijado al cráneo. Finalizado el proceso, se retiró al animal del aparato estereotáxico y se seccionaron los dos extremos sobrantes de los electrodos, dejándolos con una longitud aproximada de 1,5 cm. por encima del cráneo.

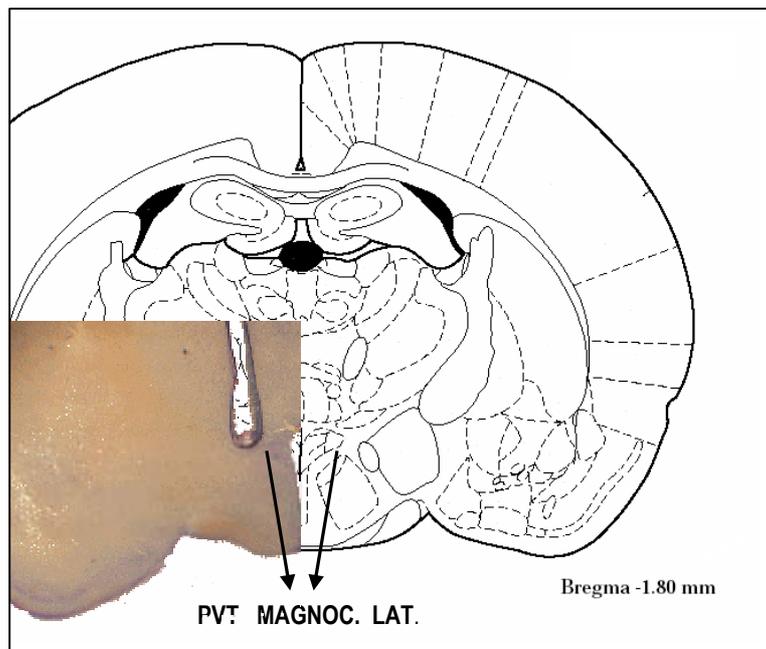
Como medida preventiva ante cualquier infección, todos los animales recibieron una dosis intramuscular de 0,1 cc. de penicilina (Benzetacil 6-3-3. Antibióticos Farma S.A., Madrid) y una solución antiséptica alrededor del implante (Betadine. Povidona Yodada. Asta Médica, Madrid).

Concluida la intervención quirúrgica (común para todos los sujetos con independencia de su grupo de pertenencia), los animales fueron instalados en jaulas individuales, donde permanecieron durante diez días para su recuperación (con comida y agua "ad libitum").

Histología.

Finalizado el experimento, todos los animales fueron profundamente anestesiados, perfundidos y laminados para su examen microscópico. Algunas láminas histológicas representativas fueron teñidas con violeta de Cresilo y microfotografiadas (Olympus Optical, mod PM-G, Japón).

La **Fotografía 6.1** muestra una sección transversal, teñida con violeta de Cresilo, integrada en una lámina del atlas de Paxinos y Watson (1997) al mismo nivel rostro-caudal (7.2 mm desde el punto 0 interaural).



Fotografía 6.1

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL:

Una vez recuperados de la intervención quirúrgica, los sujetos son alojados durante 24 horas en jaulas metabólicas con comida ad lib y con o sin agua en función del grupo de pertenencia (ver Cuadro 6.1). Al finalizar el periodo de 24 horas, se registra la ingesta de comida y la de agua (para los grupos mantenidos ad lib), el volumen de orina excretado y el peso corporal; y se estimula eléctricamente a la mitad de los sujetos mantenidos ad lib y a la mitad de los animales privados de agua.

Se aplica una estimulación eléctrica pulsante (durante 15 minutos) con pulsos rectangulares catódicos y con los siguientes parámetros:

- Duración de cada pulso: 0.2 ms;
- Frecuencia: 66 Hz;
- Intensidad (en microamperios): variable en función de cada animal. Se aumenta gradualmente hasta un máximo (determinado en estudios pilotos previos) de 300 microamperios. En el caso de que algún animal muestre signos de agitación, la intensidad se reduce a un nivel que no genere molestias aparentes.

Tras la estimulación, los animales son introducidos en jaulas individuales durante una hora. Pasados los primeros 15 minutos, se les ofrece simultáneamente agua y ClNa al 0.9 % (Suero Fisiológico) (**Fotografía 6.2**). Se registra la ingesta de cada fluido en este test de doble elección durante 45 minutos.



Fotografía 6.2

Una vez finalizado el test y con el objeto de obtener muestras de orina, se introduce nuevamente a los animales en jaulas de metabolismo (con agua y suero fisiológico), durante 5 horas. Transcurrido este segundo período, se registra la ingesta de ambos fluidos, el volumen de orina excretado y el peso corporal.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Para el análisis de resultados, se usa el módulo Anova/Manova del paquete informático 'Statistica'. En primer lugar, se analiza la ingesta de comida, el volumen de orina y el cambio en el peso corporal después de las primeras 24 horas mediante un Manova para las variables independientes "Privación de agua" (Grupos privados y mantenidos ad-lib) y "Estimulación eléctrica" (Grupos estimulados y grupos no estimulados). La ingesta de agua de los dos grupos no privados, se analiza mediante un Anova.

La ingesta de agua y de suero fisiológico (consideradas medidas repetidas) durante el test de doble elección se analiza mediante un Anova para los 2 x 2 grupos de sujetos.

Finalmente, se analiza el comportamiento de los 2 x 2 grupos de animales durante el período de 5 horas en jaulas metabólicas mediante tres Anovas: el primero sobre la ingesta de agua y suero fisiológico (entendidas como medidas repetidas), el segundo sobre el volumen de excreción y el tercero sobre el peso corporal.

El **Cuadro 6.2** muestra las variables dependientes registradas en cada intervalo temporal:

VARIABLES DEPENDIENTES	MOMENTO DE REGISTRO		
	Línea Base	Test 45 minutos	Test 5 horas
<i>Agua</i>	Sí	Sí	Si
<i>Suero Fisiológico</i>	---	Sí	Si
<i>Orina</i>	Si	---	Si
<i>Peso Corporal</i>	Si	---	Si

RESULTADOS:

En la Tabla 6.0 (Anexo), se muestran las medias y desviaciones típicas del experimento.

Después de las primeras **24 Horas**, como cabría esperar, se aprecia el ***efecto de la privación de agua***: el Manova realizado muestra un efecto significativo de la variable “Privación” (Rao R (3,30)= 77.41; $p < 0.001$) sobre las variables dependientes. No se observan diferencias significativas entre los “teóricos” grupos estimulados eléctricamente (EST.) y controles (CONT.) (aún no se había aplicado la estimulación eléctrica) (**Tabla 6.1 y Figura 6.1**):

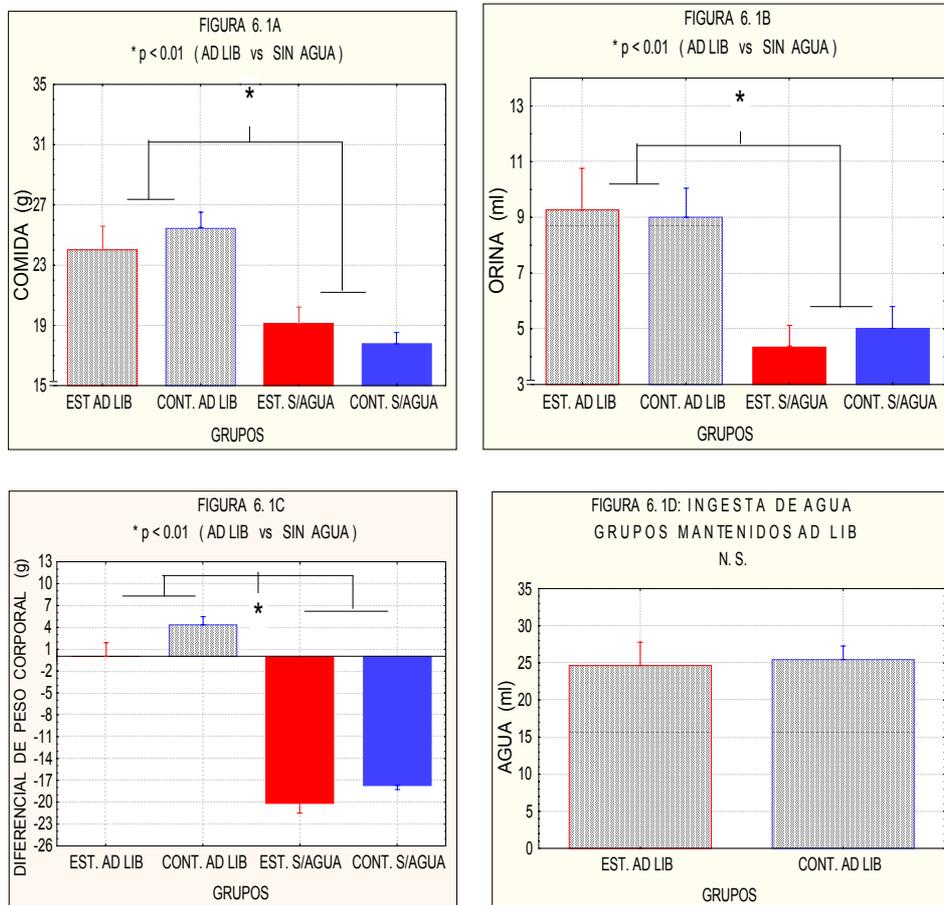


Figura 6.1: Efecto de la privación de agua durante 24 horas sobre la ingesta de comida, el volumen de excreción y el cambio en el peso corporal. En la Figura 6.1D se muestra la ingesta de agua para los grupos mantenidos ad lib.

EFEECTO	Lambda W.	Rao's R	gl 1	gl 2	P
Estimulación	,837094	1,94609	3	30	,143445
Privación	,114396	77,41572	3	30	,000000
Interacción	,944747	,58484	3	30	,629614

Tabla 6.1: Manova después de las primeras 24 horas.

Como se aprecia en la Figura 6.1, los sujetos privados de agua durante 24 horas, ingieren una menor cantidad de comida ($F(1,32)= 27,85$; $p < 0,001$), excretan un volumen de orina inferior ($F(1,32)= 19,27$; $p < 0,001$) y experimentan un mayor descenso en el peso corporal ($F(1,32)= 196,67$; $p < 0,001$) que los grupos mantenidos ad lib. La ingesta de agua no difiere entre los grupos control y “estimulados” ad lib ($F(1,16)= 0,06$; $p < 0,802$).

Prueba de Preferencia: El ANOVA sobre la ingesta de agua y suero fisiológico para los 2 x 2 grupos de sujetos tras el **test de elección (agua-CINa isotónico)** muestra un efecto significativo para la interacción entre las tres variables independientes (Variable 1: Estimulación Eléctrica; Variable 2: Privación de Agua; Variable 3: Fluido (Agua o CINa isotónico)) ($F(1,32)= 5,15$; $p < 0,031$) (**Tabla 6.2 y Figura 6.2**):

VAR. IND.	gl efecto	MC efecto	gl error	MC error	F	p
1.Estimulación	1	12,3339	32	3,427500	3,5985	,066888
2. Priv. Agua	1	519,4939	32	3,427500	151,5664	,000000
3. Fluido	1	33,0756	32	7,514167	4,4018	,043886
12	1	14,0450	32	3,427500	4,0977	,051355
13	1	35,8422	32	7,514167	4,7700	,036403
23	1	18,8089	32	7,514167	2,5031	,123456
123	1	38,7200	32	7,514167	5,1529	,030081

Tabla 6.2: Manova del comportamiento ingestivo durante el test de doble elección.

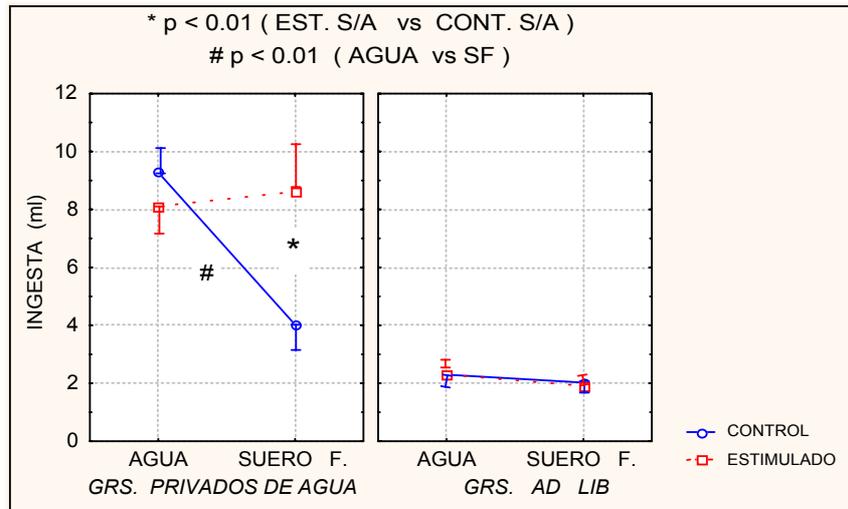


Figura 6.2: Ingesta de agua y de suero fisiológico (ml) durante el test de 45 minutos por parte de los grupos control (no estimulado) y experimental (estimulado).

Las comparaciones realizadas posteriormente revelan los siguientes resultados:

- En los grupos **privados de agua**, se observan los siguientes efectos:
 - Los sujetos del grupo Control, ingieren mayor cantidad de Agua que de Suero Fisiológico ($F(1,32)= 16.54$; $\# p < 0.001$). Este no es el caso del grupo Estimulado, que consume una cantidad de Solución Salina equivalente a la de Agua ($F(1,32)= 0.15$; $p < 0.70$).
 - La ingesta de Agua de los dos grupos privados (Estimulado y Control) no difiere significativamente ($F(1,32)= 1.60$; $p < 0.215$). Sin embargo, los sujetos del grupo estimulado (Estimulado-Privado de agua) consumen una mayor cantidad de *Suero Fisiológico* que los sujetos control (Control-Privado de agua) ($F(1,32)= 13.30$; $* p < 0.001$).
- Entre los grupos **mantenidos ad lib** no se observan diferencias significativas ($F(1,32)= 0.008$; $p < 0.929$), ni preferencia por ninguno de los fluidos disponibles ($F(1,32)= 0.13$; $p < 0.718$). Como cabría esperar, los animales mantenidos ad lib ingieren una menor cantidad de líquido que los animales que habían permanecido privados de agua ($F(1,32)= 151.57$; $p < 0.001$).

Durante las **5 horas** siguientes en **jaulas metabólicas** con agua y suero fisiológico disponible, no se observan efectos residuales asociados a la estimulación eléctrica. Sólo alcanza a ser significativo durante este período de tiempo, el efecto de la privación de agua (durante el día previo) sobre la ingesta de líquido: la privación aumenta la ingesta de agua ($F(1,32)= 6.5$; $p < 0.016$) y la de suero fisiológico ($F(1,32)= 4.8$; $p < 0.036$) (Tabla 6.3 y Figura 6.3).

VAR. IND.	gl efecto	MC efecto	gl error	MC error	F	p
1. Estimulación	1	.40500	32	2.378750	.17026	.682635
2. Priv. Agua	1	38.13556	32	2.378750	16.03176	.000346
3. Fluido	1	9.38889	32	4.615000	2.03443	.163456
12	1	.10889	32	2.378750	.04578	.831942
13	1	.88889	32	4.615000	.19261	.663703
23	1	.06722	32	4.615000	.01457	.904691
123	1	2.20500	32	4.615000	.47779	.494410

Tabla 6.3: Anova sobre la ingesta de agua y de suero fisiológico durante el test de 5 horas.

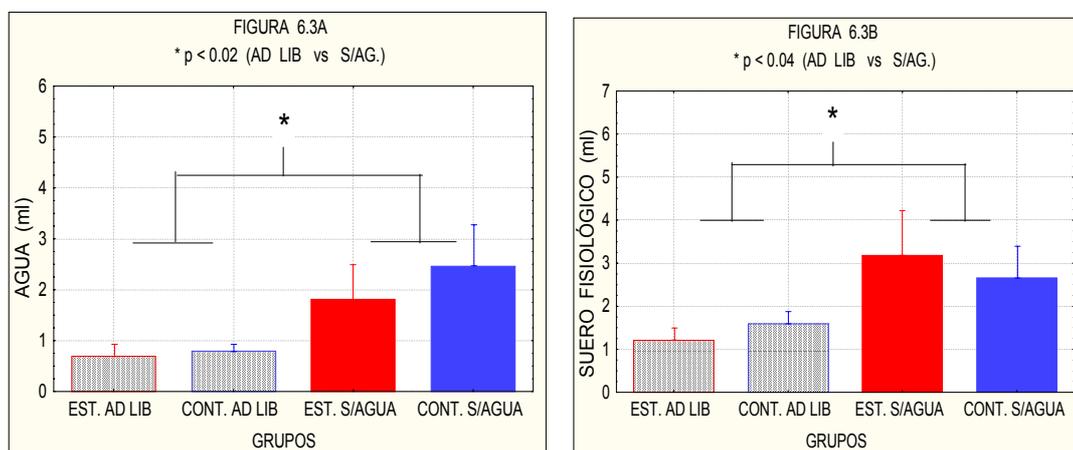


Figura 6.3: Ingesta de Agua y Suero Fisiológico durante el test de 5 horas.

La privación de agua (durante el día previo) aumenta el peso corporal diferencial durante las 5 horas en jaulas metabólicas ($F(1,32) = 138.06$; $p < 0.001$) (Tabla 6.4 y Figura 6.4).

EFFECTO	gl efecto	MC efecto	gl error	MC error	F	p
Estimulación	1	6.250	32	18.47222	.3383	.564861
Priv. Agua	1	2550.250	32	18.47222	138.0586	.000000
Interacción	1	38.028	32	18.47222	2.0586	.161046

Tabla 6.4: Anova sobre el cambio en el peso corporal durante el test de 5 horas.

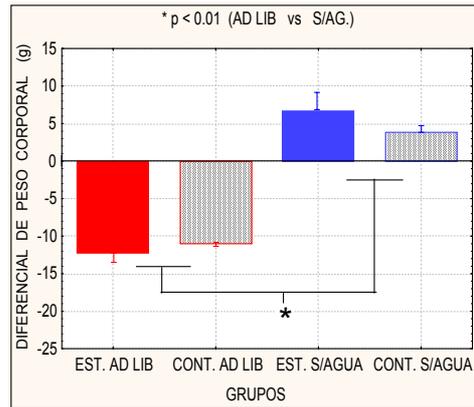


Figura 6.4: Cambio en el peso corporal durante el test de 5 horas.

Finalmente, el volumen de orina no difiere significativamente entre los 2 x 2 grupos de sujetos (tabla 6.5 y figura 6.5).

VAR. IND.	gl efecto	MC efecto	gl error	MC error	F	p
Estimulación	1	1.690000	32	2.076354	.813927	.373703
Priv. Agua	1	5.840278	32	2.076354	2.812756	.103261
Interacción	1	2.777778	32	2.076354	1.337815	.255982

Tabla 6.5: Anova sobre el volumen de excreción durante el test de 5 horas.

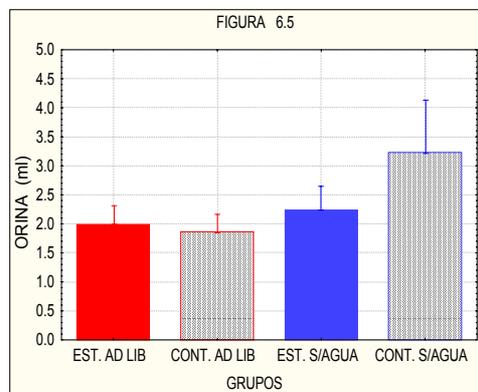


Figura 6.5: Volumen de orina durante el test de 5 horas.

DISCUSIÓN GENERAL DEL CAPÍTULO 3

En condiciones normales, los animales prefieren las soluciones isotónicas antes que el agua (Kaunitz et al, 1960); sin embargo, cuando son privados de líquido, esta preferencia se invierte (Kutscher y Steilen, 1973; Stellar et al, 1954; Young y Falk, 1956). La reducción significativa del consumo de suero fisiológico que se observa durante el test de doble elección por parte del grupo *privado/no estimulado* (Figura 6.2), apunta en esa dirección. Por el contrario, la **estimulación eléctrica** del núcleo paraventricular suprime la preferencia por agua (frente a suero fisiológico) que se manifiesta en los sujetos privados de agua durante las 24 horas anteriores. De hecho, el grupo estimulado consume durante esta prueba, una cantidad de suero fisiológico significativamente mayor que el grupo sin estimular (Figura 6.2).

Por su parte, los animales mantenidos ad lib, no muestran preferencia por ninguno de los fluidos disponibles. Estos resultados podrían explicarse por el hecho de que el test de ingesta se realiza durante el período de inactividad de los animales, cuando apenas consumen líquido.

Estas diferencias comportamentales entre los dos *grupos privados de agua*, parecen depender de la estimulación eléctrica efectuada y podría implicar que esta intervención ha promovido la liberación de hormonas (o neurotransmisores) paraventriculares (como la oxitocina o la vasopresina). Con los datos disponibles no se puede determinar si la estimulación realizada ha activado una secreción hormonal y/o intracerebral; sin embargo, el lugar de estimulación (región más lateral del subconjunto magnocelular lateral), forma parte del grupo *oxitocinérgico magnocelular* (Crowley y Armstrong, 1992) responsable de la liberación de productos hormonales a la neurohipófisis (Armstrong, 1995; Legros, 1992; Renaud y Bourque, 1991; Rinaman et al, 1995; Saeb-Parsy et al, 2000; Swaab, 1993). De hecho, otros autores han demostrado que la estimulación eléctrica de la región paraventricular lateral promueve con más facilidad la secreción hormonal de oxitocina que su liberación intracerebral (Jones et al, 1983).

Esta supresión de la preferencia por agua observada en los sujetos *privados/estimulados*, parece compatible con la *respuesta natriurética* de la Oxitocina observada previamente y con sus posibles efectos sobre los niveles corporales de sodio. Al promover la liberación plasmática de Oxitocina y su efecto natriurético, la estimulación eléctrica habría podido reducir el aumento habitual en los niveles corporales de sodio (hipernatremia) que resulta de la privación de líquido, y, consecuentemente, la preferencia por agua que se manifiesta en el grupo privado/no estimulado. Así pues, mediante estimulación eléctrica, el comportamiento de los animales privados/estimulados, se aproxima al que se observa habitualmente en los animales mantenidos en condiciones normales (Kaunitz et al, 1960), o lo que es lo mismo, la estimulación habría tenido un efecto regulador compensatorio.

Alternativamente podría pensarse que la estimulación eléctrica (supuestamente oxitocinérgica) podría promover directamente el apetito por sodio en los sujetos privados de agua. Sin embargo, esta propuesta sería contradictoria con los estudios que han considerado a la Oxitocina como parte del circuito responsable de la inhibición del apetito por sodio (una idea que ya fue desarrollada en la Introducción Teórica y que será retomada más adelante, en la discusión general).

Posteriormente (45 minutos después de la estimulación), no se aprecian comportamientos diferenciales entre los dos grupos privados (aunque lógicamente, estos animales ingieren mayor cantidad de líquido que los animales mantenidos ad lib y en consecuencia, su peso corporal aumenta). Estos resultados podrían explicarse por el hecho de que la estimulación eléctrica (sólo durante 15 minutos), podría tener *un efecto relativamente breve*, un resultado por otra parte acorde con la reducida vida media de la Oxitocina en plasma (unos tres minutos: ver Binkley (1995), pág. 92). En este sentido Jones y asociados, comprobaron que la estimulación eléctrica del núcleo paraventricular (durante 15 segundos con una frecuencia de 75 Hz y de 80 a 160 microamperios de intensidad y con pulsos de 0.2 a 0.5 ms) daba lugar a un aumento en la secreción plasmática de oxitocina que alcanzaba su valor máximo 1-2 minutos después de la estimulación y comenzaba a decaer con posterioridad (Jones et al, 1983).

En fin, los datos obtenidos en este experimento, apoyan una posible relación entre los niveles corporales de sodio, la oxitocina y el comportamiento ingestivo. Así, mientras que en sujetos con niveles reducidos de sodio (grupos privados de comida o mantenidos con dietas hiposódicas (Experimentos del Capítulo 1)), la oxitocina parece estimular la ingesta de agua; en sujetos normonatremicos (grupos alimentados con la dieta habitual), la oxitocina no modifica el comportamiento de ingesta. Finalmente, en sujetos con niveles incrementados de sodio corporal (por privación de fluido), la estimulación eléctrica del núcleo paraventricular (¿oxitocina?), parece reinstaurar la ingesta de soluciones salinas isotónicas, un comportamiento propio de los animales mantenidos en condiciones normales.

En resumen, la influencia de la Oxitocina sobre el comportamiento hidromineral podría resultar del efecto de la natriuresis oxitocinérgica sobre los niveles de sodio corporal. De esta forma, al reducir los niveles corporales de sodio, la estimulación eléctrica del núcleo paraventricular habría podido contrarrestar el rechazo por las soluciones de ClNa que se observa en animales privados de fluido.

CAPÍTULO 4:

DIABETES INSÍPIDA, OXITOCINA Y PRIVACIÓN DE COMIDA.

ALTERACIONES EN LA INGESTA DE AGUA: LA DIABETES INSÍPIDA

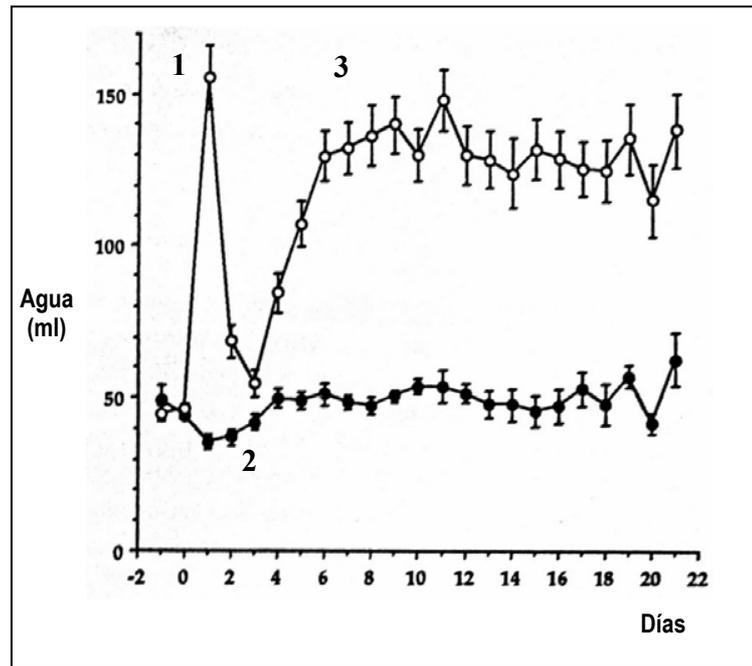
Los incrementos patológicos en la ingesta de agua pueden ser primarios (cuando por ejemplo, se dañan los circuitos cerebrales que participan en la ingesta de fluidos) o secundarios cuando son consecuencia de la pérdida renal de líquido (poliuria) (Robertson, 1991). En este contexto, la Diabetes¹ Insípida (DI) constituye un cuadro polidipsico que ha sido considerado, no sin discrepancias, como una alteración secundaria a la pérdida renal de fluido (Robertson, 1995; Simmons, 2002; Swaab et al, 1993; Verbalis, 2003). Otras características de este trastorno diabético incluyen la escasa concentración urinaria y los niveles elevados de sodio corporal (hipernatremia) (Simmons, 2002).

¹ De hecho, el término Diabetes, se refiere a las alteraciones caracterizadas por la producción de un gran volumen de orina (Rolls y Rolls, 1982; pág. 138).

La DI puede darse bien por una liberación deficiente de ADH u Hormona Antidiurética (DI central o neurogénica) o bien como consecuencia de la ausencia de receptores renales para la hormona (DI nefrogénica) (Bronstein et al., 2000; Czernichow et al., 2000; Demunbrun et al., 1954; González-Portillo et al., 1998; Greger et al, 1986; Heinbecker y White, 1941; Hollinshead, 1964; Huang y Dellman, 1996; Kurokawa et al., 1998; Laszlo y Wied, 1966; Macías-Batista et al., 1999; Maghnie et al., 2000; Mirsky et al., 1954; Moses et al., 1992; Robertson, 1995; Saborio et al., 2000; Swaab et al, 1993; Seckl et al., 1987; Si-hoe et al., 2000; Simmons, 2002; Song et al., 1999; Verbalis, 2003).

La **DI Neurogénica o central** puede ser generada por una gran variedad de factores entre los que se pueden destacar los traumatismos craneoencefálicos, neoplasias, malformaciones cerebrales, intervenciones quirúrgicas y alteraciones genéticas (Bacic y Gluncic, 1999; Bronstein et al., 2000; Isidro et al., 1998; Legros y Geenen, 1996; Nosedá et al., 1985; Randall et al., 1960; Robertson, 1995; Seckl et al., 1987; Simmons, 2002). Experimentalmente, este tipo de Diabetes ha sido generada mediante hipofisectomías y neurohipofisectomías, mediante lesiones electrolíticas con corriente anódica (positiva) de la eminencia media o seccionando las vías del sistema hipotálamo-neurohipofisario (Balment et al, 1986; Hennesy et al, 1977; Huang y Dellman, 1996; O'Connor, 1946; Richter y Ecker, 1935; Smith y McCann, 1962; Rolls, 1970; White y Heinbecker, 1939). Dado que los axones del núcleo supraóptico y del núcleo paraventricular magnocelular también liberan sus productos hormonales en la Eminencia Media (Buma y Nieuwenhuys, 1988; Page y Dovey-Hartman, 1984), las lesiones ventrales a esta zona también podrían ocasionar DI, aunque en este caso, no sería permanente ya que permanece intacta una parte suficiente del sistema (Heinbecker y White, 1941; O'Connor, 1946; Zimmerman, 1984).

Temporalmente, el comportamiento ingestivo (y la excreción de orina) de los pacientes diabéticos sigue un patrón trifásico, tal y como se muestra en el Dibujo 7.1.



Dibujo 7.1: Patrón trifásico en la ingesta de agua (ml) de animales con Diabetes Insípida (círculos abiertos).

La respuesta (1) polidípica y poliúrica inicial (Fase transitoria) tiene una duración de unas 24 horas y es seguida (2) de un descenso en la ingesta y en la excreción de fluido que se prolonga durante 2 ó 3 días (Interfase oligúrica). Posteriormente y de forma crónica (3), la ingesta y excreción de fluido vuelven a aumentar (Fase estable) (Bakker y Waring, 1976; Balment et al., 1986; Bronstein et al., 2000; Friedman et al., 1958 y 1962; Hollishead, 1964; Huang y Dellman, 1996; Laszlo y Wied, 1966; Lichardus y Ponec, 1973; O'Connor, 1946, 1950 y 1952; Robertson, 1995; Rolls, 1970; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1987 y 1992; Swaab et al., 1975; White y Heinbecker, 1939).

La polidipsia diabética ha sido mayormente considerada una alteración secundaria a la pérdida de fluido, siendo entendida como consecuencia de la carencia de vasopresina y también por la presencia de algunas fibras no afectadas por la intervención quirúrgica (Bronstein et al., 2000; Brooks et al., 1958; Heinbecker et al., 1941, 1944; Hollishead, 1964; Laszlo et al., 1966; Lipsett et al., 1956; O'Connor, 1946, 1952; Robertson, 1995).

Concretamente, para Robertson (1995), la destrucción incompleta de las fibras hipotalámicas magnocelulares que se dirigen hacia la neurohipófisis generaría los siguientes efectos:

1. Un déficit inicial en la liberación de vasopresina. Como la vasopresina posibilita la retención y concentración de fluido, su falta conllevaría la excreción de un volumen exagerado de orina diluida, que estimularía la ingesta de agua (polidipsia). Adicionalmente, esta pérdida de líquido diluido provocaría la acumulación de sodio corporal (hipernatremia): *Fase diabética transitoria*.
2. Al mismo tiempo, las células neurosecretoras conservadas, liberarían ADH. Sin embargo, la cantidad de vasopresina liberada por estas células sería insuficiente para mejorar la respuesta regulatoria de los sujetos diabéticos durante esta fase inicial.
3. La reducción en los niveles de vasopresina, provocaría deshidratación celular (por la pérdida de fluido y la acumulación de soluto), por lo que las terminales de las neuronas no afectadas por la intervención (o las reservas de esta hormona en la neurohipófisis) liberarían mayor cantidad de hormona antidiurética. De esta forma, pocos días después de la intervención, tendría lugar la *fase oligúrica* en la que los animales exhiben una respuesta ingestiva y excretora normal o próxima a la normalidad, acompañada de un grado considerable de actividad antidiurética. La permanencia de axones intactos o la liberación de vasopresina procedente de terminales en degeneración, serían los responsables de esta interfase oligúrica (Bronstein et al., 2000; Brooks y Pickford, 1958; Heinbecker y White, 1941; Hollishead, 1964; Laszlo y Wied, 1966; Lipsett et al., 1956; O'Connor, 1946 y 1952) y así, en los casos de destrucción completa de las fibras del sistema hipotálamo-neurohipofisario se podría observar una ingesta incrementada y estable desde el primer día (Heinbecker y White, 1941; Hollishead, 1964; O'Connor, 1952).

4. Tras la interfase oligúrica, la actividad antidiurética se mostraría insuficiente y se seguiría perdiendo nuevamente líquido y acumulando sodio en el organismo. Esta pérdida de fluido y la acumulación de sodio corporal conllevaría el aumento de la presión osmótica y la aparición de sed osmótica. Con la ingesta de agua, los animales diabéticos contrarrestarían la pérdida urinaria, pero al mismo tiempo prevendrían la liberación de vasopresina por los axones intactos, con lo que la poliuria y polidipsia diabética se mantienen de forma indefinida (*Fase diabética permanente*).

Sin embargo, se ha comprobado que la capacidad renal de excreción y concentración de fluido parece mejorar cuando los pacientes diabéticos son privados de agua (Bakker y Waring, 1976; Laszlo y Wied, 1966; Lichardus y Ponec, 1973; Shanon, 1942; White y Heinbecker, 1938), aunque para Robertson, la privación de fluido aumentaría la osmolaridad plasmática y estimularía la liberación de hormona antidiurética por parte del remanente celular no afectado por la intervención quirúrgica aumentando en consecuencia, la capacidad de retención y concentración renal (ver Robertson, 1995).

El déficit hormonal que se produce en los pacientes diabéticos fue inicialmente tratado mediante la administración de extractos neurohipofisarios (Books y Pickford, 1958; Brunner, 1956; Demunbrun et al, 1954; Laszlo y Wied, 1966; Lichardus y Ponec, 1973; O'Connor, 1950; Shannon, 1942; Sawyer, 1952); sin embargo, actualmente, el tratamiento de elección lo constituye la dDAVP (1 desamino-8 arginina vasopresina), un agonista selectivo al receptor tubular renal V2, que ofrece una acción antidiurética más potente y prolongada que la de la propia vasopresina (Fjellestad-Paulsen et al., 1993; Greger et al., 1986; Kumar y Berl, 1998; Maghnie et al., 2000; Saborio et al., 2000; Seckl et al, 1987; Simmons, 2002; Singer et al., 1997).

La existencia de pacientes diabéticos insensibles a la administración de extractos neurohipofisarios (Bode y Crawford, 1969; Forssman, 1945), y con niveles plasmáticos normales o elevados de ADH (Holliday et al, 1963), sugerían la existencia de una diabetes independiente de anomalías en el sistema nervioso. La **Diabetes Insípida Nefrogénica** (para una revisión ver Morello y Bichet, 2001) se produce generalmente por mutaciones

genéticas que afectan a la expresión del receptor renal de Vasopresina V2 (Bichet et al, 1989; Pang et al, 1992; Rosenthal et al, 1992). La ausencia de estos receptores impiden una reacción normal en las células del túbulo colector renal a la ADH, lo cual provoca la excreción de un gran volumen de orina diluida con independencia de los niveles plasmáticos de ADH (Bichet et al 1994; Knoers et al 1993; Robertson, 1995; Rosenthal et al 1994; Sasaki et al., 1994; Si-Hoe et al., 2000; Van Lieburg et al., 1994).

En los dos tipos (neurogénico y nefrogénico) de Diabetes Insípida, el sistema renal de los sujetos afectados es incapaz de retener líquido (Bacic y Gluncic, 1999; Balment et al., 1986; Friedman et al., 1958; Huang y Dellman, 1996; Ikkos et al, 1954; Laszlo y Wied, 1966; Lichardus y Ponec, 1973; Man y Hugh, 1992; O'Connor, 1950; Pickford y Ritchie, 1945; Seckl y Dunger, 1992; Swann, 1939; Titlebaum et al., 1960; Wolf, 1950). La capacidad renal de concentración urinaria también se ve afectada y la osmolaridad urinaria de estos sujetos es menor que la de individuos normales (Laszlo y Wied, 1966; Lichardus y Ponec, 1973; Robertson, 1983; Seckl et al., 1987, 1992; Titlebaum et al, 1960). Desde este punto de vista, estas *alteraciones renales* pueden ser consideradas como responsables del incremento en la ingesta de agua y en la osmolaridad plasmática (hipernatremia) que se observa en estos pacientes (Bacic y Gluncic, 1999; Balment et al., 1986; Bronstein et al., 2000; Friedman et al., 1958, 1962; Hollinshead, 1964; Huang y Dellman, 1996; Kavelaars et al., 2001; Laszlo y Wied, 1996; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Pivonello et al., 2000; Price y Kallenborn, 2000; Rolls, 1970; Saborio et al., 2000; Seckl y Dunger, 1992; Swann et al., 1939). Para poner a prueba la idea de que el determinante crucial de la DI lo constituye la incapacidad renal de retención y concentración, Richter y Ecker ligaron los uréteres de animales neurohipofisectomizados con el objeto de prevenir la excreción de orina y en efecto, esta intervención reducía la ingesta de agua de los animales diabéticos (Richter y Ecker, 1935), apoyando la existencia de una polidipsia secundaria.

A pesar de ello y como se ha mencionado, la naturaleza primaria o secundaria de la polidipsia diabética no deja de ser un tema controvertido. Así, la ingesta incrementada de líquido también puede ser dependiente de otras alteraciones en el metabolismo, un efecto que podría resultar del daño cerebral (Swann, 1939). En este sentido, Smith y McCann (1962) mostraron que las lesiones electrolíticas de la Eminencia Media (EM), podían

provocar una respuesta polidípica incluso en animales con los riñones extirpados, sugiriendo de esta manera, que el efecto observado era independiente del funcionamiento renal (Smith y McCann, 1962). Este resultado fue cuestionado posteriormente por Bárbara Rolls (1970) al observar que sólo la lesión electrolítica de la EM con corriente positiva (más amplia que la realizada con corriente negativa), generaba el efecto hiperdípico en individuos nefrectomizados. Dado que la corriente anódica deposita iones metálicos en el tejido adyacente (Rabin y Smith, 1968), el efecto observado por Smith y McCann, según Rolls, podría ser el resultado de la afección irritativa del HT Lateral, más que del propio daño en la Eminencia Media (Rolls, 1970). Unos años después, y evitando el empleo de corriente eléctrica (obviando, por tanto, sus posibles efectos colaterales irritativos), Grossman y asociados observaron un incremento en la ingesta de agua (de mayor magnitud que la pérdida urinaria), como consecuencia de la sección mediante microbisturí (“Knife-cut”), de las fibras que discurren ventralmente por el HT Posterior (Hennesy et al, 1977).

Todavía en la década de los 60, el descubrimiento de un modelo genético de la enfermedad (las ratas Brattleboro) (Valtin et al, 1962; ver también Valtin et al, 1965; Valtin, 1967, 1974 y 1982) fue seguido con gran interés. Al carecer del gen responsable de la síntesis de la hormona antidiurética y exhibir una respuesta poliúrica y polidípica similar a la de los sujetos diabéticos (Brimble et al., 1991; Edwards y Larochelle, 1984), estos animales podrían ayudar a solventar algunas de las dudas generadas por las intervenciones cerebrales. Sin embargo, la osmolaridad urinaria (Balment et al., 1980; Brimble et al., 1991; Edwards et al, 1984; Fuller y Fitzsimons, 1988) y la capacidad natriurética (Balment et al., 1986; Brimble et al., 1991; Edwards et al, 1984) de las ratas Brattleboro en situaciones de deshidratación, es mayor que la de los sujetos diabéticos. En efecto, a pesar de que hoy día se siguen considerando trastornos equivalentes, las ratas Brattleboro no parecen compartir todas las características de los sujetos diabéticos. Para algunos autores, las diferencias entre las ratas Brattleboro y los animales con diabetes insípida experimental, podrían ser dependientes de la Oxitocina (Balment et al., 1980, 1982, 1986; Brimble et al., 1991; Edwards y Larochelle, 1984). De hecho, los niveles plasmáticos de Oxitocina en ratas Brattleboro, superan a los observados en sujetos normales (Conrad et al, 1986; Dogterom et al, 1977; North et al, 1982).

EXPERIMENTO 7: EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE OXITOCINA Y DE LA PRIVACIÓN DE ALIMENTO EN SUJETOS CON DIABETES INSÍPIDA EXPERIMENTAL.

Las neurohormonas Oxitocina y Vasopresina son liberadas en la Eminencia Media y en la Neurohipófisis, por terminales nerviosas de fibras procedentes del núcleo Supraóptico y del complejo magnocelular del núcleo Paraventricular (Badoer, 2001; Bastos et al., 2001; Bealer y Crowley, 1999; Cajal, 1894 en Pickford y Ritchie, 1945; Briski y Brandt, 2000; Chiriguer et al., 2001; Cunningham y Sawchenco, 1991; Hussy et al., 2000; Lincoln y Paisley, 1982; Miyata et al., 2001; Raggenbass, 2001; Rinaman et al., 1995; Saborio et al., 2000; Thunhorst et al., 1998; Voisin et al., 1999; Wakerley et al., 1988; Walter et al., 2000). Cuando se interrumpe la liberación neurohormonal (Diabetes Insípida Neurogénica), los sujetos afectados excretan un gran volumen de orina diluida e ingieren cantidades elevadas de agua, además de exhibir unos niveles elevados de sodio corporal (hipernatremia) (Bacic y Gluncic, 1999; Balment et al., 1986; Bronstein et al., 2000; Friedman et al., 1958, 1962; Hollinshead, 1964; Huang y Dellman, 1996; Kavelaars et al., 2001; Laszlo y Wied, 1996; Man y Hugh, 1992; O'Connor, 1950; Pivonello et al., 2000; Price y Kallenborn, 2000; Rolls, 1970; Saborio et al., 2000; Seckl y Dunger, 1992; Swann et al., 1939; Wolf, 1950). Este cuadro de Diabetes Insípida ha sido atribuido a la falta de Vasopresina, con la consiguiente dificultad para retener y concentrar la orina. Pocos estudios, por el contrario, han abordado la intervención de la Oxitocina en este trastorno diabético.

Los niveles de sodio y otros solutos, contribuyen al comportamiento hidromineral ingestivo. Así, los incrementos en la osmolaridad plasmática estimulan la sed osmótica (Balment et al 1980; Brimble y Dyball, 1977; Briski y Brandt, 2000; Cheng y North, 1986; Dogterom, 1977; Huang et al., 1995; Hussy et al., 2000; Kadekaro et al., 1995; Mckinley y Oldfield, 1994; Miyata et al., 2001; Morris et al., 1984; Rinaman et al., 1995; Robertson, 1983; Sandgaard et al., 2000; Stricker et al., 1987b; Stricker y Sved, 2000; Verbalis et al., 1991b; Verbalis y Stricker, 2000; Voisin et al., 1999; Weitzman et al., 1978). Dado que los pacientes diabéticos tienen niveles elevados de sodio corporal, se podría esperar que la

polidipsia diabética estuviese modulada por la hipernatremia que estos sujetos desarrollan. De hecho, algunos estudios clásicos han sugerido la existencia de una relación entre la hiperdipsia diabética y la cantidad de sodio que los pacientes ingieren durante las comidas (Curtis, 1924; Palmieri y Taleisnik, 1969; Swann, 1939; Titlebaum et al., 1960). Experimentalmente, las dietas con ClNa o la inyección de soluciones hipertónicas, incrementan la magnitud de la respuesta polidíptica (Curtis, 1924; Fisher et al., 1938; Swann, 1939, Wolf, 1950); mientras que la privación de comida (Curtis, 1924; Swann, 1939), las dietas hiposódicas (Swann, 1939) o la adrenalectomización de los animales diabéticos (Friedman et al., 1962; Mirsky et al, 1954) (procedimientos todos ellos que disminuyen los niveles de sodio), reducen el efecto hiperdípico.

La hipernatremia y la dificultad que presentan los sujetos diabéticos para excretar sodio han sido relacionadas con la ausencia de Oxitocina por algunos autores (Antunes-Rodrigues et al, 1991). Así, la capacidad natriurética de la Oxitocina (Balment et al, 1980 y 1986; Conrad, 1986; Haanwinckel, 1995; Huang, 1994; 1995 y 1996; Kadekaro et al, 1992, 1997; Verbalis et al, 1991b; Windle et al, 1995 y 1997), podría facilitar la excreción de sodio y reducir la necesidad de agua de los sujetos diabéticos. En este contexto, tanto los extractos neurohipofisarios (Brooks y Pickford, 1958; Brunner et al., 1956; Dicker, 1957; Demunbrun et al., 1954; Laszo y Wied, 1966; Lichardus y Ponec, 1973; Sawyer, 1952) como la administración específica de Oxitocina (Balment et al, 1985 y 1986) potencian la excreción de sodio en animales diabéticos. Asimismo, la polidipsia diabética ha sido reducida mediante administración de extractos neurohipofisarios (Hollinshead, 1964; Laszlo y Wied, 1966), sin embargo no se ha examinado el efecto de la Oxitocina sobre la ingesta de agua de los animales con DI.

Dado que en animales neurológicamente intactos, el efecto ingestivo de la Oxitocina parece depender de la ausencia-presencia de comida y que la polidipsia Diabética podría relacionarse con ambos factores (comida y oxitocina), en este séptimo experimento se analiza el efecto de la privación de comida y/o de la administración de Oxitocina en animales con lesiones electrolíticas de la Eminencia Media (siguiendo el modelo de Rolls, 1970).

MÉTODO:**SUJETOS Y GRUPOS:**

Se han empleado 68 ratas Wistar macho, alojadas en jaulas individuales y con un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas. La temperatura ambiental se mantuvo entre 21 y 23 grados centígrados.

Tras varios días de adaptación a las condiciones del laboratorio, se registra la ingesta de agua y comida durante 24 horas (Línea Base) y se subdivide a los animales aleatoriamente en ocho grupos: 36 de ellos son lesionados electrolíticamente en la eminencia media y en los 32 restantes se practica una falsa lesión. Las otras variables manipuladas son la administración subcutánea de Oxitocina o Suero Fisiológico y la presencia o ausencia de comida durante 48 horas.

De forma abreviada, el **Cuadro 7.1** muestra las variables independientes y los grupos empleados en este experimento:

VARIABLES INDEPENDIENTES	LESION	EMINENCIA MEDIA		CONTROL (Falsa Lesión)	
	COMIDA	SIN COMIDA	CON COMIDA	SIN COMIDA	CON COMIDA
SUSTANCIA s.c.	OXITOCINA	EM-S/C-OX n=10	EM-C/C-OX n=8	C-S/C-OX n=8	C-C/C-OX n=8
	SUERO FISIOLÓGICO	EM-S/C-SF n=10	EM-C/C-SF n=8	C-S/C-SF n=8	C-C/C-SF n=8

Cuadro 7.1

PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO: Lesión electrolítica.

La intervención quirúrgica intracerebral fue llevada a cabo utilizando como anestésico inyecciones i.p. de pentotal sódico (50 mg/Kg) (Tiopental Sódico, Lab. Abbot).

Los animales anestesiados son situados en un aparato estereotáxico (Stoelting Co. Estereotáxico 51.600). A continuación se practica una incisión longitudinal de aproximadamente 14 mm de longitud, y se retira el tejido conjuntivo perióstico adyacente dejando visibles los puntos lambda, bregma y la línea media. Mediante un torno, se trepanan dos orificios de aproximadamente 1mm de diámetro en la zona correspondiente a las coordenadas anteroposterior y lateral del núcleo y se seccionan las capas meníngicas que recubren el cerebro. Dada la proximidad de la línea media, este proceso produce generalmente la punción del seno sagital superior, provocando una fuerte hemorragia que disminuye mediante la aplicación local de esponjas de fibrina (espongostán).

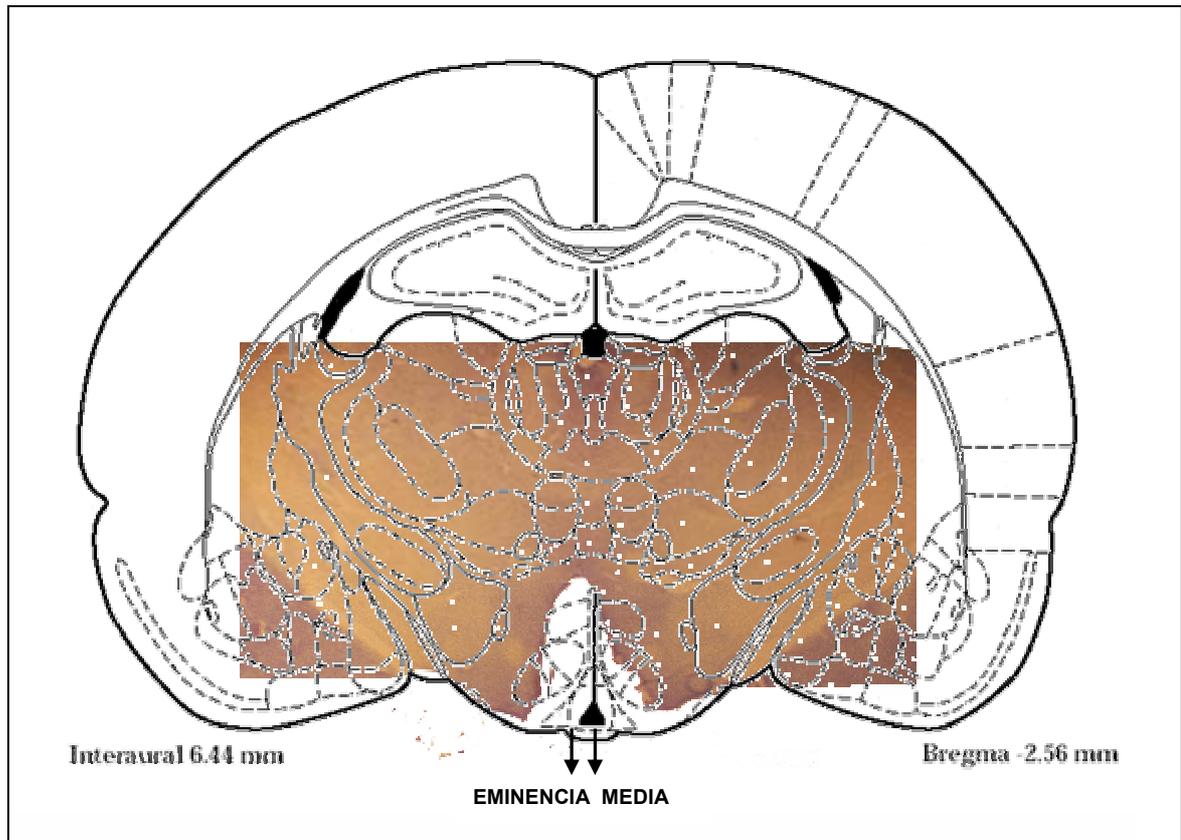
A través de los orificios abiertos, se introduce estereotáxicamente un electrodo siguiendo las coordenadas de la estructura establecidas por el atlas neuroanatómico de Paxinos y Watson (1986). El electrodo empleado fue monopolar (de unas 200 micras de diámetro), y se aisló en toda su longitud (mediante Insl-X) excepto en su extremo más distal. El electrodo masa se coloca en la periferia del animal. A continuación se aplica bilateralmente y durante 15" una corriente continua positiva (anódica) de 1.50 mA de intensidad, siguiendo el procedimiento de Rolls (1970). La corriente fue suministrada por un generador modelo DCML-5 (Grass Instruments Corp, Quincy, Mass, USA).

Las coordenadas estereotáxicas concretas utilizadas para realizar la lesión electrolítica fueron (referencia interaural): AP: + 6.44; L: \pm 0.4 y V: + 0.2 mm. Para los sujetos control, se emplean las mismas coordenadas anteroposterior y lateral. La coordenada vertical fue, para estos animales con falsa lesión, de + 0.5 mm (dorsal a la estructura). En estos sujetos control no se aplicó ninguna corriente.

Histología.

Se llevó a cabo de la misma forma a la descrita en el experimento anterior. Se muestra gráficamente una sección del atlas de Paxinos y Watson (1997) en la que se inserta un corte transversal de un animal representativo al mismo nivel rostro-caudal (6.44 mm respecto al punto 0 interaural), donde se aprecia la extensión de la lesión efectuada.

Fotografía 7.1



PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL:

Una vez transcurridas las 24 horas de línea base se anestesia a los animales y siguiendo el procedimiento descrito, se les interviene quirúrgicamente. A 36 animales se les practica una lesión electrolítica de la Eminencia Media, las restantes 32 ratas fueron utilizadas para los grupos control (falsa lesión). Al finalizar la intervención quirúrgica, 20 sujetos experimentales y 16 sujetos de los pertenecientes a los grupos de control, reciben

subcutáneamente 0.5 ml de Oxitocina (10 U.I./ 1 ml); los demás (16 experimentales y 16 control) reciben 0.5 ml de Suero Fisiológico (de forma similar a la descrita para los animales intactos en los capítulos previos) y se alojan en jaulas metabólicas. Seis horas después, reciben una segunda dosis de 0.5 ml.

Como se muestra en el **Cuadro 7.1** (Sujetos y Grupos), la mitad de los sujetos de Oxitocina y Suero Fisiológico dispone de comida durante la totalidad del experimento mientras que la otra mitad está privado de alimento durante las primeras 48 horas post-quirúrgicas (estableciéndose así los ocho grupos de animales). Durante esas primeras 48 horas, se registra diariamente (a las 9:00 PM), la ingesta de agua, el volumen de orina excretado y, para los grupos sin privar, también la ingesta de comida. Una vez transcurrido ese tiempo, se devuelve a todos los animales a sus jaulas individuales con agua y comida durante 7 días más. Se contabiliza diariamente (a las 9:00 PM), la ingesta de agua y comida de cada animal.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Con el módulo Anova/Manova del paquete 'Statistica' se analiza la ingesta de agua (mediante un Anova para el consumo de agua 6 horas después de la intervención quirúrgica y otro para los 9 días), el volumen de excreción (mediante un Anova para el volumen de orina excretado 6, 24 y 48 horas después de la intervención quirúrgica) y la ingesta de comida (mediante un Anova para los 2 primeros días en los grupos mantenidos ad lib y mediante un Anova para los últimos 7 días en todos los grupos de animales).

En todos los casos, las variables independientes incluidas en los análisis son la "Lesión Electrolítica" (Eminencia Media-Falsa Lesión), la "Sustancia" administrada (Oxitocina-Suero Fisiológico), la "Comida" (Con comida-Sin Comida) y la variable "Días" (con niveles específicos para cada variable dependiente). Los efectos significativos se analizan mediante Comparaciones Planeadas.

Igualmente se examinan los resultados del día de línea base para los 2x2x2 grupos de sujetos con el objeto de descartar diferencias previas a la intervención quirúrgica.

RESULTADOS:

Los valores medios y desviaciones típicas obtenidos por los distintos grupos de sujetos en las variables dependientes registradas se muestran en la Tabla 7.0 (ver Anexo).

ANÁLISIS DE LA LÍNEA BASE

La ingesta basal de agua y de comida, no difiere significativamente entre los 8 grupos de sujetos: Rao (14,118)= 1,239446; $p < 0,326$ (Figura 7.0):

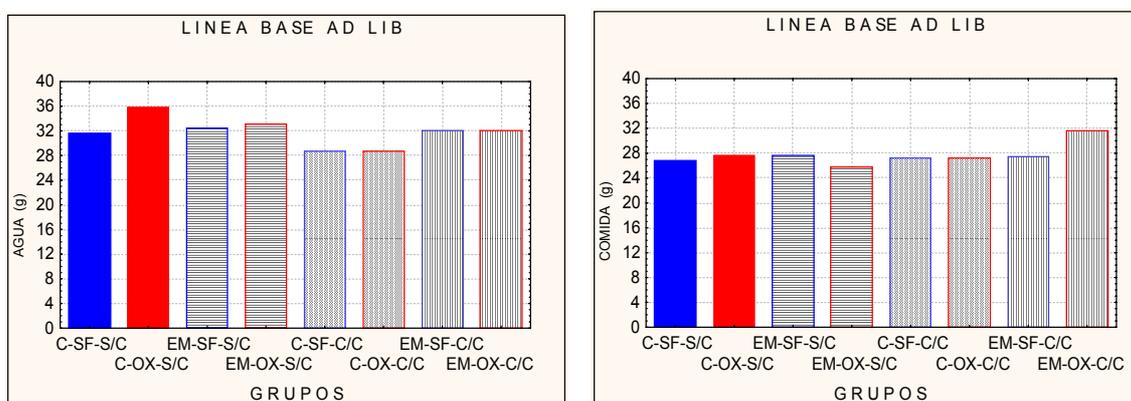


Figura 7.0: Ingesta de agua (ml) y comida (g) para los 8 grupos de sujetos, después de 24 horas ad lib.

INGESTA DE AGUA

El ANOVA sobre la cantidad de agua ingerida **seis horas** después de finalizar la intervención quirúrgica, muestra un efecto significativo de la variable “Lesión” ($F(1,60) = 22.83$; $p < 0.001$): los grupos diabéticos consumen una mayor cantidad de agua que los grupos control (12.24 ml vs 3.1 ml) (datos no mostrados).

Durante los **9 días**, el ANOVA sobre la ingesta de agua resulta significativo para la interacción Lesión x Sustancia x Comida: $F(1,56) = 4.37$; $p < 0.042$ y para la interacción Lesión x Comida x Días: $F(8,448) = 3.97$; $p < 0.001$ (Tabla 7.1 y Figura 7.1):

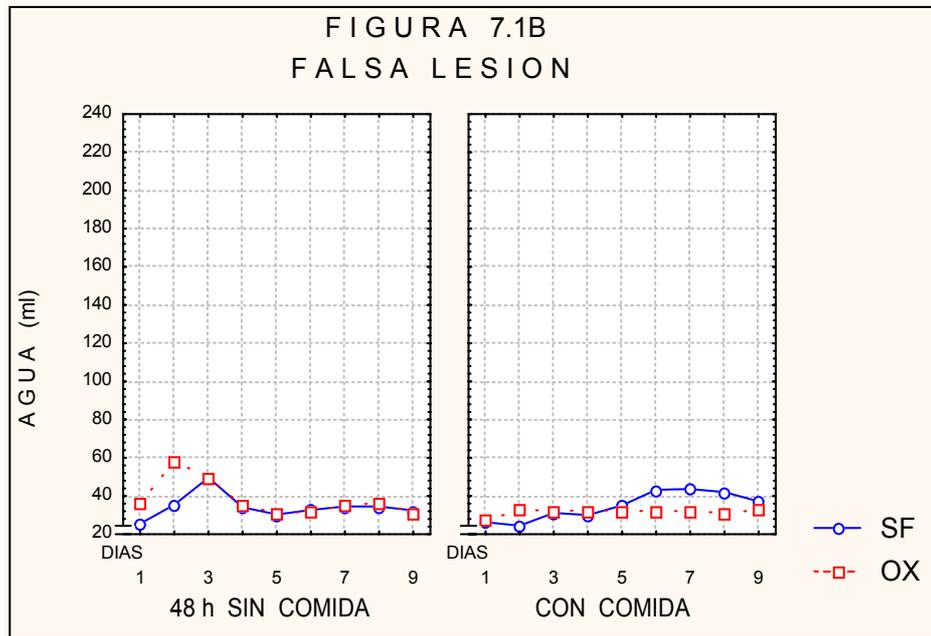
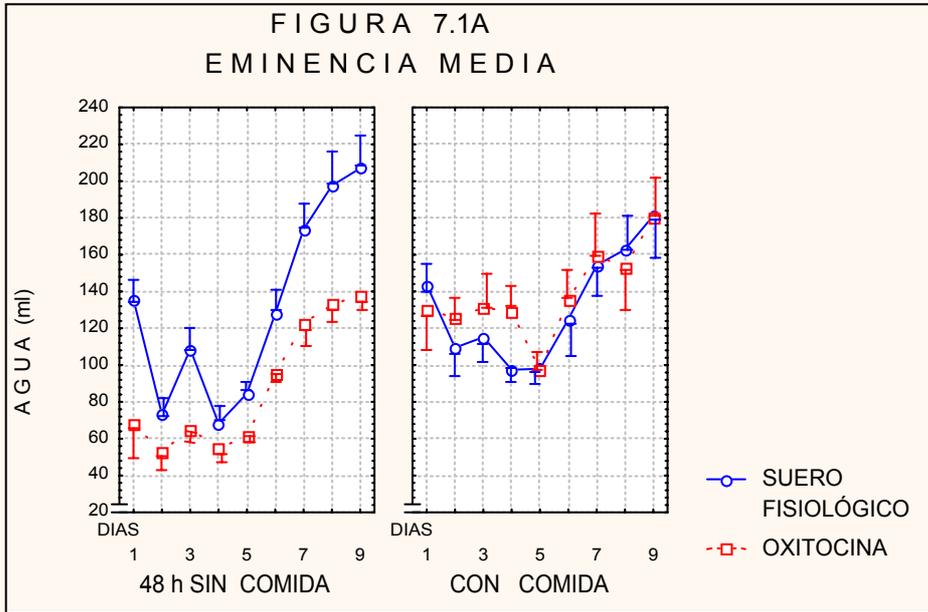


Figura 7.1: Ingesta de agua (ml) durante los 9 días experimentales, para los grupos con lesión electrolítica de la Eminencia Media (Fig. 7.1A) y Falsa Lesión (Fig. 7.1B).

EFEECTO	gl efecto	gl error	F	p
1. Lesión	1	59	183.6034	.000000
2. Sustancia	1	59	1.9236	.170682
3. Comida	1	59	3.0560	.085642
4. Días	8	472	25.7188	0.000000
12	1	59	2.1039	.152224
13	1	59	4.9708	.029598
23	1	59	2.6299	.110199
14	8	472	25.6491	0.000000
24	8	472	2.1674	.028720
34	8	472	1.3905	.198073
123	1	59	4.7177	.033884
124	8	472	1.4245	.183584
134	8	472	4.1858	.000074
234	8	472	.3196	.958568
1234	8	472	.2815	.971938

Tabla 7.1: Anova para la ingesta de agua durante los 9 días experimentales en función de las variables “Lesión”, “Sustancia”, “Comida” y “Días”.

Los grupos con lesión electrolítica ingieren más agua que sus respectivos grupos de control con falsa lesión (EM-C/C-SF vs C-C/C-SF: $F(1,59)= 54.9$; $p < 0.001$; EM-S/C-SF vs C-S/C-SF: $F(1,59)= 55.6$, $p < 0.001$; EM-C/C-OX vs C-C/C-OX: $F(1,59)= 65.9$, $p < 0.001$; EM-S/C-OX vs C-S/C-OX: $F(1,59)= 15.9$, $p < 0.001$).

Durante los días de privación de comida (días 1 y 2) los grupos EM ingieren más agua que los grupos con falsa lesión (EM-C/C-SF vs C-C/C-SF: DIA 1, $F(1,59)= 29.6$; $p < 0.001$. DIA 2, $F(1,59)= 26.7$; $p < 0.001$. EM-S/C-SF vs C-S/C-SF: DIA 1, $F(1,59)= 26.1$; $p < 0.001$. DIA 2, $F(1,59)= 5.4$; $p < 0.024$. EM-C/C-OX vs C-C/C-OX: DIA 1, $F(1,59)= 23.9$; $p < 0.001$. DIA 2, $F(1,59)= 31.8$; $p < 0.001$), salvo en el caso de la comparación entre los grupos EM y Control privados y tratados con Oxitocina, cuya ingesta de agua no difiere significativamente durante los primeros días post-quirúrgicos (EM-S/C-OX vs C-S/C-OX: DIA 1, $F(1,59)= 2.36$; $p < 0.13$. DIA 2, $F(1,59)= 0.11$; $p < 0.74$).

En los **grupos lesionados**, la ingesta de agua está modulada por la ausencia-presencia de comida y por la administración de Suero Fisiológico u Oxitocina:

- La administración de *Oxitocina* reduce la ingesta media de agua en los grupos *EM privados de alimento* (EM-S/C-OX vs EM-S/C-SF: $F(1,59)= 13.30$; $p < 0.001$; Figura 7.2). Este efecto no se observa en los grupos *EM con comida* ($F(1,59)= 0,22$; $p < 0,64$: EM-C/C-OX vs EM-C/C-SF) (Figura 7.2). Las comparaciones día a día entre pares de grupos se muestran en la Tabla 7.2.

Durante las 48 horas de privación de comida, el descenso en la ingesta de agua que el tratamiento con Oxitocina genera en los sujetos Eminencia Media, resulta significativamente diferente del incremento que se observa en los animales con falsa lesión ($F(1,59)= 7.1$; $p < 0.011$) (ver Figura 7.1).

- En los grupos tratados con Oxitocina, la *privación de alimento* durante 48 horas produce una reducción en la ingesta media de agua (EM-S/C-OX vs EM-C/C-OX : $F(1,59)= 16,24$; $p < 0,001$). Este efecto no se observa en los grupos tratados con Suero Fisiológico (EM-S/C-SF vs EM-C/C-SF: $F(1,59)= 0.01$; $p < 0.92$) (Figura 7.2 y Tabla 7.2).

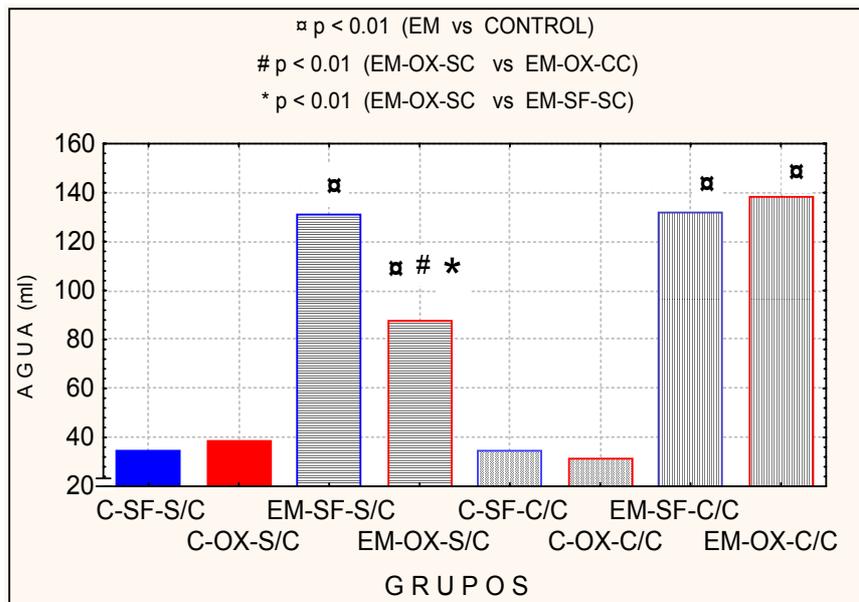


Figura 7.2: Ingesta media de agua para los 8 grupos de sujetos durante los 9 días. (Interacción Lesión x Sustancia x Comida)

- Independientemente de la administración de Suero Fisiológico o de Oxitocina, la privación de alimento durante las primeras 48 horas post-quirúrgicas, reduce la ingesta de agua de los sujetos Eminencia Media durante los 5 primeros días post-operatorios: $F(1,59)= 28.29$; $p< 0.001$. Posteriormente (días 6, 7, 8 y 9), no se aprecian diferencias significativas entre los grupos EM con y sin comida ($F(1,59)= 0.29$; $p< 0.59$) (Figura 7.3). Es decir, el descenso de la polidipsia diabética mediante la privación de alimento es **transitorio** y retorna, en los días siguientes, a niveles similares al de los sujetos con comida.

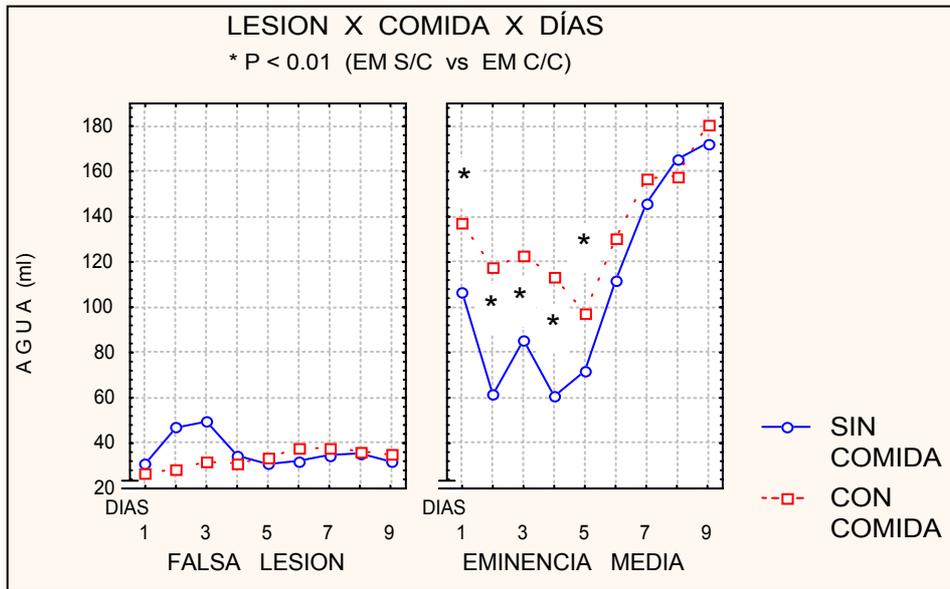


Figura 7.3: Ingesta de agua durante los 9 días para los grupos Eminencia Media y Falsa Lesión con y sin comida (durante las primeras 48 horas).

Entre los **grupos control** con y sin comida, no se observan diferencias significativas a lo largo de los días ($F(1,59)= 0.10$; $p< 0.74$).

DÍAS	EM-S/C-SF vs EM-S/C-OX		EM-C/C-SF vs EM-C/C-OX		EM-C/C-OX vs EM-S/C-OX		EM-C/C-SF vs EM-S/C-SF	
	F (1,59)	p	F (1,59)	p	F (1,59)	p	F(1,59)	p
DIA 1	12.3	.001	.37	.54	9.4	.003	.16	.69
DIA 2	1.8	.18	.94	.33	21.6	.001	5.4	.02
DIA 3	7.8	0.01	.84	.36	15.9	.001	.15	.69
DIA 4	1.3	.26	5.9	.02	35.9	.001	5.6	.02
DIA 5	6.8	.01	.005	.94	14.3	.001	1.96	.16
DIA 6	4.7	.03	.4	.52	6.4	.001	.03	.84
DIA 7	6.8	.01	.05	.81	3.1	.08	.89	.35
DIA 8	11.3	.001	.19	.66	1.0	.31	2.9	.10
DIA 9	11.1	.001	0.001	.96	3.6	.06	1.4	.24

Tabla 7.2: Diferencias en la ingesta de agua, día a día, en función del tratamiento con OX o con SF y de la disponibilidad o no de alimento entre los grupos EM.

EXCRECION DE ORINA

El análisis estadístico realizado (Anova) con los datos obtenidos **6 horas después de la intervención quirúrgica**, revela la existencia de diferencias significativas en el volumen de orina entre los grupos lesionados y los sujetos control ($F(1,60)= 38.5$; $p < 0.001$) (Tabla 7.3).

EFEECTO	gl efecto	gl error	F	p
1. Lesión	1	60	38,49722	,000000
2. Sustancia	1	60	1,13284	,291436
3. Comida	1	60	,09148	,763344
12	1	60	1,80174	,184559
13	1	60	,00060	,980516
23	1	60	1,31354	,256306
123	1	60	,99790	,321830

Tabla 7.3: Anova para el volumen de orina, 6 horas después de la intervención quirúrgica.

La intervención quirúrgica incrementa la cantidad de orina excretada ($F(1,60)= 38.5$; $p < 0.001$) (Figura 7.4B).

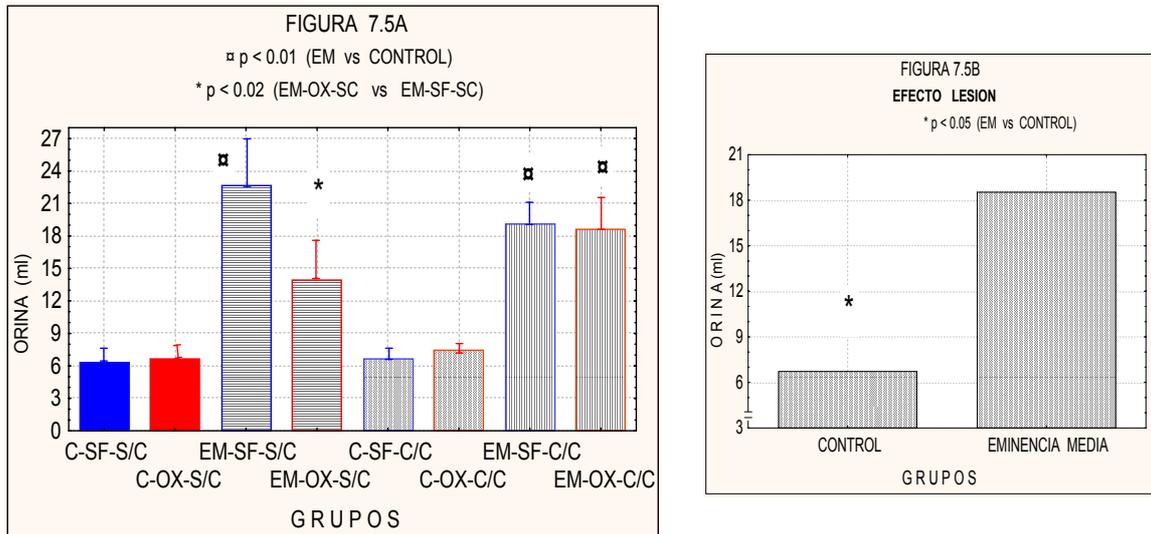


Figura 7.4: Volumen de orina excretado por los 8 grupos de sujetos (fig. 7.4A) seis horas después de la intervención quirúrgica y volumen medio (fig. 7.4B) para los grupos Eminencia Media y Falsa Lesión.

En los sujetos *mantenidos ad lib*, la lesión electrolítica de la Eminencia Media incrementa el volumen de orina con respecto a los controles y este efecto se observa con independencia de la administración de Suero Fisiológico (EM-SF-C/C vs C-SF-C/C: $F(1,60)= 10.3$; $p < 0.003$) u Oxitocina (EM-OX-C/C vs C-OX-C/C: $F(1,60)= 8.2$; $p < 0.006$).

La poliuria diabética se mantiene en los *sujetos privados* de alimento tratados con suero fisiológico (EM-SF-S/C vs C-SF-S/C: $F(1,60)= 19.2$; $p < 0.001$), pero no alcanza la significación estadística en los que reciben la primera dosis de 5 U.I. de Oxitocina (EM-OX-S/C vs C-OX-S/C: $F(1,60)= 3.88$; $p < 0.06$).

Entre los grupos de *animales diabéticos*, la única diferencia significativa ($F(1,60)= 6.15$; $p < 0.016$) que se observa se produce al comparar los sujetos EM-OX-S/C y EM-SF-S/C ya que el grupo con Oxitocina excreta un volumen de orina inferior (Figura 7.4A).

Primeras 24 horas post-quirúrgicas: El Anova sobre el volumen de orina excretado el primer día después de la intervención quirúrgica muestra un efecto significativo para la interacción Lesión x Sustancia ($F(1,60)= 5.1$; $p < 0.03$) (Tabla 7.4). Esta interacción denota que la Oxitocina aumenta el volumen de excreción en los sujetos control a la vez que lo reduce en los grupos Eminencia Media (Figura 7.5B).

EFEECTO	gl efecto	gl error	F	p
1. Lesión	1	60	59,00724	,000000
2. Sustancia	1	60	1,37253	,246009
3. Comida	1	60	,02578	,872990
12	1	60	5,12367	,027231
13	1	60	2,02555	,159852
23	1	60	,27112	,604499
123	1	60	1,16109	,285553

Tabla 7.4: Anova para el volumen de orina, 24 horas después de la intervención quirúrgica.

Nuevamente, los sujetos diabéticos *mantenidos ad lib* excretan un volumen de orina estadísticamente superior que los animales control (EM-SF-C/C vs C-SF-C/C: $F(1,60)= 25.1$; $p < 0.001$ y EM-OX-C/C vs C-OX-C/C ($F(1,60)= 14.9$; $p < 0.001$). Lo mismo sucede en los sujetos *privados de alimento tratados con suero fisiológico* (EM-SF-S/C vs C-SF-S/C: $F(1,60)= 24.3$; $p < 0.001$), sin que alcance significación estadística en los que han recibido las dos dosis de 5 U.I. de *Oxitocina* (EM-OX-S/C vs C-OX-S/C: $F(1,60)= 2.24$; $p < 0.13$).

Una comparación entre los grupos diabéticos, resulta significativa ($F(1,60)= 7.52$; $p < 0.009$: EM-OX-S/C vs EM-SF-S/C): es el caso del grupo de Oxitocina que excreta un volumen de orina inferior al del grupo que había recibido Suero Fisiológico (Figura 7.5A).

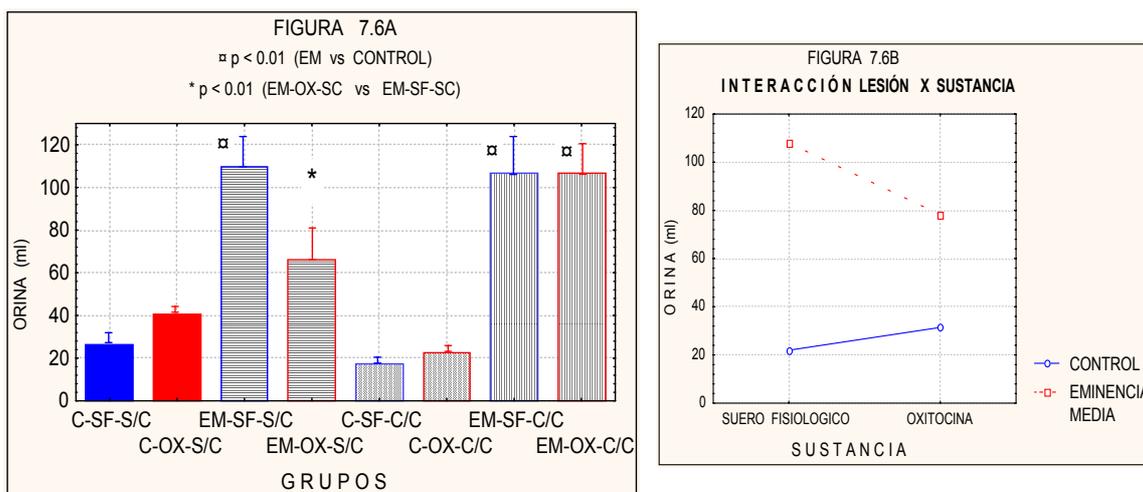


Figura 7.5: Volumen de orina excretado por los 8 grupos de sujetos (fig. 7.5A), 24 horas después de la intervención quirúrgica. El la fig. 7.5B se muestra el volumen de excreción para los grupos lesionados y control en función de la administración de OX o SF.

Cuarenta y ocho horas después de la intervención quirúrgica se observa un efecto que es resultado de la interacción entre las variables “Lesión” y “Comida” ($F(1,60)= 11.2$; $p < 0.002$) (Tabla 7.5).

EFEECTO	gl efecto	gl error	F	p
1. Lesión	1	60	39,74684	,000000
2. Sustancia	1	60	,61108	,437456
3. Comida	1	60	,47612	,492847
12	1	60	,49238	,485579
13	1	60	11,23032	,001397
23	1	60	,80908	,371989
123	1	60	3,77281	,056790

Tabla 7.5: Anova para el volumen de orina, 48 horas después de la intervención quirúrgica.

Mientras que la *privación de alimento* reduce el volumen de excreción en los sujetos EM, lo incrementa en los sujetos control ($F(1,60)=11,23$; $p < 0.002$) (Figura 7.6B).

Los sujetos diabéticos *mantenidos ad lib*, excretan un volumen de orina estadísticamente superior al de los animales control (EM-SF-S/C vs C-SF-S/C: $F(1,60)= 8.3$; $p< 0.006$ y EM-OX-C/C vs C-OX-C/C: $F(1,60)= 28.2$; $p< 0.001$). La poliuria diabética se manifiesta igualmente en los sujetos *privados de alimento tratados con suero fisiológico* (EM-SF-S/C vs C-SF-S/C: $F(1,60)= 16.8$; $p< 0.001$), sin que alcance la significación estadística en los grupos con *Oxitocina* (EM-OX-S/C vs C-OX-S/C: $F(1,60)= 0.02$; $p< 0.87$).

Una comparación entre los grupos diabéticos EM-OX-S/C y EM-OX-C/C, resulta significativa ($F(1,60)= 12.50$; $p< 0.001$): es el caso del grupo sin comida que excreta un volumen de orina inferior al del grupo con comida (Figura 7.6A).

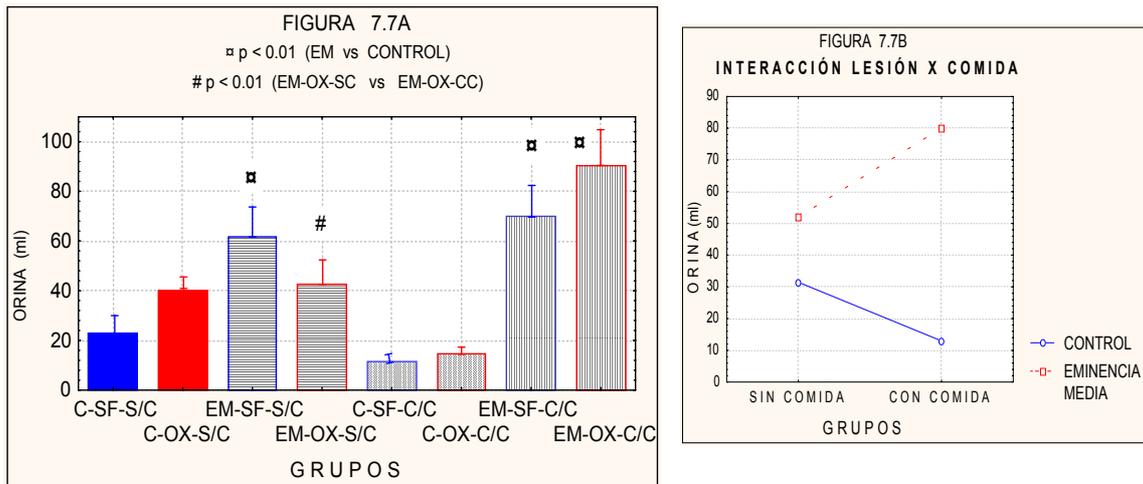


Figura 7.6: Volumen de orina excretado por los 8 grupos de sujetos (fig. 7.6A), 48 horas después de la intervención quirúrgica y volumen de excreción (fig. 7.6B) para los grupos lesionados y control en función de la disponibilidad de comida.

INGESTA DE COMIDA

El Anova sobre la cantidad de comida ingerida durante las **primeras 48 horas** postquirúrgicas para los grupos de sujetos *mantenidos ad lib* muestra un único efecto significativo para la variable “lesión electrolítica”: los grupos diabéticos ingieren una mayor cantidad de comida que los grupos con falsa lesión ($F(1,27)= 9.51$; $p < 0.005$) (líneas rojas de las figuras 7.7A y 7.7B).

Durante los **últimos 7 días**, el Anova sobre la cantidad de comida ingerida por los 2 x 2 x 2 grupos de sujetos, muestra un efecto significativo para la interacción Lesión x Comida x Días ($F(6,318)= 4.2$; $p < 0.001$) (Tabla 7.6).

EFEECTO	gl efecto	gl error	F	p
1. Lesión	1	53	105.7964	.000000
2. Sustancia	1	53	1.5935	.212358
3. Comida	1	53	.0321	.858453
4. Días	6	318	3.5542	.002018
12	1	53	.0076	.930753
13	1	53	4.2492	.044189
23	1	53	.0441	.834405
14	6	318	2.7446	.012942
24	6	318	2.0398	.060109
34	6	318	1.3346	.241183
123	1	53	.2640	.609536
124	6	318	.8761	.512667
134	6	318	4.2141	.000426
234	6	318	.6764	.668839
1234	6	318	.9549	.455993

Tabla 7.6: Anova para la ingesta de comida durante los últimos 7 días.

Los grupos diabéticos ingieren una mayor cantidad de comida que los sujetos control ($F(1,53)= 105.8; p< 0.001$). Sin embargo y como se observa en la Tabla 7.6, no se observan diferencias significativas atribuibles a la administración de Oxitocina o de Suero Fisiológico.

Tampoco se observan diferencias en la ingesta de comida durante los últimos 7 días entre los grupos mantenidos ad lib y los que fueron privados de comida durante las primeras 48 horas post-quirúrgicas (*Grupos Eminencia Media*: $F(1,53)= 1.74; p< 0.193$. *Grupos control*: $F(1,53)= 2.55; p< 0.117$) (Figura 7.7).

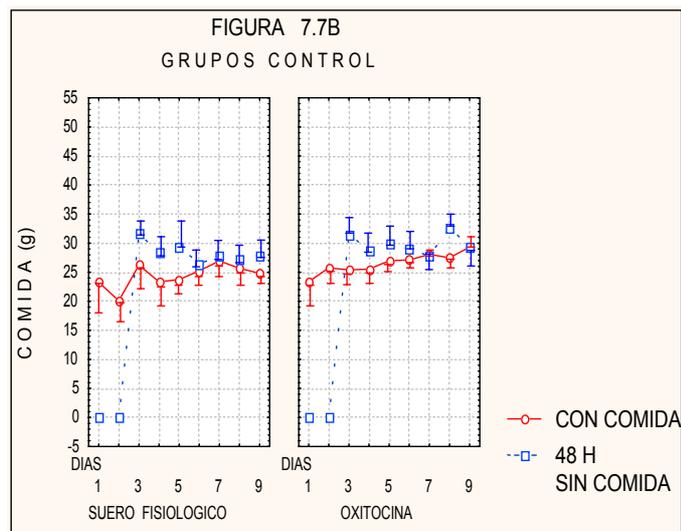
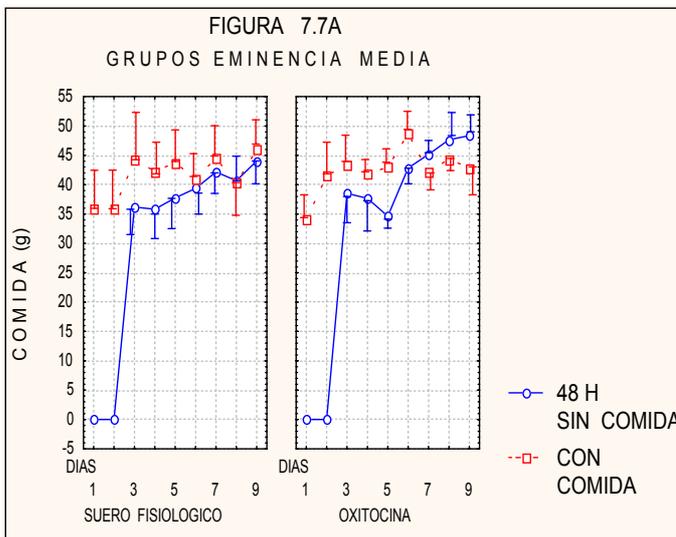


Figura 7.7: Ingesta de comida para los grupos *Eminencia Media* (figura 7.7A) y *Falsa Lesión* (figura 7.7B).

DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO:

Las lesiones electrolíticas de la Eminencia Media (EM) incrementan la **ingesta de agua, el volumen de excreción** y el consumo de **alimento**, tal y como se esperaba.

Pero además, los resultados obtenidos en este experimento demuestran que el grado de *polidipsia* de los animales diabéticos puede ser modificado. En efecto, la **privación de alimento** durante las primeras 48 horas post-quirúrgicas, reduce *transitoriamente* la ingesta de agua de los animales con DI, como puede comprobarse en la figura 7.3. Pero sobre todo, si a la privación de alimento a los animales diabéticos se le añade la **administración de Oxitocina**, el descenso en la ingesta de agua se mantiene durante todo el período que ha durado el experimento (9 días) (Figura 7.1 y 7.2). Este efecto de la Oxitocina requiere de la privación de comida, ya que no se observan diferencias ingestivas significativas entre los grupos EM con comida disponible (Figura 7.1 y 7.2).

La ingesta incrementada de agua de los animales con D.I. podría estar motivada, según diversos autores, por la pérdida renal de fluido (respuesta poliúrica) (Robertson, 1995; Simmons, 2002; Swaab et al, 1993; Verbalis, 2003). En este sentido, puede comprobarse cómo en los sujetos EM privados de comida, el tratamiento con Oxitocina reduce el volumen de orina que los animales excretan 24 horas después de su administración (Figura 7.5). La ingesta de agua disminuye paralelamente en este grupo de animales durante el mismo intervalo temporal (Día 1 de la figura 7.1), en consonancia con una posible relación entre la ingesta de agua y el volumen de excreción.

Así pues, si la ingesta de agua de los animales con D.I. es una consecuencia de su excreción, cabría esperar que el consumo de líquido fuese siempre precedido por la respuesta poliúrica. Así, se ha podido comprobar que apenas 6 horas después de finalizar la intervención quirúrgica, ya se observa una marcada respuesta diurética en los animales con D.I. que no puede ser atribuida a la ingesta de agua ya que esta poliuria de los sujetos lesionados también se observa en los casos en los que se les priva de agua (Mahía, 2002; Tesis Doctoral) y por lo tanto puede afirmarse que la respuesta poliúrica va “por delante” del consumo de líquidos (datos no presentados). Teóricamente, esa pérdida de fluido podría

activar en los animales diabéticos al sistema enzimático renina-angiotensina-aldosterona (ver Introducción Teórica), encaminado a la búsqueda e ingesta de líquidos así como al restablecimiento de la presión arterial (Buggy et al, 1974; Fitzsimons, 1987 y 1988; Johnson et al, 1997; Morie et al, 1999; Phillips, 1987; Shelat et al, 1998; Stricker, 1983 y 1984; Stricker et al, 1987; Rose, 1984).

Sin embargo, junto a estos resultados iniciales interpretables dentro de un contexto de tipo volémico, existe la posibilidad de que las lesiones de la EM puedan haber generado otro tipo de alteraciones adicionales y, por consiguiente, que la polidipsia diabética no sea meramente secundaria a la respuesta poliúrica o a alteraciones en el metabolismo del agua, como sostienen estos autores (Robertson, 1995; Simmons, 2002; Swaab et al, 1993; Verbalis, 2003). Esta posibilidad fue sugerida por Smith y McCann (1962) al observar que la respuesta polidipsica también se produce en animales diabéticos nefrectomizados. En este Experimento 7, al comparar los sujetos EM privados de comida y los animales EM mantenidos ad lib, puede apreciarse un descenso en la ingesta de agua de los grupos privados que no se ve acompañado de una análoga disminución en el volumen de excreción. En el caso de los animales EM tratados con Suero Fisiológico, este efecto se observa 48 horas después de finalizar la intervención quirúrgica (líneas azules de la Figura 7.1 para la ingesta de agua y Figura 7.6 para el volumen de excreción). Igualmente, en los animales tratados con Oxitocina, este mismo resultado (diferencias ingestivas y ausencia de diferencias excretoras), se observa 24 horas después de finalizar la intervención quirúrgica (líneas rojas de la figura 7.1 y figura 7.5). De esta forma, parece evidente que el descenso en la ingesta de agua puede observarse ante tratamientos que sin embargo, no modifican el volumen de excreción.

En resumen, los resultados obtenidos sugieren que los cambios en la ingesta de agua de los animales con D.I. no parecen ser una consecuencia ineludible de cambios en el volumen de excreción. Es posible que la ingesta de elevadas cantidades de agua en los sujetos diabéticos pueda deberse también a la acumulación orgánica de sodio corporal. En este sentido, es bien sabido que la D.I. cursa con un aumento en los niveles corporales de este ión (hipernatremia) (Bacic et al., 1999; Bakker, 1976; Balment et al., 1986; Huang et al., 1996; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Rolls, 1970; Seckl et al., 1992). La

hipernatremia diabética podría verse agravada por la habitualmente elevada ingesta de comida que se observa en estos sujetos lesionados (Figura 7.7). De esta forma, en los sujetos EM privados de comida, este agravante desaparece y en consecuencia, la ingesta de agua también disminuye. Esta idea se ve respaldada por una serie de estudios clásicos que han demostrado que la severidad de la D.I. es proporcional a la cantidad de sodio ingerido por los animales durante las comidas (Curtis, 1924; Palmieri et al, 1969; Tittlebaum et al, 1960; Swann, 1939). Así, la ausencia de alimento podría disminuir los niveles de sodio corporal de los animales diabéticos y en consecuencia, la necesidad de agua. Posteriormente, cuando se proporciona comida a los animales EM, la ingesta de ClNa podría aumentar los niveles de sodio corporal y la ingesta de agua, tal y como puede comprobarse en la Figura 7.3.

A pesar de no modificar la ingesta de alimento (líneas azules de la Figura 7.7), la administración de Oxitocina reduce la ingesta de agua de los animales EM privados de comida durante las primeras 48 horas postquirúrgicas (Figura 7.1 y 7.2). Así, la hormona ha podido reducir la hipernatremia diabética y por lo tanto, la necesidad de agua, potenciando la excreción de sodio. En este caso, la Oxitocina resultaría ser un agente natriurético eficaz tanto en sujetos intactos (ver Experimento 3), como durante el control de la polidipsia de los animales con diabetes insípida. En lo referente a la capacidad natriurética de la Oxitocina en animales con D.I., este efecto ha sido observado en animales hipofisectomizados (Balment et al, 1985), neurohipofisectomizados (Balment et al, 1986) así como en sujetos con lesiones electrolíticas de la EM privados de comida (Mahía, 2002; Tesis Doctoral).

La osmolaridad urinaria de los animales con D.I. es menor que la de los sujetos intactos. Este dato se ha observado repetidamente (Czernichow et al., 1985; Robertson, 1983; Seckl et al., 1987, 1992) y ha sido atribuido a la ausencia de ADH, la hormona que modula la permeabilidad al agua en los túbulos colectores del riñón, permitiendo así su reabsorción y la concentración urinaria (Fried et al., 1997; Robertson, 1983; Seckl et al., 1987). Sin embargo, los resultados obtenidos en este Experimento 7 sugieren que la osmolaridad urinaria podría estar también relacionada con la falta de Oxitocina, cuya liberación también ha sido interrumpida a consecuencia de las intervenciones quirúrgicas

generadoras de D.I. (Badoer, 2001; Bastos et al., 2001; Bealer y Crowley, 1999; Cajal, 1894 en Pickford y Ritchie, 1945; Briski y Brandt, 2000; Chiriguer et al., 2001; Cunningham y Sawchenco, 1991; Hussy et al., 2000; Lincoln y Paisley, 1982; Miyata et al., 2001; Raggenbass, 2001; Rinaman et al., 1995; Saborio et al., 2000; Thunhorst et al., 1998; Voisin et al., 1999; Wakerley et al., 1988; Walter et al., 2000).

Por el contrario, en los sujetos EM con comida, el tratamiento con Oxitocina no reduce la ingesta de agua. Posiblemente y al igual que sucede en sujetos intactos, la capacidad natriurética de la Oxitocina en animales EM que disponen de comida, sea menos efectiva (la excreción puede ser fácilmente compensada mediante la ingesta) que la que se observa en los sujetos privados de alimento o en sujetos alimentados con dietas hiposódicas (Balment et al, 1980; Verbalis et al, 1991b). Al no generar déficits mediante la excreción de sodio, la Oxitocina no modificaría significativamente la ingesta de agua del grupo EM con comida disponible. Asimismo, el hecho de que los grupos de animales EM con comida disponible ingieran, con independencia de la administración de Suero Fisiológico u Oxitocina, la misma cantidad de fluido (figura 7.1 y 7.2) y de comida (figura 7.7), sugiere en primer lugar que la administración de 2 ml de Suero Fisiológico en los animales EM no repercute significativamente en el consumo de fluido. En segundo lugar, este resultado sugiere que la Oxitocina no ha provocado una reacción aversiva y por consiguiente, que el descenso en la ingesta de agua que se observa al tratar con Oxitocina a los sujetos EM privados de comida, no es fruto de un fenómeno de condicionamiento aversivo. Este dato es relevante si se considera que la administración de agentes aversivos (como el CILi o el sulfato de cobre), parecen estimular la secreción de esta hormona (Verbalis et al., 1991). Sin embargo, sería poco probable que la Oxitocina provocase aversión y el descenso en la ingesta de agua en los animales EM sin comida y no en el grupo de animales con comida disponible.

En resumen, los resultados obtenidos en este experimento sugieren que la conducta polidíptica provocada como consecuencia de la lesión electrolítica de la EM, está determinada tanto por alteraciones en el metabolismo del agua (desequilibrio hídrico), como del CNa (hipernatremia diabética). Las alteraciones en el metabolismo del agua dependen de una capacidad reducida para retener fluido mientras que las alteraciones en el

metabolismo del CINA serían el resultado de una capacidad reducida para excretar una orina concentrada, un efecto que se vería agravado por la ingesta elevada de alimento. Asimismo, los resultados obtenidos también sugieren que esos desequilibrios podrían no depender únicamente de la ausencia de ADH, sino también de la falta de Oxitocina.

Estos resultados están en consonancia con algunos estudios clínicos. Así y desde hace algunos años, el tratamiento farmacológico de la D.I. central se ha visto reforzado con bastante éxito, por el empleo de dietas carentes en sodio y de sustancias diuréticas (Baylis et al., 1998; Fried et al., 1997; Niaudet et al., 1985; Rose, 1984; Saborio et al., 2000; Tetiker et al., 1999), que conjuntamente provocan un aumento selectivo en la excreción de sodio sin afectar al volumen de excreción, con lo cual se ha podido disminuir la hipernatremia característica de este trastorno. Más aún, el tratamiento farmacológico se ha visto mejorado por la administración de productos como Pituitrin, un extracto de la hipófisis posterior que contiene Oxitocina y Vasopresina y que parece mejorar la respuesta regulatoria de los pacientes que desarrollan diabetes insípida (Simmonds, 2002).

EXPERIMENTO 8: OXITOCINA, PRIVACIÓN DE ALIMENTO Y POLIDIPSIA DIABÉTICA: EFECTOS A LARGO PLAZO.

La ingesta de agua y el volumen de excreción de los animales con Diabetes Insípida sigue un patrón trifásico característico. Temporalmente, el trastorno se caracteriza por una respuesta polidíptica y poliúrica inicial con una duración aproximada de 24 horas (Fase Transitoria). Posteriormente y durante dos o tres días, se observa un descenso en la ingesta de agua y en el volumen de excreción (Interfase Oligúrica) que es seguido de un aumento permanente en la ingesta y excreción de fluido (Fase Estable) (Bakker y Waring, 1976; Balment et al., 1986; Bronstein et al., 2000; Friedman et al., 1958 y 1962; Hollishead, 1964; Huang y Dellman, 1996; Laszlo y Wied, 1966; Lichardus y Ponec, 1973; O'Connor, 1946, 1950 y 1952; Robertson, 1995; Rolls, 1970; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1987 y 1992; Swaab et al, 1975; White y Heinbecker, 1939).

En el experimento anterior se ha comprobado que la privación de alimentos durante las primeras 48 horas post-quirúrgicas, disminuye de forma transitoria la ingesta de agua de los sujetos con DI, mientras que por su parte, la administración de Oxitocina la reduce de forma prolongada. Por el contrario, en sujetos diabéticos con comida disponible, la Oxitocina no parece modificar significativamente la ingesta de agua. En este sentido, el presente experimento pretende analizar durante la **fase estable** de la diabetes insípida, si la privación de alimento y la administración de Oxitocina (en sujetos privados de alimento) potencian el efecto que la aplicación de estos tratamientos ejercen sobre la ingesta de agua durante la fase transitoria.

Para Swann (1939), la ingesta de ClNa a través de la dieta es el factor determinante en el desarrollo de la fase permanente o estable de los animales diabéticos. De ser así, la privación de comida durante la fase permanente debería reducir o anular la polidipsia de los animales con lesiones electrolíticas de la Eminencia Media.

En relación a la Oxitocina, se ha venido sugiriendo que el efecto reductor en la ingesta que provoca en animales diabéticos (privados de comida), podría ser una consecuencia de la excreción de sodio. Igualmente y también en animales con D.I., algunos

datos clásicos sugieren que la capacidad natriurética de la Oxitocina es mayor durante los primeros días de la enfermedad que durante la fase estable (Brooks y Pickford, 1958). Desde este punto de vista, cabría esperar que la influencia de la Oxitocina sobre la ingesta de agua de animales diabéticos privados de comida fuese mayor cuando es administrada durante la fase transitoria que al ser inyectada durante la fase estable.

Para comprobar esas hipótesis se realiza el siguiente experimento.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS:

- El objetivo de este experimento ha consistido en realizar varias sesiones de privación de alimento en paralelo con la administración de oxitocina a fin de observar la evolución, a largo plazo, de la polidipsia diabética. Se espera que la privación de comida durante la fase diabética transitoria no impida la aparición de la respuesta polidípica mientras que el tratamiento con Oxitocina reduzca permamantemente la ingesta de agua de los animales con lesiones electrolíticas de la EM. Durante la fase estable, por el contrario, se espera que la privación de comida reduzca la ingesta de agua de los sujetos diabéticos y que la administración de Oxitocina no la modifique.
- Se trata, en fin, de comprobar la contribución de la administración de oxitocina sobre la ingesta de agua de sujetos diabéticos que parten de un grado de polidipsia similar. Por ello, en este caso, se administrará la primera dosis de Oxitocina (o Suero Fisiológico) 24 horas después de la intervención quirúrgica.

MÉTODO:**SUJETOS Y GRUPOS:**

Participaron en este experimento 32 ratas macho Wistar con un peso corporal de aproximadamente 300 gramos al comienzo del mismo. Los animales son alojados en jaulas individuales en una sala experimental con un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas y una temperatura ambiental de aproximadamente 22 grados centígrados.

Tras unos días de adaptación al entorno, se registra la ingesta de agua, comida y el peso corporal durante 24 horas (línea base) y se realiza la intervención quirúrgica. A la mitad de los sujetos se les lesiona electrolíticamente la eminencia media y en la otra mitad se practica una falsa lesión (Cuadro 8.1).

VARIABLES INDEPENDIENTES		SUSTANCIA s.c.	
		OXITOCINA	SUERO FISIOLÓGICO
LESIÓN	EMINENCIA MEDIA ²	EM-OX N=7	EM-SF N=7
	FALSA LESION	C-OX N= 8	C-SF N=8

Cuadro 8.1

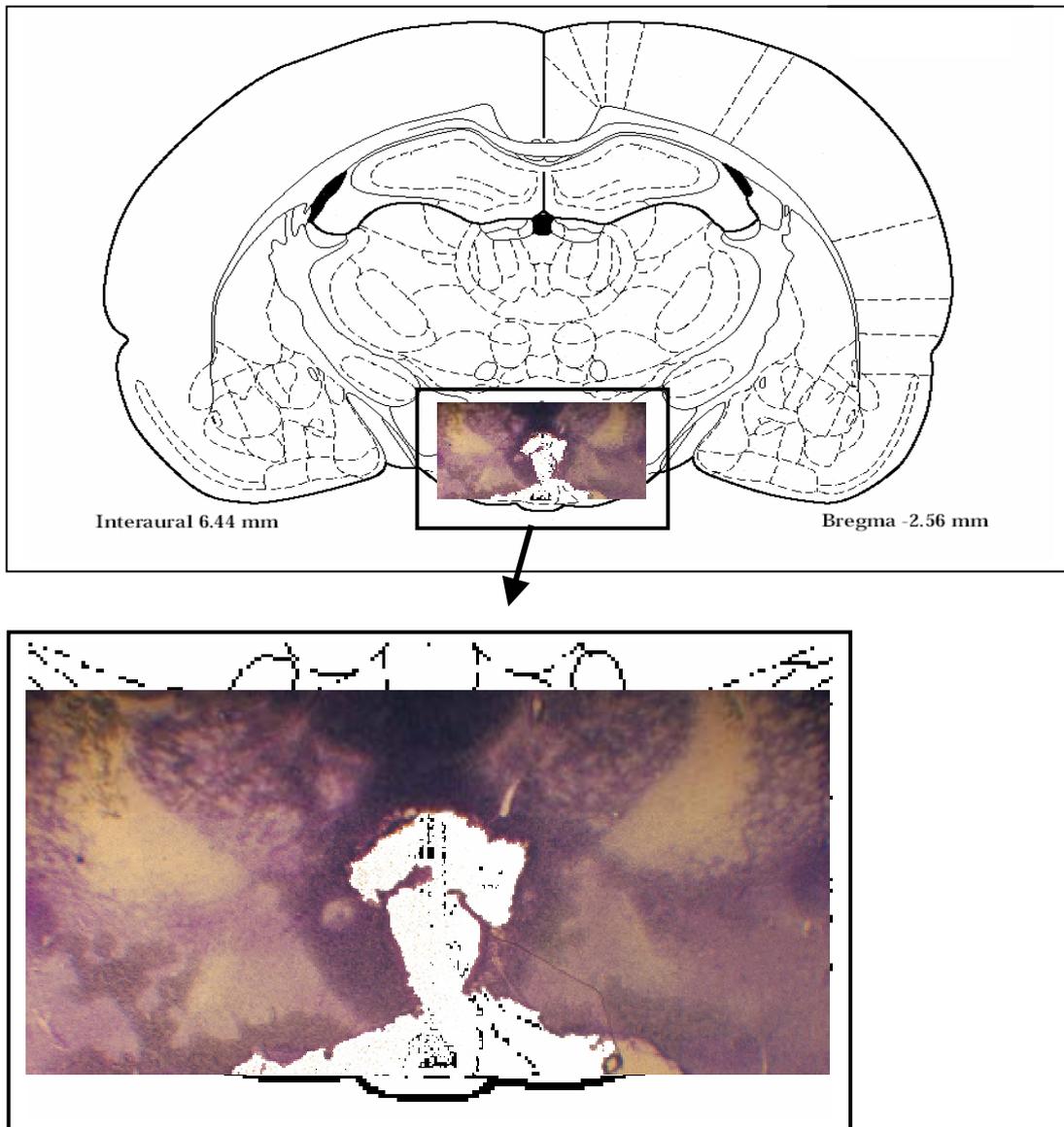
Una vez finalizada la intervención quirúrgica, se aloja a los animales en jaulas metabólicas, *sin comida durante 48 horas*.

² Fueron excluidos dos animales con lesiones electrolíticas de la eminencia media, que no experimentaron polidipsia tras la intervención quirúrgica.

PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO E HISTOLOGÍA.

Idéntico al descrito en el experimento anterior.

Se muestra (**Fotografía 8.1**) una sección transversal de un animal con lesión electrolítica de la Eminencia Media (teñida con Violeta de Cresilo), en una lámina del atlas en Paxinos y Watson (1997).



Fotografía 8.1

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL :

Este experimento tuvo una duración de 41 días. Inicialmente (Día 0) se observa el comportamiento basal de los sujetos durante 24 horas (línea base en sujetos intactos) y posteriormente se les interviene quirúrgicamente.

La primera fase del experimento tiene lugar entre los días 1 y 20. La segunda fase, idéntica a la anterior, transcurre desde el día 21 al 40.

PRIMERA FASE

Día 1 : Línea Base post-quirúrgica. Una vez realizada la intervención quirúrgica (Día 0) (Grupos de falsa lesión y Grupos con lesión electrolítica de la eminencia media) los sujetos son instalados en jaulas metabólicas sin comida durante 48 horas. *Pasadas estas primeras 24 horas* (Día 1), se registra la ingesta de agua y el volumen de orina excretado y se administra subcutáneamente oxitocina o suero fisiológico:

- Grupos con Falsa Lesión: De forma aleatoria, la mitad de los sujetos recibe 2 inyecciones s.c. (separadas por un intervalo de 6 horas) de 0.5 ml/inyección de Suero Fisiológico y, la otra mitad de los animales de Oxitocina (10 U.I./ ml), es decir, de la misma forma a la descrita en experimentos anteriores.
- Grupos Lesionados: También son subdivididos en dos grupos inyectados con Suero Fisiológico u Oxitocina, de forma análoga a los grupos de Falsa Lesión.

Todos los sujetos permanecen en estas condiciones en jaulas metabólicas durante 48 horas (día 2) y se registra diariamente (a las 9:00 P.M.), la ingesta de agua, el volumen de orina excretado y el peso corporal.

Días 3-20: Transcurridas las 48 horas post-quirúrgicas iniciales, se instala a cada animal en una jaula individual estándar, con agua y comida ad-lib. Se anota diariamente (a las 9:00 P.M.) el consumo de agua y comida y el peso corporal.

El **día 20**, tras registrar la ingesta de cada animal a las 9:00 P.M., da comienzo la Segunda Fase Experimental.

SEGUNDA FASE

Se lleva a cabo de la misma forma que la primera fase. En primer lugar, tras el registro efectuado en el día 20, se aloja nuevamente a cada sujeto en jaulas metabólicas (privados de comida durante 48 horas). A las 9:00 P.M del **día 21** (tras 24 horas de privación de alimento), cada sujeto recibe dos inyecciones de suero fisiológico u oxitocina (de la misma forma que en la primera fase), y permanece en las jaulas metabólicas y sin comida, hasta el **día 22**. Tras el registro de la ingesta de agua, volumen de orina y peso corporal a las 9:00 P.M. del día 22, se aloja a los sujetos en las jaulas individuales con agua y comida hasta el **día 40**. Desde el día 23 al día 40, se registra diariamente (a las 9:00 P.M), el agua y comida consumida y el peso corporal de cada sujeto.

El siguiente cuadro muestra de forma abreviada el protocolo seguido:

————— **DÍAS** —————→

FASE 1				FASE 2				
DIA 0- DIA 1		DIA 1-DIA 2		D. 3-D. 20	D. 20-D. 21	D. 21 - D. 22		D. 23 - D. 40
LESIÓN	<i>S/C</i>	<i>S/C</i>	Suero Fisiológico	<i>C/C</i>	<i>S/C</i>	<i>S/C</i>	Suero Fisiológico	<i>C/C</i>
			Oxitocina	<i>C/C</i>	<i>S/C</i>	<i>S/C</i>	Oxitocina	<i>C/C</i>
FALSA LESIÓN	<i>S/C</i>	<i>S/C</i>	Suero Fisiológico	<i>C/C</i>	<i>S/C</i>	<i>S/C</i>	Suero Fisiológico	<i>C/C</i>
			Oxitocina	<i>C/C</i>	<i>S/C</i>	<i>S/C</i>	Oxitocina	<i>C/C</i>

Cuadro 8.2

(S/C: sin comida; C/C: con comida):

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Se lleva a cabo utilizando el paquete informático `Statistica`. Todos los análisis realizados incluyen las variables independientes “Lesión” (Eminencia Media-Falsa Lesión) y “Sustancia” (Oxitocina-Suero Fisiológico). Adicionalmente se incluyen las medidas repetidas “Fases” (Fase 1 y Fase 2) y “Días” (con niveles específicos para cada variable dependiente).

Para analizar la **ingesta de agua**, se realizan dos Anovas. El primero sobre la comportamiento ingestivo tras las primeras 24 horas post-quirúrgicas, mediante un Anova 2 x 2 (lesión x sustancia). El segundo, sobre el comportamiento ingestivo durante los 20 días de cada fase, mediante un Anova 2 x 2 (x 2 x 20) (lesión x sustancia (x fases x días)).

El **volumen de orina** se analiza mediante un Anova 2x2 (lesión x sustancia) para la cantidad de orina excretada tras las primeras 24 horas post-quirúrgicas y mediante un Anova 2x2 (x 2 x 2) (lesión x sustancia (x fases x días)) para el volumen excretado los días 1-2 (primera fase) y 21-22 (segunda fase).

El **peso corporal** se analiza mediante dos Anovas. El primero de ellos para observar el cambio en el peso corporal 24 horas después de la intervención quirúrgica (Anova 2 x 2 (Lesión x Sustancia)). El segundo con los datos del peso desde los días 1 al 20 (de la primera fase) y del 21 al 40 (para la segunda fase), mediante un Anova 2 x 2 (x 2 x 20) (Lesión x Sustancia (x Fase x Días)).

Finalmente, los datos de la **ingesta de comida** desde el día 3 post-quirúrgico hasta el día 20 (primera fase) y desde el día 23 hasta el 40 (segunda fase), son analizados mediante un Anova 2x2 (x 2 x 18) (lesión x sustancia (x fase x días)).

Los resultados significativos son examinados mediante Comparaciones Planeadas.

RESULTADOS:

En la Tabla 8.0 (ver Anexo), se muestran las medias y desviaciones típicas obtenidas en este experimento.

ANÁLISIS DE LA LÍNEA BASE

La ingesta basal de agua y de comida, no difiere significativamente entre los 4 grupos de sujetos: Rao (6,50)= 1,10; $p < 0,37$ (Figura 8.0):

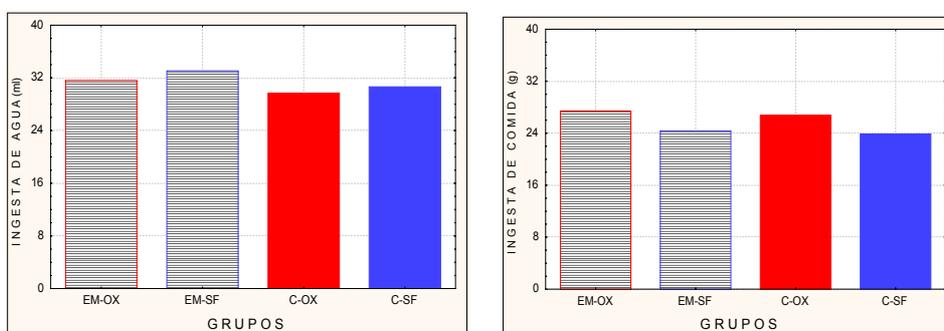


Figura 8.0: Ingesta de agua (ml) y comida (g) ad lib para los 4 grupos de sujetos.

EFFECTO DE LA LESIÓN ELECTROLÍTICA (DÍA 1)

- SOBRE LA INGESTA DE AGUA:**

El ANOVA de las 24 horas post-quirúrgicas (Día 1) en animales privados de alimento, revela un efecto significativo de la “lesión” sobre la ingesta de agua ($F(1,26) = 58$; $p < 0.01$).

EFFECTO	gl efecto	gl error	F	p
LESIÓN	1	26	58,30964	,000000
SUSTANCIA	1	26	,04413	,835253
INTERACCIÓN	1	26	,16083	,691670

Tabla 8.1: Anova sobre la ingesta de agua después de las primeras 24 horas post-quirúrgicas en los 2 x 2 grupos de sujetos.

Los sujetos EM ingieren una cantidad superior de agua ($F(1,26)= 58; p< 0.01$). No se aprecian diferencias estadísticas entre los dos grupos Eminencia Media ni entre los dos grupos Control (Figura 8.1).

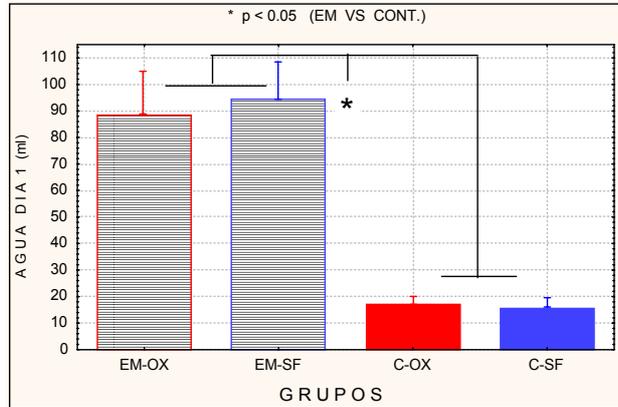


Figura 8.1: Ingesta de agua en animales Eminencia Media/Control privados de alimento durante 24 horas y distribuidos en función de la posterior administración de Oxitocina o Suero Fisiológico.

• **SOBRE EL VOLUMEN DE ORINA:**

El ANOVA de las 24 horas post-quirúrgicas (Día 1) en animales privados de alimento señala un efecto significativo de la lesión electrolítica (Tabla 8.2). Los sujetos EM excretan un volumen de orina superior ($F(1,26)= 40.79; p< 0.001$)

EFEECTO	gl efecto	gl error	F	p
Lesión	1	26	40,79066	,000001
Sustancia	1	26	,00378	,951461
Interacción	1	26	,29327	,592742

Tabla 8.2: Anova sobre el volumen de orina después de las primeras 24 horas post-quirúrgicas en los 2 x 2 grupos de sujetos.

No se aprecian diferencias estadísticas entre los dos grupos Eminencia Media ni entre los dos Control (Figura 8.2).

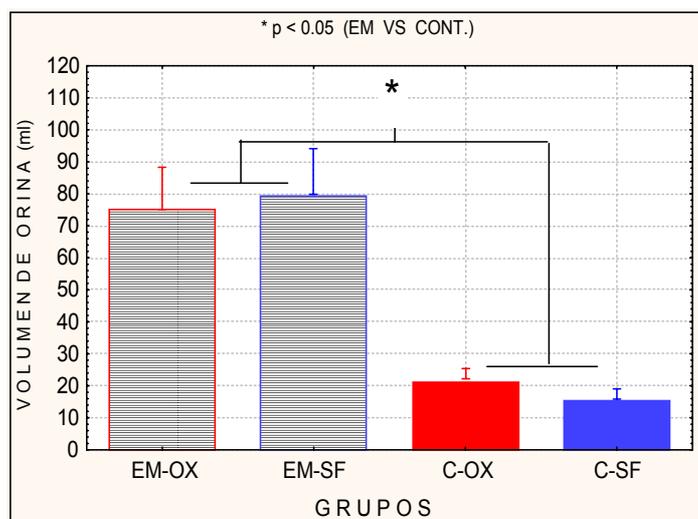


Figura 8.2: Volumen de orina excretado en animales Eminencia Media/Control privados de alimento durante 24 horas y distribuidos en función de la posterior administración de Oxitocina o Suero Fisiológico.

- **SOBRE EL PESO CORPORAL:**

El ANOVA de las 24 horas post-quirúrgicas (Día 1) en animales privados de alimento señala un efecto significativo de la lesión electrolítica (Tabla 8.3). Los sujetos EM experimentan un mayor descenso en el peso corporal que los grupos de Falsa Lesión ($F(1,26)= 40.79$; $p < 0.001$).

EFECTO	gl efecto	gl error	F	p
Lesión	1	26	6.006457	.021292
Sustancia	1	26	.112748	.739731
Interacción	1	26	2.094756	.159756

Tabla 8.3: Anova sobre el cambio en el peso corporal después de las primeras 24 horas post-quirúrgicas en los 2 x 2 grupos de sujetos.

No se aprecian diferencias estadísticas entre los dos grupos Eminencia Media ni entre los dos Control (Figura 8.3).

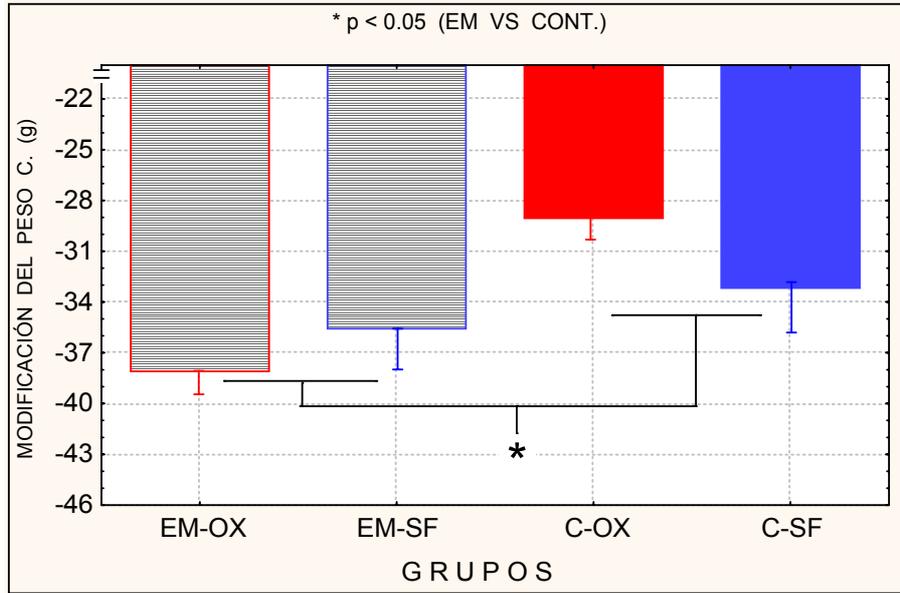


Figura 8.3: *Modificación del peso corporal en animales Eminencia Media/Control privados de alimento durante 24 horas y distribuidos en función de la posterior administración de Oxitocina o Suero Fisiológico.*

ANÁLISIS DEL PERÍODO GLOBAL: DESDE EL DÍA 1 AL DÍA 40

• **SOBRE LA INGESTA DE AGUA:**

El Anova Lesión x Sustancia (x Fases x Días), revela la existencia de efectos significativos para la interacción Lesión x Sustancia ($F(1,26) = 8.54$; $p < 0.008$), Sustancia x Días ($F(19,494) = 1.77$; $p < 0.024$) y Lesión x Fases x Días ($F(19,494) = 4.9$; $p < 0.01$) (Tabla 8.4 y Figura 8.4).

EFFECTO	gl efecto	gl error	F	p
1.- Lesión	1	26	147.9771	.000000
2.- Sustancia	1	26	3.3780	.077524
3.- Fases	1	26	26.9326	.000020
4.- Días	19	494	32.8489	0.000000
12	1	26	8.5413	.007097
13	1	26	24.3955	.000039
23	1	26	.6579	.424673
14	19	494	22.0927	0.000000
24	19	494	1.7675	.023764
34	19	494	7.4741	.000000
123	1	26	.8712	.359200
124	19	494	1.2991	.177787
134	19	494	4.8888	.000000
234	19	494	.6683	.851051
1234	19	494	1.0404	.412024

Tabla 8.4: Anova 2x2 (x2x20) sobre la ingesta de agua.

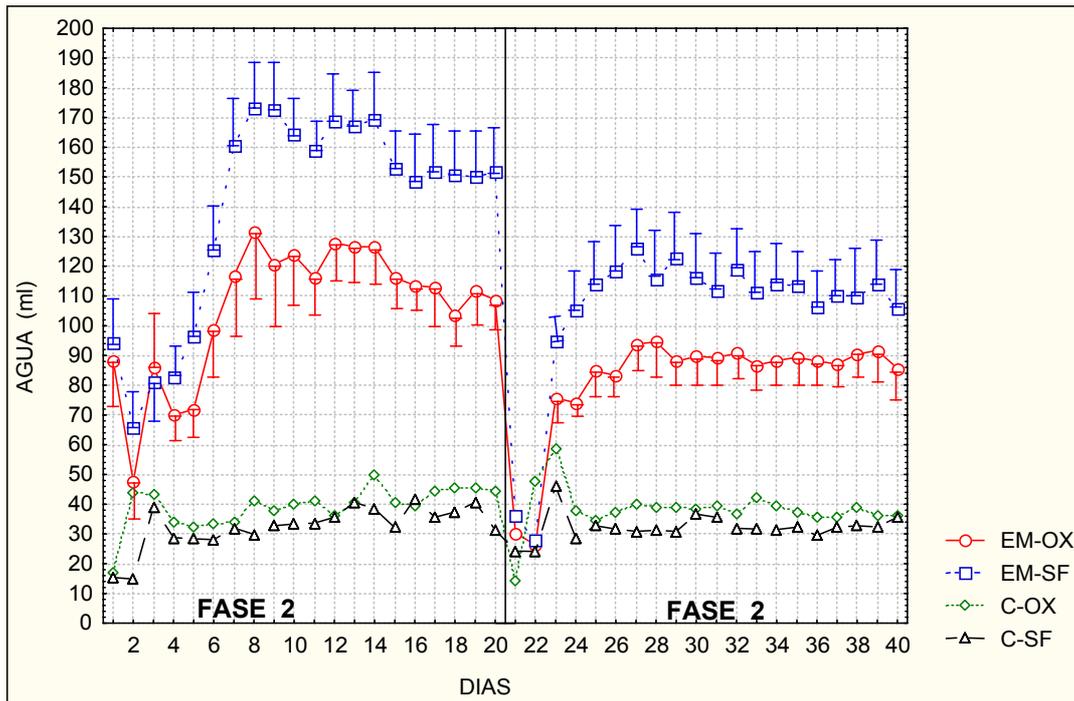


Figura 8.4: Ingesta de agua (ml) durante los 40 días experimentales, por los grupos con lesión electrolítica de la Eminencia Media y Falsa Lesión.

La línea vertical intermedia divide las dos Fases.

Los animales estuvieron privados de alimento los días 1-2 (primera fase) y 21-22 (fase 2).

Efecto Oxitocina: Interacción Lesión x Sustancia. Los sujetos EM ingieren mayor cantidad de agua que los sujetos control ($F(1,26)= 148$; $p < 0.001$ para ambos grupos; $F(1,26)= 114$; $p < .001$ para los de SF y $F(1,26)= 43$; $p < 0.001$ para los de OX). El tratamiento con Oxitocina reduce la ingesta media de agua de los sujetos EM (EM-OX vs EM-SF) ($F(1,26)= 10.62$; $p < 0.004$), pero no la de los animales del grupo control ($F(1,26)= 0.63$; $p < 0.434$) (Figura 8.5).

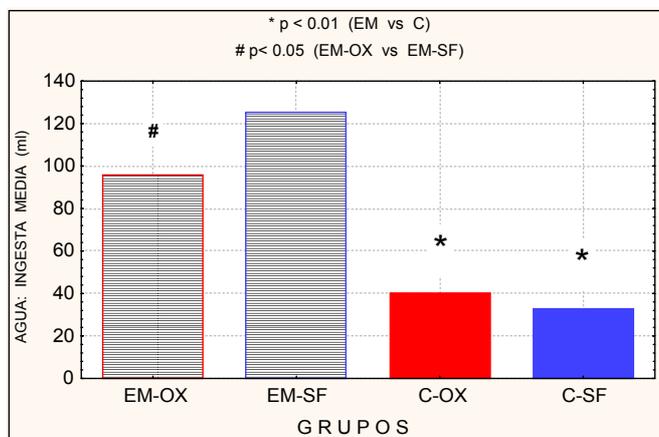


Figura 8.5: Ingesta media de agua (40 días) para los 4 grupos.

Veinticuatro horas después de la primera administración de Oxitocina en sujetos privados de comida (Día 2), los animales EM tratados con SF consumen más agua que los sujetos con falsa lesión (EM-SF vs C-SF: $F(1,26)= 22.2$; $p < 0.001$). Este efecto no se observa en el caso de los sujetos tratados con Oxitocina, cuya ingesta de agua no difiere significativamente entre sí (EM-OX vs C-OX: $F(1,26)= 0.12$; $p < 0.73$) (ver Figura 8.4). En este segundo día, el descenso en la ingesta de agua que el tratamiento con Oxitocina genera en los sujetos Eminencia Media, resulta significativamente diferente del incremento que se observa en los animales con falsa lesión ($F(1,26)= 9.53$; $p < 0.004$) (ver Figura 8.4).

Efecto Privación³: Interacción Lesión x Fases x Días. Los animales diabéticos privados de comida durante la *primera fase*, ingieren mayor cantidad de agua que los sujetos del grupo control (también privados) ($F(1,26)= 58.31$; $p < 0.001$ (día 1: 24 h de privación) y $F(1,26)= 12.8$; $p < 0.002$ (día 2: 48 h de privación)). Después de 24 horas sin comida durante la *segunda fase (día 21)*, los animales diabéticos continúan consumiendo mayor cantidad de agua que los sujetos control ($F(1,26)= 9.4$; $p < 0.006$). Sin embargo, después de 48 horas sin comida durante la segunda fase (*día 22*), no se observa una ingesta de agua significativamente diferente entre los sujetos EM y control ($F(1,26)= 2.9$; $p < 0.1$) (Figura 8.6).

La privación de alimento durante la fase diabética estable (días 20-21) provoca una reducción en el consumo de agua de los animales EM. Dicho de otro modo, los animales con lesión electrolítica de la EM ingieren menor cantidad de agua durante la segunda fase (días 21-40) que durante la primera (días 1-20) ($F(1,26)= 33$; $p < 0.001$ para el grupo EM-SF y $F(1,26)= 16.5$; $p < 0.001$ para el grupo EM-OX) (Figura 8.6). El descenso en la ingesta de agua de los sujetos EM durante la segunda fase es de una magnitud similar en los grupos tratados con Suero Fisiológico o con Oxitocina ($F(1,26)= 1.42$; $p < 0.25$) (ver Figura 8.4). Es decir, la administración de Oxitocina durante la fase diabética estable (día 21), no modifica la ingesta de agua de los sujetos EM y así, las diferencias ingestivas que se observan entre los dos grupos EM durante la fase estable son análogas a las ya observadas cuando se administra Oxitocina durante la fase transitoria.

³ Esta interacción analiza conjuntamente los grupos de Oxitocina y Suero Fisiológico. Por tanto, la reducción en la ingesta de agua observada en la segunda fase, es consecuencia de la privación de alimento e independiente de la sustancia inyectada

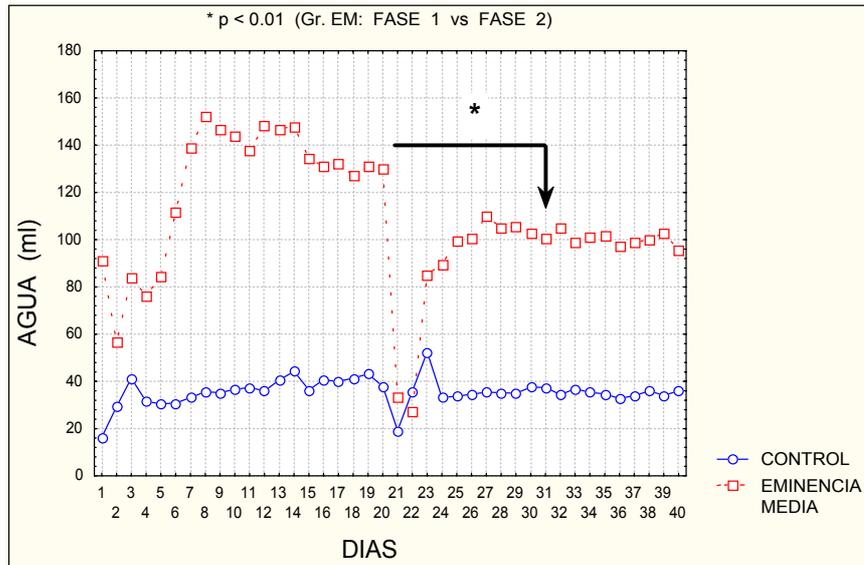


Figura 8.6: *Ingesta de agua durante 40 días en sujetos Eminencia Media y Control privados de alimento durante los días 1-2 y 21-22.*

En los animales de los grupos de control, por el contrario, no se observan cambios significativos en la cantidad de agua ingerida durante las dos fases ($F(1,26) = .034; p < 0.856$) (Figura 8.6).

Finalmente, la **Interacción Sustancia x Días** señala la ausencia de diferencias entre los sujetos (EM) de Oxitocina y los de Suero Fisiológico durante los primeros días de cada fase, cuando están privados de alimento (ver **Figura 8.4**).

- **SOBRE EL VOLUMEN DE EXCRECIÓN:**

El Anova Lesión x Sustancia (x Fases x Días), revela la existencia de efectos significativos para la interacción Lesión x Fases ($F(1,26)= 18.28$; $p < 0.001$) y Lesión x Sustancia x Días ($F(19,494)= 4.34$; $p < 0.05$) (Tabla 8.5 y Figura 8.7).

EFEECTO	gl efecto	gl error	F	p
1.- Lesión	1	26	32.55880	.000005
2.- Sustancia	1	26	.14402	.707403
3.- Fases	1	26	9.44738	.004918
4.- Días	1	26	10.10415	.003798
12	1	26	3.42747	.075511
13	1	26	18.27826	.000227
23	1	26	.23586	.631278
14	1	26	34.74590	.000003
24	1	26	4.98225	.034440
34	1	26	2.28308	.142852
123	1	26	.70170	.409846
124	1	26	4.34300	.047131
134	1	26	.13221	.719092
234	1	26	2.64523	.115922
1234	1	26	.08129	.777816

Tabla 8.5: Anova 2x2 (x2x20) sobre el volumen de orina excretado.

Después de 24 horas sin comida durante la primera fase (día 1), los sujetos EM excretan una mayor cantidad de orina que los sujetos control (Grupos con Suero Fisiológico: $F(1,26)= 34.4$; $p < 0.0001$; Grupos con Oxitocina: $F(1,26)= 27.98$; $p < 0.001$). Los sujetos tratados con Suero Fisiológico y con Oxitocina excretan un volumen de orina similar (Grupos EM: $F(1,26)= 0.10$; $p < 0.75$. Grupos Control: $F(1,26)= 0.19$; $p < 0.66$) (Figura 8.7).

Veinticuatro horas después de la administración de Suero Fisiológico durante la primera fase (y tras 48 h sin comida) (día 2), los sujetos EM excretan mayor cantidad de orina que los sujetos control ($F(1,26)= 9.3$; $p < 0.006$). No se observan diferencias

significativas entre los grupos EM y Control tratados con Oxitocina ($F(1,26)= 0.52$; $p < 0.48$). Después de este segundo día, los sujetos del grupo Control tratados con Oxitocina excretan un volumen de orina superior que los sujetos del grupo control tratados con SF ($F(1,26)= 6.48$; $p < 0.018$) (Figura 8.7).

Después de 24 horas sin comida durante la *segunda fase (día 21)*, los sujetos EM excretan una mayor cantidad de orina que los sujetos control (Grupos con Suero Fisiológico: $F(1,26)= 9.2$; $p < 0.006$. Grupos con Oxitocina: $F(1,26)= 10.6$; $p < 0.004$). Los sujetos tratados con Suero Fisiológico y con Oxitocina excretan un volumen de orina similar (Grupos EM: $F(1,26)= 1.47$; $p < 0.23$. Grupos Control: $F(1,26)= 2.3$; $p < 0.14$).

Veinticuatro horas después de la administración de Suero Fisiológico durante la segunda fase (y tras 48 h sin comida) (*día 22*), los sujetos EM excretan una cantidad de orina similar a la de los sujetos control ($F(1,26)= 0.01$; $p < 0.91$). Los sujetos del grupo Control tratados con Oxitocina excretan un volumen de orina superior al de los sujetos EM ($F(1,26)= 6.5$; $p < 0.02$). Después de este segundo día, los sujetos del grupo Control tratados con Oxitocina excretan un volumen de orina superior que los sujetos del grupo control tratados con SF ($F(1,26)= 6.99$; $p < 0.02$) (Figura 8.7).

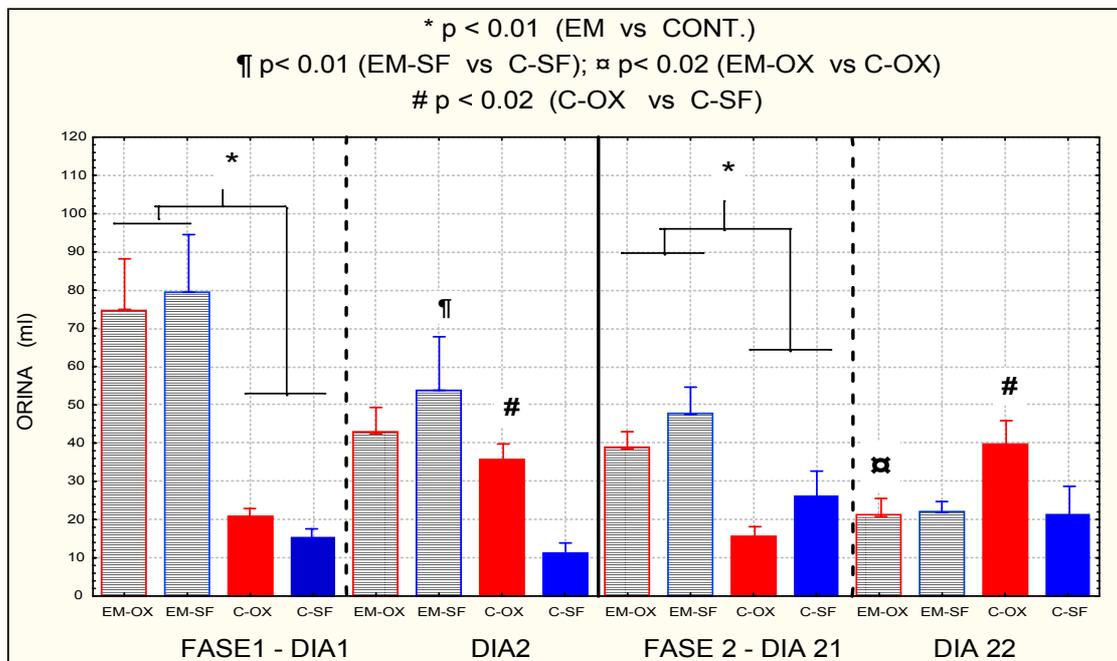


Figura 8.7: Volumen de excreción durante la privación de alimento (días 1-2 y 21-22). Tras las primeras 24 horas de privación de cada fase (días 1 y 21), se administró Oxitocina o Suero Fisiológico.

- **SOBRE LA INGESTA DE COMIDA:**

El Anova Lesión x Sustancia (x Fases x Días), revela la existencia de efectos significativos para la interacción Lesión x Sustancia (x Fases x Días) ($F(17,442)= 1.71$; $p < 0.04$).

EFEECTO	gl efecto	gl error	F	p
1.- Lesión	1	26	19,72809	,000147
2.- Sustancia	1	26	,01065	,918580
3.- Fases	1	26	33,67190	,000004
4.- Días	17	442	13,56736	0,000000
12	1	26	,27049	,607405
13	1	26	42,27473	,000001
23	1	26	,40897	,528086
14	17	442	17,61803	0,000000
24	17	442	,44843	,972810
34	17	442	7,48688	,000000
123	1	26	,87767	,357462
124	17	442	,26778	,998684
134	17	442	2,33875	,001961
234	17	442	,87488	,604489
1234	17	442	1,71025	,038078

Tabla 8.6: Anova 2x2 (x2x2) sobre la ingesta de comida.

Los grupos tratados con Oxitocina ingieren una cantidad análoga a la de los grupos inyectados con Suero Fisiológico ($F(1,26)= 0.21$; $p < 0.662$ para los grupos control y $F(1,26)= 0.08$; $p < 0.778$ para los grupos eminencia media) (Figura 8.8).

En cualquier caso, los sujetos intervenidos en la Eminencia Media ingieren mayor cantidad de comida que los sujetos Control ($F(1,26)= 34.9$; $p < 0.001$ para la Fase 1 y $F(1,26)= 8.01$; $p < 0.009$ para la Fase 2). Sin embargo, la ingesta de comida de ambos grupos no difiere significativamente durante las primeras 48 horas con disponibilidad de comida en la segunda fase (día 23: $F(1,26)= 0.38$; $p < 0.55$; día 24: $F(1,26)= 1.4$; $p < 0.25$) (Figura 8.8).

Durante la Segunda Fase, los sujetos Eminencia Media ingieren menor cantidad de comida que durante la primera ($F(1,26)= 70.97$; $p < 0.001$ para los dos grupos EM; $F(1,26)= 27.0$; $p < 0.001$ para el grupo EM-SF y $F(1,26)= 45.16$; $p < 0.001$ para el grupo EM-OX). Este descenso en la ingesta de comida, no se observa en los sujetos del grupo control ($F(1,26)= 0.26$; $p < 0.613$ para los dos grupos control; $F(1,26)= 0.04$; $p < 0.83$ para el grupo C-SF y $F(1,26)= 0.26$; $p < 0.61$ para el grupo C-OX) (Figura 8.8).

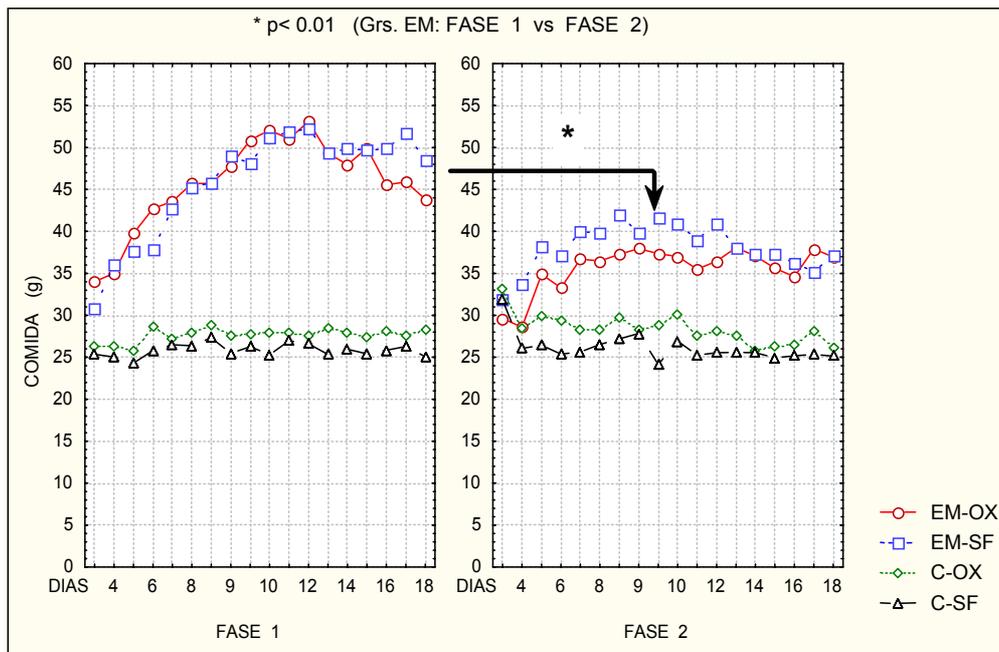


Figura 8.8: Ingesta de comida durante los días 3-20 (Fase 1) y 23-40 (Fase 2). Los animales son privados de alimento durante los días 1-2 y 21-22.

- **SOBRE EL PESO CORPORAL:**

El análisis global muestra una interacción significativa de la Lesión x Días ($F(19,475)= 5.3$; $p < 0.001$) y de la Fases x Días ($F(19,475)= 9.8$; $p < 0.001$) (Tabla 8.7 y Figura 8.9).

EFEECTO	gl efecto	gl error	F	p
1.- Lesión	1	25	13,2272	,001251
2.- Sustancia	1	25	,4980	,486917
3.- Fases	1	25	75,4205	,000000
4.- Días	19	475	102,9690	0,000000
12	1	25	,0194	,890444
13	1	25	3,8386	,061327
23	1	25	,1322	,719213
14	19	475	5,3247	,000000
24	19	475	,2140	,999866
34	19	475	9,8340	,000000
123	1	25	,3435	,563047
124	19	475	,1828	,999961
134	19	475	1,2433	,217509
234	19	475	1,1832	,266952
1234	19	475	,5391	,944735

Tabla 8.7: Anova 2x2 (x2x18) sobre el peso corporal.

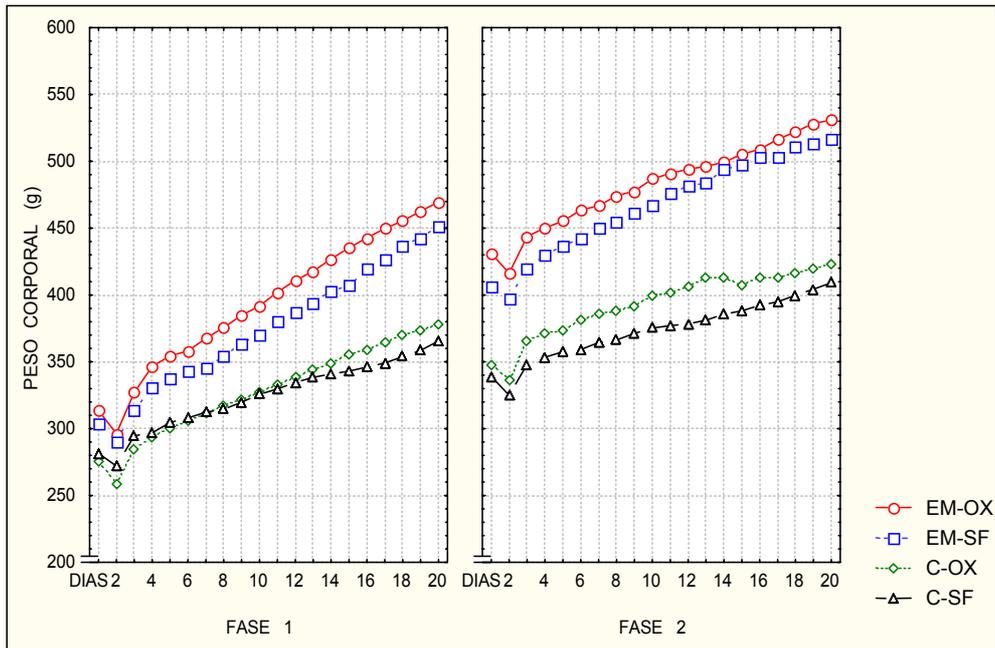


Figura 8.9: *Peso corporal durante los 20 días de la primera y segunda fases. Los animales son privados de alimento durante los días 1-2 y 21-22.*

La **Interacción Lesión x Días** indica que el incremento en el peso corporal es más pronunciado en los grupos EM que en los grupos Control ($F(19,475)= 5.3$; $p< 0.001$).

La **Interacción Fases x Días** expresa la disminución del ritmo de aumento en el peso corporal al comparar la segunda fase frente a la primera ($F(19,475)= 5.3$; $p< 0.001$) (Figura 8.10).

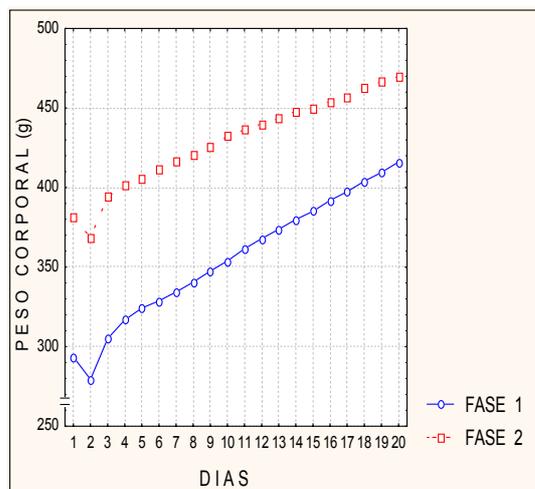


Figura 8.10: *Ritmo de cambio en el peso corporal durante la primera y segunda fase.*

DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO:

Los resultados obtenidos en este experimento muestran que la administración de Oxitocina en sujetos privados de comida durante la fase transitoria de la D.I., reduce permanentemente la ingesta de agua. Este no es el caso durante la fase estable; ahora, el tratamiento con Oxitocina ya no modifica la ingesta de agua. Por el contrario, la privación de alimento durante 48 horas en la fase diabética estable, no sólo inhibe la polidipsia temporalmente, sino que además, reduce el grado de polidipsia posterior.

En efecto, durante la **fase transitoria**, la **administración de Oxitocina** a animales con lesiones electrolíticas de la EM, reduce la *ingesta de agua* sin modificar el consumo de alimento, unos resultados que confirman los efectos observados en el Experimento anterior. Este efecto podría ser *permanente*, ya que la ingesta media de agua de los sujetos inyectados con Oxitocina (durante los 40 días), es significativamente inferior a la del grupo lesionado e inyectado con suero fisiológico (figura 8.5). Asimismo, este experimento permite descartar una interpretación en términos de diferencias ingestivas o excretoras entre los dos grupos EM anteriores a la administración s.c. de las sustancias, ya que el grado de polidipsia y poliuria observado tras las primeras 24 horas post-quirúrgicas (antes de inocular la Oxitocina o el Suero Fisiológico) es similar en ambos grupos (Figura 8.1 y 8.2).

Una de las características peculiares de la Diabetes Insípida es la acumulación de sodio corporal (hipernatremia) (ver Simmons, 2002). Este hecho podría explicar la reducción en la ingesta de agua inducida por la Oxitocina en animales EM privados de comida. En efecto, al estimular la excreción de sodio (Balment et al, 1985 y 1986; Mahía, 2002, Tesis Doctoral) y anular su ingreso en el organismo (mediante privación de comida), la Oxitocina podría reducir la acumulación de sodio corporal y en consecuencia la necesidad de agua.

La administración de Oxitocina provoca incluso que los sujetos EM y Control ingieran y excreten una cantidad de fluido similar veinticuatro horas después de su primera administración (día 2). Sin embargo, a diferencia de la reducción en la ingesta observada en los sujetos EM, la Oxitocina incrementa la ingesta y excreción de agua de los sujetos

control (ver Figura 8.4 y 8.7). Como ya se comprobó con sujetos intactos, el efecto poliúrico y polidíptico de la Oxitocina podría depender de sus acciones natriuréticas y en consecuencia de la excreción conjunta de agua y sales minerales (sed volémica). De esta forma, un mismo mecanismo, la natriuresis oxitocinérgica, puede, según los casos, aumentar o disminuir la ingesta de agua dependiendo de los niveles corporales de sodio. En sujetos intactos, la caída en los niveles corporales de sodio (por privación de alimento y por la natriuresis oxitocinérgica) estimula la ingesta de agua al inducir un déficit hiponatémico. Por el contrario, en sujetos hipernatémicos (D.I.), esas mismas acciones reducen la ingesta de agua al normalizar los niveles de sodio corporal. En resumen, este resultado sugiere que la ingesta de agua puede ser estimulada mediante intervenciones que reduzcan el sodio corporal cuando los niveles de sodio del organismo son normales o bajos mientras que la ingesta de agua es reducida a través de tratamientos que reduzcan el sodio corporal cuando los niveles de sodio del organismo son elevados.

La reducción de la polidipsia diabética mediante procedimientos que facilitan la excreción de sodio es compatible con la propuesta de algunos autores según la cual, la dificultad para concentrar la orina por parte de los sujetos con D.I. es una consecuencia de la ausencia de vasopresina (Robertson, 1995; Simmons, 2002; Swaab et al, 1993; Verbalis, 2003), una hormona que participa en la concentración renal de fluido. Sin embargo, los experimentos realizados en esta tesis doctoral sugieren que la Oxitocina podría ser una hormona también implicada en estos procesos, ya que su administración reduce la polidipsia diabética.

Por el contrario, los resultados del Experimento 8 muestran que los efectos del tratamiento con Oxitocina no se reproducen durante la **fase diabética estable**. En efecto, las diferencias ingestivas entre los grupos EM tratados con Oxitocina o con suero Fisiológico, no se ven aumentadas adicionalmente cuando estas sustancias son administradas 21 días después de finalizar la intervención quirúrgica (ver Figura 8.4). En este sentido, Brooks y Pickford (1958) observaron que la Oxitocina sólo tenía capacidad natriurética en animales diabéticos únicamente cuando era administrada durante la fase inicial, y ahora se puede comprobar que lo mismo sucede con respecto al comportamiento regulatorio de carácter hídrico.

Por su parte y con respecto a los efectos de la **privación de comida**, los resultados son bien diferentes a los de la Oxitocina. Cuando la privación de comida durante 48 horas tiene lugar durante la **fase inicial**, los sujetos intervenidos en la EM y posteriormente tratados con Suero Fisiológico, manifiestan una típica respuesta polidíptica (Figura 8.4), poliúrica (Figura 8.7) y el correspondiente incremento en el consumo de alimento (Figura 8.8). Es decir, la privación de alimento durante la fase diabética inicial no impide la aparición de las respuestas características asociadas a la lesión electrolítica de la EM (en consonancia con los resultados de Swann, 1939).

Sin embargo, cuando la privación de alimento se lleva a cabo durante la **fase estable**, la cantidad de agua consumida por los animales diabéticos es incluso menor (aunque no alcanza la significación estadística) que la que se observa en los animales del grupo control (*día 22* en la figura 8.6). En cualquier caso, la inhibición de la polidipsia diabética, parece precisar de una privación de comida prolongada. Así, después de 24 horas de privación durante la fase estable (día 21), los sujetos diabéticos todavía toman mayor cantidad de agua que los animales control. En resumen, la privación de alimento durante la fase polidíptica estable normaliza la ingesta de agua de animales con diabetes insípida, si se lleva a cabo durante más de 24 horas. Este resultado sugiere que la elevada ingesta de agua de los animales diabéticos durante la fase estable, podría precisar de la ingesta de alimento ya que la privación de comida elimina la respuesta hiperdíptica (Swann, 1939).

Más allá de estos efectos, la privación de alimento durante la fase diabética estable, parece generar cambios ingestivos que se prolongan temporalmente. Así, la polidipsia que con posterioridad (*día 21 a 40*) muestran los animales diabéticos, es significativamente inferior de la polidipsia computada durante los primeros 20 días. Es decir, la privación de alimento durante la fase diabética estable parece reducir la ingesta *posterior* de agua de los animales diabéticos (véase la ingesta de agua de los grupos EM durante las dos fases en la figura 8.4).

Además de igualar la ingesta de agua de los sujetos EM y Control, la privación de comida durante la fase estable iguala el volumen de excreción de ambos grupos de animales (ver Figura 8.7).

Además, la privación de alimento durante los días 21 y 22, no sólo reduce la ingesta y excreción de fluido de los animales diabéticos, también la cantidad de alimento consumida durante los días 23 y 24 resulta similar en los sujetos EM y en los animales con Falsa Lesión. Más aún, la privación de comida durante los días 21 y 22 provoca que la cantidad de alimento que los individuos diabéticos consumen con posterioridad, sea inferior a la consumida durante los primeros 20 días. De esta forma, el descenso en la ingesta de agua tras la privación de alimento durante la fase diabética estable, podría estar relacionado con el descenso en la *ingesta de comida* que tiene lugar durante esta segunda fase experimental (figura 8.8) y que tiene su apoyo al observar la evolución del *peso corporal* durante la primera y segunda fase (figura 8.10). Un resultado en consonancia con los estudios que sugieren la relación entre la polidipsia diabética y el CINA ingerido durante las comidas (Curtis, 1924; Palmieri et al., 1969; Swann, 1939; Titlebaum et al., 1960).

La hiperfagia diabética ha sido relacionada con la extensión que adquieren las lesiones anódicas (Rolls, 1970) (ver Fotografías 7.1 y 8.1) y la implicación de los núcleos mediobasales-periventriculares hipotalámicos y/o la interrupción de fibras nerviosas implicadas en el control de esta conducta ingestiva (Arletti et al., 1989; Beck, 2000; Charnay et al., 1999; Choi et al., 1999; Dall Vechia et al., 2000; Elmquist et al., 1999; Flier et al. 1998; Hakansson et al. 1996; Inui, 1999; Masaki et al., 2001, 2001; Sakurai, 1999; Stricker et al., 1987). Es posible hipotetizar que después de la privación de comida durante la fase estable, los animales aprendiesen a reducir la ingesta de alimento para la mejora del cuadro diabético, aunque otras alternativas regulatorias no pueden ser descartadas de momento.

En resumen, los resultados obtenidos en el presente experimento sugieren que durante los primeros días, la ingesta de agua y el volumen de excreción de los sujetos diabéticos están íntimamente relacionadas con los efectos regulatorios de la Oxitocina y aparecen con independencia de la privación de alimento. Sin embargo, durante la fase estable, la polidipsia y poliuria diabéticas parecen pasar a depender de la ingesta de comida, puesto que la privación normaliza ambas respuestas. Dicho de otro modo, la privación de alimento llevada a cabo durante 48 horas en la fase polidíptica estable, parece igualar la ingesta de agua y el volumen de orina de los animales diabéticos y el de los sujetos control

y reduce indefinidamente la magnitud de la hiperdipsia diabética posterior. Dado que la Oxitocina no modifica la ingesta de alimento (ver Figura 8.8), la ausencia de efectos asociada a su administración durante la fase estable podría estar relacionada con su escasa influencia sobre el consumo de alimento.

DISCUSIÓN GENERAL DEL CAPÍTULO 4

La ingesta de agua de animales con Diabetes Insípida (DI) sigue un patrón trifásico característico: fase polidíptica transitoria, interfase oligúrica, fase polidíptica estable (Bakker y Waring, 1976; Balment et al., 1986; Bronstein et al., 2000; Friedman et al., 1958 y 1962; Hollishead, 1964; Huang y Dellman, 1996; Laszlo y Wied, 1966; Lichardus y Ponec, 1973; O'Connor, 1946, 1950 y 1952; Robertson, 1995; Rolls, 1970; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1987 y 1992; Swaab et al., 1975; White y Heinbecker, 1939). Los experimentos presentados en este capítulo sugieren que la respuesta polidíptica que los animales manifiestan durante la fase transitoria y estable, podría estar modulada por factores diferentes. Asimismo, los resultados obtenidos cuestionan que la pérdida de fluido sea el único aspecto que propicia la ingesta de elevadas cantidades de agua en los animales con D.I. y apuntan la importancia de los desequilibrios minerales en la aparición y el mantenimiento de la respuesta polidíptica. Adicionalmente, también los resultados apoyan la implicación del déficit oxitocinérgico producido como consecuencia de la lesión electrolítica de la EM a la base de la polidipsia diabética.

Si la respuesta polidíptica es secundaria a la excreción de fluido (Balment et al., 1986; Bronstein et al., 2000; Friedman et al., 1958; Hennesy et al., 1977; Hollinshead, 1964; Ikkos et al., 1954; Laszlo et al., 1966; Robertson, 1995; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1987, 1992; Simmons, 2002; Swaab et al., 1993; Swann et al., 1939; Verbalis, 2003), la reducción en la ingesta de agua en los animales con D.I. debería ser una consecuencia de la reducción en el volumen de excreción y éste no parece ser el caso. Así, en el Experimento 7 los sujetos EM privados de comida han consumido menos agua que los sujetos EM con comida disponible (Figura 7.3), sin que se hayan observado diferencias significativas en el volumen de excreción (Figura 7.4; 7.5 y 7.6).

De esta forma, las alteraciones en el metabolismo del agua no parecen explicar la ingesta de agua que manifiestan los animales con D.I.. Entre los factores adicionales que podrían explicar este comportamiento hiperdíptico se incluyen las alteraciones en el metabolismo del ClNa, con una dificultad para la excreción renal de ClNa (Czernichow et

al., 1985; Robertson, 1983; Seckl et al., 1987, 1992) y una acumulación de sodio corporal en el organismo (hipernatremia) (Bacic et al., 1999; Bakker, 1976; Balment et al., 1986; Huang et al., 1996; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Rolls, 1970; Seckl et al., 1992).

La dificultad para excretar una orina concentrada es una característica de los sujetos con D.I. y ha sido fundamentalmente relacionada con la ausencia de vasopresina (Robertson, 1995; Simmons, 2002; Swaab et al, 1993; Verbalis, 2003), una hormona implicada en la retención y concentración renal de fluido y cuya liberación se ve interrumpida como consecuencia de las lesiones que provocan diabetes insípida. Sin embargo, estas mismas lesiones también interfieren con la liberación de Oxitocina, ya que los centros responsables de su secreción son los mismos que los de vasopresina, los núcleos supraóptico y paraventricular (Badoer, 2001; Bastos et al., 2001; Bealer y Crowley, 1999; Cajal, 1894 en Pickford y Ritchie, 1945; Briski y Brandt, 2000; Chiriguer et al., 2001; Cunningham y Sawchenco, 1991; Hussy et al., 2000; Lincoln y Paisley, 1982; Miyata et al., 2001; Raggenbass, 2001; Rinaman et al., 1995; Saborio et al., 2000; Thunhorst et al., 1998; Voisin et al., 1999; Wakerley et al., 1988; Walter et al., 2000). Más aun, la Oxitocina estimula la excreción renal de sodio en sujetos intactos (Balment et al, 1980; Conrad, 1986; Haanwinckel, 1995; Huang, 1994; 1995 y 1996; Kadekaro et al, 1992, 1997; Verbalis et al, 1991b; Windle et al, 1995 y 1997) y en animales con D.I. (Balment et al, 1985; 1986; Mahía, 2002; Tesis Doctoral), y por tanto, su ausencia también dificultaría la excreción de una orina concentrada.

La importancia de la ausencia de Oxitocina en la polidipsia diabética ha sido confirmada en los experimentos realizados que han mostrado que la administración de 10 U.I. Oxitocina reduce la ingesta de agua de los animales con D.I.. En efecto, la administración de Oxitocina justo después de finalizar la intervención quirúrgica (Experimento 7) ó 24 horas después (Experimento 8), reduce la ingesta de agua y el volumen de excreción de los animales EM privados de comida. Curiosamente, el efecto ingestivo de la Oxitocina se mantiene durante un período de tiempo elevado (en el caso del Experimento 8, durante 40 días); sin embargo, sus efectos renales desaparecen rápidamente puesto que la vida media plasmática de la Oxitocina es bastante reducida (Binkley, 1995). Es decir, parece probable que la Oxitocina haya estimulado la excreción de ClNa durante

un tiempo reducido, sin embargo, los efectos ingestivos de esta acción se prolongan temporalmente. Podría suceder que el efecto natriurético de la Oxitocina redujese la osmolaridad plasmática y la acumulación de sodio corporal de los animales EM y que esa reducción fuese la responsable de la menor necesidad de agua que manifiestan los animales EM. Esta posibilidad sugiere que si bien la acumulación de sodio corporal puede ser una consecuencia de la dificultad para excretar ClNa en la orina, sería la hipernatremia diabética y no la dificultad para excretar ClNa la que estimule la ingesta de agua. De hecho, en situaciones osmóticas, los animales diabéticos parecen capaces de aumentar la concentración urinaria (Mahía, 2002; Tesis Doctoral; Shanon, 1942; White y Heinbecker, 1938). Por su parte, en individuos con comida disponible, donde la Oxitocina podría tener una capacidad natriurética más limitada (Balment et al, 1980), esta hormona no parece ejercer efectos benéficos sobre la polidipsia diabética (Experimento 7).

Un resultado que apoya la importancia de los niveles de sodio corporal en la polidipsia diabética se aprecia al examinar los efectos de la privación de alimento sobre la ingesta de agua de los sujetos EM. En este sentido, parece lógico que en sujetos con dificultad para excretar ClNa, la privación de comida durante las primeras 48 horas postquirúrgicas, reduzca la acumulación de sodio corporal. De esta forma, la menor ingesta de agua manifestada por los animales EM privados de comida podría resultar de unos menores niveles de sodio corporal. Cuando después de las primeras 48 horas de privación los animales comienzan a ingerir comida, la dificultad para excretar ClNa les provocaría la acumulación del ClNa ingerido y estimularía la ingesta de agua.

Cuando se priva de alimento a los sujetos EM durante las primeras horas postquirúrgicas, se reduce pero no se consigue bloquear la polidipsia diabética, en consonancia con los resultados de Swann (1939). Sin embargo, los efectos de la privación de comida durante la *fase estable*, son mucho más potentes. En efecto, los animales EM privados de comida durante los días 21 y 22 post-quirúrgicos, ingieren y excretan una cantidad de agua similar a la de los sujetos Control. Este resultado sugiere que la polidipsia diabética que se observa durante la fase estable es altamente dependiente de la ingesta de alimento, en consonancia con los estudios que sugieren que la polidipsia diabética podría estar relacionada con la cantidad de sodio ingerido durante las comidas (Bacic y Gluncic,

1999; Balment et al., 1986; Curtis, 1924; Huang et al., 1996; Man et al., 1992; Palmieri y Taleisnik, 1969; Seckl et al., 1992; Swann, 1939; Titlebaum et al., 1960). Entre los datos que parecen avalar dicha propuesta, se puede destacar el aumento de la polidipsia diabética mediante el empleo de sustancias que incrementan los niveles corporales de sodio (Curtis, 1924; Fisher et al, 1938; Swann, 1939; Wolf, 1950); y el descenso en la ingesta diabética de agua mediante privación de comida (Curtis, 1924; Swann, 1939), adrenalectomía (Friedman et al., 1962; Mirsky et al, 1954) y dietas hiposódicas (Rose, 1994; Swann, 1939). La anulación de la polidipsia diabética mediante la privación de comida durante la fase diabética estable, podría depender de la ausencia de ClNa más que de cualquier otro componente de la dieta, puesto que este mismo efecto se observa cuando se proporciona a los animales comida hiposódica (Swann, 1939). También las ratas Brattleboro, disminuyen la ingesta de agua cuando son privadas de comida (Fuller y Fitzsimons, 1988; pág. R217).

Adicionalmente, la privación de alimento durante la fase polidíptica estable, parece reducir la polidipsia posterior y paralelamente, la ingesta de comida (figura 8.8) y el ritmo de crecimiento en el peso corporal (figura 8.10)). La lesión electrolítica de la Eminencia Media, genera un aumento en la *ingesta de comida* respecto a los sujetos con falsa lesión (Experimentos 7 y 8). El incremento en la ingesta de alimento que suele ocurrir en animales diabéticos, podría agudizar el estado hipernatrémico, y ocasionar la ingesta paralela de grandes cantidades de agua (con la finalidad de minimizar la repercusión de los desequilibrios osmolares (Bacic y Gluncic, 1999; Bakker, 1976; Balment et al., 1986; Huang et al., 1996; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Rolls, 1970; Seckl et al., 1992)). Esta hiperfagia diabética ha sido relacionada con la extensión de las lesiones anódicas (Rolls, 1970) (ver Fotografías 7.1 y 8.1) y su afectación a los núcleos mediobasales-periventriculares hipotalámicos y/o por la interrupción de fibras nerviosas implicadas en el control de esta conducta ingestiva (Arletti et al., 1989; Beck, 2000; Charnay et al., 1999; Choi et al., 1999; Dall Vechia et al., 2000; Elmquist et al., 1999; Flier et al 1998; Hakansson et al 1996; Inui, 1999; Masaki et al., 2001, 2001; Sakurai, 1999; Stricker et al., 1987). Podría suceder que la privación de comida realizada durante la fase estable y su efecto reductor de la ingesta de agua y del volumen de excreción de los animales con D.I. ayudase a los sujetos a comprender la importancia de reducir la ingesta de alimento con el objeto de reducir también la sintomatología diabética.

Los resultados obtenidos en los experimentos realizados son adicionalmente, bastante coherentes con el cambio que se ha producido en el tratamiento de la D.I. En el ámbito clínico, las primeras investigaciones utilizaron *extractos neurohipofisarios* para paliar la enfermedad y este tipo de tratamiento parecía reducir el *volumen de excreción* de los animales diabéticos (Brooks y Pickford, 1958; Brunner, 1956; Demunbrun et al, 1954; Laszlo y Wied, 1966; Lichardus y Ponec, 1973; O'Connor, 1950; Sawyer, 1952; Shannon, 1942). A mediados de los cincuenta, algunos autores propusieron que la Oxitocina podría ser la hormona contenida en los extractos, con mayor eficacia terapéutica (p.ej. Demunbrun et al, 1954). Sin embargo, sus efectos parecían más limitados, pudiendo observarse durante la fase diabética inicial (aunque no durante la estable) o cuando era administrada junto con vasopresina (Balment et al, 1986b; Brooks y Pickford, 1958).

Unos años después, la aparición de las ratas Brattleboro y la detección de actividad antidiurética durante la interfase oligúrica, relegaron a un segundo plano los trabajos con Oxitocina. Las ratas Brattleboro ingieren y excretan cantidades elevadas de líquido como consecuencia de la ausencia de vasopresina (Valtin, 1967) y hoy día se considera un trastorno equivalente a la diabetes insípida experimental. Sin embargo, los animales Brattleboro disponen de Oxitocina y se adaptan mejor a las situaciones de deshidratación que los sujetos con diabetes insípida. Así, cuando son privadas de agua, los niveles plasmáticos de Oxitocina de las ratas Brattleboro aumentan para incrementar la excreción de sodio, mantener la hemodinámica renal y la tasa de filtración glomerular, y para generar una respuesta antidiurética (Edwards et al, 1984). Este no sería el caso de los animales diabéticos, que no podrían liberar oxitocina en respuesta a la deshidratación.

En la década de los 80, Balment y asociados estudiaban los efectos sinérgicos de la Vasopresina y la Oxitocina sobre el funcionamiento renal. En dos de sus experimentos, este grupo observó que la administración conjunta de ambas hormonas, aumentaba la capacidad renal de animales diabéticos por hipofisectomía (Balment et al, 1985) y neurohipofisectomía (Balment et al, 1986), y que este efecto era de mayor magnitud que la suma de los efectos generados tras la administración individual de cada una de las hormonas neurohipofisarias. Sin embargo, la ingesta de agua no fue registrada en estos experimentos.

Los extractos neurohipofisarios ofrecieron resultados similares al examinar el *comportamiento ingestivo* de los sujetos diabéticos, y así, el grado de polidipsia diabética (por lesión electrolítica de la EM o por neurohipofisectomía) fue reducido en algunos estudios (Hollinshead, 1964; Laszlo y Wied, 1966). Sin embargo, en ambos casos, el registro temporal fue corto y la vasopresina que podían contener los extractos constituyó la única interpretación explicativa de los efectos observados (Hollinshead, 1964; Laszlo y Wied, 1966).

Con posterioridad, la dDAVP (1 desamino-8 arginina vasopresina), un agonista selectivo al receptor tubular renal V2 (Fjellestad-Paulsen et al., 1993; Greger et al., 1986; Kumar y Berl, 1998; Maghnie et al., 2000; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1987; Simmons, 2002; Singer et al., 1997) que los sujetos diabéticos inhalan diariamente, constituyó el tratamiento de elección ante los casos de diabetes insípida central. Sin embargo y aunque a largo plazo su administración parece invertir la mayoría de las alteraciones diabéticas, los niveles de sodio corporal de los pacientes tratados se mantienen elevados (Fitzsimons, 1979; pág. 504). Por eso, desde hace algunos años, la intervención farmacológica de la DI se ha complementado con bastante éxito, con el uso racional de diuréticos (que aumentan la excreción de sodio sin afectar a la reabsorción de agua) y la prescripción de dietas sin ClNa (Baylis y Cheetham, 1998; Fried y Palevsky, 1997; Niaudet et al., 1985; Rose, 1994; Saborio et al., 2000; Simmons, 2002; Swann, 1939; Tetiker et al., 1999; Verbalis, 2003). El objetivo de estos tratamientos no es otro que tratar de corregir los desequilibrios osmolares (hipernatremia) que presentan estos sujetos (Bacic y Gluncic, 1999; Balment et al., 1986; Baylis y Cheetham, 1998; Friedman et al., 1958, 1962; Hollinshead et al., 1964; Huang et al., 1996; Laszlo et al., 1966; Lichardus et al., 1973; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1992) y comienzan a emplearse tras observar su utilidad en los casos de Diabetes Insípida Nefrogénica (donde la administración de vasopresina no tiene sentido).

Más recientemente, el tratamiento farmacológico de la diabetes insípida neurogénica se ha visto beneficiado por la aparición de "Pituitrin", un extracto de la hipófisis posterior que contiene tanto vasopresina como oxitocina y que parece mejorar la respuesta regulatoria de los pacientes diabéticos (Simmons, et al., 2002), sugiriendo que el déficit de

Oxitocina podría ser importante en el cuadro diabético, en concordancia con los datos obtenidos en los experimentos 7 y 8.

En resumen, los resultados obtenidos en los experimentos 7 y 8 sugieren que la administración de **Oxitocina** podría paliar la polidipsia diabética y muestran que una única dosis de 10 U.I. de Oxitocina consigue reducir la ingesta de agua de los animales diabéticos de una forma prolongada. Para ello, se podría precisar de una administración durante la *fase diabética inicial* (ya que durante la fase estable, no parece ejercer efectos estadísticamente significativos) en sujetos privados de alimento. La Oxitocina reduce la ingesta de agua sin alterar el consumo de alimento. Este efecto sugiere que la disminución de la hiperdipsia diabética, al menos en el grupo de Oxitocina pero posiblemente también en el grupo EM-SF, no depende directamente del alimento consumido, pudiendo depender de los niveles corporales de sodio. Durante la *fase diabética estable*, por el contrario, sí parece apreciarse una estrecha relación entre la **ingesta de comida** y la polidipsia y poliuria diabéticas. En primer lugar, la Oxitocina, que no reduce la ingesta de comida, tampoco reduce la ingesta de agua durante la fase diabética estable. En segundo lugar, la privación de comida durante la fase estable, elimina la polidipsia y poliuria diabéticas. En tercer lugar, la privación de comida durante la fase estable reduce la ingesta de comida y la polidipsia posterior.

DISCUSIÓN

FINAL

DISCUSIÓN FINAL

Efectos hidrominerales de la Oxitocina en sujetos neurológicamente intactos.

Los experimentos realizados en la presente Tesis Doctoral, han pretendido destacar la importancia de los niveles corporales de sodio en el control de la conducta de regulación hidromineral, tanto osmótica como volémica.

Es éste un ión muy abundante en el organismo, que explica el 90% de la presión osmótica (Rolls y Rolls, 1982), y que debe consumirse en cantidades similares a las que se pierden gradual e inevitablemente a través del sudor, heces, orina, etc. (Fitzsimons, 1979; Guyton y Hall, 2001; Rolls y Rolls, 1982; Wright et al, 1978).

El sodio corporal juega un papel fundamental en la ingesta de agua, tanto osmótica (con unos niveles de sodio incrementados), como volémica (niveles de sodio reducidos por su pérdida). Para su detección, el Sistema Nervioso cuenta con células especializadas, capaces de registrar sus niveles, tanto en el plasma sanguíneo como en el fluido cerebroespinal (Hiyama et al, 2002; Olsson y Kolmodin, 1974; Voissin et al, 1999).

Ahora bien, dado que en situaciones de sed osmótica y volémica se activan los núcleos Supraóptico y Paraventricular del hipotálamo, con la consiguiente liberación de Oxitocina y Vasopresina (Armstrong, 1995; Balment et al, 1980; Blackburn et al, 1995; Brimble y Dyball, 1977; Briski y Brandt, 2000; Cheng y North, 1986; Dogterom, 1977; Dyball, 1968; Huang et al., 1995; Hussy et al., 2000; Kadekaro et al, 1992, 1992b y 1995; Landgraf, 1988; Legros, 1992; Mckinley y Oldfield, 1994; Miyata et al., 2001; Morris et al., 1984; Renaud y Bourque, 1991; Rinaman et al, 1995; Robertson, 1983; Saeb-Parsy et al, 2000; Sandgaard et al., 2000; Stricker y Verbalis, 1986; Stricker y Sved, 2000; Swaab et al., 1993; Verbalis et al, 1986; Verbalis y Stricker, 2000; Voisin et al., 1999; Weitzman et al., 1978; Windle et al, 1993), el objetivo del **primer experimento**, fue examinar la influencia de la Oxitocina sobre la conducta de ingesta de agua.

Cuando la Oxitocina ha sido administrada periféricamente, se han observado tanto incrementos (Stricker y Verbalis, 1987b) como reducciones (Arletti et al, 1989 y 1990; Benelli et al, 1991) o una ausencia de efecto (Uvnäs-Moberg, 1996 (citado por Björkstrand y Uvnäs-Moberg, 1996)) sobre la ingesta de agua.

En este primer experimento de la Tesis Doctoral, la administración de Oxitocina se ha llevado a cabo en animales privados de comida, comparándolos con un grupo control mantenido con comida ad lib. El motivo de introducir animales privados de comida había sido el de anular el ingreso de sodio en el organismo para evitar su posible repercusión sobre el comportamiento hídrico.

En sujetos intactos, la mera privación de alimento genera unos resultados controvertidos sobre la ingesta de agua, que ha fluctuado entre un 25% (Milgram et al, 1974) y un 120% (Morrison et al, 1967) de la ingesta ad lib, aunque el resultado obtenido más frecuentemente indica que la privación de alimento reduce el consumo de fluido en un 40-50% (Bolles, 1961; Cizek y Nocenti, 1965; Gutman y Krausz, 1969; Kiss et al, 1994; Kutscher, 1972; Verplanck y Hayes, 1953) (para una estudio realizado con diversas cepas de ratas, ver Walsh, 1980).

De esta forma, el primer experimento de esta Tesis Doctoral consta de cuatro grupos de animales: un grupo de ratas privadas de comida y tratadas con Oxitocina, otro, también privado, pero sin Oxitocina y dos grupos de animales con comida (uno de ellos tratado con Oxitocina y otro que no).

Los resultados obtenidos muestran que el tratamiento con Oxitocina incrementa significativamente el **efecto poliúrico** que algunos autores han observado tras la privación de alimento (Bauman et al, 1964; Burlet et al, 1992; Cumming y Morrison, 1960; Morrison et al, 1967; Oatley y Tonge, 1969; Wright, 1978). Este efecto podría ser explicado en términos de natriuresis oxitocinérgica puesto que el sodio es siempre excretado junto con agua y cloro (Kandel et al, 1997; Rose, 1994).

En efecto, en el caso de los animales privados de comida, el efecto poliúrico de la Oxitocina se ve acompañado de un incremento en la *ingesta de agua* que no se observa en los demás grupos. De esta forma, la reducción en los niveles de sodio corporal con la consiguiente pérdida de agua, podrían haber provocado ese incremento en la ingesta de agua. Este efecto ingestivo no se habría observado en los sujetos privados únicamente de alimento por ser ésta una situación que estimula la retención renal de sodio (Bauman et al, 1964) al tiempo que genera una respuesta poliúrica de menor magnitud a la observada en los sujetos que adicionalmente han sido tratados con oxitocina.

Al examinar la relación “*Agua menos Orina*” (que representaría la ganancia o pérdida de *volumen hídrico corporal*), se observa que la privación de alimento provoca una disminución en el volumen hídrico corporal de las ratas, o lo que es lo mismo, una ganancia global de líquido inferior a la que se observa en los animales mantenidos ad lib (después de 24 y 48 horas sin comida). Sin embargo, este descenso en el volumen hídrico corporal es similar en los dos grupos de animales privados de comida (tratados y no tratados), siendo en consecuencia, independiente de la administración de Oxitocina.

La pérdida de volumen hídrico corporal durante un período de tiempo prolongado (como la que se observa en los animales privados de comida), resulta controvertida, puesto que los sujetos empleados disponen ad lib de agua. Así, cabría esperar que el descenso en el volumen hídrico fuese detectado y corregido por los receptores renales (Simpson, 1981) y cardiopulmonares (Fitzsimons, 1991) que estimulan la ingesta y retención de fluido. Sin embargo, en ninguno de los dos grupos privados de alimento se aprecia la esperada respuesta antidiurética y sólo en el grupo tratado con Oxitocina la ingesta de agua se incrementa. Ahora bien, considerando que la privación de comida podría reducir la osmolaridad plasmática (al anular el ingreso de sodio en el organismo) y que este efecto se agravaría ante incrementos en el volumen hídrico corporal, parece posible que la actividad de los receptores renales y cardiopulmonares haya sido contrarrestada por índices osmóticos más potentes. En efecto, ante un volumen hídrico corporal reducido, el efecto de la ausencia de sodio sobre la osmolaridad plasmática, es de menor magnitud.

Además de las variables hidrominerales mencionadas, en el experimento 1 se ha registrado la **ingesta de comida** de los *sujetos mantenidos ad lib*. Los resultados obtenidos muestran que la Oxitocina no influye sobre el consumo de alimento. Este resultado contrasta con el descenso en la ingesta de comida observado por Arletti y Benelli en Módena (Italia) (Arletti et al, 1989 y 1990; Benelli et al, 1991), que habían empleado en sus estudios dosis de 150 microgramos por rata (ver también Arletti et al, 1993, página 501), muy superiores a las usadas en el Experimento 1 (de 22 microgramos por rata).

De hecho, el significado fisiológico de los resultados obtenidos por Arletti y asociados no sólo ha sido cuestionado a consecuencia del empleo de dosis suprafisiológicas (Olson et al, 1991), sino que, además, en otros experimentos en los que han utilizado dosis menores, este efecto inhibitorio tampoco ha sido observado. Así, por ejemplo, el grupo de Verbalis administró periférica y conjuntamente oxitocina y algunos agentes aversivos, sin que la hormona potenciase el descenso en la ingesta de alimento (Verbalis et al, 1986b y 1986c). Más aún, evitando el empleo de sustancias que generen aversión, Björkstrand y Uvnäs-Moberg (1996), han observado que la administración periférica de Oxitocina no modifica la ingesta de comida de sujetos mantenidos ad lib.

Más recientemente, se han propuesto una serie de mecanismos que (en el rango de las dosis empleadas por Arletti y cols.), podrían explicar el efecto inhibitorio de la Oxitocina sobre la ingesta de comida descrito por estos investigadores (Arletti et al, 1989 y 1990; Benelli et al, 1991) y que concretamente implicaría a la colecistoquinina así como a la inhibición del vaciado gástrico (Wu et al., 2002).

Oxitocina con dietas hiposódicas.

Dado que en los *sujetos mantenidos ad lib* la Oxitocina no parece influir sobre el consumo y excreción del agua, en el **Experimento 2** se ha examinado cuál, de los elementos de la dieta, sería el responsable de los efectos ingestivos y excretores de esta hormona. Más específicamente, se ha comprobado si el sodio contenido en la dieta podría ser el factor causante de la polidipsia y poliuria oxitocinérgicas. Para ello, se examina el efecto de la administración de Oxitocina en sujetos que disponen exclusivamente de comidas hiposódicas como fuente de alimentación.

Los resultados obtenidos muestran que los animales que disponen de *comida hiposódica* durante los dos días anteriores a la administración de Oxitocina, consumen una mayor cantidad de *agua*, durante las 24 horas siguientes, que los sujetos del grupo control (no tratados con Oxitocina). Este efecto se ve progresivamente incrementado tras la administración de diferentes dosis de Oxitocina (5 y 10 U.I.) lo cuál ha permitido sugerir que podría tratarse de un efecto dosis-dependiente.

Conjuntamente con el experimento anterior, estos datos sugieren que la Oxitocina sólo incrementa la ingesta de agua cuando no se dispone de niveles apropiados de sodio corporal, pero no modifica esta conducta cuando éste soluto está disponible en la dieta, de manera que los animales pueden regularlo adecuadamente.

En efecto, según nuestra opinión, la discrepancia generada por algunos experimentos mencionados previamente, podría estar relacionada con la disponibilidad o no de sodio en la dieta, ya que mientras que los animales empleados en el experimento de Stricker y Verbalis (1987b) sólo disponen de comida hiposódica, la dieta usada en el experimento de Uvnäs-Moberg (1996) contiene unos niveles normales de este soluto.

En efecto, la polidipsia oxitocinérgica observada en los sujetos mantenidos con dietas hiposódicas (Experimento 2) y su ausencia cuando los sujetos son mantenidos con una dieta habitual (Experimento 1) nos permitirían explicar, ahora, el aumento en la ingesta de ClNa y también de agua, observado por Stricker y Verbalis (1987b) al administrar

328 DISCUSIÓN FINAL

Oxitocina a ratas deficitarias al haber sido inyectadas con un coloide y, también, la ausencia de efectos sobre la ingesta de agua observada por Uvnäs-Moberg (1996) (citado por Björkstrand y Uvnäs-Moberg, 1996).

Oxitocina, natriuresis y su relación con la ingesta de agua.

Los resultados obtenidos en los Experimentos 1 y 2 muestran que los efectos hídricos de la Oxitocina están en función de la mayor o menor disponibilidad de sodio, pero también podrían estar relacionados con la función excretora de sodio (*natriuresis*) que se ha atribuido a esta hormona (Balment et al, 1980 y 1986; Conrad, 1986; Haanwinckel et al, 1995; Huang, 1994; 1995 y 1996; Kadekaro et al, 1992, 1997; Verbalis et al, 1991b; Windle et al, 1995 y 1997).

En este sentido, la dosis de Oxitocina necesaria para provocar una respuesta natriurética es mayor en sujetos alimentados con la dieta habitual (Balment et al, 1980) que en animales mantenidos con dietas hiposódicas (Verbalis et al, 1991b). Es decir, la capacidad natriurética de la Oxitocina parece variar en función de la disponibilidad de sodio corporal. Otros autores (Verbalis et al, 1991b), entienden que las dietas hiposódicas facilitarían los efectos natriuréticos oxitocinérgicos porque en este tipo de condición alimenticia, los animales de control (no tratados con Oxitocina), reducen la excreción de sodio y posibilitan que las diferencias entre los dos grupos alcancen la significación estadística.

En cualquier caso, los experimentos descritos sugieren que existe un cierto paralelismo entre la inducción de natriuresis y la generación de polidipsia oxitocinérgica: en sujetos mantenidos con dietas hiposódicas, la oxitocina estimula la ingesta de agua (Experimento 2) y la excreción de sodio (Verbalis et al, 1991b); sin embargo, en los sujetos alimentados con la dieta habitual, la capacidad de la Oxitocina para estimular la ingesta de agua (Experimento 1) y la excreción de sodio (Balment et al, 1980), parece más limitada. En otras palabras, el efecto dipsogénico de la Oxitocina podría requerir de la excreción previa de sodio.

Si, en efecto, la polidipsia oxitocinérgica requiere de la excreción previa de sodio, es lógico que este efecto natriurético se observe en los sujetos privados de comida (Experimento 1). Sin embargo, la capacidad **natriurética** de la Oxitocina en sujetos

330 DISCUSIÓN FINAL

privados de comida, no ha sido objeto de investigación previa y constituye, junto al examen de la función dosis/ingesta, una de las variables fundamentales del **Experimento 3**.

Como se esperaba, los resultados obtenidos en este experimento demuestran que la Oxitocina no sólo es una hormona que provoca natriuresis y polidipsia en sujetos sin comida, sino que además, estos efectos resultan dependientes de la dosis.

De hecho, el registro de las variables dependientes en diversos períodos, ha permitido establecer el orden en que estos efectos aparecen.

Así, **seis horas** después de la primera administración de Oxitocina, los sujetos tratados con esta hormona y privados de comida manifiestan una respuesta *natriurética* y un *volumen urinario* superior al de los sujetos control. Estos efectos son dependientes de la dosis. Por su parte, la respuesta poliúrica parece secundaria a la excreción de sodio (y no el resultado de una acción diurética directa) ya que la orina excretada tiene una *concentración* similar en todos los grupos tratados con Oxitocina, es decir, con independencia de la dosis empleada. De esta forma, la Oxitocina parece estimular en primer lugar la excreción de sodio y como consecuencia de ello, la emisión de orina.

En efecto, si la respuesta diurética fuese primaria, cabría esperar, por el contrario, que la concentración de la orina disminuyese en paralelo con el aumento en la dosis de Oxitocina empleada.

Al aumentar la excreción de agua y ClNa, el tratamiento con Oxitocina provoca una pérdida de *volumen hídrico corporal* (“Agua menos Orina”) más acentuada que en los sujetos únicamente privados de comida. Este descenso en el volumen hídrico corporal es resultado del efecto poliúrico de la Oxitocina y de la ausencia de efectos inmediatos sobre la *ingesta de agua* (datos de 6 horas).

En otras palabras, la administración de Oxitocina en sujetos privados de comida provocaría hipovolemia, una manifestación hidromineral que podría ser considerada como nuevo modelo de la sed volémica. Otras intervenciones habrían sido consideradas de esta

misma manera; entre ellas, la adrenalectomía (Richter, 1936) (animales que carecerían del mecanismo de retención de sodio mediado por la Aldosterona (Fregly y Waters, 1966)), la administración sistémica de mineralocorticoides (Rice y Richter, 1943; Wolf, 1964), coloides (Stricker, 1983), Angiotensina II (Fluharty y Epstein, 1983), sustancias diuréticas (Jalowiec, 1974) o en fin, como ya se ha mencionado, la supresión de sodio en la dieta durante periodos prolongados (Thiels et al, 1990).

Parece posible pues, que la hipovolemia oxitocinérgica pueda ser el mecanismo responsable de la ingesta (dosis-dependiente) de agua **24 y 48 horas** después de la administración de la hormona. Más aún, el agua ingerida durante esos períodos, permite que los sujetos tratados con Oxitocina y privados de comida compensen la pérdida previa de volumen hídrico corporal (24 y 48 horas de los Experimentos 1 y 3).

En resumen, los resultados obtenidos en el Experimento 3 sugieren que la administración de Oxitocina en sujetos privados de comida potencia inicialmente la excreción sodio y agua, provocando hipovolemia y estimulando con posterioridad la ingesta de agua, de modo que los efectos ingestivos de la administración periférica de Oxitocina podrían depender de su efecto natriurético (ver Figura 9.1).

La naturaleza hipovolémica del efecto de la Oxitocina se apoya también en los resultados obtenidos en la **segunda fase del experimento 3**. Si, como se ha sugerido, el tratamiento con Oxitocina provoca hipovolemia en sujetos privados de alimento, cabría esperar una preferencia por las soluciones isotónicas (0.85%) ya que esta concentración es considerada la más adecuada para paliar la sed volémica (Rolls y Rolls, 1982). En efecto, al ofrecer a los animales soluciones con ClNa al 0.45; 0.9 y al 1.8% (además de agua), se ha comprobado que los sujetos tratados con Oxitocina ingieren una mayor cantidad de fluido isotónico que los sujetos control y que este efecto es dosis-dependiente.

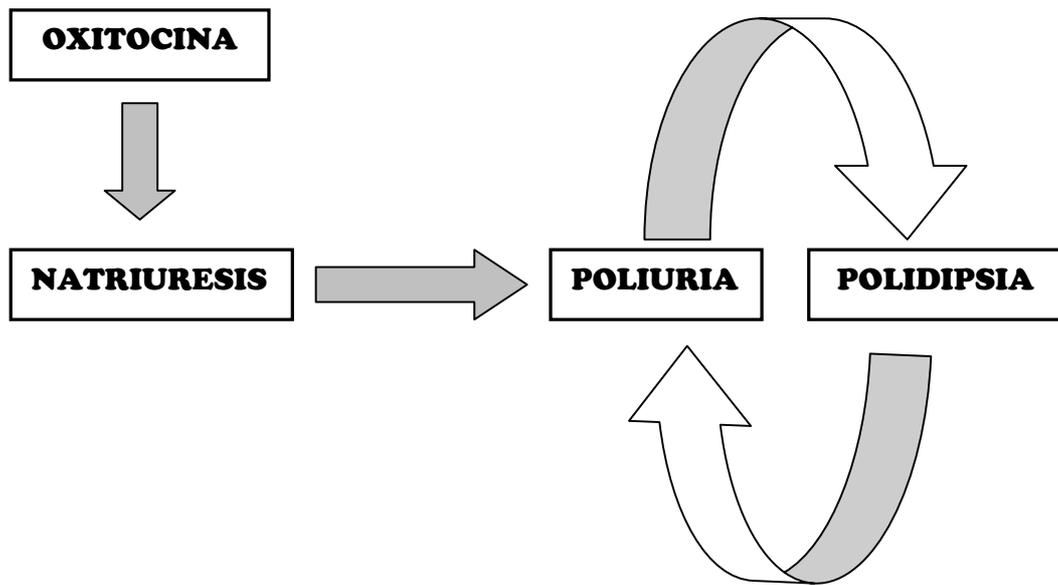


Figura 9.1: Efectos fisiológicos y comportamentales de la Oxitocina en sujetos privados de alimento: *En los animales privados de comida, la administración de Oxitocina estimula en primer lugar la excreción de sodio (natriuresis), una respuesta que aumenta el volumen de excreción urinaria (poliuria). Con posterioridad, la pérdida de volumen hidromineral corporal podría ser la responsable del incremento en la ingesta de agua (polidipsia) que estos animales manifiestan. Ahora bien, considerando que la ausencia de comida dificulta la retención renal de fluido, el agua ingerida por estos animales no podría ser retenida, con lo que los efectos poliúrico y polidíptico se mantienen a lo largo del tiempo y en un grado que evita que se acentúen las pérdidas de volumen hídrico corporal generadas como consecuencia de la ausencia de comida.*

Estos resultados permiten explicar el mecanismo a través del cuál la Oxitocina ha podido reducir la ingesta de agua en diversos *modelos de déficit hídrico (sed)* (Arletti et al, 1990 y 1993; Bennelli et al, 1991). Concretamente, Bennelli et al (1991), observaron que la administración de Oxitocina reducía la ingesta de agua en ratas que estuvieron privadas de fluido durante 16 horas y la de animales inyectados subcutáneamente con ClNa hipertónico. En estos casos, podría haber sucedido que el efecto natriurético de la oxitocina, hubiera rebajado el exceso en los niveles de sodio corporal de estos sujetos (que no ingieren mayor cantidad de alimento), y en consecuencia, la necesidad de agua asociada a esa situación.

Efectos hidrominerales observados durante los períodos de actividad/inactividad diaria.

En el segundo Capítulo (experimentos 4 y 5), se ha registrado el comportamiento hidromineral de los animales durante el ciclo de luz/inactividad (12 horas día) y durante el período de oscuridad/actividad (12 horas noche).

Durante el **ciclo de luz/inactividad**, los sujetos *mantenidos ad lib* y *tratados con Oxitocina* ingieren una cantidad de fluido significativamente inferior a la de los sujetos control. Ahora, la escasa cantidad de alimento que los roedores consumen durante el día (Armstrong, 1980; Windle et al, 1992) podría haber facilitado la natriuresis oxitocinérgica de los sujetos con comida disponible reduciendo así la necesidad de agua asociada a la ingesta de comida. Dicho de otro modo, al no ingerir comida durante este período de tiempo, la Oxitocina podría ejercer acciones natriuréticas en los sujetos mantenidos *ad lib* y como consecuencia de ello, reducir la necesidad de agua asociada a la ingesta de alimento (Experimento 5: 12 horas de luz).

Esta posibilidad está respaldada por el hecho de que durante ese intervalo temporal (12 horas de luz), los sujetos con comida y tratados con Oxitocina excretan un volumen de orina superior que los animales no tratados con Oxitocina, posiblemente como resultado de la natriuresis-diuresis oxitocinérgica.

El efecto inhibitorio de la Oxitocina sobre la ingesta de agua de sujetos mantenidos *ad lib*, ha sido previamente documentado por otros autores (Arletti et al, 1989 y 1990; Bennelli et al, 1991). Sin embargo, en estos casos, las dosis empleadas han sido muy elevadas (150 microgramos), por lo que su significación fisiológica ha sido cuestionada (Olson et al, 1991). Por otra parte, los animales empleados en los estudios del grupo de Arletti no sólo ingieren una menor cantidad de agua, sino también de comida, por lo que su reducida ingesta hídrica pueda haber dependido de la disminución en la ingesta de alimento. Por último, los efectos obtenidos por estos autores no han sido explicados en términos de natriuresis oxitocinérgica, sino como consecuencia del efecto inhibitorio que,

según diversos autores, la Oxitocina podría ejercer sobre las conductas ingestivas (Arletti et al, 1989; Antunes-Rodrigues et al, 1986; Blackburn et al, 1992 y 1995; Brimble et al, 1978; Demontes-Mainard et al, 1986; Ehrlich et al, 1990; Fitts et al, 1985; Giovannelli, 1992; Olson et al, 1991 y 1991b; Rinaman et al, 1995; Schulkin, 1991; Stricker, 1981; Stricker et al, 1986; Stricker y Verbalis, 1986, 1987 y 1987b; Windle et al, 1992).

En relación a los sujetos del *grupo control*, los resultados obtenidos muestran que, *sólo* durante el período de luz, la privación de comida reduce la ingesta de agua (Experimentos 4 y 5). Es bien sabido que en situación *ad lib*, los roedores ingieren una cantidad reducida de agua y comida durante el ciclo de luz (Armstrong, 1980; Windle et al, 1992) y que esta ingesta diurna de agua suele estar asociada al consumo de alimento (Franci et al, 1989; Rolls y Rolls, 1982). Por este motivo, cuando son privados de comida, los animales podrían reducir la ingesta de líquido, un aspecto que podría ayudar a dilucidar las controversias generadas en los estudios previos (Bolles, 1961; Cizek y Nocenti, 1965; Gutman y Krausz, 1969; Kiss et al, 1994; Kutscher, 1972; Milgram et al, 1974; Morrison et al, 1967; Verplanck y Hayes, 1953; Walsh, 1980) al sugerir que, si bien la privación de alimento reduce en roedores la ingesta de agua, este efecto podría resultar específico para el ciclo de luz/inactividad.

Por otra parte, el estudio de la variable “Agua *menos* Orina” durante el período de luz/inactividad (Experimento 5), permite constatar que el volumen hídrico corporal de los sujetos es reducido por la privación de alimento (grupo control) y sumativamente por el tratamiento adicional con Oxitocina (grupo experimental) (de forma similar a como se había observado en el Experimento 3).

Inversión de los efectos hidrominerales de la oxitocina mediante el consumo o administración de ClNa.

Los resultados de los experimentos presentados en este segundo Capítulo permiten concluir que, durante el **ciclo de oscuridad/actividad**, la pérdida de sodio corporal es responsable de los efectos oxitocinérgicos observados en los sujetos privados de comida.

Para comprobar esa posibilidad, a los animales se les ofrece (Experimento 4) o administra (Experimento 5) ClNa doce horas después del primer tratamiento con Oxitocina, con la esperanza de que pudiese compensar la pérdida de sodio generada por la administración de la hormona.

En el Experimento 4 se observa que los animales tratados hormonalmente, son capaces de detectar la pérdida de sodio producida (ver Schulkin, 1991), ingiriendo, tras la administración de Oxitocina en situación de privación de comida, soluciones de ClNa al 1.5% (en un test de doble elección agua-ClNa) (**Experimento 4**). Esta ingesta de ClNa suprime, por otra parte, el incremento en la ingesta de agua. En el caso de los sujetos de control, las soluciones de ClNa al 1.5% resultan aversivas (Experimento 4, Kutscher y Steilen, 1973; Stellar et al, 1954; Young y Falk, 1956; Weiner y Stellar, 1951).

Alternativamente, cuando el ClNa es inyectado a los animales de forma sistémica (**Experimento 5**), se observa igualmente un descenso dosis-dependiente en la poliuria y polidipsia oxitocinérgicas de los grupos privados de comida, que cursa en paralelo con el aumento en la cantidad de ClNa inyectado. Es decir, cuánto mayor es la cantidad de ClNa que se administra, menor es la cantidad de agua consumen los sujetos privados de comida y tratados con Oxitocina.

De esta forma, los resultados de los experimentos 4 y 5 sugieren que la poliuria y polidipsia oxitocinérgica son una consecuencia de la excreción de sodio que puede ser contrarrestada mediante la ingesta voluntaria o mediante la administración intraperitoneal de ClNa.

Estos resultados permiten sugerir que la ausencia de efectos de la Oxitocina en los sujetos con comida disponible, podrían deberse probablemente a la ingesta de sodio a través de la dieta, o, por el contrario, cuando los sujetos tratados con Oxitocina se encuentran privados de comida, la administración o la ingesta de soluciones hipertónicas compensa los efectos oxitocinérgicos. En los sujetos con comida, por tanto, el sodio contenido en la dieta podría contrarrestar los efectos oxitocinérgicos.

Los sujetos control, por su parte, responden a la inyección de soluciones hipertónicas incrementando, como cabría esperar, el consumo de fluido (sed osmótica) (Experimento 5) (Balment et al 1980; Brimble y Dyball, 1977; Briski y Brandt, 2000; Cheng y North, 1986; Dogterom, 1977; Gilman, 1937; Huang et al., 1995; Hussy et al., 2000; Kadekaro et al., 1995; Mckinley y Oldfield, 1994; Miyata et al., 2001; Morris et al., 1984; Rinaman et al., 1995; Robertson, 1983; Sandgaard et al., 2000; Stricker et al., 1987b; Stricker y Sved, 2000; Verbalis et al., 1991b; Verbalis y Stricker, 2000; Voisin et al., 1999; Weitzman et al., 1978).

Durante este período de oscuridad, el volumen hídrico corporal medido a través de la variable “Agua *menos* Orina”, queda reducido por la privación de comida e incrementado por el tratamiento con Oxitocina. Ese incremento permite que los sujetos tratados con Oxitocina recuperen el *volumen hídrico* perdido durante el ciclo de luz (al igual que se observa en los registros correspondientes a las 24 y 48 horas del Experimento 1).

Es probable que la poliuria por privación de comida genere una pérdida de volumen hídrico corporal que podría contribuir, como se ha indicado anteriormente, al mantenimiento de la osmolaridad plasmática en niveles óptimos. Sin embargo, si a la pérdida por privación se le añade la pérdida (durante el ciclo de luz) generada como consecuencia de la natriuresis-diuresis oxitocinérgica, los animales se ven obligados a incrementar la ingesta de agua para mantener el volumen hídrico en un nivel adecuado. Posiblemente, las respuestas ingestivas inducidas por los déficits volumétricos resulten prioritarias cuando la disminución del volumen plasmático pueda poner en peligro funciones corporales como la presión arterial, necesarias para la supervivencia del organismo (Fitzsimons, 1998; Johnson y Thunhorst, 1997; Phillips, 1987; Phillips y

Sumners, 1998; Schiltz et al., 1997; Share, 1998; Share y Schneider, 2000; Stricker y Sved, 2000; Verbalis y Stricker, 2000; Weitzman et al., 1978).

Efectos hidrominerales de la estimulación eléctrica de los centros productores de Oxitocina.

En el **Experimento 6** se ha podido comprobar que la estimulación eléctrica del Núcleo Paraventricular magnocelular lateral (una estructura neurosecretora de oxitocina), genera una preferencia por el consumo de ClNa isotónico.

En efecto, al estimular eléctricamente el complejo magnocelular lateral del núcleo paraventricular, los animales privados de agua durante 24 horas consumen cantidades análogas de agua y de suero fisiológico en un test de doble elección. Muy diferente del comportamiento de los animales privados de agua exclusivamente, que muestran un marcado rechazo por las soluciones salinas, en consonancia con los estudios de Kutscher y Steilen, 1973; Stellar et al, 1954; Young y Falk, 1956.

Estos resultados podrían ser interpretados en el sentido de que la estimulación eléctrica habría activado la secreción de Oxitocina (Jones et al., 1983), y en consecuencia, sus acciones natriuréticas y la motivación para recuperar el ClNa excretado.

En resumen, los resultados obtenidos en estos experimentos apoyan teóricamente los efectos ingestivos y natriuréticos de la oxitocina, sugiriendo que las modificaciones en los niveles de sodio corporal podrían modular el comportamiento de ingesta hidromineral.

Administración de Oxitocina e ingesta de agua en animales con Diabetes Insípida neurológica.

Las lesiones electrolíticas de la Eminencia Media provocan Diabetes Insípida (D.I.), un trastorno caracterizado por la excreción de un gran volumen de orina diluida y por la ingesta de cantidades elevadas de agua, así como por el aumento en los niveles de sodio corporal (**hipernatremia**) (Bacic y Gluncic, 1999; Balment et al., 1986; Bronstein et al., 2000; Friedman et al., 1958, 1962; Hollinshead, 1964; Huang y Dellman, 1996; Kavelaars et al., 2001; Laszlo y Wied, 1996; Man y Hugh, 1992; O'Connor, 1950; Pivonello et al., 2000; Price y Kallenborn, 2000; Rolls, 1970; Saborio et al., 2000; Seckl y Dunger, 1992; Swann et al., 1939; Wolf, 1950). Igualmente, en este trastorno se produce un comportamiento hiperfágico (Mahía, 2002; Tesis Doctoral) que podría deberse a la extensión de la lesión a núcleos mediobasales-periventriculares hipotalámicos y/o a la interrupción de fibras nerviosas implicadas en el control de la ingesta de comida (Arletti et al., 1989; Beck, 2000; Charnay et al., 1999; Choi et al., 1999; Del Vechia et al., 2000; Elmquist et al., 1999; Flier et al 1998; Hakansson et al 1996; Inui, 1999; Masaki et al., 2001; Sakurai, 1999; Stricker et al., 1987; Verbalis et al., 1986).

Los sujetos diabéticos exhiben una respuesta neurohormonal debilitada ante diversos estímulos fisiológicos, como la administración de ClNa (Dohanics et al, 1992) o ante tratamientos hipotensores (Raff et al, 1985). En la última década, y gracias al desarrollo de las nuevas tecnologías, se han podido confirmar muchas de estas apreciaciones. En efecto, mediante pruebas de neuroimagen se ha observado que la respuesta (intensidad de la señal emitida por la imagen proporcionada por la resonancia magnética) del lóbulo posterior de la hipófisis se encuentra atenuada en las personas diabéticas (Czernichow et al., 2000; Kurokawa et al., 1998; Maghnie et al., 2000; Moses et al., 1992; Saborio et al., 2000), lo que conlleva una disminución significativa en la síntesis, almacenamiento y liberación de factores neurohipofisarios en la circulación (Balment et al., 1986; Heinbecker et al., 1941; Laszlo et al., 1966; Lichardus et al., 1973; Moses et al., 1992).

Teniendo en cuenta las acciones natriuréticas de la Oxitocina y el hecho de que las lesiones que provocan D.I. interrumpen la excreción de sodio, se podría hipotetizar que la dificultad para excretar una orina concentrada, así como la acumulación de sodio corporal que se observa en los animales diabéticos, podría estar relacionada con la ausencia de esta hormona. De hecho, en el pasado, los pacientes con D.I. fueron tratados con extractos neurohipofisarios (que se supone debían contener Oxitocina y Vasopresina) (Brooks y Pickford, 1958; Brunner, 1956; Demunbrun et al, 1954; Laszlo y Wied, 1966; Lichardus y Ponec, 1973; O'Connor, 1950; Sawyer, 1952; Shannon, 1942) o con la propia Oxitocina (Brooks y Pickford, 1958; Demunbrun et al, 1954). Sin embargo, con posterioridad, las investigaciones realizadas se centraron exclusivamente en la contribución de la hormona antidiurética (ADH) en el trastorno diabético, una postura teórica que dio lugar a la utilización de ADH o de su análogo, la dDAVP (1-desamino 8-arginina vasopresina-desmopresina acetato), como fármacos de elección para el tratamiento de los pacientes con D.I. (Fjellestad-Paulsen et al., 1993; Greger et al., 1986; Kumar y Berl, 1998; Maghnie et al., 2000; Saborio et al., 2000; Seckl et al, 1987; Simmons, 2002; Singer et al., 1997). A pesar de ello y aunque a largo plazo la administración de dDAVP parece invertir la mayoría de las alteraciones diabéticas, los niveles de sodio corporal de los pacientes tratados se mantienen elevados (Fitzsimons, 1979; pág. 504).

Los resultados obtenidos en el Capítulo 4 de la presente Tesis Doctoral muestran que la administración de **Oxitocina** en *sujetos diabéticos privados de comida*, no sólo potencia la excreción de sodio (Mahía, 2002; Tesis Doctoral) sino que, adicionalmente, reduce la ingesta de agua (Experimentos 7 y 8). Más aún, la aplicación de este tratamiento logra unos efectos perdurables, ya que el descenso en el consumo de agua se mantiene durante un período de tiempo prolongado (los 40 días de duración del Experimento 8).

Al disminuir los niveles de sodio en los sujetos privados de comida, la Oxitocina reduce la necesidad de agua de los animales con D.I.. De esta forma, se confirma de nuevo la relevancia de los niveles de sodio corporal en la inducción del comportamiento de ingesta hidromineral.

Estos resultados sugieren además, que la Oxitocina podría ser una potencial alternativa terapéutica para el tratamiento de la D.I. En efecto, esta posibilidad sería coherente con la reciente utilización de medicamentos tales como el Pituitrin, un extracto de la hipófisis posterior que contiene Oxitocina y Vasopresina y que parece mejorar la respuesta regulatoria de los pacientes afectados por este trastorno (Simmons, 2002). Así, considerando que la administración conjunta y con efectos sinérgicos, de Oxitocina y ADH, aumenta la excreción de ClNa en sujetos diabéticos por hipofisectomía y neurohipofisectomía (Balment et al, 1985, 1986 y 1986b), podría ser útil el empleo de ambas hormonas en un protocolo de privación alimenticia como el que se ha llevado a cabo en los experimentos presentados en esta Tesis Doctoral.

Si bien la Oxitocina reduce la ingesta de agua asociada a la D.I., este efecto se observa **únicamente** cuando los animales son privados de comida y tratados con la hormona poco después de la lesión electrolítica de la eminencia media. Sin embargo, si el tratamiento de oxitocina se aplica a sujetos con comida disponible (Experimento 7) o cuando los animales son privados y tratados con oxitocina durante la fase estable de la D.I. (Experimento 8), el descenso en la ingesta de agua no se observa (Experimento 7) o no se ve potenciado (Experimento 8).

La ausencia de efectos de la Oxitocina sobre la ingesta de agua de los animales con D.I. que disponen de *comida ad lib* durante todo el experimento, podría estar relacionado con su menor capacidad natriurética en este estado nutricional (Balment et al, 1980). Por otra parte, este último resultado significa que el efecto de la Oxitocina no se puede explicar en términos de una reacción aversiva o lo que es lo mismo, que el descenso en la ingesta de agua que se observa al tratar con Oxitocina a los sujetos EM privados de comida, no es fruto de un fenómeno de condicionamiento aversivo. Este dato debe ser destacado teniendo en cuenta que la administración de agentes aversivos (como el ClLi o el sulfato de cobre), parecen estimular la secreción de esta hormona (Verbalis et al., 1986b y 1986c). Sin embargo, ahora sería poco probable que la Oxitocina provocase aversión y el descenso en la ingesta de agua en los animales EM sin comida y no en el grupo de animales con comida disponible.

Los datos comportamentales hídricos obtenidos durante la fase diabética estable, es decir, la ausencia de efectos cuando la oxitocina es administrada (a sujetos sin comida) durante la fase estable (Experimento 8), serían compatibles con los resultados fisiológicos obtenidos estudiando los mecanismos de excreción renal. Así, los estudios de Brooks y Pickford (1958) han demostrado que la capacidad natriurética de la Oxitocina en animales con D.I. es también mayor cuando se administra durante los primeros días post-quirúrgicos (aunque la repercusión que tendría sobre la ingesta de agua no fue examinado por estos autores).

Ahora bien, los niveles de sodio corporal disminuido también deberían observarse en sujetos **EM privados de comida**, por comparación con los animales EM mantenidos ad lib, lo cuál permitiría hipotetizar que la mera privación de alimento debería reducir la polidipsia diabética. Este hecho es avalado por el Experimento 7, que muestra que la privación de comida reduce la ingesta de agua. Sin embargo, el efecto de la privación de comida es menos potente y de menor duración que el efecto conjunto de la privación y administración de oxitocina (Experimento 7).

El descenso en la polidipsia diabética inducido por la privación de comida, conviene destacar, no se ve acompañado por una disminución de la respuesta poliúrica (Experimento 7). De esta forma, este efecto ingestivo no parece ser una consecuencia de la disminución en el volumen de excreción, sino que podría depender del no-ingreso de sodio en el organismo y en consecuencia de una disminución en la hipernatremia diabética.

Más aún, el momento en que se retira la comida a los sujetos Eminencia Media influye diferencialmente sobre el efecto polidíptico de la lesión electrolítica.

Así, la privación de comida durante las primeras 48 horas post-quirúrgicas y por tanto durante la fase transitoria de la D.I., reduce la ingesta de agua *transitoriamente* (Experimento 7). En efecto, una vez finalizado el período de privación, es decir, cuando los animales disponen nuevamente de alimento, la ingesta de agua vuelve a incrementar (Experimento 7, Swann, 1939). Podría suceder, en este caso, que el ClNa ingerido en la comida aumentara progresivamente los niveles de sodio corporal de los pacientes

diabéticos y en consecuencia la ingesta de agua, que llega a igualarse a la de los sujetos diabéticos con comida disponible (Experimento 7).

Si, adicionalmente, se priva de comida a los sujetos con posterioridad (Experimento 8: días 20 y 21 post-quirúrgicos), los animales diabéticos ingieren y excretan las *mismas* cantidades que los animales del grupo control (falsa lesión), un resultado que sugiere que la polidipsia que se observa durante la fase diabética estable podría requerir de la ingesta de comida. Por otra parte, una vez finalizado el período de privación, cuando los animales disponen nuevamente de alimento, la ingesta de agua vuelve a incrementarse, pero se mantiene en un nivel inferior al observado después de la privación de comida durante la fase transitoria (Experimento 8). Este resultado también parece relacionado con la **ingesta de comida** ya que tras la privación de alimento durante la fase diabética estable, los animales ingieren menor cantidad de comida que antes de ser privados (Experimento 8).

Los efectos observados con los distintos tipos de dietas, sugieren que es el sodio ingerido en la comida el que modula la ingesta de agua de los animales diabéticos tal y como había sido propuesto por algunos estudios clásicos (Curtis, 1924; Palmieri y Taleisnik, 1969; Swann, 1939; Titlebaum et al., 1960): el consumo reducido de sodio parece disminuir la magnitud de la polidipsia diabética (Curtis, 1924; Friedman et al., 1962; Mirsky et al, 1954; Rose, 1994; Swann, 1939), mientras que la ingesta elevada de este soluto, parece incrementarla (Curtis, 1924; Fisher et al, 1938; Swann, 1939; Wolf, 1950). De hecho, la disponibilidad de comida de tipo hiposódico durante la fase estable de la D.I., reproduce unos efectos análogos a los de la privación total de comida (Swann, 1939).

En resumen, la privación de alimento durante los estadios iniciales de la D.I. no impiden la aparición del cuadro polidipsico diabético, aunque *reducen* la gravedad de la sintomatología (Experimento 7). Sin embargo, durante la *fase estable de la D.I.*, los efectos de la privación de comida son mucho más potentes (Experimento 8).

En un contexto clínico, las investigaciones muestran que el empleo de sustancias diuréticas o el consumo de dietas hiposódicas, mejoran la sintomatología diabética (Baylis y Cheetham, 1998; Fried y Palevsky, 1997; Niaudet et al., 1985; Rose, 1994; Saborio et al.,

344 DISCUSIÓN FINAL

2000; Simmons, 2002; Swann, 1939; Tetiker et al., 1999; Verbalis, 2003), un efecto coherente con los resultados obtenidos privando de comida a los animales diabéticos.

El modelo neurológico (EM) de la Diabetes Insípida: Explicaciones alternativas.

Hasta ahora, se ha examinado el efecto de la administración de Oxitocina y/o de la privación de comida, sobre la ingesta de agua de animales con Diabetes Insípida. Sin embargo, comparando los efectos observados en los grupos de control (falsa lesión) y en los animales diabéticos, se puede afirmar que:

- *Mientras que la administración de **Oxitocina** aumenta la ingesta de agua de los sujetos intactos, la reduce en los animales diabéticos.*
- *En cualquier caso, tanto en sujetos intactos como en animales con D.I., los efectos oxitocinérgicos se observan en situación de **privación de alimento** y no cuando los animales disponen de comida ad lib.*

Entre los cambios provocados por la intervención en la EM se pueden destacar:

1. La D.I. reduce la capacidad de *concentrar la orina* (Laszlo y Wied, 1966; Lichardus y Ponec, 1973; Robertson, 1983; Seckl et al., 1987, 1992; Titlebaum et al, 1960).
2. La D.I. aumenta el *volumen de excreción* de orina (Robertson, 1995; Simmons, 2002; Swaab et al, 1993; Verbalis, 2003).
3. La D.I. provoca un aumento en los *niveles de sodio corporal (hipernatremia)* (Bacic y Gluncic, 1999; Balment et al., 1986; Bronstein et al., 2000; Friedman et al., 1958, 1962; Hollinshead, 1964; Huang y Dellman, 1996; Kavelaars et al., 2001; Laszlo y Wied, 1996; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Pivonello et al., 2000; Price y Kallenborn, 2000; Rolls, 1970; Saborio et al., 2000; Seckl y Dunger, 1992; Swann et al., 1939).

Los tres aspectos mencionados podrían estar implicados simultáneamente en la respuesta polidíptica que los animales diabéticos manifiestan. Igualmente, el descenso de la hiperdipsia diabética mediante administración de Oxitocina y/o privación de comida, podría depender de la influencia de estos tratamientos correctores sobre todos esos procesos.

I) Sin embargo, parece poco probable que el descenso en la hiperdipsia diabética que se observa al administrar Oxitocina a sujetos privados de alimento, dependa *únicamente* de un aumento en la *excreción de sodio*. En efecto, aunque se ha demostrado que la oxitocina es un agente natriurético en sujetos diabéticos privados de alimento (Mahía, 2002; Tesis Doctoral), también incrementa la excreción de sodio en los sujetos intactos privados de comida (Experimento 3), en los cuáles, provoca una respuesta polidíptica. Además, mientras que los efectos renales natriuréticos de la oxitocina desaparecen rápidamente (puesto que la vida media plasmática de esta hormona es bastante reducida (Binkley, 1995)), los efectos ingestivos (disminución de la polidipsia diabética o aumento en la cantidad de agua que los sujetos intactos privados de comida ingieren), son de mayor duración.

II) Por otra parte, el *volumen de excreción* tampoco parece constituir la *única* variable determinante. Así, en el Experimento 7 se ha mostrado que la oxitocina reduce la ingesta de agua cuando los animales son privados de comida, sin que las diferencias en el volumen de excreción (con respecto a los sujetos mantenidos ad lib) alcancen la significación estadística (primer día del Experimento 7). Algo similar ocurre en los sujetos diabéticos de control: la privación de alimento reduce la ingesta de agua sin que se aprecien diferencias significativas en el volumen de excreción (segundo día del Experimento 7).

De esta forma, la excreción de un gran volumen de orina diluida no parece conllevar necesariamente la ingesta de agua, sugiriendo la existencia de factores adicionales como causa de la polidipsia diabética.

Esta posibilidad es coherente con la bibliografía disponible, en la que se puede comprobar que la excreción de un gran volumen de orina diluida no es característica exclusiva de los sujetos con D.I. (Bacic y Gluncic, 1999; Balment et al., 1986; Friedman et

al., 1958; Huang y Dellman, 1996; Ikkos et al, 1954; Laszlo y Wied, 1966; Lichardus y Ponec, 1973; Man y Hugh, 1992; O'Connor, 1950; Pickford y Ritchie, 1945; Seckl y Dunger, 1992; Swann, 1939; Titlebaum et al., 1960; Wolf, 1950), sino que también tiene lugar en animales intactos (no tratados con Oxitocina) privados de alimento (Bauman et al, 1964; Burlet et al, 1992; Cumming y Morrison, 1960; Morrison, 1967 y 1968b; Morrison et al, 1967; Oatley y Tonge, 1969). Sin embargo, mientras que en el caso de la D.I., se observa una respuesta polidíptica (Bakker y Waring, 1976; Balment et al., 1986; Bronstein et al., 2000; Friedman et al., 1958 y 1962; Hollishead, 1964; Huang y Dellman, 1996; Laszlo y Wied, 1966; Lichardus y Ponec, 1973; O'Connor, 1946, 1950 y 1952; Robertson, 1995; Rolls, 1970; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1987 y 1992; Swaab et al, 1975; White y Heinbecker, 1939), en situaciones de privación de alimento (sujetos intactos) se suele reducir el consumo de agua (Burlet et al, 1992; Cizek y Nocenti, 1965; Huang et al, 1996; Kiss et al, 1994; Kutscher, 1969; O'Shea, 1993 y 1996; Milgram et al, 1974; Wishart y Mogenson, 1970; Walsh, 1980; Weisinger et al, 1985).

Así pues, estos datos parecen cuestionar el punto de vista dominante en este ámbito, que considera la polidipsia de los sujetos con D.I. exclusivamente **en términos secundarios**, es decir, como una consecuencia de la ausencia de ADH, una hormona que promueve la retención y concentración de la orina (Fried et al, 1997; Guyton y Hall, 2001; Robertson, 1983; Seckl et al, 1987).

III) La excreción de orina poco concentrada, provoca la acumulación de sodio corporal y el aumento de la osmolaridad plasmática. Así, una tercera diferencia entre los individuos diabéticos y los intactos, pudiera constituirla, precisamente, los niveles corporales de sodio: mucho mayores (**hipernatremia**) en el primer caso (Bacic y Gluncic, 1999; Balment et al., 1986; Bronstein et al., 2000; Friedman et al., 1958, 1962; Hollinshead, 1964; Huang y Dellman, 1996; Kavelaars et al., 2001; Laszlo y Wied, 1996; Mahía, 2002; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Pivonello et al., 2000; Price y Kallenborn, 2000; Rolls, 1970; Saborio et al., 2000; Seckl y Dunger, 1992; Swann et al., 1939). Este efecto hipernatrémico parece independiente del comportamiento del animal ya que también se observa en animales diabéticos privados de agua y comida (Mahía, 2002; Tesis Doctoral).

Desde esta perspectiva, la polidipsia observada en los casos de *Diabetes Insípida* podría estar modulada por los niveles de sodio corporal. Por ello, tiene sentido esperar un descenso de la respuesta hiperdipsica de los animales con D.I. mediante procedimientos que reduzcan la hipernatremia diabética. Esta posibilidad es coherente con los efectos de la privación de alimento y del tratamiento con Oxitocina en sujetos diabéticos que se han observado en esta Tesis Doctoral.

En otras palabras, la privación de alimento podría reducir la acumulación de sodio corporal y en consecuencia la polidipsia diabética. Pero, si además de anular el ingreso de ClNa en el organismo (mediante privación de comida), se potencia su excreción (mediante administración de Oxitocina), cabría esperar un descenso más pronunciado de la hiperdipsia diabética. Este dato también ha sido observado al administrar Oxitocina a animales privados de comida durante la fase transitoria de la D.I. (Experimento 7).

Más aún, la privación de alimento (pero no la Oxitocina) durante la fase diabética estable, reduce el grado de polidipsia posterior. Este descenso en la hiperdipsia podría estar relacionado de nuevo con los niveles de sodio corporal, resultante de la privación de comida y en paralelo con el descenso en el consumo de sodio.

En *sujetos intactos* privados de comida, por el contrario, la administración de Oxitocina estimula la ingesta de agua. Los niveles de sodio corporal de estos sujetos son inferiores a los de los animales diabéticos y la oxitocina podría estimular el consumo de agua al reducir los niveles de sodio corporal, es decir, al inducir hiponatremia y sed volémica.

En definitiva, los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral sugieren que el efecto natriurético de la oxitocina reduce la ingesta de agua en individuos con elevados niveles corporales de este soluto y la incrementa en individuos con reducidos niveles corporales de sodio. De esta manera, los efectos ingestivos de la administración de Oxitocina y de la privación de alimento podrían estar interactuando en relación con los niveles corporales de sodio.

En otras palabras, los resultados obtenidos parecen señalar que:

- La privación de alimento o las dietas hiposódicas, reducen la disponibilidad de sodio: en estos casos, la Oxitocina tendría un efecto aditivo incrementando la ingesta de agua.
 - El que este efecto no se observe en individuos alimentados con la comida estándar sugiere que la ingesta de sodio contrarresta tales efectos.

- La lesión electrolítica de la Eminencia Media, entre otros efectos, incrementa los niveles corporales de sodio (hipernatremia): en estos casos, la Oxitocina reduce la ingesta de agua.
 - El que este efecto no se observe en individuos alimentados con la comida estándar sugiere que la ingesta de sodio también contrarresta tales efectos.

Hipotálamo, detección del sodio corporal e ingesta de agua.

Los resultados obtenidos en la presente Tesis Doctoral se hallan estrechamente vinculados a otros estudios sobre la regulación hidromineral que han sido realizados en nuestro laboratorio.

Como se ha indicado previamente, las fibras neurosecretoras que discurren hacia la neurohipófisis, podrían representar una de las vías eferentes de los circuitos que subyacen al equilibrio hidromineral. Las lesiones electrolíticas de la Eminencia Media con corriente anódica, generan la aparición del cuadro diabético. Sin embargo, con corriente catódica este resultado no se obtiene (Mahía, 2002; Rolls, 1970). Dado que la corriente positiva provoca una lesión mucho más amplia, los sistemas anatómicos específicos responsables de este síndrome, están por determinar.

En este sentido, diversas alteraciones en los niveles del sodio corporal han sido relacionados con trastornos polidípsicos que resultan de la destrucción de regiones cerebrales basales, anatómicamente conectadas con los núcleos Supraóptico y Paraventricular (Bacic y Gluncic, 1999; Bellows, citado por Rolls, 1970; Dorniger et al., 1991; Fitzsimons, 1979; Mellinger y Zafar, 1983; Morales et al., 1986; Robertson, 1987, 1991, 1995; Robinson et al., 1991; Smith y McCann, 1962, 1964). Es el caso, por ejemplo, del **Hipotálamo posterior** (Hennesy et al, 1977; Mahía, 2002; Morales et al, 1986; Tejedor del Real, 1972) y así, autores como Cort (1963), han observado que las lesiones electrolíticas en esta región, generan un balance negativo en sodio, que los animales corrigen mediante la ingesta de soluciones isotónicas (Cort, 1963).

En este contexto, el grupo español del CSIC dirigido por M. Santacana, observa en 1972 la aparición de un cuadro polidípsico tras la destrucción electrolítica de los **Cuerpos Mamilares** (Tejedor del Real et al, 1972). Unos años después, Grossman y colaboradores, comprueban que la destrucción con microbisturí (“Knife cut”) de fibras del hipotálamo postero-ventral, generaban un extraordinario incremento en la ingesta de agua que no parecía depender de la poliuria (Hennesy et al, 1977).

Curiosamente, ambos estudios (Hennesy et al, 1977; Tejedor del Real et al, 1972), observan que los animales están capacitados para retener fluido (por ejemplo, durante la privación de agua), lo cual sugiere que su comportamiento ingestivo podría estar motivado por factores diferentes a la pérdida renal de líquido. Adicionalmente, los animales del grupo control y experimental del estudio de Grossman y cols., muestran un volumen de excreción similar durante la privación de agua, aunque la concentración urinaria del grupo con sección de las fibras hipotalámicas es menor, lo cual pondría de manifiesto ciertas alteraciones en la regulación de la tonicidad plasmática (Hennesy et al, 1977).

Estudios más recientes, coinciden en el hecho de que las intervenciones en regiones del hipotálamo posterior podrían provocar desequilibrios importantes en los niveles de sodio corporal (Bacic y Gluncic, 1999; Bealer et al., 1983; Cort, 1963; Ernsberger, 1981; Hennesy et al., 1977; Kavelaars et al., 2001; Keeler et al., 1972; Lichardus et al., 1969; Morales et al., 1986; Natcheff et al., 1975; Rolls, 1970; Saborio et al., 2000).

En este contexto, se ha podido comprobar que las lesiones electrolíticas del área mamilar, generan una polidipsia consistente y específica, independiente de alteraciones en la toma de alimentos (Morales y Puerto, 1986; Tejedor del Real et al, 1972), a diferencia de la polidipsia diabética, que suele estar acompañada de una marcada respuesta hiperfágica (Mahía, 2002; Tesis Doctoral). Por otra parte, durante la privación de agua, los animales mamilares regulan el volumen de excreción (Morales y Puerto, 1986; Tejedor del Real et al, 1972) y en pruebas con los uréteres ligados para prevenir la formación de orina, estos animales continúan tomando mayor cantidad de agua que los sujetos del grupo control (Morales y Puerto, 1986). Estos datos han permitido pensar en la existencia de factores extra-renales como causantes de la polidipsia mamilar, aunque también se ha comprobado que la privación parcial de agua no impide la aparición de la respuesta poliúrica, además del hecho de que la administración de Pitressin Tannato, un análogo de la vasopresina, logra invertir el efecto polidíptico de la lesión mamilar (Morales y Puerto, 1989 y 1990).

Globalmente, estos resultados sugieren la existencia de alteraciones renales junto a otros factores adicionales no determinados (posiblemente relacionados con el sodio corporal) como explicación de la hiperdipsia mamilar (Morales y Puerto, 1986).

En efecto, la polidipsia mamilar y la polidipsia diabética (supuestamente secundaria al problema renal), pueden considerarse como entidades diferentes ya que en el caso de los animales diabéticos, éstos, por ejemplo, toman agua de forma continua a lo largo del día (sin la característica ritmicidad circadiana), mientras que los animales mamilares, al igual que los controles, consumen el agua en mayor cantidad durante la fase nocturna. Este dato sugiere que los animales mamilares tienen una cierta capacidad renal para la concentración de orina, desde luego muy superior a la de los animales con Diabetes Insípida (Morales y Puerto, 1989b). Más aún, como se indicaba más arriba, la cantidad de agua que consumen los animales diabéticos y mamilares en respuesta a estímulos osmóticos (CINa hipertónico), es también diferente. Así, mientras que los animales mamilares consumen mayor cantidad de agua que sus controles tras la administración de CINa, ésto no se observa en los sujetos diabéticos. Este dato parece implicar al área mamilar (o a fibras de paso) en los circuitos cerebrales de detección y control de los niveles de sodio-osmolaridad plasmática (Morales y Puerto, 1988).

Existe la posibilidad de que las intervenciones en la región posterior del hipotálamo e incluso las amplias lesiones electrolíticas de la Eminencia Media con corriente positiva, hubieran podido afectar a los *Núcleos Tuberomamilares*, unas estructuras anatómicas que dentro del Hipotálamo, ocupan una posición ventral y lateral con respecto a los cuerpos mamilares (Brown et al, 2001; Ericson et al, 1987; Inagaki et al, 1990; Köhler et al, 1986; Schwartz et al, 1991; Watanabe et al, 1984).

En efecto, en nuestro laboratorio se ha podido comprobar que la destrucción específica de los núcleos tuberomamilares, produce una respuesta polidíptica que parece ser diferente de la hiperdipsia diabética (Mahía, 2002; Tesis Doctoral). Así, por ejemplo, también ahora la inyección de cloruro sódico hipertónico genera un mayor incremento en el consumo de agua de los animales tuberomamilares (respecto a sus controles), que en animales diabéticos. Por otra parte, la polidipsia tuberomamilar no parece ser tan

dependiente de la excreción de fluido (poliuria) como la diabética, ya que por ejemplo, durante el día, el volumen de excreción y la ingesta de líquido de los animales tuberomamilaes es reducido (Mahía, 2002; Tesis Doctoral).

Los núcleos tuberomamilaes cuentan con vías eferentes que proyectan a los cuerpos mamilares y a los núcleos supraóptico y paraventricular (Haas et al, 1975; Hatton y Li, 1998; Inagaki et al., 1988; Kjaer et al, 1994; Pollard et al., 1976; Schwartz, 1991; Weiss et al, 1989; Wilcox et al., 1982; Yang y Hatton, 1997), e influyen en la liberación de la Oxitocina y Vasopresina (Bealer et al, 1999; Kjaer et al, 1994, 1995; Knigge et al, 1994), activándose ante los incrementos en la osmolaridad plasmática de forma paralela al aumento en la secreción neurohormonal (Akins et al, 1990; Brown et al, 2001; Kjaer et al, 1994, 1995). Así pues, la liberación de las neurohormonas (vasopresina y oxitocina) podría constituir el resultado final de la integración de señales procedentes de diferentes regiones hipotalámicas así como de otras estructuras cerebrales partícipes en la regulación hidromineral.

Existe, por lo tanto, la posibilidad de que los núcleos tuberomamilaes puedan proporcionar a los núcleos supraóptico y paraventricular información relacionada con los niveles de sodio corporal con el objeto de estimular la adecuada liberación neurohormonal. Esta hipótesis se ve apoyada por las características morfológicas de las neuronas tuberomamilaes, con amplias ramificaciones dendríticas que se extienden por la capa endodimal de la superficie ventral del cerebro y receso mamilar, y que les permitirían detectar y responder a la presencia de determinadas moléculas y sustancias neuroactivas presentes en el líquido cefalorraquídeo (LCR) (Ericson et al., 1987; Fernández-Novoa et al., 2001; Reiner et al., 1987; Watanabe et al., 1984). En este sentido, diversos autores han pensado en la existencia de sensores o receptores al ión sodio en la vecindad de la pared del III ventrículo y en contacto directo con el LCR que serían activados ante los aumentos en la tonicidad del plasma (Anderson et al., 1967; Fitzsimons, 1998; Rowland, 1998).

En fin, de acuerdo con este planteamiento, cabría esperar que si los núcleos tuberomamilaes influyen en la liberación neurohormonal de los núcleos supraóptico y paraventricular y también participan en la ingesta de agua, la administración de Oxitocina provocase un descenso de la hiperdipsia tuberomamilar, una reducción que también ha sido relacionada con una disminución en los niveles de sodio corporal (Mahía, 2002; Tesis Doctoral).

En resumen, los resultados obtenidos sugieren que la ingesta de agua y la liberación de oxitocina podrían estar moduladas, entre otros, por la actividad de circuitos cerebrales relacionados con la detección del sodio corporal. Pero esos circuitos podrían estar implicados asimismo en otro tipo de procesos regulatorios relacionados, en los que el sodio corporal constituye una variable relevante, por ejemplo, la presión arterial (Gutkowska et al, 2000) o incluso simultáneamente en procesos nutritivos, hídricos y térmicos como es el caso de animales tuberomamilaes que han sido sometidos a temperaturas ambientales incrementadas o reducidas, una capacidad regulatoria que podría verse afectada en paralelo con las alteraciones de la osmolaridad o el sodio plasmático (Bernal, 1997).

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1.- La administración de Oxitocina en sujetos neurológicamente intactos, ejerce efectos hidrominerales dependientes del estado nutritivo del organismo. Así, en animales privados de comida, el tratamiento con Oxitocina estimula la excreción de sodio, potencia la poliuria por privación y genera con posterioridad un incremento en la ingesta de agua.

2.- La respuesta poliúrica inicial y la polidíptica posterior que estos animales privados manifiestan, se acompañan respectivamente, de una pérdida y de una ganancia en el volumen hídrico corporal. Después de 24 horas, el volumen hídrico corporal de los sujetos privados de comida y tratados con Oxitocina, se iguala con el de los sujetos de control, únicamente privados de alimento.

3.- La polidipsia oxitocinérgica es de naturaleza hipovolémica y en consecuencia, estimula la ingesta de soluciones isotónicas en los sujetos privados de comida.

4.- La ingesta voluntaria de ClNa o su administración, suprimen la polidipsia oxitocinérgica que se manifiesta en los sujetos privados de comida.

5.- La administración de Oxitocina en sujetos con comida disponible genera una respuesta poliúrica y un descenso en la ingesta de agua durante el período de luz/inactividad. Durante el ciclo de oscuridad/actividad, el tratamiento con Oxitocina no ejerce efectos significativos sobre las respuestas ingestivas o excretoras de los sujetos mantenidos ad lib.

6.- En sujetos mantenidos con dietas hiposódicas, la administración de Oxitocina incrementa la ingesta de agua.

7.- La estimulación eléctrica del núcleo paraventricular magnocelular lateral no modifica la cantidad de agua consumida por los sujetos privados de líquido durante las 24 horas previas, aunque incrementa la preferencia por las soluciones isotónicas.

8.- En animales polidípicos tras lesiones electrolíticas de la Eminencia Media del Hipotálamo, la privación de alimento durante la fase diabética inicial reduce la ingesta de agua, aunque su efecto es transitorio.

9.- Sin embargo, si a la privación de comida durante la fase diabética inicial, se le añade el tratamiento con Oxitocina, la ingesta de agua se reduce permanentemente.

10.- Durante el período de privación de comida en la fase diabética inicial, la Oxitocina reduce la ingesta de agua en los animales con lesiones en la Eminencia Media a la vez que la incrementa en los sujetos con falsa lesión. Por el contrario, en el caso de los sujetos mantenidos ad libitum, el tratamiento con Oxitocina durante la fase diabética inicial, no ejerce efectos significativos sobre la ingesta y excreción de agua.

11.- La privación de alimento (durante 48 horas) en la fase diabética estable, normaliza la ingesta de agua así como el volumen de excreción, al tiempo que reduce permanentemente la ingesta posterior de fluido. Ese descenso posterior, se ve acompañado de una reducción en la ingesta de comida.

12.- Por su parte, la administración de Oxitocina en sujetos privados de alimento durante la fase diabética estable, no potencia su descenso, aunque se mantiene la ingesta de agua reducida que se había inducido inicialmente.

ANEXO I:

TABLAS DE DATOS

EXPERIMENTO 1:**Tabla 1.0: Medias y Desviaciones típicas para los 4 grupos de sujetos a lo largo de los tres días en las Variables Dependientes estudiadas.**

GRUPOS	AGUA (ml)						COMIDA (g)					
	DIA 1 (LB)		DIA 2		DIA 3		DIA 1 (LB)		DIA 2		DIA 3	
	Med.	Sx	Med.	Sx	Med.	Sx	Med.	Sx	Med.	Sx	Med.	Sx
1 OX S/C	31	9.2	47	16.4	42	14.9	30	6.0	-----		----	
2 SF S/C	34	9.3	30	13.0	33	14.9	28	4.2	-----		----	
3 OX C/C	28	4.5	30	7.2	34	6.7	29	4.1	28	5.3	26	4.4
4 SF C/C	32	6.5	31	9.6	34	8.7	30	3.6	28	5.6	28	2.8

GRUPOS	ORINA (ml)					
	DIA 1 (LB)		DIA 2		DIA 3	
	Med.	Sx	Med.	Sx	Med.	Sx
1 OX S/C	15	7.7	44	11.2	33	8.9
2 SF S/C	16	6.1	25	9.9	22	9.1
3 OX C/C	12	4.2	9	3.0	12	6.3
4 SF C/C	13	4.7	11	4.3	12	4.9

EXPERIMENTO 2:**Tabla 2.0: Medias y desviaciones típicas para los 3 grupos de sujetos a lo largo de los cuatro días en las variables dependientes estudiadas.**

GRUPOS	INGESTA DE AGUA (ml)							
	COMIDA CON SAL		DIETA DEFICIENTE EN SODIO					
							SUSTANCIA s.c.	
	DÍA 1		DÍA 2		DÍA 3		DÍA 4	
	Media	Sx	Media	Sx	Media	Sx	Media	Sx
OX 10 U.I.	32.9	3.2	42.2	6.6	43.9	9.1	54.7	12.9
OX 5 U.I.	34.7	4.5	42.5	10.4	41.4	8.4	48.5	10.6
A.D.	32.4	4.4	38.2	4.3	45.9	10.0	45.2	8.5

GRUPOS	INGESTA DE COMIDA (g)							
	DÍA 1		DÍA 2		DÍA 3		DÍA 4	
	Media	Sx	Media	Sx	Media	Sx	Media	Sx
OX 10 U.I.	22.6	4.0	13.6	5.2	19.8	3.5	15.8	3.0
OX 5 U.I.	23.8	5.6	13.2	5.6	17.2	4.6	15.2	3.2
A.D.	23.3	5.5	13.2	5.7	18.8	2.8	17.8	1.4

GRUPOS	PESO CORPORAL (g)							
	DÍA 1		DÍA 2		DÍA 3		DÍA 4	
	Media	Sx	Media	Sx	Media	Sx	Media	Sx
OX 10 U.I.	332.5	56.8	320.1	59.5	318.4	58.9	318.6	58.6
OX 5 U.I.	321.6	48.0	309.1	49.1	306.2	50.5	302.4	52.0
A.D.	342.4	41.3	327.5	46.4	326.5	45.4	327.2	46.0

EXPERIMENTO 3:**Tabla 3.0: Medias y desviaciones típicas para los 6 grupos de sujetos a lo largo de los tres días en las variables dependientes estudiadas.**

GRUPOS	AGUA (ml)						PESO (g)					
	DIA 1 (LB)		DIA 2		DIA 3		DIA 1 (LB)		DIA 2		DIA 3	
	Med.	Sx	Med.	Sx	Med.	Sx	Med.	Sx	Med.	Sx	Med.	Sx
AD C/C	29.7	7.9	31.4	10.2	30.3	10.1	323.6	36.9	326.9	41.0	328.5	41.9
AD S/C	24.5	6.4	29.3	10.8	29.4	13.1	303.9	24.3	277.1	23.0	266.1	22.2
OX 2,5	26.2	7.6	42.0	19.4	38.2	17.4	307.9	28.6	279.7	25.3	268.2	26.5
OX 5,0	26.2	8.3	43.6	18.0	41.3	21.3	302.0	22.6	272.9	21.8	261.4	21.8
OX 7,5	25.9	7.3	48.2	20.1	46.8	23.9	295.7	15.8	266.6	14.5	256.1	13.6
OX 10	27.9	5.9	49.0	15.8	50.8	16.5	308.6	23.1	275.2	19.8	263.9	18.9

GRUPOS	ORINA (ml)						NATRIURESIS (Na ⁺ en orina)			
	DIA 1 (LB)		DIA 2		DIA 3		DIA 1 (LB)		6 HORAS	
	Med.	Sx	Med.	Sx	Med.	Sx	Med.	Sx	Med.	Sx
AD C/C	11.4	4.7	15.4	3.4	13.4	3.0	1.1	0.18	0.4	0.09
AD S/C	9.4	2.9	31.4	8.7	18.6	8.4	1.1	0.24	0.2	0.26
OX 2,5	10.6	4.6	42.6	18.4	26.9	14.5	1.2	0.42	0.6	0.35
OX 5,0	13.3	7.7	46.9	21.5	29.9	20.7	1.2	0.22	0.6	0.21
OX 7,5	11.7	5.6	48.0	18.2	30.6	19.1	1.2	0.34	0.7	0.28
OX 10	11.2	3.6	52.0	16.6	38.6	18.3	1.3	0.35	0.9	0.33

GRUPOS	SEGUNDA FASE															
	Primera Hora								Segunda Hora							
	Agua		CINa 0.45%		CINa 0.9%		CINa 1.8%		Agua		CINa 0.45%		CINa 0.9%		CINa 1.8%	
	Med.	Sx	Med.	Sx	Med.	Sx	Med.	Sx	Med.	Sx	Med.	Sx	M	Sx	M	Sx
AD C/C	2.0	1.2	3.6	2.4	2.7	1.1	2.3	1.1	1.8	.6	3.8	1.4	3.3	1.6	3.0	.9
AD S/C	2.4	.9	2.5	1.1	2.9	1.2	3.4	1.1	2.2	.5	2.9	.9	2.8	.9	2.4	.6
OX 2,5	2.1	1.2	3.1	1.8	4.9	2.4	4.7	1.8	2.4	1	2.4	.7	3.0	1.3	3.2	.4
OX 5,0	2.7	2	3.8	1.6	7.3	5.9	3.8	1	2.3	1	2.9	.7	3.4	1	3.4	1.4
OX 7,5	2.3	1.7	4.2	2.9	4.1	6.2	4.5	1.5	2.7	1	2.8	1.2	3.1	.8	3.6	1.1
OX 10	2.1	1.1	3.6	1.6	9.6	.5	4.2	2.2	1.9	.9	2.4	.9	6.2	4.8	2.6	.5

EXPERIMENTO 4:**Tabla 4.0: Medias y Desviaciones típicas para los 4 grupos de sujetos en las variables dependientes estudiadas.**

			SIN COMIDA		CON COMIDA	
			AGUA DESTILADA	OXITOCINA	AGUA DESTILADA	OXITOCINA
L B I A N S E E A	AGUA (ml)	Media	33,28571	31,00000	36,7143	34,1429
		Sx	7,631389	6,191392	6,10230	6,20292
	COMIDA (g)	Media	24,9500	24,2500	25,4833	25,2833
		Sx	3,54217	3,54894	2,57947	2,56392
	PESO (g)	Media	299,6429	314,1429	331,2714	318,4286
		Sx	75,15357	77,13285	49,13806	29,42140
1 2 D H I O R A S	AGUA	Media	4,5429	4,9286	7,9429	7,1857
		Sx	2,40198	3,33152	4,29451	1,48933
	COMIDA	Media	-----	-----	7,3714	5,5714
		Sx			2,32502	1,99392
	ORINA (ml)	Media	6,5000	13,0714	6,2857	7,9857
		Sx	1,89297	3,42087	2,15749	1,04152
	PESO	Media	284,3571	293,4286	324,1571	306,8000
		Sx	73,21015	77,02782	53,75413	31,30942
1 2 N H O C R H A E S	AGUA	Media	23,7857	27,3143	18,2714	18,8857
		Sx	16,58266	12,21098	6,76602	3,23647
	CINa 1.5% (ml)	Media	2,5286	24,8857	9,2000	10,9000
		Sx	1,29321	10,91596	5,68302	2,64008
	COMIDA	Media	-----	-----	17,7143	16,4286
		Sx			4,02427	1,54350
	ORINA	Media	21,9286	40,4286	12,2857	9,6429
		Sx	13,14797	17,19115	7,57109	2,26779
	PESO	Media	273,1714	289,4286	336,0143	321,2571
		Sx	73,05664	75,71406	51,99841	29,20153

EXPERIMENTO 5:**Tabla 5.0: Medias y Desviaciones típicas en las variables dependientes estudiadas durante las 12 horas diurnas y las 12 nocturnas para los 20 grupos de sujetos.**

I N G E S T A	A D G E U A	GRUPOS OT S/C		OT-AD	OT-0.9%	OT-0.5%	OT-3%	OT-5%
		LINEA	Media	29,75	32,7	31,50	30,40	29,63
		BASE	Sx	2,25	4,02	4,34	3,84	5,60
		12 H	Media	7,34	5,95	5,05	5,01	4,86
		DÍA	Sx	2,77	2,40	3,12	1,60	1,42
		12 H	Media	35,56	30,47	28,75	21,70	19,84
		NOCHE	Sx	7,56	10,67	17,10	5,32	5,19

I N G E S T A	A D G E U A	GRUPOS OT C/C		OT-AD	OT-0.9%	OT-1.5%	OT-3%	OT-5%
		LINEA	Media	30,50	33,32	30,17	29,82	33,33
		BASE	Sx	3,99	3,19	6,19	3,83	4,23
		12 H	Media	5,42	6,27	6,90	7,50	4,53
		DÍA	Sx	,19	2,20	1,75	3,47	1,57
		12 H	Media	17,77	20,07	22,78	23,45	24,40
		NOCHE	Sx	4,51	2,66	3,64	3,79	4,82

I N G E S T A	A D G E U A	GRUPOS AD S/C		AD-AD	AD-0.9%	AD-1.5%	AD-3%	AD-5%
		LINEA	Media	31,87	33,62	32,37	32,40	28,25
		BASE	Sx	3,72	3,85	4,13	7,19	7,21
		12 H	Media	6,17	4,16	5,17	4,90	6,49
		DÍA	Sx	2,79	1,81	1,92	2,09	,93
		12 H	Media	23,48	15,01	21,48	17,45	23,81
		NOCHE	Sx	8,91	6,10	6,60	9,03	8,56

I N G E S T A	A D G E U A	GRUPOS AD C/C		AD-AD	AD-0.9%	AD-1.5%	AD-3%	AD-5%
		LINEA	Media	31,18	33,68	27,83	29,83	31,33
		BASE	Sx	4,88	6,54	5,54	2,95	3,73
		12 H	Media	8,23	8,73	7,21	8,13	7,45
		DÍA	Sx	,61	3,44	2,22	3,06	2,35
		12 H	Media	17,19	21,00	18,20	20,49	24,41
		NOCHE	Sx	3,63	3,97	6,86	6,43	7,05

TABLA 5.0 (Cont.).

I N G E S T A	C O D E I D E A	GRUPOS OT C/C		OT-AD	OT-0.9%	OT-1.5%	OT-3%	OT-5%
		LINEA	Media	23,26	24,80	25,04	25,81	24,93
		BASE	Sx	1,84	2,69	1,94	1,12	1,06
		12 H	Media	5,87	4,88	9,90	6,70	5,98
		DÍA	Sx	2,05	2,63	1,78	4,56	3,40
		12 H	Media	12,35	12,78	14,42	13,25	14,47
		NOCHE	Sx	1,79	2,45	1,92	3,96	3,74

I N G E S T A	C O D E I D E A	GRUPOS AD C/C		AD-AD	AD-0.9%	AD-1.5%	AD-3%	AD-5%
		LINEA	Media	24,84	24,78	24,95	23,90	24,68
		BASE	Sx	2,64	2,40	2,79	1,62	2,41
		12 H	Media	8,18	6,88	8,30	8,88	7,52
		DÍA	Sx	1,68	2,25	1,91	3,01	2,62
		12 H	Media	13,02	14,55	11,33	14,30	16,02
		NOCHE	Sx	,97	1,54	3,99	2,79	2,59

P E S O	GRUPOS OT S/C		OT-AD	OT-0.9%	OT-1.5%	OT-3%	OT-5%
	LINEA	Media	301,18	294,18	308,38	303,88	280,25
	BASE	Sx	33,63	22,77	51,31	28,84	26,94
	12 H	Media	297,33	290,33	288,88	285,88	256,38
	DÍA	Sx	32,12	23,14	50,02	29,13	23,44
	12 H	Media	300,50	298,18	280,00	279,13	248,63
	NOCHE	Sx	34,65	21,36	49,48	28,33	23,35

P E S O	GRUPOS OT C/C		OT-AD	OT-0.9%	OT-1.5%	OT-3%	OT-5%
	LINEA	Media	297,18	299,00	302,83	289,33	290,18
	BASE	Sx	17,18	33,77	28,30	22,06	25,06
	12 H	Media	287,83	291,83	296,68	280,68	279,00
	DÍA	Sx	14,69	29,79	29,50	23,83	25,70
	12 H	Media	297,42	300,00	308,00	290,91	289,50
	NOCHE	Sx	17,69	31,12	28,80	21,71	25,64

P E S O	GRUPOS AD S/C		AD-AD	AD-0.9%	AD-1.5%	AD-3%	AD-5%
	LINEA	Media	311,00	324,13	308,00	315,63	282,13
	BASE	Sx	52,33	31,38	47,39	38,23	16,24
	12 H	Media	297,75	305,62	293,63	301,25	265,38
	DÍA	Sx	50,55	31,72	47,31	35,72	14,63
	12 H	Media	284,25	288,87	280,88	287,50	252,13
	NOCHE	Sx	51,32	29,49	47,70	34,85	15,23

TABLA 5.0 (Cont.).

P E S O	GRUPOS AD C/C		AD-AD	AD-0.9%	AD-1.5%	AD-3%	AD-5%
	LINEA	Media	306,33	296,68	301,18	294,18	286,00
	BASE	Sx	19,44	32,11	33,63	22,77	20,11
	12 H DÍA	Media	303,18	290,09	297,33	290,33	281,33
		Sx	20,75	29,12	32,12	23,14	21,21
	12 H NOCHE	Media	307,50	297,00	300,50	298,18	288,00
		Sx	21,14	30,24	34,65	21,36	19,71

V O L U M E N	O R D E N A	GRUPOS OT S/C		OT-AD	OT-0.9%	OT-1.5%	OT-3%	OT-5%
		12 H DÍA	Media	13,06	11,69	12,44	11,75	14,19
			Sx	1,66	2,56	2,93	2,51	2,94
		12 H NOCHE	Media	34,19	24,75	27,31	18,44	15,19
			Sx	8,80	10,19	16,90	5,73	6,02

V O L U M E N	O R D E N A	GRUPOS OT C/C		OT-AD	OT-0.9%	OT-1.5%	OT-3%	OT-5%
		12 H DÍA	Media	7,00	7,83	8,17	9,09	9,50
			Sx	1,41	1,81	1,55	1,88	3,20
		12 H NOCHE	Media	5,59	6,74	5,59	7,75	9,09
			Sx	1,93	1,83	1,90	2,50	3,19

V O L U M E N	O R D E N A	GRUPOS AD S/C		AD-AD	AD-0.9%	AD-1.5%	AD-3%	AD-5%
		12 H DÍA	Media	8,54	9,00	8,16	7,31	8,25
			Sx	3,49	3,07	1,95	3,33	2,51
		12 H NOCHE	Media	25,00	18,38	24,38	19,81	24,25
			Sx	6,87	3,74	6,93	8,28	8,30

V O L U M E N	O R D E N A	GRUPOS AD C/C		AD-AD	AD-0.9%	AD-1.5%	AD-3%	AD-5%
		12 H DÍA	Media	5,25	7,50	4,91	5,18	6,25
			Sx	2,03	2,25	,73	,83	2,10
		12 H NOCHE	Media	8,41	9,17	6,32	7,25	15,33
			Sx	2,91	2,60	1,81	1,30	4,71

EXPERIMENTO 6:**Tabla 6.0:** Medias y Desviaciones típicas para los 4 grupos de sujetos en las variables dependientes registradas.

	VARIABLES	GRUPOS							
		ESTIMULADO AD LIB		CONTROL AD LIB		ESTIMULADO PRIVADO		CONTROL PRIVADO	
		Media	Sx	Media	Sx	Media	Sx	Media	Sx
24 H LINEA BASE	AGUA	24.6	9.0	25.5	5.3	--	--	--	--
	COMIDA	24.0	4.8	25.5	3.0	19.1	3.6	17.8	2.5
	ORINA	9.3	3.9	9.0	3.2	4.3	2.3	5.0	2.6
	C. PESO	-0.1	6.4	4.3	3.2	-20.1	5.0	-17.7	2.2
45 MIN	AGUA	2.3	0.7	2.3	.8	8.1	2.9	9.3	2.4
	S. F.	1.9	0.6	2.0	.9	8.6	4.6	4.0	2.6
5 HORAS	AGUA	0.7	0.7	.8	.5	1.8	2.0	2.5	2.4
	S. F.	1.2	0.8	1.6	.8	3.2	3.4	2.7	2.1
	ORINA	2.0	0.9	1.9	.9	2.2	1.2	3.2	2.3
	C.PESO	-12.2	4.0	-11.0	1.7	6.7	6.9	3.8	2.7

EXPERIMENTO 7:**Tabla 7.0: Medias y Desviaciones típicas para los 8 grupos de sujetos en las variables dependientes estudiadas a lo largo de los días.**

GRUPOS CONTROL		C-S/C-SF		C-S/C-OX		C-C/C-SF		C-C/C-OX		
		Media	Sx	Media	Sx	Media	Sx	Media	Sx	
LÍNEA BASE	AGUA	31.6	4.2	35.9	12.4	28.7	5.5	28.7	9.0	
	COMIDA	26.8	6.9	27.7	3.7	27.2	4.5	27.3	5.7	
M E J T A A U B L O A L S I C A S	DIA 1	AGUA	22.5	13.8	36.2	12.5	26.2	8.3	27.1	11.5
		ORINA	26.4	13.2	40.7	12.5	17.6	7.9	22.2	7.0
		COMIDA					23.3	10.9	23.4	9.1
	DIA 2	AGUA	31.2	23.4	58.2	14.3	24.5	6.4	32.6	10.9
		ORINA	22.7	19.1	40.2	13.3	11.4	5.5	14.5	9.2
		COMIDA					21.2	11.4	25.8	5.7
J D A I U V L I A D S U A L E S	DIA 3	AGUA	55.9	18.8	49.5	8.7	31.1	5.0	32.4	10.1
		COMIDA	31.8	4.1	31.5	6.1	25.8	8.3	25.4	4.9
	DIA 4	AGUA	42.2	24.3	35	7.0	30	3.0	32.2	8.7
		COMIDA	28.6	5.1	28.7	5.8	23.3	5.8	25.5	4.1
	DIA 5	AGUA	30.3	6.9	31.1	9.4	35.1	11.9	32.5	10.2
		COMIDA	29.4	8.0	29.9	4.8	23.5	4.5	27.0	4.1
	DIA 6	AGUA	32.7	6.9	31.6	5.2	43.2	23.9	31.9	12.5
		COMIDA	26.4	6.9	29.0	3.9	24.9	4.4	27.1	3.6
	DIA 7	AGUA	34.6	7.5	35	8.2	43.6	20.2	32.2	10.8
		COMIDA	27.8	6.0	27.8	4.1	26.2	5.1	28.1	3.0
	DIA 8	AGUA	34.4	3.4	36.5	7.5	42	18.7	31	8.2
		COMIDA	27.1	5.4	32.7	3.3	25.2	5.4	27.5	3.2
	DIA 9	AGUA	33.7	5.6	31.4	4.4	37.1	12.8	32.7	7.9
		COMIDA	27.6	5.6	29.3	4.3	24.5	2.8	29.3	6.9

TABLA 7.0 (Cont.)

GRUPOS EM		EM-S/C-SF		EM-S/C-OX		EM-C/C-SF		EM-C/C-OX		
		Media	Sx	Media	Sx	Media	Sx	Media	Sx	
LÍNEA BASE		AGUA	32.5	5.6	33.1	4.1	32.1	4.9	30.1	3.9
		COMIDA	27.6	5.5	25.8	3.4	27.3	4.4	31.6	3.1
M E J T A A U B L O A L S I C A S	DIA 1	AGUA	135.4	55.4	67.7	57.6	143.6	55.9	130.5	62.2
		ORINA	109.4	46.9	65.9	50.1	106.5	50.6	90.6	41.5
		COMIDA					32.2	18.6	34.0	7.9
	DIA 2	AGUA	73.1	42.2	53	36.4	109.5	46.3	125.5	47.0
		ORINA	61.6	39.5	42.4	33.1	69.9	36.2	90.2	40.0
		COMIDA					33.8	15.5	41.5	10.5
J D A I U V L I A D S U A L E S	DIA 3	AGUA	108.7	55.0	65.2	17.0	115.2	39.4	131.2	64.7
		COMIDA	35.7	9.5	35.5	9.2	40.6	17.5	43.4	10.1
	DIA 4	AGUA	68.2	37.8	55.1	20.0	97.5	38.6	129.1	41.1
		COMIDA	35.2	10.5	35.7	9.0	39.8	11.6	41.9	6.1
	DIA 5	AGUA	84.6	26.8	61	12.5	98	23.3	97.2	37.2
		COMIDA	38.7	10.2	35.1	4.2	40.7	10.7	43.0	4.3
	DIA 6	AGUA	128	48.8	95.2	9.0	124.9	51.5	135.9	55.0
		COMIDA	40.2	7.4	41.0	5.9	41.1	7.9	48.7	7.3
	DIA 7	AGUA	173.7	56.5	122.7	26.3	154.1	56.7	159.4	85.2
		COMIDA	41.1	7.2	43.7	6.1	44.5	10.9	42.1	4.4
	DIA 8	AGUA	197.5	61.6	132.9	35.1	162.9	62.1	153.4	73.0
		COMIDA	41.2	11.8	47.7	8.5	40.3	12.6	44.4	5.1
	DIA 9	AGUA	207.0	67.1	138.6	31.2	181.1	71.2	180.1	73.5
		COMIDA	44.0	8.4	47.3	7.7	46.0	8.7	42.8	10.4

EXPERIMENTO 8:**Tabla 8.0:** Medias y Desviaciones típicas para las variables dependientes registradas durante los días basal y experimentales para los 4 grupos de sujetos:

GRUPOS		C-SF		C-OX		EM-SF		EM-OX	
		Media	Sx	Media	Sx	Media	Sx	Media	Sx
LINEA	Agua	30.6	5.8	29.6	6.1	33.0	7.2	31.6	7.7
	Comida	23.9	4.3	26.7	3.7	24.4	5.4	27.5	4.7
BASE	Peso	313.4	23.8	304.7	13.2	338.9	31.1	351.7	15.2

PRIMERA FASE			C-SF		C-OX		EM-SF		EM-OX	
			Media	Sx	Media	Sx	Media	Sx	Media	Sx
M E T A B Ó L I C A S	D I A 1	Agua	15.4	6.2	17.2	6.9	94.3	39.4	88.3	38.2
		Orina	15.4	7.8	20.9	5.4	79.3	37.5	74.9	35.2
		Peso	280.1	18.9	275.6	15.6	303.3	26.1	313.6	13.9
	D I A 2	Agua	14.9	6.5	43.8	15.2	65.9	34.2	47.6	20.1
		Orina	11.3	5.5	35.6	12.3	53.8	32.8	42.8	17.1
		Peso	272	19.7	259.1	14.6	290.6	26.5	296.3	13.5
J A U L A S I N D I V I D U A L E S	D I A 3	Agua	39.1	10.0	43.5	7.6	81.1	34.8	86.3	48.9
		Comida	25.4	6.4	26.3	6.1	30.8	5.8	34.0	10.5
		Peso	293.0	21.5	284.7	11.9	314.0	29.5	327.0	14.3
	D I A 4	Agua	28.7	3.2	34.2	11.0	82.7	24.4	70.0	23.5
		Comida	25.0	4.1	26.3	3.5	36.0	5.4	35.0	7.8
		Peso	295.6	19.2	293.5	11.8	330.3	35.5	346.6	16.2
	D I A 5	Agua	28.4	7.6	32.6	11.3	96.7	38.3	71.9	25.4
		Comida	24.3	4.6	25.7	6.8	37.7	6.9	39.7	11.2
		Peso	303.7	22.8	300.1	12.1	337.7	39.2	354.4	16.2
	D I A 6	Agua	28.1	3.8	33.5	11.8	125.4	40.8	98.4	42.4
		Comida	25.8	3.4	28.7	4.5	37.8	7.1	42.7	11.1
		Peso	307.4	22.7	306.4	12.1	342.9	42.3	358.1	20.5
	D I A 7	Agua	32.0	6.0	34.2	11.5	160.7	44.9	116.7	51.1
		Comida	26.5	3.5	27.3	5.7	42.8	11.2	43.6	12.4
		Peso	312.4	22.2	312.1	14.0	345.6	49.3	367.6	29.4
	D I A 8	Agua	29.9	5.9	41.4	10.1	173.3	42.8	131.4	59.3
		Comida	26.4	2.9	28.0	4.3	45.3	8.9	45.7	10.3
		Peso	315.2	22.4	317.2	15.8	354.3	48.6	375.7	34.0
	D I A 9	Agua	32.7	10.2	37.6	13.0	172.7	40.4	120.7	56.8
		Comida	27.3	3.9	28.9	4.3	45.8	10.2	45.7	11.1
		Peso	320.6	24.1	321.9	16.7	363.9	51.6	384.7	38.4

GRUPOS		C-SF		C-OX		EM-SF		EM-OX		
		MEDIA	SX	MEDIA	SX	MEDIA	SX	MEDIA	SX	
C O N C O M I D A	D	Agua	33.4	8.5	39.9	12.5	164.1	34.0	123.7	45.4
	I	Comida	25.5	3.1	27.6	4.7	48.9	12.6	47.8	15.5
	A	Peso	326.5	22.0	327.4	20.2	370.7	53.3	391.9	41.4
	D	Agua	33.6	7.7	41.2	11.1	159.0	26.0	116.3	32.4
	I	Comida	26.3	2.6	27.7	5.0	48.1	13.3	50.9	14.2
	A	Peso	331.0	24.5	333.1	20.1	380.9	57.9	402.1	45.0
	D	Agua	35.6	14.5	36.2	7.6	168.7	46.8	127.9	36.2
	I	Comida	25.3	2.4	27.8	4.1	51.1	14.7	52.0	17.1
	A	Peso	336.1	24.8	338.6	21.9	387.4	58.4	411	47.9
	D	Agua	40.6	20.4	40.5	11.2	167.1	30.5	126.6	32.2
	I	Comida	27.0	2.7	27.8	3.9	51.9	16.5	51.0	15.5
	A	Peso	340.5	25.3	344.5	24.3	394.3	61.0	417.7	51.3
	D	Agua	38.5	15.2	50.0	23.0	169.4	43.7	126.6	29.1
	I	Comida	26.6	2.2	27.5	6.2	52.2	14.5	53.1	16.2
	A	Peso	343.0	27.0	348.5	30.5	403.3	65.6	427.0	58.1
	D	Agua	32.1	11.8	40.6	11.1	152.7	30.7	116.1	24.8
	I	Comida	25.3	2.9	28.5	5.1	49.3	17.1	49.3	14.0
	A	Peso	345.1	26.2	355.0	30.2	406.9	71.3	435.3	60.1
	D	Agua	41.9	20.2	39.5	11.2	148.4	39.2	113.6	18.5
	I	Comida	25.9	2.4	27.9	5.1	49.9	16.8	48.0	15.4
A	Peso	348.6	26.	359.4	32.5	419.4	77.6	442.9	63.3	
D	Agua	35.6	11.9	44.2	22.1	152.0	44.6	112.9	31.2	
I	Comida	25.4	2.1	27.4	4.3	49.7	16.9	49.9	16.1	
A	Peso	352.0	28.8	364.7	34.3	426.0	78.3	449.7	68.4	
D	Agua	37.4	13.0	45.4	24.0	150.6	42.2	103.7	25.3	
I	Comida	25.8	2.2	28.1	4.2	49.8	18.7	45.6	16.1	
A	Peso	357.5	32.1	369.6	35.3	437.0	81.2	455.4	69.2	
D	Agua	40.6	14.5	45.6	18.8	150.1	42.6	111.6	24.4	
I	Comida	26.3	3.3	27.5	4.8	51.7	19.0	45.9	17.3	
A	Peso	362.6	33.6	373.6	37.9	442.9	83.8	462.7	72.3	
D	Agua	31.4	8.9	44.6	13.4	151.6	46.1	108.7	21.1	
I	Comida	25.1	4.0	28.3	3.9	48.5	17.0	43.9	11.1	
A	Peso	370.1	34.7	377.7	39.0	451.6	85.7	469.7	72.1	

SEGUNDA FASE			C-SF		C-OX		EM-SF		EM-OX	
			Media	Sx	Media	Sx	Media	Sx	Media	sx
M E T A B Ó L I C A S	D I A 21	Agua	24.2	16.9	14.1	4.8	36.0	12.2	30.4	12.9
		Orina	26.1	18.4	15.6	4.0	47.7	16.8	38.8	10.9
		Peso	343.5	31.6	347.5	35.5	406.7	71.9	431.1	60.2
	D I A 22	Agua	24.1	16.9	47.5	18.0	27.7	6.2	26.3	10.6
		Orina	21.3	18.6	39.9	14.9	22.1	7.9	21.3	11.7
		Peso	329.6	30.7	335.9	36.6	397.6	70.8	416.4	60.4
GRUPOS			C-SF		C-OX		EM-SF		EM-OX	
			MEDIA	SX	MEDIA	SX	MEDIA	SX	MEDIA	SX
J A U L A S I N D I V I D U A L E S	D I A 23	Agua	46.0	8.9	58.9	18.1	94.9	21.9	75.7	21.0
		Comida	31.8	3.9	33.2	4.2	32.0	11.5	29.6	9.1
		Peso	353.5	35.0	365.4	41.7	420.0	81.4	443.7	69.9
	D I A 24	Agua	28.7	5.6	37.6	14.8	105.1	35.3	74.1	16.3
		Comida	26.1	5.2	28.5	5.3	33.6	14.1	28.6	8.3
		Peso	358.9	36.2	371.2	42.7	429.9	86.0	450.3	75.4
	D I A 25	Agua	32.7	12.2	34.6	9.5	114.0	38.6	84.7	23.0
		Comida	26.4	2.4	29.9	6.0	38.1	15.1	34.9	12.0
		Peso	363.0	36.8	373.6	42.1	436.9	92.0	455.3	80.6
	D I A 26	Agua	31.6	7.7	37.5	9.7	118.3	39.1	83.3	20.3
		Comida	25.4	3.8	29.4	5.9	37.2	16.5	33.3	10.2
		Peso	364.6	37.1	381.2	44.2	442.3	93.8	463.6	82.7
	D I A 27	Agua	30.9	10.1	40.0	10.5	125.9	34.3	93.9	26.1
		Comida	25.6	3.4	28.3	4.2	40.0	15.3	36.7	13.0
		Peso	370.7	41.3	386.1	46.3	450.7	98.9	466.7	82.2
	D I A 28	Agua	31.2	7.8	39.1	11.4	115.9	38.9	94.6	30.2
		Comida	26.5	6.2	28.3	4.2	39.8	16.8	36.5	13.7
		Peso	372.7	39.5	388.0	47.4	454.3	101.7	474.3	88.7
	D I A 29	Agua	30.9	10.9	39.0	9.1	122.9	41.3	88.0	23.2
		Comida	27.2	3.4	29.7	5.3	42.0	18.6	37.3	12.3
		Peso	377.4	40.9	391.4	48.0	462.0	107.9	477.7	88.2
	D I A 30	Agua	36.6	13.8	38.5	7.5	116.0	39.7	89.7	25.7
		Comida	27.8	2.3	28.4	3.1	40.0	18.0	38.0	12.1
		Peso	382.1	42.7	399.7	54.2	467.3	108.2	486.9	95.6
D I A 31	Agua	35.6	13.3	39.2	10.2	111.7	32.2	89.3	23.9	
	Comida	24.1	4.5	28.8	4.9	41.7	16.9	37.4	11.5	
	Peso	384.2	43.9	401.4	52.8	475.9	113.1	491.0	96.8	
D I A 32	Agua	31.9	9.5	36.9	8.2	118.9	36.4	90.7	21.1	
	Comida	26.9	3.8	30.0	4.6	41.0	16.3	37.0	12.5	
	Peso	385.7	45.0	406.4	52.9	481.7	116.8	494.1	99.9	
D I A 33	Agua	31.6	9.3	42.1	20.3	111.3	35.4	86.7	20.4	
	Comida	25.3	4.1	27.5	4.4	39.0	15.4	35.5	12.9	
	Peso	388.5	45.2	412.7	55.3	483.7	118.8	496.3	99.4	

		GRUPOS	C-SF		C-OX		EM-SF		EM-OX	
C	D	Agua	31.5	9.8	39.2	14.6	113.9	35.6	88.3	20.5
	I 34	Comida	25.5	4.1	28.1	4.9	41.0	17.8	36.5	15.9
	A	Peso	392.9	45.0	413.1	53.4	494.0	124.7	499.4	102.2
O	D	Agua	32.2	9.6	37.1	11.2	113.6	28.1	89.4	21.3
	I 35	Comida	25.6	3.5	27.5	4.8	38.0	13.1	38.1	13.6
	A	Peso	395.4	43.2	407.5	61.2	497.0	128.2	505.3	106.2
N	D	Agua	29.5	11.6	35.9	9.8	106.4	30.9	88.1	21.4
	I 36	Comida	25.5	3.6	25.9	5.4	37.3	13.9	37.1	12.7
	A	Peso	399.4	41.6	412.6	61.5	503.3	129.9	509.0	105.5
C	D	Agua	32.2	10.2	35.7	11.6	110.4	33.5	87.1	19.0
	I 37	Comida	24.9	2.3	26.4	4.3	37.4	13.7	35.6	11.4
	A	Peso	402.0	40.5	413.1	64.1	503.4	133.0	516.4	113.4
O	D	Agua	32.7	10.6	39.0	9.6	109.7	42.8	90.4	20.3
	I 38	Comida	25.2	4.2	26.6	4.8	36.2	13.1	34.6	10.3
	A	Peso	406.7	39.3	416.7	63.5	511.1	134.3	522.1	121.3
M	D	Agua	32.4	6.8	36.0	10.5	114.0	41.7	91.7	23.6
	I 39	Comida	25.3	4.2	28.1	4.6	35.2	11.6	37.9	13.4
	A	Peso	411.1	37.7	419.6	62.2	513.6	134.2	528.4	126.5
I	D	Agua	35.6	10.8	36.1	13.5	105.6	34.2	85.7	27.1
	I 40	Comida	25.1	3.7	26.1	4.6	37.1	12.7	37.0	9.2
	A	Peso	415.6	36.2	422.6	62.6	516.6	138.2	530.9	127.4

ANEXO II:

ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

µg: Microgramo	mA: Mliamperio
%: Tanto por ciento	MePO: Núcleo Preóptico Mediano
AI: Angiotensina I	mEq: Miliequivalentes
AII: Angiotensina II	ml: Mililitros
ACTH: Adrenocorticotropina	NLST: Núcleo Lecho de la estría terminal
AD: Agua Destilada	NTS: Núcleo del Tracto Solitario
ADH: Hormona Antidiurética (también AVP o Vasopresina)	OCV: Órgano circunventricular
ANP: Péptido Natriurético atrial	OSF: Órgano Subfornical
AP: Área Postrema	OVL: Órgano Vasculoso de la lámina terminal
AV3V: Anteroventral al tercer ventrículo	OX: Oxitocina
AVP: Vasopresina (también ADH u Hormona Antidiurética)	PAM: Presión arterial media
C/C: Con comida	PBN: Núcleo Parabraquial
CINa: Cloruro sódico	PEG: Glicol de Polietileno
cm: Centímetro	pmol/l: picomol/litro
CRF: Factor liberador de corticotropina	PSD: Presión arterial diastólica
dDAVP: 1-desamino 8-arginina vasopresina-desmopresina acetato	PSS: Presión arterial sistólica
DI: Diabetes Insípida	PVT: Núcleo Paraventricular
EM: Eminencia Media	s.c.: Subcutáneo
g: Gramo	S/C: Sin comida
HT: Hipotálamo	SF: Suero Fisiológico
i.c.: Intracerebral	SON: Núcleo Supraóptico
i.c.v.: Intracerebroventricular	SNA: Sistema Nervioso Autónomo
i.v.: Intravenoso	SNC: Sistema Nervioso Central
Kg: Kilogramo	TC: Tronco Cerebral
LCR: Líquido Cefalorraquídeo	TFG: Tasa de filtración glomerular
	U.I.: Unidad Internacional

REFERENCIAS

BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHAMSON, DR (1987). Structure and development of the glomerular capillary wall and basement membrane. **American Journal of Physiology**; **253**: F783-.
- ADACHI, K; MAJIMA, M; KATORI, M & NISHIJIMA, M (1995). Oxytocin-induced natriuresis mediated by the renal kallikrein-kinin system in anesthetized male rats. **Jpn. J. Pharmacol.**, **67**: 243-252.
- ADOLPH, EF (1947). Urges to eat and drink in rats. **American J. Physiol**, **151**: 110-125.
- ADROGUÉ, HJ Y MADIAS, NE (2000). Hyponatremia. **The New England Journal of Medicine**, **342 (21)**: 1581-1589.
- AGUILERA, G & CATT, KJ (1978). Regulation of aldosterone secretion by the rennin-angiotensin system during sodium restriction in rats. **PNAS**, **75**: 4057-.
- AKINS, V & BEALER, S. (1990). Brain histamine regulates pressor responses to peripheral hyperosmolality. **Am. J. Physiol.**, **28**: R507-R513.
- ALEXANDER, N & MORRIS, M (1986). Increased plasma vasopressin in sinoaortic denervated rats. **Neuroendocrinology**, **42**: 361-367.
- ALEXANDER, N & MORRIS, M (1988). Effects of cronic sinoaortic denervation on central vasopressin and catecholamine system. **American Journal of Physiology**, **255**: R768-R773.
- ALLEN, MA & FERGUSON, AV (1996). In vitro recordings from area postrema neurons demonstrate responsiveness to adrenomedullin. **American Journal of Physiology**, **270**: R920-R925.
- ALLEN, MA; MOELLER, I; JENKINS, TA; ZHUO, J; ALDRED, GP; CHAI, SY & MENDELSON, FAO (1998). Angiotensin receptors in the nervous system. **Brain Research Bulletin**, **47 (1)**: 17-28.
- ALLEN, MA; SMITH, PM & FERGUSON, AV (1997). Adrenomedullin microinjection into the area postrema increases blood pressure. **American Journal of Physiology**, **272**: R1698-R1703.
- ALPER, RH; DESCHEPPER, CF & GANONG, WF (1986). Effect of hypophysectomy on dipsogenic stimuli: evidence for angiotensin supersensitivity. **American Journal of Physiology**, **251**: R53-R58.
- AMAYA, F; TANAKA, M; TAMADA, Y; TANAKA, Y; NILAVER, G Y IBATA, Y (1998). The influence of salt loading on vasopressin gene expresión in magno- and parvocellular hypothalamic neurons: an immunocytochemical and in situ hybridization analysis. **Neuroscience**, **89 (2)**: 515-523.

388 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMICO, JA; MANTELLA, RC & VOLLMER, RR (2003). Consumption of solutions containing sodium chloride is enhanced in female oxytocin-deficient mice. **Behavioral Neuroscience**, **117** (1): 32-37.
- AMICO, JA; MORRIS, M & VOLLMER, RR (2001). Mice deficient in oxytocin manifest increased saline consumption following overnight fluid deprivation. **American Journal of Physiology**, **281**: R1368-1373.
- ANDERSEN, SE; ENGSTROM, T & BIE (1992). Effects on renal sodium and potassium excretion of vasopressin and oxytocin in conscious dogs. **Acta Physiologica Scandinavica**, **145**: 267-274.
- ANDERSON, B (1953). The effect of injections of hypertonic ClNa solutions into different parts of the hypothalamus of goats. **Acta Physiologica Scandinavica**, **28**: 188-201.
- ANDERSON, B., LEKSEL, L. G & LISHAJKO, F. (1975). Perturbations in fluid balance produced by medial placed forebrains lesions. **Brain Res.**, **99**: 261-275.
- ANDERSON, B., OLSSON, K & WAGNER, R. G. (1967). Dissimilarity between the central control of thirst and of the release of antidiuretic hormone. **Acta Physiol. Scand.**, **71**: 57-64.
- ANDERSON, RJ; CADNAPAPHORNACHI, P; HARBOTTLE, JA ET AL (1974). Mechanism of effect of thoracic inferior vena cava constriction on renal water excretion. **J Clin Invest**, **54**: 1473-.
- ANDREW, RD; FAGAN, M; BALLYK, BA & ROSEN, AS (1989). Seizure susceptibility and the osmotic state. **Brain Research**, **498**: 175-180.
- ANTUNES-RODRIGUES, J; MACAHDO, BH; ANDRADE, HA; MAMAD, H; RAMALHO, MJ; REIS, LC; SILVA-NETTO, CR; FAVARETTO, ALV; GUTKOWSKA, J & MCCANN, SM (1992). Carotid-aortic and renal baroreceptors mediate the atrial natriuretic peptide release induced by blood volume expansion. **PNAS**, **89**: 6828-6831.
- ANTUNES-RODRIGUES, SE; MCCANN, SM & SAMSON, WK (1986). Central administration of atrial natriuretic factor inhibits saline preference in the rat. **Endocrinology**, **118**: 1726-1728.
- ANTUNES-RODRIGUES, J; PICANCO-DINIZ, DWL; FAVARETTO, ALV; GUTKOWSKA, J & MCCANN, SM (1993). Brain atrial natriuretic peptide neurons play an essential role in volume expansion-induced release of atrial natriuretic peptide and natriuresis. **Neuroendocrinology**, **58**: 696-700.
- ANTUNES-RODRIGUES, J; RAMALHO, MJP; REIS, LC; MENANI, JV; TURRIN, MQA; GUTOWSKA, J Y MCCANN, SM (1991). Lesions of the hypothalamus and pituitary inhibit volume expansion-induced release of ANP. **PNAS**, **88**: 2956-2960.
- ARAVICH, PF Y SCLAFANI, A (1983). Paraventricular hypothalamic lesions and medial hypothalamic knife cuts produce similar hyperphagic syndromes. **Behavioral Neuroscience**, **97**: 970-983.

- ARGIOLAS, A & GESSA GL (1991). Central functions of oxytocin. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, **15**: 217-231.
- ARLETTI,R; BENELLI,A & BERTOLINI,A (1989). Influence of oxytocin on feeding behavior in the rat. **Peptides**, **10(1)**: 89-93.
- ARLETTI,R; BENELLI,A & BERTOLINI, A (1990). Oxytocin inhibits food and fluid intake in rats. **Physiology and Behavior**, **48**: 825-830.
- ARLETTI,R; BENELLI,A Y BERTOLINI,A (1992).Oxytocin involvement in male and female sexual behavior. **Annals of the New York Academy of Sciences**; **652**: 180-93.
- ARLETTI,R; BENELLI,A; MAZZAFERRO, M; CALZA, L; GIARDINO, L & BERTOLINI, A (1993). The effect of Oxytocin of feeding, drinking and male copulatory behavior is not diminished by neonatal monosodium glutamate. **Hormones and Behavior**, **27**: 499-510.
- ARMSTRONG, S (1980). A chronometric approach to the study of feeding behavior. **Neurosc. Biobehav. Rev.**, **4**: 27-53.
- ARMSTRONG, WE (1995). Hypothalamic Supraoptic and paraventricular nuclei. En Paxinos, G (Ed.). **The rat Nervous System**. Cap. 18: págs. 377-390.
- ARMSTRONG, WE (1995b). Morphological and electrophysiological classification of hypothalamic supraoptic neurons. **Progress in neurobiology**, **47 (4-5)**:291-339.
- ARMSTRONG, WES; WARACH, S; HATTON, GI Y MCNEILL, TH (1980). Subnuclei in the rat hypothalamic paraventricular nucleus: a cytoarchitectural, horseradish peroxidase and immunocytochemical analysis. **Neuroscience**, **5**:1931-1958.
- ATKINSON, J; KAESERMANN, HP; LAMBELET, J; PETERS, G & PETERS-HARFELI, L (1979). The role of circulating rennin in drinking in response to isoprenaline. **Journal of Physiology**, **291**: 61-.
- AUCKLAND, K; BOGUSKY, RT & RENKIN, EM (1994). Renal cortical interstitium and fluid absorption by peritubular capillaries. **American Journal of Physiology**, **266**: F175-
- AVRITH, DB & FITZSIMONS, JT (1980). Increased sodium appetite in the rat induced by intracranial administration of components of the rennin-angiotensin system. **Journal of Physiology** **301**: 349-364.
- AVRITH, DB; WISELKA, MJ & FITZSIMONS, JT (1980B). Increased sodium appetite in adrenalectomized or hypophysectomized rats after intracranial injection of renin or angiotensin II. **Journal of Endocrinology**, **87**: 109-112.
- BACIC, A & GLUNCIC, I. (1999). Disturbances in plasma sodium in patients with war head injuries. **Milit. Medic.**, **164**: 214-216.
- BAERTSCHI, AJ & PENCE, RA (1995). Gut-brain signaling of water absorption inhibits vasopressin in rats. **Am. J. Physiol.** **268**: R236-.

390 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAISET, A & MONTASTRUC, P. (1976). Les facteurs de la sécrétion antidiurétique neurohypophysaire. **J. Physiol.**, **72** : 475-488.
- BAKKER, H & WARING, H. (1976). Experimental diabetes insipidus in a marsupial macropus eugenii (desmarest). **J. Endocrinol.**, **69**: 149-157.
- BALMENT, RJ; BRIMBLE, MJ & FORSLING, ML (1980). Release of oxytocin induced by salt loading and its influence on renal excretion in the male rat. **Journal of Physiology**, **308**: 439-444.
- BALMENT, RJ; BRIMBLE, MJ; KELLY, LP & MUSABAYANE, CT (1985b). Potentiation by oxytocin of the natriuretic response to vasopressin in the rat. **Journal of Physiology**, **661**: 57P.
- BALMENT, R., BRIMBLE, M., FORSLING, M., KELLY, L & MUSABAYANE, C. (1986). The influence of neurohypophysial hormones on renal function in the acutely hypophysectomized rat. **J. Physiol.**, **381**: 439-452.
- BALMENT, RJ; BRIMBLE, MJ; FORSLING, ML; KELLY, LP & MUSABAYANE, CT (1986b). A synergistic effect of oxytocin and vasopressin on sodium excretion in the neurohypophysectomized rat. **Journal of Physiology**, **381**: 453-464.
- BALMENT, RJ; BRIMBLE, MJ; FORSLING, ML & MUSABAYANE, CT (1985). Renal sodium retention in acutely hypophysectomized rats. **Journal of Physiology**, **661**: 56P.
- BARBERIS, C; MOUILLAC, B & DURROUX, T (1998). Structural bases of vasopressin/oxytocin receptor function. **Journal of Endocrinology**, **156**: 223-229.
- BARE, JK (1949). The specific hunger for sodium chloride in normal and adrenalectomized white rats. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, **42**:242-253.
- BASTL, CP & HAYSLETT, JP (1992). The cellular action of aldosterone in target epithelia. **Kidney International**, **42**: 250-.
- BAUMAN, JW; GUYOT-JEANNIN, C Y DUBROWLSKI, J (1964). Nutritional state and urine concentrating ability in the rat. **J. Endocrinol.**, **30**: 147-148.
- BAUMBACH, L & SKOTT, O (1986). Renin release from different parts of rat afferent arterioles in vitro. **American Journal of Physiology**, **251**: F12-
- BAYLIS, PH (1987). Osmoregulation and control of vasopressin secretion in healthy humans. **American Journal of Physiology**, **253**: R671-R678.
- BAYLIS, P & CHEETHAM, T. (1998). Diabetes insipidus. **Arch. Dis. Child.**, **79**: 84-89.
- BEAGLEY, GH & HATTON, GI (1992). Rapid morphological changes in supraoptic nucleus and posterior pituitary induced by a single hypertonic saline injection. **Brain Research Bulletin**, **28**: 613-618.
- BEALER, S. (2000). Systemic angiotensin II and volume expansion release norepinephrine in the preoptic recess. **Brain Res.**, **864**: 291-297.

- BEALER, S & CROWLEY, W. (1999). Stimulation of central and systemic oxytocin release by histamine in the paraventricular hypothalamic nucleus: evidence for an interaction with norepinephrine. **Endocrinology**, **140**: 1158-1164. (105).
- BEALER, S. L., HAYWOOD, J. R., GRUBER, K. A., BUCHALEW, W. H., FINK, G. D., BRODY, M. J & JOHNSON, A. K. (1983). Preoptic-hypothalamic periventricular lesions reduce natriuresis to volume expansion. **Am. J. Physiol.**, **244**: R51-R57.
- BECK, B. (2000). Neuropeptides and obesity. **Nutrition**, **16**: 916-923.
- BEEUWKES, R & BONVENTRE, JV (1975). Tubular organization and vascular-tubular relations in the dog kidney. **American Journal of Physiology**, **229**: 695-
- BENELLI, A; BERTOLINI, A; ARLETTI, R (1991). Oxytocin-induced inhibition of feeding and drinking: no sexual dimorphism in rats. **Neuropeptides**, **20(1)**:57-62
- BENNETT, HPJ & MCMARTIN, C (1979). Peptide hormones and their analogues: distribution, clearance from the circulation, and inactivation in vivo. **Pharmacological Review**, **30 (3)**: 247-292.
- BERNAL, A (1997). Procesos regulatorios (ingestivos y de temperature corporal) en animales tuberomamilaes mediales sometidos a cambios en la temperature ambiental. **Proyecto de Iniciación a la Investigación**. Granada.
- BERNARD, CA (1865). **An introduction to the study of Experimental Medicine**. New York: Dover.
- BERRIDGE, MJ (1993). Inositol triphosphate and calcium signalling. **Nature**, **361**: 315-
- BICHET, D., BIRNBAUMER, M AND LONERGAN, M ET AL. (1994). Nature and recurrence of AVOR2 mutations in X-linked nephrogenic diabetes insipidus. **Am. J. Hum. Genet.**, **55**: 278.
- BICHET, DG; RAZI, M; ARTHUS, MF; LONERGAN, M; TITTLE, P; SMILEY, RD; ROCK, G Y HIRSCH, DJ (1989). Epinephrine and dDAVP administration in patients with congenital nephrogenic diabetes insipidus. Evidence for a pre-cyclic AMP V2 receptor defective mechanism. **Kidney International**, **36**: 859-866.
- BIE, P., NIELS,C & SANDGAARD, F . (2000). Determinants of the natriuresis after acute, slow sodium loading in conscious dogs. **Am. J. Physiol.**, **278**: R1-R10.
- BIE, P; SECHER, NH; ASTRUP, A & WARBERG, J (1986). Cardiovascular and endocrine responses to head-up tilt and vasopressin infusions in humans. **American Journal of Physiology**, **251**: R735-
- BINKLEY, SA (1995). Vasopressin and Oxytocin. En SA Binkeley (Ed.). **Endocrinology**. Cap. 5. Ed. Harper Collins.
- BISSET, G & CHOWDREY, H. (1988). Control of release of vasopressin by neuroendocrine reflexes. **Q. J. Exp. Physiol.**, **73**: 811-872.

392 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BJÖRKSTRAND, E; ERIKSSON, M Y UVNÄS-MOBERG, K (1992). Plasma levels of oxytocin after food deprivation and hypoglycaemia and effects of 1-deamino-2-D-Tyr-(Oct)-4-Thr-8-Orn-oxytocin on blood glucose in rats. **Acta Physiol. Scand.**, **144**: 355-359.
- BJÖRKSTRAND, E; HULTING, A Y UVNÄS-MOBERG, K (1997). Evidence for a dual function of oxytocin in the control of growth hormone secretion in rats. **Regul. Pept.**; **69 (1)**:1-5.
- BJÖRKSTRAND, E & UVNÄS-MOBERG, K (1996). Central oxytocin increases food intake and daily weight gain in rats. **Physiology & Behavior**, **59 (4/5)**: 947-952.
- BLACKBURN, RE; DEMKO, AD; HOFFMAN, GE; STRICKER, EM & VERBALIS, JG (1992b). Central oxytocin inhibition of angiotensin-induced salt appetite in rats. **American Journal of Physiology**, **263**: R1347-R1353.
- BLACKBURN, RE; LENG, G & RUSSELL, JA (1987). Control of magnocellular oxytocin neurones by the region AV3V in rats. **Journal of Endocrinology**, **114**: 253-261.
- BLACKBURN, RE; SAMSON, WK; FULTON, RJ; STRICKER, EM & VERBALIS, JG (1993). Central oxytocin inhibition of salt appetite in rats: Evidence for differential sensing of plasma sodium and osmolality. **PNAS USA**, **90**: 10380-10384.
- BLACKBURN, RE; SAMSON, WK; FULTON, RJ; STRICKER, EM & VERBALIS, JG (1995). Central oxytocin and ANP receptors mediate osmotic inhibition of salt appetite in rats. **American Journal of Physiology**, **269**: R245-R251.
- BLACKBURN, RE; STRICKER, EM & VERBALIS, JG (1992). Central oxytocin mediates inhibition of sodium appetite by naloxone in hypovolemic rats. **Neuroendocrinology**, **56**: 255-263.
- BLIGH, J (1986). La defensa contra el calor y el frío. **Mundo Científico**, **60**: 746-754.
- BODE, HH Y CRAWFORD, JD (1969). Nephrogenic diabetes insipidus in North America- the Hopewell hipótesis. **New England Journal of Medicine**: **280**, 750-754.
- BOLLES, RC (1961). The interaction of hunger and thirst in the rat. **J. Comp. Physiol. Psychol.** **54 (5)**: 58-64.
- BOOTH, D (1968). Mechanism of action of norepinephrine in eliciting an eating response on injection into the rat hypothalamus. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, **160**: 336-348.
- BOURQUE, CW & OLIET, SHR (1997). Osmoreceptors in the central nervous system. **Annual Review of Physiology**, **59**: 601-619.
- BOURQUE, C. W., OLIET, S AND RICHARD, D. (1994). Osmoreceptors, osmoreception, and osmoregulation. **Front. Neuroendoc.**, **15**: 231-274.
- BOURQUE, CW; OLIET, SHR & RICHARD, D (1994). Osmoreceptors, Osmoreception and osmoregulation. **Frontiers in Neuroendocrinology**, **15**: 231-274.

- BRAUN-MENÉNDEZ, E; FASCIOLO, JC; LELOIR, LF & MUÑOZ, JM (1940). The substance causing renal hipertensión. **Journal of Physiology**, **98**: 283-298.
- BRENNER, BM; BALLERMAN, BJ; GUNNING, MD & ZEIDEL, ML (1990). Diverse biological actions of atrial natriuretic peptide. **Physiology and Reviews**, **70**: 665-
- BRENNER, BM & HUMES, HD (1977). Mechanics of glomerular ultrafiltration. **The New England Journal of Medicine**, **148**: 277-
- BRESLIN, PAS; KAPLAN, JM; SPECTOR, AC; ZAMBITO, CM Y GRILL, HG (1993). Lick rate análisis of sodium taste-state combinations. **Am. J. Physiology**, **264**: R312-R318.
- BREYER, MD & ANDO, Y (1994). Hormonal signalling and regulation of salt and water transport in the collecting duct. **Annual Review of Physiology**, **56**: 711-739.
- BRIMBLE, MJ; BALMENT, RJ; SMITH, CP; WINDLE, RJ & FORSLING, ML (1991). Influence of oxytocin on sodium excretion in the anaesthetized Brattleboro rat. **Journal of Endocrinology**, **129**: 49-54.
- BRIMBLE, M & DYBALL, R. (1977). Characterization of the responses of oxytocin and vasopressin secreting neurons in the supraoptic nucleus to osmotic stimulation. **J. Physiol.**, **271**: 253-271.
- BRIMBLE, MJ; DYBALL, REJ & FORSLING, ML (1978). Oxytocin release following osmotic activation of oxytocin neurones in the paraventricular and supraoptic nuclei. **Journal of Physiology**, **278**: 69-78.
- BRISKI, K & BRANDT, J. (2000). Oxytocin and vasopressin neurones in principal and accesory hypothalamic magnocellular structures express fos-immunoreactivity in response to acute glucose deprivation. **J. Neuroendocrinol.**, **12**: 409-414.
- BRONSTEIN, M., MALEBRANCHE, B., CUNHA NETO, C & MUSOLINO, N. (2000). Diagnosis and treatment of hypothalamic disease. In: Conn, P & Freeman, M (eds). **Neuroendocrinology in Physiology and Medicine**. Humana Press Inc., Totowa.
- BROOKS, F & PICKFORD, M. (1958). The effect of posterior pituitary hormones on the excretion of electrolytes in dogs. **J. Physiol.**, **142**: 468-493.
- BROWN, R., STEVENS, D AND HAAS, H. (2001). The physiology of brain histamine. **Progr. Neurobiol.**, **63**: 637-672.
- BROWNSTEIN, MJ (1983). Biosynthesis of vasopressin and oxytocin. **Ann. Rev. Physiol.** **45**:129-135.
- BROWNSTEIN, MJ; RUSSELL, JT Y GAINER, H (1980). Synthesis, transport and release of posterior pituitary hormones. **Science**, **207**:373-378.
- BRÜCK, K & ZEISBERGER, E (1987). Adaptative changes in thermoregulation in the rat. **Science**, **196**: 998-1000.

394 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRUNNER, H., KUSCHINSKY, G AND PETERS, G. (1956). Der Einfluss von Oxytocin auf die renale Wasser- und Salzausscheidung der Ratte. **Arch. Exp. Path. Pharmacol.**, **228**: 457-473.
- BUDZIKOWSKI, AS; VAHID-ANSARI, F Y LEENEN, HH (1998). Chronic activation of brain areas by high-sodium diet in Dahl salt-sensitive rats. **American Journal of Physiology**, **274 (H43)**: H2046-2052.
- BUGGY, J & FISHER, AN (1974). Evidence for a dual central role for angiotensin in water and sodium intake. **Nature**, **250**: 733-735.
- BUGGY, J & JOHNSON, AK (1977). Preoptic-hypothalamic periventricular lesions: thirst deficits and hypernatremia. **American Journal of Physiology**, **233**: R44-R52.
- BUGGY, J & JOHNSON, AK (1978). Angiotensin-induced thirst: effects of third ventricular obstruction and periventricular ablation. **Brain Research**, **149**: 117-128.
- BUIJS, RM (1978). Intra- and extrahypothalamic vasopressin and oxytocin pathways in the rat. **Cell and Tissue Research**, **192**:423-435.
- BUIJS, RM Y VAN HEERIKHUIZE, JJ (1982). Vasopressin and oxytocin in the brain- a synaptic event. **Brain Research**, **252**: 71-76.
- BUMA, P Y NIEUWENHUYIS, R (1988). Ultrastructural characterization of exocytotic release in different layers of the median eminence of the rat. **Cell and Tissue Research**, **252**: 107-114.
- BURLET, AJ; JHANWAR-UNIYAL, M; CHAPLEUR-CHATEAU, M; BURLET, CR Y LEIBOWITZ, SF (1992). Effect of food deprivation and refeeding on the concentration of vasopressin and oxytocin in discrete hypothalamic sites. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, **43**: 897-905.
- CALDEIRA, JC & FRANCI, CR (2000). Prolactin and corticosterone secretion in response to acute stress after paraventricular nucleus lesion by ibotenic acid. **Brain Research Bulletin**, **52 (6)**: 483-489.
- CAMARGO, L. A & ABRAO, W. (2001). Role of the alfa1- and alfa2-adrenoceptors of the paraventricular nucleus on the water and SALT intake, renal excretion, and arterial pressure induced by angiotensin II injection into the medial septal area. **Brain Res. Bull.**, **54**: 595-602.
- CARLSON, NR (1999). **Fisiología de la conducta**. Ariel Neurociencia: Barcelona.
- CARR, WJ (1952). The effect of adrenalectomy upon the NaCl taste threshold in rat. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, **45**:377-380.
- CATENA, A; RAMOS, MM Y TRUJILLO, HM (2003). **Análisis multivariado: un manual para investigadores**. Biblioteca Nueva: Madrid.
- CHALLINOR, SM; CAMERON, JL Y AMICO, JA (1992). Pulses of Oxytocin in the Cerebrospinal fluid of rhesus monkeys. **Hormone Research**, **37**:230-235.

- CHAN, WY (1965). Effects of neurohypophysial hormones and their deamino analogues on renal excretion of Na, K and water in rats. **Endocrinology**, **77**: 1097-1104.
- CHAN, WY (1976). An investigation of the natriuretic, antidiuretic and oxytocic actions of neurohypophysial hormones and related peptides: Delineation of separate mechanisms of action and assessment of molecular requirements. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, **196**:746-757.
- CHAN, WY & DU VIGNEAUD, V (1970). Natriuretic, diuretic and anti-arginine-vasopressin (ADH) effects of two analogs of oxytocin: [4-Leucine]-oxytocin and [2,4-diisoleucine]-oxytocin. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, **174**: 541-549.
- CHAN, WY & HRUBY, VJ (1988). Natriuretic action of neurohypophysial peptides: Effects of agonists and antagonists and implications of natriuretic receptor. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, **246 (2)**: 597-602.
- CHAN, WY; HRUBY, VJ; FLOURET, G & DU VIGNEAUD, V (1968). 4-Leucine-oxytocin: Natriuretic, diuretic and antivasopressin polypeptide. **Science**, **161**:280-281.
- CHAPMAN, C; HATTON, GI; HO, YW; MASON, WT & ROBINSON, ICAF (1983). Release of oxytocin and vasopressin from slices of guinea-pig hypothalamus containing supraoptic or paraventricular nuclei. **Journal of Physiology**, **343**: 40P-41P.
- CHAPMAN, DB; THEODOSIS, DT; MONTAGNESE, C; POULAIN, DA & MORRIS, JF (1986). Osmotic stimulation causes structural plasticity of neurone-glia relationships of the oxytocin but not the vasopressin secreting neurones in the hypothalamic supraoptic nucleus. **Neuroscience**, **17 (3)**: 679-686.
- CHARNAY, Y., PERRIN, C., VALLET, P., GREGGIO, B., KOVARI, E AND BOURAS, C. (1999). Mapping of cocaine and amphetamine regulated transcript (cart) mRNA expression in the hypothalamus of elderly human. **J. Chem. Neuroanat.**, **17**: 123-128.
- CHENG, W & NORTH, W. (1986). Responsiveness of oxytocin-producing neurons to acute salt loading in rats: comparisons with vasopressin-producing neurons. **Neuroendocrinology.**, **42**: 174-180.
- CHIARAVIGLIO, E (1976). Effect of rennin-angiotensin system on sodium intake. **Journal of Physiology**, **255**: 57-66.
- CHIARAVIGLIO, E (1979). Drinking behaviour in rats treated with isoprenaline, AII or angiotensin antagonists. **Journal of Physiology**, **296**: 193-202.
- CHIARAVIGLIO, E & PEREZ-GUAITA, M. F. (1984). Anterior third ventricle (A3V) lesions and homeostasis regulation. **J. Physiol., (Paris).**, **79, (6)**: 446-452.
- CHIODERA, P; VOLPI, R; CAIAZZA, A; GIULIANI, N; MAGOTTI, MG & COIRO, V (1998). Arginine vasopressin and oxytocin responses to angiotensin II are mediated by AT1 receptor subtype in normal men. **Metabolism clinical and experimental**, **47 (8)**: 893-896.
- CHOI, S., SPARKS, R., CLAY, M AND DALLMAN, M. (1999). Rats with hypothalamic obesity are insensitive to central leptin injections. **Endocrinology.**, **140**: 4426-4433.

396 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHRIGUER, RS; ANTUNES-RODRIGUES, J & FRANCI, CR (2003). Atrial natriuretic peptide mediates oxytocin secretion induced by osmotic stimulus. **Brain Research Bulletin, 59 (6):** 505-511.
- CHRIGUER, RS; ROCHA, MJA; ANTUNES-RODRIGUES, J & FRANCI, CR (2001). Hypothalamic atrial natriuretic peptide and secretion of oxytocin. **Brain Research, 889:** 239-242.
- CIRIELLO, J & CALARESU, FR (1980). Monosynaptic pathway from cardiovascular neurons in the NTS to the paraventricular nucleus in the cat. **Brain Research, 193:** 529-533.
- CIZEK, LJ (1961). Relationship between food and water ingestion in the rabbit. **Am. J. Physiol., 201:** 557-566.
- CIZEK, LJ Y NOCENTI, MR (1965). Relationship between water and food ingestion in the rat. **American J. Physiol, 208:** 615-620.
- CIZEK, LJ; NOCENTI, MR Y OPARIL, S (1966). Sex difference in fluid exchange during food deprivation in the rabbit. **Endocrinology, 78 (2):** 291-296.
- CIZEK, LJ; SEMPLE, RE; HUANG, KC & GREGERSEN, MI (1951). Effect of extracellular electrolyte depletion on water intake in dogs. **Am. J. Physiol, 164:**415-422.
- COGAN, MG (1990). Angiotensin II: A potent controller of sodium transport in the early proximal tubule. **Hypertension, 15:** 451-
- CONNELL, JMC & FRASER, R (1991). Adrenal corticosteroid synthesis and hypertension. **Journal of Hypertension, 9:** 97-
- CONRAD, KP; GELLAI, M; NORTH, WG & VALTIN, H (1986). Influence of oxytocin on renal hemodynamics and electrolyte and water excretion. **American Journal of Physiology, 251:** F290-F296.
- COOPER, SJ Y HIGGS, S (1994). Neuropharmacology of appetite and taste preferences. En: Legg y Booth (Eds.). **Appetite: neural and behavioural bases.** OUP, pp. 212-241.
- CORBIT, JD (1965). Effect of intravenous sodium chloride on drinking in the rat. **Journal of Comparative and Physiological Psychology, 67:** 3-14.
- CORT, JH (1963). Spontaneous salt intake in the rat following lesions in the posterior hypothalamus. **Physiol. Bohemoslov., 12 (6):** 502-505.
- COWLEY, AW (1992). Long-term control of arterial pressure. **Physiology and Reviews, 72:** 231-
- CROSS, BA & GREEN, JD (1959). Activity of single neurones in the hypothalamus. Effect of osmotic and other stimuli. **Journal of Physiology, 148:** 554-569.
- CROSS, BA; DYBALL, REJ & MOSS, RL (1972). Stimulation of paraventricular neurosecretory cells by oxytocin applied iontophoretically. **Journal of Physiology, 222 (1):** 22P-23P.

- CROSS, BA; NOVIN, D & SUNDSTEN, JW (1969). Antidromic activation of neurones in the paraventricular nucleus by stimulation in the neural lobe of the pituitary. **Journal of Physiology**, **203 (1)**: 68P-70P.
- CROWLEY, WR & ARMSTRONG, W (1992). Neurochemical regulation of oxytocin secretion in lactation. **Endocrine Reviews**, **13 (1)**: 33-65.
- CUMMING, M Y MORRISON, SD (1960). The total metabolism of rats during fasting and re-feeding. **J. Physiol.**, **154**: 219-243.
- CUNEO, RC; ESPINER, EA, NICHOLLS, G ET AL (1987). Effect of physiological levels of ANP on hormone secretion: Inhibition of angiotensin-induced aldosterone secretion and rennin release in normal man. **Journal of Clinical and Endocrinological Metabolism**, **65**: 765-
- CUNNINGHAM, E & SAWCHENKO, P. (1991). Reflex control of magnocellular vasopressin and oxytocin secretion. **Trends Neurosc.**, **14**: 406-411.
- CURTIS, G. (1924). **Arch. Int. Med.**, **34**: 801.
- CURTIS, KS & STRICKER, EM (1997). Enhanced fluid intake by rats after capsaicin treatment. **American Journal of Physiology**, **272**: R704-709.
- CURTIS, KS; KRAUSE, EG Y CONTRERAS, RJ (2001). Altered NaCl taste responses precede increased NaCl ingestion during Na⁺ deprivation. **Physiology and Behavior**, **72**:743-749.
- CURTIS, KS; VERBALIS, JG & STRIKER, EM (1996). Area Postrema lesions in rats appear to disrupt rapid feed-back inhibition of fluid intake. **Brain Research**, **726**: 31-38.
- CZERNICHOW, P., GAREL, C AND LEGER, J. (2000). Thickened pituitary stalk on magnetic resonance imaging in children with central diabetes insipidus. **Horm. Res.**, **53 Suppl**: 61-64.
- DALL VECHIA, S., LAMBERT, P., COUCEYRO, P., KUHAR, M AND SMITH, Y. (2000). Cart peptide immunoreactivity in the hypothalamus and pituitary in monkeys: analysis of ultrastructural features and synaptic connections in the paraventricular nucleus. **J. Comp. Neurol.**, **416**: 291-308.
- DAVIS, JO & FREEMAN, RH (1976). Mechanisms of renin release. **Physiol Rev**, **56**: 1-54.
- DE ARRUDA CAMARGO, LA Y SAAD, WA (1999). Renal effects of angiotensin II receptor subtype 1 and 2-selective ligands injected into the paraventricular nucleus of conscious rats. **Regulatory peptides**, **84**:91-96.
- DEAUX, E Y KAKOLEWSKI, JW (1971). Character of osmotic changes resulting in the initiation of eating. **Journal of comparative and physiological Psychology**, **74**: 248-253.
- DEBOLD, AJ; BORENSTEIN, HB; VERESS, AT & SONNENBERG, H (1981). A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. **Life Sciences**, **28**: 89-

398 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DECAVEL, C Y HATTON, GI (1995). Taurine immunoreactivity in the rat supraoptic nucleus: prominent localization in glial cells. **J. of Comp. Neurol.**, **354**:13-26.
- DEEN, PM; VERDIJK, MA; KNOERS, NV; WIERINGA, B; MONNENS, LA; VANOS, CH & VANOOST, BA (1994). Requirement of human renal water channel aquaporin-2 for vasopressin-dependent concentration of urine. **Science**, **264**: 92-95.
- DE GARCIA, MC; OSUNA, A; O'VALLE, F; DEL MORAL, RG; WANGENSTEEN, R; DEL RIO, CG Y VARGAS, F (2000). Deoxycorticosterone suppresses the nitric oxide-deficient hypertensive rats. **J. of the American Society of Nephrology**, **11 (11)**:1995-2000.
- DEL ABRIL, A; AMBROSIO, E; DE BLAS, MR; CAMINERO, AA; GARCÍA, C; DE PABLO, JM & SANDOVAL, E (2001). **Fundamentos Biológicos de la Conducta**. Vol. 2. Sanz y Torres: Madrid.
- DELEUZE, C ET AL. (1998). Properties and glial origin of osmotic-dependent release of taurine from the rat supraoptic nucleus. **J. Physiol.**, **507**:463-471.
- DEMUNBRUN, T., KELLER, A., LEVKOFF, A AND PURSER, R. (1954). Pitocin restoration of renal hemodynamics to pre-neurohypophysectomy levels. **Am. J. Physiol.**, **179**: 429-434.
- DEMONTES-MAINARD, J; CHAUVEAU, J; RODRÍGUEZ, F & VINCENT, JD (1986). Septal release of vasopressin in response to osmotic, hypovolemic and electrical stimulation. **Brain Research**, **381**: 314-321.
- DENTON, KM; FENNESSY, PA; ALCOM, D & ANDERSON, WP (1992). Morphometric analysis of the actions of angiotensin II on renal arterioles and glomeruli. **American Journal of Physiology**, **262**: F367-
- DIBONA, GF (1985). Neural regulation of renal tubular sodium reabsorption and rennin secretion. **Fed. Proc.**, **44**: 2816-2822.
- DIBONA, GF & KOPP, U (1997). Neural control of renal function. **Physiology & Reviews**, **77**: 75-
- DICKER, S. (1957). Urine concentration in the rat during acute and prolonged dehydration. **J. Physiol.**, **139**: 108-122.
- DINICOLANTONIO, R; MENDELSON, FAO; HUTCHINSON, JS; TAKATA, Y & DOYLE, AE (1982). Dissociation of dipsogenic and pressor responses to chronic central angiotensin II in rats. **American Journal of Physiology**, **242**: R498-R504.
- DOGTEROM, J. (1977). The release and presence of vasopressin in plasma and cerebrospinal fluid as measured by radioimmunoassay. Studies on vasopressin as a mediator of memory processes in the rat. **Doctoral Dissertation**. University of Utrecht.
- DOGTEROM, J; GREIDANUS, VW SWAAB, DF (1977). Evidence for the release of vasopressin and oxytocin into the cerebrospinal fluid: measurements in plasma and CSF of intact and hypophysectomized rats. **Neuroendocrinology**, **24**: 108-118.

- DOGTEROM, J; VAN WIMERMSMA GREIDANUTS, TJB Y SWAAB, DF (1977). Evidence for the release of vasopressin and oxytocin into cerebrospinal fluid: Measurements in plasma and CSF of intact and hypophysectomised rats. **Neuroendocrinology**, **24**:108-118.
- DOHANICS, J., HOFFMAN, G., SMITH, M AND VERBALIS, J. (1992). Functional neurolobectomy induced by controlled compression of the pituitary stalk. **Brain Res.**, **575**: 215-222.
- DOHANICS, J; HOFFMAN, GE & VERBALIS, JG (1991). Hyponatremia-induced inhibition of magnocellular neurons causes stressor-selective impairment of stimulated adrenocorticotropin secretion in rats. **Endocrinology**, **128**: 331-340.
- DONOGUE, S; FELDER, RB; GILBEY, MP; JORDAN, D Y SPYER, KM (1985). Post-synaptic activity evoked in the nucleus tractus solitarius by carotid sinus and aortic nerve afferents in the cat. **The Journal of Physiology**, **360**: 261-273.
- DONOGUE, S; FELDER, RB; JORDAN, D Y SPYER, KM (1984). The central projections of carotid baroreceptors and chemoreceptors in the cat: a neurophysiological study. **The Journal of Physiology**, **347**: 397-409.
- DOUCET, A (1988). Function and control of Na-K-ATPase in single nephron segments of the mammalian kidney. **Kidney International**, **34**: 749-
- DREIFUSS, JJ; RAGGENBASS, M; CHARPAK, S; DUBOIS-DAUPHIN, M Y TRIBOLLET, E (1988). A role of central oxytocin in autonomic function: its action in the motor nucleus of the vagus nerve. **Brain Research Bulletin**, **20**: 765-770.
- DU VIGNEAUD, V; RESSLER, C; SWAN, JM; ROBERTS, CW; KATSOYANNIS, PG & GORDON, S (1954). The synthesis of an octapeptide amide with the hormonal activity of oxytocin. **J Am Chem Soc**, **75**: 4879-4880.
- DU VIGNAUD, V; RESSLER, C & TIPETT, S (1953). The séquence of amino-acids in oxytocin, with a proposal for the structure of oxytocin. **J. Biol. Chem.** **205**: 949-957.
- DUAN, YF; KOPIN, IJ Y GOLDSTEIN, DS (1999). Stimulation of the paraventricular nucleus modulates firing of neurons in the nucleus of the solitary tract. **American Journal of Physiology**, **277**: R403-R411.
- DUNN, FL; BRENNAN, TJ; NELSON, AE; ROBERTSON, GL (1973). The role of blood osmolality and volume in regulating vasopressin secretion in the rat. **Journal of Clinical Investigation**, **53**: 3212-3219.
- DYBALL, REJ (1968). Stimuli for the release of neurohypophysial hormones. **Br. J. Pharmac. Chemother.**, **33**: 319-328.
- DYBALL, REJ (1971). Oxytocin and ADH secretion in relation to electrical activity in antidromically identified supraoptic and paraventricular units. **Journal of Physiology**, **214**: 245-256.

400 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DYBALL, REJ & KOIZUMI, K (1969). Electrical activity in the supraoptic and paraventricular nuclei associated with neurohypophysial hormone release. **Journal of Physiology**, **201**: 711-722.
- DZAU, VJ (1988). Circulating versus local renin-angiotensin systems in cardiovascular homeostasis. **Circulation**, **77 (suppl. I)**: I-4
- DZAU, VJD; BURT, DW & PRATT, RE (1988). Molecular biology of the rennin-angiotensin system. **American Journal of Physiology**, **255**: F563-F573.
- ECKBERG, DL; DRABINSKI, M Y BRAUNWALD, E (1971). Defective cardiac parasympathetic control in patients with Heart disease. **The New England Journal of Medicine**, **285**: 877-883.
- EDELMAN, I. S & LIEBMAN. (1959). Anatomy of body water and electrolytes. **Am. J. Medic.**, **27**: 256-277.
- EDWARDS, B & LAROCHELLE, F. (1984). Antidiuretic effect of endogenous oxytocin in dehydrated Brattleboro homozygous rats. **Am. J. Physiol.**, **247**: F453-F465.
- EDWARDS, BS; ZIMMERMAN, RS & SCHWAB, TR (1988). Atrial stretch, not pressure, is the principal determinant controlling the acute release of ANP. **Circulatory Research**, **62**: 191-
- EDWARDS, GL & JOHNSON, AK (1991). Enhanced drinking after excitotoxic lesions of the parabrachial nucleus in the rat. **American Journal of Physiology**, **261**: R1039-R1044.
- EDWARDS, GL & RITTER, RC (1982). Area Postrema lesions increase drinking to angiotensin and extracellular dehydration. **Physiology and Behavior**, **29**: 943-947.
- EDWARDS, GL; CUNNINGHAM, JT; BELTZ, TG & JOHNSON, AK (1989). Neuropeptide Y immunoreactive cells in the caudal medulla project to the median preoptic nucleus. **Neuroscience Letters**, **105**: 19-26.
- EHRLICH, KJ & FITTS, DA (1990). Atrial natriuretic peptide in the subfornical organ reduces drinking induced by angiotensin or in response to water deprivation. **Behavioral Neuroscience**, **104 (2)**: 365-372.
- ELFONT, RM, EPSTERIN, AN & FITZSIMONS, JT (1984). Involvement of the renin-angiotensin system in captopril-induced sodium appetite in the rat. **Journal of Physiology**, **354**: 11-27.
- ELMQUIST, J., ELIAS, C & SAPER, C. (1999). From lesions to leptin : hypothalamic control of food intake and body weight. **Neuron**. **22**: 221-232.
- ENG, R & MISELIS, RR (1981). Polydipsia and abolition of angiotensin-induced drinking after transections of subfornical organ efferent projections in the rat. **Brain Research**, **225**: 200-206.
- EPSTEIN, AN; FITZSIMONS, JT & ROLLS, BJ (1970). Drinking induced by injection of angiotensin into the brain of the rat. **Journal of Physiology**, **210**: 457-474.

- EPSTEIN, AN Y STELLAR, E (1955). The control of salt preference in the adrenalectomized rat. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, **48**:167-172.
- ERICSON, H, WATANABE, T AND KÖHLER, C. (1987). Morphological analysis of the tuberomammillary nucleus in the rat brain: delineation of subgroups with antibody against L-histidine decarboxylase as a marker. **J. Comp. Neurol.**, **263** : 1-24.
- EVERED, MD (1990). Relationship between thirst and diazoxide-induced hypotension in rats. **American Journal of Physiology**, **259**: R362-
- EVERED, MD (1992). Investigating the role of AII in thirst: interactions between arterial pressure and the control of drinking. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, **70**: 791-797.
- EVERED, MD & ROBINSON, MM (1981). The rennin-angiotensin system in drinking and cardiovascular responses to isoprenaline in the rat. **Journal of Physiology**, **316**: 357-367.
- EVERED, MD & ROBINSON, MM (1983). Effects of captopril on salt salt in sodium-replete rats and rats treated with DOCA. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, **225**: 416-421.
- EVERED, MD; ROBINSON, MM & ROSE, PA (1988). Effect of arterial pressure on drinking and urinary responses to angiotensin II. **American Journal of Physiology**, **254**: R69-74.
- FALK, JL (1961). Production de polydipsia in normal rats by an intermitent food schedule. **Science**, **133**: 195-196.
- FAVARETTO, ALV; BALLEJO, GO; ALBUQUERQUE-ARAÚJO, WIC; GUTOWSKA, J; ANTUNES-RODRIGUES, J & MCCANN, SM (1997). Oxytocin releases atrial natriuretic peptide from rat atria in vitro that exerts negative inotropic and chronotropic actions. **Peptides**, **18 (9)**: 1377-1381.
- FERGUSON, AV; DAY, TA Y RENAUD, LP (1984). Subfornical organ efferents influence the excitability of neurohypophysial and tuberoinfundibular paraventricular nucleus neuron in the rat. **Neuroendocrinology**, **39**: 423-428.
- FERGUSON, AV & LATCHFORD, K. (2000). Local circuitry regulates the excitability of rat neurohypophysial neurones. **Exp. Physiol.**, **85S** : 153S-161S.
- FERGUSON, AV & WASHBURN, DLS (1998). Angiotensin II: A peptidergic neurotransmitter in central autonomic pathways. **Progress in Neurobiology**, **54**: 169-192.
- FERNANDEZ-NOVOA, L & CACABELOS, R. (2001). Histamine function in brain disorders. **Behav. Brain Res.**, **124**: 213-233.
- FINGER, FW Y REID, LS (1952). The effect of water deprivation and subsequent satiation upon general activity in the rat. **J. comp. Physiol. Psychol.**, **45**: 368-372.
- FINN, A & WE, L (1963). Effect of aldosterone administration on electrolyte excretion and GFR in the rat. **American Journal of Physiology**, **204**: 243-

402 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FISCHER-FERRARO, C; NAHMED, VE; GOLDSTEIN, DJ & FINKIELMAN, S (1971). Angiotensin and rennin in rat and dog brain. **Journal of Experimental Medicine**, **13**: 353-361.
- FITTS, DA & MASSON, DB (1989). Forebrain sites of action for drinking and salt appetite to angiotensin or captopril. **Behavioural Neuroscience**, **103**: 865-872.
- FITTS, DA & MASSON, DB (1990). Preoptic angiotensin and salt appetite. **Behavioural Neuroscience**, **104**: 643-650.
- FITTS, DA; THUNHORST, RL & SIMPSON, JB (1985). Diuresis and reduction of salt appetite by lateral ventricular infusions of atriopeptin II. **Brain Research**, **348**: 118-124.
- FITZSIMONS, JT (1961). Drinking by nephrectomized rats injected with various substances. **Journal of Physiology**, **155**: 563-579.
- FITZSIMONS, JT (1961B). Drinking by rats depleted of body fluids without increase in osmotic pressure. **Journal of Physiology**, **159**: 297-309.
- FITZSIMONS, JT (1963). The effects of slow infusions of hypertonic solutions on drinking and drinking thresholds in rats. **Journal of Physiology**, **167**: 344-354.
- FITZSIMONS, JT (1964). Drinking caused by constriction of the inferior vena cava in the rat. **Nature**, **204**: 479-480.
- FITZSIMONS, JT (1969). The role of renal thirst factor in drinking induced by extracellular stimuli. **Journal of Physiology**, **201**: 349-368.
- FITZSIMONS, JT (1970). Interactions of intracranially administered renin or angiotensin and other thirst stimuli on drinking. **Journal of Physiology**, **210**: 152-153.
- FITZSIMONS, JT (1979). **The physiology of thirst and sodium appetite**. Cambridge University Press: Cambridge.
- FITZSIMONS, JT (1989). Bengt Andersson's pioneering demonstration of the hypothalamic "drinking area" and the subsequent osmoreceptor/sodium receptor controversy. **Acta Physiologica Scandinavica**, **136 (Suppl. 583)**: 15-25.
- FITZSIMONS, JT (1991). Evolution of physiological and behavioural mechanisms in vertebrate body fluid homeostasis. En: DJ, Ramsay y DA, Booth (Eds.). **Thirst: physiological and psychological aspects**. Cap. 1. Springer-Verlag: London.
- FITZSIMONS, JT (1998). Angiotensin, Thirst, and sodium appetite. **Physiological Reviews**, **78 (3)**: 583-686.
- FITZSIMONS, JT & MOORE-GILLON, MJ (1980). Drinking and antidiuresis in response to reductions in venous return in the dog: neural and endocrine mechanisms. **Journal of Physiology**, **308**: 403-416.
- FITZSIMONS, JT & MOORE-GILLON, MJ (1980b). Pulmo-atrial junctional receptors and the inhibition of drinking. **Journal of Physiology**, **307**: 74-

- FITZSIMONS, JT & SIMONS, BJ (1969). The effect on drinking in the rat of intravenous infusion of angiotensin, given alone or in combination with other stimuli of thirst. **Journal of Physiology**, **203 (1)**: 47-57.
- FJELLESTAD-PAULSEN, A., PAULSEN, O., AGAY-ABENSOUR, L., LUNDIN, S AND CZERNICHOW, P. (1993). Central diabetes insipidus: oral treatment with dDAVP. **Regulat. Pept.**, **45**: 303-307.
- FLANAGAN, LM; BLACKBURN, RE; VERBALIS, JG & STRICKER, EM (1992). Hypertonic NaCl inhibits gastric motility and food intake in rats with lesions in the rostral AV3V region. **American Journal of Physiology**, **263**: R9-R14.
- FLANAGAN, LM; DOHANICS, J; VERBALIS, JG & STRICKER, EM (1992b). Gastric motility and food intake in rats after lesions of hypothalamic paraventricular nucleus. **American Journal of Physiology**, **263**: R39-R44.
- FLIER, J. S & MARATOS-FLIER, E. (1998). Obesity and the hypothalamus: novel peptides for new pathways. **Cell**. **92**: 437-440.
- FLUHARTY, SJ Y EPSTEIN, AN (1983). Sodium appetite elicited by icv infusion of AII in the rat: II. Synergistic interaction with systemic mineralocorticoids. **Physiology and Behavior**, **97 (5)**: 746-758.
- FLYNN, FW; CURTIS, KS; VERBALIS, JG Y STRICKER, EM (1995). Dehydration anorexia in decerebrate rats. **Behavioral Neuroscience**, **5**: 1009-1012.
- FORSLING, ML (1993). Neurohypophysial hormones and circadian rhythm. **Annals of the New York Academy of Sciences**, **689**: 382-395.
- FORSLING, ML; JUDAH, JM & WINDLE, RJ (1994). The effect of vasopressin and oxytocin on glomerular filtration rate in the conscious rat: contribution to the natriuretic response. **Journal of Endocrinology**, **141**: 59-67.
- FORSSMAN, H (1945). On hereditary diabetes insipidus with special regard to a sex-linked form. **Acta Medica Scandinavica Suppl.** **159**: 1-196.
- FRANCHINI, LF & VIVAS, L (1999). Distribution of Fos immunoreactivity in rat brain after sodium consumption induced by peritoneal dialysis. **American Journal of Physiology**, **276**: R1180-R1187.
- FRANCI, CR; KOZLOWSKI, GP Y MCCANN, SM (1989). Water intake in rats subjected to hypothalamic immuno-neutralization of angiotensin II, atrial natriuretic peptide, vasopressin or oxytocin. **PNAS**, **86**: 2952-2956.
- FREGLY, MJ (1980). Effect of the angiotensin converting enzyme inhibitor, captopril, on NaCl appetite of rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, **215**: 407-412.
- FREGLY, MJ Y WATERS, IW (1966). Effect of mineralocorticoids on spontaneous sodium chloride appetite of adrenalectomized rats. **American Journal of Physiology**, **209**: 287-292.

404 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FREUND-MERCIER, MJ; MOOS, F; POULAIN, DA; RICHARD, P; RODRIGUEZ, F; THEODOSIS, DT & VINCENT, JD (1988). Role of central oxytocin in the control of the milk ejection reflex. **Brain Research Bulletin**, **20**: 737-741.
- FREUND-MERCIER, MJ; STOECKEL, ME & KLEIN, MJ (1994). Oxytocin receptors on oxytocin neurones: histoautoradiographic detection in the lactating rat. **Journal of Physiology**, **480**: 155-161.
- FRIED, L & PALEVSKY, M. (1997). Hyponatremia and hypernatremia. **Med. Clin. North Am.**, **81**: 585-609.
- FRIEDMAN, S., SCHERRER, H., NAKASHIMA, M AND FRIEDMAN, C. (1958). Extrarenal factors in diabetes insipidus in the rat. **Am. J. Physiol.**, **192**: 401-404.
- FRIEDMAN, S., SRÉTER, F., NAKASHIMA, M AND FRIEDMAN, C. (1962). Adrenal cortex and neurohypophyseal deficiency in salt and water homeostasis of rats. **Am. J. Physiol.**, **203**: 697-701.
- FULLER, L & FITZSIMONS, J. T. (1988). Thirst in Brattleboro rats. **Am. J. Physiol.**, **255**: R217-R225.
- FUNDER, JW (1993). Mineralocorticoids, glucocorticoids, receptors and response elements. **Science**, **259**: 1132-
- FUSHIMI, K, UCHIDA, S; HARA, Y ET AL (1993). Cloning and expression of apical membrane water channel of rat kidney collecting tubule. **Nature**, **361**: 549-552.
- FUXE, K; GANTEN, D; HOCKFELT, G; BOMME, P (1976). Immunohistochemical evidence for the existence of angiotensin II containing nerve terminals in the brain and spinal cord of the rat. **Neuroscience Letters**, **2**: 229-234.
- GANGULY, A (1992). Atrial natriuretic peptide-induced inhibition of aldosterone secretion: A quest for mediators. **American Journal of Physiology**, **263**: E181-
- GANONG, W. F. (1995). **Review of Medical Physiology**. 17th ed. Norwalk: Appleton & Lange. (176).
- GANTEN, D; MARQUEZ-JULIO, A; GRANGER, P; HAYDUK, K; KARSUNKY, KP; BOUCHER, R & GENEST, J (1971). Renin in dog brain. **American Journal of Physiology**, **221**: 1733-1737.
- GANTEN, D; MINICH, JL; GRANGER, P; HAYDUK, K; BRECHT, HM; BARBEAU, A; BOUCHER, R & GENEST, J (1971b). Angiotensin-forming enzyme in brain tissues. **Science**, **173**: 64-65.
- GANTEN, D; UNGER, T & LANG, RE (1985). The dual role of angiotensin and vasopressin as plasma hormones and neuropeptides in cardiovascular regulation. **Journal of Pharmacology**, **16 (Suppl. II)**: 51-68.

- GARCIA, R; CANTIN, M & THIBAUT, G (1987). Role of right and left atria in natriuresis and atrial natriuretic factor release during blood volume changes in the conscious rat. **Circulatory Research**, **61**: 99-
- GARG, LC; KNEPPER, MA; BURG, MB (1981). Mineralocorticoid effects on Na-K-ATPase in individual nephron segments. **American Journal of Physiology**, **240**: F536-
- GARLAND, HO; BALMENT, RJ & BRIMBLE, MJ (1983). Oxytocin and renal function in the rat: An investigation of a possible proximal site of action. **Acta Endocrinologica**, **102**: 517-520.
- GESEK, FA & FRIEDMAN, PA (1995). Sodium entry mechanisms in distal convoluted tubule cells. **American Journal of Physiology**, **268**: F89-F98.
- GIBBS, J; YOUNG, RC Y SMITH, GP (1973). CCK decreases food intake in rats. **Journal of comparative and physiological Psychology**, **84**: 488-495.
- GILMAN, A (1937). The relation between blood osmotic pressure, fluid distribution and voluntary water intake. **American Journal of Physiology**, **120**: 323-328.
- GIOVANELLI, L & BLOOM, F. (1992). C-Fos protein expression in the rat subfornical organ following osmotic stimulation. **Neurosc. Lett.**, **139**: 1-6. (172).
- GIOVANELLI, L; SHIROMANI, PJ; JIRIKOWSKI, GF & BLOOM, FE (1992). Expression of c-fos protein by immunohistochemically identified oxytocin neurons in the rat hypothalamus upon osmotic stimulation. **Brain Research**, **588**: 41-48.
- GOETZ, KL (1988). Physiology and pathophysiology of atrial peptides. **American Journal of Physiology**, **254**: E1-E15.
- GOLDIN, AL (2001). Resurgence of sodium channel research. **Annual Review of Physiology**, **63**: 871-894.
- GOLDSMITH, SR. Vasopressin as a vasopressor. **American Journal of Medicine**, **82**: 1213-
- GOLDSMITH, SR; FRANCIS, GS; COWLEY, AW & COHN, JN (1982). Response of vasopressin and norepinephrine to lower body negative pressure in humans. **American Journal of Physiology**, **243**: H970-
- GONZALEZ-PORTILLO, G & TOMITA, T. (1998). The síndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone: an unusual presentation for childhood craniopharyngioma: report of three cases. **Neurosurgery.**, **42**: 917-922.
- GOULDSBOROUGH, I & ASHTON, N. (2001). Maternal environment alters renal response to angiotensin II in the spontaneously hypertensive rat. **Clin. Exp. Pharm. Physiol.**, **28**: 504-509.
- GREEN, R & GIEBISH, G (1989). Osmotic forces determining water reabsorption in the proximal tubule of rat kidney. **American Journal of Physiology**, **257**: F669-

406 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GREGER, N., KIRKLAND, R., CLAYTON, G AND KIRKLAND, J. (1986). Central diabetes insipidus. **AJDC.**, **140**: 551-554.
- GRONAN, RJ & YORK, DH (1978). Effects of AII and acetylcholine on neurons in the preoptic area. **Brain Research**, **154**: 172-177.
- GROSSMAN, SP (1967). **A textbook of physiological psychology**. Cap. 6: Hunger and the regulation of the organism's energy balance. Wiley, pp. 249-256.
- GRUNWALD, JE; SAKATA, M; MICHENER, ML ET AL (1988). Is atriopeptin a physiological or pathophysiological substance?. **Journal of Clinical and Investigation**, **81**: 1036-
- GUTKOWSKA, J; JANKOWSKI, M; MUKADDAM-DAHER, S & MCCANN, SM (2000). Oxytocin is a cardiovascular hormone. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, **33**: 625-633.
- GUTMAN, M. B., CIRIELLO, J & MOGENSEN, G. J. (1988b). Effects of plasma angiotensin II and hypernatremia on subfornical organ neurons. **Am. J. Physiol.**, **254**: R746-R754.
- GUTMAN, MB; JONES, DL & CIRIELLO, J (1988). Effect of paraventricular nucleus lesions on drinking and pressor responses to AII. **American Journal of Physiology**, **255**: R882-R887.
- GUTMAN, Y Y KRAUSZ, M. (1969). Regulation of food and water intake in rats as related to plasma osmolarity and volume. **Physiology and Behavior**, **4**: 311-313.
- GUYTON, AC (1991). Blood pressure control special role of the kidneys and body fluids. **Science**, **252**: 1813
- GUYTON, AC (1994). **Anatomía y fisiología del sistema nervioso**. Cap. 28. Ed. Médica Panamericana: Buenos Aires.
- GUYTON, AC & HALL, JE (2001). **Tratado de Fisiología Médica**. McGraw-Hill Interamericana: Madrid.
- HAANWINCKEL, MA; ELIAS, LK; FAVARETTO, ALV; GUTOWSKA, J; MCCANN, SM & ANTUNES-RODRIGUES, J (1995). Oxytocin mediates atrial natriuretic peptide release and natriuresis after volume expansion in the rat. **PNAS USA**, **92**: 7902-7906.
- HAAS, H., WOLF, P AND NUSSBAUMER, J. (1975). Histamine: action on supraoptic and other hypothalamic neurones of the cat. **Brain Res.**, **88**: 166-170.
- HAKANSSON, M., BROWN, H., GHILARDI, N., SKODA, R AND MEISTER, B. (1998). Leptin receptor immunoreactivity in chemically defined target neurons of the hypothalamus. **J. Neuroscience.**, **18**: 559-572.
- HALL, JE (1989). Intrarenal actions of converting enzyme inhibitors. **American Journal of Hypertension**, **2**: 875-

- HAN, JS; MAEDA, Y & KNEPPER, MA (1993). Dual actions of vasopressin and oxytocin in regulation of water permeability in terminal collecting duct. **American Journal of Physiology**, **265**: F26-F34.
- HAN, L & ROWLAND, N. (1996). Dissociation of fos-like immunoreactivity in lamina terminalis and magnocellular hypothalamic nuclei induced by hypernatremia. **Brain Res.**, **708**: 45-49.
- HANSEN, S Y FERREIRA, A (1986). Food intake, aggression, and fear behavior in the mother rat: Control by neural systems concerned with milk ejection and maternal behavior. **Behav. Neurosci.**, **100**: 64-70.
- HARDING, JW Y FELIX, D (1987). Angiotensin-sensitive neurons in the rat paraventricular nucleus: relative potencies of angiotensin II and angiotensin III. **Brain Research**, **410**: 130-134.
- HARDING, JW; JENSEN, LL; HANESWORTH, JM; ROBERTS, KA; PAGE, TA & WRIGHT, JW (1992). Release of angiotensins in paraventricular nucleus of the rat in response to physiological and chemical stimuli. **Am. J Physiology**, **262**: F17-F23.
- HARRIS, RC (1996). The macula densa: recent developments. **Journal of Hypertension**, **14**: 815-822,
- HARRIS, PJ; THOMAS, D & MORGAN, TO (1987). ANP inhibits angiotensin-stimulated proximal tubular salt and water reabsorption. **Nature**, **326**: 697-
- HARRIS, HW; ZEIDEL, ML & HOSSELET, C (1991). Quantitation and topography of membrane proteins in highly water-permeable vesicles from ADH-stimulated toad bladder. **American Journal of Physiology**, **261**: C143-
- HARTLE, D. K. & BRODY, M. J. (1984). The angiotensin II pressor system of the rat forebrain. **Circ. Res.**, **54** (4): 355-366.
- HATTON, GI (1990). Emerging concepts of structure-function dynamics in adult brain: the hypothalamo-neurohypophysial system. **Progress in Neurobiology**, **34**: 437-504.
- HATTON, GI (1997). Function-related plasticity in hypothalamus. **Annual Review of Neuroscience**, **20**: 375-397.
- HATTON, GI; HUTTON, UE; HOBLITZELL, ER & ARMSTRONG, WE (1976). Morphological evidence for two populations of magnocellular elements in the rat paraventricular nucleus. **Brain Research**, **108**: 187-193.
- HATTON, G. I. & LI, Z. H. (1998). Neurophysiology of magnocellular neuroendocrine cells: recent advances. **Prog. Brain Res.**, **119**: 77-99.
- HATTORI, T; MORRIS, M; ALEXANDER, N & SUNDBERG, DK (1990). Extracellular oxytocin in the paraventricular nucleus: hyperosmotic stimulation by in vivo microdialysis. **Brain Research**, **506**: 169-171.

408 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- HAYWARD, JN (1975). Neural control of the posterior pituitary. **Ann. Rev. Physiol.**, **37**:191-210.
- HEINBECKER, P & WHITE, H (1941). Hypothalamico-hypophysial system and its relation to water balance in the dog. **Am. J. Physiol.**, **133**: 582-593.
- HENNESY, J. W & GROSSMAN, S. P & KANNER, M. (1977). A study of the etiology of the hyperdipsia produced by coronal knife cuts in the posterior hypothalamus. **Physiol. Behav.**, **18**: 73-80.
- HERMAN, JP & SHERMAN, TG (1993). Acute stress upregulates vasopressin gene expression in parvocellular neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus. **Annals of the New York Academy of Sciences**, **689**: 546-549.
- HERTOEG, CEC; DE GROOT, ANJA & VAN DONGEN, PWJ (2001). History and use of oxytocics. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, **94**: 8-12.
- HIYAMA, TY; WATANABE, E; ONO, K; INENAGA, K; TAMKUN, MM; YOSHIDA, S & NODA, M (2002). Na_x channel involved in CNS sodium-level sensing. **Nature Neuroscience**, **5 (6)**: 511-512.
- HOLLIDAY, MA; BURSTIN, C Y HARRAH, J (1963). Evidence that antidiuretic substance in plasma of children with nephrogenic diabetes insipidus is antidiuretic hormone. **Pediatrics**, **32**: 384-388.
- HOLLINSHEAD, W. (1964). The interphase of diabetes insipidus. **Mayo Clin. Procc.**, **39**: 92-100.
- HOLMES, JH Y CIZEK, LJ (1951). Observations on sodium chloride depletion in the dog. **American Journal of Physiology**, **164**: 407-414.
- HONDA, K; NEGORO, H; DYBALL, REJ; HIGUCHI, T & TADOKORO, Y (1989). The roloe of the anteroventral 3rd ventricle area in the osmotic control of paraventricular neurosecretory cells. **Experimental Brain Research**, **76**:497-502.
- HONDA, K; NEGORO, H; DYBALL, REJ; HIGUCHI, T & TAKANO, S (1990). The osmoreceptor complex in the rat: Evidence for interactions between the supraoptic and other diencephalic nuclei. **Journal of Physiology**, **431**: 225-241.
- HONDA, K; YANAGIMOTO, M; NEGORO, H; NARITA, K; MURATA, T & HIGUCHI, T (1999). Excitation of oxytocin cells in the hypothalamic supraoptic nucleus by electrical stimulation of the dorsal penile nerve and tactile stimulation of the penis in the rat. **Brain Research Bulletin**, **48 (3)**: 309-313.
- HORI, T (1991). An update on thermosensitive neurons in the brain: From cellular biology to thermal and non-thermal homeostatic functions. **Japanese Journal of Physiology**, **41**: 1-22.
- HOSUTT, JA; ROWLAND, N & STRICKER, EM (1978). Hypotension and thirst in rats after isoproterenol treatment. **Physiology and Behavior**, **21**: 593-598.

- HOSUTT, JA; ROWLAND, N & STRICKER, EM (1981). Impaired drinking responses of rats with lesions of the subfornical organ. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, **95**: 104-113.
- HOUPPT, KA & EPSTEIN, AN (1971). The complete dependence of beta adrenergic drinking on the renal dipsogen. **Physiology and Behavior**, **7**: 897-902.
- HOUPPT, KA; SMITH, GP; JOH, TH & FRANKMANN, SP (1998). c-fos-like immunoreactivity in the subfornical organ and nucleus of the solitary tract following salt intake by sodium-depleted rats. **Physiology & Behavior**, **63 (4)**: 505-510.
- HOU-YOU, A; LAMME, AT; ZIMMERMAN, EA Y SILVERMAN, AJ (1986). Comparative distribution of vasopressin and oxytocin neurons in the rat brain using a double-label procedure. **Neuroendocrinology**, **44**:235-246.
- HUANG, KC (1956). Effect of salt depletion and fasting on water exchange in the rabbit. **Am. J. Physiol.**, **181**: 609-615.
- HUANG, Y & DELLMAN, H. (1996). Chronic intermittent salt loading enhances functional recovery from polydipsia and survival of vasopressinergic cells in the hypothalamic supraoptic nucleus following transection of the hypophysial stalk. **Brain Res.**, **732**: 95-195.
- HUANG, W; LEE, SL & SJÖQUIST, M (1994). Effects of neurohypophyseal antagonists in postnephrectomy natriuresis in male rats. **Kidney International**, **45**: 692-699.
- HUANG, W; LEE, SL & SJÖQUIST, M (1995). Natriuretic role of endogenous oxytocin in male rats infused with hypertonic NaCl. **American Journal of Physiology**, **268**: R634-R640.
- HUANG, W; LEE, SL; ARNASON, SS & SJÖQUIST, M (1996). Dehydration natriuresis in male rats is mediated by oxytocin. **American Journal of Physiology**, **270**: R427-R433.
- HUANG, W; SJÖQUIST, M; SKOTT, O; STRICKER, E Y SVED, AF (2000). Oxytocin-induced rennin secretion in conscious rats. **American Journal of Physiology**, **278**: R226-R230.
- HÜBSCHLE, T; MATHAI, ML; MCKINLEY, MJ Y OLDFIELD, BJ (2001). Multisynaptic neuronal pathways from the submandibular and sublingual glands to the lamina terminalis in the rat: a model for the role of the lamina terminalis in the control of osmo- and thermoregulatory behavior. **Clinical and Experimental pharmacology and physiology**, **28 (7)**: 558-569.
- HUSSY, N., DELEUZE, C., DESARMÉNIEN, M AND MOOS, F. (2000). Osmotic regulation of neuronal activity: a new role for taurine and glial cells in a hypothalamic neuroendocrine structure. **Prog. Neurobiol.**, **62**: 113-134.
- HUSSY, N ET AL. (1997). Agonist action of taurine on glycine receptors in rat supraoptic magnocellular neurones: possible role in osmoregulation. **J. Physiol.**, **502**:609-621.
- HUSTED, RF; LAPLACE, JR; STOKES, JB (1990). Enhancement of electrogenic Na⁺ transport across rat inner medullary collecting duct by glucocorticoid and by mineralocorticoid hormones. **Journal of Clinical Investigation**, **86**: 498-

410 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- HUWYLER, T & FELIX, D (1980). Angiotensin II sensitive neurons in septal areas of the rat. **Brain Research**, **195**: 187-195.
- ICHIKAWA, I & HARRIS, RC (1991). Angiotensin actions in the kidney: Renewed insight into the old hormone. **Kidney International**, **40**: 583-
- IHAMANDAS, JH; LIND, RW & RENAULD, LP (1989). Angiotensin II may mediate excitatory neurotransmission from the subfornical organ to the hypothalamus supraoptic nucleus: an anatomical and electrophysiological study in the rat. **Brain Research**, **487**: 52-61.
- IIDA, T; MURAI, I; MAGARA, T; FURUKAWA, Y & NAKAGAWA, S (1994). Modulator role of oxytocin in the secretion of atrial natriuretic peptide in posterior pituitary lobectomized rats. **Nihon Univ. J. Med.**, **36**: 121-132.
- IKKOS, D., LUFT, R AND OLIVECRONA, H. (1954). Hypophysectomy in man: effect on water excretion during the first two postoperative months. **J. Clin. Endocrinol. Metabol.**, **15** : 553-567.
- IMAI, M (1979). The collecting tubule: a functional subdivision of the rabbit distal nephron segments. **Kidney International**, **15**: 349-
- INAGAKI, N., TODA, K., TANIUCHI, I., PANULA, P., YAMATODANI, A., TOHYAMA, M., WATANABE, T AND WADA, H. (1990). An analysis of histaminergic efferents of the tuberomammillary nucleus to the medial preoptic area and inferior colliculus of the rat. **Exp. Brain Res.**, **80** : 374-380.
- INAGAKI, N., YAMATODANI, A., ANDO-YAMAMOTO, M., TOHYAMA, M., WATANABE, T AND WADA, H. (1988). Organization of histaminergic fibers in the rat brain. **J. Comp. Neurol.**, **273** : 283-300.
- INOUE, T; NARUSE, M; NAKAYAMA, M; KUROKAWA, K & SATO, T (1993). Oxytocin affects apical sodium conductance in rabbit cortical collecting duct. **American Journal of Physiology**, **265**: F487-F503.
- INUI, A. (1999). Feeding and body-weight regulation by hypothalamic neuropeptides mediation of the actions of leptin. **Trends Neuroscienc.**, **22**: 62-67.
- IOVINO, M & STEARDO, L. (1984). Vasopressin release to central and peripheral angiotensin II in rats with of the subfornical organ. **Brain Res.**, **322**: 365-368.
- ISIDRO, M., MARTINEZ, A., ARGÜESO, R AND CORDIDO, F. (1998). Diabetes insípida central secundaria a infundibuloneurohipofisitis. **Anal. Med. Intern.**, **15**: 658-660.
- IVÁNYI, T; DOHANICS, J Y VERBALIS, JG (1995). Effect of chronic hyponatremia on central and peripheral oxytocin and vasopressin secretion in rats. **Neuroendocrinology**, **61**:412-420.
- IVELL, R., BATHGATE, R., KIMURA, T AND PARRY, L. (1997). Molecular biology of the oxytocin receptor: a comparative approach. **Biochem. Soc. Trans.**, **25**: 1058-1066.

- JACOBOWITZ, DM; SKOFITSCH, G; KEISER, HR, ESKAY, RL & ZAMIR, N (1985). Evidence for the existence of atrial natriuretic factor-containing neurons in the rat brain. **Neuroendocrinology**, **40**:92-94.
- JACOBSON, HR (1981). Functional segmentation of the mammalian nephron. **American Journal of Physiology**, **241**: F203-
- JALOWIEC, JE (1974). Sodium appetite elicited by furosemide: effects of differential dietary maintenance. **Behav. Biol.**, **10**:313-327.
- JALOWIEC, JE Y STRICKER, EM (1973). Sodium appetite in adrenalectomized rats following dietary sodium deprivation. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, **83**:66-77.
- JANKOWSKI, M; AJAR, F; AL KAWAS, S; MUKADDAM-DAHER, S; HOFFMAN, G; MCCANN, S & GUTKOWSKA, J (1998). Rat heart: A site of oxytocin production and action. **PNAS USA**, **95**: 14558-14563.
- JARD, S (1988). Vasopressin receptors. A historical survey. **Adv. Exp. Med. Biol.**, **449**: 1-13.
- JENSEN, LL; HARDING, JW Y WRIGHT, JW (1992). Role of paraventricular nucleus in control of blood pressure and drinking in rats. **American Journal of Physiology**, **262**:F1068-F1075.
- JEZOVA, D; MICHAJLOVSKIJ, N; KVETNANSKY, R & MAKARA, GB (1993). Paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus are not equally important for oxytocin release during stress. **Neuroendocrinology**, **57**: 776-781.
- JOHNSON, A. K. (1982). Neurobiology of the periventricular tissue surrounding the AV3V and its role in behavior, fluid balance and cardiovascular control. **Circul. Neurobiol. Behav** : 277- 295.
- JOHNSON, AK & BUGGY, J (1978). Periventricular preoptic-hypothalamus is vital for thirst and normal water economy. **American Journal of Physiology**, **234**: R122-R129.
- JOHNSON, AK & CUNNINGHAM, JT (1987). Brain mechanisms and drinking: The role of the lamina terminalis-associated systems and extracellular thirst. **Kidney International**, **21**: S35-S42.
- JOHNSON, AK & EDWARDS, GL (1991). Central projections of osmotic and hypovolaemic signals in homeostatic thirst. En: DJ, Ramsay y DA, Booth (Eds.). **Thirst: physiological and psychological aspects**. Cap. 9. Springer-Verlag: London.
- JOHNSON, A. K., HOFFMAN, W & BUGGY, J. (1978b). Attenuated pressor responses to intracranially injected stimuli and altered antidiuretic activity following preoptic hypothalamic periventricular ablation. **Brain Res.**, **157**: 161-166.
- JOHNSON, AK; MANN, JFE; RASCHER, W; JOHNSON, JK & GANTEN, D (1981). Plasma AII concentrations and experimentally induced thirst. **American Journal of Physiology**, **240**: R229-R234.

412 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- JOHNSON, A. K., SCHONN, J., McNEILL, J. R & MÖHRING, J. (1980). Periventricular tissue of the AV3V: a role for the control of vasopressin release. **Fed. Proc.**, **39**: 986.
- JOHNSON, AL & THUNHORST, RL (1997). The neuroendocrinology of thirst and salt appetite: Visceral sensory signals and mechanisms of central integration. **Frontiers in Neuroendocrinology**, **18**: 292-353.
- JONES, CW Y PICKERING, BT (1969). Comparison of the effects of water deprivation and sodium chloride inhibition on the hormone content of the neurohypophysis of the rat. **J. of Physiology**, **203** : 449-458.
- JONES, PM & ROBINSON, IC (1982). Differential clearance of neurophysin and neurohypophyseal peptides from the cerebrospinal fluid in conscious guinea pigs. **Neuroendocrinology**, **34**:297-302.
- JONES, PM; ROBINSON, ICAF & HARRIS, MC (1983). Release of Oxytocin into blood and cerebrospinal fluid by electrical stimulation of the hypothalamus or neural lobe in the rat. **Neuroendocrinology**, **37**:454-458.
- JOY, MD & LOWE, RD (1970). Evidence that the area postrema mediates the central cardiovascular response to AII. **Nature**, **228**: 1303-1304.
- KADEKARO, M; HARRIS, J; FREEMAN, S; TERRELL, ML; KOEHLER, E & SUMMY-LONG, JY (1995). Water intake and activity of hypothalamoneurohypophysial system during osmotic and sodium stimulation in rats. **American Journal of Physiology**, **268**: R651-R657.
- KADEKARO, M; SUMMY-LONG, JY; FREEMAN, S; HARRIS, J; TERRELL, ML & EISENBERG, HM (1992). Cerebral metabolic responses and vasopressin and oxytocin secretions during progressive water deprivation in rats. **American Journal of Physiology**, **262**: R310-R317.
- KADEKARO, M; SUMMY-LONG, JY; HARRIS, JS; TERRELL, ML; FREEMAN, S & EISENBERG, HM (1992b). Cerebral metabolic and vasopressin and oxytocin responses during osmotic stimulation in conscious rats. **Journal of Neuroendocrinology**, **4** (2): 217-222.
- KADEKARO, M; LIU, H; TERRELL, ML; GESTL, S; BUI, V & SUMMY-LONG, JY (1997). Role of NO on vasopressin and oxytocin release and blood pressure responses during osmotic stimulation in rats. **American Journal of Physiology**, **273**: R1024-R1030.
- KADEKARO, M; TERRELL, ML; BUI, V & SUMMY-LONG, JY (2001). Central interactions between angiotensin II and PGD2 in the regulation of vasopressin and oxytocin secretion in dehydrated rats. **Brain Research**, **889**: 84-88.
- KALAT, JV (1995). The regulation of internal body states. En: JV Kalat (Ed.). **Biological Psychology**. Cap. 10. Brooks/Cole Pub.: California.
- KANDEL, ER; JESSELL, TM Y SCHWARTZ, JH (1997). **Neurociencia y Conducta**. Prentice Hall:Madrid.

- KANDEL, ER; SCHWARTZ, JH Y JESSELL, TM (2000). **Principles of neural science.** McGraw Hill.
- KANNAN, H & KOIZUMI, K (1981). Pathways between the NTS and neurosecretory neurons of the SON: electrophysiological studies. **Brain Research, 213:** 17-28.
- KANNAN, H Y YAMASHITA, H (1983). Electrophysiological study of paraventricular nucleus neurons projecting to the dorsomedial medulla and their response to baroreceptor stimulation in rats. **Brain Research, 279:**31-40.
- KATZ, AI (1986). Distribution and function of classes of ATPases along the nephron. **Kidney International, 29:** 21-
- KAUFMAN, S (1984). Role of right atrial receptors in the control of drinking in the rat. **Journal of Physiology, 349:** 389-396.
- KAUFMAN, S (1990). Renal and hormonal responses to prolonged atrial stretch. **American Journal of Physiology, 258:** R1286-R1290.
- KAUNITZ, H; GELLER, LM; SLANETZ, CA Y JOHNSON, RE (1960). Food restriction and salt preference in rats. **Nature, 185 (4710):** 350-353.
- KAVELAARS, J., TAMMSMA, J AND MEINDERS, A. (2001). Hypernatremia in a non insulin dependent (type 2) diabetic patient with central diabetes insipidus. **Netherl. J. Med., 58:** 150-154.
- KEETON, TK & CAMPBELL, WB (1980). The pharmacologic alteration of rennin release. **Pharmacol Review, 32:** 81.
- KENDRICK, K; KEVERNE, E Y BALDWIN, B (1987). Intracerebroventricular oxytocin stimulates maternal behavior in sheep. **Neuroendocrinology, 46:** 56-61.
- KIFOR, I; MOORE, TJ; FALLO, F ET AL (1991). Potassium-stimulated angiotensin release from superfused adrenal capsules and enzymatically digested cells of the zona glomerulosa. **Endocrinology, 129:** 823-
- KING, L & AGRE, P (1996). Pathophysiology of the aquaporin water channels. **Annual Review of Physiology, 58:** 619-648.
- KING, MS; BAERTSCHI, AJ (1991). Central neural pathway for splanchnic osmosensation. **Brain Research, 550:** 268-278.
- KINNE, RKH (1991). Selectivity and direction: Plasma membranes in renal transport. **American Journal of Physiology, 260:** F153-
- KIRCHGESSNER, AL; SCLAFANI, A Y NILAVER, G (1988). Histochemical identification of a PVN-hindbrain feeding pathway. **Physiology and Behavior, 42:**529-543.
- KISS, A; JEZOVA, D Y AGUILERA, G (1994). Activity of the hypothalamic pituitary adrenal axis and sympathoadrenal system during food and water deprivation in the rat. **Brain Research, 663:** 84-92.

414 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- KITAMURA, K; KANGAWA, K; KAWAMOTO, M; ICHIKI, Y; NAKAMURA, S; MASUTO, H & ETO, T (1993). Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, **192**: 553-560.
- KJAER, A., KNIGGE, U., ROULEAU, A., GARBARG, M AND WARBERG, J. (1994). Dehydration-induced release of vasopressin involves activation of hypothalamic histaminergic neurons. **Endocrinology.**, **135**: 675-681.
- KJAER, A., LARSEN, P., KNIGGE, U AND WARBERG, J. (1995). Dehydration stimulates hypothalamic gene expression of histamine synthesis enzyme: importance for neuroendocrine regulation of vasopressin and oxytocin secretion. **Endocrinology.**, **136**: 2189-2197.
- KLINGBEIL, CK; BROOKS, VL; QUILLEN, EW & RESID, IA (1991). Effect of baroreceptor denervation on stimulation of drinking by AII in conscious dogs. **American Journal of Physiology**, **260**: E333-E337.
- KNEPEL, W & MEYER, DK (1980). Influence of converting enzyme inhibition on release of vasopressin induced by angiotensin. **British Journal of Pharmacology**, **71**: 337-341.
- KNEPPER, MA; WADE, JB; TERRIS, J; ET AL (1996). Renal aquaporins. **Kidney International**, **49**: 1712-
- KNIGGE, V., WILLEMS, E., KJAER, A., JORGENSEN, H AND WARBERG, J.(1999). Histaminergic and catecholaminergic interactions in the central regulation of vasopressin and oxytocin secretion. **Endocrinology.**, **140**: 3713-3719.
- KNOERS, N., VAN DEN OUWELAND, A., DREESEN, J ET AL. (1993). Nephrogenic diabetes insipidus: identification of the genetic defect. **Pediatr. Nephrol.**, **7**: 685.
- KNOWLES, WD & PHILLIPS, MI (1980). AII responsive cells in the OVLT recorder in hypothalamic brain slices. **Brain Research**, **197**: 256-259.
- KOBASHI, M & ADACHI, A (1985). Convergence of hepatic osmoreceptive inputs on sodium-responsive units within the nucleus of the solitary tract of the rat. **Journal of Neurophysiology**, **54**: 212-219.
- KOBASHI, M & ADACHI, A (1992). Effect of hepatic portal infusion of water on water intake by water-deprived rats. **Physiology and Behavior**, **52**: 885-888.
- KÖHLER, C., ERICSON, H., WATANABE, T., POLAK, J., PALAY, S., PALAY, V AND CHAN-PALAY, V. (1986). Galanin immunoreactivity in hypothalamic histamine neurons: further evidence for multiple chemical messengers in the tuberomammillary nucleus. **J. Comp. Neurol.**, **250**: 58-64.
- KOEHLER-STECK, E; BYERS, A & SUMMY-LONG, JY (1998). Effects of chronic central infusion of oxytocin on the response of the magnocellular neuroendocrine system to osmotic stimulation. **Pharmacology**, **56 (2)**: 101-110.
- KOKKO, J (1993). The role of collecting duct in urinary concentration. **Kidney International**, **31**: 606-

- KORNER, PI; SHAW, J; WEST, MJ Y OLIVER, JR (1972). Central nervous system control of baroreceptor reflexes in the rabbit. **Circulation Research**, **31**: 637-652.
- KUMAR, S & BERL, T. (1998). Sodium. **Lancet.**, **352**: 220-228.
- KUROKAWA, H., FUJISAWA, I., NAKANO, Y., KIMURA, H., AKAGI, K., IKEDA, K., UOKAWA, K AND TANAKA, Y. (1998). Posterior lobe of the pituitary gland: correlation between signal intensity on T1-weighted MR images and vasopressin concentration. **Radiology.**, **207**: 79-83.
- KUTSCHER, CL (1969). Species differences in the interaction of feeding and drinking. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, **157**: 539-551.
- KUTSCHER, CL (1972). Interaction of food and water deprivation on drinking: Effect of body water losses and characteristics of solution offered. **Physiology and Behavior**, **9**: 753-758.
- KUTSCHER, CL Y STEILEN, H (1973). Increased drinking of a nonpreferred NaCl solution during food deprivation in the C3H/HeJ mouse. **Physiology and Behavior**, **10**: 29-34.
- LANDGRAF, R & LUDWIG, M (1991). Vasopressin release within the supraoptic and paraventricular nuclei of the rat brain: osmotic stimulation via microdialysis. **Brain Research**, **558**: 191-196.
- LANDGRAF, R; MALKINSON, T; HORN, T; VEALE, WL; LEDERIS, K Y PITTMAN, QJ (1990). Release of vasopressin and oxytocin by paraventricular stimulation in rats. **American Journal of Physiology**, **258**: R155-R159.
- LANDGRAF, R; NEUMANN, I; RUSSELL, JA & PITTMAN, QJ (1992). Push-pull perfusion and microdialysis studies of central oxytocin and vasopressin release in freely moving rats during pregnancy, parturition, and lactation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, **652**: 326-339.
- LANDGRAF, R; NEUMANN, RI Y SCHWARZBERG, H. (1988). Central and peripheral release of vasopressin and oxytocin in the conscious rat after osmotic stimulation. **Brain Research**, **457**:219-225.
- LANE, JM; HERBERT, J & FITZSIMONS, JT (1997). Increased sodium appetite stimulates c-fos expression in the organum vasculosum of the lamina terminalis. **Neuroscience**, **78 (4)**: 1167-1176.
- LANG, RE; RASCHER, W; HEIL, J; UNGER, TH; WIEDMAN, G & GANTEN, D (1981). Angiotensin stimulates oxytocin release. **Life Sciences**, **29**: 1425-1428.
- LARAGH, JH (1985). Atrial natriuretic hormone, the rennin-aldosterone axis, and blood pressure-electrolyte homeostasis. **The New England Journal of Medicine**, **313**: 1330-1340.
- LARSEN, PJ & MIKKELSEN, JD (1995). Functional identification of central afferent projections conveying information of acute "stress" to the hypothalamic paraventricular nucleus. **The Journal of Neuroscience**, **15 (4)**: 2609-2627.

416 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- LÁSZLO, F & WIED, D. (1966). Antidiuretic hormone content of the hypothalamo-neurohypophysial system and urinary excretion of antidiuretic hormone in rats during the development of diabetes insipidus after lesions in the pituitary stalk. **J. Endocrinol.**, **36**: 125-137.
- LEAKE, RD; WEITZMAN, RE; GLATZ, TH & FISHER, DA (1981). Plasma oxytocin concentrations in men, nonpregnant women, and pregnant women before and during spontaneous labor. **J Clin Endocrinol Metab**, **53**: 730-733.
- LEE, MC; THRASHER, TN & RAMSAY, DJ (1981). Is angiotensin essential in drinking induced by water deprivation and caval ligation?. **American Journal of Physiology**, **240**: R75-R80.
- LEENEN, FHH Y McDONALD, RH (1974). Effect of isoproterenol on blood pressure, plasma renin activity and water intake in rats. **European J. Pharmacol.**, **26**:129-135.
- LEGROS, JJ (1992). Neurohypophysial peptides and psychopathology. **Hormone Research**, **37** (suppl. 3): 16-21.
- LEGROS, JJ Y GEENEN, V (1996). Neurophysins in central diabetes insipidus. **Hormone Research**, **45**: 182-186.
- LEHR, D; GOLMAN, HW & CASNER, P (1973). Renin-angiotensin role in thirst: paradoxical enhancement of drinking by angiotensin converting enzyme inhibitor. **Science**, **182**: 1031-1034.
- LEHR, D; MALLOW, J & KRUKOWSKI, M (1967). Copious drinking and simultaneous inhibition of urine elicited by beta-adrenergic stimulation and contrary effect of alpha-adrenergic stimulation. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, **158**: 150-163.
- LEIBOWITZ, SF (1978). Paraventricular nucleus: a primary site mediating adrenergic stimulation of feeding and drinking. **Pharmacol. Biochem. Behav.** **8**:156-175.
- LEIBOWITZ, SF (1992). Neurochemical-neuroendocrine systems in the brain controlling macronutrient intake and metabolism. **TINS**, **15** (12):491-497.
- LEIBOWITZ, SFN; HAMMER, NJ Y CHANG, K (1981). Hypothalamic paraventricular nucleus lesions produce overeating and obesity in the rat. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, **27**:1031-1040.
- LE MAGNEN, J (1992). **Neurobiology of feeding and nutrition**. Academic Press.
- LENG, G., BROWN, C AND RUSSELL, J. (1999). Physiological pathways regulating the activity of magnocellular neurosecretory cells. **Prog. Neurobiol.**, **57** : 625-655.
- LENG, G; BLACKBURN, RE; DYBALL, REG; RUSSELL, JA (1989). Role of anterior periventricular structures in the regulation of supraoptic neuronal activity and neurohypophysial hormone secretion in the rat. **Journal of Neuroendocrinology**, **1**: 35-46.

- LENG, G; MASON, WT & DYER, RG (1982). The supraoptic nucleus as an osmoreceptor. **Neuroendocrinology**, **34**: 75-82.
- LEON, M (1974). Maternal pheromone. **Physiol. And Behavior**, **13**: 441-453.
- LI Y DAMPNEY (1994): **Neuroscience**, **61**: 613-634.
- LICHARDUS, B & PONEC, J. (1973). On the role of the hypophysis in the renal mechanism of body fluid volumes regulation. **Endokrinologie.**, **61** : 403-412.
- LIGHTMAN, S. (1990). Central nervous system control of fluid balance physiology and pathology. **Acta Neurochir.**, **47**: 90-94.
- LIND, R. W & JOHNSON, A. K. (1983). A further characterization of the effects of AV3V lesions on ingestive behavior. **Am. J. Physiol.**, **245**: R83-R90.
- LIND, R. W., THUNHORST, R. L & JOHNSON, A. K. (1984). The subfornical organ and the integration of multiple factors in thirst. **Physiol. Behav.**, **32**: 69-74.
- LIND, RW & JOHNSON, AK (1982). Subfornical organ-median preoptic connections and drinking and pressor responses to AII. **Journal of Neuroscience**, **2**: 1043-1051.
- LIND, RW; SWANSON, LN & GANTEN, D (1985). Organization of angiotensin II immunoreactive cells and fibers in the rat central nervous system. **Neuroendocrinology**, **40**: 2-24.
- LIND, RW; VAN HOESEN, GW Y JOHNSON, AK (1982). An HRP study of the conections of the subfornical organ of the rat. **J. Comp. Neurol.**, **210**: 265-277.
- LINDHEIMER, MD; MARRON, WM & DAVIDSON, JM (1989). Osmoregulation of thirst and vasopressin release in pregnancy. **American Journal of Physiology**, **257**: F159-F169.
- LIPSETT, M., MACLEAN, J., WEST, C., LI, M AND PEARSON, O. (1956). **J. Clin. Endocrinol. Metabol.**, **16**: 183-195.
- LOKRANTZ, C-M; UVNÄS-MOBERG, K & KAPLAN, JM (1997). Effects of central oxytocin administration on intraoral intake of glucose in deprived and nondeprived rats. **Physiology and Behavior**, **62 (2)**: 347-352.
- LOMBARDELLI, S Y DYBALL, REJ (1997). Daily night variation in the firing of vasopressin and oxytocin cells in the rat. **Journal of Physiology**, **505**: 13P.
- LUCKMAN, S & LARSEN, P. (1997). Evidence for the involvement of histaminergic neurones in the regulation of the rat oxytocinergic system during pregnancy and parturition. **J. Physiol.**, **501** : 649-655.
- LUDWIG, M (1995). Functional role of intrahypothalamic release of oxytocin and vasopressin: consequences and controversies. **American Journal of Physiology**, **268**: E537-E545.
- LUDWIG, M (1998). Dendritic release of vasopressin and oxytocin. **Journal of Neuroendocrinology**, **10**: 881-895.

418 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- LUDWIG, M; CALLAHAN, MF & MORRIS, M (1995b). Effects of tetrodotoxin on osmotically stimulated central and peripheral vasopressin and oxytocin release. **Neuroendocrinology**, **62**: 619-627.
- LUDWIG, M; CALLAHAN, MF; NEUMANN, I; LANDGRAF, R & MORRIS, M (1994). Systemic osmotic stimulation increases vasopressin and oxytocin release within the supraoptic nucleus. **Journal of Neuroendocrinology**, **6**: 369-373.
- LUDWIG, M; WILLIAMS, K; CALLAHAN, MF & MORRIS, M (1996). Salt loading abolishes osmotically stimulated vasopressin release within the supraoptic nucleus. **Neuroscience Letters**, **215**: 1-4.
- LUMPKIN, MD; SAMSON, WK & MEXCANN, SM (1983). Hypothalamic and pituitary sites of action of oxytocin to alter prolactin secretion in the rat. **Endocrinology**, **112**: 111-115.
- MAACK, T; CAMARGO, MJ; KLEINERT, HD; LARAGH, JH & ATLAS, SA (1985). Atrial natriuretic factor: Structure and functional properties. **Kidney International**, **27**: 607-615.
- MACIAS BATISTA, A., MARTINEZ, P AND DE PABLOS VELASCO, P. (1999). Diabetes insípida e hipernatremia adípica en un paciente con craneofaringioma. **Anal. Med. Intern.**, **16** : 87-88.
- MADDOX, DA & GENNARI, JF (1987). The early proximal tubule: A high-capacity delivery-responsive reabsorptive site. **American Journal of Physiology**, **252**: F573-
- MADSEN, KM & TISHER, CC (1986). Structural-functional relationships along the distal nephron. **American Journal of Physiology**, **250**: F1-
- MAGHNIE, M., COSI, G., GENOVESE, E., MANCA-BITTI, M., COHEN, A., ZECCA, S et al. (2000). Central diabetes insipidus in children and young adults. **New Eng. J. Med.**, **343**: 998-1007.
- MAHÍA, J (2002). La region tuberomamilar del Hipotálamo en la regulación hidromineral y nutritiva: Características diferenciales en relación con la Diabetes Insípida Neurológica. **Tesis Doctoral**. Granada.
- MAHON, JM; ALLEN, M; HERBERT, J & FITZSIMONS, JT (1995). The association of thirst, sodium appetite and vasopressin release with c-fos expression in the forebrain of the rat after intracerebroventricular injection of angiotensin II, angiotensin-(1-7) or carbachol. **Neuroscience**, **69 (1)**: 199-208.
- MAN, S & HUGH, C. (1992). Disorders of sodium metabolism: hypernatremia and hyponatremia. **Crit. Care Med.**, **20**: 94-103.
- MANGIAPANE, ML; THRASHER, TN; KEIL, LC; SIMPSON, JB & GANONG, WF (1983). Deficits in drinking and vasopressin secretion after lesions of the nucleus medianus. **Neuroendocrinology**, **37**: 73-77.
- MANGIAPANE, ML; THRASHER, TN; KEIL, LC; SIMPSON, JB & GANONG, WF (1984). Role for the subfornical organ in vasopressin release. **Brain Research Bulletin**, **13 (1)**: 43-47.

- MANN, JFE; JOHNSON, AK & GANTEN, D (1980). Plasma angiotensin II: dipsogenic levels and angiotensin-generating capacity of renin. **American Journal of Physiology**, **238**: R372-R377.
- MASAKI, T., YOSHIMATSU, H., CHIBA, S., WATANABE, T & SAKATA, T. (2001). Central infusion of histamine reduces fat accumulation and upregulates UCP family in leptin-resistant obese mice. **Diabetes**. **50**: 376-384.
- MASON, WT (1980). Intracellular recordings from osmosensitive neurones in the rat SON in vitro. **Journal of Physiology**, **303**: 141-161.
- MASON, WT (1980b).Supraoptic neurones of rat hypothalamus are osmosensitive. **Nature**, **287**: 154-157.
- MASON, WT; HATTON, GI; HO, YW; CHAPMAN, C & ROBINSON, IC (1984). Central release of oxytocin, vasopressin and neurophysin by magnocellular neurone depolarisation: evidence in slices of guinea-pig and rat hypothalamus. **Neuroendocrinology**, **42**: 311-322.
- McALLEN, RM; PENNINGTON, GL; MCKINLEY, MJ (1990). Osmoresponsive units in sheep median preoptic nucleus. **American Journal of Physiology**, **259**: R593-R600.
- McCANCE, RA (1938). The effect of salt deficiency in man on the volume of extracellular fluid, and on the composition of sweat, saliva, gastric juice and cerebrospinal fluid. **Journal of Physiology**, **92**:208.
- McCANN, MJ; VERBALIS, JG & STRICKER, EM (1989). LiCl and CCK inhibit gastric emptying and feeding and stimulate OT secretion in rats. **American Journal of Physiology**, **256**: R463-R468.
- McKINLEY, MJ; ALLEN, AM; BURNS, P; COLVILL, LM; OLDFIELD, BJ (1998). Interaction of circulating hormones with the brain: The roles of the subfornical organ and the organum vasculosum of the lamina terminalis. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, **25 (Suppl.)**: S61-S67.
- McKINLEY, M. J., BICKNELL, R. J., HARDS, D., McALLEN, R. M., VIVAS, L., WEISINGER, R. S., OLDFIELD, B. J. (1992). Efferent neural pathways of the lamina terminalis subserving osmoregulation. **Prog. Brain Res.**, **91**: 395-402.
- McKINLEY, M. J., CONGIU, M., DENTON, D. A et al. (1984). The anterior wall of the third cerebral ventricle and homeostatic responses to dehydration. **J. Physiol. (Paris)**. **79**: 421-427.
- McKINLEY, M. J., DENTON, D. A & LEKSELL, L. (1982). Osmoregulation thirst in sheep is disrupted by ablation of the anterior wall of the optic recess. **Brain Res.**, **236**: 210-215.
- McKINLEY, M. J., DENTON, D. A., LEVENTER, M et al. (1986). Adipsia in sheep caused cerebral lesions. In: De Caro, G., Massi, M., Epstein, A (eds). **The physiology of thirst and sodium appetite**. Plenum Press. New York., pp. 321-326.
- McKINLEY, MJ; DENTON, DA; NELSON, JF Y WEISINGER, RS (1983). Dehydration induces sodium depletion in rats, rabbits and sheep. **Am. J. Physiology**, **245**:R287-R292.

420 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- MCKINLEY, MJ; DENTON, DA & WEISINGER, RS (1978). Sensors for antidiuresis and thirst-osmoreceptors or CSF sodium detectors?. **Brain Research**, **141**: 89-103.
- MCKINLEY, M. J., GERSTBERGER, R., MATHAI, M. L., OLDFIELD, B. J., SCHMID, H. (1999). The lamina terminalis and its role in fluid and electrolyte homeostasis. **J. Clin. Neurosci.**, **6(4)** : 289-301.
- MCKINLEY, M & OLDFIELD, B. (1994). Identification of neural pathways activated in dehydrated rats by means of Fos-immunohistochemistry and neural tracing. **Brain Res.**, **653**: 305-314.
- MELIS, MR; ARGIOLAS, A; STANCAMPIANO, R Y GESSA, GL (1989). Oxytocin-induced motor disturbances: Relationship with penile erection and yawning. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, **34**: 673-675.
- MENDELSON, FAO; ALLEN, AM; CLEVERS, J; DENTON, DA; TARJAN, E & MCKINLEY, MJ (1988). Localization of angiotensin II receptor binding in rabbit brain by in vitro autoradiography. **Journal of Comparative Neurology**, **270**: 372-384.
- MENDELSON, J (1970). Food deprivation facilitates hypothalamic drinking. **Physiology and Behavior**, **5**: 1225-1227.
- MENDELSON, FAO; QUIRON, R; SAAVEDRA, JM; AGUILERA, G & CATT, KJ (1984). Autoradiographic localization of angiotensin II receptors in rat brain. **PNAS**, **81**: 1575-1579.
- MENETON, P; JEUVEMAITRE, X Y MENARD, J (1998). Sal e hipertensión: un dossier agobiante. **Mundo Científico**, **195**: 48-54.
- MERRILL, DC; EBERT, TJ; SKELTON, MM & COWLEY, AW (1989). Effect of plasma sodium on aldosterone secretion during angiotensin II stimulation in normal humans. **Hypertension**, **14**: 164-
- METTAUER, B; ROULEAU, JL; BICHET, D ET AL. (1986). Sodium and water excretion abnormalities in congestive heart failure. **Annual of Internal Medicine**, **105**: 161.
- MILGRAM, NW; KRAMES, L Y THOMPSON, R (1974). Influence of drinking history on food-deprived drinking in the rat. **J. of Comparative and Physiological Psychology**, **87**: 126-133.
- MILLER, RT (1991). Transmembrane signalling through G proteins. **Kidney International**, **39**: 421-
- MIRSKY, A., PAULISCH, G AND STEIN, M. (1954). The antidiuretic activity of the plasma of adrenalectomized, hypophysectomized and adrenalectomized-hypophysectomized rats. **Am. J. Physiol.**, **54**: 691-697.
- MISELIS, RR (1981). The efferent projections of the subfornical organ of the rat: a circumventricular organ within a neural network subserving water balance. **Brain Research**, **230**: 1-23.

- MIURA, M Y REIS, DJ (1972). The role of the solitary and paramedian reticular nuclei in mediating cardiovascular responses from carotid baro- and chemo-receptors. **The Journal of Physiology**, **223**: 525-548.
- MIYATA, S; NAKASHIMA, T; KIYOHARA, T (1994). Structural dynamics of neural plasticity in the supraoptic nucleus of the rat hypothalamus during dehydration and rehydration. **Brain Research Bulletin**, **34**: 169-175.
- MIYATA, S., TSUJIOKA, H., ITOH, M., MATSUNAGA, W., KURAMOTO, H & KIYOHARA, T. (2001). Time course of Fos and Fras expression in the hypothalamic supraoptic neurons during chronic osmotic stimulation. **Mol. Brain Res.**, **90** : 39-47.
- MOLL, J Y DE WIED, D (1962). Observations on the hypothalamo-posthypophyseal system of the posterior lobectomized rat. **Gen. Com. Endocrinol.**, **2**: 215-228.
- MOORE-GILLON, MJ & FITZSIMONS, JT (1982). Pulmonary vein-atrial junction stretch receptors and the inhibition of drinking. **American Journal of Physiology**, **242**: R452-R457.
- MOOS, F; FREUND-MERCIER, MJ; GUERNE, Y; GUERNE, JM; STOECKEL, ME & RICHARD, P (1984). Release of oxytocin and vasopressin by magnocellular nuclei in vitro: specific facilitatory effect of oxytocin on its own release. **Journal of Endocrinology**, **102**:63-72.
- MOOS, F; POULAIN, DA; RODRIGUEZ, F; GUERNE, Y; VINCENT, JD & RICHARD, P (1989). Release of oxytocin within supraoptic nucleus during the milk ejection reflex in rats. **Experimental Brain Research**, **76**:593-602.
- MORALES, A., CUBERO, I AND PUERTO, A. (1990). Psicobiología de la regulación de fluidos: implicación del área mamilar. **Psiquis.**, **189**: 42-53.
- MORALES, A & PUERTO, A. (1986). Posterior hypothalamic polydipsia: differential effects to several dipsogenic treatments. In: De Caro, G., Epstein, A., Massi, M. (eds) : **The physiology of thirst and sodium appetite**. Plenum Press. New York., pp 77-81.
- MORALES, A & PUERTO, A. (1988). Efecto de la estimulación eléctrica del núcleo supraóptico sobre la polidipsia mamilar. **Arch. Neurobiol.**, **51** : 154-158.
- MORALES, A & PUERTO, A. (1989). Estudio del carácter primario/secundario de la polidipsia inducida por lesión electrolítica de los cuerpos mamilares. **Rev. Esp. Fisiol.**, **45**: 27-32.
- MORALES, A & PUERTO, A. (1989b). Mammillary polydipsia and diabetes insipidus: a study of the rhythmicity of water intake. **Physiol. Behav.**, **45** : 911-915.
- MORELLO, JP Y BICHET, DG (2001). Nephrogenic diabetes insipidus. **Annu. Rev. Physiol.** **63**:607-630.
- MORIEN, A., GARRARD, L AND ROWLAND, N. (1999). Expression of fos immunoreactivity in rat brain during dehydration: effect of duration and timing of water deprivation. **Brain Res.**, **816**: 1-7.

422 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- MORITA, H; YAMASHITA, Y; NISHIDA, Y; TOKUDA, M; HATASE, O Y HOSOMI, H (1997). Fos induction in rat brain neurons after stimulation of the hepatoportal Na-sensitive mechanism. **American J. of Physiology**, **272**: R913-923.
- MORRIS, JF; CHRISTIAN, H; MA, D & WANG, H (2000). Dendritic secretion of peptides from hypothalamic magnocellular neurosecretory neurones: a local dynamic control system and its functions. **Experimental Physiology**, **85S**: 131S-138S.
- MORRIS, M & ALEXANDER, N (1989). Baroreceptor influences on oxytocin and vasopressin secretion. **Hypertension**, **13**: 110-114.
- MORRIS, M; ALVES, MJ; SIM, LJ; JOHNSON, AK & CALLAHAN, MF (1994). Dissociation between vasopressin and oxytocin mRNA and peptide secretion after AV3V lesions. **American Journal of Physiology**, **267**: R1640-R1645.
- MORRIS, M., BARNARD, R AND SAIN, L. (1984). Osmotic mechanisms regulating cerebrospinal fluid vasopressin and oxytocin in the conscious rat. **Neuroendocrinol.**, **39**: 377-383.
- MORRISON, SD (1967). The adrenal cortex and the regulation of water exchange during food deprivation. **Endocrinology**, **80 (5)**: 835-83.
- MORRISON, SD (1968). The constancy of the energy expended by rats on spontaneous activity and the distribution of activity between feeding and non-feeding. **Journal of Physiology**, **197**: 305-323.
- MORRISON, SD (1968b). Regulation of water intake by rats deprived of food. **Physiology and Behavior**, **3**: 75-81.
- MORRISON, SD; MACKAY, C; HURLBRINK, E; WIER, JK; NICK, MS Y MILLAR, FK (1967). The water exchange and polyuria of rats deprived of food. **Q. J. Ewp. Physiol**, **52**: 51-67.
- MOSBY (ED.) (1996). **Diccionario Mosby de la salud**. Ed. Mosby: Madrid.
- MOSES, A., CLAYTON, B AND HOCHHAUSER, L. (1992). Use of T1-weighted MR imaging to differentiate between primary polydipsia and central diabetes insipidus. **AJNR.**, **13** : 1273-1277.
- MURPHY, TC & SAMSON, WK (1995). The novel vasoactive hormone adrenomedullin, inhibits water drinking in the rat. **Endocrinology**, **136**: 2459-2463.
- MUSABAYANE, CT; NDHLOVU, CE; FORSLING, ML Y BALMENT, RJ (1994). Interaction of aldosterone and oxytocin to influence renal sodium excretion in rats. **Experimental Physiology**, **79**: 763-774.
- NAFTILAN, AJ; ZUO, WM & INGELFINGER, J ET AL (1991). Localization and differential regulation of angiotensinogen mRNA expresión in the vessel wall. **Journal of Clinical Invest.** **88**: 1300

- NELSON, D & JOHNSON, A. (1985). Subfornical organ projections to nucleus medianus: electrophysiological evidence for angiotensin II synapses. **Fed. Procc.**, **44**: 1010.
- NELSON, DO; HAYWOOD, JR Y PLUNKETT, W (1986). Paraventricular nucleus control of renal function. **Federation Proc.**, **45**:392.
- NEUMANN, ID; LUDWIG, M; ENGELMANN, M; PITTMAN, QJ & LANDGRAF, R (1993). Simultaneous microdialysis in blood and brain: oxytocin and vasopressin release in response to central and peripheral osmotic stimulation and suckling in the rat. **Endocrinology**, **58**: 637-645.
- NEUMAN, KH; RECTOR, FC (1976). Mechanism of NaCl and water reabsorption in the proximal convoluted tubule of the rat kidney: Role of chloride concentration gradients. **Journal of Clinical Investigation**, **58**: 1110-
- NEUMANN, ID; RUSSELL, JA & LANDGRAF, R (1993b). Oxytocin and vasopressin release within the supraoptic and paraventricular nuclei of pregnant, parturient and lactating rats: a microdialysis study. **Neuroscience**, **53**: 65-75.
- NEUMANN, ID; WIGGER, A; TORNER, L; HOLSBOER, F & LANDGRAF, R (2000). Brain oxytocin inhibits basal and stress-induced activity of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in male and female: Partial action within the paraventricular nucleus. **Journal of Neuroendocrinology**, **12 (3)**: 235-243.
- NIAUDET, P., DECHAUX, M., LEROY, D AND BROYER, M. (1985). Nephrogenic diabetes insipidus in children. In: Czernichow, P., Robinson, A, eds. **Diabetes insipidus in man. Frontiers of hormonal research.**, **13**: 224-231.
- NICOLAÏDIS, S; EL GHISSASSI, M & THORNTON, SN (1991). Rostro-sagittal brain: site of integration of hydrational signals in body fluid regulation and drinking. En: DJ, Ramsay y DA, Booth (Eds.). **Thirst: physiological and psychological aspects**. Springer-Verlag: London.
- NIELSEN, S; CHOU, CL; MARPLES, D; CHRISTENSEN, EI; KISHORE, BK & KNEPPER, MA (1995). Vasopressin increases water permeability of kidney collecting duct by inducing translocation of aquaporin-CD water channels to plasma membrane. **Proceeding of the National Academy of Sciences USA**, **92**: 1013-1017.
- NISSEN, R; BOURQUE, CW; RENAUD, LP (1993). Membrane properties of OVLN neurons recorded in vitro. **American Journal of Physiology**, **264**: R811-R815.
- NONDINEZ, JF (1941). Studies on the innervation of the heart. II. Afferent nerve endings in the large arteries and veins. **The American Journal of Anatomy**, **68**: 151-189.
- NONOGUCHI, H; SANDS, JM & KNEPPER, MA (1988). Atrial natriuretic factor inhibits vasopressin-stimulated water permeability in rabbit inner medullary collecting duct. **Journal of Clinical and Investigation**, **82**: 1383-
- NORTH, WG; GELLAI, M Y ARDÍ, G (1982). Oxytocin and oxytocin-associated neurophysin evaluation by RIA in the Brattleboro rat: turnover. **Ann. N Y Acad. Sci.**, **394**:167-172.

424 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- NORTH, WG; MOSES, AM & SHARE, L (1993). The Neurohypophysis: A window of brain function. **Annals of the New York Academy of Sciences**, **689**. The New York Academy of Sciences Pub.: New York.
- NOSEDA, J., VALDES, L., CAILLE, B ET AL. (1985). Deletion of the short arm of chromosome 18, holoprosencephaly and pitressin-sensitive diabetes insipidus. **Ann. Pediatr.**, **32**: 447.
- OATLEY, K (1964). Changes of blood volume and osmotic pressure in the production of thirst. **Nature**, **202**: 1341-1342.
- OATLEY, K Y TONGE, DA (1969). The effect of hunger on water intake in rats. **Q. J. Exp. Psychol.**, **21**: 162-171.
- O'CONNOR, W. (1946). The effect of section of the supraoptic-hypophyseal tracts on the inhibition of water diuresis by emotional stress. **Quart. J. Exp. Physiol.**, **33**: 149-161.
- O'CONNOR, W. (1950). The role of the neurohypophysis of the dog in determining urinary changes, and the antidiuretic activity of urine, following the administration of sodium chloride or urea. **Quart. J. Exp. Physiol.**, **36**: 21-48.
- O'CONNOR, W. (1952). The normal interphase in the polyuria which follows section of the supraoptico-hypophysial tracts in the dog. **Quart. J. Exp. Physiol.**, **37**: 1-10.
- OHMAN, LE & JOHNSON, AK (1989). Brain stem mechanisms and the inhibition of angiotensin-induced drinking. **American Journal of Physiology**, **256**: R264-R269.
- OHMAN, LE & JOHNSON, AK (1995). Role of lateral parabrachial nucleus in the inhibition of water intake produced by right atrial stretch. **Brain Research**, **695**: 275-278.
- OKUYA, S; INENAGA, K; KANEKO, T & YAMASHITA, H (1987). Angiotensin II sensitive neurons in the supraoptic nucleus, subfornical organ and AV3V of rats in vitro. **Brain Research**, **402**: 58-67.
- OLDFIELD, B. J., BADOER, E., HARDS, D. K., MCKINLEY, M. J. (1999). Fos production in retrogradely labelled neurons of the lamina terminalis following intravenous infusion of either hypertonic saline or angiotensin II. **Neuroscience** **60(1)**: 255-262.
- OLDFIELD, B., BICKNELL, R., McALLEN, R., WEISINGER, R AND MCKINLEY, M. (1991). Intravenous hypertonic saline induces fos immunoreactivity in neurons throughout the lamina terminalis. **Brain Res.**, **561**: 151-156.
- OLIVECRONA, H (1957). Paraventricular nucleus and pituitary gland. **Acta Physiologica Scandinavica** **40 (suppl. 136)**:1-178.
- OLSON, BR; DRUTAROSKY, MD; CHOW, MS; HRUBY, VJ; STRICKER, EM & VERBALIS, JG (1991). Oxytocin and an oxytocin agonist administered centrally decrease food intake in rats. **Peptides**, **12(1)**: 113-118.

- OLSON, BR; DRUTAROSKY, MD; STRICKER, EM & VERBALIS, JG (1991b). Brain oxytocin receptor antagonism blunts the effects of anorexigenic treatments in rats: Evidence for central oxytocin inhibition of food intake. **Endocrinology**, **129**: 785-791.
- OLSSON, K & KOLMODIN, R (1974). Dependence of basic secretion of antidiuretic hormone on cerebrospinal fluid [Na⁺]. **Acta Physiologica Scandinavica**, **91**: 286-288.
- OSBORN, JL (1991). Relation between sodium intake, renal function and the regulation of arterial pressure. **Hypertension**, **17 (Suppl. I)**: I-91-I-96.
- O'SHEA, RD Y GUNDLACH, AL (1993). Regulation of cholecystokinin receptors in the hypothalamus of the rat: reciprocal changes in magnocellular nuclei induced by food deprivation and dehydration. **Journal of Neuroendocrinology**, **5 (&)**: 697-704.
- O'SHEA, RD Y GUNDLACH, AL (1996). Food or water deprivation modulate Nitric Oxide Synthase (NOS) activity and gene expression in the rat hypothalamic neurones: correlation with neurosecretory activity?. **J. of Neuroendocrinology**, **8**: 417-425.
- OTA, M; CROFTON, JT & SHARE, L (1994). Hemorrhage-induced vasopressin release in the paraventricular nucleus measured by in vivo microdialysis. **Brain Research**, **658**: 49-54.
- OTA, M; CROFTON, JT; FESTAVAN, G & SHARE, L (1992). Central carbachol stimulates vasopressin release into interstitial fluid adjacent to the paraventricular nucleus. **Brain Research**, **592**: 249-254.
- OTA, K & YOKOYAMA, A (1967). Body weight and food consumption of lactating rats: effects of ovariectomy and of arrest and resumption of suckling. **J. of Endocrinol.**, **38**: 251-261.
- PAGE, RB Y DOVEY-HARTMAN, BJ (1984). Neurochemical contact in the internal zone of the rabbit median eminence. **Journal of Comp. Neurol.** **226**:274-288
- PALKOVITS, M (2000). Stress-induced expression of co-localized neuropeptides in hypothalamic and amygdaloid neurons. **European Journal of Pharmacology**, **405**: 161-166.
- PALKOVITS, M; ESKAY, RL & ANTONI, FA (1987). Atrial natriuretic peptide in the median eminence is of paraventricular nucleus origin. **Neuroendocrinology**, **46**: 542-544.
- PALMIERI, G & TALEISNIK, S. (1969). Intake of NaCl solution in rats with diabetes insipidus. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, **68**: 38-44.
- PANG, Y; METZENBERG, A; DAS, S; JING, B Y GITSCHIER, J (1992). Mutations in the V2 vasopressin receptor gene are associated with X-linked nephrogenic diabetes insipidus. **Nature Genetics**, **2**: 103-106.
- PARDRIDGE, WM (1983). Neuropeptides and the blood-brain barrier. **Annual Review of Physiology**, **45**: 73-82.

426 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- PARKER, SL; ARMSTRONG, WE; SLADEK, CD; GROSVENOR, CD Y CROWLEY, WR (1991). Prolactin stimulates the release of oxytocin in lactating rats: Evidence for a physiological role via an action at the neural lobe. **Neuroendocrinology**, **53**: 503-510.
- PAXINOS, G & WATSON, C (1986). **The rat brain in stereotaxic coordinates**. Academic Press.
- PEDERSEN, CA; ASCHER, JA; MONROE, YL & PRANGE, AJ (1982). Oxytocin induces maternal behavior in virgin female rats. **Science**, **216**: 648-649.
- PERLMUTTER, LS; HATTON, GI; TWEEDLE, CD (1984). Plasticity in the in vitro neurohypophysis: effects of osmotic changes on pituicytes. **Neuroscience**, **12**: 503-511.
- PERLMUTTER, LS; TWEEDLE, CD; HATTON, GI (1985). Neuronal-glial plasticity in the supraoptic dendritic zone in response to acute and chronic dehydration. **Brain Research**, **361**: 225-232.
- PETERS, G. (1980). Mécanismes de réglage de l'ingestion d'eau. **J. Physiol. (Paris)**, **76**: 295-322.
- PETERSSON, M; LUNDEBERG, T; UVNAS-MOBERG, K (1997). Oxytocin decreases blood pressure in male but not in female spontaneously hypertensive rats. **Journal of the autonomic nervous system**: **66(1-2)**: 15-8.
- PETERSSON, -M; LUNDEBERG, -T; UVNAS-MOBERG, -K (1999). Short-term increase and long-term decrease of blood pressure in response to oxytocin-potentiating effect of female steroid hormones. **J. Cardiovasc. Pharmacol.**, **33 (1)**: 102-108.
- PHILLIPS, IA (1987). Functions of angiotensin in the central nervous system. **Ann. Rev. Physiol.**, **49**: 413-435.
- PHILLIPS, MI & FELIX, D (1976). Specific angiotensin II receptive neurones in the cat subformal organ. **Brain Research**, **109**: 531-540.
- PHILLIPS, M & SUMNERS, C. (1998). Angiotensin II in central nervous system physiology. **Regul. Pept.**, **78**: 1-11.
- PHILLIPS, MI; SPEAKMAN, EA & KIMURA, B (1993). Levels of angiotensin and molecular biology of the tissue renin-angiotensin systems, **Regulatory Peptides**, **43**: 1-20.
- PICKFORD, M & RITCHIE, A. (1945). Experiments on the hypothalamic-pituitary control of water excretion in dogs. **J. Physiol.**, **104** : 105-128.
- PIRNIK, Z Y KISS, A (2002). Detection of Oxytocin mRNA in hypertonic saline fos-activated PVN neurons: comparison of chromogens in dual immunocytochemical and in situ hybridization procedure. **Endocrine Regulations**, **36**: 23-30.
- PITTMAN, QJ; HIRASAWA, M; MOUGINOT, D & KOMBIAN, SB (2000). Neurohypophysial peptides as retrograde transmitters in the supraoptic nucleus of the rat. **Experimental Physiology**, **85S**: 139S-143S.

- PIVONELLO, R., FAGGIANO, A., ARRICHIELLO, P., DI SARNO, A., DI OSMA, C., FERONE, D et al. (2000). Central diabetes insipidus and heart: effect of acute arginine vasopressin deficiency and replacement treatment with desmopressin on cardiac performance. **Clin. Endocrinol.**, **54**: 97-106.
- PLUNKETT, LM; SHIGEMATSU, K; KURIHARA, M & SAAVEDRA, JM (1987). Localization of AII receptors along the AV3V area of the rat brain. **Brain Research**, **405**: 205-212.
- POLLARD, H., BISCHOFF, S., LLORENS-CORTES, C AND SCHWARTZ, J. (1976). Histidine decarboxylase and histamine in discrete nuclei of rat hypothalamus and the evidence for mast-cells in the median eminence. **Brain Res.**, **118**: 509-513.
- PORTER, JP (1988). Electrical stimulation of paraventricular nucleus increases plasma renin activity. **American Journal of Physiology**, **254**: R325-R330.
- POTTS, PD; LUDBROOK, J; GILMAN-GASPARI, TA; HORIUCHI, J & DAMPNEY, RAL (2000). Activation of brain neurons following central hypervolaemia and hypovolaemia: Contribution of baroreceptor and non-baroreceptor inputs. **Neuroscience**, **95 (2)**: 499-511.
- POULAIN, DA; WAKERLEY, JB & DYBALL, REJ (1977). Electrophysiological differentiation of oxytocin- and vasopressin-secreting neurones. **Proc. R. Soc. Lond. B.**, **196**:367-384
- POUZET, B; SERRADEIL, C; BOUBY, N; MAFFRAND, JP; LE FUR, G Y BANKIR, L (2001). Selective blockade of vasopressin V2 receptors reveals significant V2-mediated water reabsorption in Brattleboro rats with diabetes insipidus. **Nephrol. Dial. Transplant.**, **16 (4)**:725-734.
- POW, DV & MORRIS, JF (1989). Dendrites of hypothalamic magnocellular neurons release neurohypophysial peptides by exocytosis. **Neuroscience**, **32**: 435-439.
- PRESTON, GM; CARROLL, TP; GUGGINO, WB & AGRE, P (1989). Appearance of water channels in Xenopus oocytes expressing red cell CHIP 28 protein. **Science**, **256**: 385-
- PRICE, T & KALLENBORN, J. (2000). Infant hypernatremia. **J. Emerg. Med.**, **19**: 153-157.
- PURYEAR, R; RIGATTO, KV; AMICO, JA & MORRIS, M (2001). Enhanced salt intake in oxytocin deficient mice. **Experimental Neurology**, **171**: 323-328.
- QADRI, F; WOLF, A; WALDMANN, T; RASCHER, W & UNGER, T (1998). Sensitivity of hypothalamic paraventricular nucleus to c- and n- terminal angiotensin fragments: Vasopressin release and drinking. **Journal of Neuroendocrinology**, **10**: 275-281.
- QUILLEN, EW; KEIL, LC & RESID, IA (1990). Effects of baroreceptor denervation on endocrine and drinking responses to caval constriction in dogs. **American Journal of Physiology**, **259**: R618-
- RABIN, BM Y SMITH, CJ (1968). Behavioral comparison of the effectiveness of irritative and non-irritative lesions in producing hypothalamic hyperphagia. **Physiology and Behavior**, **3**: 417-420.

428 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- RADFORD, EP (1959). Factors modifying water metabolism in rats fed dry diets. **Am. J. Physiol.**, **196**: 1098-1108.
- RAFF, H (1993). Interactions between neurohypophysial hormones and the ACTH-Adrenocortical axis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, **689**: 411-425.
- RAFF, H; MERRILL, D; SKELETON, M; CROWLEY, AW (1985). Control of ACTH and vasopressin in neurohypophysectomized conscious dogs. **Am. J. Physiol.**, **249**: R281-R284.
- RAGGENBASS, M (2001). Vasopressin- and oxytocin-induced activity in the central nervous system: electrophysiological studies using in-vitro systems. **Progress in Neurobiology**, **64**: 307-326.
- RAIDOO, DM; NAROTAM, PK; VAN DELLEN, J & BHOOLA, KD (1998). Cellular orientation of atrial natriuretic peptide in the human brain. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, **14**:207-213.
- RAMSAY, DJ; ROLLS, BJ & WOOD, RJ (1975). The relationship between elevated water intake and oedema associated with congestive cardiac failure in the dog. **The Journal of Physiology**, **244**:303-312.
- RAMSAY, DJ; ROLLS, BJ & WOOD, RJ (1977). Body fluid changes which influence drinking in the water deprived rat. **Journal of Physiology**, **266**: 453-469.
- RAMSAY, DJ; ROLLS, BJ & WOOD, RJ (1977b). Thirst following water deprivation in dogs. **American Journal of Physiology**, **232**: R93-R100.
- RANDALL, R., CLARK, E., DODGE, H AND LOVE, J. (1960). Poliuria after operation for tumors in the region of the hypophysis and hypothalamus. **J. Clin. Endocrinol. Metabol.**, **20**: 1614-1621.
- RANDOLPH, RR; LI, Q; CURTIS, KS; SULLIVAN, MJ & CUNNINGHAM, JT (1998). Fos expression following isotonic volume expansion of the unanesthetized male rat. **American Journal of Physiology**, **274**: R1345-R1352.
- RECTOR, FC (1983). Sodium, bicarbonate and chloride absorption by the proximal tubule. **American Journal of Physiology**, **244**: F461-
- RENAUD, L & BOURQUE, C. (1990). Neurophysiology and neuropharmacology of hypothalamic magnocellular neurons secreting vasopressin and oxytocin. **Prog. Neurobiol.**, **36**: 131-169.
- RENAUD, LP Y BOURQUE, CW (1991). Neurophysiology and neuropharmacology of hypothalamic magnocellular neurons secreting vasopressin and oxytocin. **Progress in Neurobiology**, **36**:131-169.
- RETTING, R & JOHNSON, AK (1986). Aortic baroreceptor deafferentation diminishes saline-induced drinking in rats. **Brain Research**, **370**: 29-37.

- RICE, KK Y RICHTER, CP (1943). Increased sodium chloride and water intake by normal rats treated with desoxycorticosterone acetate. **Endocrinology**, **33**: 106-115.
- RICHARD, D & BOURQUE, CW (1993). Neurons within the OVLT are intrinsically osmosensitive. **Soc. Neurosci. Abstr.**, **19**: 92.
- RICHARD, D., BOURQUE, C. W. (1995). Synaptic control of rat supraoptic neurones during osmotic stimulation of the organum vasculosum lamina terminalis in vitro. **J. Physiol.**, **1**: 567-577.
- RICHARD, P; MOOS, F & FREUND-MERCIER, MJ (1991). Central effects of oxytocin. **Physiological Reviews**, **71 (2)**: 331-370.
- RICHTER, CP (1936). Increased salt appetite in adrenalectomized rats. **American Journal of Physiology**, **115**:155-161.
- RICHTER, CP Y ECKER, JF (1935). Further evidence for the primacy of polyuria in diabetes insipidus. **American Journal of Physiology**, **113**: 578-581.
- RINAMAN, L; SHERMAN, TG & STRICKER, EM (1995). Vasopressin and oxytocin in the central nervous system. En FE Bloom y DJ Kupfer (Eds.). **Psychopharmacology: The fourth generation of progress**. Cap. 47. Raven Press: New York.
- ROBBINS, TW Y EVERITT, BJ (1999). Motivation and reward. En: Zigmond et al (Eds.). **Fundamental Neuroscience**. Academic Press.
- ROBERTSON, G. L. (1983). Thirst and vasopressin function in normal and disordered states of water balance. **J. Lab. Clin. Med.**, **101**: 351-371.
- ROBERTSON, GL (1987). Physiology of ADH secretion. **Kidney International**, **32 (suppl. 21)**: S20-S26.
- ROBERTSON, GL (1991). Disorders of thirst in man. En DJ, Ramsay y DA, Booth (Eds.). **Thirst: physiological and psychological aspects**. Springer-Verlag: London.
- ROBERTSON, G. L. (1995). Diabetes insipidus. **Endocrinol. Metab. Clin. North Am.**, **24**: 549-572.
- ROBERTSON, G. L., AYCINEMA, P & ZERBE, R. L. (1982). Neurogenic disorders of osmoregulation. **Am. J. Med.**, **72**: 339-353.
- ROBINSON, MM & EVERED, MD (1987). Pressor action of intravenous angiotensin II reduced drinking response in rats. **American Journal of Physiology**, **252**: R754-
- ROCHA, MJA; BELTZ, TG; DORNELLES, RCM; JOHNSON, AK & FRANCI, CR (1999). AV3V lesions alter c-fos expression induced by salt loading. **Brain Research**, **829**: 197-200.89
- ROCHA, MJA; CALLAHAN, MF & MORRIS, M (1997). Baroreceptor regulation of salt intake. **Brain Research Bulletin**, **42 (2)**: 147-151.

430 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ROCHA, MJA; CALLAHAN, MF; SUNDBERG, DK & MORRIS, M (1993). Sinoaortic denervation alters the molecular and endocrine responses to salt loading. **Neuroendocrinology**, **57**: 729-737.
- ROLLS, B. (1970). Drinking by rats after irritative lesions in the hypothalamus. **Physiol. Behav.**, **5**: 1385-1393.
- ROLLS, BJ (1975). Interaction of hunger and thirst in rats with lesions of the preoptic area. **Physiology and Behavior**, **14**: 537-543.
- ROLLS, ET (1982). Feeding and reward. En: Hoebel y Novin (Eds.). **The neural basis of feeding and reward**. Haer institute for electrophysiol. Research, pp. 323-328.
- ROLLS, ET (1994). Neural processing related to feeding in primates. En: Legg y Booth (Eds.). **Appetite**. OUP, pp.11-53.
- ROLLS, BJ & ROLLS, ET (1982). **Thirst**. Cambridge University Press: Cambridge.
- ROSE, B. D. (1986). New approach to disturbances in the plasma sodium concentration. **Am. J. Med.**, **81**: 1033-1040.
- ROSE, BD (1994). **Clinical physiology of acid-base and electrolyte disorders**. McGraww-Hill: New York.
- ROSENTHAL, W., SEIBOLD, A., ANTARAMIAN, A ET AL. (1994). Mutations in the vasopressin V2 receptor gene in families with nephrogenic diabetes insipidus and functional expression of the Q-2 mutant. **Cell Mol. Biol.**, **40**: 429.
- ROSENTHAL, W; SEIBOLD, A; ANTARAMIAN, A; LONERGAN, M; ARTHUS, MF; HENDY, GN; BIRNBAUMER, M Y BICHET, DG (1992). Molecular identification of the gene responsible for coingential nephrogenic diabetes insipidus. **Nature**, **359**: 233-235.
- ROSENZWEIG, MR (1996). **Biological Psychology**. Cap. 13. Sinauer Associates: Massachussets.
- ROWLAND, N. (1998). Brain mechanism of mammalian fluid homeostasis: insights from use of immediate early gene mapping. **Neurosc.Biobehav. Rev.**, **23**: 49-63.
- ROWLAND, NE & FREGLY, MJ (1988). Comparison of the effects of the dipeptidyl peptidase inhibitors captopril, ramipril, and enalapril on water intake and sodium appetite of Sprgue-Dawley rats. **Behavioral Neuroscience**, **102**: 953-960.
- ROWLAND, NE; MORIEN, A Y LI, BH (1996). The physiology and brain mechanisms of feeding. **Nutrition**, **12 (9)**:626-639.
- RUSSELL, JA; BLACKBURN, RE & LENG, G (1988). The role of AV3V region in the control of magnocellular oxytocin neurons. **Brain Research Bulletin**, **20**: 803-810.
- SABORIO, P., TIPTON, AND CHAN, J. (2000). Diabetes insipidus. **Ped. Rev.**, **21**: 122-129.

- SAEB-PARSY, K; LOMBARDELLI, S; KHAN, FZ; MCDOWALL, K; AU-YONG, ITH Y DYBALL, REJ (2000). Neural connections of hypothalamic neuroendocrine nuclei in the rat. **Journal of Neuroendocrinology**, **12**: 635-648.
- SAITA, M; SHIMOKAWA, A; KUNITAKE, T; KATO, K; HANAMORI, T; KITAMURA, K; ETO, T; KANNAN, H (1998). Central actions of adrenomedullin on cardiovascular parameters and sympathetic outflow in conscious rats. **American Journal of Physiology**, **274**: R979-R984.
- SAKURAI, T. (1999). Orexins and orexin receptors: implication in feeding behavior. **Regul. Pept.**, **85**: 25-30.
- SALT MARSH, M. (2001). Thirst: or, why do people drink?. **Brit. Nutr. Found. Nutr. Bull.**, **26**: 53-58.
- SAMSON, W. (1992). Natriuretic Peptides. **Trends Endocrinol. Metab.**, **3** : 86-90.
- SAMSON, WK (1999). Adrenomedullin and the control of fluid and electrolyte homeostasis. **Ann. Rev. Physiol.**, **61**: 363-389.
- SAMSON, WK & MURPHY, TC (1997). Adrenomedullin inhibits salt appetite. **Endocrinology**, **138**: 613-616.
- SANDGAARD, N., ANDERSEN, J AND BIE, P. (2000). Hormonal regulation of renal sodium and water excretion during normotensive sodium loading in conscious dogs. **Am. J. Physiol.**, **278**: R11-R18.
- SANSOM, S; MUTO, S & GIEBISCH, G (1987). Na-dependent effects of DOCA on cellular transport properties of CCDs from ADX rabbits. **American Journal of Physiology**, **253**: F753-
- SANTILLANA (EDITORIAL), (1989). **Léxicos de Ciencias de la Educación. Psicología.** Santillana: Madrid.
- SAPER, CB; REIS, DJ; JOHN, T (1983). Medullary catecholamine inputs to anteroventral cardiovascular regulatory region in the rat. **Neuroscience Letters**, **42**: 285-291.
- SARKAR, DK (1989). Evidence for prolactin feedback actions on hypothalamic oxytocin, vasoactive intestinal peptide and dopamine secretion. **Neuroendocrinology**, **49**: 520-524.
- SASAKI, S., FUSHIMI, K., SAITO, H ET AL. (1994). Cloning, characterization and chromosomal mapping of human aquaporin of collecting duct. **J. Clin. Invest.**, **93**: 1250.
- SATO, MA; SUGAWARA, AM; MENANI, JV & DE, LL (1997). Indazoxan and the effect of intracerebroventricular oxytocin or vasopressin on sodium intake of sodium-depleted rats. **Regulatory Peptides**, **69**: 137-142.
- SAWCHENKO, P & SWANSON, LW (1982). Immunohistochemical identification of neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus that project to the medulla or the spinal cord in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, **205**: 260-272.

432 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- SAWCHENKO, PE Y SWANSON, LW (1983). The organization of forebrain afferents to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. **J. comp. Neurol.**, **218**:121-144.
- SAWYER, W. (1952). Posterior pituitary extracts and excretion of electrolytes by the rat. **Am. J. Physiol.**, **169**: 583-587.
- SAWYER, WH (1993). A short history of neurohypophysial research. En WG North, AM Moses & L Share (Eds.). The Neurohypophysis: A window on brain function. **Annals of the New York Academy of Sciences**, **689**: 1-5.
- SAYER, R. J., HUBBARD, J & SIRRET, N. E. (1984). Rat organum vasculosum laminae terminalis in vitro: responses to neurotransmitters. **Am. J. Physiol.**, **247**: R347-R379.
- SCAHFER, JA (1984). Mechanism coupling the absorption of solutes and water in the proximal nephron. **Kidney International**, **25**: 708-
- SCHILTZ, JC; HOFFMAN, GF; STRICKER, EM Y SVED, AF (1997). Decreases in arterial pressure activate oxytocin neurons in conscious rats. **American Journal of Physiology**, **273**: R1474-R1483.
- SCHMIDT, A; JARD, S; DREIFUSS, JJ & TRIBOLLET, E (1990). Oxytocin receptors in rat kidney during development. **American Journal of Physiology**, **259**: F872-F881.
- SCHOORLEMMER, G., JOHNSON, A. K AND THUNHORST, R. (2000). Effect of hyperosmotic solutions on salt excretion and thirst in rats. **Am. J. Physiol.**, **278**: R917-R923.
- SCHREINHOFFER, AM; STRICKER, EM & SVED, AF (2000). Nucleus tractus solitarius lesions enhance angiotensin-induced drinking but not vasopressin release in rats. **American Journal of Physiology**, **279**: R239-
- SCHULKIN, J (1991). **Sodium hunger: The search for a salty taste**. Cambridge University Press: Cambridge.
- SCHULTZ, HD; FATER, DC; SUNDET, WD; GEER, PG & GOETZ, KL (1982). Reflexes elicited by acute stretch of atrial versus pulmonary receptors in conscious dogs. **American Journal of Physiology**, **242**: H1065-H1076.
- SCHUSTER, VL; KOKKO, JP & JACOBSON, HR (1984). Interactions of lysyl-bradykinin and antidiuretic hormone in the rabbit cortical collecting tubule. **Journal of Clinical and Investigation**, **73**: 1659-1667.
- SCHWARTZ, J-C., ARRANG, J-M., GARBARG, M., POLLARD, H AND RUAT, M. (1991). Histaminergic transmission in the mammalian brain. **Physiol. Rev.**, **71**: 1-51.
- SECKL, J & DUNGER, D. (1992). Diabetes insipidus. **Drugs.**, **44**: 216-224.
- SECKL, J., DUNGER, D y LIGHTMAN, S. (1987). Neurohypophysial peptide function during early postoperative diabetes insipidus. **Brain.**, **110**: 737-746.

- SERINO, R; UETA, Y; HARA, Y; NOMURA, M; YAMAMOTO, Y; SHIBUYA, I; HATTORI, Y; KITAMURA, K; KANGAWA, K; RUSSELL, JA & YAMASHITA, H (1999). Centrally administered adrenomedullin increases plasma oxytocin level with induction of c-fos messenger ribonucleic acid in the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. **Endocrinology**, **140**: 2334-2342.
- SEVENSEN, CH; WALDROP, KS; EDSBERG, L & HANN, RG (2003). Natriuresis and the extracellular volume expansion by hipertonic saline. **J. of Surgical Research**, **113**: 6-12.
- SEVERS, VB & DANIELS-SEVERS, AE (1973). Effect of angiotensin on the central nervous system. **Pharmacol. Rev.** **25**: 415-449.
- SEVERS, VB; SUMMY-LONG, J; TAYLOR, JS & CONNOR, JD (1970). A central effect of angiotensin: release of pituitary pressor material. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, **174**: 27-34.
- SGRO, S; FERGUSON, AV & RENAUD, LP (1984). Subfornical organ-supraoptic nucleus connections: An electrophysiological study in the rat. **Brain Research**, **303**: 7-13.
- SHAN, J & KRUKPFF, TL (2000). Area postrema ablation attenuates activation of neurones in the paraventricular nucleus in response to systemic adrenomedullin. **Journal of Neuroendocrinology**, **12**: 802-810.
- SHANNON, JA (1942). The control of the renal excretion of water. I and II. **J. Exp. Med.**, **76**: 371-386.
- SHARE, L (1988). Role of vasopressin in cardiovascular regulation. **Physiol. Rev.**, **68**: 1248-1284.
- SHARE, L., & SCHNEIDER, E . (2000). The neuroendocrinoly of fluid balance. In Conn, P. M. **Neuroendocrinology in Physiology and Medicine**. Humana Press Inc.
- SHEREENI, J., VAHID-ANSARI, F AND LEENEN, F. (2000). Neuronal fos-like immunoreactivity in ouabain-induced hypertension. **Brain Res.**, **876**: 17-21.
- SHERMAN, TG; DAY, R; CIVELLI, O; DOUGLASS, J; HERBERT, E; AKIL, H & WATSON, SJ (1988). Regulation of hypothalamic magnocellular neuropeptides and their mRNAs in the Brattleboro rat: Coordinate responses to further osmotic challenge. **Journal of Neuroscience**, **8**: 3785-3796.
- SHOJO, H & KANEKO, Y. (2000). Characterization and expression of oxytocin and the oxytocin receptor. **Mol. Gen. Metab.**, **71**: 552-558.
- SHRAGER, EE & JOHNSON, AK (1980). AV3V region ablation: chronic elevations of plasma rennin concentration. **Brain Research**, **190**: 554-558.
- SIBBALD, JR; HUBBARD, JE & SIRRETT, NE (1988). Responses from osmosensitive neurons of the rat SFO in vitro. **Brain Research**, **461**: 205-214.

434 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- SI-HOE, S., DE BREE, F., NIJENHUIS, M., DAVIES, J., HOWELL, L., TINLEY, H et al. (2000). Endoplasmic reticulum derangement in hypothalamic neurons of rats expressing a familial neurohypophyseal diabetes insipidus mutant vasopressin transgene. **FASEBS J.**, **14**: 1680-1684.
- SILVA, JE (1993). Hormonal control of termogénesis and energy disipation. **TEM**, **4** (1): 25-32.
- SIMPSON, JB (1981). The circumventricular organs and the central actions of angiotensin. **Neuroendocrinology**, **32**: 248-256.
- SIMPSON, JB; EPSTEIN, AN & CAMARDO, JS (1978). Localization of receptors of dipsogenic action of angiotensin II in the subfornical organ of rat. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, **92**: 581-608.
- SIMPSON, JB & ROUTTENBERG, A (1973). Subfornical organ: site of drinking elicitation by AII. **Science**, **181**: 1172-1175.
- SIMMONS, S (2002). Diabetes Insipidus. **Dimens. Crit. Care Nurs.**, **21** (3): 94-97.
- SINGER, I., OSTER, J AND FISHMAN, L. (1997). The management of diabetes insipidus in adults. **Arch. Intern. Med.**, **157**: 1293-1301.
- SJÖQUIST, M; HUANG, W; JACOBSSON, E; SKOTT, O; STRICKER, EM & SVED, AF (1999). Sodium excretion and rennin secretion after continuous versus pulsatile infusion of oxytocin in rats. **Endocrinology**, **140** (6): 2814-2818.
- SKORECKI, KL & BRENNER, BM (1981). Body fluid homeostasis in man. **American Journal of Medicine**, **70**: 77-
- SLADEK, C & OLSCHOWKA, J. (1994). Dehydration induces Fos, but not increased vasopressin mRNA in the supraoptic nucleus of aged rats. **Brain Res.**, **652**: 207-215.
- SMITH, CP & BALMENT, RJ (1993). Arginine vasopressin-induced natriuresis in the anaesthetized rat: involvement of V1 and V2 receptors. **Journal of Endocrinology**, **136**: 283-288.
- SMITH, RW Y MCCANN, SM (1962). Increased an decreased water intake in the rat with hypothalamic lesions. **American Journal of Physiology**, **203**: 366-370.
- SMITH, DF Y STRICKER, EM (1969). The influence of need on the rat's preference for dilute NaCl solutions. **Physiology and Behavior**, **4**: 407-410.
- SMITH, DF; STRICKER, EN Y MORRISON, GR (1969). NaCl solution acceptability by sodium-deficient rats. **Physiology and Behavior**, **4**: 239-243.
- SMITH, PM Y FERGUSON, AV (2001). Adrenomedullin acts in the rat paraventricular nucleus to decrease blood pressure. **Journal of Neuroendocrinology**, **13** (5): 467-471.
- SNELL, RS (1994). **Neuroanatomía clínica**. Ed. Médica Panamericana: Buenos Aires.

- SNYDER, HM; NOLAND, TD; BREYER, MD (1990). cAMP-dependent protein kinase mediates hydrosmotic effect of vasopressin in collecting duct. **American Journal of Physiology**, **263**: C147-
- SOARES, TJ; COIMBRA, TM; MARTINS, AR; PEREIRA, AGF; CARNIO, EC; BRANCO, LGS; ALBUQUERQUE-ARAÚJO, WIC; DE NUCCI, G; FAVARETTO, ALV; GUTKOWSKA, J; MCCANN, SM & ANTUNES-RODRIGUES, J (1999). Atrial natriuretic peptide and oxytocin induce natriuresis by release of cGMP. **PNAS USA**, **96**: 278-283.
- SOBOCINSKA, J (1969). Effect of cervical vagosympathectomy on osmotic reactivity of the thirst mechanism in dogs. **Bulletin de l' Academie Polonaise des Sciences**, **17**: 265-270.
- SOHLSTROM, A; BRISMAR, K; CARLSSON-SKWIRUT, C; BANG, P Y UVNÄS-MOBERG, K (1999). Effects of oxytocin on the IGF-axis and some gastrointestinal hormones in ad libitum fed and food-restricted female rats. **Acta Physiologica Scandinavica**, **166 (3)**:223-230.
- SONG, J., ESKRIDGE, J., NIAKAN, C AND WINN, R. (1999). Diabetes insipidus arising from hypothalamic diffuse axonal injury. **J. Neurosurgery.**, **90**: 1141-1142.
- STANTON, B; PAN, L; DEETJEN, H ET AL (1987). Independent effects of aldosterone and potassium on induction of potassium adaptation in rat kidney. **Journal of Clinical Investigation**, **79**: 198-
- STARBUCK, EM & FITTS, DA (1998). Effects of SFO lesion or captopril on drinking induced by intragastric hipertonic saline. **Brain Research**, **795**: 37-43.
- STARBUCK, EM & FITTS, DA (1998). Influence of salt intake, ANG II synthesis and SFO lesion on thirst and blood pressure during sodium depletion. **Appetite**, **31**: 309-331.
- STEINHAUSEN, M; ENDLICH, K & WIEGMAN, DL (1990). Glomerular blood flow. **Kidney International**, **38**: 769-
- STELLAR, E (1954). The physiology of motivation. **Psychol. Rev.**, **61**: 5-22.
- STELLAR, E; HYMAN, R Y SAMET, S (1954). Gastric factors controlling water- and salt-solution drinking. **Journal of comparative and physiological Psychology**, **47**: 220-226.
- STELLAR, E & McCLEARY, RA (1952). Food preferences as a function of the method of measurement. **American Psychologist.**, **7**:256.
- STIER, CT; MANNING, M & SAWYER, WH (1980). Natriuretic effect of [7-glycine]-oxytocin in the presence of diuretic agents in conscious rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, **212**: 412-417.
- STOCKER, SD; STRICKER, EM & SVED, AF (1999). Increases in arterial pressure inhibit water intake elicited by hypertonic saline infusions in rats. **FASEB J**, **13**: A780.

436 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- STOCKER, SD; STRICKER, EM & SVED, AF (2001). Acute hypertension inhibits thirst stimulated by angiotensin II, hyperosmolality or hypovolemia in rats. **American Journal of Physiology**, **280**: R214-224.
- STOCKER, SD; STRICKER, EM & SVED, AF (2001B). Arterial baroreceptors mediate the inhibitory effect of acute increases in arterial blood pressure on thirst. **American Journal of Physiology**, **282**: R1718-1729.
- STOCKER, SD; SVED, AF & STRICKER, EM (2000). Role of the rennin-angiotensin system in hypotension-evoked thirst: studies with hydralazine. **American Journal of Physiology**, **279**: R576-585.
- STOCKER, SD & SVED, AF (2001). Increases in arterial pressure do not inhibit vasopressin release stimulated by hyperosmolality. **FASEB J**, **15**: A786.
- STOEKEL, ME & FREUND-MERCIER, MJ (1989). Autoradiographic demonstration of oxytocin-binding sites in the macula densa. **American Journal of Physiology**, **257**: F310-F314.
- STOEKEL, ME, FREUND-MERCIER, MJ; PALACIOS, JM; RICHARD, PM & PORTE, A (1987). Autoradiographic localizations of binding sites for oxytocin and vasopressin in the rat kidney. **Journal of Endocrinology**, **113**: 179-182.
- STRANGE, K & SPRING, KR (1987). Absence of significant cellular dilution during ADH-stimulated water reabsorption. **Science**, **235**: 1068-
- STRICKER, EM (1966). Extracellular fluid volume and thirst. **American Journal of Physiology**, **211**: 232-238.
- STRICKER, EM (1968). Some physiological and motivational properties of the hypovolemic stimulus for thirst. **Physiology & Behavior**, **3**: 379-
- STRICKER, EM (1981). Thirst and sodium appetite after colloid treatment in rats. **Journal of Comparative & Physiological Psychology**, **95** (1): 1-25.
- STRICKER, EM (1983). Thirst and sodium appetite after colloid treatment in rats: Role of the rennin-angiotensin-aldosterone system. **Behavioral Neuroscience**, **97**: 725-737.
- STRICKER, EM (1991). Central control of water and sodium chloride intake in rats during hypovolemia. En: DJ, Ramsay y DA, Booth (Eds.). **Thirst: physiological and psychological aspects**. Cap. 11. Springer-Verlag: London.
- STRICKER, EM; GANNON, KS & SMITH, JC (1992). Thirst and salt appetite induced by hypovolemia in rats: analysis of drinking behavior. **Physiology & Behavior**, **51**: 27-
- STRICKER, EM; HOSUTT, JA & VERBALIS, JG (1987). Neurohypophyseal secretion in hypovolemic rats: inverse relation to sodium appetite. **American Journal of Physiology**, **252**: R889-R896.

- STRICKER, EM; HUANG, W & SVED, AF (2002). Early osmoregulatory signals in the control of water intake and neurohypophyseal hormone secretion. **Physiology and Behavior**, **76**: 415-421.
- STRICKER, EM & JALOWIEC, JE (1970). Restoration of intravascular fluid volume following acute hypovolemia in rats. **American Journal of Physiology**, **218**: 191-196.
- STRICKER, EM & SVED, AF (2000). Thirst. **Nutrition**, **16** (10): 821-826.
- STRICKER, EM & SVED, AF (2002). Controls of vasopressin secretion and thirst: similarities and dissimilarities in signals. **Physiology and Behavior**, **77**: 731-736.
- STRICKER, EM; THIELS, E Y VERBALIS, JG (1991). Sodium appetite in rats after prolonged dietary sodium deprivation: a sexually dimorphic phenomenon. **Am. J. Physiol.** **237**: R45-R51.
- STRICKER, EM & VERBALIS, JG (1986). Interaction of osmotic and volume stimuli in regulation of neurohypophyseal secretion in rats. **American Journal of Physiology**, **250**: R267-275.
- STRICKER, EM & VERBALIS, JG (1987b). Central inhibitory control of sodium appetite in rats: correlation with pituitary oxytocin secretion. **Behavioral Neuroscience**, **101** (4): 560-567.
- SVENNERSTEN, K; GOREWIT, RC; SJAUNJA, LO Y UVNÄS-MOBERG, K (1995). Feeding during milking enhances milking-related oxytocin secretion and milk production in dairy cows whereas food deprivation decreases it. **Acta Physiol. Scand.**, **153**: 309-310.
- SWAAB, DF; HOFMAN, MA; LUCASSEN, PJ; PURBA, JS; RAADSHEER, FC Y VAN DE NES, JAP (1993). Functional neuroanatomy and neuropathology of the human hypothalamus. **Anatomy and Embriology**, **187**: 317-330.
- SWAAB, DF; NIJVELDT, F & POOL, CW (1975). Distribution of oxytocin and vasopressin in the rat supraoptic and paraventricular nucleus. **Journal of Endocrinology**, **67**: 461-462.
- SWAAB, DF; POOL, CW Y NIJVELDT, F (1975). Immunofluorescence of vasopressin and oxytocin in the rat hypothalamo-neurohypophyseal system. **J. of Neural Transmission**, **36**: 195-215.
- SWAAB, DF; PURBA, JS Y HOFMAN, MA (1995). Alterations in the hypothalamic paraventricular nucleus and its oxytocin neurons (putative satiety cells) in Prader-Willi syndrome: a study of five cases. **Journal of clinical endocrinology and metabolism**, **80** (2): 573-579.
- SWANN, H. (1939). Sodium chloride and diabetes insipidus. **Am. J. Physiol.**, 341-346.
- SWANSON, LW Y KUYPERS, HGJM (1980). The paraventricular nucleus of the hypothalamus: Cytoarchitecture subdivisions and the organization of projections to the pituitary, dorsal vagal complex and spinal cord as demonstrated by retrograde fluorescence double-labeling method. **Journal of Comparative Neurology**, **194**: 555-570.

438 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- SWANSON, LW Y SAWCHENKO, PE (1983). Hypothalamic integration: organization of the paraventricular and supraoptic nuclei. **Ann. Rev. Neurosci.** **6**:269-324.
- SWANSON, LW; TIMPSON, GH & FRAZIER, E (1935). Some observations on the physiological adjustment of the albino rat to a diet poor in salts when edestin is the source of dietary protein. **J. of Biological Chemistry**, **109**:729-737.
- SZCZEPANSKA-SADOWSKA, E (1991). Hormonal inputs to thirst. En: DJ, Ramsay y DA, Booth (Eds.). **Thirst: physiological and psychological aspects**. Cap. 7. Springer-Verlag: London.
- TAKAHASHI, A., KISHI, E., ISHIMARU, H., IKARASHI, Y AND MARUYAMA, Y. (2001). Role of preoptic and anterior hypothalamic cholinergic input on water intake and body temperature. **Brain Res.**, **889**: 191-199.
- TANAKA, J; HAYASHI, Y; NOMURA, S; MIYAKUBO, H; OKUMURA, T & SAKAMAKI, K (2001). Angiotensinergic and noradrenergic mechanisms in the hypothalamic paraventricular nucleus participate in the drinking response induced by activation of the subfornical organ in rats. **Behavioural Brain Research**, **118 (2)**: 117-122.
- TANAKA, J; KABA, H; SAITO, H & SETO, K (1985). Subfornical organ neurons with efferent projection to the hypothalamic paraventricular nucleus: An electrophysiological study in the rat. **Brain Research**, **346**: 151-154.
- TANAKA, J; KABA, H; SAITO, H & SETO, K (1986). Efferent pathways from the region of the subfornical organ to the hypothalamic paraventricular nucleus: An electrophysiological study in the rat. **Experimental Brain Research**, **62**: 509-514.
- TANAKA, J; SAITO, H Y KABA, H. (1987). Subfornical organ and hypothalamic paraventricular nucleus connections with median preoptic nucleus: an electrophysiological study in the rat. **Experimental Brain Research**, **68**: 579-85.
- TAYLOR, GM; MEERAN, K; O'SHEA, D; SMITH, DM; GHATEI, MA; BLOOM, SR (1996). Adrenomedullin inhibits feeding in the rat by a mechanism involving calcitonin gene-related peptide receptors. **Endocrinology**, **137**: 3260-3264.
- TEJEDOR DEL REAL, M., SANTACANA-ALTIMIRAS, M AND ALVAREZ-PELAEZ, R. (1972). Alteración de la toma de agua después de la lesión de los cuerpos mamilares. **Rev. Esp. Fisiol.**, **28**: 95-102.
- TETIKER, T., SERT, M AND KOCAK, M. (1999). Efficacy of indapamide in central diabetes insipidus. **Arch. Int. Med.**, **159**: 2085-2087.
- THEODOSIS, DT (1985). Oxytocin-immunoreactive terminals synapse on oxytocin neurons in the supraoptic nucleus. **Nature**, **313**: 682-684.
- THEODOSIS, DT (2002). Oxytocin-secreting neurons: A physiological model of morphological neuronal and glial plasticity in the adult hypothalamus. **Frontiers in Neuroendocrinology**, **23**: 101-135.

- THEODOSIS, DT & MAC VICAR, B (1996). Neurone-glia interactions in the hypothalamus and pituitary. **Trends in Neuroscience**, **19**: 363-367.
- THEODOSIS, DT; MONTAGNESE, C; RODRIGUEZ, F; VINCENT, JD & POULAIN, DA (1986). Oxytocin induces morphological plasticity in the adult hypothalamo-neurohypophysial system. **Nature**, **322**: 738-740.
- THEODOSIS, DT & POULAIN, DA (1984). Evidence that oxytocin-secreting neurones are involved in the ultrastructural reorganisation of the rat supraoptic nucleus apparent at lactation. **Cell & Tissue Research**, **235**: 217-219.
- THEODOSIS, DT & POULAIN, DA (1987). Oxytocin-secreting neurones: a physiological model for structural plasticity in the adult mammalian brain. **Trends in Neuroscience**, **10**: 426-430.
- THEODOSIS, DT & POULAIN, DA (1992). Neuronal-glia and synaptic plasticity of the adult oxytocinergic system: factors and consequences. **Annals of the New York Academy of Sciences**, **652**: 303-325.
- THEODOSIS, DT & POULAIN, DA (1993). Activity-dependent neuronal-glia and synaptic plasticity in the adult mammalian hypothalamus. **Neuroscience**, **57**: 501-535.
- THIELS, E; VERBALIS, JG Y STRICKER, EM (1990). Sodium appetite in lactating rats. **Behav. Neuroscience**, **104**:742-750.
- THOMPSON, CJ; BURD, JM & BAYLIS, PH (1987). Acute suppression of plasma vasopressin and thirst after drinking in hypernatremic humans. **American Journal of Physiology**, **252**: R1138-R1142.
- THOMPSON, CJ; SELBY, P & BAYLIS, PH (1991). Reproducibility of osmotic and nonosmotic test of vasopressin secretion in men. **American Journal of Physiology**, **260**: R533-R539.
- THRASHER, T. N. (1989). Role of forebrain circumventricular organs in body fluid balance. **Acta Physiol. Scand.**, **136. Suppl.**, **583**: 141-150.
- THRASHER, TN (1991). Volume receptors and the stimulation of water intake. En: DJ, Ramsay y DA, Booth (Eds.). **Thirst: physiological and psychological aspects**. Cap. 6. Springer-Verlag: London.
- THRASHER, T. N., BROWN, C. T., KEIL, L & RAMSAY, D. J. (1980). Thirst and vasopressin release in the dog: an osmoreceptor or sodium receptor mechanism?. **Am. J. Physiol.**, **238**: R333-R339.
- THRASHER, T. N., KEIL, L & RAMSAY, D. J. (1982). Lesions of the organum vasculosum of the laminae (OVLT). **Endocrinology**, **110**: 1837-1839.
- THRASHER, T. N., NISTAL-HERRERA, J., KEIL, L. C ET AL. (1981). Satiety and inhibition of vasopressin secretion after drinking in dogs. **Am. J. Physiol.**, **240**: E394-E401.

440 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- THRASHER, TN; SIMPSON, JB & RAMSAY, DJ (1982b). Lesions of the subfornical organ block angiotensin-induced drinking in the dog. **Neuroendocrinology**, **35**: 68-72.
- THRASHER, TN; WADE, CE; KEIL, LC & RAMSAY, DJ (1984). Sodium balance and aldosterone during dehydration and rehydration in the dog. **American Journal of Physiology**, **247**: R76-R83.
- THROTON, SN; DE BEAUREPAIRE, R & NICOLAÏDIS, S (1984). Electrophysiological investigation of cells in the region of anterior hypothalamus firing in relation to blood pressure changes. **Brain Research**, **299**: 1-7.
- THUNHORST, RL; FITTS, DA & SIMPSON, JB (1987). Separation of captopril effects on salt and water intake by subfornical organ lesions. **American Journal of Physiology**, **252**: R409-R418.
- THUNHORST, RL; MORRIS, M & JOHNSON, AK (1994). Endocrine changes associated with rapidly developing sodium appetite in rats. **American Journal of Physiology**, **267**: R1168-R1173.
- TITLEBAUM, L., FALK, J AND MAYER, J. (1960). Altered acceptance and rejection of NaCl in rats with diabetes insipidus. **Am. J. Physiol.**, **199**: 22-24.
- TOATES, FM (1979). Homeostasis and drinking. **Behavioral and brain sciences**, **2**: 95-139.
- TOTH, LA Y GARDINER, TW (2000). Food and water restriction protocols: physiological and behavioral considerations. **Contemp. Top. Lab. Anim. Sci.**, **39(6)**: 9-17.
- TOTH, ZE; GALLATZ, K; FODOR, M & PALKOVITS, M (1999). Decussations of the descending paraventricular pathways to the brainstem and spinal cord autonomic centers. **Journal of Comparative Neurology**, **414**: 255-266.
- TÓTH, ZE Y PALKOVITS, M (1998). Distribution of periventricular projections of the paraventricular nucleus to the median eminence and arcuate nucleus. **Brain Research**, **802**: 294-297.
- TRIBOLLET, E; DUBOIS-DAUPHIN, M & DREIFUSS, JJ (1992). Oxytocin receptors in the central nervous system. **The New York Academy of Sciences**, **652**: 29-38.
- TWEEDLE, CD & HATTON, GI (1984). Synapse formation and disappearance in adult rat supraoptic nucleus during different hydration states. **Brain Research**, **309**:373-376.
- UETA, Y; SERINO, R; SHIBUYA, I; KITAMURA, K; KANGAWA, K; RUSSELL, JA & YAMASHITA, H (2000). A physiological role for adrenomedullin in rats; a potent hypotensive peptide in the hypothalamo-neurohypophysial system. **Experimental Physiology**, **85S**: 163S-169S.
- UVNÄS-MOBERG, K (1996). Hormones regulate eating behavior of the rat. Mechanisms of human food intake are probably the same. **Lakartidningen**, **93 (46)**: 4147-9.

- UVNÄS-MOBERG, K; AHLENIUS, S; HILLEGART, V Y ALSTER, P (1994). High doses of oxytocin cause sedation and low doses cause ansiolitic-like effect in male rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, **49**: 101-106.
- UVNÄS-MOBERG, K; ALSTER, P; HILLEGART, V Y AHLENIUS, S (1992). Oxytocin reduces exploratory motor behavior and shifts the activity towards the centre of the arena in male rats. **Acta Physiol. Scand.**, **145**:429-430.
- UVNÄS-MOBERG, K; ALSTER, P Y PETERSSON, M (1996). Dissociation of oxytocin effects on body weight in two variants of female Sprague-Dawley rats. **Integr. Physiol. Behav. Sci.** **31**: 44-55.
- UVNÄS-MOBERG, K; ALSTER, P; PETERSSON, M; SOHLSTROM, A Y BJÖRKSTRAND, E (1998). Postnatal oxytocin injections cause sustained weight gain and increased nociceptive thresholds in male and female rats. **Pediatr. Res.**; **43(3)**:344-388.
- VALTIN, H (1967). Hereditary hypothalamic diabetes insipidus in rats (Brattleboro strain). A useful experimental model. **Am. J. Med.**, **42**:814-827.
- VALTIN, H (1974). Genetics models in biomedical investigation. **The New England Journal of Medicine**, **290**: 670-675.
- VALTIN, H (1982). The discovery of the Brattleboro rat, recommended nomenclature, and the question of proper controls. **Annals NY Acad. Sci.**, **394**:1-9.
- VALTIN, H; SAWYER, WH Y SOKOL, HW (1965). Neurohypophysial principles in rats homozygous and heterozygous for hypothalamic diabetes insipidus (Brattleboro strain). **Endocrinology**, **77**:701-706.
- VAN EKELEN, J & PHILLIPS, M. (1988). Plasma angiotensin II levels at moment of drinking during angiotensin II intravenous infusion. **Am. J. Physiol.**, **255**: R500-R506.
- VAN LIEBURG, A., VERDIJK, M., KNOERS, V ET AL. (1994). Patients with autosomal nephrogenic diabetes insipidus homozygous for mutations in the aquaporin 2 water-channel gene. **Am. J. Hum. Genet.**, **55**: 648.
- VAN TOL, H., VOORHUIS, D AND BURBACH, J. (1987). Oxytocin gene expression in discrete hypothalamic magnocellular cell groups is stimulated by prolonged salt loading. **Endocrinol.**, **120**: 71-76.
- VARI, RC; ADKINS, SD; SAMSON, WK (1996). Renal effects of adrenomedullin in the rat. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, **211**: 178-183.
- VERBALIS, JG (1993). Osmotic inhibition of neurohypophysial secretion. **Ann NY Acad Sci** **689**: 146-160.
- VERBALIS, JG (1999). The brain oxytocin receptor(s?). **Frontiers in Neuroendocrinology**, **20**: 146-156.
- VERBALIS, JG (2003). Diabetes Insipidus. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, **4**:177-185.

442 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- VERBALIS, JG; BALDWIN, EF & ROBINSON, AG (1986). Osmotic regulation of plasma vasopressin and oxytocin after sustained hyponatremia. **American Journal of Physiology**, **250**: R444-R451.
- VERBALIS, JG; BALDWIN, EF; RONNEKLEIV, OK & ROBINSON, AG (1986d). In vitro release of vasopressin and oxytocin from rat median eminence tissue. **Neuroendocrinology**, **42 (6)**: 481-488.
- VERBALIS, JG; BLACKBURN, RE; OLSON, BR; Y STRICKER, EM (1993). Central oxytocin inhibition of food and salt ingestion: a mechanism for intake regulation of solute homeostasis. **Regul. Pept.**; **45(1-2)**:149-54.
- VERBALIS, JG & DOHANICS, J (1991). Vasopressin and oxytocin secretion in chronically hyposmolar rats. **American Journal of Physiology**, **261**: R1028-R1038.
- VERBALIS, JG; DRUTAROSKY, MD (1988). Adaptation to chronic hypoosmolality in rats. **Kidney International**, **34**: 351-360.
- VERBALIS, JG; MANGIONE, MP & STRICKER, EM (1991b). Oxytocin produces natriuresis in rats a physiological plasma concentrations. **Endocrinology**, **128 (3)**: 1317-1322.
- VERBALIS, JG; McCANN, MJ; MCHALE, CM Y STRICKER, EM (1986c). Oxytocin secretion in response to cholecystokinin and food intake: Differentiation of nausea from satiety. **Science**, **232**: 1417-1419.
- VERBALIS, JG; MCHALE, CM; GARDINER, TW & STRICKER, EM (1986b). Oxytocin and vasopressin secretion in response to stimuli producing learned taste aversions in rats. **Behavioral Neuroscience**, **100 (4)**: 466-475.
- VERBALIS, J & STRICKER, E. (2000). Neuroendocrine regulation of fluid intake and homeostasis. In: Conn, P. M. **Neuroendocrinology in Physiology and Medicine**. Humana Press Inc.
- VERKMAN, AS (1989). Mechanisms and regulation of water permeability in renal epithelia. **American Journal of Physiology**, **257**: C837-
- VERNEY, EB (1947). The antidiuretic hormone and the factors which determine its release. **Proceedings of the Royal Society**, **135B**: 25-106.
- VERPLANCK, WS Y HAYES, JR (1953). Eating and drinking as a function of maintenance schedule. **J. Comp. physiol. Psicol.**, **46**: 327-333.
- VIVAS, L., CHIARAVIGLIO, E & CARRER, H. F. (1990). Rat organum vasculosum laminae terminalis in vitro: responses to changes in sodium concentration. **Brain Res.**, **519**: 294-300.
- VOISIN, DL & BOURQUE, CW (2002). Integration of sodium and osmosensory signals in vasopressin neurons. **Trends in Neurosciences**, **25 (4)**: 199-205.

- VOISIN, D., CHAKFE, Y & BOURQUE, C. (1999). Coincident detection of CSF Na⁺ and osmotic pressure in osmoregulatory neurons of the supraoptic nucleus. **Neuron.**, **24** : 453-460.
- VOLICER, L & LOEW, CG (1971). Penetration of AII into the brain. **Neuropharmacology**, **10**: 631-636.
- VOORN, P Y BUIJS, RM (1983). An immuno-electronmicroscopical study comparing vasopressin, oxytocin, substance P and enkephalin containing nerve terminals in the nucleus of the solitary tract of the rat. **Brain Research**, **270**:169-173.
- WADE, CE; KEIL, LC & RAMSAY, DJ (1983). Role of volume and osmolality in the control of plasma vasopressin in dehydrated dogs. **Neuroendocrinology**, **37**: 349-353.
- WALSH, LL (1980). Differences in food, water, and food-deprivation water intake in 16 strains of rats. **J. comp. and Physiol. Psychol.**, **94** (4): 775-781.
- WALTERS; JK & HATTON, GI (1974). Supraoptic neuronal activity in rats during five days of water deprivation. **Physiology and Behavior**, **13**: 661-667.
- WANGENSTEEN, R; SAINZ, J; RODRIGUEZ-GOMEZ, I; MORENO, JA; OSUNA, A Y VARGAS, F (2003). Chronic blockade of neuronal nitric oxide syntase does not affect long-term control of blood pressure in normal, saline-drinking or deoxycorticosterone-treated rats. **Experimental Physiology**, **88** (2):243-250.
- WARKERLEY, JB; POULAIN, DA & BROWN, D (1978). Comparison of firing patterns in oxytocin- and vasopressin-releasing neurones during progressive dehydration. **Brain Research**, **148**: 425-440.
- WATANABE, T., TAGUCHI, Y., SHIOSAKA, S., TANAKA, J., KUBOTA, H., TERANO, Y et al. (1984). Distribution of the histaminergic neuron system in the central nervous system of rats. A fluorescent immunohistochemical analysis with histidine decarboxylase as a marker. **Brain Res.**, **295**: 13-25.
- WEINER, IH Y STELLAR, E (1951). Salt preference of the rat determined by a single-stimulus method. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, **44**: 394-401.
- WEISINGER, RS; DENTON, DA; MCKINLEY, MJ Y NELSON, JF (1985). Dehydration-induced sodium appetite in rats. **Physiology and Behavior**, **34** (1): 45-50.
- WEISS, M., YANG, Q-Z AND HATTON, G. I. (1989). Magnocellular tuberomammillary nucleus input to the supraoptic nucleus in the rat: anatomical and in vitro electrophysiological investigations. **Neuroscience.**, **31** : 299-311.
- WEITZMAN, R., GLATZ, T AND FISHER, D. (1978). The effect of hemorrhage and hypertonic saline upon plasma oxytocin and arginine vasopressin in conscious dogs. **Endocrinology.**, **103**: 2154-2159.
- WELLS, T (1998). Vesicular osmometers, vasopression secretion and aquaporin-4: A new mechanism for osmoreception?. **Molecular and Cellular Endocrinology**, **136**: 103-107.

444 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- WELLS, T., FORSLING, M AND WINDLE, R. (1990). The vasopressin response to centrally administered hypertonic solutions in the conscious rat. **J. Physiol.**, **427**: 483-493.
- WHITE, H & HEINBECKER, P. (1938). Observations on creatinine and urea clearances on response to water ingestion and on concentrating power of kidneys in normal diabetes insipidus and hypophysectomized dogs. **Am. J. Physiol.**, 566-576.
- WILCOX, B & SEYBOLD, V. (1982). Localization of neuronal histamine in rat brain. **Neuroscienc. Lett.**, **29**: 105-110.
- WINDLE, RJ; FORSLING, ML & GUZEK, JW (1992). Daily rhythms in the hormone content of the neurohypophysial system and release of oxytocin and vasopressin in the male rat: effect of constant light. **Journal of Endocrinology**, **133**: 283-290.
- WINDLE, RJ; FORSLING, ML; SMITH, CP & BALMENT, RJ (1993). Patterns of neurohypophysial hormone release during dehydration in the rat. **Journal of Endocrinology**, **137**: 311-319.
- WINDLE, RJ; JUDAH, JM & FORSLING, ML (1995). Do vasopressin and oxytocin have synergistic renal effects in the conscious rat?. **Journal of endocrinology**, **144**:441-448.
- WINDLE, RJ; JUDAH, JM & FORSLING, ML (1997). Effect of oxytocin receptor antagonists on the renal actions of oxytocin and vasopressin in the rat. **Journal of Endocrinology**, **152**:257-264.
- WISHART, TB Y MOGENSEN, GJ (1970). Effects of food deprivation on water intake in rats with septal lesions. **Physiology and Behavior**, **5**: 1481-148.
- WOLF, A. (1950). **The urinary fuction of the kidney**. New York. Grune.
- WOLF, G (1964). Sodium appetite elicited by aldosterone. **Psychonomic Science**, **1**:211-212.
- WOLF, G; SCHULKIN, J Y SIMON, PE (1984). Multiple factors in the satiation of salt appetite. **Behavioral Neuroscience**, **98 (4)**: 661-673.
- WONG, R. (1976). **Motivation. A biobehavioral analysis of consumatory activities**. McMillan.
- WOODS, SC Y STRICKER, EM (1999). Food intake and metabolism. En: Zigmond (Ed.). **Fundamental Neuroscience**. Cap. 41: 1091-1109. Academic Press.
- WOTJAK, CT; KUBOTA, M; LIEBSCH, G; MONTKOWSKI, A; HOLSBOER, F; NEUMANN, I & LANDGRAF, R (1996). Release of vasopressin within the rat paraventricular nucleus in response to emotional stress: A novel mechanism of regulating adrenocorticotropic hormone secretion?. **Journal of Neuroscience**, **16 (23)**: 7725-7732.
- WRIGHT, JW; REYNOLDS, TJ; KENNY, JT; DONLON, K (1978). Inhibition of food deprivation induced hypovolemia by saline consumption in rats. **Physiol-Behav.**, **21(2)**: 215-221.
- WU, CL; HUNG, CR; CHANG, FY; PAU, FYF; WANG, JL Y WANG, PS (2002). Involvement of cholecystokinin receptor in the inhibition of gastric emptying by oxytocin in male rats. **Pflugers Arch.** **445**: 187-193.

- XIONG, JJ & HATTON, GI (1996). Differential responses to oxytocin and vasopressin neurons to the osmotic and stressful components of hypertonic saline injections: a Fos protein double labelling study. **Brain Research**, **719**: 143-153.
- XU, Z & HERBERT, J. (1996). Effects of unilateral or bilateral lesions within the anteroventral third ventricular region on c-fos expression induced by dehydration or angiotensin II in the supraoptic and paraventricular nuclei of the hypothalamus. **Brain Res.**, **713**: 36-43.
- YAGIL, C & SLADEK, CD (1990). Osmotic regulation of vasopressin and oxytocin release is rate sensitive in hypothalamoneurohypophysial explants. **American Journal of Physiology**, **258**: R492-R500.
- YANG, Q & HATTON, G. (1997). Electrophysiology of excitatory and inhibitory afferents to rat histaminergic tuberomammillary nucleus neurons from hypothalamic and forebrain sites. **Brain Res.**, **773** : 162-172.
- YANG, CR; SENATOROV, VV & RENAUD, LP (1994). OVLT-evoked postsynaptic responses in rat supraoptic neurones in vitro. **Journal of Physiology**, **477**: 59-74.
- YEU WANG, J; HUA LIN, S; FENG LIN, Y; YEN CHEN, H; CHIU YU, F Y TSU FU, M (2000). An unforgotten cause of acute hyponatremia: Water intoxication due to Oxytocin administration in a pregnant woman. **Nephron**, **86**: 342-343.
- YOUNG, DB (1988). Quantitative analysis of aldosterone's role in potassium regulation. **American Journal of Physiology**, **255**: F811-
- YOUNG, PT Y FALK, JL (1956). The relative acceptability of sodium chloride solutions as a function of concentration and water need. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, **49**: 569-575.
- YOUNG, DB; MCCA, RE; PAN, YJ & GUYTON, AC (1976). Effectiveness of the aldosterone-sodium and potassium feedback control system. **American Journal of Physiology**, **231**: 945-
- YOUNG, DB; PAN, YJ & GUYTON, AC (1977): Control of extracellular sodium concentration by antidiuretic hormone-thirst feedback mechanism. **American Journal of Physiology**, **232**: R145
- YOUNG, WS (1992). Expression of the oxytocin and vasopressin genes. **Journal of Neuroendocrinology**, **4**: 527-540.
- YUAN, BH; ROBINETTE, JB; CONGER, JD (1990). Effect of angiotensin II and norepinephrine on isolated rat afferent and efferent arterioles. **American Journal of Physiology**, **258**: F741-
- ZARDETTO-SMITH, AM & GRAY, TS (1987). A direct neural projection from the NTS to the SFO in the rat. **Neuroscience Letters**, **80**: 163-166.
- ZEIDEL, ML (1993). Hormonal regulation of inner medullary collecting duct sodium transport. **American Journal of Physiology**, **26**: F159-

446 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ZERIHUN, L Y HARRIS, M (1983). An electrophysiological analysis of caudally-projecting neurones from the hypothalamic paraventricular nucleus in the rat. **Brain Research**, **261**:13-20.
- ZHANG, B; GLASGOW, E; MURASE, T; VERBALIS, JG & GAINER, H (2001). Chronic hypoosmolality induces a selective decrease in magnocellular neurone soma and nuclear size in the rat hypothalamic supraoptic nucleus. **Journal of Neuroendocrinology**, **13**: 29-36.
- ZHANG, X; FOGEL, R & RENEHAN, WE (1999). Stimulation of the paraventricular nucleus modulates the activity of gut-sensitive neurons in the vagal complex. **American Journal of Physiology**, **277**: G79-G90.
- ZIMMERMAN, EA; NILAVER, G; HOU-YU, A & SILVERMAN, AJ (1984). Vasopressinergic and oxytocinergic pathways in central nervous system. **Feeding Proceeding**, **43**: 91-96.
- ZIMMERMAN, MB; BLAINE, EH & STRICKER, EM (1981). Water intake in hypovolemic sheep: effects of crushing the left cervical appendage. **Science**, **211**: 489-.

