

**UNIVERSIDAD DE GRANADA
DEPARTAMENTO DE PSICOLOGÍA EXPERIMENTAL Y FISIOLOGÍA DEL
COMPORTAMIENTO**



**LA REGIÓN TUBEROMAMILAR DEL HIPOTÁLAMO EN LA
REGULACIÓN HIDROMINERAL Y NUTRITIVA:
CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES EN RELACIÓN CON LA
DIABETES INSÍPIDA NEUROLÓGICA**

TESIS DOCTORAL

**JAVIER MAHÍA RODRÍGUEZ
Granada, Diciembre 2002**

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

CERTIFICA: que la presente Tesis Doctoral titulada “ LA REGIÓN TUBEROMAMILAR DEL HIPOTÁLAMO EN LA REGULACIÓN HIDROMINERAL Y NUTRITIVA: CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES EN RELACIÓN CON LA DIABETES INSÍPIDA NEUROLÓGICA“, ha sido realizada por el doctorando Javier Mahía Rodríguez 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, 28 de Octubre del 2002.

Firmado: D. Amadeo Puerto Salgado.

**LA REGIÓN TUBEROMAMILAR DEL HIPOTÁLAMO EN LA
REGULACIÓN HIDROMINERAL Y NUTRITIVA:
CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES EN RELACIÓN CON LA
DIABETES INSÍPIDA NEUROLÓGICA**

Javier Mahía Rodríguez

Departamento de Psicología Experimental y Fisiología del Comportamiento

Universidad de Granada

TESIS DOCTORAL

Director: D. Amadeo Puerto Salgado

**Universidad de Granada
Diciembre 2002**

Agradecimientos

Aún recuerdo como si fuese ayer el día en que el Director del presente Proyecto me sugirió trabajar en esta línea de investigación. A partir de esta fecha se han ido acumulando horas y horas de fructíferas conversaciones de las que he intentado sacar el mayor provecho. Por todo ello, deseo manifestar mi más sincero agradecimiento al profesor Puerto, por hacerme partícipe de su Grupo de Investigación, y por el entusiasmo, esfuerzo y dedicación que ha puesto en el presente Trabajo.

Mi agradecimiento a las profesoras Molina y Mediavilla, por estar siempre dispuestas a ayudarme en lo posible tanto en lo referente a la labor investigadora como a nivel personal y humano.

Quiero recordar en este momento y con especial cariño a M^a Angeles Zafra, M^a José Simón y Antonio Bernal por haberme ayudado a superar el difícil campo de la investigación animal, y por los buenos momentos que hemos pasado. Un recuerdo también a todas aquellas personas que de alguna manera u otra mostraron un especial interés en el desarrollo de este trabajo. A Raquel y Antonillo por su buena disposición en todo momento; y especialmente a Manuel Miguel, a quien tengo que agradecer todo el trabajo y la paciencia que dedicó a la preparación del material gráfico de este Proyecto de Investigación. A todos, muchas gracias.

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

<i>1.- Agua: distribución entre los diferentes compartimentos celulares y su relación con la sed.</i>	1
<i>2.- Anatomofisiología de la sed y sus alteraciones</i>	8
2.1.- Regulación osmótica de la sed: Deshidratación celular	8
2.2.- Regulación volémica de la sed: Deshidratación extracelular	33
2.3.- Contribución de los Factores Osmóticos y Volémicos a la sed	42
2.4.- Alteraciones en la ingesta de líquidos	46
<i>3.- Implicación del Hipotálamo Posterior en el control hidromineral</i>	63
<i>4.- Nutrición: Circuitos hipotalámicos implicados</i>	69
<i>5.- La región Tuberomamilar en el contexto de la regulación hidromineral y nutritiva</i>	81
5.1.- El núcleo Tuberomamilar y su papel en el control hídrico y mineral	82
5.2.- Sistema Tuberomamilar y Nutrición	84
5.3.- Anatomía del Complejo Tuberomamilar	86
<i>6.- Hipótesis de Trabajo</i>	93

ESTUDIOS EXPERIMENTALES

CAPÍTULO I: Efectos de las lesiones electrolíticas en la región Tuberomamilar del Hipotálamo sobre los procesos regulatorios hídricos y nutritivos

EXPERIMENTO 1: Implicación de la región Tuberomamilar en la regulación hídrica y nutritiva	101
Método	104
Resultados	109
Discusión	122
EXPERIMENTO 2: Efectos de las lesiones Tuberomamilares sobre la ritmicidad nocturna/diurna en la ingesta de agua y comida	125
Método	127
Resultados	128
Discusión	131
EXPERIMENTO 3: Prandialidad y la polidipsia Tuberomamilar	133
Método	134
Resultados	140
Discusión	142
EXPERIMENTO 4: Efectos de las lesiones electrolíticas de los núcleos Tuberomamilares ventrales sobre la nutrición	145
Método	147
Resultados	150
Discusión	153
CAPÍTULO II: La polidipsia Tuberomamilar en el contexto de la regulación osmótica y volémica de fluidos	

EXPERIMENTO 5: La polidipsia Tuberomamilar en el contexto de la regulación osmótica y volémica de fluidos

Método	162
Resultados	167
Discusión	179

CAPÍTULO III: Lesiones electrolíticas de la Eminencia Media: Un modelo experimental de Diabetes Insípida Neurológica

EXPERIMENTO 6A: Efectos de la manipulación de la dieta sobre la polidipsia diabética inducida por lesiones electrolíticas en la Eminencia Media 187

Método	189
Resultados	193
Discusión	204

EXPERIMENTO 6B: Efectos de la administración periférica (i.p) de cloruro sódico hipertónico sobre el desarrollo y progresión de la polidipsia diabética inducida por lesiones electrolíticas en la Eminencia Media 209

Método	211
Resultados	215
Discusión	228

EXPERIMENTO 7: Efectos de la manipulación de la dieta y lesiones electrolíticas en la Eminencia Media sobre los niveles plasmáticos de sodio 235

Método	237
Resultados	242
Discusión	254

CAPÍTULO IV: Efectos de la administración intraperitoneal de Oxitocina sobre la polidipsia de índole diabética y tuberomamilar

EXPERIMENTO 8: Implicación de la Oxitocina en la polidipsia de índole diabética inducida por lesiones electrolíticas en la Eminencia Media	259
Método	264
Resultados	268
Discusión	277
EXPERIMENTO 9: Efectos de la administración periférica (i.p) de Oxitocina sobre la polidipsia Tuberomamilar Medial	285
Método	288
Resultados	292
Discusión	301
DISCUSIÓN FINAL	309
CONCLUSIONES	353
APÉNDICE	357
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	379

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

1.- Agua: distribución entre los diferentes compartimentos celulares y su relación con la sed.

Es un hecho bien conocido, que los seres humanos y demás mamíferos, pierden una gran cantidad de líquido a través de la piel, pulmones y riñón (Adolph, 1969; Fried et al., 1997; Johnson et al., 1997; Saltmarsh, 2001). El rango de esta pérdida, varía considerablemente dependiendo de la temperatura ambiente y corporal (fiebre), actividad física, respuesta antidiurética (retención de fluidos) e ingesta de comida (Fried et al., 1997; Saltmarsh, 2001; Thrasher et al., 1981).

Por término medio, una persona sana, adulta, siguiendo una dieta normal y viviendo en un ambiente controlado, pierde una media de 1.5 litros/día. Este déficit obligatorio, será compensado parcialmente por la toma de agua, comida o el metabolismo de la dieta. Esto sugiere que ha de existir algún mecanismo que asegure que el volumen de ingesta sea siempre suficiente para reemplazar la pérdida habitual con el fin de mantener un equilibrio en el organismo (Camargo et al., 2001; Curtis et al., 2001; Fitzsimons, 1979; Hussy et al., 2000; Johnson et al., 1997; Saltmarsh, 2001; Share et al., 2000; Verbalis et al., 2000).

Ahora bien, en cualquier caso conviene recordar al respecto, que en la mayoría de las ocasiones la ingesta de agua es producida por una alteración en su distribución dentro del organismo, más que por una pérdida real de la misma (Camargo et al., 2001; Johnson et al., 1997; Robertson, 1983; Verbalis et al., 2000; Wong, 1976).

En este sentido, conviene explicar cuáles son los factores que determinan los movimientos del agua entre los diferentes compartimentos celulares así como algunas de sus peculiaridades, tales como las relacionadas con el volumen y composición electrolítica de los mismos, para de esta manera poder estudiar cómo se lleva a cabo el control y regulación de la ingesta de líquidos.

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Sin duda, el agua es la sustancia más abundante dentro del cuerpo. Se estima que sobrepasa el 60% del peso corporal en el hombre y el 50% en la mujer (Ganong 1995; Johnson et al., 1997; Saltmarsh, 2001; Verbalis et al., 2000). Una vez absorbida a través del tracto gastrointestinal, es distribuida por todo el organismo. Aproximadamente, dos terceras partes se encuentra en el interior de las células en condiciones estables (compartimento intracelular), y el tercio restante en los compartimentos extracelulares (Ganong 1995; Johnson et al., 1997; Verbalis et al., 2000) (ver fig. 0.1).

1.1.- Compartimento Intracelular.

El fluido intracelular forma parte del citoplasma de las células y comprende alrededor de 2/3 partes del agua del cuerpo (fig. 0.1). Si bien la composición exacta del líquido de este compartimento es variable en la mayoría de los casos, se observan en él niveles altos de potasio y magnesio y bajos en sodio (Cogan, 1991). Por lo que respecta a la composición intracelular de los aniones resulta ser baja en cloro y bicarbonato y alta en fosfatos y sulfatos.

1.2. - Compartimento Extracelular.

El compartimento extracelular, constituye algo más de un tercio de la totalidad del agua corporal, y representa el líquido que se encuentra fuera de las células corporales (Cheek, 1961; Cogan 1991; Edelman et al., 1959; Ganong 1995; Johnson et al., 1997; Kleeman, 1989; Verbalis et al., 2000) (fig. 0.1), incluyendo:

- Fluido plasmático (intravascular).
- Fluido intersticial y linfático.
- Agua del tejido conjuntivo y óseo.
- Líquido transcelular.
- Líquido cefalorraquídeo (CFR).

AGUA: DISTRIBUCIÓN ENTRE LOS DIFERENTES COMPARTIMENTOS CELULARES

- La composición plasmática, que aproximadamente representa el 7% del agua total del cuerpo (Edelman y Liebman, 1959), está constituida aproximadamente por un 93% de agua y un 7% de solutos, especialmente lípidos y proteínas. El catión predominante es el sodio, y su concentración es mantenida por mecanismos renales dentro de límites muy estrictos. Por otro lado, cationes como el potasio y el magnesio están presentes en menores cantidades. En cuanto a los aniones, hay que decir que los más frecuentes son el cloro y bicarbonato (Rose, 1986).
- El fluido intersticial, que se forma como resultado del filtrado del plasma a lo largo de las paredes de los capilares, contiene el 20% del agua corporal (Edelman et al., 1959). Estas paredes son altamente permeables al agua, electrolitos y pequeños solutos.
- Por otra parte, el tejido conjuntivo y óseo, constituyen el 7% del agua del organismo (Edelman et al., 1959). El agua en este compartimento es única y, por lo tanto, prácticamente inaccesible al intercambio con otros compartimentos del organismo.
- El líquido transcelular cumple un papel relevante en el transporte celular, representando el 2.5% del total del agua corporal (Edelman et al., 1959; Hays 1979; Kleeman 1989). Las secreciones de las glándulas salivares, páncreas, conductos biliares, intestino y piel, son algunos de los ejemplos que forman parte de este compartimento.
- Finalmente, el líquido cefalorraquídeo (CFR), está constituido por sales inorgánicas similares a las del plasma. El contenido de glucosa es de aproximadamente la mitad de la disponible en la sangre, presentando niveles muy bajos en proteínas. El volumen total del LCF del espacio subaracnoideo y de los ventrículos es de unos 130 ml, un 1% del total del agua del organismo.

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

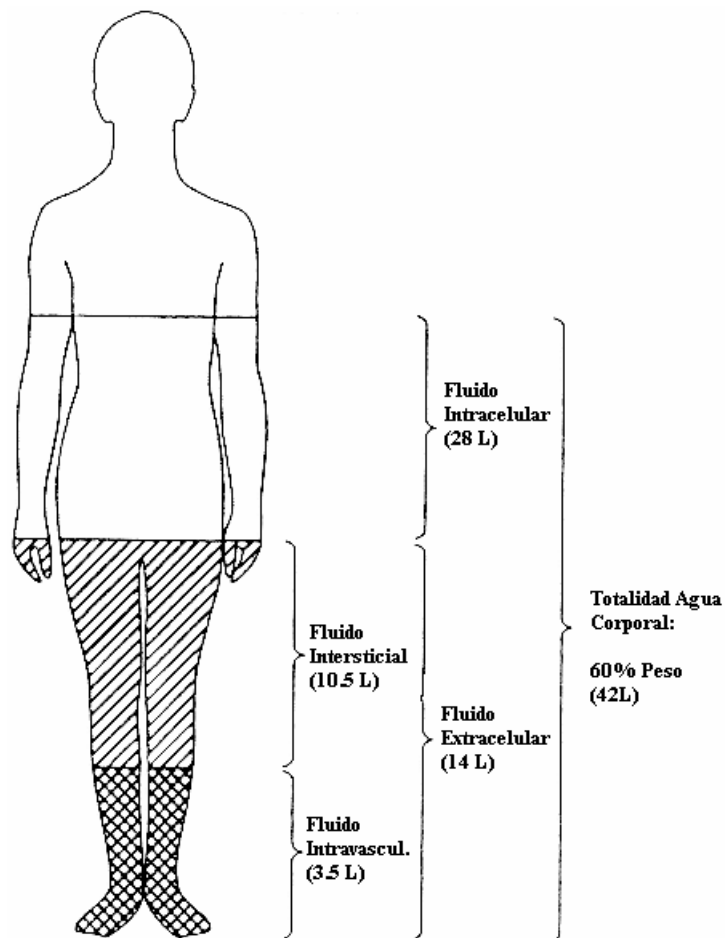


Fig. 0.1.- Representación esquemática de los compartimentos de fluidos corporales en el hombre. Las figuras indican los tamaños relativos de los diferentes compartimentos de fluidos y el volumen absoluto aproximado (litros) de los mismos en una persona de 70 Kg de peso. Tomado de: Verbalis, J et al., (2000).

Como se ha podido ver, los productos disueltos en el agua, aparecen en diferentes concentraciones según se localicen en el interior o en el exterior de las células (Guyton, 1976; Hussy et al., 2000; Verbalis et al., 2000). Así, el potasio intracelular es muy abundante (141 mosmoles/l) frente a su alta dilución en el exterior de la célula (5 mosmoles/l); lo mismo sucede con el sodio, pero en sentido contrario (10 mosmol/l en el interior por 144 mosmol/l en el exterior). La conservación de estas distribuciones es vital para el adecuado funcionamiento celular.

AGUA: DISTRIBUCIÓN ENTRE LOS DIFERENTES COMPARTIMENTOS CELULARES

En cuanto a los compartimentos mencionados anteriormente hay que decir que se encuentran adosados unos a otros, aunque separados por barreras semipermeables, que permiten el paso de algunas sustancias, pero no de otras, a través de ellos. Así por ejemplo, las paredes de los capilares separan el fluido plasmático (intravascular) del líquido intersticial; mientras que las membranas celulares (proteínas y fosfolípidos) separan el fluido intersticial del intracelular. En cualquier caso, dos de estos compartimentos en particular, el intracelular e intravascular, han de mantenerse siempre dentro de unos límites muy precisos.

De hecho, cualquier alteración producida en la concentración fisiológica del electrolito, hace que el agua fluya de un lado hacia el otro de la membrana con el fin de concentrar o diluir el producto alterado en su concentración, basándose en los principios osmóticos. Esta precisa dinámica interna puede verse afectada por varios factores. Así por ejemplo, el aumento en los valores osmolares del medio extracelular, produce la salida inmediata del agua del interior de la célula, quedando ésta última deshidratada, e induciendo a la toma de agua para recuperar sus niveles.

La privación de agua o el consumo de alimentos ricos en sodio son factores desencadenantes de la puesta en marcha de mecanismos de conservación y regulación de fluidos renales y electrolitos, así como del consumo de agua originado por variables osmóticas (Balment et al 1980; Briski et al., 2000; Cheng et al., 1986; Huang et al., 1995; Hussy et al., 2000; Kadekaro et al., 1995; Mckinley et al., 1994; Miyata et al., 2001; Morris et al., 1984; Rinaman et al., 1995; Robertson, 1983; Sandgaard et al., 2000; Stricker et al., 1987, 2000; Verbalis et al., 1991, 2000; Voisin et al., 1999; Weitzman et al., 1978).

Experimentalmente, este proceso puede ser desencadenado mediante la administración de sustancias hipertónicas que no atraviesan con facilidad la membrana celular, como es el caso del cloruro sódico (ClNa) o la sacarosa.

En otro apartado y en relación con el volumen del plasma sanguíneo, éste debe mantenerse dentro de unos límites estrictos a fin de preservar un

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

funcionamiento regular del sistema cardíaco (Johnson et al., 1997; Hussy et al., 2000; Robertson, 1983; Saltmarsh, 2001; Verbalis et al., 2000). Así por ejemplo, hoy es bien sabido que ante una reducción del líquido intravascular (hipovolemia) se desencadenan una serie de reacciones neuroendocrinas compensatorias que tratarán de posibilitar la conservación y retención de los fluidos corporales (respuesta antiurética/antinatriurética), así como el mantenimiento de la presión sanguínea en condiciones óptimas (respuesta vasoconstrictora) (Fitzsimons, 1998; Johnson et al., 1997; Phillips, 1987; Phillips et al., 1998; Schiltz et al., 1997; Share, 1988; Share et al., 2000; Stricker et al., 2000; Verbalis et al., 2000; Weitzman et al., 1978).

Finalmente, no podemos terminar este apartado sin mencionar que una situación de hipovolemia también genera una manifiesta respuesta comportamental: la búsqueda e ingesta de agua y ClNa con el objetivo de restaurar el déficit de volumen producido (Share, 1988; Share et al., 2000; Verbalis et al., 2000).

Diarreas, vómitos, hemorragias, enfermedades renales, trastornos cardiovasculares; son condiciones clínicas que a veces se acompañan de importantes pérdidas volumétricas, forzando al consumo de líquidos (Fitzsimons, 1998; Johnson et al., 1997; Phillips et al., 1998; Share et al., 2000; Stricker et al., 2000; Verbalis et al., 2000).

Experimentalmente, la sed volémica puede ser desencadenada administrando un coloide (p.ej. glicol de polietileno) en la cavidad intraperitoneal del animal o bajo la piel distendida de su zona dorsal (Fitzsimons, 1961, 1998; Stricker, 1968; Verbalis et al., 2000). Este producto no puede atravesar una biomembrana, acumulándose por tanto en la pared peritoneal y reduciendo el volumen plasmático. Existen datos que demuestran que la osmolaridad no cambia, lo que asegura la no participación de los mecanismos osmóticos en esta ingesta de agua (Fitzsimons, 1961; Peters, 1980; Verbalis et al., 2000). Otros procedimientos experimentales capaces de inducir esta modalidad de sed, incluyen el desencadenamiento de hemorragias, o manipulaciones

AGUA: DISTRIBUCIÓN ENTRE LOS DIFERENTES COMPARTIMENTOS CELULARES

que interfieran con el retorno venoso al corazón (Fitzsimons et al., 1969, Fitzsimons, 1998).

En conclusión, y a modo de resumen, se puede señalar que cualquier alteración en los niveles hidrominerales del organismo provoca dos tipos de respuestas adaptativas y regulatorias: el control fisiológico del medio interno y la búsqueda y consumo de líquidos, y todo ello a través de una interacción perfecta entre los órganos periféricos y el sistema neuroendocrino cerebral (Fitzsimons, 1979, 1998; Hussy et al., 2000; Johnson et al., 1997; Share et al., 2000; Verbalis et al., 2000).

2.- Anatomofisiología de la sed y sus alteraciones.

Los mecanismos osmóticos y volémicos, son los procesos responsables de las alteraciones producidas en los fluidos internos del organismo. Estas señales, son integradas por regiones especializadas del sistema nervioso central, que reaccionan intentando el control de estos déficits, bien mediante la activación de mecanismos fisiológicos específicos, bien a través de la propia conducta de búsqueda y consumo de agua.

2.1.- Regulación osmótica de la sed: Deshidratación celular.

Siempre se ha pensado que la sed, o el hecho de ingerir una serie de líquidos, puede ser vista como un componente importante de un sistema coordinado, dedicado al mantenimiento de la tonicidad del fluido corporal dentro de valores adecuados. Por lo tanto, no es extraño pensar que si un sistema homeostático debe funcionar de una manera efectiva, necesita contar con algún mecanismo que “detecte” pequeños cambios en la osmolaridad del plasma. Con esta idea parecen coincidir numerosos autores, que señalan que un grupo de osmorreceptores llevaría a cabo esta función en los mamíferos, así como en otras especies (Hussy et al., 2000; Robertson y Athar, 1976; Robertson, 1983; Stricker et al., 2000; Verbalis et al., 2000; Verney, 1947; Voisin et al., 1999; Wolf, 1950).

Así por ejemplo, es sabido que el incremento medio en concentración de sodio en plasma y osmolaridad necesario para estimular la sed en seres humanos es de 7 mosm/Kg, con un punto óptimo de 284 mosm/Kg (Phillips et al., 1985). En mujeres embarazadas con una línea base de 280 mosm/Kg, basta sin embargo con un incremento en 7 mosm/Kg para estimular la sed. Después del parto, las mismas mujeres tuvieron en línea base una osmolaridad en plasma de 289 mosm/Kg, y el umbral de la sed fue alcanzado a los 298 mosm/Kg (Davison et al., 1984; Robinson et al., 1991); lo que indica que bajo ciertas condiciones (parto), se producen una serie

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

de cambios en los fluidos corporales, sobre todo en los primeros meses de gestación, que hacen que los umbrales para la sensación de la sed sean menores (Argüelles et al., 2000; Iwasaki et al., 1991; Leggett et al., 1999; Prager et al., 1995; Robertson, 1995; Seckl et al., 1992; Singer et al., 1997; Van der Post et al., 1997). Todos estos datos están respaldados hoy en día, por el conocimiento de una serie de sistemas neuroendocrinos (de los que hablaremos posteriormente), extremadamente sensibles a estos cambios o modificaciones en la tonicidad del plasma.

Localización de los Osmorreceptores.

La búsqueda y localización exacta de osmorreceptores cerebrales ha supuesto un esfuerzo considerable en las últimas décadas. El método de acercamiento inicial y más directo, ha consistido en administrar soluciones hipertónicas en diferentes regiones cerebrales de distintas especies, y observar el efecto producido en la conservación y consumo de agua.

Los intentos para la localización exacta de los osmorreceptores cerebrales, han estado influenciados por la obra de Verney, quien observó que la administración de ClNa hipertónico o sacarosa en la arteria carótida eran más efectivos en estimular la secreción de la hormona antidiurética, que cuando eran administrados en una vena periférica (Verney, 1947). El hecho de que la arteria carótida irrigue exclusivamente regiones prosencefálicas, hizo pensar a Verney en la existencia de células sensibles a la tonicidad del plasma en la parte anterior del hipotálamo (ver fig. 0.2).

Años más tarde, Anderson, estimulando eléctricamente o administrando ClNa hipertónico en el hipotálamo rostro-medial, consiguió provocar la toma de agua en animales saciados (cabras) (Anderson, 1952). Por el contrario, si se generaban lesiones electrolíticas en esta región, los animales se volvían adípsicos (Anderson y McCann, 1955).

Estos resultados permitían sugerir, que las estructuras prosencefálicas pueden jugar un papel importante en la regulación de los procesos osmóticos. Es más, la ablación mediante aspiración de la parte frontal del cerebro en ratas, incluyendo la corteza, bulbo olfatorio, núcleo septal, comisura anterior, cuerpos estriados y área preóptica, hacía que los sujetos experimentales fuesen insensibles a los tratamientos hipertónicos (ClNa y sacarosa), sin que se viesen afectados por las intervenciones volémicas (Blass, 1968).

No obstante, uno de los objetivos fundamentales de la neurobiología de la regulación de fluidos, es descubrir la localización exacta de estos osmorreceptores y, como se verá más adelante, los datos no parecen ser concluyentes.

Dada la importancia de las zonas del prosencéfalo, algunos autores centraron sus investigaciones en diferentes estructuras del hipotálamo anterior. Una de las regiones fue el área preóptica lateral (fig. 0.2) donde, en resumen, se obtuvieron los siguientes resultados:

- La administración (i.c) de ClNa hipertónico o sacarosa en el área preóptica lateral, provocó la toma de agua en ratas y conejos (Blass y Epstein, 1971; Peck y Novin, 1971).
- Por su parte, lesiones electrolíticas restringidas a la misma zona, inhibieron la respuesta de los sujetos experimentales a inyecciones periféricas de ClNa hipertónico (Abrao et al., 1996; Blass y Epstein, 1971; Peck y Novin, 1971).
- Además, Blass y Epstein (1971), observaron que cuando se inducía sed en un animal (rata) mediante la administración de una solución hipertónica, la ingesta de líquidos podía ser abolida inyectando agua en la región preóptica lateral.

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Estos trabajos podrían indicar, que los osmorreceptores encargados de estimular la sed pueden estar localizados en el área preóptica lateral. Más aun, diversos estudios electrofisiológicos han puesto de manifiesto que neuronas individuales de esta región, se activan cuando los animales son privados de agua o reciben inyecciones sistémicas de soluciones salinas hipertónicas (Arnauld, Dufy y Vincent, 1975; Blank y Wayner, 1975; Malmo y Malmo, 1979; Tondat y Almlí, 1976).

Ahora bien, estos resultados no demuestran de manera concluyente que las neuronas del área preóptica lateral sean las responsables de detectar directamente los cambios que se produzcan en la tonicidad del plasma, ya que existe la posibilidad de que puedan ser activadas indirectamente por osmorreceptores que se encuentren localizados en otros lugares del cerebro. Es más, se ha comprobado que lesiones del área preóptica dificultan el funcionamiento normal de la regulación osmótica pero no la eliminan completamente (Coburn y Stricker, 1978; Peck y Novin, 1971).

No se puede descartar por lo tanto, que receptores adicionales localizados en otras regiones cerebrales puedan ser los responsables de esta conducta regulatoria.

En este sentido, diversos autores han observado un incremento en la actividad de células situadas en otras zonas del hipotálamo en respuesta a la hipertonicidad (Gutman et al., 1988; Hayward y Vincent, 1970; Malmo, 1976; Sayer et al., 1984). Concretamente, una de las estructuras implicadas es, por ejemplo, el hipotálamo lateral (ver fig. 0.2).

Así, Smith y McCann (1962), mediante lesiones electrolíticas bilaterales en esta zona, produjeron adipsia y afagia, pensando que esta región podría ser un centro importante relacionado con la ingesta de agua y comida. A partir de estos datos, se realizaron numerosos experimentos para intentar disociar ambos comportamientos.

En 1957, Montemurro y Stevenson ya habían señalado que lesiones electrolíticas que se extienden a la zona incierta y cápsula interna, cerca del

hipotálamo lateral, producían adipsia en los animales pero no afagia. Más tarde se comprobó que la estimulación eléctrica de la zona incierta (dorsal al hipotálamo lateral), provocaba la toma de agua en ratas saciadas (Huang y Mogenson, 1972). Estas observaciones parecen indicar que las lesiones de la parte anterior de la zona incierta, inhiben respuestas fisiológicas que regulan la toma de agua en ratas normales sin afectar a la ingesta de comida; lo cual sugiere que puede ser un centro diferente del sistema del hipotálamo lateral (Walsh y Grossman, 1973) (fig. 0.2).

Además y apoyando estos resultados, se observó que la administración de soluciones salinas hipertónicas en el área preóptica, producían cambios en la tasa de disparo de neuronas de la zona incierta (Mok y Mogenson, 1985). Este hecho podría indicar que los osmorreceptores situados en la región hipotalámica estimulan la conducta de ingesta mediante la activación de neuronas de esta región cerebral.

Otras regiones hipotalámicas que recibieron el máximo interés dadas sus relaciones con las secreciones neuroendocrinas de carácter hidromineral fueron los núcleos supraóptico (SON) y paraventricular (PAV) (fig. 0.2).

En este sentido, una serie de pruebas experimentales constataron que la actividad de las células neurosecretoras magnocelulares del SON y PAV exhibían una serie de cambios tras la administración de ClNa hipertónico (Anderson et al., 1994; Briski et al., 2000; Han et al., 1996; Hayward y Vincent, 1970; Hussy et al., 2000; Leng et al., 1999; Miyata et al., 2001; Morien et al., 1999; Rowland, 1998; Van Tol et al., 1987; Voisin et al., 1999). De esta manera, se pensó en la posibilidad de que algunas de las neuronas de estos centros hipotalámicos podrían ser sensibles a las variaciones producidas en la tonicidad del plasma.

Estos resultados han sido confirmados por otra serie de estudios más recientes en animales (ratas), en los que se ha observado como en condiciones de privación de agua se indujo expresión de c-fos en los núcleos hipotalámicos supraóptico y paraventricular magnocelulares (Briski et al., 2000; McKinley et al., 1994; Miyata et al., 2001; Rowland, 1998; Sagar et al., 1988; Sladek et al., 1994; Takahashi et al.,

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

2001; Thunhorst et al., 1998; Xuz et al., 1996); así como un incremento en la actividad celular de estas neuronas (Balment et al., 1980; Brimble et al., 1977; Dogterom, 1977; George, 1976; Jones et al., 1969; 1978; Morris et al., 1984; Walters y Hatton, 1974; Weitzman et al., 1978).

Hasta ahora, los datos disponibles parecen coincidir con el esquema básico propuesto por Verney, es decir, que diversas estructuras localizadas en el hipotálamo anterior parecen responder a cambios en la osmolaridad o concentración plasmática, pudiendo ser relevantes en el control osmótico de fluidos.

Ahora bien, independientemente de su localización cerebral, los osmorreceptores deben tener acceso a la circulación sanguínea a fin de poder llevar a cabo su función de detección. Sin embargo, ninguna de las estructuras cerebrales mencionadas anteriormente carece de barrera hematoencefálica (BH). Este planteamiento, condujo al estudio de los órganos circunventriculares, zonas del cerebro exentas de esta limitación anatómicofuncional (Sladek y Armstrong, 1985). Así, algunos autores propusieron que los osmorreceptores podrían localizarse en algunas de estas estructuras, detectando cambios en la osmolaridad gracias a su acceso directo al plasma sanguíneo (Thrasher et al., 1980).

Las primeras evidencias experimentales destacaron el posible papel de la región hipotalámica situada inmediatamente rostral al extremo anteroventral del III ventrículo, la zona AV3V (ver fig. 0.2).

En efecto, las lesiones electrolíticas en esta región, produjeron adipsia temporal o permanente, mientras que la administración de ClNa hipertónico o sacarosa en AV3V generaba una conducta de ingesta (Anderson et al., 1975; Bealer et al., 1983; Bealer, 2000; Buggy y Johnson 1977; Johnson et al., 1997; Lind y Johnson 1983; Mckinley et al., 1986; Verbalis et al., 2000). Además, los animales con lesiones en la pared anterior del III ventrículo (AV3V) eran incapaces de incrementar la secreción de la hormona antidiurética en respuesta a las situaciones de hipertonidad sistémica. Del mismo modo, quedaba alterado el habitual efecto de

supresión de la respuesta antidiurética cuando la tonicidad del plasma se situaba por debajo de los valores normales (Bealer et al., 1983; Cunningham et al., 1991; Johnson et al., 1978, 1990, 1997; Ludwig et al., 1994; Mckinley et al., 1984; Schoorlemmer et al., 2000).

En resumen pues, los estudios que acabamos de describir parecen confirmar que la detección de las variaciones o descensos en la osmolaridad plasmática queda alterada tras las lesiones en AV3V.

Estos resultados dieron pie a que las investigaciones posteriores focalizaran su atención en dos regiones de la lámina terminalis adyacentes a la pared anterior del III ventrículo: a nivel ventral, el órgano vasculoso de la lámina terminalis (OVLT), y más rostralmente, el órgano subfornical (SFO) (Huang et al., 1996; Johnson et al., 1997; Mckinley et al., 1978, 1999; Thrasher, 1989) (fig. 0.2).

En este sentido, lesiones del OVLT y SFO redujeron la toma de agua y conservación de fluidos después de la administración subcutánea de CINA hipertónico (Chiaraviglio et al., 1984; Huang et al., 1995; Johnson et al., 1980; Johnson 1982; Leng et al., 1999; Lind et al., 1982, 1984; Ludwig et al., 1994; Mckinley et al., 1982; Mangiapane et al., 1984; Stricker et al., 2000; Thrasher et al., 1982). En algunos casos, incluso llegó a observarse una importante acumulación de sodio corporal en los animales (Hartle et al., 1984).

Por otra parte, experimentos electrofisiológicos han mostrado un aumento en la activación celular de estas regiones tras los incrementos de la osmolaridad del plasma (Gutman et al., 1988; Han et al., 1996; Johnson et al., 1997; McKinley et al., 1994; Sayer et al., 1984; Sibbald et al., 1988; Verbalis et al., 2000; Vivas et al., 1990), si bien en el SFO, la respuesta fue menor (Han et al., 1996; Johnson et al., 1997; Mckinley et al., 1994; Rowland, 1998).

En esta misma línea, estudios anatómicos y electrofisiológicos han detectado la presencia de conexiones neurales excitatorias desde el OVLT y SFO hacia

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

neuronas magnocelulares hipotalámicas del SON y PAV (Cunningham et al., 1991; Hatton, 1990; Hatton et al., 1998; Hussy et al., 2000; Leng et al., 1989, 1999; Mckinley et al., 1990, 1992, 1994; Miselis, 1980; Morien et al., 1999; Oldfield et al., 1991, 1994; Renaud et al., 1990; Richard y Bourque 1995; Shereeni et al., 2000).

No obstante, conviene precisar al respecto que las aferencias más abundantes y relevantes parecen proceder del OVLT, ya que su estimulación activó alrededor del 70% de las células del SON (Hatton et al., 1998; Mckinley et al., 1994; Oldfield et al., 1984, 1994; Richard y Bourque, 1995; Verbalis et al., 2000). Es más, lesiones bilaterales de esta región (OVLT) (Rowland et al., 1998; Xuz et al., 1996) inhibieron la actividad celular del complejo SON/PAV inducida osmóticamente (Ludwig et al., 1994; Rowland et al., 1998; Thrasher et al., 1982; Xuz et al. 1996). En contraposición, las lesiones del SFO no afectaron a la expresión c-fos en el SON y PAV después de la administración de C1Na hipertónico (Giovanelli et al., 1992; Han et al., 1996).

Se podría concluir por tanto, que estas dos regiones circunventriculares, y de manera especial el OVLT, parecen ser candidatas desde un punto de vista anatómico a la hora de detectar los cambios producidos en la tonicidad de los fluidos corporales.

Ahora bien, en cualquier caso, es un hecho conocido, que además del órgano vasculoso de la lámina terminalis (OVLT), la región anteroventral del III ventrículo se encuentra formada por otras estructuras cerebrales; entre las que podemos citar a la región periventricular preóptica, parte ventral del núcleo preóptico mediano y área periventricular anterior hipotalámica. De estos componentes, el núcleo preóptico mediano ha recibido una gran atención, ya que una serie de estudios han revelado que esta región además del OVLT puede quedar afectada tras las lesiones AV3V comentadas anteriormente (Lind et al., 1981) (fig. 0.2).

El núcleo preóptico mediano recibe aferencias del OVLT y SFO (Miselis, 1981), posibilitando que la información procedente de estas regiones pueda ser

procesada a través de esta estructura (Han et al., 1996; Johnson et al., 1997; Leng et al., 1999; Mckinley et al., 1994).

Más aun, pequeñas lesiones del núcleo preóptico mediano inhiben la ingesta de agua inducida osmóticamente (Mangiapane et al., 1983; Stricker et al., 2000; Takahashi et al., 2001). Incluso se pudo constatar, que estas lesiones eliminan la expresión de c-fos en el SON y PAV, una activación habitual en condiciones de privación de agua (Leng et al., 1999; McKinley et al., 1994; Rowland, 1998; Stricker et al., 2000; Takahashi et al., 2001; Xuz et al., 1996).

Estos resultados, se han visto confirmados con estudios de trazado anatómico retrógado, en los cuales se observaron las abundantes proyecciones existentes desde el núcleo preóptico mediano hacia las neuronas magnocelulares de los núcleos supraóptico y paraventricular (Bisset et al., 1988; Cunningham et al., 1991; Dunn et al., 1973; Fitzsimons et al., 1987; Hatton, 1990; Mckinley et al., 1990, 1994; Morien et al., 1999; Renaud et al., 1990; Shereeni et al., 2000).

Finalmente, y dentro de este mismo contexto, cabe señalar que registros unicelulares en animales han revelado una mayor activación del núcleo preóptico mediano en respuesta a la administración de soluciones hipertónicas (Han et al., 1996; McAllen et al., 1990) y privación de agua (Mckinley et al., 1994; Rowland, 1998).

De acuerdo con los datos expuestos hasta ahora, se podría hipotetizar que las regiones del hipotálamo anterior parecen ser responsables de la detección de los cambios en la osmolaridad o tonicidad plasmática, para así efectuar las respuestas correctoras pertinentes a través de sus conexiones con el complejo SON/PAV (Carithers y Johnson 1985; Leng et al., 1999; Miselis, 1981; Rens y Thrasher, 1991; Stricker y Verbalis 1986; Stricker et al., 2000; Takahashi et al., 2001; Verbalis et al., 2000). A todo esto se puede añadir que estas zonas cerebrales se encuentran densamente vascularizadas permitiendo de este modo un acceso directo a los factores circulantes en el plasma (Leng et al., 1999).

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Este sistema osmorregulador hipotalámico-neurohipofisario podría ser entendido como un sistema neurobiológico altamente integrado, en el cual convergen múltiples señales que van a permitir una serie de respuestas neuroendocrinas regulatorias y adaptativas necesarias para poder dar respuesta a las variadas condiciones fisiológicas que se van a presentar en la vida de los organismos (Hussy et al., 2000).

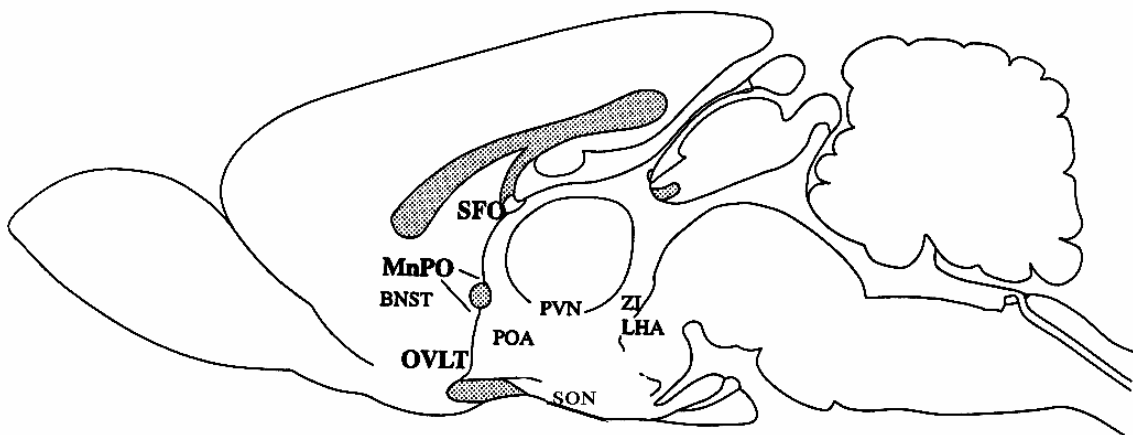


Fig. 0.2.- Representación de una sección medio-sagital del cerebro que ilustra las principales regiones anatómicas activadas por estimulación osmótica. Abreviaturas: BNST (núcleo del lecho de la estría terminalis), LHA (hipotálamo lateral), MnPO (núcleo preóptico mediano), OVLT (órgano vasculoso de la lámina terminalis), POA (región preóptica anterior), PVN (núcleo paraventricular), SON (núcleo supraóptico), SFO (órgano subfornical), ZI (zona incierta). Adaptada de: Hübschle, T et al., (2001).

La controversia Osmorreceptores-Receptores de Sodio.

El hecho de que un aumento en la osmolaridad o tonicidad del plasma constituya una motivación que impulse al individuo a una conducta de búsqueda y consumo de agua ha dirigido la atención de la Psicobiología hacia el estudio de la relevancia de los niveles de sodio corporal (Camargo et al., 2001; Huang et al., 1995; Hussy et al., 2000; Johnson et al., 1997; Mckinley et al 1983; Natcheff et al., 1975; Palmieri et al., 1969; Rose, 1986; Saltmarsh, 2001; Schoolemmer et al., 2000;

Stricker et al., 2000; Verbalis et al., 2000). En este contexto, numerosas investigaciones ya habían señalado que más del 90% de la presión osmótica del plasma y del fluido extracelular se debe al sodio y sus aniones (Bie et al., 2000; Fitzsimons, 1998; Johnson et al., 1997; Robertson, 1983, 1995; Robertson et al., 1982; Rose, 1984, 1986; Saltmarsh, 2001).

Durante el proceso de deshidratación celular, la concentración de sodio se ha incrementado dando lugar a una expansión de volumen del líquido extracelular como consecuencia de la salida inmediata del agua del interior de la célula. Relacionado con esto, es un hecho bien conocido que en la mayoría de las especies, y en condiciones normales, una alteración osmótica viene acompañada finalmente por natriuresis, es decir, la excreción de sodio por parte del riñón a fin de corregir el incremento producido en la osmolaridad (Balment et al., 1980; Bealer et al., 1983; Bie et al., 2000; Dogteron 1977; Emneluth et al., 1990; Huang et al., 1995; Kadekaro et al., 1995; Mckinley et al., 1992; Rinaman et al., 1995; Schoorlemmer et al., 2000; Stricker et al., 1986; Verbalis et al., 2000). Esta respuesta como veremos más adelante, parece ser el mejor mecanismo para reestablecer el volumen extracelular exacerbado que se produce debido a los niveles elevados de sodio corporal.

Estas ideas están en consonancia con los resultados obtenidos por un grupo de autores (Anderson et al., 1967; Anderson y Olsson, 1973; Fitzsimons, 1998), para quienes el factor fundamental de la regulación osmótica de fluidos residiría en la presencia de receptores específicos al ion sodio más que en la presencia de los osmorreceptores. En concreto, esta afirmación está fundamentada en las siguientes observaciones experimentales:

- La administración de pequeñas cantidades de ClNa hipertónico o bicarbonato sódico en el III ventrículo, provocó la ingesta de agua en animales. Sin embargo, infusiones equivalentes de sacáridos hipertónicos en el mismo lugar carecían de efecto dipsogénico (Anderson et al., 1967; Anderson y Olsson, 1973; Schoorlemmer et al., 2000).

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

- Por otra parte, la administración intracerebroventricular (icv) de soluciones isotónicas o hipertónicas de fructosa, glucosa o manitol, que reducen la concentración de sodio pero aumentan los niveles osmolares, inhibieron la ingesta de agua así como la respuesta antidiurética tras la infusión de ClNa hipertónico (Leksell et al., 1981; Olsson, 1973; Olsson, 1975; Wells et al., 1990).
- Además, la inyección (icv) de fármacos que impiden el transporte de sodio, disminuyeron la toma de agua en los animales (Anderson, 1978; Rundgren et al., 1979).

De acuerdo con estos resultados, Anderson y colaboradores propusieron la existencia de una serie de sensores o receptores al sodio en la vecindad de la pared del III ventrículo en contacto directo con el líquido cefalorraquídeo, que serían activados siempre que se produjera un incremento en la tonicidad del plasma.

Sin embargo, a pesar de la consistencia de estos datos, hay que señalar que hoy en día son muchos los autores que se inclinan más por una hipótesis dualista, donde ambos, osmorreceptores y sensores de sodio estarían implicados en la ingesta de agua estimulada osmóticamente (Mckinley et al., 1978; Wells et al., 1990).

Así, por ejemplo, experimentos en vivo han demostrado que, tanto los cambios en osmolaridad (Thrasher et al., 1980) como de Na⁺ en el líquido cefalorraquídeo (Olsson y Kolmod, 1974; Voisin et al., 1999) pueden modular individualmente la secreción neuroendocrina en mamíferos. Es más, cuando se producen cambios conjuntos en osmolaridad y Na⁺, entonces se observa un mayor aumento en la secreción hormonal (Mckinley et al., 1978).

En la actualidad, estos investigadores proponen la existencia de osmorreceptores en regiones que carecen de barrera hematoencefálica (BH) (órganos circunventriculares), mientras que los receptores sensibles al ion sodio estarían

localizados en el interior de la misma, presumiblemente en los núcleos magnocelulares hipotalámicos (Wells et al., 1990).

En efecto, se ha podido observar como incrementos o descensos significativos de Na⁺ en el organismo, evocan potenciales receptores despolarizantes o hiperpolarizantes respectivamente, y expresión de c-fos en las neuronas neurohipofisarias magnocelulares (Anderson et al., 1994; Han et al., 1996; Hussy et al., 2000; Leng et al., 1999; McKinley et al., 1994; Morien et al., 1999; Rowland, 1998; Sagar et al., 1988; Sladek et al., 1994; Van Tol et al., 1987; Vincent y Hayward, 1970; Voisin et al., 1999; Xuz et al., 1996; Walters y Hatton, 1974). Estas respuestas no se manifiestan sin embargo en regiones osmorreceptoras de la lámina terminalis (Han et al., 1996; Rowland, 1998).

Estos resultados por tanto, parecen confirmar la presencia de receptores específicos al ion sodio en ciertas regiones cerebrales (SON/PAV) que se encargarían de monitorizar las diferentes concentraciones de este soluto corporal (Fitzsimons, 1998). Estas células neurosecretoras podrían detectar los cambios producidos en los niveles de sodio del LCF debido a que cuentan con una serie de canales iónicos sensibles a este catión (Bourque, 1989; Bourque et al., 1994; Hussy et al., 2000; Leng et al., 1982; Oliet y Bourque, 1993, 1996).

Ahora bien, a pesar de la confirmación de la existencia de receptores sensibles a los niveles de sodio corporal, una serie de estudios han puesto de manifiesto que las concentraciones de este electrolito no son el único factor que puede explicar la ingesta de líquidos. Así por ejemplo, la administración de urea hipertónica en el torrente sanguíneo que eleva la concentración de sodio en el líquido cefalorraquídeo tanto como el ClNa hipertónico o la sacarosa, no produjo la ingesta de agua en ovejas, perros y gatos (Epstein, 1980; Mckinley et al., 1978; Stricker et al., 2000; Thrasher et al., 1980).

De la misma forma, experimentos posteriores han demostrado que las células magnocelulares neurosecretoras eran despolarizadas por incrementos en la

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

osmolaridad (hiperosmolaridad), en ausencia de cambios en Na extracelular (Voisin et al., 1999). Es más, incluso cuando los niveles de sodio plasmático permanecieron bajos por la administración de manitol (iv), la ingesta de líquidos así como la secreción de hormonas neurohipofisarias fueron estimuladas normalmente (Kadekaro et al., 1995). Sladek y Johnson (1983) creen que estas respuestas neuroendocrinas se producen por la activación de una serie de detectores, localizados fundamentalmente en regiones circunventriculares, principalmente OVLT, que responderían ante modificaciones en la osmolaridad plasmática.

En resumen, todos estos datos neurofisiológicos parecen validar la hipótesis de un sistema dual osmoregulador claramente diferenciado anatómicamente (Wells et al, 1990).

Mecanismos neuroendocrinos hipotalámicos. Regulación del exceso de sodio corporal e ingesta de líquidos.

Independientemente de la participación del sodio en la ingesta de agua, este ion constituye por sí solo un elemento indispensable para la vida, de forma que el organismo debe conocer su distribución de manera precisa así como las alteraciones que se producen en sus niveles fisiológicos, para de esta manera efectuar las correcciones homeostáticas pertinentes.

En la actualidad, se dispone de abundante información que pone de manifiesto la existencia de un sistema cerebral encargado de controlar y regular con gran precisión los niveles de sodio corporal.

Así por ejemplo, se ha constatado que diversas manipulaciones en el sistema nervioso central pueden producir una serie de alteraciones en la excreción de sal (natriuresis), particularmente en situaciones que conllevan incrementos en la osmolaridad plasmática (Bacic et al., 1999; Balment et al., 1986; Bealer et al., 1983; Cort 1963; Edwards et al., 1984; Ernsberger, 1981; Hennesy et al., 1977; Kavelaars

et al., 2001; Lichardus et al., 1969; Mckinley et al., 1983; Mirsky et al., 1954; Morales et al., 1986; Morris et al., 1984; Natchef et al., 1975; Robertson, 1987; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1987; Thrasher et al., 1983).

La mayoría de los estudios se han centrado, una vez más, en el hipotálamo, considerado como centro clave en la regulación del equilibrio hidromineral. Por ello, se ha intentado precisar las regiones hipotalámicas que pudieran estar involucradas en este proceso.

En efecto, ya se ha visto anteriormente cómo las células neurosecretoras hipotalámicas pertenecientes a los núcleos supraóptico y paraventricular (SON-PAV) eran activadas en respuesta a cambios en los niveles de sodio plasmático (Balment et al., 1980; Brimble et al., 1977, 1978; Briski et al., 2000; Dogterom, 1977; Frank et al., 2000; George, 1976; Jones et al., 1969; Kjaer et al., 1994; Morris et al., 1984; Saborio et al., 2000; Stricker et al., 2000; Takahashi et al., 2001; Thunhorst et al., 1998; Weiss et al., 1989; Weitzman et al., 1978; Zhen-dong et al., 2000). Anatómicamente, los axones de estas neuronas magnocelulares transcurren a lo largo del infundíbulo hasta llegar a la neurohipófisis, donde van a dar lugar a la liberación de vasopresina (ADH) y oxitocina (OT) (Badoer, 2001; Bealer et al., 1999; Brodel 1981; Cajal 1894, citado en Pickford et al., 1945; Carpenter, 1978; Guyton, 1976; Lincoln et al., 1982; Miyata et al., 2001; Wakerley et al., 1988), dos hormonas que son sintetizadas mayoritariamente en los cuerpos celulares de estos núcleos hipotalámicos (Ferguson et al., 2000; Hussy et al., 2000; Miyata et al., 2001; Rhodes et al., 1981; Swaab et al., 1993; Swaab et al., 1975; Zaida-Díaz et al., 2000).

En cuanto a la distribución regional y anatómica de estos dos factores endocrinos, una serie de estudios han observado porcentajes similares de células de ADH y OT tanto en el SON como en el PAV (Lincoln et al., 1974; Mckinley et al., 1994; Swaab et al., 1975). Sin embargo, el número total de neuronas oxitocinérgicas marcadas fue 2 veces mayor en el primero que en el segundo (2019/842) (Poulain et al., 1977; Swaab et al., 1975). Estos hallazgos parecen contradecir la versión clásica

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

que señalaba que el núcleo supraóptico sintetizaba principalmente vasopresina y el núcleo paraventricular, oxitocina (Swaab et al., 1975).

En cualquier caso, ambas hormonas suelen ser liberadas al sistema circulatorio en situaciones de desequilibrio osmótico con el objetivo de llevar a cabo las respuestas correctoras pertinentes. En el caso de la vasopresina, ésta ejercerá su acción en los túbulos renales (receptor V2), promoviendo la retención de agua (respuesta antidiurética) (Cunningham et al., 1991; Guyton, 1976; Lightman 1990; Robertson, 1983; Saborio et al., 2000; Share et al., 2000; Wakerley 1987).

Por su parte, en mamíferos, la oxitocina ha estado siempre relacionada con funciones reproductivas. Estas incluyen, la estimulación de la pared uterina durante el parto (Fuchs et al., 1980; Gross, 1958; Guyton, 1976; Legros et al., 1993; Rinaman et al., 1995; Shojo et al., 2000; Van Tol et al., 1987), eyección de la leche durante la lactancia (Rinaman et al., 1995; Shojo et al., 2000); comportamiento maternal (Ivell et al., 1997), regulación del ciclo de estrógenos (Ivell et al., 1997; Shojo et al., 2000) y aumento de la liberación de prolactina desde la pituitaria anterior, estimulando de este modo la producción de leche materna (Lumpkin et al., 1983; McCann et al., 1984; Van Tol et al., 1987).

Ahora bien, dado que las neuronas neurosecretoras oxitocinérgicas están también presentes en los varones y en las mismas concentraciones (Balment et al., 1980; Conrad et al., 1986; Gutkowska et al., 1997; Heller, 1961; Swaab et al., 1975; Van Tol et al., 1987), ha hecho pensar que también puede jugar un papel relevante en otros procesos fisiológicos (Conrad et al., 1986). Así, por ejemplo, una serie de estudios han demostrado que la oxitocina está implicada en la respuesta eyaculatoria funcionando como un factor regulador testicular (Ivell et al., 1997; Shojo et al., 2000). Asimismo, y relacionado con el tema que aquí nos interesa, conviene señalar que en la actualidad cada vez se disponen de mayor número de datos que sugieren la implicación de los péptidos neurohipofisarios (entre ellos, la oxitocina) en la regulación hídrica y excreción de ClNa de los vertebrados (Balment et al., 1986; Bealer et al., 1999; Bourque et al., 1994; Brimble et al., 1991; Cheng et al., 1986;

Chiriguer et al., 2001; Conrad et al., 1986; Edwards et al., 1984; Fitzsimons, 1998; Garland et al., 1983; Huang et al., 1999; Landgraf et al., 1983; Morris et al., 1984; Murphy et al., 1998; Pieron et al., 1995; Randolph et al., 1998; Shojo et al., 2000; Soares et al., 1999; Stricker et al., 1987; Verbalis et al., 1991, 2000; Voisin et al., 1999; Walter et al., 2000; Weitzman et al., 1978).

Así, por ejemplo, la administración de ClNa hipertónico (iv), provocó la liberación de ADH y OT desde las terminales neurosecretoras después de la estimulación de neuronas magnocelulares localizadas en el PAV y SON del hipotálamo (Bealer et al., 1999; Hussy et al., 2000; Jones et al., 1969; Lincoln et al., 1982; McKinley et al., 1994; Morien et al., 1999; Van Tol et al., 1987; Warkeley et al., 1988). Asimismo, se observó que estas acciones iban acompañadas de una respuesta natriurética (Balment et al., 1980; Dogterom, 1977; Huang et al., 1995; Jones et al., 1969; Kadekaro et al., 1995; Miyata et al., 2001; Rinaman et al., 1995; Renaud et al., 1991; Stricker et al., 1986; Van Tol et al., 1987).

Ahora bien, un dato a destacar en estos estudios, es el relacionado con el hecho de que los niveles de oxitocina eran siempre significativamente mayores que los de vasopresina (Cheng et al., 1986; Morris et al., 1984; Xiong et al., 1996). Es por ello, que algunos investigadores han sugerido que la respuesta oxitocinérgica puede representar un sistema de reacción rápida, ante un incremento en los niveles de Na extracelular y osmolaridad (Balment et al., 1980; Edwards et al., 1982, 1984; Jones et al., 1969; Kjaer et al., 1995; Mckinley et al., 1983).

En relación con esta cuestión, una serie de estudios han comprobado que la administración de antagonistas oxitocinérgicos inhibió la excreción de sodio renal (Balment et al., 1986; Cort et al., 1966; Huang et al., 1995, 1996; Walter et al., 2000); mientras que la respuesta natriurética pudo ser restaurada mediante infusiones de oxitocina (Huang et al, 1995; Sjöquist et al., 1993). Es más, la administración de la hormona dentro de rangos fisiológicos produjo un incremento significativo en la pérdida urinaria y excreción de Na renal, tanto en ratas conscientes (Balment et al., 1980; Jacobsen et al., 1956; Peters et al., 1970) como en animales mantenidos en

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

dietas deficientes en sodio (Balment et al., 1980; Conrad et al., 1986; Forsling et al., 1994; Verbalis et al., 1991; Walter et al., 2000).

Estos resultados, que ponen de manifiesto la relevancia de la oxitocina como factor natriurético y regulador hidromineral, se han visto reforzados en las últimas décadas por otra serie de observaciones.

En este sentido, y continuando con el mismo planteamiento teórico, diversos autores han comprobado que la ingesta de comida (ganancia de soluto) eleva los niveles plasmáticos de oxitocina (Arletti et al., 1989; Van Ree et al., 1977; Verbalis et al., 1986, 2000).

Todos estos datos, han hecho pensar que el apetito por sodio podría desencadenarse siempre que la actividad de un grupo de neuronas hipotalámicas pertenecientes al sistema SON-PAV esté atenuada, mientras que el consumo de sodio no se produciría cuando estas mismas neuronas estuviesen activas (Chiriguer et al., 2001; Stricker et al., 1987; Verbalis et al., 1993). Estos planteamientos están en consonancia con una serie de estudios en los que se ha puesto de manifiesto que la inhibición de los receptores oxitocinérgicos incrementa la ingesta de ClNa en respuesta a situaciones de hiperosmolaridad plasmática inducida por manitol (Blackburn, 1993; Fitzsimons, 1998; Stricker et al., 1996).

En resumen, todos estos resultados parecen resaltar la importancia del sistema neurohipofisario SON-PAV a la hora de controlar los incrementos en osmolaridad mediante la liberación de un factor natriurético, la oxitocina.

Ahora bien, como ya se ha venido señalando a lo largo de los epígrafes anteriores, el complejo SON-PAV mantiene numerosas conexiones anatómicas, (principalmente con las regiones del hipotálamo anterior) (Bisset et al., 1988; Cunningham et al., 1991; Dunn et al., 1973; Fitzsimons et al., 1987; Hatton et al., 1990, 1998; Hussy et al., 2000; Leng et al., 1999; McKinley et al., 1990, 1992, 1994;

Miselis, 1980; Morien et al., 1999; Oldfield et al., 1991, 1994; Renaud et al., 1990; Richard y Bourque, 1995).

En efecto, los datos parecen confirmar que la región cerebral que rodea al III ventrículo (AV3V) puede jugar un papel esencial en la regulación de los niveles hidrominerales del organismo.

Así por ejemplo, los animales con lesiones en AV3V permanecieron crónicamente en un estado hipernatrémico e hiperosmótico (Bealer et al., 1983; Body et al., 1980; Buggy et al., 1977; Schoorlemmer et al., 2000). Es más, la sección de las fibras localizadas en posición posterior a AV3V y en dirección al SON provocaron también una reducción en la cantidad de sodio excretado (Bealer et al., 1983).

Más aun, la destrucción del órgano vasculoso de la lámina terminalis (OVLT) (región perteneciente al AV3V) no generó el esperado incremento en la concentración de oxitocina plasmática (Cunningham et al., 1991; Hegoro et al., 1988; Huang et al., 1995; Johnson et al., 1990), ni respuesta natriurética (Bealer, 1996; Bealer et al., 1983, 2000; Hartle et al., 1984; Huang et al., 1995; Leng et al., 1998; Mckinley et al., 1983, 1992; Thrasher et al., 1983) tras la administración de CNa hipertónico o incrementos en el volumen extracelular.

En conclusión, estos resultados parecen sugerir que la respuesta natriurética normal que se produce ante incrementos en osmolaridad es procesada por la activación osmótica de los osmorreceptores y/o sensores de sodio localizados en la región AV3V. Estos receptores controlarían la liberación de oxitocina a través de las conexiones específicas establecidas con el SON y PAV (Miselis, 1981; Ramsay et al., 1991).

Esta idea se ha ido consolidando en los últimos años, cuando una serie de estudios neuroanatómicos e histoquímicos han podido identificar el factor natriurético atrial (ANP), un péptido que había sido aislado inicialmente en el corazón (Gutkowska et al., 1997; Levin et al., 1998; Verbalis et al., 2000), en el

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

sistema nervioso central y particularmente en el hipotálamo (Bastos et al., 2001; Blackburn et al., 1995; Chiriguer et al., 2001; Gutkowska et al., 1997; Lind et al., 1984; McCann et al., 1996; Quirion et al., 1988; Saper et al., 1989; Verbalis et al., 2000).

Esta circunstancia no dejó de ser sorprendente ya que el factor natriurético atrial no atraviesa con facilidad la barrera hematoencefálica (Levin et al., 1998). Sin embargo, el hecho de que la mayor parte de sus receptores cerebrales se localicen en regiones circunventriculares, zonas exentas de dicha limitación, disipó en parte todas las dudas planteadas hasta el momento (Blackburn et al., 1995; Fitzsimons, 1998; Gutkowska et al., 1997; Lind et al., 1984; Quirion et al., 1988; Saper et al., 1989).

En concreto, una de las regiones que presentó mayor número de cuerpos celulares del ANP fue el OVLT (Antunes Rodríguez et al., 1993; Jacobowitz et al., 1985; Palkovits et al., 1987). De hecho, lesiones en esta zona cerebral bloquearon la liberación del péptido natriurético atrial en aquellos centros hipotalámicos a los que se les venía asignando un papel relevante en el equilibrio hidromineral (Antunes Rodríguez et al., 1991, 1993).

Todos estos resultados parecen indicar pues, que el sistema nervioso central y en particular el hipotálamo, podrían mediar en la liberación intracerebral de este factor natriurético.

Con respecto al papel que puede jugar el ANP en la regulación del fluido extracelular, o lo que es lo mismo, en el equilibrio del sodio corporal se ha podido comprobar que la administración del factor natriurético atrial en los ventrículos cerebrales suprime el apetito por ClNa (Antunes Rodríguez et al., 1985; Bastos et al., 2001; Saper et al., 1989; Samson et al., 1987), mientras que el uso de antagonistas (rAANP) no impide esta respuesta consumatoria tras la administración del producto hipertónico (Blackburn et al., 1995). Además, incrementos en los niveles osmolares del plasma provocaron la liberación del ANP (Blackburn et al., 1995; Iitake et al.,

1989) así como una marcada natriuresis (De Bold, 1981; Levin et al., 1998; Shelat et al., 1998).

En resumen, todos los datos enumerados hasta el momento permiten pensar que existe un preciso control neuroendocrino por parte del sistema nervioso central sobre los niveles de sodio corporal.

El circuito neural implicado en tal regulación podría resumirse de la siguiente manera:

Una vez que el sodio es ingerido a través de la dieta, y pasa al riego sanguíneo, se distribuye por la totalidad de los tejidos. Cuando existe un exceso de ClNa en el espacio extracelular, o lo que es lo mismo una consiguiente expansión de volumen de fluido corporal, se van a generar una serie de señales barorreceptoras, tanto renales como cardiopulmonares. Estos mensajes provocarán la excitación de neuronas troncoencefálicas, concretamente del núcleo del tracto solitario (NTS), que establecen conexiones con células noradrenérgicas del locus coeruleus; las cuales ascienden a centros circunventriculares localizados principalmente en la región AV3V, actuando sobre interneuronas colinérgicas. La activación de estas interneuronas va a provocar finalmente la liberación del factor natriurético atrial (ANP) en el torrente sanguíneo gracias a la activación de algunas neuronas de la zona anteroventral del III ventrículo (SFO/OVLT), cuyas terminales nerviosas llegan a la eminencia media y lóbulo neural de la hipófisis. (Es importante destacar el hecho de que estas estructuras circunventriculares que contienen ANP también pueden ser excitadas directamente por los cambios producidos en los niveles de ClNa o ANP en el sistema circulatorio tras los incrementos en presión vascular (Gutkowska et al., 1997).

El péptido natriurético atrial circulante se unirá a los receptores de la aurícula del corazón, estimulando la secreción de ANP (Bastos et al., 2001; Chiriguer et al., 2001; Gutkowska et al., 1997; McCann et al., 1996; Soares et al., 1999; Verbalis et al., 1991), que a su vez actuará en el riñón (receptor A) incrementando la

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

filtración glomerular (Gutkowska et al., 1997; Iida et al., 1994) y causando una respuesta natriurética (Kishimoto et al., 1990; Levin et al., 1998).

Por otra parte no podemos terminar este apartado, sin mencionar que en los últimos años se ha descrito una nueva conexión eferente al corazón por parte del sistema nervioso central que puede ser relevante en el control y regulación de los niveles de sodio corporal.

En este caso, la expansión de volumen de fluido corporal provocaría además de la liberación en la circulación sistémica del péptido natriurético atrial comentada anteriormente, la secreción de ANP cerebral desde las neuronas hipotalámicas circumventriculares (SFO/OVLT) (algo similar a lo que acontece con las acciones dipsogénicas de la angiotensina (Miselis, 1981). En este sentido, una serie de estudios anatómicos han observado la existencia de terminales inmunorreactivas al ANP en el sistema SON/PAV (Gutkowska et al., 1997; Kawata et al., 1985; Saper et al., 1989) que podrían facilitar la liberación neuroendocrina de la hormona oxitocina en la neurohipófisis.

Una vez liberada la oxitocina en el sistema circulatorio, se encuentra en buena disposición para actuar en la aurícula del corazón con el fin de potenciar la secreción de ANP y de este modo asegurar una adecuada respuesta natriurética (Bastos et al., 2001; Chiriguer et al., 2001; Favaretto et al., 1997; Gutkowska et al., 1997; Iida et al., 1994; McCann et al., 1996; Soares et al., 1999; Verbalis et al., 1991). Este efecto natriurético puede ser bloqueado por la administración de antagonistas oxitocinérgicos (Chiriguer et al., 2001; Gutkowska et al., 1997; McCann et al., 1996; Randolph et al., 1998; Shojo et al., 2000).

En paralelo con estos estudios, también se han localizado receptores oxitocinérgicos en los túbulos proximales del riñón (Brimble et al., 1991; Soares et al., 1999; Stockel et al., 1987), lo que ha hecho pensar que la oxitocina podría llevar a cabo una acción natriurética independiente de la ejercida por el ANP; y que la contribución de las dos sustancias podría fortalecer esta necesaria respuesta

regulatoria. Sin embargo, este planteamiento teórico puede sufrir importantes variaciones en vista de los últimos descubrimientos sobre el tema.

Así por ejemplo, en 1993 fue descubierta una nueva sustancia en el tejido humano, la adrenomedulina (Charles et al., 1999; Kitamura et al., 1993). Debido a los potentes efectos natriuréticos y diuréticos producidos por esta hormona tras su administración central, se ha pensado que podría jugar un papel importante en la regulación de fluidos y en la homeostasis de electrolitos (Charles et al., 1999; Cuzzola et al., 2001; Samson, 1999; Serino et al., 1999; Ueta et al., 2000). De momento, no se conoce con certeza la región cerebral implicada en estas respuestas, pero dada la rapidez de su efecto tras la administración en el ventrículo lateral, todo hace pensar en una acción hipotalámica (Samson, 1999).

A favor de esta última idea podemos señalar los siguientes datos:

- La administración central de adrenomedulina (AM) produjo expresión de c-fos en el PAV y SON, que fue abolida mediante la inyección de antagonistas (AM-22-52)NH₂ (Serino et al 1999; Ueta et al., 2000).
- Estos resultados fueron confirmados por estudios inmunohistoquímicos, que revelaron la presencia de la hormona en el sistema PAV-SON hipotalámico de la rata (Veta et al., 1995, 1999) y del ser humano (Sato et al., 1996; Veta et al., 2000).

Estos trabajos preliminares permiten suponer que la adrenomedulina puede actuar como un nuevo factor modulador del sistema hipotálamo-hipofisario relacionado con la regulación del sodio corporal (Charles et al., 1999; Cuzzola et al., 2001). Este hecho puede confirmarse después de la observación de un incremento en la oxitocina plasmática después de la administración central de AM (Serino et al., 1999; Veta et al., 2000), sin cambios aparentes en los niveles de vasopresina (Veta et al., 2000).

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Resumiendo lo expuesto a lo largo de las páginas anteriores, se podría señalar que la natriuresis podría depender de algún modo de la acción conjunta de al menos tres productos: OT, ANP y AM (Blackburn et al., 1995; Charles et al., 1999; Samson et al., 1999; Swanson, 1992; Swanson et al., 1996, 1998; Verbalis et al., 1999; Veta et al., 2000). La excreción del exceso de sodio sería una respuesta apropiada ante situaciones de expansión de volumen e hiperosmolaridad. Por otra parte, debido a que el Na y CL son los principales solutos disponibles en el espacio extracelular, se necesitaría también una apropiada respuesta comportamental: la inhibición del apetito por sal.

Los estudios comentados anteriormente demuestran que el péptido natriurético atrial, oxitocina y la adrenomedulina ejercerían su acción natriurética (al menos en parte) actuando también sobre el propio cerebro facilitando un descenso en la ingesta de soluto (Antunes Rodríguez et al., 1986; Blackburn et al., 1992, 1995; Serino et al., 1999; Stricker, 1981, 1987; Swanson et al., 1997; Taylor et al., 1996; Veta et al., 2000). Esta respuesta comportamental ayuda a complementar así sus acciones periféricas para provocar natriuresis (Blackburn et al., 1995; Charles et al., 1999; Cournega et al., 1989; Huang et al., 1995; Samson et al., 1999; Sjöquist et al., 1993; Shelat et al., 1998; Verbalis et al., 1991, 1999; Ueta et al., 2000). A su vez, estos efectos son facilitados por la inhibición de la aldosterona, una hormona implicada en la reabsorción del sodio a partir de los túbulos distales del riñón con la consiguiente pérdida de sal a través de la orina (Charles et al., 1999; Palkovits et al., 1992; Samson, 1999; Share et al., 2000; Swanson, 1990; Yamaguchi et al., 1996).

Finalmente, resaltar dentro de este contexto que existen pruebas experimentales de que ciertas manipulaciones en otras regiones cerebrales del hipotálamo también producen alteraciones en los niveles hidrominerales del organismo (Lichardus et al., 1969; Bacic et al., 1999; Balment et al., 1986; Bealer et al., 1983; Cort et al., 1963; Ernsberger, 1981; Hennesy et al., 1977; Kavelaars et al., 2001; Mirsky et al., 1954; Morales et al., 1986; Morris et al., 1984; Natcheff et al., 1975; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1987). En concreto, una serie de estudios han demostrado que las regiones del hipotálamo posterior también pueden formar parte

de un circuito anatómico en el sistema nervioso central implicado en el control de la excreción de sodio. Esta idea será retomada y abordada en mayor profundidad en apartados posteriores, dada su significación y la importancia que representa para este trabajo de investigación.

Podemos concluir para terminar este apartado que cualquier modificación en los niveles orgánicos de ClNa induce una múltiple e inmediata detección y corrección regulatoria por parte del sistema nervioso central, en el cual las regiones hipotalámicas parecen ser una de las estructuras clave.

2.2.- Regulación volémica de la sed: Deshidratación Extracelular.

Los cambios producidos en el volumen de los fluidos extracelulares sin afectar al grado de tonicidad, son asimismo señales inductoras de toma de agua, y constituyen el segundo sistema tradicionalmente involucrado en la regulación de fluidos.

La pérdida de sangre (hemorragia) es la causa más poderosa de deshidratación extracelular y, por lo tanto, de sed volémica. Desde la historia más remota, las crónicas de las batallas relatan casos de heridos pidiendo agua imperiosamente (Fitzsimons, 1979). Otras situaciones clínicas que producen importantes pérdidas volumétricas pueden ser: diarreas, vómitos, enfermedades renales, etc (Fitzsimons, 1998).

En última instancia, la sed volémica proporciona un segundo mecanismo de defensa ante la posible pérdida de líquido extracelular. Además, debido a que la hipovolemia (descenso volumen sanguíneo), produce también una pérdida de sodio, hace que se pongan en marcha los mecanismos endocrinos implicados en la conservación de este mineral.

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Receptores implicados en la sed volémica.

Fue Fitzsimons (1961), quien proporcionó la primera prueba sólida, de que la pérdida de fluido extracelular era un estímulo primario para la toma de agua. Este autor provocó hipovolemia en ratas administrando (ip) un coloide o desarrollando hemorragias, y observó que bebían significativamente más agua en las 6 horas siguientes que los animales controles. Para constatar que la toma de agua no era secundaria a un incremento en la excreción renal de fluidos (poliuria), realizó el mismo experimento pero ahora extirpando los riñones de los animales (nefrectomía) y, a pesar de ello, observando los mismos resultados (Fitzsimons, 1961).

Es sabido que las aurículas del corazón así como las venas disponen de neuronas sensoriales (barorreceptores vasculares) capaces de detectar los cambios en la presión sanguínea. Estas células reciben el nombre de receptores cardiopulmonares (Johnson et al, 1997; Stricker et al., 2000; Verbalis et al 2000).

Cuando se produce un aumento significativo en el volumen sanguíneo (hipervolemia) se generan una serie de mensajes tónicos de carácter inhibitorio desde estos receptores arteriales y venosos hacia los mecanismos hipotalámicos que controlan la secreción de vasopresina (Johnson et al, 1997 Share, 1988). Estas señales tienen por objetivo el corregir estas alteraciones en los fluidos corporales a fin de evitar potenciales problemas cardiovasculares. En cualquier caso, si el input procedente de estos receptores es tónicamente inhibitorio para los mecanismos implicados en la sed, como es el caso de la secreción de ADH, se podría predecir que manipulaciones que redujesen la actividad de los mismos podría estimular la ingesta de fluidos.

La evidencia de que la información cardíaca podría jugar un papel importante en la regulación hidromineral fue demostrada originalmente por Sobocinska (1969), quien observó que bloqueando la conducción nerviosa del nervio vago en animales (perros), se producía un descenso en el umbral de la ingesta de agua en respuesta a

estimulación osmótica. Esto dio pie a pensar que lo mismo podría suceder en los casos de hipovolemia.

Fitzsimons y Moore-Guillón (1980) en sus investigaciones con perros, situaron un pequeño globo en la vena cava inferior (vena que transporta la sangre de la mayor parte del cuerpo hacia el corazón). Cuando se inflaba el globo, se reducía el flujo sanguíneo hacia el corazón, disminuyendo así la sangre que entraba en la aurícula derecha. Al cabo de unos 30 minutos, los perros empezaban a beber, y los volúmenes registrados correlacionaban con descensos en la presión arterial y el volumen sanguíneo. Además, se produjo un descenso en el flujo de orina, lo que significaba una mayor retención de agua (Fitzsimons, 1979). Resultados similares han sido descritos por Weitzman (1978), quien observó que la pérdida de volumen sanguíneo (hipovolemia) producía una disminución significativa en la presión sistólica así como un aumento notable en los niveles de ADH.

En otro experimento relacionado, Moore-Guillón y Fitzsimons (1980) 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: el hecho de estimular directamente los receptores de distensión de la aurícula izquierda, redujo la ingesta de agua de los animales. Además, y en otros estudios semejantes, también se ha observado que la distensión de la aurícula derecha (en la rata), inhibe el apetito por sal (Johnson et al., 1997).

Una vez más se confirma la idea de que los barorreceptores cardiovasculares responden ante la expansión de volumen (hipervolemia) con impulsos inhibitorios sobre centros que controlan la sed. Por otra parte, la ausencia de estas señales, que se producen en situaciones que implican pérdida de fluido extracelular (hipovolemia), genera el control adecuado de la presión arterial, modulando la secreción de ADH así como el consumo de agua y sal, restableciendo de este modo el volumen sanguíneo a sus valores normales.

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Estudios neurofisiológicos han confirmado que la información proveniente de los receptores cardiopulmonares alcanza el sistema nervioso central a través de un primer relevo sináptico en el núcleo del tracto solitario (NTS) (Ciriello et al., 1983; Davies y Kalia, 1981; Johnson et al., 1997; Norgren, 1981; Panneton y Loewy, 1980; Stricker et al., 2000; Verbalis et al., 2000) así como en el área postrema (Fitzsimons, 1998; Johnson et al., 1997; Ohmán et al., 1995). Esta información asciende posteriormente hacia el núcleo parabraquial lateral (Fitzsimons, 1998; Johnson et al., 1997; Ohmán et al., 1995) donde establece un segundo relevo.

En concreto, se piensa que las regiones troncoencefálicas mencionadas pueden formar parte de un sistema que procese la información proveniente de los receptores vasculares en respuesta a los desafíos volémicos producidos en el fluido extracelular (Fitzsimons, 1998; Johnson et al., 1997; Ohmán et al., 1995). Las señales inhibitorias procedentes de los barorreceptores vasculares llegarán a estos centros a través del nervio vago o simplemente por señales humorales generadas por la extensión auricular (Antunes Rodríguez et al., 1985; Fitts et al., 1985; Johnson et al., 1997; Kaufman, 1990).

Finalmente, desde estas regiones cerebrales, la información cardiovascular podría modular la actividad de centros localizados en la parte anterior del III ventrículo (AV3V) (Fitzsimons, 1998) así como del complejo supraóptico y paraventricular (Fitzsimons, 1998).

En conclusión, estos datos neurofisiológicos permiten afirmar que la información vascular alcanza a las regiones hipotalámicas implicadas en la regulación hidromineral y el comportamiento de ingesta.

Sistema renina-angiotensina: sed hipovolémica y apetito por sal.

En la actualidad, es bien conocido que los riñones contienen células capaces de detectar los descensos en el flujo sanguíneo (hipovolemia). Estos datos fueron avalados por el hecho de que los animales nefroctomizados reducían la ingesta de agua provocada por algunos procedimientos volémicos, mientras el ligamiento del uréter no producía esta disminución (Fitzsimons, 1979). Es más, el descenso volumétrico detectado, hace que el riñón secrete una enzima importante, la renina, que en la sangre cataliza la conversión de una serie de proteínas en angiotensina (Stricker et al., 2000; Verbalis et al., 2000).

Datos experimentales han demostrado que la administración sistémica de renina y angiotensina, inducen la ingesta de agua (Fitzsimons, 1978; 1979; Verbalis et al., 2000), y posteriormente (8-10 horas) el apetito por sal (Fitzsimons, 1961; Johnson 1997; Phillips, 1987 ; Stricker, 1981).

Asimismo, se ha demostrado que la sustancia dipsogénica no era la renina sino la angiotensina (AII). Concretamente, la administración sistémica de AII en la vena yugular indujo a la ingesta de agua en animales saciados (Fitzsimons y Simons, 1969); efecto que era mucho mayor que si los animales eran nefroctomizados (excluyendo por lo tanto, la participación de la renina). La AII se convertía de este modo en una señal humoral de carácter dipsogénico que iba acompañada además de una clara respuesta vasoconstrictora periférica, así como de la liberación y secreción de vasopresina y aldosterona (Fitzsimons, 1998; Guyton 1976; Phillips, 1987; Rinaman et al., 1995; Share, 1988; Thunhorst et al., 1994).

Por otra parte, la administración (i.c) de AII provocaba una respuesta más eficaz y rápida, tanto en la toma de agua como de sal, que la infusión sistémica de la hormona (Fitzsimons, 1998). Ello significaba que la angiotensina podía alcanzar el cerebro, y producir allí su efecto dipsogénico. Una vez más el hipotálamo fue el candidato anatómico de tales estudios. Así:

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

- Buggy et al., (1974); Epstein et al., (1970); Fitzsimons, (1998) comprobaron que la administración de AII (i.c) en el área preóptica y núcleos del hipotálamo anterior inducían ingesta de agua en animales saciados. En concreto, el área preóptica medial parecía ser la región más sensible a la acción de AII.
- Además, se observó una actividad incrementada en las neuronas del hipotálamo lateral y área tegmental ventral. Este dato apoya el modo en que las lesiones de la región más medial del hipotálamo lateral interfieren con la respuesta dipsogénica del sujeto a manipulaciones volémicas (administración i.c de AII) (Kucharzyc y Mogenson, 1977; Swanson et al., 1978).

No obstante, estos y otros estudios recibieron numerosas críticas particularmente por el hecho bien conocido de que la angiotensina no atraviesa la barrera hematoencefálica (Volicer y Loew, 1975). Una vez más, los órganos circunventriculares se convirtieron en el centro de interés de esta área de investigación. Feliz et al., (1986); Mendelsohn, Quirion, Saavedra, Aguilera y Catt (1984); observaron que las neuronas de varias regiones cerebrales situadas próximas a los ventrículos, contenían receptores para la angiotensina. Concretamente, utilizando ligandos altamente selectivos, se han identificado dos subtipos de receptores: el AT1 y AT2 (Phillips et al., 1998).

Así, la administración subcutánea de losartan (antagonista AII) que se une selectivamente al receptor AT1 inhibe la ingesta de agua y sal causada por la infusión sistémica ó icv de AI, AII y AIII (Dourish et al., 1992; Wong et al., 1990). No ocurre lo mismo cuando se administra el péptido PD123177 (antagonista selectivo AII) que actúa por el receptor AT2. Estos datos claramente sugieren que los receptores AT1 están implicados en la respuesta de toma de agua y sal inducida por la angiotensina (Gouldsbrough et al., 2001).

En cualquier caso, aunque todos los órganos circunventriculares poseen receptores AT1, uno de ellos, el SFO, ha sido el que ha recibido mayor atención por parte de los investigadores (Ferguson et al., 2000; Simpson, 1981):

- Así, dosis bajas de angiotensina en el órgano subfornical provocaron la ingesta de agua y ClNa, mientras que la destrucción selectiva de esta región o la administración de saralasin, que bloquea el receptor de AII, inhibió dicha respuesta (Johnson et al., 1997; Simpson, 1981; Simpson et al., 1978; Thrasher et al., 1982; Thunhorst et al., 1990).
- Igualmente, Phillips y Felix (1976) observaron que la administración microiontóforética de AII en el SFO producía un aumento en la tasa de disparo de sus neuronas individuales. La misma actividad neuronal fue también observada en condiciones que promueven sed y apetito por ClNa (hipovolemia) (Mckinley et al., 1992, 97; Morien et al., 1998; Thunhorst et al., 1999; Rowland et al 1994; 1999).
- Por otro lado, una serie de autores han puesto de manifiesto que las conexiones anatómicas del SFO serían compatibles con la respuesta dada a la angiotensina. Así, Eng y Miselis, (1981); Lind y Johnson, (1982); Lind et al., (1984) comprobaron que las lesiones del tallo ventral del SFO, que interrumpen sus conexiones eferentes, eliminan el comportamiento de toma de agua y ClNa desencadenado mediante la administración de AII sistémica (i.v). Ahora bien, en este contexto resultó llamativo que el efecto dipsogénico también se producía si la angiotensina era inyectada en el III ventrículo.

Estos últimos resultados parecían indicar que los receptores de angiotensina localizados en otras regiones cerebrales “internas”, eran capaces de elicitar también la conducta de ingesta. Una serie de estudios posteriores han demostrado que el núcleo preóptico mediano es muy sensible a la acción dipsogénica de la angiotensina.

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Sin embargo, hay que señalar que esta región no carece de barrera hematoencefálica, por lo que únicamente puede ser sensible a la AII cuando ésta es administrada a nivel ventricular o lo que es lo mismo, la angiotensina no puede acceder al núcleo preóptico medial a través de la sangre.

La explicación ofrecida a esta contradictoria situación fue la siguiente: las neuronas del SFO serían estimuladas por la AII circulante (sanguínea), las cuales a su vez enviarían señales eferentes a las neuronas del núcleo preóptico mediano (Miselis, 1981), utilizando también angiotensina como sustancia neurotransmisora. De este modo, los receptores AT1 del núcleo preóptico mediano funcionarían como receptores postsinápticos de una sustancia peptídica transmisora: la angiotensina cerebral (Lind y Johnson, 1982; Lind et al., 1985). En la actualidad existen una serie de evidencias experimentales que avalan esta idea:

- Lesiones electrolíticas del núcleo preóptico mediano, interrumpen la conducta de ingesta después de la administración (i.v) o (c.v) de AII (Johnson y Cunningham, 1987).
- Estimulación eléctrica del SFO produjo incrementos en la activación de neuronas individuales del núcleo mediano. Estas respuestas eran suprimidas cuando se bloqueaban los receptores de angiotensina mediante saralasin (Nelson y Johnson, 1985).

En este sentido, y durante la última década, han ido apareciendo nuevos datos que completan este circuito anatómico estableciendo una estrecha conexión entre la liberación de AII y la activación de las neuronas magnocelulares neurosecretoras hipotalámicas en situaciones hipovolémicas o hipotensivas (Badoer et al., 1992; Chiodera et al., 1998; Ferguson et al., 2000; Hegarty et al., 1996; Lackford et al., 1998; Thunhorst et al., 1998). Es más, se ha podido comprobar que la administración del antagonista AII, saralasin, bloquea la actividad de estas regiones hipotalámicas (Cunningham et al., 1991).

En la actualidad, estos resultados se han visto confirmados también gracias a estudios neuroanatómicos que han demostrado que regiones como el SFO y núcleo preóptico mediano proyectan en gran medida hacia las células magnocelulares oxitocinérgicas y vasopresinérgicas del complejo SON-PAV (Armstrong, 1995; Chiodera, 1998; Cunningham et al., 1991; Ferguson, et al., 2000; Hatton, 1990; Leng et al., 1999; Lind et al., 1985; Mckinley et al., 1990;1994, 1996; Miselis, 1980; Oldfield et al., 1991; Phillips et al., 1998; Renaud et al., 1990).

De hecho, lesiones de la parte anterodorsal del III ventrículo (AV3V), que incluyen el SFO y núcleo preóptico mediano, disminuyen la expresión c-fos en el SON-PAV inducida por AII (Bealer et al., 1979; Iovino et al., 1984; Phillips, 1987; Rowland, 1998; Thrasher et al., 1986; Thunhorst et al., 1994).

Finalmente, se ha comprobado que las condiciones hipovolémicas o hipotensivas (administración AII-Furosemida) suelen incrementar en mayor medida la tasa de disparo de las neuronas vasopresinérgicas que las oxitocinérgicas (Ivanyi et al., 1995; Roberts et al., 1993; Thunhorst et al., 1994, 1998, 1999). Estos resultados tienen una importante significación fisiológica, a saber, que en los casos de pérdidas volumétricas es prioritario ante todo la conservación de líquidos, función en la cual, la vasopresina es fundamental. Tampoco se debe olvidar la fuerte respuesta vasoconstrictora que ejerce la hormona antidiurética, una acción que ayuda a restablecer la presión sanguínea que se encuentra disminuída en estos casos (Chiodera et al., 1998; Hegarty et al., 1996; Kumar et al., 1998 ; Phillips et al., 1998; Phillips, 1987).

En resumen pues, el organismo parece controlar los efectos hipovolémicos producidos por la deshidratación extracelular mediante la activación de un sistema enzimático-humoral-nervioso. Las variaciones producidas en el fluido vascular serían detectadas tanto a nivel renal como cardíaco, activándose dos tipos de señales humorales y nerviosas, que actuando a través de mecanismos diferentes y sistemas neuroanatómicos distintos persiguen un objetivo común: el control del volumen plasmático.

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

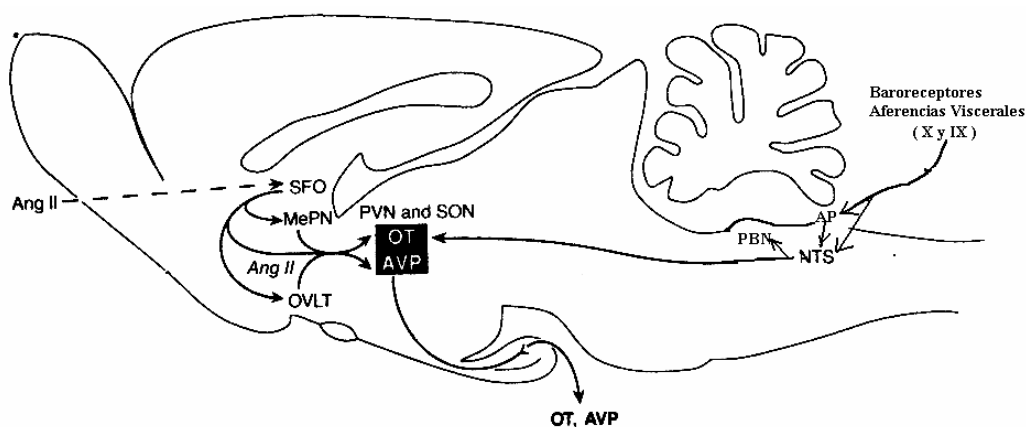


Fig. 0.3.- Representación de una sección medio-sagital del cerebro que ilustra las principales vías neurales activadas por hipovolemia. Abreviaturas: Aferencias viscerales X (nervio vago), IX (glossofaríngeo), Ang II (angiotensina), AP (área postrema), AVP (vasopresina), MePN (núcleo preóptico mediano), NTS (núcleo tracto solitario), OT (oxitocina), OVLT (órgano vasculoso lámina terminalis), PBN (núcleo parabraquial), PVN (núcleo paraventricular), SFO (órgano subformical), SON (núcleo supraóptico). Adaptada de: Cunningham, J et al., (1991).

2.3.- Contribución de los Factores Osmóticos y Volémicos a la Sed.

Hasta ahora se han venido describiendo los circuitos osmóticos y volémicos implicados en la regulación de fluidos como si fuesen procesos independientes. Sin embargo ambos mecanismos pueden contribuir conjuntamente a la conducta de ingesta subsiguiente.

Esto no quiere decir que aunque en muchos casos ambos sistemas coparticipen, no exista la posibilidad de que uno de ellos predomine sobre el otro.

En este sentido, Ramsay y colaboradores, 1977; Rolls et al., 1980; Wood et al., 1982, investigaron las contribuciones selectivas de los factores osmóticos y volémicos en la regulación hídrica de animales privados de agua durante 24 horas. Esta falta de agua provoca un aumento en la concentración electrolítica del fluido

extracelular, que lleva a su vez a una deshidratación intracelular. Asimismo, este proceso de privación, desencadena también una reducción en el volumen plasmático (hipovolemia) como se puede comprobar tras un examen de los valores de hematocrito (Wood et al., 1982).

Pues bien, en estas circunstancias, estos autores pudieron confirmar que la administración (i.v) de agua, que contrarresta selectivamente la deshidratación celular reduciendo la osmolaridad de la sangre, produjo un descenso en la ingesta de agua posterior del 72% ante la privación. Por el contrario, la reposición selectiva del compartimento extracelular mediante la administración de suero salino isotónico (i.v), sólo redujo la toma de agua en un 27%. La combinación de ambos procedimientos produjo un descenso en la ingesta de agua en los perros, del 99% sobre los valores de línea base.

Estos resultados demuestran por lo tanto que si bien la conducta de ingesta de agua inducida por privación, es dependiente tanto de señales osmóticas como volémicas, la dependencia de las primeras es mucho más marcada.

Paralelamente y dentro de este mismo contexto, la administración intravenosa en humanos de C1Na hipertónico dentro de valores fisiológicos, produjo un incremento significativo en la ingesta de agua. Por el contrario, la administración de AII indujo una débil respuesta, incluso a pesar de utilizar cantidades afisiológicas de este producto (Phillips, 1987; Verbalis et al., 2000).

En esta misma línea de resultados, Van Eckelen y Phillips (1988), observaron que los sujetos experimentales (animales) no tomaban agua tras la administración de AII hasta que sus niveles en sangre no alcanzaban los 450pg/ml, valores que sólo están presentes en animales privados de agua durante 48 horas (Barney et al., 1980). De acuerdo con estos resultados, es posible concluir que la AII sólo sería importante para la sed en casos de emergencia (Phillips, 1987).

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Estos datos, parecen confirmar una vez más el papel relevante y prioritario de los mecanismos osmóticos en el control diario y normal de la ingesta de agua. De hecho, diversos autores han demostrado que variaciones en la tonicidad del plasma de tan sólo el 1% sobre los valores óptimos, producían un incremento notable en la actividad neurohipofisaria así como en la toma de agua. Por el contrario, dicha activación endocrina no fue observada hasta que el volumen circulatorio no descendió al menos un 10% en relación a los valores normales (Robertson et al., 1982, 1983; Verbalis et al., 2000; Voisin et al., 1999; Wade et al., 1982).

Como señala Robertson (1983), en la vida diaria no es habitual, el que uno se encuentre con situaciones donde se produzcan pérdidas tan importantes en el volumen sanguíneo. Esto quiere decir, que la mayor parte del agua consumida se podría explicar debido a las señales originadas en el sistema osmótico.

Así pues, estos trabajos experimentales destacan y confirman la importancia del sistema osmótico en la regulación de fluidos y el consumo de agua; si bien no debemos descartar una posible integración y convergencia a nivel central con los desequilibrios de tipo volémico. En este sentido, algunas investigaciones han sugerido que ciertas estructuras cerebrales podrían procesar en paralelo ambos tipos de información.

Así por ejemplo, Kucharczyk y Mogenson (1977), observaron que las lesiones electrolíticas de la parte más medial del hipotálamo lateral, interferían con la respuesta del sujeto a manipulaciones volémicas (AII i.c), mientras que cuando la lesión se situaba en la parte más lateral de esta región, se producía el mismo efecto pero ahora en relación con manipulaciones osmóticas (administración sistémica de ClNa hipertónico). Estos estudios indican que el procesamiento de la información tanto osmótica como volémica puede ser llevado a cabo por estructuras cerebrales paralelas aunque anatómica y funcionalmente independientes.

En resumen, los desequilibrios hidrominerales de los compartimentos intra y extracelulares, son capaces por sí solos o conjuntamente, de generar un conjunto de

señales desencadenantes de la ingesta de agua. El déficit producido en la periferia, alcanza el sistema nervioso central mediante la participación de diversos mecanismos, tanto nerviosos como humorales, que implican la participación de una serie de circuitos neuroanatómicos diferentes y no siempre bien definidos. Pero tanto en el caso de las alteraciones en la tonicidad del plasma, como en el de los descensos volumétricos, se van a generar una serie de respuestas fisiológicas comunes: una modulación y regulación neuroendocrina con el objetivo de controlar el nivel de absorción o excreción renal del agua y electrolitos, de cara a una posterior conservación o eliminación; y la propia conducta de búsqueda y consumo de líquidos.

En personas adultas sanas, la osmolaridad del plasma se mantiene dentro de unos límites bien definidos (287 mOsm/Kg), aun a pesar de las variaciones y fluctuaciones que se producen en la ingesta de agua y solutos. Este equilibrio es alcanzado por la acción conjunta de dos sistemas reguladores principales: uno comportamental, que modula la toma de agua y otro neuroendocrino, que controla su pérdida.

Así por ejemplo, estos dos sistemas están organizados de tal manera, que un descenso en la osmolaridad del plasma (hipotonicidad), suprime la secreción de vasopresina y consiguientemente la toma de agua, produciendo finalmente un aumento en el flujo renal (poliuria) que reestablece la osmolaridad plasmática (isotonicidad). Por el contrario, un ligero incremento en los valores osmolares (hipertonicidad), estimula la liberación de las hormonas neurohipofisarias (ADH y oxitocina) así como la ingesta de agua (sed), que junto a un descenso en la pérdida renal de fluidos (respuesta antidiurética) consiguen que la osmolaridad retorne a su nivel óptimo (set point; 287 mOsm/Kg).

Por tanto, es importante destacar dentro de este contexto, cómo variaciones o cambios muy sutiles en la tonicidad del plasma (donde el sodio es el componente principal), pueden tener influencias tan significativas, como veremos a continuación, sobre el consumo de agua (Camargo et al., 2001; Fisher et al., 1938; Fitzsimons,

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

1998; Friedman et al., 1962; Hollinshead, 1964; Huang et al., 1995; Hussy et al., 2000; Johnson et al., 1997; Kavelaars et al., 2001; Natcheff et al., 1975; Palmieri et al., 1969; Pivonello et al., 2000; Price et al., 2000; Rolls, 1970; Robertson et al., 1982, 1995; Robertson 1983; Rose, 1986, 1984; Saborio et al., 2000; Saltmarsh, 2001; Schoorlemmer et al., 2000; Stricker et al., 2000; Verbalis et al., 2000) y como alguno de estos mecanismos correctores pueden verse alterados, con un funcionamiento fuera de los límites establecidos.

2.4.- Alteraciones en la ingesta de líquidos.

Hoy en día, son una práctica habitual en la bibliografía sobre este tema las descripciones de personas que ingieren cantidades anómalas de líquido, un hecho conocido con el nombre de polidipsia.

En muchos de estos casos, la sed excesiva y el elevado consumo de agua consiguiente vienen definidos por un funcionamiento normal del mecanismo de ingesta (sed) acompañado de grandes pérdidas de fluido (poliuria). En esta situación, la polidipsia descrita sería secundaria a un cuadro de poliuria, es decir resultante a un deterioro o anomalía en el mecanismo de conservación de fluidos.

Polidipsia secundaria: Diabetes Insípida.

En este apartado, y entre las alteraciones más frecuentes y comunes de este tipo de hiperdipsia se encuentra la denominada diabetes insípida (DI). En este trastorno, la pérdida desproporcionada de agua (diuresis > 30ml/Kg en 24h) se produce a causa de la insuficiente liberación de ADH (diabetes insípida central o neurogénica), o por una incapacidad renal para responder a la hormona antidiurética disponible (diabetes insípida nefrogénica).

En ambos casos, se observa un aumento significativo en la osmolaridad plasmática (hipernatremia), provocada fundamentalmente por un incremento

excesivo en los niveles de sodio, secundaria a la respuesta poliúrica (Bacic et al., 1999; Balment et al., 1986; Bronstein et al., 2000; Friedman et al., 1958, 1962; Hollinshead, 1964; Huang et al., 1996; Kavelaars et al., 2001; Laszlo et al., 1996; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Pivonello et al., 2000; Price et al., 2000; Rolls, 1970; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1992; Swann et al., 1939; Verbalis et al., 1985).

Diabetes insípida central.

Cuando se habla de DI central o neurogénica, hay que señalar que entre las múltiples causas asociadas a la aparición de este síndrome, se pueden citar una gran variedad de enfermedades de índole adquirida, genéticas o idiopáticas. Así por ejemplo, traumatismos craneoencefálicos (accidentes de automóvil), procesos tumorales (craneofaringioma, meningioma, etc), intervenciones quirúrgicas, así como toxinas y malformaciones cerebrales, pueden provocar daños o lesiones en ciertas regiones hipotalámicas, infundíbulo, pituitaria o tallo hipofisario (Bacic et al., 1999; Bronstein et al., 2000; Isidro et al., 1998; Machoun et al., 1991; Nosedá et al., 1985; Randall et al., 1960; Robertson, 1995; Seckl et al., 1987).

En este sentido, también hay que mencionar una variante congénita de la enfermedad que puede ser transmitida de manera autosómica dominante con penetrancia completa. Así, en alguna de las familias afectadas, se han identificado mutaciones en el gen que controla la vasopresina neurofisisina II (ADH/PNII), el precursor polipéptido de la hormona antidiurética, que se encuentra localizado en el cromosoma 20 (Bahnsen et al., 1992; Isidro et al., 1998; Ito et al., 1991, 1993; Robertson, 1995; Si-Hoe et al., 2000).

En cualquier caso, cada una de estas condiciones produce una reducción significativa en la síntesis, almacenamiento y liberación de las hormonas neurohipofisarias, lo que desencadena finalmente en una excesiva ingesta de agua (Bronstein et al., 2000; Czernichow et al., 2000; Demunbrun et al., 1954; González-

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Portillo et al., 1998; Greger, 1986; Heinbecker et al., 1941; Hollinshead, 1964; Huang et al., 1996; Kurokawa et al., 1998; Laszlo et al., 1966; Macías-Batista et al., 1999; Maghnie et al., 2000; Mirsky et al., 1954; Moses et al., 1992; Robertson, 1995; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1987; Si-hoe et al., 2000; Song et al., 1999).

La polidipsia observada en estos casos muestra un patrón trifásico característico (Bakker et al., 1976; Balment et al., 1986; Bronstein et al., 2000; Friedman et al., 1958, 1962; Hollinshead, 1964; Huang et al., 1996; Laszlo et al., 1966; Lichardus et al., 1973; O'Connor 1950; Rolls, 1970; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1987, 1992; Verbalis et al., 1985; White et al., 1939):

- a) Hiperdipsia en el día posterior a la lesión (fase transitoria poliúrica).
- b) Descenso significativo en la ingesta de agua durante 3-4 días (interfase oligúrica).
- c) Recuperación de la polidipsia observada (fase permanente poliúrica).

Diversos autores interesados en esta área de investigación han examinado si los factores neuroendocrinos que han podido quedar afectados por la lesión, podrían explicar las alteraciones hidrominerales presentadas así como el elevado consumo de líquidos descrito.

Dentro de este ámbito, algunos estudios clásicos habían señalado que la administración de extractos pertenecientes a la neurohipófisis restauraba completamente la función natriurética y diurética de los animales diabéticos (Lichardus et al., 1973; O'Connor, 1950; Swann, 1939). Cort et al., (1963) ya habían sugerido que posiblemente la oxitocina podría ser la hormona que se encontrara afectada en los animales neurohipofisectomizados.

Es más, el descenso en la ingesta de agua y de orina que se produce en un momento determinado después de la lesión (interfase oligúrica) se cree que también podría venir dado por un aumento inesperado en la actividad endocrina hipofisaria (O'Connor 1952; Friedman et al., 1958; Heinbecker et al., 1941, 1944; Hollinshead,

1964; Levkoff et al., 1954; Lipsett et al., 1956; Seckl et al., 1992; Verbalis et al., 1985). En este contexto, Brooks et al., (1958), Brunner et al., (1956); Dickers, (1957); Sawyer (1952); observaron que la administración periférica de oxitocina en animales hipofisectomizados generaba un incremento en la excreción de sodio tras las infusiones de soluciones salinas hipertónicas.

De hecho se pudo comprobar que el peso del lóbulo posterior de la hipófisis en las ratas diabéticas con lesiones en el tallo hipofisario disminuyó en un 50% después de la lesión durante la interfase (días 2-5), sin mostrar cambios aparentes en la fase transitoria poliúrica (día 1) (Laszlo et al., 1966). Más aun, durante la fase oligúrica, los animales fueron capaces de concentrar la orina y excretar sodio ante una serie de desencadenantes osmóticos (Brooks et al., 1958; Friedman et al., 1958; Ikkos et al., 1954; Levkoff et al., 1954; O'Connor 1952; Shannon, 1942; White et al., 1938). Incluso se observaron niveles elevados de vasopresina en el plasma de muchos de los animales hipofisectomizados (Fisher et al., 1938; Ikkos et al., 1954; Laszlo et al., 1966; Mirsky et al., 1954; White et al., 1938). Estos hechos no se produjeron durante la fase transitoria y permanente de la diabetes insípida (Levkoff et al., 1954; O'Connor, 1952).

En esta misma línea de resultados, se comprobó que la mayoría de los pacientes diabéticos (DI) requerían 3 o más dosis de desmopresina (fármaco antidiurético, análogo de la vasopresina) en las primeras 24 horas (fase transitoria) debido a las graves pérdidas de fluido (poliuria). Sin embargo, ninguno de ellos necesitó del tratamiento antidiurético durante el 2º día (interfase oligúrica), donde de nuevo y confirmando los estudios con animales, se produjo un incremento en la concentración urinaria (natriuresis) que correlacionó con unos altos niveles plasmáticos de oxitocina (Seckl et al., 1987).

Así pues, estos estudios parecen sugerir que la falta de respuesta renal ante la hiperosmolaridad (hipernatremia) que se produce en la DI así como la polidipsia observada, se puede deber a la ausencia de factores humorales de origen neurohipofisario.

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Por otra parte, y dentro de esta misma línea, muchos autores piensan que el patrón trifásico característico de la DI en el cual destaca sobremanera el periodo oligúrico (interfase), puede ser explicado por un daño incompleto en el tracto neurohipofisario (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). Estudios postmortem revelaron que si bien existía una reducción en el número de células del sistema SON y PAV en los sujetos diabéticos, ésta pérdida neuronal no era completa. En la mayoría de los casos, se comprobó que más del 15% de las células y fibras permanecían intactas (Bronstein et al., 2000; Brooks et al., 1958; Heinbecker et al., 1941; O'Connor, 1946). Además y como dato añadido se pudo observar que las neuronas oxitocinérgicas presentaban una mayor capacidad de supervivencia a la lesión que las células vasopresinérgicas (70% versus 60%) (Dohanics et al., 1992; Huang et al., 1996; Kawamoto et al., 1985).

Recientemente y relacionado con esta cuestión, Huang et al., (1996), han planteado que los axones neurosecretorios intactos se pueden regenerar vigorosamente después de las secciones del tallo neurohipofisario. “Las fibras parecían formar próximo al lugar de la lesión una estructura funcional semejante al lóbulo neural, que podría responder a estímulos osmóticos” (Huang et al., 1996).

Así pues, y de acuerdo con estos últimos puntos de vista, se podría decir que la severidad de la polidipsia y la poliuria manifestada en la diabetes insípida dependerá del grado en que las estructuras cerebrales implicadas se vean afectadas. Pero si esto es así realmente, entonces una lesión completa de la neurohipófisis debería provocar una hiperdipsia permanente, y de hecho esto es lo que sucede. Lesiones completas del complejo neurohipofisario (Heinbecker et al., 1941; O'Connor, 1952), mostraron un único patrón en la ingesta y excreción de líquidos. En concreto, los animales desarrollaron una polidipsia estable y duradera a lo largo de los días. Ahora bien, si se realiza un implante del lóbulo posterior en estos animales diabéticos, la ingesta de agua y diuresis decrecen de modo similar a lo que acontece en la fase oligúrica (Laszlo et al., 1966). Estos mismos resultados se

obtuvieron cuando se administraron extractos de oxitocina (Demumbrun et al., 1954; O'Connor, 1952), corroborando la importancia de los factores neuroendocrinos en la regulación hidromineral y conducta de ingesta de líquidos.

A estos argumentos iniciales hay que añadir los estudios llevados a cabo en las ratas Brattleboro. Estos animales desarrollan un modelo animal de DI, pero en este caso producido por una alteración genética que afecta al cromosoma responsable de la síntesis de ADH (Brimble et al., 1991; Edwards et al., 1984; Valtin et al., 1964).

Un hecho que conviene destacar en estos trabajos es que a pesar de la falta de vasopresina observada en estos animales, la excreción de Na alcanzada en las ratas Brattleboro es bastante similar a la manifestada por los sujetos normales (Balment et al., 1980; Brimble et al., 1991; Fuller et al., 1988; Valtin et al., 1964). Diversos autores han señalado que el incremento en oxitocina plasmática que se produce en las ratas Brattleboro durante la deshidratación, es el factor responsable de su respuesta natriurética (Balment et al., 1980, 1982, 1986; Brimble et al., 1991; Edwards et al., 1984).

De hecho, cuando se comparó la excreción renal de Na de los animales Brattleboro y los neurohipofisectomizados en condiciones que incrementaban la osmolaridad plasmática, se observó claramente una mayor respuesta natriurética en los primeros (Balment et al., 1986; Brimble et al., 1991), destacando una vez más, el papel fundamental que juega la oxitocina a la hora de regular la excreción de sodio corporal (Brimble et al., 1991; Edwards et al., 1984).

En resumen, todos estos estudios parecen reflejar la idea de que una serie de alteraciones neurohipofisarias podrían dar cuenta de los graves problemas regulatorios, tanto hídricos como minerales que manifiestan los sujetos que padecen diabetes insípida.

.....

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

En otro apartado, y por lo que respecta al diagnóstico de este trastorno polidíptico, hay que decir que uno de los procedimientos que más se ha utilizado hasta el momento ha sido el test de privación de líquidos. Durante la realización de estas pruebas se observa el grado de concentración en la orina que presentan los pacientes, y que en el caso de la DI se caracteriza por una respuesta típica: osmolaridad urinaria disminuida (Bronstein et al., 2000; Czernichow et al 1985; Robertson, 1983; Seckl et al., 1987, 1992).

Esta primera observación suele acompañarse con la toma de muestras acerca de la concentración de ADH y osmolaridad plasmática durante la administración de una solución salina hipertónica (3%) (Bronstein et al., 2000; Robertson, 1983; Seckl et al., 1992). Ante esta situación, los resultados suelen ser bastante evidentes: los enfermos de diabetes insípida neurogénica no liberan vasopresina, y si lo hacen la respuesta es casi siempre insuficiente.

En situaciones controvertidas y en casos particulares, estos métodos de diagnóstico habitualmente suficientes, se han visto recientemente complementados con la utilización de otro tipo de pruebas muy fiables. Así por ejemplo, a través de las técnicas de neuroimagen, hoy en día se puede observar y cuantificar el grado de intensidad de la señal proporcionada por el lóbulo posterior de la hipófisis. Esta información puede ser útil de cara a la evaluación cuantitativa de la concentración hormonal existente en esta región (Bronstein et al., 2000; Kurokawa et al., 1998). Así, al menos, es lo que parecen sugerir una serie de investigaciones que han observado una fuerte correlación entre la intensidad de la señal emitida por las imágenes de Resonancia Magnética y los niveles neuroendocrinos en la hipófisis posterior (Czernichow et al., 2000; Kurokawa et al., 1998; Maghnie et al., 2000; Moses et al., 1992; Saborio et al., 2000).

En concreto, los resultados que se desprenden de estos trabajos, señalan que los pacientes que padecen esta enfermedad presentan una reducción notable en la intensidad de la señal emitida por las imágenes, confirmando una vez más una

alteración en el sistema neurohipofisario (Fujisawa et al., 1987; Kurokawa et al., 1998; Maghnie et al., 1998, 2000; Moses et al., 1992).

En cualquier caso, a pesar de los datos poco esperanzadores que nos ofrecen estas pruebas diagnósticas desde el punto de vista clínico, tenemos que decir que en los últimos años se ha experimentado un gran avance en el tratamiento farmacológico de la diabetes insípida central.

En este sentido, cabe mencionar, que durante años los pacientes con DI neurogénica fueron tratados con hormona antidiurética, principalmente lysina VP. Sin embargo, esta sustancia dejó de prescribirse debido a la escasa duración de sus efectos así como a los problemas secundarios que presentaba, especialmente los relacionados con un aumento notable en la presión arterial (Fjellestad et al., 1993). Todo ello, provocó que se comenzasen a estudiar otras alternativas farmacológicas que pudiesen mejorar los resultados precedentes. Entre estas opciones apareció el dDAVP (1-desamino 8-arginina vasopresina- desmopresina Acetato), un análogo de la hormona antidiurética. Esta sustancia, selectiva al receptor renal V2, mostró un efecto antidiurético más potente y prolongado que incluso la propia hormona ADH (Fjellestad et al., 1993; Saborio et al., 2000; Seif et al., 1978). Este dato es bastante significativo, ya que permitió que las personas afectadas pudiesen dormir durante toda la noche y dedicarse a sus actividades diarias sin las necesarias interrupciones por motivos regulatorios (Greger et al., 1986). Es más, la utilización de este fármaco de cara al tratamiento de la DI neurogénica mostró otra serie de ventajas adicionales. Por ejemplo, la desmopresina se administra nasalmente, lo que hace que sea mejor tolerada (Fjellestad et al., 1993; Greger et al., 1986); y además, no sólo no incrementa la actividad presora de la vasopresina sino que la reduce.

A estos argumentos iniciales, hay que añadir que desde hace algunos años, la intervención farmacológica de la DI central se ha complementado, y además con bastante éxito, con el uso racional de diuréticos y la prescripción de dietas carentes de sal (Baylis et al., 1998; Fried et al 1997; Niaudet et al., 1985; Rose, 1984; Saborio et al., 2000; Tetiker et al., 1999; Vyele et al., 1913). La finalidad de tales

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

tratamientos no es otra que la de provocar un aumento en la excreción de sodio (natriuresis) con el principal objetivo de tratar de disminuir la hipernatremia observada en este trastorno (Baylis et al 1998; Saborio et al., 2000).

En efecto, es un hecho bien conocido y corroborado de manera experimental (Bellows 1938; Fisher et al., 1938; Swann et al., 1939), que un aumento considerable en los niveles de sodio corporal en personas que sufren de DI, lleva consigo un deterioro de la enfermedad (Fitz, 1924; Oehme et al., 1918; Rosebloom et al., 1916 citados por Swann et al., 1939). No es extraño, por tanto, que sea algo habitual en la práctica clínica, una reducción de la ingesta de ClNa en estos pacientes para intentar corregir las cantidades excesivas de fluido excretado así como la polidipsia que le acompaña.

Pruebas que confirman la validez de esta interpretación las podemos encontrar en una serie de estudios clásicos que demostraron cómo la privación de comida (Curtis, 1924; Swann, 1939) y la adrenalectomía (Friedman et al., 1962); procedimientos ambos, que disminuyen los niveles de sodio en el plasma, redujeron de forma significativa la ingesta de agua en los animales diabéticos (lesión eminencia media) a un nivel próximo del grupo control.

Una vez más, y como intentaremos demostrar en la fase experimental de la presente Tesis Doctoral, estos datos ponen de manifiesto la importancia que tiene el hecho de controlar los niveles de soluto corporal, donde el sodio indudablemente ocupa una posición privilegiada en la economía de fluidos y electrolitos del cuerpo (Bie et al., 2000; Fitzsimons, 1998; Johnson et al., 1997; Robertson et al., 1995; Robertson, 1982, 1983; Rose, 1984, 1986; Saltmarsh, 2001).

Diabetes insípida nefrogénica.

En cuanto a la otra variante de la diabetes insípida, la diabetes nefrogénica; suele ser producida más que por una insuficiencia de ADH como ocurría con la DI central, por una alteración en su acción renal. Esta insensibilidad renal ha sido asociada a un defecto o alteración en las células del túbulo colector, lo que va a provocar una excreción de orina persistentemente hipotónica, independientemente de que los niveles de vasopresina sean altos o normales.

Entre las causas que pueden provocar esta enfermedad, en los últimos años se ha venido destacando la importancia que pueden tener los factores genéticos. Así por ejemplo, en algún caso de diabetes insípida nefrogénica, se ha confirmado la presencia de una mutación en el gen que codifica el receptor renal de ADH (V2), responsable del efecto antidiurético de la hormona (Bichet et al 1994; Knoers et al 1993; Robertson, 1995; Rosenthal et al 1994).

Asimismo, y de forma paralela, también se han descrito otras variantes genéticas de la enfermedad con carácter autosómico recesivo (Si-hoe et al., 2000), provocadas por mutaciones en el gen que codifica aquaporin II, la proteína que forma los canales de agua en los túbulos colectores del riñón (Robertson, 1995; Sasaki et al., 1994; Van Lieburg et al., 1994).

En cualquier caso y de cara al tratamiento de la DI nefrogénica, parece lógico pensar que el uso de antidiuréticos no debería resolver el problema. Por ello, la administración de dDAVP es ineficaz en este caso de diabetes. Los mejores resultados se han obtenido con la utilización moderada de diuréticos y la restricción de sal en la dieta (Rose, 1984).

De la misma manera a como acontecía con la DI central o neurogénica, este tratamiento suele ser bastante efectivo a la hora de reducir la poliuria observada en la enfermedad (Baylis et al., 1998; Niaudet et al., 1985), posiblemente como consecuencia de la disminución de los altos niveles de sodio corporal que poseen

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

estos pacientes (Bronstein et al., 2000; Man et al 1992; Saborio et al., 2000; Seckl et al 1992).

Hasta aquí, el principal objetivo de esta Introducción ha consistido en describir una serie de trastornos relacionados con la ingesta de líquidos, que suelen ser la consecuencia o el resultado de alteraciones en los mecanismos fisiológicos encargados tanto de la conservación como de la excreción hidromineral.

.....

Junto a este tipo de enfermedades (diabetes insípida) existen otras alteraciones no menos llamativas en la regulación de fluidos derivadas de la activación inapropiada de los mecanismos de la sed en ausencia de pérdidas de líquido (Dunn 1990; Vonderer et al., 1999). En concreto, se trata de personas que consumen agua ininterrumpidamente a pesar de disponer de unos niveles de hidratación normales o supranormales. Estaríamos hablando en este caso de las denominadas polidipsias primarias.

Algunos investigadores han indicado que si bien puede descartarse en la mayoría de los casos cualquier tipo de anomalía en la secreción o acción de las hormonas neurohipofisarias de estos pacientes (Barlow et al., 1959; Vonderer et al., 1999), éstas alteraciones podrían darse como consecuencia de la ingesta excesiva de fluidos. En este sentido, la respuesta polidíptica provocaría una reducción significativa en la concentración del plasma, lo que llevaría a la inhibición de los valores endógenos de ADH con la consiguiente respuesta poliúrica (Moses et al 1993; Vonderer et al., 1999). Es más, a diferencia de los cuadros de diabetes insípida vistos anteriormente, las imágenes por Resonancia Magnética de estos sujetos muestran una señal hiperintensa en la hipófisis posterior cuando son sometidos a programas de privación de líquidos (Moses et al., 1993, 1992), lo que significa que aparentemente la conducta polidíptica no puede ser explicada por una alteración en la actividad endocrina neurohipofisaria.

No obstante y a pesar de estos planteamientos iniciales hay que destacar las diferencias individuales observadas entre las personas que muestran un excesivo consumo de líquidos, lo que ha hecho diferenciar dentro de esta polidipsia primaria dos categorías: la hiperdipsia dipsogénica y la psicogénica (Bronstein et al., 2000; Illowski et al., 1988, citado por Verghese et al., 1983; Robertson, 1987; 1991; 1995; Vonderen et al., 1999).

Polidipsia primaria dipsogénica.

Por lo que respecta a la polidipsia dipsogénica (Robertson 1987), el paciente en todo momento informa de una sensación anormal de sed. En este caso, la ingesta de agua sigue siendo regulada por factores osmóticos, pero no puede ser suprimida a menos que la osmolaridad del plasma y la concentración de sodio se sitúen por debajo del umbral que determina la secreción de vasopresina. Sin embargo, esto no se consigue ya que los altos niveles de hidratación que manifiestan estos sujetos impiden la liberación de la hormona antidiurética, produciendo la consiguiente pérdida de líquidos. Esta situación hace que el paciente permanezca en todo momento en un estado de sed crónica, polidipsia y poliuria (Bronstein et al., 2000; Robertson, 1995).

En este sentido, se ha descrito el historial de un paciente que sufrió un golpe en la parte posterior de la cabeza como consecuencia de una caída desde un caballo. Esta persona no perdió la consciencia, pero casi inmediatamente después del accidente desarrolló un cuadro de sed severa, comenzando a ingerir grandes cantidades de agua. Como dato relevante, hay que mencionar el hecho de que la excreción de líquidos a través de la orina no tuvo lugar hasta pasadas dos horas y media; clara indicación de un caso de polidipsia primaria. Esta respuesta de ingesta desmesurada persistió durante 2 semanas en las que estuvo bajo observación, con un consumo medio diario de 18.5 litros (caso Nothnagel, citado en Fitzsimons 1979).

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Otro ejemplo de polidipsia primaria dipsogénica post-traumática, se manifestó en una mujer de 22 años, que mostraba una sed excesiva y persistente a las pocas horas de sufrir un accidente de automóvil, que le produjo una fractura en la base del cráneo (Kourilsky et al., citado en Fitzsimons, 1979).

Por último, Bailey et al., citado por (Fitzsimons, 1979) también han comunicado un caso de polidipsia primaria central tras intervenciones quirúrgicas en el hipotálamo sin interferir con la hipófisis.

En general, todas estas anomalías pueden estar relacionadas con cuadros patológicos de diversa índole (meningitis, neurosarcoide, esclerosis múltiple, etc), lesiones (traumatismos craneoencefálicos) o drogas (litio) que afectan a múltiples regiones del sistema nervioso central (Bronstein et al., 2000; Robertson 1987; 1991; 1995). Entre los centros que han podido verse afectados, se han propuesto estructuras hipotalámicas mal definidas, pero que (de un modo relevante para esta tesis) han sido localizadas frecuentemente en la base del cerebro (Robertson 1987; Robertson 1995).

Polidipsia primaria psicogénica.

En el caso de la polidipsia psicogénica o consumo compulsivo de agua, se produce una negación explícita de sed por parte del paciente, y a pesar de ello los volúmenes de ingesta de agua pueden oscilar entre los 5 y 20 litros diarios (Barlow et al., 1959). Este tipo de hiperdipsia exhibe algunas características diferentes de la diabetes insípida y polidipsia dipsogénica (Illowsky et al., 1988; citado por Verghese et al 1993).

Es un ejemplo, bastante común entre la población psiquiátrica, y especialmente entre personas que padecen de esquizofrenia (6-17%) (Barjau et al., 2000; Guisado et al., 2000; Kawai et al., 2001; Lerner et al., 2000; Mercier-Guidez, 2000; Sleeper y Jellinek, 1936; citado por Verghese et al 1993). Algunos autores,

como Robertson (1995), piensan que puede estar motivada por creencias irracionales a cerca de los beneficios que tendría para la salud una ingesta elevada de líquidos.

Hoy en día se cree que la polidipsia psicogénica no es un trastorno unitario sino que se suele manifestar en varias fases (Vergheze et al 1993):

a) Alrededor de los 5-15 años después del comienzo de la enfermedad psiquiátrica, algunos pacientes comienzan a consumir grandes cantidades de agua. Esta polidipsia va a provocar una reducción significativa en la osmolaridad plasmática y concentración de sodio (hiponatremia) (Crenin 1989; Fouqueray et al., 1998; Goldman et al., 1988; Hariprasad et al., 1980; Kawai et al., 2001).

b) De 1-10 años después de la aparición de la polidipsia, se puede producir un cuadro de intoxicación por agua en el 50% de los pacientes psicóticos polidípsicos (Barjau et al., 2000; González-Portillo et al., 1998; Schwartz et al 1957, 1967). El síndrome de secreción inapropiada de ADH (SIADH) hace que estas personas sean incapaces de excretar los fluidos ingeridos, exacerbando la hiponatremia, y llevando en algunos casos a estados de coma e incluso la muerte (Barjau et al., 2000; Goldman et al., 1998; José, et al., 1979; Vieweg et al., 1985).

Poco se conoce acerca de las posibles causas de este trastorno, en el cual los valores de ADH se encuentran inapropiadamente elevados ante los bajos niveles de osmolaridad plasmática (Kumar et al., 1998; Pullan et al., 1979; Robertson, 1983). Algunos autores sospechan que puede haberse producido algún daño en el hipotálamo (Mellinger y Zafar, 1983). En este sentido, un dato interesante para esta Tesis Doctoral es el revelado por una serie de estudios postmortem en pacientes esquizofrénicos, que han observado una menor densidad neuronal bilateral (34%) en los cuerpos mamilares, región del hipotálamo posterior, con respecto a personas normales (Briess et al 1998).

c) Finalmente, en algunos casos se puede producir una 3ª etapa, que se desarrolla a los 5 años después de que se hayan producido casos de intoxicación por

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

agua, y que incluye una serie de complicaciones orgánicas: dilatación de la vejiga e intestino, fallo renal y cardíaco, etc. Estas personas llegan a consumir las elevadas cantidades de agua durante el día, hecho que les lleva también a una marcada ganancia de peso corporal (Verghese et al 1993).

Algunos autores como Robertson (1987), sugieren que una posible explicación para la excesiva ingesta de agua observada en estos pacientes, sería que el umbral o nivel óptimo (set point) que marca el inicio de la liberación de ADH estuviese desplazado hacia la izquierda. Estas personas polidípsicas seguirían siendo sensibles a las variaciones osmóticas, pero ahora de forma más acusada. Esto permite suponer que la ADH se pondría en funcionamiento ante niveles de tonicidad plasmática que están por debajo de los requeridos para la liberación normal de esta hormona. En estas circunstancias, los sujetos tienden a consumir grandes cantidades de líquidos en respuesta a estas fluctuaciones osmolares.

Polidipsia primaria gestacional.

Continuando dentro del mismo contexto de las polidipsias primarias, hay que señalar que existen situaciones en la vida real, que si bien son menos frecuentes que las comentadas anteriormente, también cursan con manifestaciones de hiperdipsia. Este es el caso del aumento en la ingesta de líquidos y poliuria que se produce algunas veces durante el embarazo (Bronstein et al., 2000; Durr et al., 1987; Iwasaki et al., 1991; Leggett et al., 1999; Robinson et al., 1991; Seckl et al 1992).

Durr et al (1987), sugieren que durante el periodo de la gestación se observan una serie de modificaciones en los niveles de ciertos componentes endógenos implicados en la regulación hidromineral, así como en el mecanismo de la sed. Debido a que estos cambios regulatorios aparecen fundamentalmente durante el primer trimestre del embarazo, algunos autores piensan que ciertos factores hormonales asociados a la gestación podrían ser los responsables de estas alteraciones en la ingesta de líquidos (Robertson, 1983).

Así por ejemplo, durante estos periodos se ha observado en estas personas polidípsicas una ausencia de respuesta renal a la ADH (Durr et al., 1987; Singer et al., 1997) así como una reducción en los niveles de oxitocina durante los 253 días de la gestación (Van der Post et al., 1997).

En la actualidad, no se sabe con certeza cuál podría ser la explicación de estos hechos, pero algunas investigaciones sugieren que podría deberse a la acción de la vasopresinasa, que se libera durante el embarazo, o en última instancia a algún mecanismo intrarenal que deteriora la respuesta neuroendocrina (Iwasaki et al., 1991).

Las pruebas a favor de esta idea sugieren que la vasopresinasa, un aminopéptido elaborado por el tejido placentario, produce la degradación (durante la gestación) de la vasopresina, oxitocina así como de otros péptidos (Iwasaki et al., 1991; Tuppy et al., 1968). Además, se ha observado que la actividad de esta sustancia desciende gradualmente durante el postparto (Davison et al., 1989; Iwasaki et al., 1991; Tupí et al., 1968); período en el que no existen alteraciones aparentes en los niveles de ADH y OT (Van der Post et al., 1997), y en el que tampoco aparecen cuadros de polidipsia (Iwasaki et al., 1991).

El tratamiento farmacológico más recomendado a la hora de intentar resolver el trastorno de la hiperdipsia gestacional es la desmopresina (dDAVP) fundamentalmente por el hecho de que no es degradada por la vasopresinasa (Kumar et al., 1998).

Además, y debido a que durante el embarazo se ha observado también un incremento significativo del 30-40% del volumen plasmático (Brown, 1988; Randolph et al., 1998; Van der Post et al., 1997) y que en muchas ocasiones viene acompañado de elevados niveles de sodio corporal (154 mosml/l) (Iwasaki et al., 1991) es práctica habitual recomendar a estas personas una restricción del consumo de ClNa con el fin de disminuir el volumen extracelular. Es más, este tratamiento será efectivo en mujeres embarazadas hipertensas debido a que como se sabe la

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

hipertensión puede ser una consecuencia de la retención inapropiada de sal y de la expansión de volumen (Hamlyn et al., 1986; Van der Post et al., 1997).

En conclusión y una vez más, a partir de estos estudios clínicos parece inferirse que los niveles plasmáticos de sodio (responsable fundamental de la osmolaridad) (Bie et al., 2000; Bronstein et al., 2000; Camargo et al., 2001; Fitzsimons, 1998; Huang et al., 1995; Johnson et al., 1997; Natcheff et al., 1975; Robertson, 1982, 1983; Robertson et al., 1982; Rose, 1984, 1986; Saltmarsh, 2001; Schoorlemmer et al., 2000; Stricker et al., 2000; Verbalis et al., 2000), podrían jugar un papel importante en la modulación de la ingesta de agua. Este hecho, nos permite poner de manifiesto la importancia que tienen los mecanismos encargados del control del equilibrio hidromineral para asegurar el mantenimiento del volumen y composición de los fluidos del cuerpo (una afirmación que intentaremos corroborar a lo largo del presente trabajo experimental).

3.- Implicación del Hipotálamo Posterior en el control hidromineral.

Es un hecho bien conocido que las lesiones de estructuras subcorticales de la rata, como la amígdala (Grossman et al 1963), septum (Harvey et al 1965), hipotálamo medial (Sclafani et al 1969), núcleo del rafe (Coscina et al 1972; Lorens et al, 1971) y locus coeruleus del tallo cerebral (Osumi et al, 1975), producen un incremento en la ingesta de agua. En cada una de ellas, siempre se ha discutido el carácter primario o secundario de tales polidipsias.

En las últimas décadas, se ha venido destacando también la importancia que pueden tener regiones del hipotálamo posterior en el control y regulación de los fluidos corporales. Así por ejemplo, Santacana y colaboradores, observaron que las lesiones electrolíticas del área mamilar, producían un aumento significativo en la ingesta de agua en ratas (Tejedor del Real et al, 1972).

Estos autores comprobaron que esta polidipsia no estaba relacionada con una alteración en la toma de alimento, ya que no se observaron diferencias significativas con el grupo control. Además, los animales mamilares presentaron un cuadro de motivación mayor (menor latencia), en recorrer un laberinto para acceder al agua, cosa que no ocurre normalmente en los animales hiperfágicos (Sclafani, 1971).

En cuanto a la posibilidad de que la ingesta de agua de estos animales, se debiese a un déficit en la secreción salivar (sed prandial), se pudo comprobar asimismo que la hiperdipsia mamilar se seguía manteniendo en situaciones de privación de alimento (72 horas).

Por último, estos autores también señalaron que la polidipsia observada podía catalogarse de primaria con respecto a la poliuria. De hecho, la privación de agua (48 horas), pero no de comida, produjo una reducción drástica en el volumen de orina excretado por los animales experimentales. Más aun, ningún animal mamilar murió como consecuencia de la privación, lo cual sugiere que la ingesta excesiva de agua

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

no se debe a un fenómeno de diabetes insípida (DI), que implicaría la pérdida de grandes cantidades de agua debido a la deficiente absorción de la misma por parte del riñón (Guyton, 1976).

En esta misma línea de resultados se encuentran los trabajos llevados a cabo por Hennesy, Grossman y Kanner (1977), en los cuales se pudo comprobar que la sección mecánica (Knife-cut) de las fibras que discurren en posición ventral al hipotálamo posterior desarrollaron una marcada polidipsia. En este caso, los animales lesionados en la región más ventromedial, consumieron cantidades diarias de agua superiores al doble de la ingesta media de los propios mamilares. Hennesy et al., (1977) interpretaron esta hiperdipsia, como el posible resultado de alguna alteración en las conexiones de regiones hipotalámicas que regulan la actividad neurohipofisaria.

Es importante destacar que estos animales excretaron una orina más diluída que la del grupo control no lesionado después de la administración de ClNa hipertónico, a pesar de que el volumen de orina no mostró diferencias significativas entre ambos.

Por su parte, estos resultados volvían a confirmar que los animales con lesión en el hipotálamo posterior poseen un cierto nivel de retención, y el hecho de que excreten una orina menos concentrada podría estar indicando alguna alteración en la regulación de los niveles de tonicidad plasmática, donde el sodio es el principal componente.

En cualquier caso, conviene destacar al respecto que otros estudios publicados en los últimos años han venido a coincidir en el hecho de que las manipulaciones en las regiones del hipotálamo posterior provocan importantes desequilibrios en los niveles de sodio del organismo (Bacic et al., 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; Seckel et al., 1987).

IMPLICACIÓN DEL HIPOTÁLAMO POSTERIOR EN EL CONTROL HIDROMINERAL

En efecto, Bacic et al., (1999) han descrito recientemente severos estados de hipernatremia o hiponatremia en soldados que habían sufrido daños cerebrales como consecuencia de herida/s de bala (Guerra de Bosnia). Los problemas más serios en la concentración de sodio plasmático fueron observados cuando las lesiones afectaron a estructuras localizadas en la base del cráneo y/o zonas hipotalámicas adyacentes al III ventrículo (Bacic et al., 1999; Doringer et al., 1991; Wijdicks et al., 1991).

Todos estos estudios por tanto parecen reflejar la idea de que ciertas manipulaciones en el hipotálamo posterior pueden incrementar la conducta de ingesta, debido a que posiblemente afecten a una serie de mecanismos relacionados con el consumo de líquidos.

En este sentido, ya se ha mencionado como tanto las lesiones electrolíticas del área mamilar como las del hipotálamo posterior son procesos inductores de polidipsia, y dada su proximidad anatómica, no sería de extrañar que compartiesen mecanismos anatómicos comunes, por ejemplo la sección de las fibras nerviosas que discurren en posición ventral al hipotálamo (Hennesy et al., 1977).

En caso de ser cierta esta interpretación, cabría la posibilidad de que el exagerado consumo de agua observado en los animales mamilares pudiese venir explicado por alguna alteración en los procesos homeostáticos implicados en la regulación hidromineral de los fluidos internos.

Para intentar aclarar algunos de estos aspectos, Morales y Puerto (1986) realizaron una serie de experimentos que permitiesen comprender en mayor detalle la significación funcional de esta región hipotalámica. En concreto, estos autores comprobaron que las lesiones electrolíticas del área mamilar producían una polidipsia consistente y específica, independiente de alteraciones en la toma de alimento (Morales y Puerto, 1986), confirmando los resultados de Santacana y asociados (Tejedor del Real et al., 1972).

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Asimismo, a fin de examinar el carácter primario o secundario de la polidipsia observada, se pudo comprobar como los animales con lesión en los cuerpos mamilares sometidos a un programa de privación total de líquidos, eran capaces de regular el volumen diario de orina excretado. Ahora bien, cuando los mismos animales polidípsicos eran privados parcialmente (el grupo experimental y control disponían de la misma cantidad de líquidos (30 cc), entonces el grupo mamilar sí mostró un volumen de orina significativamente mayor que los sujetos no lesionados (Morales et al., 1989, 1990). Es más, la administración de pitressin tannato, un análogo de la vasopresina, redujo drásticamente la toma de agua, invirtiendo totalmente el efecto polidípsico (Morales et al., 1990).

Estos últimos resultados parecen indicar inicialmente que la ingesta de agua mamilar puede presentar también alguna alteración en los mecanismos responsables de la conservación de fluidos (poliuria); por lo que la polidipsia observada tendría incluido algún componente secundario, dado la presencia de un cuadro poliúrico. En este sentido, y dado que la neurohipófisis se localiza en posición ventral a los cuerpos mamilares, podría ser que la lesión electrolítica realizada afectase a dicho sistema, con las consiguientes y abundantes pérdidas de agua por parte del riñón (hecho que se produce en el caso de la DI). Sin embargo, y como ya quedó puesto de manifiesto anteriormente, Santacana y asociados (Tejedor del Real, et al 1972) observaron que la privación total de líquidos durante 48 horas no resultaba ser letal para los sujetos mamilares. Estos resultados, descartan inicialmente la inducción de DI como resultado de la lesión. Es más, los estudios anatómicos realizados en su laboratorio no han podido detectar daño alguno en la hipófisis o sistemas adyacentes de los animales mamilares. Asimismo, se ha podido comprobar desde un punto de vista comportamental, que la estimulación eléctrica del SON invirtió de manera significativa la polidipsia mamilar sin afectar a la ingesta de comida; lo que demuestra de nuevo la integridad del sistema neurohipofisario (Morales et al., 1988).

A estos argumentos iniciales habría que añadir también los datos obtenidos en nuestro laboratorio (Morales et al., 1989) en los que se demostró un efecto diferencial entre el grupo mamilar y diabético (lesiones electrolíticas en la eminencia

IMPLICACIÓN DEL HIPOTÁLAMO POSTERIOR EN EL CONTROL HIDROMINERAL

media) en respuesta a una serie de desencadenantes osmóticos (CINa hipertónico); confirmando una vez más que ambas polidipsias son diferentes.

Finalmente, esta interpretación ha sido ratificada de nuevo, al evaluar la ritmicidad en la ingesta de agua, observando que los animales mamilares consumían la mayor parte de la misma durante la fase nocturna, al igual que el grupo control. Por el contrario, los animales diabéticos bebían continuamente a lo largo del día, eliminando los ritmos circadianos (Morales et al., 1989). Esta alteración no está relacionada con los niveles de comida, ni con la lesión del núcleo supraquiasmático, sino con la necesidad de beber que tienen estos sujetos para mantener el equilibrio de los fluidos del organismo.

En resumen, y si analizamos globalmente los resultados obtenidos en esta serie experimental, se podría concluir que la polidipsia mamilar, aun incluyendo un cierto componente secundario, es una entidad diferente a la diabetes insípida. Con ello se pone de manifiesto un claro factor primario propio de esta hiperdipsia hipotalámica, como lo demuestra el hecho de que los animales experimentales con lesión en los cuerpos mamilares continúan bebiendo más que los controles (24 horas) a pesar de sufrir el ligamiento del uréter (Morales et al., 1989).

A las mismas conclusiones han llegado también Blass y Hanson (1970) y Smith y McCann (1962, 1964) tras la manipulación de otras regiones hipotalámicas (área septal y eminencia media respectivamente) y someter a los animales a un parecido procedimiento experimental.

En conclusión, estos datos parecen estar indicando que el área mamilar, al igual que otros centros cerebrales localizados en el hipotálamo pueden formar parte de un circuito neural implicado en la regulación de la ingesta de líquidos.

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

4.- Nutrición: Circuitos hipotalámicos implicados.

Históricamente, el hipotálamo ha sido el centro de atención principal de los estudiosos de la conducta nutritiva (Bernardis et al., 1993, 1996; Elmquist et al., 1999; Flier et al., 1998; Inui, 1999; Sakurai et al., 1998; Stellar 1954).

El papel de esta región cerebral en la regulación de la ingesta y peso corporal fue puesto de manifiesto en los años 40 tras los estudios de Hetherington y Ranson. Estos autores pudieron comprobar que la destrucción del hipotálamo ventromedial (HVM) provocaba una voluminosa ingesta de comida (hiperfagia) en los animales (Elmquist et al., 1999; Flier, et al 1998; Inui, 1999); mientras que la estimulación eléctrica de dicha región hipotalámica en sujetos privados producía un descenso significativo en el consumo de alimento (hipofagia) (Nicolaidis, 1999; Morley, 1980).

Años más tarde, Anand y Brobeck (1951) señalaron que las lesiones de otras regiones hipotalámicas, como el hipotálamo lateral (HL) causaban el efecto contrario, es decir, hipofagia y reducción significativa en el peso corporal (Bernardis et al., 1993; 1996; Elmquist et al., 1999; Flier et al 1998; Sakurai et al., 1998).

Asimismo, la estimulación eléctrica de esta última región (HL), generaba una conducta de ingesta de comida así como el desarrollo de obesidad (siempre y cuando la estimulación fuese duradera) (Berridge y Robinson 1998; Morley 1980).

Todos estos resultados permitieron que se desarrollase un modelo dual de nutrición, según el cual el HVM e HL representarían unos supuestos centros de saciedad y de hambre respectivamente (Elmquist et al., 1999; Flier et al., 1998 Stellar, 1954). En función de esta interpretación, la ingesta de comida se produciría ante la inhibición del centro saciador (HVM), mientras que la activación del mismo núcleo desencadenaría el cese de la conducta consumatoria por la inhibición del centro del hambre (HL) (Havel et al., 2000; Martín et al ., 1991; Xin et al., 2000).

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

En cualquier caso, hay que decir que a pesar del impacto que tuvo la teoría dual en su momento, pronto se comprobó que este modelo era demasiado simple, por lo que la explicación de la conducta nutritiva basada en la acción recíproca de los centros medial-lateral fue cuestionada (Kuenzel, 1994; Martín et al., 1991; Morley et al., 1983; Rolls., 1994).

Muchas de las críticas planteadas estaban relacionadas con el hecho claramente constatado de que las lesiones electrolíticas llevadas a cabo en estas estructuras cerebrales también destruían fibras o tractos neurales conectados con otras regiones. Se podría pensar que los déficits conductuales descritos anteriormente podrían estar relacionados más con el daño ocasionado en estas vías de paso que con el producido en los propios núcleos hipotalámicos (Bad y De 1996; Carlson, 1993; Elmquist et al., 1999; Gold, 1973; Kupfermann 1991; Kuenzel 1994; Martín et al., 1991; Morley, 1980)

En este sentido, se ha demostrado por ejemplo que las lesiones electrolíticas del hipotálamo lateral afectan al haz nigroestriado, un tracto dopaminérgico que se dirige a los ganglios de la base desde la sustancia negra, así como al fascículo prosencefálico medial, un importante conjunto de fibras que permiten establecer conexiones entre estructuras del cerebro anterior y centros más caudales. Es más, en años posteriores se ha podido comprobar que lesiones de una serie de núcleos a lo largo de estas vías desarrollaron también hipofagia y pérdida de peso (Kupfermann, 1991; Le Magnen, 1992; Morley 1980).

Asimismo, y dentro de esta misma línea se ha observado que las lesiones electrolíticas del HVM destruyen tanto la vía serotoninérgica que se origina en los núcleos del rafe, como el haz adrenérgico ventral que conecta la formación reticular con el hipotálamo y área septal (Morley, 1980). La destrucción de esta última vía produjo igualmente hiperfagia y obesidad aunque de características diferentes al trastorno ventromedial (Le Magnen, 1992; Morley, 1980).

NUTRICIÓN: CIRCUITOS HIPOTALÁMICOS IMPLICADOS

Todos estos resultados, un tanto contradictorios, han hecho que surjan propuestas para redefinir con más exactitud los sistemas hipotalámicos implicados en la regulación nutritiva y en el peso corporal.

Para intentar lograr este objetivo, una serie de estudios bioquímicos y de genética molecular, han identificado en los últimos años algunos neuropéptidos hipotalámicos que están facilitando conocimientos más sólidos sobre los mecanismos neurales implicados en el comportamiento de ingesta y equilibrio energético (Elmqvist et al., 1999; Flier et al., 1998; Sakurai et al., 1998, 1999; Tartaglia et al., 1995; Wolf, 1997; Zhang et al., 1994).

Así por ejemplo, alrededor de los 70, Douglas Coleman (1969, 1973) centró su atención en dos razas de ratones mutantes (ob-ob) y (db-db) genéticamente obesos y fenotípicamente iguales (Elmqvist et al., 1999). Realizando estudios parabióticos (cross-circulation) entre ambas cepas de ratones pudo observar de manera sorprendente que los animales ob-ob perdían peso significativamente, mientras que los db-db no mostraban cambios aparentes. Estos mismos resultados se obtuvieron cuando se cruzaron los ratones db-db y normales; ahora eran estos últimos los que dejaban de comer y consiguientemente adelgazaban. Sin embargo, y si por el contrario era el animal normal el que se unía con los ratones ob-ob, entonces era éste el que perdía peso (Campfield et al., 1995; Halaas et al 1995; Hakansson et al., 1998; Inui, 1999; Pelleymounter et al., 1995).

En función de estos datos, Coleman propuso la existencia de un factor endocrino que estaría ausente en los ratones ob-ob y que los db-db producirían en exceso aunque no fuesen accesibles a él (citado en Martín et al., 1991).

Esta idea ha sido corroborada recientemente con el descubrimiento de la hormona leptina (del griego, leptos, delgado), un factor regulador que los ratones ob-ob no pueden producir (Elmqvist et al., 1999; Zhang et al., 1994) y al que son insensibles los animales db-db al carecer de los receptores correspondientes (Chen et

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

al., 1996; Flier et al., 1998; Hakansson et al., 1998; Lee et al., 1996; Tartaglia et al., 1995).

Dado que la leptina es sintetizada y secretada por las células adiposas (el gen *ob* sólo se expresa en ellas) es lógico pensar que podría liberarse en función del índice de grasa y/o masa corporal (Campfield et al., 1995; Hakansson et al., 1998; Halaas et al., 1995; Morimoto et al., 2000; Pelleymounter et al., 1995; Yarnell et al., 1998; Zhang et al., 1994). De hecho, se ha comprobado recientemente que los niveles de leptina son más elevados en los sujetos obesos que en los delgados así como en los periodos posteriores a la ingesta de comida que durante el ayuno prolongado (Elmqvist et al., 1997; 1998; Woods et al., 1998).

En resumen, todos estos trabajos experimentales parecen indicar que los factores sintetizados por los genes *ob* y *db* forman un complejo hormona-receptor que comunicaría al sistema nervioso central del estado en que se encuentran las reservas de energía (Inui, 1999; Spiegelman et al., 1996; Tartaglia et al., 1995; Zhang et al., 1994).

En efecto, en los últimos años han aparecido un buen número de referencias que destacan el papel fundamental que juega la leptina en el control y regulación del equilibrio energético (Campfield et al., 1995; Halaas et al., 1995; Pelleymounter et al., 1995).

En este sentido, debemos señalar una serie de estudios en los que se ha demostrado que la administración periférica (Morimoto et al., 2000; Yarnell et al., 1998) y central (Campfield et al., 1995; Woods et al., 2000; Xin et al., 2000; Yarnell et al., 1998) de este factor endocrino provoca una reducción en la ingesta de comida, peso corporal y depósito de ácidos grasos tanto en ratones delgados como en genéticamente obesos.

Estos resultados tan concluyentes han provocado que la mayoría de los investigadores interesados en esta temática traten de averiguar a través de qué

centros o regiones cerebrales ejerce su acción la hormona (hay que recordar que el receptor de leptina (RL) ha sido clonado recientemente en ratones y seres humanos). (Tartaglia et al., 1995 y Couce et al 1997, respectivamente).

Entre los principales candidatos ha emergido una vez más el hipotálamo, región en la que se ha observado el máximo número de receptores de leptina (Fei et al., 1997; Hakansson et al., 1996; Huang et al., 1996; Zhang et al., 1994); y especialmente en el núcleo arqueado (Elmqvist et al., 1999; Flier et al., 1998; Hakansson et al., 1996; 1998; Morimoto et al., 2000; Sakurai, 1999).

Este centro mediobasal hipotalámico se encuentra situado fuera de la barrera hematoencefálica, lo que le permite detectar la presencia de determinadas sustancias en el sistema circulatorio (Dube et al., 1995; Woods et al., 1998). Además, el hecho de que contenga un gran número de neuronas que expresan el receptor de la leptina, así como una serie de neuropéptidos implicados en el comportamiento de ingesta (Flier et al., 1998; Hakansson et al., 1996; Havel et al., 2000; Sakurai, 1999) ha hecho posible que se le considere una región crítica en la regulación del metabolismo y peso corporal.

Esta afirmación se ha visto confirmada últimamente por algunos trabajos de investigación que han puesto de manifiesto que las lesiones del núcleo arqueado (Choi et al., 1999; Flier et al., 1998; Sakurai, 1999) provocan una marcada hiperfagia y obesidad.

Todos estos estudios han hecho que cada vez cobre más fuerza la idea de que la leptina puede llevar a cabo su respuesta inhibitoria sobre la ingesta de comida y peso corporal, actuando en primer lugar sobre el núcleo arqueado, donde controlaría la liberación de algunos neuropéptidos implicados en el control del equilibrio energético (Ahma et al., 1996; Flier et al., 1998; Havel et al., 2000; Inui, 1999; May et al., 2000; Sakurai, 1999; Schwartz et al., 1996) .

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Entre los posibles mediadores del efecto anoréctico de la leptina, se encontraría el NPY, un péptido que se ha revelado en los últimos 15 años como uno de los principales agentes orexigénicos (Gerald et al., 1996; Inui, 1999; Morley et al., 1987; Sakurai et al., 1998). Su administración central produce una ganancia de peso considerable que culmina en obesidad ante aplicaciones prolongadas (Beck, 2000; Flier et al., 1998; Hall et al., 2001; Inui, 1999).

En este sentido, es importante tener en cuenta que la síntesis del neuropéptido Y es inhibida por la acción de la hormona leptina (Erikson et al., 1996; Flier et al., 1998; Gerald et al., 1996; Inui, 1999; Masaki et al., 2001, 2001; Sakurai et al., 1998; Schwartz et al., 1996; Wolf, 1998). Es más, valores elevados de NPY observados en el núcleo arqueado tanto de ratas privadas de comida como en animales genéticamente obesos (ob-ob/db-db), pudieron ser bloqueados por la administración de la hormona anoréctica (Inui, 1999; Schwartz et al., 1996; Stephens et al., 1995).

Paralelamente, y confirmando estos resultados, se ha descubierto que la obesidad de los ratones ob-ob es menos acusada si éstos muestran también alteraciones en el NPY (Erikson et al 1996; Sakurai et al., 1998).

En resumen, los datos disponibles parecen indicar que la respuesta anoréctica llevada a cabo por la leptina podría venir explicada por la inhibición de ciertos péptidos orexigénicos, entre los cuales, el NPY ocupa un lugar privilegiado.

En cualquier caso, y además del NPY, en los últimos años se han ido conociendo otra serie de sustancias sintetizadas en el núcleo arqueado y cuya liberación parece estar también bajo la influencia de la leptina. Tal es el caso de la hormona estimulante de los melanocitos (alfa-MSH) (producida por neuronas generadoras de la propiomelanocortina (POMC)) que provoca una reducción significativa en la ingesta de comida cuando actúa en el receptor MC4-R (Flier et al., 1998; Inui, 1999; Spiegelman et al., 1996; Wolf, 1998; Woods et al., 2000).

En la actualidad, se cree que la leptina podría regular el efecto anoréctico de la alfa-MSH mediante la activación de neuronas POMC en el núcleo arqueado (Flier et al 1998; Hall et al., 2001; Morimoto et al., 2000; Satoh et al., 1998; Wolf, 1998; Woods et al., 2000). Existen una serie de pruebas que apoyan esta idea, como las que señalan que aproximadamente el 30% de neuronas POMC expresan el receptor de la leptina (Flier et al., 1998; Thornton et al., 1997). Por otra parte, y siguiendo en esta misma línea se pudo comprobar que la administración de la hormona incrementó la actividad de células POMC en ratas privadas y ratones ob-ob (Schwartz et al 1997).

Finalmente, hay que señalar que estos descubrimientos iniciales están en concordancia con los estudios que han observado que las concentraciones incrementadas de leptina producen asimismo un descenso en la secreción de la proteína agouti (AGRP), una hormona que bloquea el receptor MC4-R produciendo obesidad (Masaki et al., 2001, 2001; Wolf, 1998). De hecho, niveles elevados del péptido relacionado con la proteína agouti (AGRP) fueron encontrados en ratas genéticamente obesas (ob-db) (Flier et al., 1998; Invi, 1999 Ollmann et al., 1997; Shutter et al ., 1997).

En resumen pues, los datos examinados hasta ahora parecen confirmar la idea de que la leptina desempeña un papel fundamental en el control y equilibrio energético a través de la modulación de ciertos neuropéptidos en varias regiones del hipotálamo, destacando particularmente el núcleo arqueado.

Recientemente se ha podido completar este sistema alimentario gracias al descubrimiento de un nuevo agente anoréctico hipotalámico, el CART (transcriptor regulado por cocaína y anfetamina) (Dall Vechia et al., 2000; Douglas et al., 1995; Elmquist et al., 1999; Inui, 1999; Kristensen et al., 1998).

En concreto, la administración central de este neuropéptido (CART) produjo un descenso significativo en la ingesta de comida (Dall Vechia et al., 2000; Elias et al., 2001; Kristensen et al., 1998), llegando incluso a inhibir la toma de alimento inducida por el NPY (Elmquist et al., 1999; Invi, 1999).

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Además, es importante destacar que la expresión de CART en el núcleo arqueado disminuyó en los animales privados de comida y ratones ob-ob (Elias et al., 2001; Invi, 1999). Estos valores sin embargo pudieron ser restablecidos después de la infusión de leptina; lo que hace que se vuelva a incidir en la importancia que juega esta hormona en los procesos homeostáticos nutritivos (Elmqvist et al., 1999).

Este gran avance producido en los últimos años ha hecho posible un replanteamiento de la neurobiología de la nutrición, poniendo de manifiesto la relevancia que tienen ciertos neuropéptidos y centros hipotalámicos en la regulación y control de la conducta de ingesta, y entre ellos una serie de regiones mediales del hipotálamo; destacando el núcleo paraventricular que ha atraído tanta atención como la de los centros clásicamente implicados .

En efecto, se ha comprobado que el núcleo paraventricular expresa muchos de los receptores sensibles a los neuropéptidos sintetizados en el núcleo arqueado (Charnay et al., 1999; Dall Vechia et al., 2000; Elmquist et al., 1999; Fleir et al., 1997; Hakansson et al., 1996, 1998; Huang et al., 1996; Mercer et al., 1996; Woods et al 1998). Estos datos han sido interpretados por varios autores en el sentido de que la conexión ARQ-PAV podría formar parte de un sistema clave a la hora de definir el comportamiento nutritivo (Woods et al., 1996; 1998). Esto permite entender el porqué lesiones localizadas en regiones mediobasales-periventriculares del hipotálamo, producen obesidad (Choi et al., 1999; Havel et al., 2000; Swaab et al., 1995).

A estos argumentos iniciales hay que añadir los estudios de Woods et al., (1996), en los cuales se observó un incremento de c-fos en el PAV después de la administración central de leptina en ratones normales y genéticamente obesos respectivamente (Elmqvist et al., 1999).

Estos resultados avalan los trabajos experimentales que habían documentado la presencia de receptores de leptina en el núcleo paraventricular (Fei et al., 1997;

Hakansson et al., 1996, 1998; Huang et al., 1996; Mercer et al., 1996; Yarnell et al., 1998).

En cualquier caso, el papel del núcleo paraventricular en la regulación del balance energético se hace cada vez más evidente gracias también a las aportaciones de la práctica clínica. En este sentido, Smeets et al (1992) han puesto de manifiesto una serie de alteraciones producidas en las neuronas oxitocinérgicas del PAV en personas que padecen el síndrome de Prader-Willi (PWS) (trastorno que en la mayoría de los casos (70%) se encuentra relacionado con una delección del brazo largo del cromosoma 15 (Martín et al., 1998) y que cursa con retraso mental, hipogonadismo, corta estatura, así como con hiperfagia y obesidad.

En concreto, se ha observado una reducción del 28% del volumen del PAV así como de un 41% en el número de las células oxitocinérgicas de los pacientes PWS. Por su parte, las células de vasopresina no mostraron ningún cambio (Swaab et al., 1995). Estos mismos resultados también han sido documentados por otros autores (Swaab et al., 1993).

En este sentido, la importancia atribuida a la oxitocina en el control nutritivo ya había sido puesta de manifiesto en estudios anteriores llevados a cabo en animales (Arletti et al., 1989; Fitzsimons, 1998; Stricker et al., 1996; Swaab et al., 1993; Van Ree et al., 1977; Verbalis et al., 1986; 2000).

Así por ejemplo, se pudo comprobar que la administración central de la hormona neurohipofisaria inhibió el comportamiento de ingesta en ratas (Arletti et al., 1989; Chiodera et al., 2000; Olsson et al 1991; Swaab et al., 1993); efecto que fue invertido por la infusión (i.c.v) de un antagonista oxitocinérgico (vasotocin). “El papel inhibitor en la ingesta de alimento por parte de la oxitocina hace pensar que estamos ante un nuevo agente anoréctico” (Arletti et al., 1989).

Los nuevos datos disponibles parecen confirmar esta idea al demostrar que la toma de alimento produce un aumento significativo en los niveles plasmáticos de

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

oxitocina en animales (Arletti et al., 1989; Van Ree et al., 1977; Verbalis et al., 1986). Estos resultados por tanto coinciden con los estudios que han observado una correlación inversa entre la secreción y liberación de la hormona paraventricular y el apetito por el sodio (Stricker et al., 1987; Stricker et al., 1988; Verbalis et al., 1991, 2000).

De acuerdo con estos estudios se puede concluir que tanto los trabajos desarrollados en el ámbito de la investigación básica como en el campo de la clínica, resaltan el papel que puede jugar la oxitocina, y probablemente el núcleo paraventricular en el control y regulación de la conducta nutritiva, un hecho que volverá a ser retomado en la fase experimental de esta Tesis Doctoral.

Por otra parte, desde las aportaciones de los estudios clásicos de Anand y Brobeck (1951) son muchas las cuestiones que permanecen sin resolver acerca del supuesto centro del hambre: el hipotálamo lateral. Esta perspectiva, ha comenzado a cambiar en los últimos años gracias al descubrimiento en 1998 de dos nuevas sustancias orexigénicas (Briski et al., 2001; Fleir et al., 1998; Mullet et al., 2000; Sakurai et al., 1998). La orexina A y B son dos neuropéptidos que se sintetizan básicamente en el hipotálamo lateral y regiones adyacentes (Fleir et al., 1998; Sakurai et al. 1998). Pronto se observó que cuando se administraban centralmente estimulaban el consumo de alimentos (Mullet et al., 2000; Sakurai et al., 1998). Asimismo, la privación de comida durante 48 horas aumentaba la síntesis de las dos hormonas en el hipotálamo lateral (Sakurai et al., 1998). Estos resultados sugieren que estos neuropéptidos pueden jugar un papel relevante en la regulación central de la ingesta de comida (Briski et al., 2001; Sakurai et al., 1998).

Más aun, recientemente, se ha demostrado que cerca del 50% de las neuronas orexinérgicas expresan el receptor de la leptina, sugiriendo que los niveles de estos dos neuropéptidos podrían estar también regulados por fibras de la hormona lipídica procedentes del núcleo arqueado (Elias et al. 1998; Sakurai, 1999).

NUTRICIÓN: CIRCUITOS HIPOTALÁMICOS IMPLICADOS

A pesar del hecho de que un gran número de piezas de este laberinto son todavía desconocidas, hoy en día el papel del hipotálamo en la regulación del equilibrio energético parece más claro. En la actualidad, el epicentro de las investigaciones se sitúa en una serie de conexiones y vías localizadas tanto a nivel mediobasal-periventricular (arqueado, dorsomedial, ventromedial y paraventricular) como lateral (hipotálamo lateral).

Ahora bien, todos estos estudios han hecho que algunos autores propongan un nuevo y más detallado modelo dual de control de ingesta (Elmqvist et al., 1999), en el cual las lesiones mediales del hipotálamo (arqueado, ventromedial, dorsomedial y paraventricular) producirían hiperfagia, mientras que el daño en el hipotálamo lateral inhibiría la toma de alimento.

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

5.- La Región Tuberomamilar en el contexto de la Regulación Hidromineral y Nutritiva.

De acuerdo con los datos que hemos venido examinando a lo largo de la presente Tesis Doctoral, una de las estructuras implicadas en la regulación de fluidos es el hipotálamo posterior. En el pasado y en relación con esta hipótesis, algunos investigadores centraron sus estudios anatómicos en una región situada en la parte ventral del cerebro, a ambos lados del receso mamilar (Brown et al., 2001; Diepen, 1962; Ericson et al., 1991; Grunthel, 1929 citado en Ericson et al., 1987; Fujimoto et al., 1990; Inagaki et al., 1988, 1990; Köhler et al., 1986; Panula et al., 1984; Schwartz et al., 1991, 1994; Watanabe et al., 1984).

En un estudio comparativo del hipotálamo, Diepen (1962) denominó a esta zona núcleo tuberomamilar y constató que estaba presente en todas las especies animales, alcanzado su máximo desarrollo en el ser humano (ver fig. 0.4).

En la actualidad, muchos autores han implicado a esta estructura hipotalámica en la regulación de una serie de actividades cerebrales como la presión sanguínea (Akins et al., 1990, 1993; Correa et al., 1981), termorregulación (Bronstein et al., 2000; Brown et al., 2001; Fujimoto et al., 1990; Masaki et al., 2001; Roberts et al., 1983), ritmos circadianos (Brown et al., 2001; Doi et al., 1994; Fukagawa et al., 1989; Nakamura et al., 1996), sueño-vigilia (Grossberg et al., 2000; Higuchi et al., 2000; Nakamura et al., 1996; Sergeeva et al., 2001), y aprendizaje-memoria (Brown et al., 2001; Higuchi et al., 2000; Hwan Kim et al., 2001; Leurs et al., 1998; Segura-Torres et al., 1996; Wagner et al., 1993).

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

5.1.- El núcleo Tuberomamilar y su papel en el control hídrico y mineral.

Recientemente, una serie de estudios neurofisiológicos y neuroquímicos han puesto de manifiesto una estrecha relación entre el núcleo tuberomamilar y zonas o regiones cerebrales implicadas en la regulación hidromineral (Akins et al., 1990; Bealer et al., 1999; Brown et al., 2001; Kjaer et al., 1994, 1994, 1995; Knigge et al., 1999; Moses et al., 1992). Así por ejemplo, existen abundantes datos que destacan la participación de este complejo núcleo hipotalámico en el control y liberación de factores neurohipofisarios.

Este resultado fue confirmado al comprobar que todas aquellas situaciones que dan lugar a un incremento en la osmolaridad plasmática (deshidratación, privación de líquidos, etc) provocaban un incremento en la actividad del núcleo tuberomamilar así como una hipersecreción paralela de ADH y OT a través del SON (Akins et al., 1990; Kjaer et al., 1994, 1995). Además, se ha observado que en animales hidratados la estimulación de las células tuberomamilaes conlleva la despolarización de los cuerpos celulares localizados en neuronas magnocelulares del PAV y SON (Akins et al., 1993; Brown et al., 2001; Kjaer et al., 1994).

Estos resultados están en concordancia con los datos obtenidos utilizando métodos farmacológicos. Así, se ha podido comprobar que la histamina (un neurotransmisor sintetizado exclusivamente en el núcleo tuberomamilar; (Airaksinen et al., 1992; Nakamura et al., 1996) o fármacos que la potencian, produjeron expresión de c-fos en neuronas magnocelulares hipotalámicas del SON y PAV (Bealer et al., 1999; Kjaer et al., 1994, 1994, 1995; Knigge et al., 1999). Esta activación, cuando es por administración central, provoca un aumento rápido en los niveles de vasopresina y oxitocina plasmáticos de los animales (Bealer et al., 1999; Bhargava et al., 1973; Brown et al., 2001; Kjaer et al., 1994, 1994, 1995; Knigge et al., 1999; Schwartz et al., 1991; Weiss et al., 1989).

Además, también se observó que dicho tratamiento produjo un descenso notable en el flujo de orina (antidiuresis) así como un incremento en la osmolaridad urinaria (natriuresis) (Tuomisto et al., 1979).

Por otra parte y como cabría esperar, el bloqueo neuroquímico de las células tuberomamilares histaminérgicas provocó una disminución significativa en la secreción de las hormonas neurohipofisarias vasopresinérgicas (Kjaer et al., 1994; 1994) y oxitocinérgicas (Bealer et al., 1999; Kjaer et al., 1995) ante diferentes desencadenantes osmóticos.

Por último, reseñar una serie de pruebas anatómicas y electrofisiológicas que ponen de manifiesto una vez más la implicación del núcleo tuberomamilar en el control neuroendocrino y por lo tanto en la regulación hidromineral (Akins et al., 1993; Armstrong et al., 1985; Haas et al., 1977, 1975; Schwartz et al., 1991; Weiss et al., 1989). Así por ejemplo, estudios autorradiográficos confirmaron la presencia de receptores histaminérgicos localizados densamente tanto en el núcleo supraóptico como en el paraventricular (Inagaki et al., 1988; Kjaer et al., 1994; Kraly et al., 1995; Palacios et al., 1981; Panula et al., 1989; Schwartz et al., 1991; Weiss et al., 1989; Wilcox et al., 1982).

Paralelamente, la estimulación eléctrica de las células del hipotálamo posterior generó potenciales excitadores monosinápticos en células supraópticas del hipotálamo (Hatton et al., 1998; Kjaer et al., 1994; Smith et al., 1996; Weiss et al., 1989; Yang et al., 1989). Es más, en algunos casos, la actividad de las neuronas se incrementó en un 200% en comparación a las células de los animales (ratas) no estimuladas (Hatton et al., 1998). Resultados similares fueron observados en las neuronas neurosecretoras del núcleo paraventricular (Schwartz et al., 1991).

Así pues, los resultados expuestos hasta el momento parecen sugerir la existencia de una interacción fisiológica entre la actividad tuberomamilar y la liberación endocrina de varias regiones hipotalámicas. Ahora bien, a estas propuestas que relacionan la importancia de esta región del hipotálamo posterior con el control

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

del equilibrio hidromineral del organismo, hay que añadir la idea cada vez más consolidada del posible papel que puede jugar esta estructura hipotalámica en la regulación de la conducta nutritiva.

5.2.- Sistema Tuberomamilar y Nutrición.

Cada vez se disponen de más datos que parecen indicar que las manipulaciones farmacológicas que inciden en el complejo tuberomamilar pueden tener repercusiones significativas en la ingesta de alimentos.

Esta idea se ve apoyada por numerosos trabajos que han demostrado que la administración central de histamina o fármacos que mimetizan su acción, disminuyen la toma de alimento, tanto en animales (Brown et al., 2001; Clineschmidt et al., 1973; Fukagawa et al., 1989; Itoh et al., 1999; Lecklin et al., 1998; Masaki et al., 2001, 2001; Morimoto et al., 2000; Wagner et al., 1963) como en seres humanos (Clineschmidt et al., 1973).

En efecto, las denominadas ratas Zucker, genéticamente obesas, mostraron niveles histaminérgicos más bajos (7 veces) que los animales normales; lo cual sugiere que la histamina estaría implicada de algún modo en el mantenimiento homeostático del equilibrio energético (Brown et al., 2001; Sakata et al., 1991). En relación con este punto, algunos investigadores han propuesto que el efecto comportamental de la histamina podría producirse a través de la activación de los centros hipotalámicos implicados en la integración de señales de saciedad (Orthen-Gambill et al., 1992). De hecho, hoy en día se cree que esta regulación podría llevarse a cabo a través del núcleo paraventricular; en el cual las fibras tuberomamilares histaminérgicas se distribuyen densamente (Adam et al., 1966; Doi et al., 1984; Fukagawa et al., 1989; Inagaki et al., 1988; Itoh et al., 1991; Lecklin et al., 1998; Morimoto et al., 2000; Orthen-Gambill et al., 1992; Panula et al., 1989; Watanabe et al., 1984) y los receptores de leptina son abundantes (Doi et al., 1994;

Fei et al., 1997; Hakansson et al., 1996, 1998; Huang et al., 1996; Mercer et al., 1996; Morimoto et al., 2000; Yarnell et al., 1998).

Recientemente, estos datos se han visto confirmados por la observación de que la activación del sistema tuberomamilar histaminérgico podría controlar el efecto anoréctico inducido por la leptina en algunas de estas regiones hipotalámicas (Fukogawa et al., 1977; Itoh et al., 1999; Masaki et al., 2001, 2001; Morimoto et al., 2000). Esta interpretación ha sido validada en los últimos años por el hecho de que el tratamiento con alfa-FMH (un inhibidor de la síntesis de histamina) atenuó la respuesta supresora sobre la ingesta de comida que normalmente produce la hormona anoréctica (Morimoto et al., 2000).

Todos estos resultados parecen reflejar una relación inversa entre la actividad tuberomamilar histaminérgica y la conducta nutritiva, con lo cual la eliminación funcional de dicho núcleo podría dar lugar a un aumento en el consumo de alimento.

En efecto, existen abundantes datos al respecto que señalan que el bloqueo farmacológico de la región tuberomamilar produce un incremento significativo en el comportamiento de ingesta y peso corporal sin ninguna alteración en la toma de agua y flujo de orina (Doi et al., 1994; Fukagawa et al., 1989; Orthen-Gambill et al., 1992; Tuomisto et al., 1994). Más aun, los efectos más potentes se obtuvieron cuando los inhibidores histaminérgicos se aplicaron en el hipotálamo ventromedial y núcleo paraventricular (Fukogawa et al., 1989; Masaki et al., 2001, 2001; Morimoto et al., 2000; Sakata et al., 1988, 1991), confirmando una vez más que los efectos supresores del apetito por parte de las fibras tuberomamilares histaminérgicas se lleva a cabo probablemente en los receptores de estas estructuras hipotalámicas (Sakata et al., 1991).

Todas estas observaciones parecen indicar pues, que nos encontramos ante un nuevo centro hipotalámico que reúne todas las características para poder desempeñar una función relevante tanto en la regulación hidromineral como nutritiva.

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

5.3.- Anatomía del Complejo Tuberosomamilar.

Esta región cerebral del hipotálamo posterior contiene aproximadamente 2500 neuronas (en roedores) ocupando una posición ventral y lateral a los cuerpos mamilares (Köhler et al., 1986).

Métodos inmunohistoquímicos y de trazado retrógrado han señalado que el sistema tuberomamilar está compuesto por varios subnúcleos (Brown et al., 2001; Ericson et al., 1987, Inagaki et al., 1990, Schwartz et al., 1991, Watanabe et al., 1984). (fig. 0.4):

- TMV caudal (E1). Situado entre el cuerpo mamilar lateral y medial, y el núcleo supramamilar.
- TMV rostral (E2). Ocupa una posición rostral al cuerpo mamilar lateral.
- TMM ventral (E3). Localizado en la superficie ventral del cerebro, rostral y dorsal al cuerpo mamilar y lateral al núcleo infundibular y receso mamilar.
- TMM dorsal (E4). Se sitúa dorsalmente al grupo TMM ventral (E3); concretamente entre el fórnix y fascículo mamilotalámico. Rostralmente cercano a la parte dorsal del III ventrículo, y lateral al receso mamilar, se encuentra por encima del núcleo dorsomedial hipotalámico y núcleo infundibular (Tillet et al., 1998).
- TM difuso (E5). Conjunto de células dispersas (alrededor de 100) entre varios núcleos hipotalámicos a lo largo del III ventrículo: área hipotalámica lateral, área hipotalámica posterior, área perifornical, núcleo supramamilar y dorsomedial hipotalámico (Ericson et al., 1987; Köhler et al., 1985; Schwartz et al., 1991).

En cuanto a las características neuroquímicas de las células tuberomamilares se han identificado en ellos un buen número de péptidos, así como otros neuromoduladores y neurotransmisores, que son liberados por sus terminales: gaba, glutamato, histamina, metencefalina, sustancia P, adenosina, galanina, péptido natriurético cerebral, péptido natriurético tipo C (Airaksinen et al., 1992; Brown et al., 2001; Köhler et al., 1986; Nakamura et al., 1996; Onodera et al., 1994; Passani et al., 2000; Saper et al., 1989; Schwartz et al., 1991; Staines et al., 1987; Wada et al., 1991).

La presencia de tal variedad de sustancias en estas células podría estar relacionado con la gran diversidad de conexiones y funciones que se le han atribuido a la región tuberomamilar. Es más, el hecho de que varios de estos neuropéptidos se localicen en las mismas terminales indica que podrían actuar como cotransmisores modulando sus funciones (Airaksinen et al., 1992).

Análisis Morfológico del Sistema Tuberomamilar.

La aplicación de los diferentes métodos histoquímicos (Ericson et al., 1987; Köhler et al., 1985) ha permitido analizar las características morfológicas de las neuronas del TM. En efecto, estos análisis han revelado diferencias celulares entre cada uno de los subgrupos anteriormente citados.

Así, se ha podido comprobar que el grupo TMVentral (E1 y E2) están constituidos básicamente (90%) por neuronas magnocelulares (1500) compactas (Ericson et al., 1987; Watanabe et al., 1984); mientras que el TMMedial (E3 y E4) poseen un alto porcentaje de células de tamaño medio y pobremente organizadas (600) por comparación al grupo anterior (Ericson et al., 1987; Schwartz et al., 1991).

Esta subdivisión de células tuberomamilares en un grupo magnocelular en la parte ventral del cerebro (TMV) y un grupo mixto, magnocelular y parvocelular a lo largo del receso mamilar y III ventrículo (TMM), es semejante a la organización de

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

los núcleos supraóptico y paraventricular (SON y PAV) hipotalámicos. Así, mientras el supraóptico posee principalmente neuronas magnocelulares, el paraventricular está subdividido en grupos parvo y magnocelulares (Ericson et al., 1987).

Por otro lado, hay que destacar que el sistema dendrítico del complejo TM es simple, con pocas arborizaciones. Algunas de ellas, se orientan horizontalmente en dirección mediolateral así como rostro-caudal. En concreto, en los núcleos E1 y E2 se han observado una serie de dendritas alargadas que se extienden por la zona endependimal de la superficie ventral del cerebro. Algo similar se ha observado en el grupo TMM dorsal en los que las dendritas parecen penetrar la capa endependimal del receso mamilar (Ericson et al., 1987; Reiner et al., 1987).

Estas características morfológicas del TM sugieren funcionalmente que estas células se encuentran en una posición privilegiada para detectar la presencia de moléculas específicas, así como responder a sustancias neuroactivas que se hallan en el líquido cefalorraquídeo (Reiner et al., 1987; Watanabe et al., 1984).

Conexiones Tuberomamilares Aferentes.

Se han demostrado conexiones aferentes a las neuronas tuberomamilares provenientes del córtex prefrontal, colículo inferior, amígdala, núcleo preóptico medial, septum lateral e hipotálamo (Ericson, 1991; Inagaki et al., 1990; Saper et al., 1976; Wouterlood et al., 1988). Asimismo, también se han observado aferencias adrenérgicas, noradrenérgicas y serotoninérgicas originadas en los núcleos C1-C3, A1-A2, B5-B9, dirigidas hacia los diferentes núcleos tuberomamilares (Ericson, 1987).

Conexiones Tuberomamilares Eferentes.

Las fibras eferentes del sistema tuberomamilar proyectan a casi todas las regiones del cerebro. Así, se ha podido observar que la densidad de estas conexiones es alta en el hipotálamo (principalmente en los cuerpos mamilares e hipotálamo ventral, área preóptica medial, área preóptica lateral, núcleo supraquiasmático, supraóptico, paraventricular, ventromedial, dorsomedial e hipotálamo lateral) y septum medial (Adam et al., 1996; Inagaki et al., 1988; Pollard et al., 1976; Wilcox et al., 1982); moderadas en el córtex cerebral, ganglios basales, hipocampo, HVM, área preóptica y complejo amigdalino (Watanabe et al., 1984); y bajas en el OVLT, sustancia gris central, núcleo parabraquial dorsal, núcleo del tracto solitario, bulbo olfatorio, putamen caudado, cerebelo e hipófisis posterior (Ericson et al., 1987; Inagaki et al., 1988; Köhler et al., 1985; Onodera et al., 1994; Wada et al., 1991; Watanabe et al., 1984).

En cualquier caso, y a pesar de la amplia distribución que parecen mostrar las fibras tuberomamilares, éstas se organizan siguiendo sistemas de conexiones completamente diferenciados. Así, por ejemplo, se ha demostrado la existencia de una vía ascendente ventral que se formaría en el haz posterior ventrolateral, con fibras que penetran en el fascículo prosencefálico medial (MFB) y que proyectan hacia la neurohipófisis, estructuras talámicas y complejo amigdalino, así como a través de fibras colaterales que decusan para terminar en el córtex cerebral e hipocampo (Brown et al., 2001; Panula et al., 1989; Schwartz et al., 1994; Watanabe et al., 1984).

Una segunda vía asciende dorsal y lateralmente a lo largo del III ventrículo, con fibras que terminan en el tálamo y estructuras rostrales del cerebro anterior (Brown et al., 2001; Panula et al., 1989; Schwartz et al., 1991, 1994; Watanabe et al., 1984).

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Finalmente, los núcleos tuberomamilares también poseen otras conexiones descendentes que se originan ventrolateralmente a los cuerpos mamilares y que proyectan fibras al núcleo del rafe dorsal, alrededor de la sustancia gris central, para continuar caudalmente hacia estructuras del tronco cerebral (NTS) y médula espinal (Brown et al., 2001; Ericson et al., 1987; Panula et al., 1989; Schwartz et al., 1994).

Estos estudios neuroanatómicos, por el momento, no han observado diferencias significativas entre las conexiones que mantienen los cinco subgrupos tuberomamilares con las distintas regiones cerebrales; propiciando que algunos autores piensen que esta región hipotalámica podría entenderse como un grupo único y homogéneo (Brown et al., 2001; Onodera et al., 1994; Wada et al., 1991).

Sin embargo, esta interpretación podría ser cuestionada si nos basamos en los estudios morfológicos comentados anteriormente (Ericson et al., 1987; Schwartz et al., 1991; Watanabe et al., 1984).

Por lo tanto y en función de los datos anatómicos mencionados, cabe la posibilidad de establecer diferencias entre los diversos núcleos tuberomamilares (TMV/TMM) tanto en relación con sus conexiones anatómicas como a nivel funcional.

Hasta ahora, la mayoría de los estudios se han centrado en el grupo tuberomamilar ventral (E1 y E2) (Akins et al., 1993; Ericson et al., 1991; Hatton et al., 1998; Kjaer et al., 1995; Smith et al., 1996; Wagner et al., 1993; Weiss et al., 1989; Yang et al., 1989), que mantiene conexiones monosinápticas con el SON (Armstrong y Sladek, 1985; Hatton et al., 1998; Weiss et al., 1989). Los resultados obtenidos están en consonancia con la morfología anteriormente descrita para estos grupos tuberomamilares, es decir, larga extensión de los campos dendríticos y gran calibre de sus terminales axónicas que podrían explicar la alta velocidad de transmisión observadas en los trabajos electrofisiológicos (Ericson et al., 1987; Hatton et al., 1998; Weiss et al., 1989).

Con respecto al grupo TMM (E3 y E4), han sido escasas las investigaciones llevadas a cabo. No obstante se ha propuesto una mayor implicación de estos núcleos en condiciones que suponen un gran desequilibrio hidromineral, (deshidratación celular y expansión de volumen respectivamente) (Kjaer et al., 1994; Leng et al., 1999; Luckman et al., 1997).

En general, los resultados disponibles hasta el momento no nos permiten establecer si las diferencias anatómicas y estructurales propuestas para estos núcleos hipotalámicos pueden significar una diversidad funcional con respecto al estudio de los diferentes procesos fisiológicos. La contestación a éstas preguntas será uno de los objetivos del presente trabajo experimental.

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

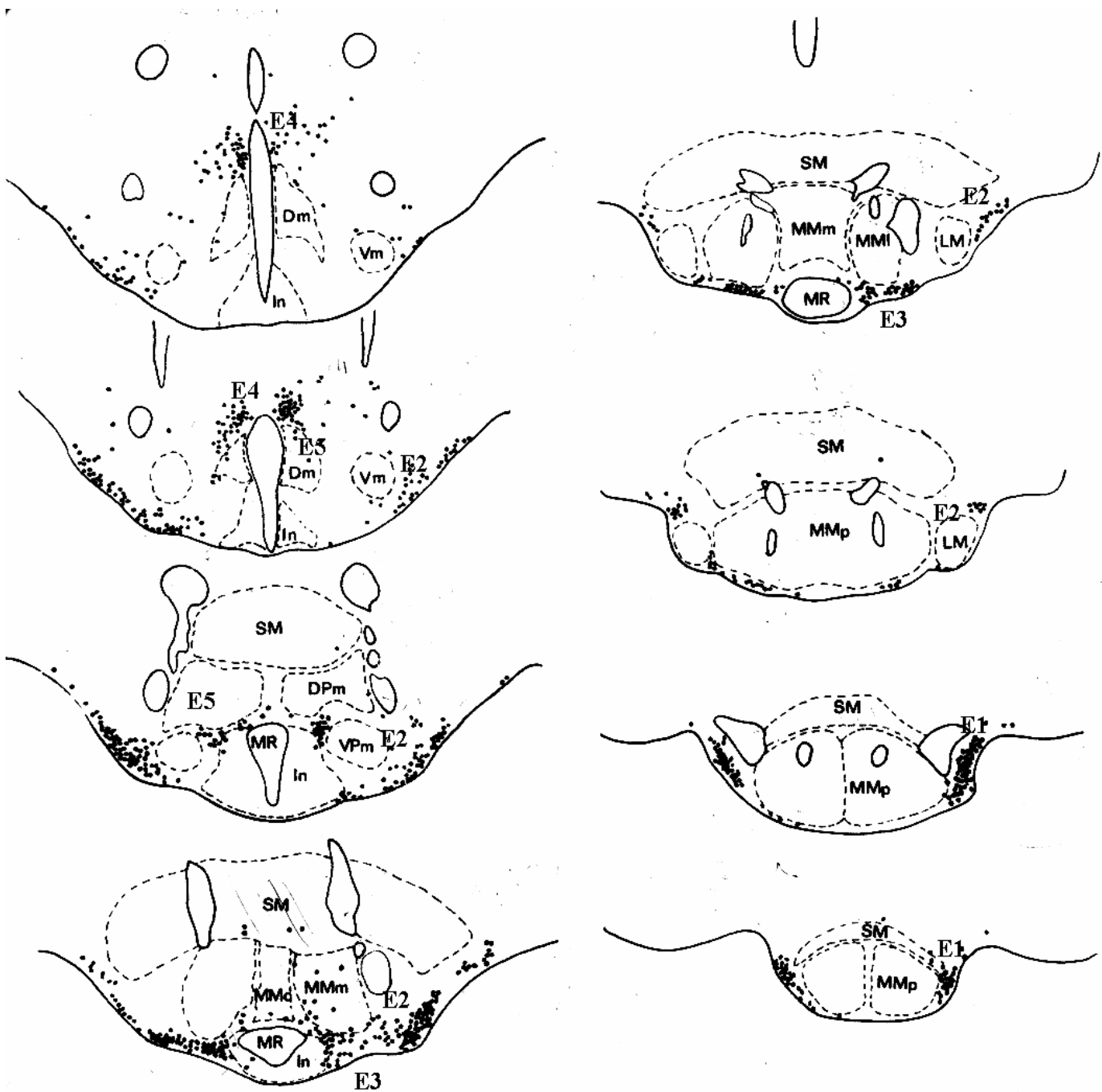


Fig. 0.4. Diagramas esquemáticos de cortes frontales del cerebro a nivel del hipotálamo posterior, en los cuales se observan las localizaciones de los diferentes subgrupos tuberomamilaes. Abreviaturas: Dm (núcleo hipotálamo dorsomedial), Dpm (núcleo premamilar dorsal), In (núcleo infundibular), LM (cuerpo mamilar lateral), MMc (cuerpo mamilar medial (subdivisión central), MMI (cuerpo mamilar medial (subdivisión lateral), MMm (cuerpo mamilar) (subdivisión medial), MMp (cuerpo mamilar medial posterior), MR (receso mamilar), Sm (núcleo supramamilar), Vm (núcleo hipotálamo ventromedial), VPm (núcleo premamilar ventral).

6.- Hipótesis de Trabajo.

La presente serie experimental intentará afrontar algunas de las cuestiones que se han venido describiendo a lo largo de la Introducción a fin de proporcionar un conocimiento más detallado del sistema tuberomamilar.

En este sentido, y en función de la información disponible habría que plantearse qué papel desempeña esta región del hipotálamo posterior en la neurobiología de la regulación hidromineral y nutritiva.

Conviene recordar al respecto, que la localización del complejo tuberomamilar (Bronstein et al., 2000; Brown et al., 2001; Diepen, 1962; Ericson et al., 1991; Fujimoto et al., 1990; Gruntel, 1929 citado en Ericson et al., 1987; Inagaki et al., 1988, 1990; Köhler et al., 1986; Panula et al., 1984; Schwartz, 1990; Schwartz et al., 1991, 1994; Watanabe et al., 1984) parece coincidir anatómicamente con estructuras hipotalámicas implicadas tanto en los casos de polidipsia humana (Bacic et al., 1999; Bailey et al., citado en Fitzsimons, 1979; Fitzsimons, 1979; Isidro et al., 1998; Kourilsky et al., citado en Fitzsimons, 1979; Mellinger y Zafar, 1983; Moses, 1993; Robertson, 1987, 1995; Robinson et al., 1991; Vonderer et al., 1999) como animal (Bailey et al., citado por Fitzsimons, 1979; Coscina et al., 1972; Grossman et al., 1963; Harvey et al., 1965; Hennesy et al., 1977; Lorens et al., 1971; Morales y Puerto, 1986; Sclafani et al., 1969; Smith y McCann, 1962, 1964; Tejedor del Real et al., 1972), constituyendo quizá el sustrato anatómico que pudo haber sido afectado en muchos casos de lesiones cerebrales, con interrupción de algunas de sus conexiones o de sus núcleos constituyentes.

De ser cierta esta interpretación, cabe la posibilidad, por tanto, de que los núcleos tuberomamilares puedan formar parte de alguno de los circuitos neuroanatómicos implicados en la regulación osmótica de fluidos o en el control del volumen del líquido extracelular, que han sido localizados de manera general y poco precisa en el hipotálamo posterior.

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Así por ejemplo, diferentes estudios han demostrado que esta región hipotalámica mantiene múltiples conexiones bidireccionales con centros cerebrales cuyo funcionamiento se encuentra relacionada con una serie de variaciones en la osmolaridad del plasma (Akins et al., 1990, 1993; Armstrong et al., 1985; Denton et al., 1999; Ericson, 1989; Haas et al., 1975, 1977; Hatton et al., 1998; Inagaki et al., 1988; Kjaer et al., 1995; Knigge et al., 1999; Kraly et al., 1995; Köhler et al., 1985; Panula, 1981, 1989; Pollard et al., 1992; Saper et al., 1976; Smith et al., 1993, 1996; Weiss et al., 1981, 1989; Wilcox et al., 1982; Yang et al., 1989). Dentro de esta región y por sus características morfológicas, los núcleos tuberomamilares se encuentran en buena posición para actuar como sensores o receptores de las sustancias neuroactivas presentes en el líquido cefalorraquídeo (Ericson et al., 1987; Reiner et al., 1987; Watanabe et al., 1984).

Por otra parte, y dentro del mismo contexto, estudios de trazado anatómico retrógrado han revelado que numerosas fibras nerviosas procedentes de estructuras relevantes en el control y regulación de los desequilibrios del fluido vascular, establecen contactos sinápticos con los diferentes núcleos tuberomamilares (Adam et al., 1996; Blass y Hanson, 1970; Buggy et al., 1974; Ciriello et al., 1983; Johnson et al., 1997; Kucharczyc et al., 1977; Panneton y Loewy, 1980; Pollard et al., 1976; Wilcox et al., 1982; Wouterlood, 1988). A destacar, el área preóptica medial, septum, hipotálamo lateral y órgano subfornical; regiones todas ellas importantes en el mantenimiento del equilibrio volémico.

En conjunto, todos estos datos parecen sugerir que una serie de traumatismos o alteraciones en el sistema tuberomamilar pueden afectar a los procesos regulatorios que controlan la ingesta de líquidos. Si ésto realmente es así, entonces cabría esperar que cualquier manipulación experimental que suponga algún tipo de modificación en el equilibrio osmótico o volémico de los compartimentos celulares, produjese una respuesta diferencial en el consumo de agua entre los animales lesionados (tuberomamilares) y sus respectivos controles.

La serie experimental que se presenta a continuación tiene como objetivo prioritario el tratar de caracterizar y comprender la posible polidipsia tuberomamilar. Para ello, introduciremos un grupo de animales con lesiones electrolíticas en la eminencia media, con el fin de intentar reproducir un modelo de diabetes insípida (Rolls, 1970). Lo que se persigue básicamente con el estudio del grupo diabético es conocer si la hiperdipsia que pudiésemos observar tras la lesión electrolítica de los núcleos tuberomamilares comparte algún aspecto en común con aquella, o si por el contrario muestra características diferentes.

Todos los datos que permitan analizar con mayor exactitud las posibles causas que subyacen a la DI nos ayudarán indudablemente a entender mejor los trastornos polidípsicos observados en muchas situaciones, entre los que se podrían encontrar los relacionados con la región tuberomamilar.

En este sentido, y como ya quedó reflejado en la Introducción teórica, la hiperdipsia puesta de manifiesto en la diabetes insípida no puede ser definida exclusivamente como un trastorno secundario a una pérdida de líquidos (poliuria). En la actualidad, una de las evidencias más sólidas que se están contemplando, indica que la conducta de ingesta de agua durante el desarrollo de la enfermedad, podría verse alterada como consecuencia de una serie de anomalías en la regulación hidromineral de fluidos.

Relacionado con esta cuestión, numerosos autores han señalado que los sujetos que padecen este síndrome polidípsico, presentan niveles elevados de osmolaridad plasmática (hipernatremia), posiblemente como resultado de una retención inapropiada de sodio corporal (Bakker et al., 1976; Balment et al., 1986; Friedman et al., 1958, 1962; Kavelaars et al., 2001; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Luckman et al., 1977; Pivonello et al., 2001; Price et al., 2000; Rose, 1984; Swann et al., 1939; Titlebaum et al., 1960; Verbalis et al., 1985; White et al., 1939; Wolf, 1950).

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Entre las causas que se barajan para explicar estas disfunciones regulatorias, diferentes trabajos experimentales han propuesto la existencia de una serie de anomalías en el sistema hipotalámico-neurohipofisario (Baylis et al., 1998; Cheng et al., 1986; Fitzsimons, 1998; Fujisawa et al., 1987; Kadekaro et al., 1992; Kurokawa et al., 1998; Maghnie et al., 1998, 2000; Mirsky, 1954; Moses et al., 1992; Murphy et al., 1998; Pieron et al., 1995; Randall et al., 1960; Renaud et al., 1991; Verghese et al., 1993). Es un hecho conocido, que dichas alteraciones producen una reducción significativa en la secreción de varios factores endocrinos en la circulación, (entre los que destaca de un modo relevante para esta Tesis Doctoral, la oxitocina), que juegan un papel fundamental en el control y regulación hidromineral del organismo (Baisset et al., 1976; Bourque et al., 1994; Brimble et al., 1977, 1991; Cunningham et al., 1991; Dogterom, 1977; Guyton, 1976; Han et al., 1996; Huang et al., 1999; Hussy et al., 2000; Jones et al., 1969; Lightman, 1990; McKinley et al., 1994; Morris et al., 1984; Rinaman et al., 1995; Rowland, 1998; Samson, 1992; Segar et al., 1988; Share et al., 2000; Shojo et al., 2000; Sladek et al., 1994; Soares et al., 1999; Van Tol et al., 1987; Verbalis et al., 2000; Vincent et al., 1970; Xuz et al., 1996).

Esta interpretación, se encuentra apoyada por una serie de investigaciones que han comprobado que la administración de antagonistas oxitocinérgicos, inhibe la excreción de sodio renal (Huang et al., 1995, 1996; Walter et al., 2000), mientras que la inyección de oxitocina restauró la función natriurética (Balment et al., 1980; Brunner et al., 1956; Conrad et al., 1986; Cort et al., 1966; Dickers, 1957; Peters et al., 1970; Sawyer, 1952; Sjoquist et al., 1993; Verbalis et al., 1991), a la vez que redujo la ingesta de agua en valores cercanos a la de los animales intactos (Hollinshead, 1964; Laszlo et al., 1966; Lichardus et al., 1973).

De acuerdo con los datos expuestos, podría ser relevante analizar en el presente trabajo de investigación, las consecuencias sobre la polidipsia diabética de varios tipos de manipulaciones experimentales, y especialmente aquellas que pueden tener una clara repercusión sobre los niveles de CIna en el organismo.

Asimismo y continuando con el mismo planteamiento anterior, sería igualmente importante, el poder estudiar el comportamiento de ingesta de los animales tuberomamilares ante estas mismas condiciones.

Creemos que existen innumerables razones para pensar, que en el caso de producirse un consumo elevado de agua después de las lesiones electrolíticas de los núcleos tuberomamilares, éste puede obedecer a algún tipo de desequilibrio en el control osmótico de los fluidos corporales.

Prueba de ello, son los innumerables casos de polidipsia descritos en seres humanos provocados por una serie de traumatismos o lesiones en estructuras basales del cerebro (Bacic et al., 1999; Bailey et al., citado en Fitzsimons, 1979; Blackburn et al., 1995; Briess et al., 1998; Bronstein et al., 2000; Fitzsimons, 1979; Isidro et al., 1998; Moses et al., 1992; Robinson et al., 1991; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1987; Vonderer et al., 1999) donde como hemos visto a través de estudios anatómicos se encuentran los núcleos tuberomamilares (Brown et al., 2001; Diepen, 1962; Ericson et al., 1987, 1991; Fujimoto et al., 1990; Gruntel, 1929; citado en Ericson et al., 1987; Inagaki et al., 1988, 1990; Köhler et al., 1986; Panula et al., 1984; Schwartz et al., 1991, 1994; Watanabe et al., 1984), que cursan con alteraciones en osmolaridad plasmática y niveles de sodio corporal (Bacic et al., 1999; Baylis et al., 1998; Bronstein et al., 2000; Brown, 1998; Fitzsimons, 1979; Iwasaki et al., 1991; Man et al., 1992; Robertson, 1987, 1995; Robinson et al., 1991; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1992; Van der Post et al., 1997; Vonderer et al., 1999).

A éstos argumentos iniciales hay que añadir el hecho que recientemente diferentes estudios neurofisiológicos, neuroquímicos y anatómicos, han confirmado una interacción funcional entre esta estructura del hipotálamo posterior y regiones cerebrales implicadas en el control hídrico y mineral de fluidos (Bhargava et al., 1973; Coscina et al., 1972; Dogterom et al., 1976; Grossman et al., 1963; Harvey et al., 1965; Kjaer et al., 1994; Köhler et al., 1985; McKinley et al., 1992; Oliet et al., 1993, 1975; Onodera et al., 1994; Tuomisto et al., 1984; Vherghese et al., 1973;

INTRODUCCIÓN TEÓRICA

Wada et al., 1991). Es más, el bloqueo neuroquímico de las células tuberomamilares produjo un descenso significativo en la secreción de las hormonas neurohipofisarias vasopresinérgicas (Kjaer et al., 1994; Knigge et al., 1994) y oxitocinérgicas (Bealer et al., 1999; Kjaer et al., 1995), que como hemos visto anteriormente llevan a cabo respuestas correctoras ante diferentes desequilibrios osmóticos (Balment et al., 1980, 1986; Cheng et al., 1986; Chiriguer et al., 2001; Conrad et al., 1986; Edwards et al., 1984; Garland et al., 1983; Landgraff et al., 1983; Man et al., 1984; Murphy et al., 1998; Randolph et al., 1998; Robertson, 1983; Voisin et al., 1999; Wakerley, 1987; Weitzman et al., 1978).

En resumen, estos resultados parecen indicar, que una serie de anomalías en los valores osmolares plasmáticos, donde el sodio ocupa un papel fundamental, pueden tener cierta relevancia en la ingesta de agua de los animales con lesiones electrolíticas en los núcleos tuberomamilares. Este y otros aspectos serán examinados en mayor detalle en posteriores apartados del presente trabajo de investigación.

Finalmente, no podemos terminar este epígrafe introductorio, sin mencionar la posible implicación de la región tuberomamilar en el comportamiento nutritivo.

Manipulaciones farmacológicas que dan lugar a la activación de este centro hipotalámico, provocan una reducción significativa en la ingesta de comida y peso corporal, tanto en animales (Brown et al., 2001; Clineschmidt et al., 1973; Fokugawa et al., 1989; Itoh et al., 1999; Lecklin et al., 1998; Masaki et al., 2001, 2001; Morimoto et al., 2000; Sakata et al., 1991; Wagner et al., 1963) como en seres humanos (Clineschmidt et al., 1973).

En la actualidad, se piensa que esta respuesta anoréctica por parte del sistema tuberomamilar puede ser llevada a cabo a través de la acción de sus terminales nerviosas sobre estructuras cerebrales relevantes en la integración de señales nutritivas (Arletti et al., 1989; Doi et al., 1994; Fei et al., 1997; Flier et al., 1998; Fukogawa et al., 1989; Hakansson et al., 1996, 1998; Invi, 1999; Lecklin et al., 1998; Leibowitz, 1978; Mercer et al., 1996; Morimoto et al., 2000; Orthen-Gambill et al.,

HIPÓTESIS DE TRABAJO

1992; Palacios et al., 1981; Sakata et al., 1990, 1991; Seckl et al., 1988; Stricker et al., 1987; Verbalis et al., 1986; Woods et al., 1998; Yarnell et al., 1998).

Todos estos datos, parecen apoyar la hipótesis de que el complejo tuberomamilar puede ser un centro relevante en el control del equilibrio energético.

El trabajo experimental que se presenta a continuación, pretende profundizar en estos planteamientos teóricos con el fin de valorar la implicación de éstos núcleos, examinados como estructuras individuales, en diversos procesos regulatorios hidrominerales y nutritivos.

ESTUDIOS EXPERIMENTALES

CAPITULO I

**EFFECTOS DE LAS LESIONES ELECTROLÍTICAS EN LA REGIÓN
TUBEROMAMILAR DEL HIPOTÁLAMO SOBRE LOS PROCESOS
REGULATORIOS HÍDRICOS Y NUTRITIVOS.**

EXPERIMENTO 1

Implicación de la región Tuberomamilar en la regulación hídrica y nutritiva.

En las últimas décadas se ha venido destacando la importancia que pueden tener ciertas estructuras del hipotálamo posterior en el control y regulación de los fluidos corporales.

En este sentido, algunas observaciones procedentes del ámbito clínico indican que una serie de lesiones o daños cerebrales en centros hipotalámicos mal definidos (la mayoría de ellos en la base del cráneo) cursan con una marcada polidipsia y respuesta poliúrica (Bacic et al., 1999; Bailey et al., citado en Fitzsimons, 1979; Blackburn et al., 1995; Briess et al., 1998; Bronstein et al., 2000; Fitzsimons, 1979; Isidro et al., 1998; Kourilsky et al., citado en Fitzsimons, 1979; Mellinger y Zafar, 1983; Moses et al., 1992; Robertson, 1987, 1991, 1995; Robinson et al., 1991; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1987; Vonderer et al., 1999).

Paralelamente, y dentro de este mismo contexto, diferentes trabajos neuroanatómicos han demostrado que regiones subcorticales, cuyas alteraciones producen un incremento en la ingesta de líquidos (Blass y Hanson, 1970; Coscina et al., 1972; Grossman et al., 1963; Harvey et al., 1965; Hennesy et al., 1977; Lorens et al., 1971; Morales et al., 1986; Osumi et al., 1975; Sclafani et al., 1969; Smith y McCann, 1962, 1964; Tejedor del Real et al., 1972) están conectadas sinápticamente con núcleos del hipotálamo posterior (Adam et al., 1996; Brown et al., 2001; Ericson, 1991; Ericson et al., 1987; Inagaki et al., 1988, 1990, 1991; Morales et al., 1986; Onodera et al., 1994; Panula et al., 1989; Pollard et al., 1976; Saper et al., 1976, 1979; Schwartz et al., 1994; Wada et al., 1991; Wilcox et al., 1982; Wouterlood et al., 1988).

Todos estos estudios parecen reflejar la idea de que diversas intervenciones en las estructuras caudales del hipotálamo, pueden incrementar la conducta de

CAPÍTULO I

ingesta a través de mecanismos que, aunque mal definidos pueden estar relacionados con los sistemas de regulación hídrica.

En relación con este punto, y dado que en la mayoría de los casos comentados anteriormente algunos de los núcleos del sistema tuberomamilar así como sus conexiones anatómicas podrían haber quedado afectadas, cabe la posibilidad de que el elevado consumo de agua descrito, pueda obedecer a alguna alteración desapercibida de ciertas regiones concretas del hipotálamo posterior.

De ser cierta esta interpretación, cabría esperar que las lesiones de los diferentes núcleos tuberomamilares puedan provocar algún tipo de desequilibrio en los procesos homeostáticos que controlan la ingesta de líquidos.

Por otra parte, y como ya se ha venido señalando a lo largo de los epígrafes introductorios, cada vez se disponen de más datos anatómicos y fisiológicos que indican que el complejo tuberomamilar también puede jugar un papel importante en la regulación nutritiva.

Prueba de ello, son los trabajos experimentales que han puesto de manifiesto cómo la administración central de histamina, neurotransmisor localizado principalmente en la región tuberomamilar, o fármacos que mimetizan su acción, disminuyen la ingesta de comida (Brown et al., 2001; Clineschmidt et al., 1973; Fukogawa et al., 1989; Itoh et al., 1999; Lecklin et al., 1998; Masaki et al., 2001, 2001; Morimoto et al., 2000; Sakata et al., 1991; Wagner et al., 1963).

Algunos investigadores han propuesto que el efecto supresor del apetito llevado a cabo por las fibras tuberomamilares podría explicarse por la activación de estructuras hipotalámicas relevantes en el control del equilibrio energético (Adam et al., 1996; Arletti et al., 1989; Fei et al., 1997; Flier et al., 1998; Fujimoto et al., 1989; Fukogawa et al., 1989; Inui, 1999; Lecklin et al., 1998; Morley, 1987; Orthen-Gambill et al., 1992; Sakata et al., 1990, 1991; Schwartz, 1977; Schwartz et al., 1991; Stricker et al., 1987; Verbalis et al., 1986), como revela la presencia de

EXPERIMENTO 1

receptores histaminérgicos en estas regiones del hipotálamo (Doi et al., 1994; Hakansson et al., 1996, 1998; Huang et al., 1996; Inagaki et al., 1998; Masaki et al., 2001, 2001; Mercer et al., 1996; Morimoto et al., 2000; Panula et al., 1989; Sakata et al., 1988, 1990, 1991; Watanabe et al., 1984; Yarnell et al., 1998).

En función de los datos expuestos hasta ahora, se podría hipotetizar que algunas de las intervenciones experimentales que afecten a los núcleos tuberomamilaes pueden tener repercusión en el consumo posterior de alimentos.

Así pues, y a modo de resumen, todo parece indicar que nos encontramos ante un nuevo sistema hipotalámico que reúne alguna de las características necesarias para poder desempeñar una función relevante tanto en la regulación hídrica como nutritiva.

En caso de confirmarse esta hipótesis, podría resultar de interés el comprobar si existen diferencias funcionales entre los diferentes núcleos tuberomamilaes dadas las divergencias morfológicas y estructurales observadas entre ellos (Ericson et al., 1987; Köhler et al., 1985 ; Schwartz et al., 1991; Watanabe et al., 1984).

Con la finalidad de examinar todas estas posibilidades se ha realizado el siguiente experimento.

CAPÍTULO I

Método.

Sujetos.

Los animales empleados fueron ratas macho de la raza Wistar, suministrados por el Servicio de animalario de la Universidad de Granada, y cuyos pesos al principio del estudio oscilaban entre 250-320 gramos. Se formaron 4 grupos experimentales, lesionando individualmente cada uno de los componentes del sistema tuberomamilar (E1, E2, E3, E4). A su vez, y con el objetivo de tratar de caracterizar los futuros resultados (comparación con los grupos tuberomamilares), se introdujeron dos grupos de referencia con lesiones anódica (EM+) y catódica (EM-) en la eminencia media intentando reproducir el modelo animal de diabetes insípida (Rolls, 1970). Finalmente, también se incluyó un grupo control (GC), intervenido quirúrgicamente, aunque sin ningún tipo de lesión.

Durante el experimento, los animales fueron instalados individualmente en jaulas de metacrilato de 15x30x15 cms, con agua y comida (pienso compuesto sandermus para animales de laboratorio, Unión Alimentaria Sanders, Granada) ad libitum, al menos que el proceso experimental lo contraindicase. Los laterales de las jaulas son negros y opacos, mientras que ambos frontales son transparentes. El suelo consistía en una bandeja blanca, también de metacrilato, cubierta de una fina capa de serrín.

La temperatura de la habitación se mantuvo entre 20-24°, con periodos de luz-oscuridad de 12 horas cada uno. Las luces se encendían a las 8:30 a.m y se apagaban a las 20:30 p.m. Todas las pruebas experimentales se llevaron a cabo durante el periodo de luz.

Procedimiento Quirúrgico.

Lesiones electrolíticas de los núcleos Tuberomamilares.

Se efectuaron bajo anestesia con pentotal sódico (tiopental sódico, Lab. Abbot), intraperitoneal (i.p) a una dosis de 50 mg/Kg.

Los animales anestesiados y con la parte superior de la cabeza rasurada, fueron situados en un aparato estereotáxico (Stoelting Co. Estereotáxico 51.600). A continuación y mediante un bisturí, se practicó una incisión longitudinal de aproximadamente 14 mm de longitud, retirando el tejido conjuntivo perióstico adyacente, quedando visibles los puntos lambda y bregma, así como la línea media.

Mediante un torno, se trepanan a continuación dos orificios de aproximadamente 1mm de diámetro en la zona correspondiente a las coordenadas anteroposterior y lateral del subnúcleo. Inmediatamente después, se seccionan las capas meníngicas que recubren el cerebro. Este proceso, dada la proximidad de la línea media en algunos núcleos (p.e. E3, E4 y eminencia media) produce generalmente la punción del seno sagital superior, dando lugar a una fuerte hemorragia que disminuye mediante la aplicación local de esponjas de fibrina (espongostán).

A través de los orificios abiertos, se procedió a introducir un electrodo monopolar (de unas 200 micras de diámetro), aislado en toda su longitud (Insl-X) excepto en su parte más distal hasta el punto determinado por la coordenada vertical. Una vez alcanzado el objetivo se cerraba el circuito eléctrico mediante un electrodo masa colocado en la periferia del animal. A continuación se aplicó bilateralmente y durante 20" una corriente continua catódica (negativa) de 1.20 mA de intensidad, suministrada por un generador de lesiones modelo DCML-5 (Grass Instruments Corp, Quincy, Mass, USA).

CAPÍTULO I

Las coordenadas estereotáxicas utilizadas para realizar las lesiones electrolíticas de los núcleos tuberomamilares se basaron (referencia interaural) en el atlas estereotáxico de Paxinos y Watson, (1986) y fueron:

- (E1) AP: + 4.2 L: + 1.2 V: + 1.0
- (E2) AP: + 4.7 L: + 1.1 V: + 0.6
- (E3) AP: + 4.7 L: + 0.7 V: + 0.4
- (E4) AP: + 5.2 L: + 0.2 V: + 0.8

En aquellos grupos de referencia, donde se utilizaron animales con lesión en la eminencia media (modelo animal de diabetes insípida; Rolls, 1970), el proceso quirúrgico fue el mismo que acabamos de describir, exceptuando el tipo de lesión electrolítica en cada uno de ellos.

Lesiones electrolíticas de la Eminencia Media.

a) Al igual que en el proceso anterior, se aplicó una corriente continua **catódica** (negativa), de 1.20 mA de intensidad, durante 20'' semejante a la utilizada en los grupos tuberomamilares. Las coordenadas estereotáxicas para realizar la lesión del grupo eminencia media negativa (EM-), fueron tomadas (referencia interaural) del atlas estereotáxico de Paxinos y Watson, (1986), basándonos previamente en las coordenadas utilizadas por Rolls (1970) en el atlas de De Groot (1959).

- (EM-) AP: + 6.44 L: + 0.4 V: + 0.2

b) Este grupo fue diferente al anterior. En él, se utilizó una corriente continua de tipo positivo (**anódica**), de 1.5 mA de intensidad durante 15'' (Rolls, 1970). Las coordenadas fueron las mismas que en el caso anterior.

- (EM+) AP: + 6.44 L: + 0.4 V: + 0.2

En cuanto a la lesión ficticia de los animales controles, se reprodujeron los mismos pasos que en los animales experimentales, excepto que en este caso no se introdujo el electrodo en el cerebro, y por lo tanto, el animal no recibió corriente alguna. Una vez finalizado todo el proceso, se suturó la herida efectuada en la piel que recubre el cráneo.

Como medida preventiva de posibles infecciones derivadas de la intervención quirúrgica, todos los animales recibieron una inyección de 0.1 cc de penicilina intramuscular (penivel retard, Lab. Level, S.A, Barcelona) a la concentración de 250.000 U.I/ml.

Procedimiento Experimental.

Inicialmente, los animales eran asignados de forma aleatoria a uno de los grupos experimentales o control. Bajo estas condiciones, se dispuso de un total de 38 animales quedando compuestos los grupos de la siguiente forma:

EM+ (n=7); EM- (n=5); E1 (n=5); E2 (n=5); E3 (n=5); E4 (n=6); GC (n=5).

Antes de la intervención quirúrgica, y durante un periodo de 10 días, los animales fueron instalados en condiciones de agua y comida ad libitum. En este intervalo de tiempo, y concretamente 6 días antes de efectuar las lesiones electrolíticas correspondientes (día -6) se privó a los animales durante 24 horas de su comida habitual (alimento seco: pienso compuesto “sandermus”, Sanders, S.A, Madrid) con el objetivo de comprobar la ausencia de actividad prandial “espontánea”. En este caso, los sujetos disponían de agua ad libitum a lo largo de todo el día. Transcurridas las 24 horas de privación, se les devolvía la comida y se registraba el número de respuestas de toma de agua emitidas por los animales durante un periodo de 2 horas, comprendido entre las 10 a.m y 12 a.m.

Posteriormente, y como línea base de cada animal, se registró la cantidad de agua y comida ingerida durante los 4 días antes de ser sometidos al proceso

CAPÍTULO I

quirúrgico, destacando que en los 2 últimos días (días -2 y -1) este proceso se llevó a cabo en periodos de 12 horas, coincidentes con el ciclo luz/oscuridad para poder estudiar la ritmicidad de las conductas consumatorias. Los datos obtenidos se analizaron durante la fase de oscuridad, expresándolos en porcentajes respecto al total consumido.

Finalizada la intervención, y una vez definidos los grupos experimentales y control, se cuantificó el consumo de agua y comida de los animales tuberomamílares.

Concretamente en este estudio se pretendía:

- Registrar la cantidad de agua y comida ingerida por los animales asignados a los grupos a lesionar y control en situación ad libitum, (periodo de línea base).

- Registrar igualmente el consumo de agua y comida realizado por todos los grupos de animales después de la intervención quirúrgica, también en condiciones ad libitum. Los resultados obtenidos durante el periodo de 16 días que duró la fase experimental fueron subdivididos en una serie de bloques, que representaban las distintas fases conductuales observadas.

Análisis Estadístico.

El análisis estadístico de los resultados globales se ha realizado mediante el empleo de la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

En el caso de producirse efectos significativos en el análisis global de alguna de estas conductas, se pasaría a realizar un análisis post-hoc más detallado. Para ello, se ha utilizado la prueba de Kolmogorov-Smirnov que permite comparar las diferencias entre los diversos grupos experimentales entre sí y con los grupos control en cada uno de los bloques establecidos durante el transcurso del experimento.

Resultados.

Las lesiones electrolíticas de todos los núcleos tuberomamilares intervenidos individualmente dan lugar a la aparición de polidipsia. Los resultados obtenidos se podrían resumir en los siguientes puntos:

Ingesta de Agua de los animales tuberomamilares.

En el periodo de línea base (preoperatorio), no se encontraron diferencias significativas entre los grupos lesionados tuberomamilares y grupo control (no lesionado) en la ingesta de agua {**E1, E2, E3, E4 vs. GC** $H(4,26) = 3.91, p = .4172$ } (ver figura 1.1)(día -1).

Como ya se ha venido señalando durante la introducción experimental, uno de los objetivos de este proyecto de investigación es observar la contribución de cada núcleo tuberomamilar en el control y regulación de fluidos. Para ello, se analizaron las posibles diferencias significativas en el consumo de agua entre los distintos grupos tras la intervención quirúrgica (lesión electrolítica de los núcleos tuberomamilares).

En este sentido, y dado el desarrollo observado a lo largo de los días del experimento en cada uno de los grupos tuberomamilares, pasamos a examinar los resultados en función de los días correspondientes (bloques de días), con la finalidad de establecer diferencias no sólo cuantitativas (volumen de ingesta de agua) sino también cualitativas (evolución de la polidipsia observada).

El análisis estadístico de los datos determinó que los grupos diferían significativamente en la ingesta de agua en todos los bloques de días analizados {**Bloque 1** $H(4,26) = 19.87, p = .0005$; **Bloque 2** $H(4,26) = 21.99, p = .0002$; **Bloque 3** $H(4,26) = 21.65, p = .0002$; **Bloque 4/7** $H(4,26) = 20.06, p = .0005$;

CAPÍTULO I

Bloque 8/11 $H(4,26) = 20,52$, $p = .0004$; **Bloque 12/16** $H(4,26) = 17.21$, $p = .0018$ (ver fig. 1.1).

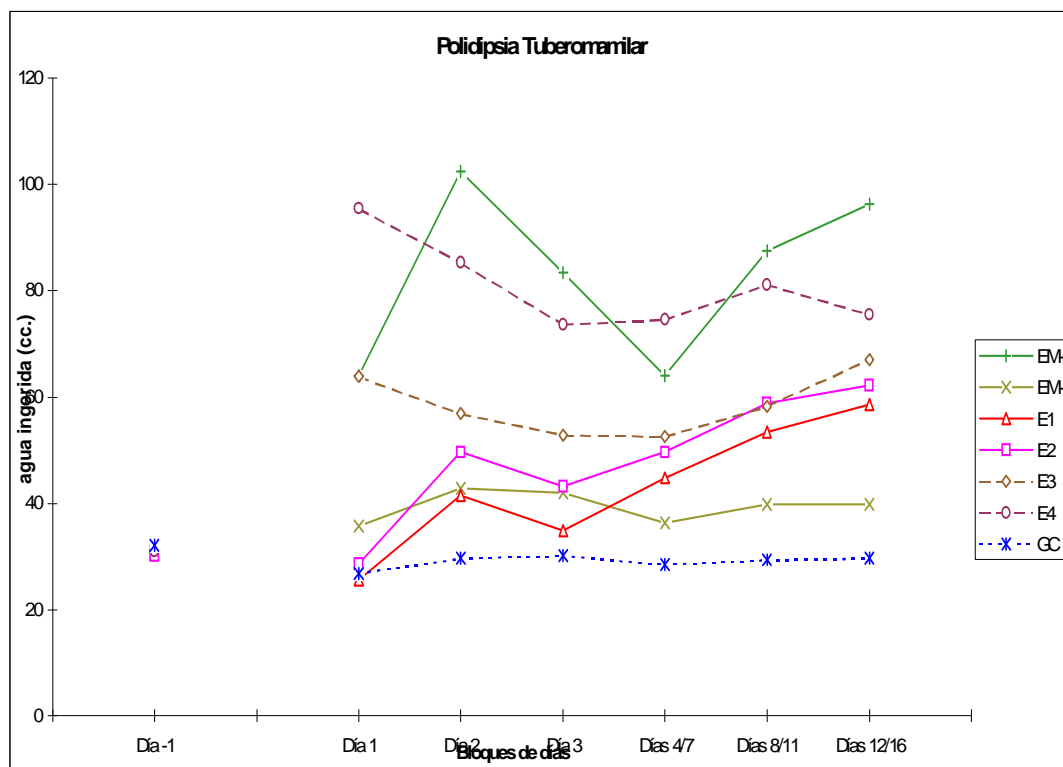


Fig. 1.1. Cantidades medias de agua ingeridas por los grupos experimentales y grupos control a lo largo de diferentes bloques de días tras la lesión electrolítica correspondiente.

En concreto, ya en el día 1 postoperatorio (bloque 1), los grupos tuberomamilares mediales E3 y E4 mostraron diferencias significativas en el consumo de agua con respecto al grupo control de falsa lesión {**E3 vs. GC** $D(5,5) = 1.00$, $p < .05$ } {**E4 vs. GC** $D(6,5) = 1.00$, $p < .01$ } (fig. 1.2).

Asimismo, también se pudo observar que la polidipsia manifestada por los animales pertenecientes al grupo experimental TMM dorsal E4 era significativamente mayor a la del resto de los animales tuberomamilares {**E4 vs. E1, E2, E3** $D(6,5) = 1.00$, $p < .01$ } (fig. 1.2).

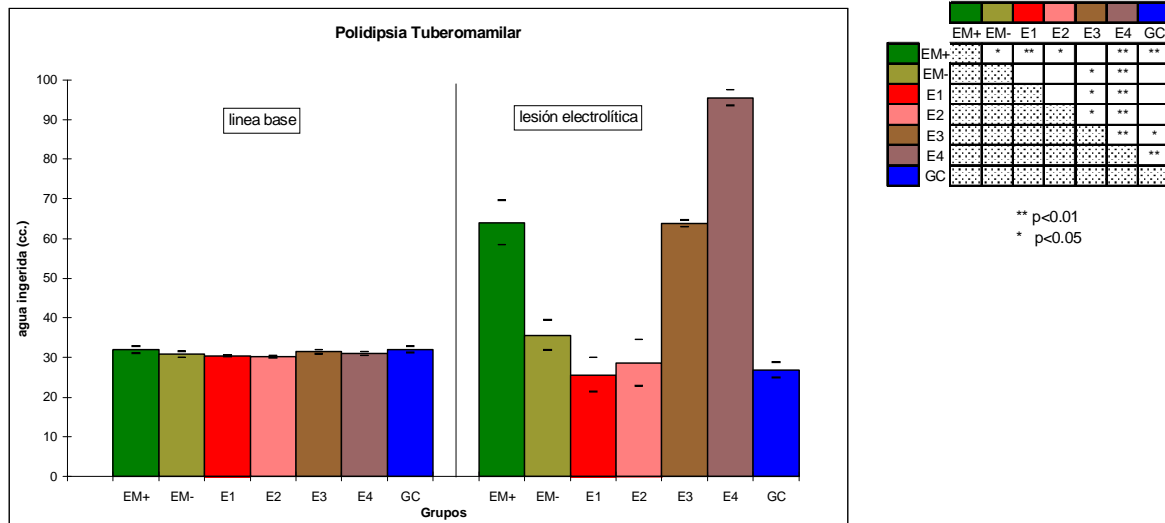


Figura 1.2: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el primer día postoperatorio (bloque 1).

A partir del 2º día postlesión (bloque 2), todos los grupos tuberomamilares (E1, E2, E3, E4), ingirieron mayor cantidad de agua que el grupo control no lesionado {**E1, E2, E3 vs. GC** $D(5,5) = 1.00, p < .05$ } {**E4 vs. GC** $D(6,5) = 1.00, p < .01$ } (hecho que se manifiesta de manera más clara en los últimos 13 días del experimento). (Bloques 8/11 y 12/16) (ver figs 1.3-1.7).

Finalmente, conviene destacar la progresión en la ingesta de agua de los grupos tuberomamilares ventrales E1 y E2, ya que a partir del 4º día después de la lesión (bloque 4/7), llegan a igualar al grupo tuberomamilar medial E3 en el consumo de agua (fig. 1.5). Es más, los animales TMV E2 no mostraron diferencias significativas con el grupo TMM E4 en los últimos 5 días del experimento (bloque 12/16) {**E2 vs. E4** $D(5,6) = .03, p = n.s$ }, confirmando la evolución descrita anteriormente (ver fig. 1.7).

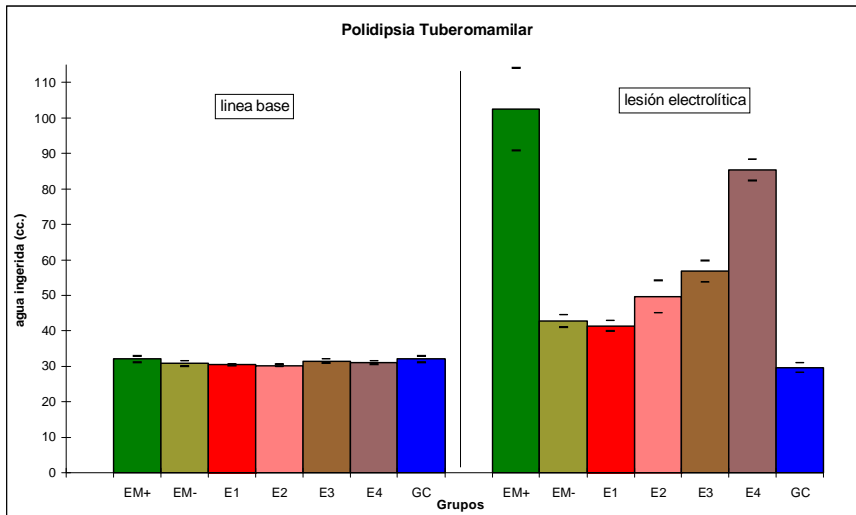


Figura 1.3: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el **segundo** día postoperatorio (bloque 2).

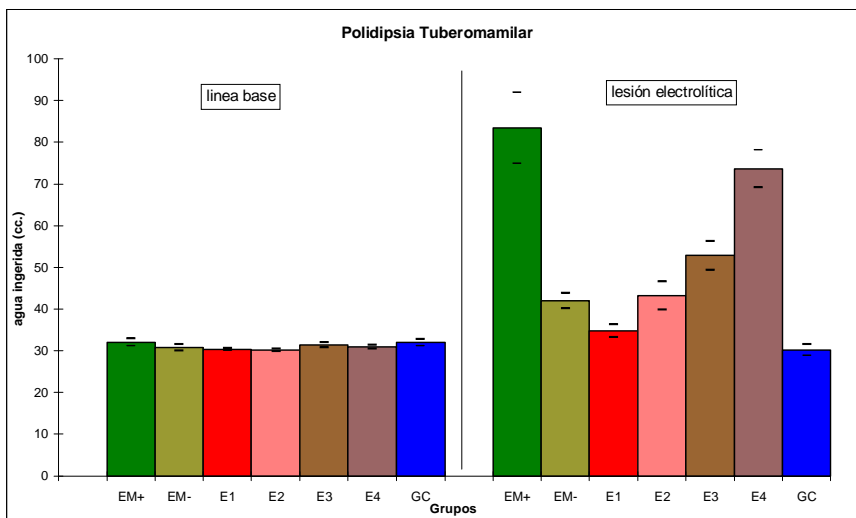
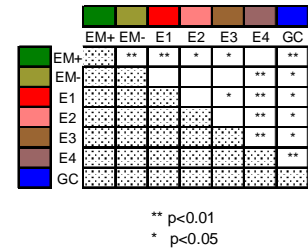
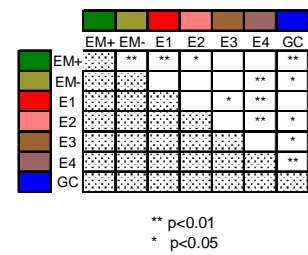


Figura 1.4: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el **tercer** día postoperatorio (bloque 3).



EXPERIMENTO 1

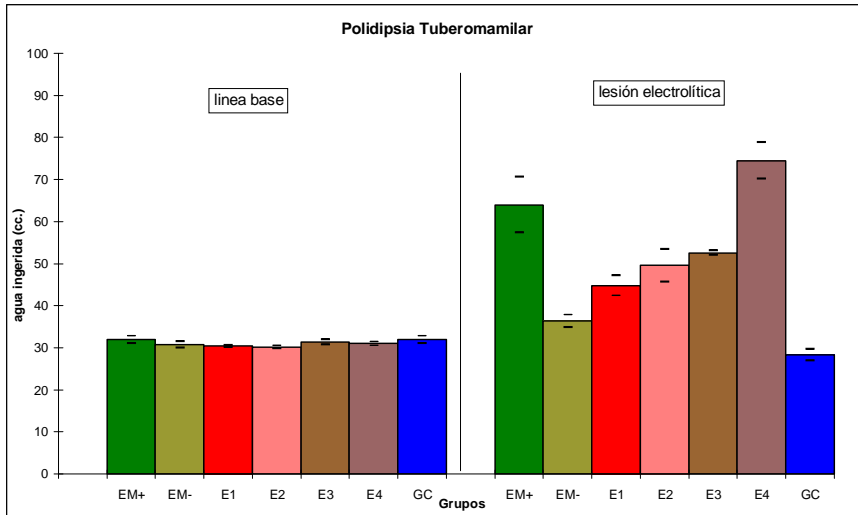


Figura 1.5: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante los días **cuarto a séptimo** postoperatorios (bloque 4/7).

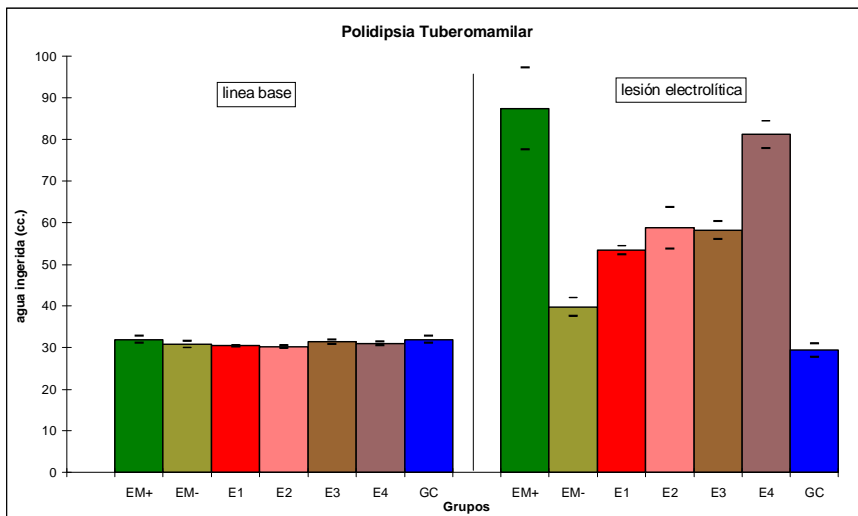
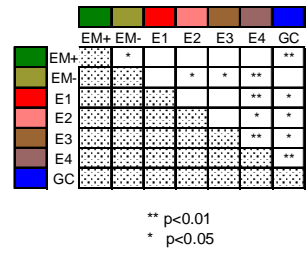
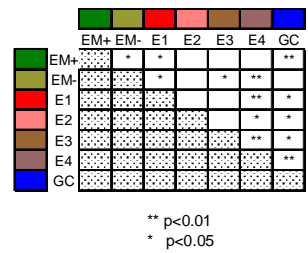
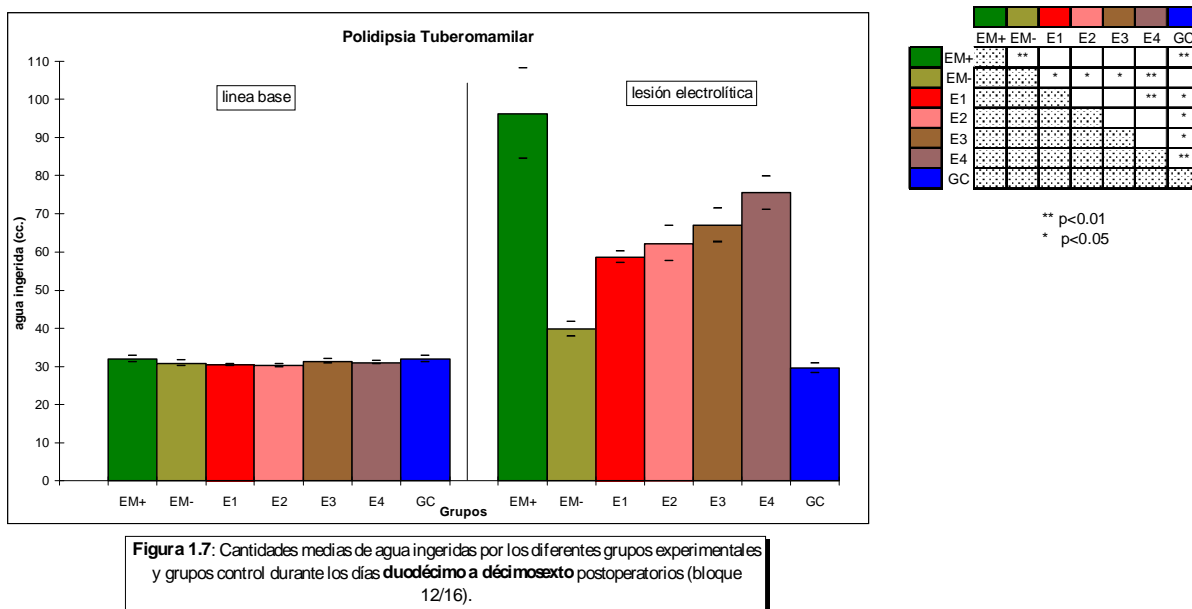


Figura 1.6: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante los días **octavo a undécimo** postoperatorios (bloque 8/11).





Ingesta de comida de los animales tuberomamilares.

En cuanto a la ingesta de alimento, los resultados más relevantes fueron los siguientes:

Durante el periodo preoperatorio (línea base), no se observaron diferencias significativas entre los grupos tuberomamilares y grupo control en la ingesta de comida, {**E1, E2, E3, E4 vs. GC** $H(4,26) = 6.63, p = .1567$ } (fig. 1.8) (día -1).

Sin embargo, durante el periodo postoperatorio, el consumo de alimento difirió significativamente entre los grupos en todos los bloques de días del experimento {**Bloque 1** $H(4,26) = 19.28, p = .0007$; **Bloque 2** $H(4,26) = 15.72, p = .0034$, **Bloque 3** $H(4,26) = 14.10, p = .0070$; **Bloque 4/7** $H(4,26) = 15.66,$

$p = .0035$; **Bloque 8/11** $H(4,26) = 18.01$, $p = .0012$; **Bloque 12/16** $H(4,26) = 17.84$, $p = .0013$ }.

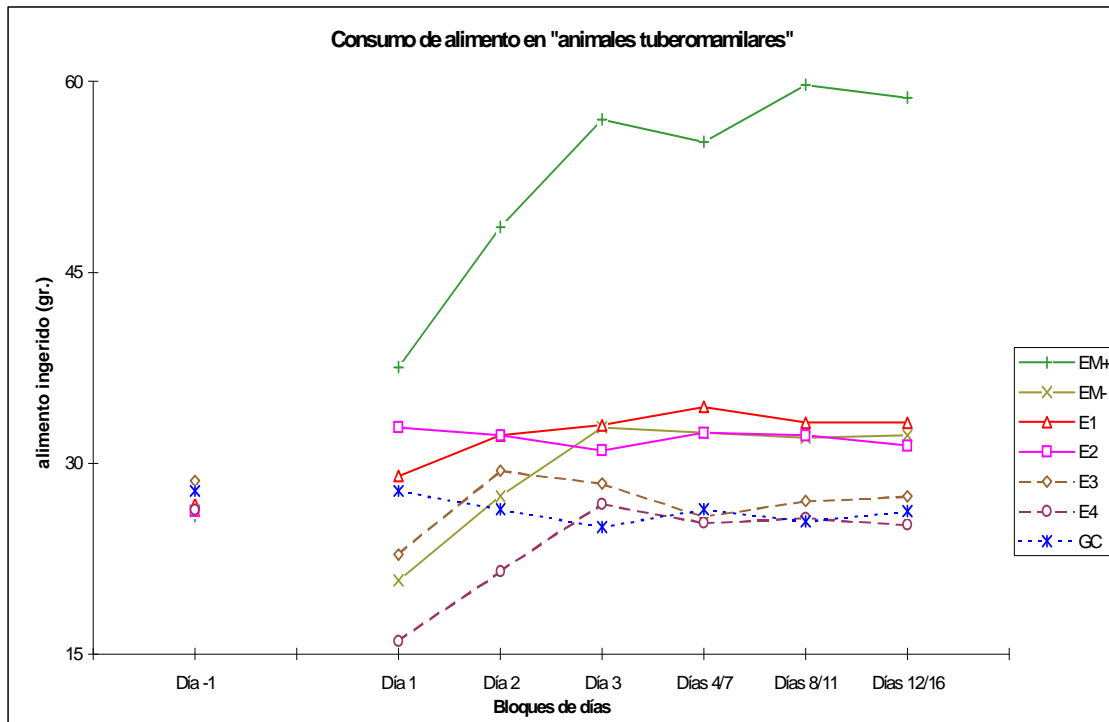
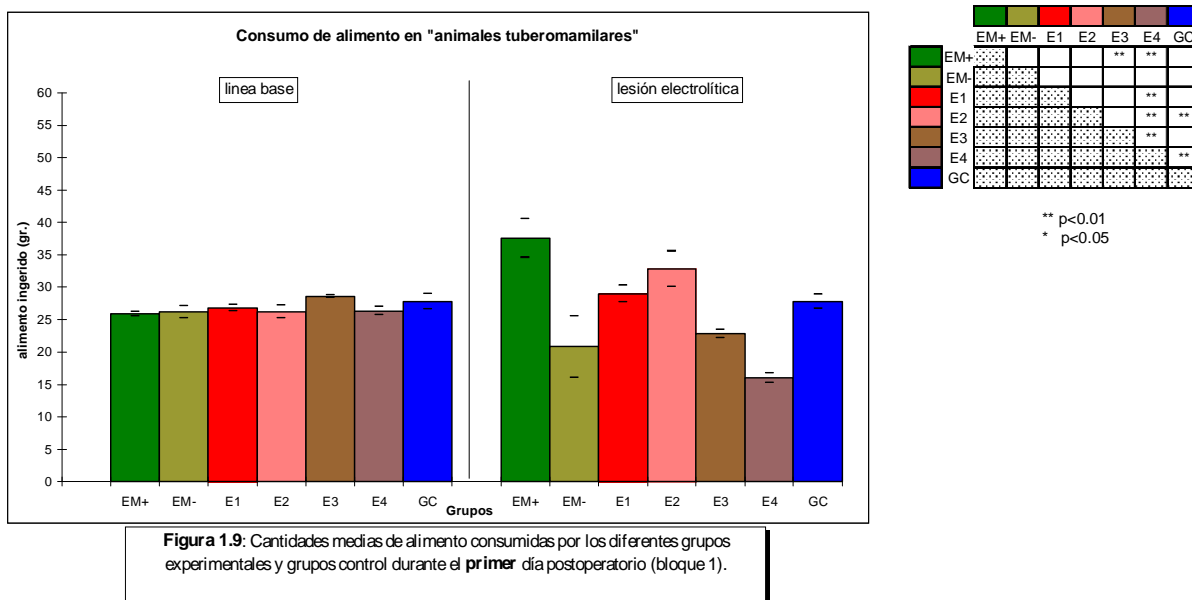


Figura 1.8: Cantidades medias de alimento consumidas por los grupos experimentales y grupos control a lo largo de diferentes bloques de días tras la lesión electrolítica correspondiente.

En el día 1 después de la lesión (bloque 1), un dato llamativo es el relacionado con el grupo tuberomamilar medial dorsal E4, el más polidípico, que se mantiene por debajo no sólo del grupo control {E4 vs. GC $D(6,5) = -1.00$, $p < .01$ } (ver fig. 1.9) sino también del resto de los grupos tuberomamilaes en lo referente a la ingesta de comida {E4 vs. E1, E2, E3 $D(6,5) = -1.00$, $p < .01$ }.



Posteriormente, y durante los 6 días siguientes a la lesión (bloques 2, 3 y 4/7), no se observaron diferencias significativas en el consumo de alimento entre los grupos tuberomamilares y control (GC) (figs. 1.10-1.12).

Sin embargo, a partir del 8º día postlesión (bloque 8/11), se produjo un aumento significativo en la conducta de ingesta de los grupos tuberomamilares ventrales E1 y E2 con respecto al grupo control no lesionado {E1, E2 vs. GC D(5,5) = 1.00, p < .05} (fig. 1.13). Es más, se aprecia la misma tendencia que en la conducta polidíptica, es decir, conforme pasan los días, se observa una mayor ingesta de comida en estos animales, alcanzando sus valores máximos en los últimos días del experimento (especialmente en el bloque 8/11), superando al núcleo tuberomamilar medial E3, {E1, E2 vs. E3 D(5,5) = 1.00, p < .05}, (ver figs.1.13 y 1-14).

Por otra parte, un dato a destacar es el relacionado con el grupo TMM dorsal E4, el más polidípico y sin embargo con un consumo de comida significativamente menor que los grupos tuberomamilares ventrales E1 y E2, prácticamente en todos los

EXPERIMENTO 1

días del experimento, alcanzando sus máximas diferencias a partir del bloque 4/7 {**E1 vs. E4** $D(5,6) = .83, p < .05$ (bloque 8/11); $D(5,6) = 1.00, p < .01$ (bloques 4/7 y 12/16)} {**E2 vs. E4** $D(5,6) = 1.00, p < .01$ (bloque 4/7); $D(5,6) = .83, p < .05$ (bloques 8/11 y 12/16)}.

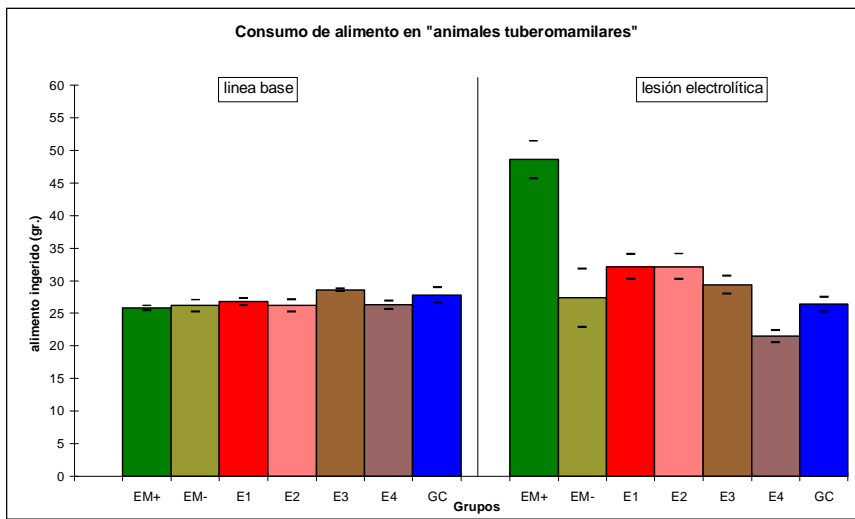


Figura 1.10: Cantidades medias de alimento consumidas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el **segundo** día postoperatorio (bloque 2).

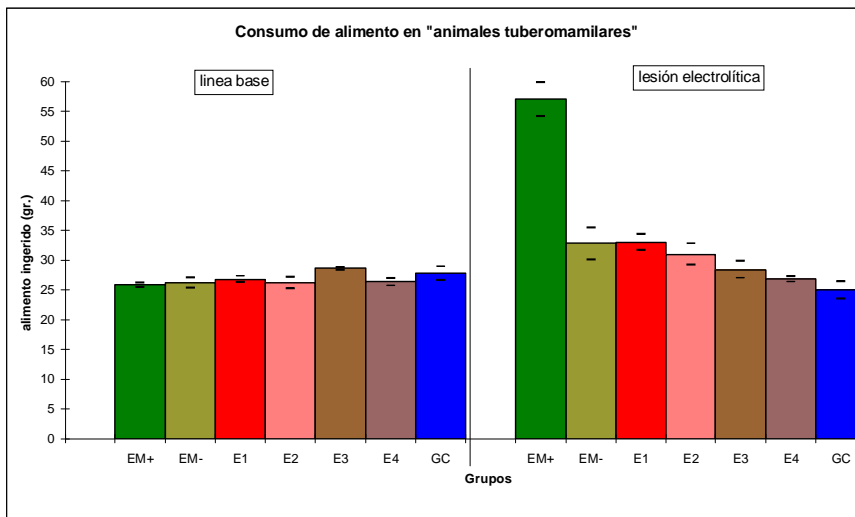


Figura 1.11: Cantidades medias de alimento consumidas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el **tercer** día postoperatorio (bloque 3).

CAPÍTULO I

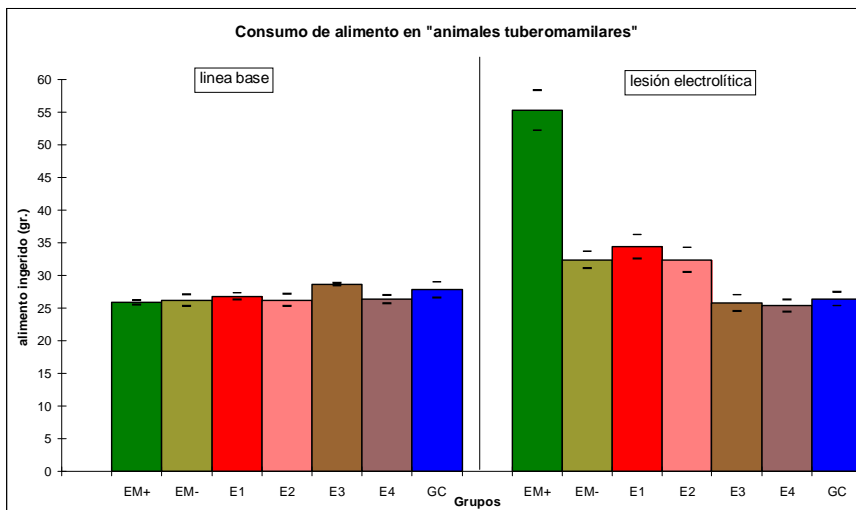


Figura 1.12: Cantidades medias de alimento consumidas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante los días **cuarto a séptimo** postoperatorios (bloque 4/7).

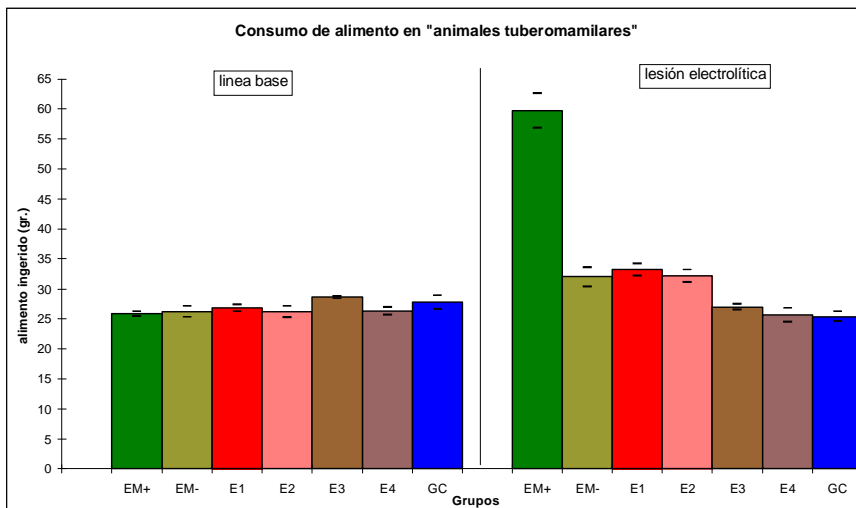
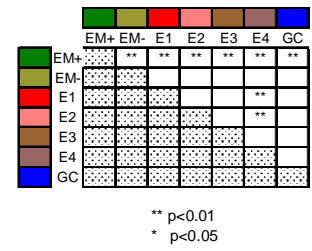


Figura 1.13: Cantidades medias de alimento consumidas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante los días **octavo a undécimo** postoperatorios (bloque 8/11).

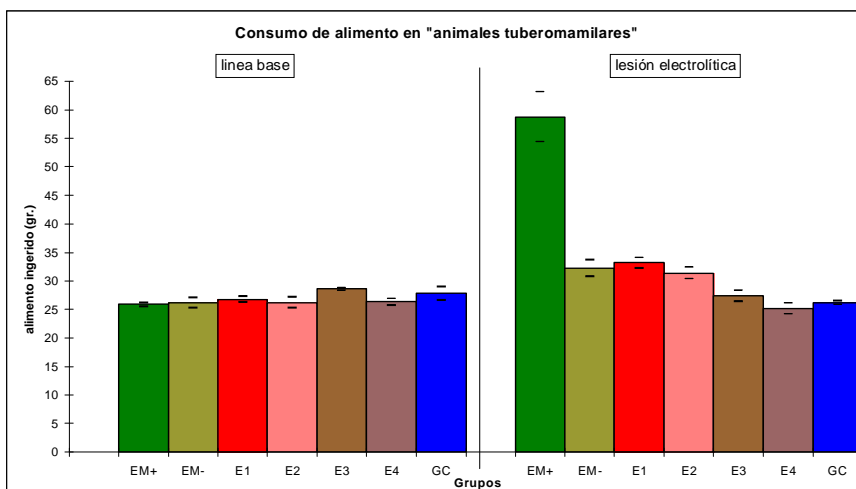
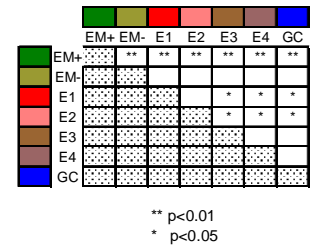
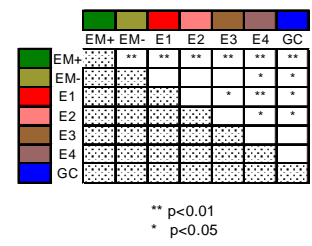


Figura 1.14: Cantidades medias de alimento consumidas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante los días **duodécimo a décimosexto** postoperatorios (bloque 12/16).



Ingesta de agua de los animales diabéticos (lesión en la eminencia media).

Durante el periodo de línea base, no se observaron diferencias significativas en la ingesta de agua entre los grupos de referencia EM+ y EM- y los animales tuberomamilares o el grupo control no lesionado {H (6,38) = 5.85, p = .4395} (fig. 1.1) (día -1).

Una vez realizadas las lesiones electrolíticas correspondientes, se analizaron las diferencias existentes entre los grupos diabéticos EM+; EM- y los grupos tuberomamilares y control (falsa lesión) a lo largo de los días.

En este sentido, se pudo constatar la existencia de diferencias significativas en la ingesta de agua entre los grupos en general para cada uno de los bloques de días analizados {**Bloque 1** H(6,38) = 30.29, p = .0000; **Bloque 2** H(6,38) = 32.17, p = .0000; **Bloque 3** H(6,38) = 31.92, p = .0000; **Bloque 4/7** H(6,38) = 28.56, p = .0001; **Bloque 8/11** H(6,38) = 29.25, p = .0001; **Bloque 12/16** H(6,38) = 26.81, p = .0002} (ver fig. 1.1).

Concretamente, el grupo con lesión anódica de la eminencia media (EM+) ingirió una cantidad de agua significativamente superior al grupo control (GC) y EM- durante todos los días de la prueba {**EM+ vs. EM-** D(7,5) = .85, p < .05 (bloques 1, 4/7 y 8/11); D(7,5) = 1.00, p < .01 (bloques 2, 3 y 12/16)} {**EM+ vs. GC** D(7,5) = 1.00, p < .01 (bloques 1, 2, 3, 4/7, 8/11, 12/16)} (ver figs. 1.2-1.7).

Asimismo, al comparar la respuesta de los grupos diabéticos con los animales tuberomamilares se pudo observar que el grupo experimental EM+ consumió más agua que los animales pertenecientes a los grupos tuberomamilares ventrales E1 y E2 únicamente en los 3 primeros días postlesión {**EM+ vs. E1** D(7,5) = 1.00, p < .01 (bloques 1, 2 y 3)} {**EM+ vs. E2** D(7,5) = .80, p < .05 (bloque 1); D(7,5) = .86, p < .05 (bloque 2); D(7,5) = 1.00, p < .01 (bloque 3)} (ver figs. 1.2-1.4).

CAPÍTULO I

Por lo que se refiere a los grupos tuberomamilares mediales E3 y E4 hay que decir que las diferencias con los animales EM+ fueron mínimas, exceptuando el día 2 (bloque 2), donde el grupo con lesión anódica en la eminencia media tomó mayor cantidad de agua que el grupo tuberomamilar E3, {**EM+ vs. E3** $D(7,5) = .85$, $p < .05$ } (fig. 1.3).

Finalmente, merece especial atención el hecho de que el grupo experimental con lesión catódica en la eminencia media (EM-), sólo mostró una respuesta superior al grupo control no lesionado en los primeros días del experimento (bloques 2 y 3) {**EM- vs. GC** $D(5,5) = 1.00$, $p < .05$ } (fig. 1.3-1.4). Por otro lado, cuando se llevaron a cabo las comparaciones con los grupos tuberomamilares, se pudo observar que los grupos mediales E3 y E4 tomaron mayor cantidad de agua que el EM-, durante prácticamente la totalidad de la fase experimental, {**EM- vs. E3** $D(5,5) = -1.00$, $p < .05$ (bloques 1, 4/7, 8/11, 12/16)} {**EM- vs. E4** $D(5,6) = -1.00$, $p < .01$ (bloques 1, 2, 3, 4/7, 8/11 y 12/16)} (ver figs. 1.2-1.7).

Algo similar sucedió con los grupos ventrales E1 y E2, si bien éstos exhibieron una respuesta de ingesta mayor que los animales EM- en los últimos días de la prueba {**EM- vs. E1** $D(5,5) = -1.00$, $p < .05$ (bloques 8/11 y 12/16)} {**EM- vs. E2** $D(5,5) = -1.00$, $p < .05$ (bloques 4/7 y 12/16)} (fig. 1.7).

Ingesta de comida de los animales diabéticos (lesión en la eminencia media).

La cantidad media de comida ingerida durante el periodo preoperatorio (línea base) no difirió entre los diferentes grupos de referencia diabéticos “EM+ y EM-“ y los grupos tuberomamilares y control (GC) { $H(6,38) = 9.05, p = .1705$ } (fig. 1.8) (día -1).

Sin embargo, durante el periodo postoperatorio, se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos en general en cada uno de los bloques de días evaluados {**Bloque 1** $H(6,38) = 23.21, p = .0007$; **Bloque 2** $H(6,38) = 24.36, p = .0004$; **Bloque 3** $H(6,38) = 26.92, p = .0002$; **Bloque 4/7** $H(6,38) = 29.44, p = .0001$; **Bloque 8/11** $H(6,38) = 30.22, p = .0000$; **Bloque 12/16** $H(6,38) = 31.14, p = .0000$ } (ver fig. 1.8).

En concreto, los resultados más relevantes fueron los siguientes:

Los animales EM+, tomaron mayor cantidad de comida a partir del 2º día del experimento (bloque 2) que el resto de los grupos experimentales tuberomamilares, EM- y grupo control (GC) {**EM+ vs. EM-** $D(7,5) = .85, p < .05$ (bloques 2 y 3); $D(7,5) = 1.00, p < .01$ (bloques 4/7, 8/11 y 12/16)} {**EM+ vs. E1** $D(7,5) = .85, p < .05$ (bloque 2); $D(7,5) = 1.00, p < .01$ (bloques 3, 4/7, 8/11, 12/16)} {**EM+ vs. E2** $D(7,5) = .85, p < .05$ (bloque 2); $D(7,5) = 1.00, p < .01$ (bloques 3, 4/7, 8/11, 12/16)} {**EM+ vs. E3** $D(7,5) = 1.00, p < .01$ (bloques 1, 2, 3, 4/7, 8/11, 12/16)} {**EM+ vs. E4** $D(7,6) = 1.00, p < .01$ (bloques 1, 2, 3, 4/7, 8/11, 12/16)} (ver figs. 1.9-1.14).

Esta conducta hiperfágica sin embargo no fue observada en el grupo EM-, si exceptuamos los últimos 5 días del experimento (bloque 12/16), en los cuales, los animales del grupo control de falsa lesión y E4 consumen menos alimento que el grupo diabético con lesión catódica en la eminencia media {**GC vs. EM-** $D(5,5) = -1.00, p < .05$ } {**E4 vs. EM-** $D(6,5) = -.83, p < .05$ } (fig. 1.14).

CAPÍTULO I

En resumen, los resultados que acabamos de exponer señalan que las lesiones electrolíticas con corriente positiva en la eminencia media, producen un incremento considerable en la ingesta de agua paralelo al observado en el consumo de alimento. Por el contrario, la hiperfagia es mucho menor si la lesión electrolítica efectuada es con corriente catódica (negativa).

Discusión.

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que las lesiones electrolíticas bilaterales restringidas a los subnúcleos tuberomamilares (E1, E2, E3, E4) inducen polidipsia (fig. 1.1).

Este incremento en la ingesta de agua parece ser el resultado específico de las lesiones electrolíticas realizadas. En efecto, la polidipsia tuberomamilar no puede explicarse, por ejemplo, por la irritación tisular resultante del depósito de iones metálicos en el cerebro tras el paso de la corriente eléctrica de tipo positivo (anódica). Este efecto irritativo parece ser un factor determinante en el elevado consumo de agua observado en el grupo EM+ (Rolls, 1970), ya que en el caso de las lesiones electrolíticas con corriente catódica (idéntica a la que se aplica en los grupos tuberomamilares) (EM-), apenas sí se producen alteraciones en la toma de agua (fig.1.1).

Por otro lado, el examen histológico de las lesiones efectuadas parece indicar que la polidipsia manifestada por los animales tuberomamilares, se debe a la destrucción selectiva de estos núcleos hipotalámicos.

En este sentido, se ha podido observar que las lesiones realizadas en los grupos tuberomamilares mediales E3 y E4 generan una respuesta polidíptica ya desde el primer día de la intervención (bloque 1), muy superior a la ingesta del grupo control (lesión ficticia), y que permanece estable a lo largo de todo el experimento (ver fig. 1.1).

EXPERIMENTO 1

Algo similar acontece con la hiperdipsia mostrada por los grupos tuberomamilares ventrales E1 y E2, si bien este comportamiento presenta algunas diferencias tanto cuantitativas como cualitativas con las anteriores (ver fig. 1.1).

En primer lugar, no parece ser tan potente como en el caso anterior, ya que si bien conforme transcurren los días ambas polidipsias se van igualando, los animales con lesiones en los núcleos tuberomamilares E1 y E2 nunca llegan a alcanzar las cantidades consumidas por los grupos TMM E3 y E4 en los primeros días de la prueba (fig. 1.1).

Es más, la ingesta de agua de estos animales por otra parte no superó significativamente a la descrita por el grupo control (lesión ficticia) hasta pasados algunos días (bloque 4-7) después de la intervención quirúrgica (fig. 1.5).

En segundo lugar, la polidipsia observada en los grupos tuberomamilares mediales, parece ser una entidad independiente del consumo de alimento, dado que no se han obtenido diferencias significativas en esta variable con respecto al grupo control no lesionado (fig. 1.8). Este no es el caso, sin embargo, de los grupos tuberomamilares ventrales, en los cuales se produce un cierto paralelismo entre la ingesta de comida y la toma de agua. A medida que se suceden los días, los animales tuberomamilares E1 y E2 consumen significativamente mayor cantidad de alimento, un hecho que coincide con la aparición de una mayor respuesta polidíptica. Su relación o dependencia de la hiperfagia observada en los 2 grupos tuberomamilares ventrales (E1 y E2), será un aspecto a determinar en otros experimentos.

Finalmente, y en lo relacionado al comportamiento hiperfágico desarrollado por parte del grupo diabético (EM+), hay que señalar que éste podría deberse a la extensión de la lesión a núcleos mediobasales-periventriculares hipotalámicos y/o 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 Vecchia 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; Verbalis et al., 1986).

CAPÍTULO I

En relación con esta cuestión, no puede descartarse que las lesiones electrolíticas que utilizan corriente anódica (positiva) hayan podido afectar a los núcleos tuberomamilaes ventrales E1 y E2 y/o a sus conexiones anatómicas debido a la amplia destrucción tisular que provocan (Rolls, 1979).

En este sentido, los resultados del presente experimento han puesto de manifiesto que la manipulación experimental (lesión) de estas regiones tuberomamilaes (E1 y E2) del hipotálamo posterior, producen un incremento significativo en la ingesta de comida (ver fig. 1.8).

Estos datos parecen, por lo tanto, apoyar la hipótesis de que el sistema tuberomamilar puede jugar un papel importante en la regulación del equilibrio energético. Con el objetivo de examinar esta posibilidad en mayor profundidad se han diseñado nuevos experimentos que se expondrán posteriormente.

EXPERIMENTO 2

Efectos de las lesiones tuberomamilares sobre la ritmicidad nocturna/diurna en la ingesta de agua y comida.

El experimento anterior ha permitido entrever algunas de las principales características de la polidipsia tuberomamilar, entre las cuales hay que destacar varias similitudes con la hiperdipsia desarrollada por los animales diabéticos (lesión electrolítica anódica en la eminencia media).

Así por ejemplo, la elevada ingesta de agua de los animales tuberomamilares mediales E3 y E4, mostró un patrón trifásico, semejante al observado en el trastorno polidipsico de la diabetes insípida neurogénica (ver fig. 1.1) y que ha sido ampliamente documentado (Bakker, 1976; Balment et al., 1986; Bronstein et al., 2000; Brooks et al., 1958; Czernichow et al., 2000; Heinbecker et al., 1941; Hollinshead, 1964; Huang et al., 1996; Laszlo et al., 1966; Lipsett et al., 1956; Maghnie et al., 2000; O'Connor, 1950; Randall et al., 1957; Robertson, 1995; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1987, 1992; Si-hoe et al., 2000; Song et al., 1999; Verbalis et al., 1985):

- Polidipsia en el día posterior a la lesión (fase poliúrica).
- Descenso en la ingesta de agua durante aproximadamente 3 días (interfase o fase oligúrica).
- Recuperación y estabilización de la polidipsia (fase permanente).

Por otra parte, si bien los animales con lesión electrolítica en los núcleos tuberomamilares ventrales E1 y E2, no presentaron ese cuadro tan definido en la ingesta de líquidos como el grupo TMM, sí mostraron analogías con los animales

CAPÍTULO I

EM+ en lo referente a la ingesta de comida, observándose una progresión significativa en su consumo conforme transcurren los días (ver fig. 1.8).

Por todo ello y según estos datos, podría plantearse la posibilidad de que la polidipsia e hiperfagia tuberomamilar pudiesen ser explicadas teóricamente como un modelo animal de diabetes insípida. El presente experimento pretende abordar el estudio de esta problemática en función del siguiente razonamiento teórico.

Es un hecho bien conocido, que en sujetos normales el consumo diario de agua y comida siguen unos determinados patrones de ritmicidad. Así, la rata, cuyo estado de máxima actividad coincide con la fase nocturna, tiende a comer y beber preferentemente durante este periodo (80% del total del agua ingerida y el 70% del total del alimento consumido) (Armstrong, 1980).

Asimismo, se ha podido comprobar que determinadas lesiones cerebrales pueden alterar dicha ritmicidad. En efecto, lesiones electrolíticas (en ratas) restringidas a la región rostromedial de la zona incierta (ZI), tienden a incrementar aun más estos ritmos, de forma que la ingesta de agua supera el 80% durante la fase nocturna (Grossman, 1984).

En este contexto, sería interesante comprobar si las lesiones electrolíticas de los núcleos tuberomamilaes, producen algún tipo de alteración en la ritmicidad de las conductas consumatorias mencionadas y comparar estos resultados con los obtenidos en los animales diabéticos (lesiones electrolíticas en la eminencia media), en los que se produce una ausencia de ritmicidad en ambas conductas (Morales, Cubero y Puerto, 1990). Los resultados obtenidos permitirán examinar si la polidipsia e hiperfagia tuberomamilar es una entidad cuantitativa y cualitativamente diferente de la DI.

Método.

Sujetos.

En el presente experimento, se utilizaron los mismos 38 animales del estudio anterior, es decir, 4 grupos con lesión electrolítica en los núcleos tuberomamilares (E1, E2, E3 y E4), dos grupos de referencia eminencia media (lesión catódica y anódica) y un grupo control no lesionado (GC), que permanecieron en condiciones ad libitum de agua y comida a lo largo de todos los días de la prueba. Las condiciones de alojamiento y mantenimiento no variaron en este estudio.

Procedimiento Quirúrgico.

No se introdujo ninguna manipulación quirúrgica adicional.

Procedimiento Experimental.

Con anterioridad a la asignación de los sujetos a los diferentes grupos experimentales y controles, se habrá registrado la cantidad de agua y comida ingerida en la fase preoperatoria para cada animal en periodos de 12 horas, coincidentes con el ciclo luz/oscuridad. El proceso se llevó a cabo durante los 2 últimos días pre-lesión (días -2 y -1), analizándose los datos obtenidos durante la fase de oscuridad, expresándolos en porcentajes respecto al total consumido.

Después de la intervención quirúrgica correspondiente, se procedió a registrar de nuevo y durante 2 días postlesión (días 17 y 18), la cantidad de agua y comida ingerida de forma idéntica a como se realizó en la fase preoperatoria (línea base).

CAPÍTULO I

Análisis Estadístico.

Se utilizó una prueba de Anova no paramétrica a través del test de Kruskal-Wallis.

A fin de evaluar las diferencias entre los grupos lesionados y los grupos control y entre los grupos experimentales entre sí, se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Resultados.

En el periodo de línea base (preoperatorio), el registro de la ingesta de agua y comida durante las 12 horas del ciclo de oscuridad no reveló diferencias significativas en ambas variables entre los diferentes grupos experimentales y control (fig. 2.1 y 2.2) {**Ritmicidad nocturna/diurna ingesta de agua** $H(6,38) = 11.45, p = .0753$ } {**Ritmicidad nocturna/diurna ingesta de comida** $H(6,38) = 4.11, p = .6614$ }.

No sucedió lo mismo durante el periodo postoperatorio; ahora sí se observaron diferencias significativas en la ritmicidad nocturna/diurna de ambas conductas entre los grupos lesionados y grupo control {**Ritmicidad nocturna/diurna ingesta de agua** $H(6,38) = 22.23, p = .0011$ } {**Ritmicidad nocturna/diurna ingesta de comida** $H(6,38) = 27.10, p = .0001$ } (fig 2.1-2.2).

Así, se pudo comprobar que la ritmicidad nocturna en la toma de agua de los animales tuberomamílares y EM- no se vio alterada después de la lesión electrolítica, ya que no se apreciaron diferencias significativas en ninguno de estos grupos experimentales respecto al grupo control no lesionado {**EM- vs. GC** (79.80%-81.20%) $D(5,5) = .40$ (n.s)} {**E1 vs. GC** (83.60%-81.20%) $D(5, 5) = .60$ (n.s)} {**E2 vs. GC** (89.00%-81.20%) $D(5,5) = .60$ (n.s)} {**E3 vs. GC** (84.40%-81.20%) $D(5,5) = .60$ (n.s)} {**E4 vs. GC** (88.33%-81.20%) $D(6,5) = .63$ (n.s)}

EXPERIMENTO 2

Por el contrario, los animales con lesión electrolítica anódica (positiva) de la eminencia media (Rolls, 1970), mostraron una alteración en la ritmicidad de su ingesta diaria de agua, o lo que es lo mismo, la lesión parece interferir claramente con el patrón de consumo de líquidos. En efecto, los sujetos diabéticos consumieron el 55.42 % del total del agua durante la fase nocturna frente al 81.20 % del grupo control, {**EM+ vs. GC** $D(7,5) = -1.00, p < .01$ } (fig. 2.1).

Esta ausencia de ritmicidad en el consumo de agua por parte del grupo diabético fue también confirmada cuando se compararon sus resultados con los de los grupos tuberomamilares y EM- {**EM+ vs. EM-** (55.42%-79.80%) $D(7,5) = -1.00, p < .01$ } {**EM+ vs. E1** (55.42%-83.60%) $D(7,5) = -1.00, p < .01$ } {**EM+ vs. E2** (55.42%-89.00%) $D(7,5) = -1.00, p < .01$ } {**EM+ vs. E3** (55.42%-84.40%) $D(7,5) = -1.00, p < .01$ } {**EM+ vs. E4** (55.42%-88.33%) $D(7,6) = -1.00, p < .01$ } (fig. 2.1).

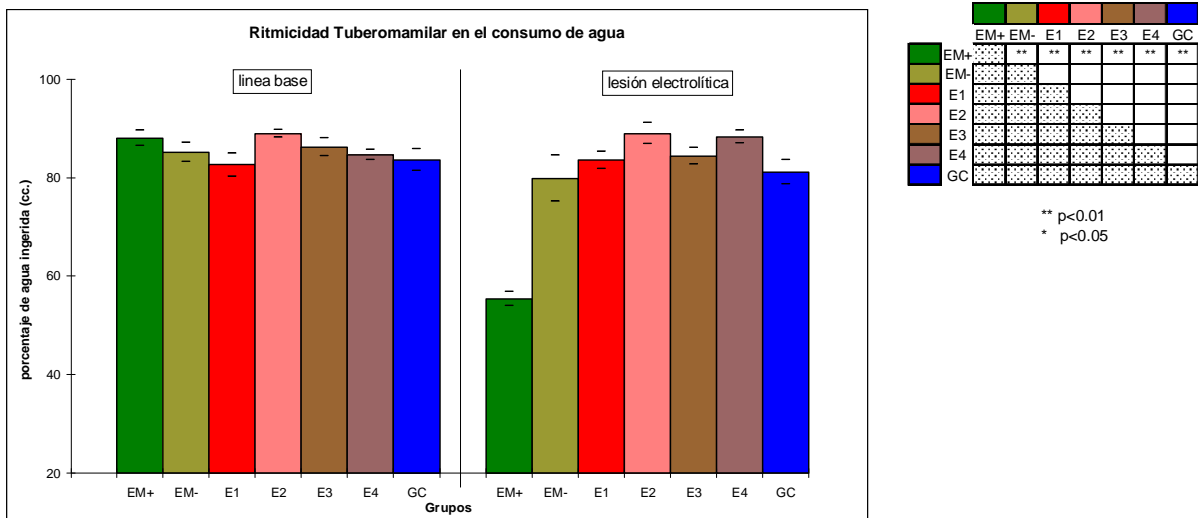


Figura 2.1: Porcentaje de agua ingerida durante la fase nocturna en los diferentes grupos experimentales y grupos control antes (días -2 /-1) y después (días 17/18) de la lesión electrolítica correspondiente.

CAPÍTULO I

En el otro apartado regulatorio y concretamente en relación con el estudio de la ritmicidad en la ingesta diaria de comida, los animales con lesión anódica en la eminencia media, consumieron el 55.86% de alimento durante la fase nocturna frente al 80.60% del grupo control de falsa lesión (GC), {EM+ vs. GC $D(7, 5) = -1.00$, $p < .01$ } (fig. 2.2). Este patrón de ingesta del grupo diabético EM+ fue significativamente diferente del resto de los grupos tuberomilares {EM+ vs. E2 (55.86%-81.80%) $D(7,5) = -1.00$, $p < .01$ } {EM+ vs. E3 (55.86%-76.60%) $D(7,5) = -1.00$, $p < .01$ } {EM+ vs. E4 (55.86%-83.83%) $D(7,5) = -1.00$, $p < .01$ } excepto del grupo tuberomilare ventral E1. Este último no mostró diferencias con respecto al grupo EM+ (55.85%-65.60%), {EM+ vs. E1 $D(7,5) = - .71$ (n.s)}, aunque sí en relación con el grupo control no lesionado (GC) (65.60%-80.60%), {E1 vs. GC $D(5, 5) = -1.00$, $p < .05$ } (fig. 18, tabla 19) y tuberomilare medial E4 (65.60%-83.83%), {E1 vs. E4 $D(5,6) = -1.00$, $p < .01$ }.

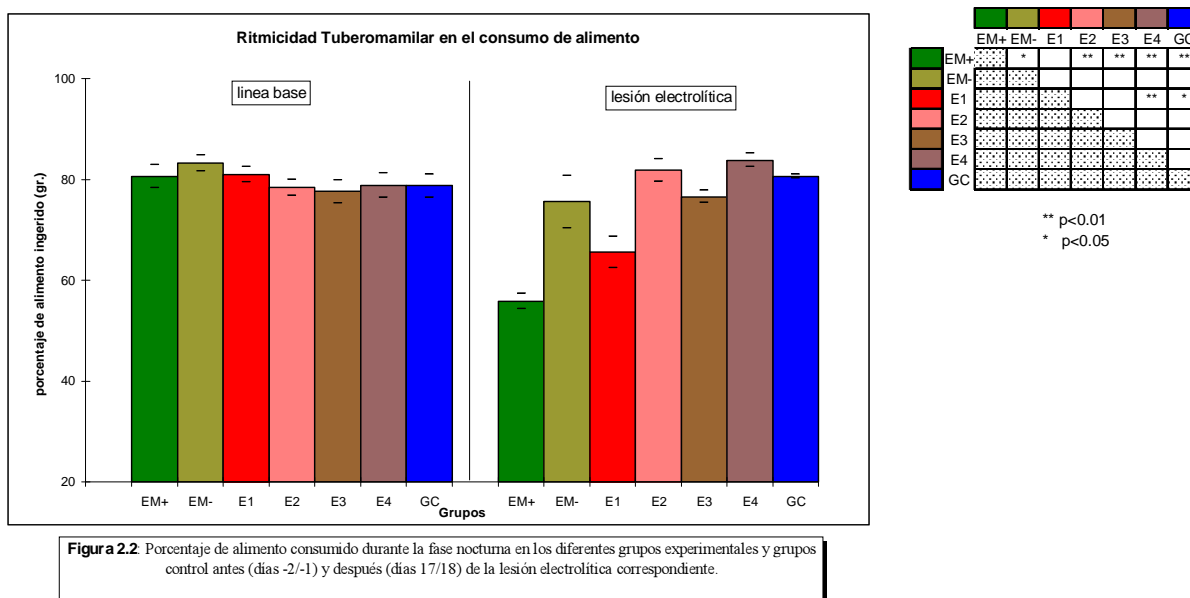


Figura 2.2 Porcentaje de alimento consumido durante la fase nocturna en los diferentes grupos experimentales y grupos control antes (días -2/-1) y después (días 17/18) de la lesión electrolítica correspondiente.

Discusión.

Los resultados obtenidos en este estudio, sugieren que la polidipsia inducida por lesiones electrolíticas en los núcleos tuberomamilares (E1, E2, E3 y E4) puede ser una entidad diferente del modelo de diabetes insípida propuesto por Rolls (1970), e inducido mediante lesiones anódicas en la eminencia media (EM+).

De acuerdo con los datos disponibles, se podría concluir que las lesiones tuberomamilares no interfieren con la ritmicidad en la toma de agua. Estos animales aun siendo polidípsicos son capaces de distribuir su ingesta a lo largo del día de forma semejante a los sujetos controles, confirmando los resultados de Morales et al., (1986) tras lesiones del hipotálamo posterior.

Especialmente llamativa es la ausencia de oscilación observada en la ingesta de comida en el núcleo tuberomamilar ventral E1 (ver fig. 2.2). Existe la posibilidad de que esta falta de ritmicidad pueda ser explicada por una necesidad permanente de tomar alimentos (por causas desconocidas por el momento), de modo análogo a lo que sucede en la diabetes insípida (Rolls, 1970). Una alteración en alguna de las vías de regulación circadiana no puede descartarse tampoco, aunque habría que aclarar por qué no sucede algo parecido en el resto de los núcleos localizados ventralmente (E2 y E3). En cualquier caso, es difícil que este efecto comportamental pueda deberse a la destrucción de estructuras ventromediales (entre ellas la eminencia media) ya que estas regiones se encuentran muy distantes anatómicamente.

Los resultados que acabamos de describir contrastan claramente con los obtenidos en los animales con lesión anódica de la eminencia media, donde la ritmicidad en los parámetros de estudio, agua y comida, se ve profundamente afectada después de la lesión. El consumo nocturno de agua observado, implica que estos sujetos distribuyen la ingesta de forma continua a lo largo del día, contrariamente a lo manifestado por los animales tuberomamilares y controles.

CAPÍTULO I

Asimismo, también se ha comprobado que la ritmicidad en la ingesta de alimento ha quedado alterada en estos animales (EM+), posiblemente debido al efecto hiperfágico resultante de la amplia lesión efectuada, que incluye a los núcleos mediobasales-periventriculares hipotalámicos.

En resumen pues, los resultados de este experimento parecen confirmar que la polidipsia tuberomamilar y la diabetes insípida experimentalmente inducida, muestran disparidades fundamentales en el patrón rítmico del consumo de agua, lo que puede considerarse como un índice diferencial entre los dos tipos de hiperdipsia.

EXPERIMENTO 3.

Prandialidad y la polidipsia Tuberomamilar.

Los resultados obtenidos hasta el momento reflejan unos cuadros polidípsicos propios, con unas características particulares, para cada grupo experimental estudiado.

Un último objetivo de esta serie experimental pretende examinar si las polidipsias descritas anteriormente, se deben a una alteración en el equilibrio de fluidos del organismo o por el contrario es dependiente de mecanismos no-homeostáticos secundarios como puede ser un marcado déficit salivatorio, la denominada, sed prandial (Epstein et al, 1964; Kissilef, 1969; citado por Ramos (1987). Característicamente, los animales prandiales alternan repetidamente el consumo de pequeñas cantidades de comida con la ingesta de pequeñas cantidades de agua. Este hecho determina que la frecuencia y la cantidad total de agua consumida por estos sujetos a lo largo de una comida sea muy superior a la registrada en los animales normales.

Estos déficits salivares, con el patrón comportamental descrito, pueden generarse seccionando los pares craneales que transcurren por el oído medio en dirección a las glándulas salivares (Ramos et al, 1991). Este proceso se puede efectuar introduciendo bilateralmente por el canal auditivo externo las barras auditivas estereotáxicas quirúrgicas. Los resultados muestran que la prandialidad desarrollada por el déficit salivar, provoca en los animales un efecto polidípsico significativo dependiente del consumo de alimento seco (Ramos et al, 1991).

En función de estos datos, el presente estudio pretende comprobar si la polidipsia tuberomamilar y diabética (lesión electrolítica en la eminencia media), poseen una entidad totalmente diferente a la sed prandial de carácter no-homeostático

CAPÍTULO I

desarrollada en otros estudios (Epstein, et al 1954, 1964; Kissilef, 1969; citados por Ramos et al, 1987).

Método.

Sujetos.

Se utilizaron los mismos 38 animales de los experimentos anteriores, que como ya se dijo previamente han permanecido en situaciones ad lib. de agua y comida. Las condiciones medioambientales a las que estuvieron sometidos los animales del presente experimento fueron similares a las descritas en los trabajos previos.

Procedimiento Quirúrgico.

No se añadió ninguna intervención quirúrgica adicional.

Procedimiento Experimental.

En el periodo preoperatorio (6 días antes de efectuar la lesión electrolítica correspondiente), se privó a los animales durante un periodo de 24 horas de su comida habitual (alimento seco: pienso compuesto “sandermus”, Sanders S.A, Madrid). Los sujetos disponían de agua ad libitum durante todo el día. Transcurridas las 24 horas de privación, se les devolvía la comida y se registraba el número de respuestas de toma de agua emitidas por los animales durante un periodo de 2 horas, comprendido entre las 10: a.m y las 12 a.m.

En el último día de la serie experimental (día 21), los 38 animales fueron sometidos al mismo procedimiento experimental seguido durante la línea base y descrito más arriba. Asimismo, también se registró la cantidad de agua bebida en el periodo que estuvieron privados de alimento.

Análisis Estadístico.

El análisis estadístico de los resultados globales se ha realizado mediante el empleo de una prueba no paramétrica Kruskal-Wallis con el objetivo de comparar los resultados obtenidos en las variables analizadas entre los diferentes grupos lesionados y los grupos control en general.

A su vez, también se utilizaron pruebas de Kolmogorov-Smirnov para analizar las comparaciones entre los grupos experimentales y grupos control, así como entre los diferentes grupos lesionados entre sí en cada una de las variables estudiadas.

Por otra parte, también se utilizó el Anova de Friedman (análisis intragrupo) para evaluar las posibles diferencias en las variables ya referidas en cada grupo lesionado y grupo control. En el caso de existir resultados significativos, se pasó a un análisis más detallado con la prueba de Wilcoxon, realizando comparaciones Pre-Post en la condición de prandialidad (antes y después de la intervención quirúrgica), así como en la ingesta de agua postoperatoria (antes y después de la privación de comida) en cada uno de los diferentes grupos experimentales y grupos control.

Histología.

Concluidos los experimentos anteriores, todos los animales fueron profundamente anestesiados con una sobredosis de pentotal sódico (i.p) (Lab. Abbott, 80 mg/Kg). A continuación, se abría la pared torácica izquierda para acceder al corazón procediendo a su perfusión.

Finalizada la perfusión intracardiaca, el encéfalo era extraído mediante la apertura del cráneo por su región dorsal, introduciéndolo a continuación en una solución de formaldehído al 10% (formaldehído, Probus S.A. Barcelona), para su posterior laminación y examen microscópico.

CAPÍTULO I

Los cerebros fueron laminados mediante un microtomo de congelación (Leitz). Los cortes obtenidos presentaban un grosor de 60 micras aproximadamente, montándose en portaobjetos para su posterior examen bajo microscopio (microscopio estereoscópico UMZ-4F, Olympus. Tokio, Japón) a fin de comprobar la localización y extensión de las lesiones. Las láminas histológicas más representativas fueron dibujadas y microfotografiadas (Olympus Optical, mod PM-G, Japón), presentándose a continuación.



Ilustración 1.- Microfotografía de un corte frontal del cerebro a nivel del hipotálamo posterior, en la cual se observan las lesiones electrolíticas bilaterales del núcleo **tuberomamilar ventral caudal (E1)**, en un animal representativo (rata nº 25). Anterioridad: + 4.20.



Ilustración 2.- Microfotografía de un corte frontal del cerebro a nivel del hipotálamo posterior, en la cual se observan las lesiones electrolíticas bilaterales del núcleo **tuberomamilar ventral rostral (E2)**, en un animal representativo (rata nº 5). Anterioridad: + 4.70.

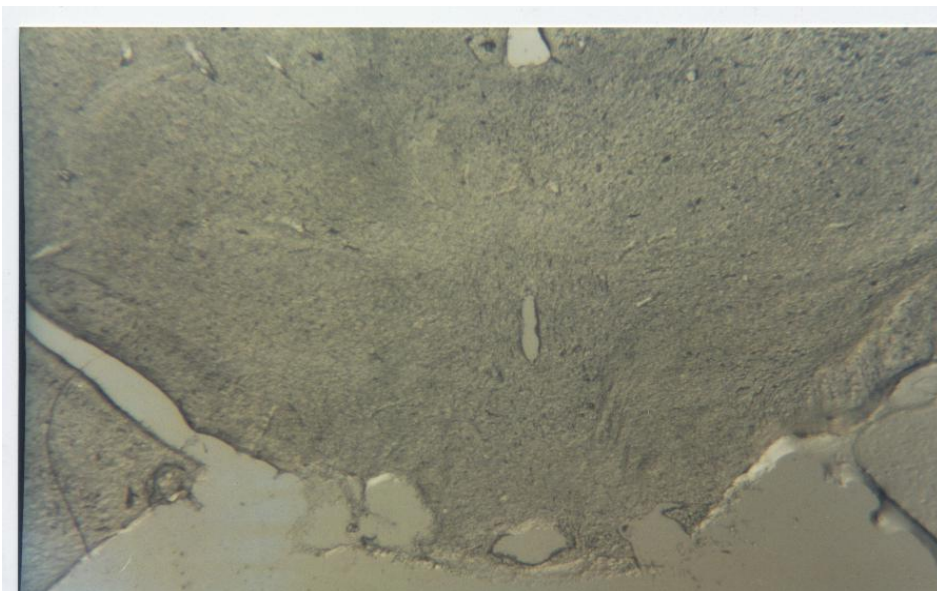


Ilustración 3. Microfotografía de un corte del cerebro a nivel del hipotálamo posterior, en la cual se observan las lesiones electrolíticas bilaterales del núcleo **tuberomamilar medial ventral (E3)** en un animal representativo (rata nº 39). Anterioridad: + 4.70.

CAPÍTULO I



Ilustración 4. Microfotografía de un corte frontal del cerebro a nivel del hipotálamo posterior, en la cual se observan las lesiones electrolíticas bilaterales del núcleo **tuberomamilar medial dorsal (E4)**, en un animal representativo (rata nº 31). Obsérvese el tracto del electrodo (t). Anterioridad: + 5.20.

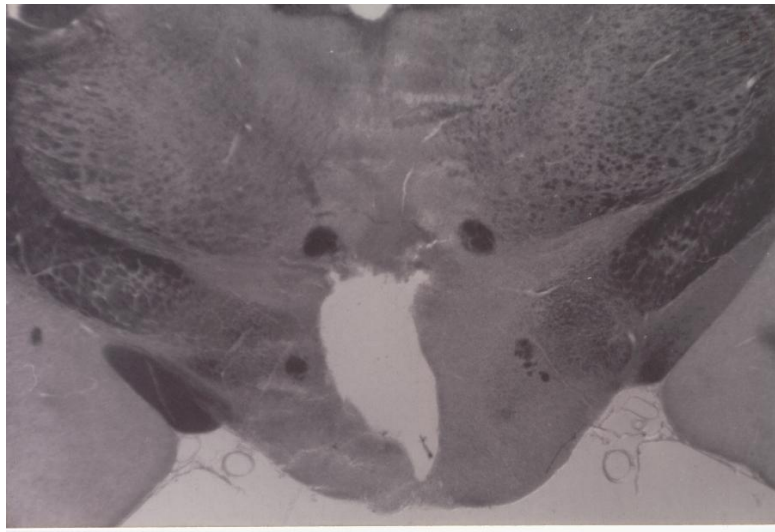
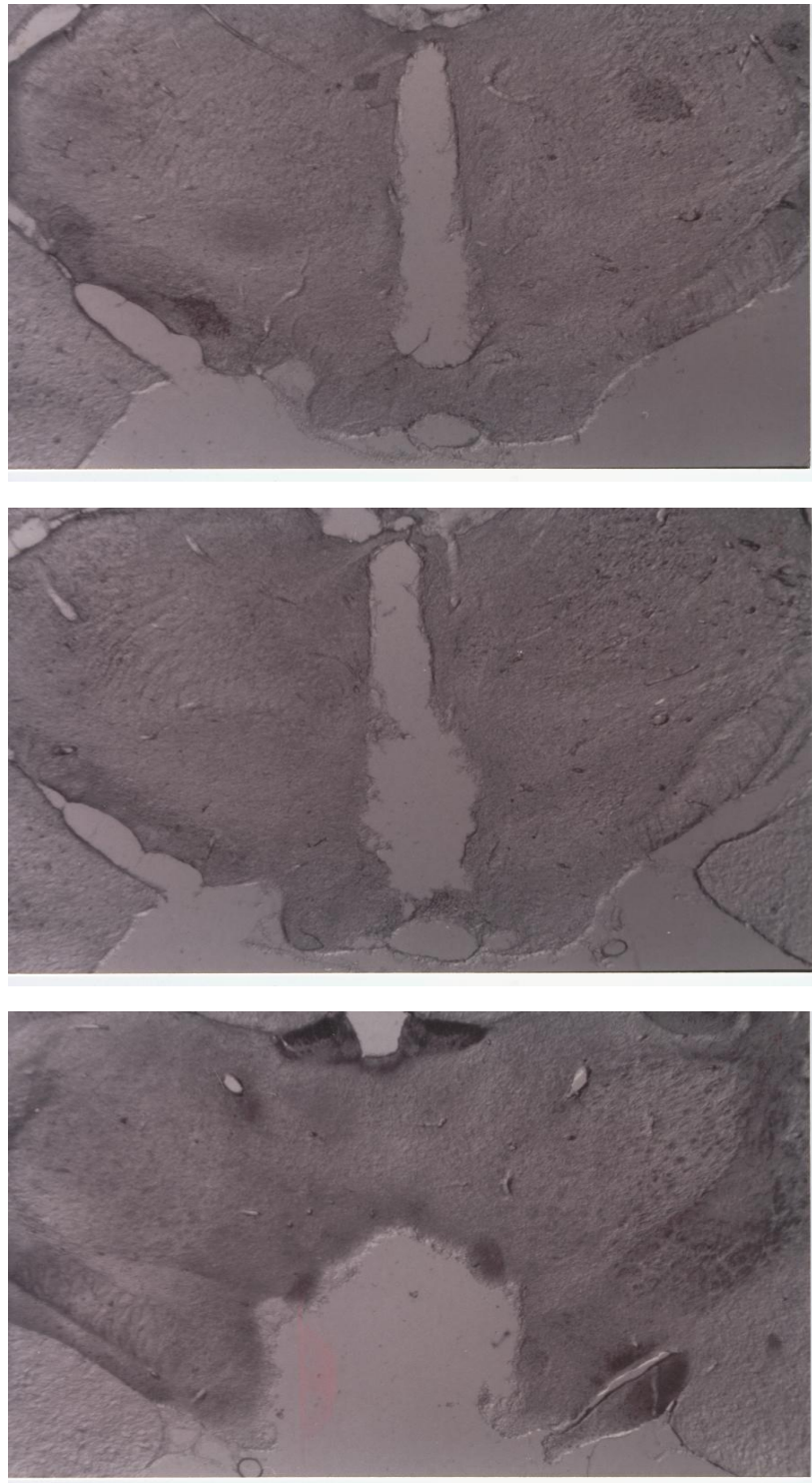


Ilustración 5. Microfotografía de un corte frontal del cerebro, en la cual se observan las lesiones electrolíticas bilaterales catódicas de la **eminencia media (EM-)**, en un animal representativo (rata nº 9). Anterioridad: + 6.44.



Ilustraciones 6, 7 y 8. Microfotografías de varios cortes frontales del cerebro (caudal-rostral) en las cuales se observan las lesiones electrolíticas bilaterales anódicas de la eminencia media (EM+) en un animal representativo (rata n° 29). Anterioridad: + 6.44. Obsérvese la gran extensión de la lesión, que alcanza incluso zonas del hipotálamo posterior anteriormente observadas.

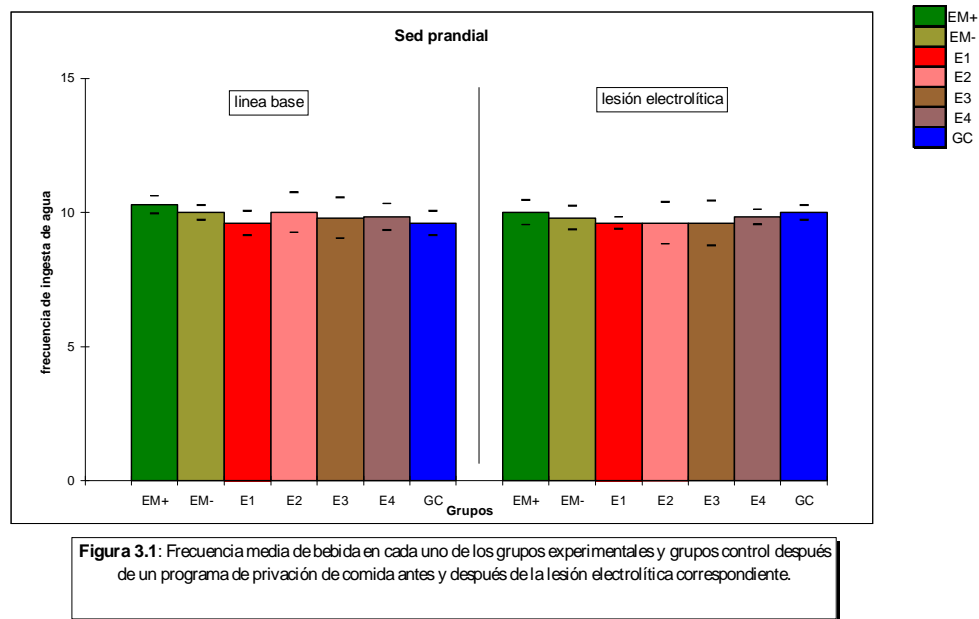
CAPÍTULO I

Resultados.

En relación a la frecuencia media de consumo de agua en el día posterior a la privación de comida (periodo preoperatorio) no se observaron diferencias significativas entre los grupos experimentales y grupos control a nivel global { $H(6,38) = 1.37, p > .9673$ } (ver fig. 3.1).

Posteriormente y cuando los animales fueron evaluados después de la intervención quirúrgica (día 21), tampoco se detectaron diferencias significativas en la frecuencia media de bebida entre los diferentes grupos experimentales y grupos control { $H(6, 38) = 1.47, p > .96$ } (fig. 3.1).

Por su parte, el análisis intragrupo tampoco reveló diferencias significativas en cada uno de los grupos lesionados y grupos control en la prueba de prandialidad cuando se llevaron a cabo las comparaciones entre el periodo preoperatorio y postquirúrgico {**EM+** $Z = .52, p = .60$; **EM-** $Z = .53, p = .59$; **E1** $Z = .00, p = 1.00$; **E2** $Z = .67, p = .50$; **E3** $Z = .40, p = .68$; **E4** $Z = .00, p = 1.00$; **GC** $Z = .64, p = .51$ }.



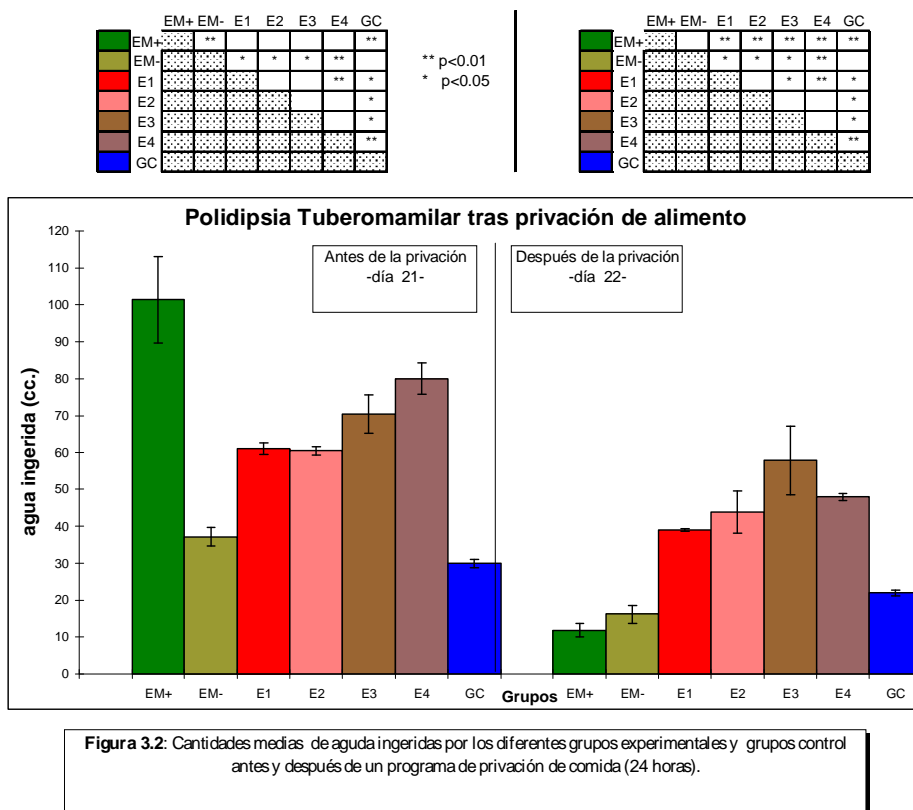
Sin embargo, sí se observaron grandes diferencias en la ingesta de agua entre los diversos grupos en general en el día posterior a la privación de comida, $\{H(6,38) = 32.05, p < .0000\}$ (ver fig. 3.2).

El hecho más destacado fue que el grupo con lesión anódica en la eminencia media (EM+), ante la privación de alimento redujo drásticamente su ingesta de agua, hasta tal punto que todos los grupos experimentales (a excepción del EM-), incluso el grupo control no lesionado, bebieron significativamente más que el grupo diabético $\{EM+ \text{ vs. } E4 \text{ } D(7,6) = -1.00, p < .01\}$ $\{EM+ \text{ vs. } E1, E2, E3, GC \text{ } D(7,5) = -1.00, p < .01\}$ (fig. 3.2). Este resultado no deja de ser llamativo, ya que en el día anterior a la privación de comida, el grupo con lesión anódica en la eminencia media (EM+) mostraba una clara respuesta polidípica, ingiriendo significativamente más agua que el grupo control no lesionado $\{EM+ \text{ vs. } GC \text{ } D(7,5) = 1.00, p < .01\}$.

Finalmente, y por lo que respecta a los grupos tuberomamilares, si bien alguno de ellos disminuyó su ingesta ante el programa de privación con respecto al día previo $\{E1 \text{ } Z = 2.02, p = .0431; E4 \text{ } Z = 2.20, p = .0277\}$, siguieron consumiendo grandes cantidades de agua, significativamente por encima del grupo

CAPÍTULO I

control (falsa lesión), {E1, E2, E3 vs. GC $D(5,5) = 1.00, p < .025$ } {E4 vs. GC $D(6,5) = 1.00, p < .01$ } (ver fig. 3.2).



Discusión.

La privación de comida durante 24 horas no modifica la ingesta polidíptica de los animales tuberomamilares. En ausencia de alimento, estos animales (incluso los lesionados en los núcleos tuberomamilares ventrales E1 y E2) continúan consumiendo mayores cantidades de agua que los sujetos controles de falsa lesión (GC), un hecho que coincide con los resultados obtenidos por Santacana y asociados tras lesiones en los cuerpos mamilares (Tejedor Del Real et al, 1972).

Por otra parte, los datos obtenidos sugieren que la frecuencia de ingesta de agua, en presencia de comida seca, no difiere entre los sujetos tuberomamilares y el

grupo control (falsa lesión), lo que indica que la polidipsia observada no parece deberse a cambios producidos en la secreción salivar, es decir, a factores de carácter no homeostático (sed prandial) (ver fig. 3.1). Es más, los resultados observados en la prueba de prandialidad se encuentran muy lejos de las frecuencias descritas en programas semejantes llevados a cabo por otros autores (Ramos et al., 1991).

En cualquier caso, y dentro de esta misma línea, resulta llamativo, que si bien la hiperdipsia manifestada en el grupo eminencia media positivo (lesión anódica), tampoco obedece a factores prandiales, el hecho de privarlos de comida durante 24 horas, hace que desaparezca el elevado consumo de agua presentado hasta ese momento. Estos resultados, que parecen señalar un potente efecto de la variable alimento en la polidipsia diabética, ya habían sido sugeridos antiguamente por varios autores, quienes señalaban que los animales que desarrollaban diabetes insípida (neurohipofisectomizados), veían disminuida considerablemente su ingesta de líquidos y respuesta poliúrica en situaciones de ayuno (Curtis, 1924; Richter, 1938 Swann, 1939).

EXPERIMENTO 4

Efectos de las lesiones electrolíticas de los núcleos tuberomamilares ventrales sobre la nutrición.

Los resultados del experimento anterior (ver exp.1- fig. 1.8) han puesto de manifiesto que la manipulación (lesiones electrolíticas) de los núcleos tuberomamilares ventrales E1 y E2 producen un incremento significativo en la ingesta de comida.

Estos datos parecen apoyar la hipótesis de que el sistema tuberomamilar ventral puede jugar un papel relevante en la regulación del equilibrio energético.

Es posible, que este efecto hiperfágico pueda ser explicado de acuerdo con diversas observaciones que señalan que las manipulaciones farmacológicas del complejo tuberomamilar pueden tener un efecto significativo en el comportamiento nutritivo.

En efecto, estudios comportamentales y electrofisiológicos, han demostrado que el bloqueo de la síntesis de histamina, neurotransmisor sintetizado exclusivamente en el complejo tuberomamilar (Onodera et al., 1994; Wada et al., 1991), o de sus receptores, provoca un aumento en el consumo de alimento de los animales sin cambios relevantes en la ingesta de agua y excreción de orina (Doi et al., 1994; Fukogawa et al., 1989; Masaki et al., 2001, 2001; Morimoto et al., 2000; Ookuma et al., 1989; Sakata et al., 1988, 1990, 1991; Tuomisto et al., 1994).

Por el contrario, la administración central de histamina o de fármacos que potencian su acción, disminuyen la ingesta de comida tanto en animales (Brown et al., 2001; Clineschmidt et al., 1973; Fukogawa et al., 1989; Itoh et al., 1999; Lecklin et al., 1998; Masaki et al., 2001, 2001; Morimoto et al., 2000; Tuomisto et al., 1994; Wagner et al., 1963) como en seres humanos (Clineschmidt et al., 1973).

CAPÍTULO I

En relación con este punto, algunos investigadores han propuesto que el efecto supresor del apetito llevado a cabo por las fibras tuberomilares podría explicarse por la activación de estructuras hipotalámicas implicadas en la integración de las señales nutritivas (Adam et al., 1996; Arletti et al., 1989; Fei et al., 1997; Flier et al., 1998; Inui, 1999; Fujimoto et al., 1989; Lecklin et al., 1998; Orthen-Gambill et al., 1992; Palacios et al., 1981; Schwartz et al., 1991; Seckl et al., 1988; Stricker et al., 1987; Verbalis et al., 1986).

De hecho, estudios neurohistoquímicos han confirmado la presencia de numerosas fibras tuberomilares y receptores histaminérgicos en regiones mediales periventriculares hipotalámicas, como en el caso de los núcleos paraventricular y ventromedial que juegan un papel importante en el control y regulación del equilibrio energético (Charnay et al., 1999; Choi et al., 1999; Doi et al., 1995; Elmquist et al., 1999; Flier et al., 1998; Hakansson et al., 1996, 1998; Havel et al., 2000; Hetherington y Ranson, 1940; Huang et al., 1996; Inui, 1999; Mercer et al., 1996; Nicolaidis, 1999; Swaab et al., 1995; Woods et al., 1998).

En función de estos datos, se podría hipotetizar que el efecto hiperfágico observado en los sujetos tuberomilares ventrales E1 y E2 (ver experimento 1- fig. 1.8) puede estar relacionado con el daño provocado a estas fibras tuberomilares resultando en un aumento en la ingesta de comida de los animales.

Dadas las semejanzas morfológicas, estructurales (Ericson et al., 1987; Köhler et al., 1985; Schwartz et al., 1991; Watanabe et al., 1984) y funcionales (obsérvese como las lesiones electrolíticas de ambos núcleos hipotalámicos presentan el mismo cuadro o patrón en la ingesta de comida) entre los núcleos tuberomilares ventrales E1 y E2 podría ser relevante analizar las consecuencias que podría tener sobre el consumo de alimento la destrucción conjunta (E1+E2) (lesiones electrolíticas) de ambas regiones del hipotálamo posterior.

Si se tienen en cuenta los datos comentados anteriormente, cabría esperar un incremento significativo en el comportamiento hiperfágico de los animales tuberomamilares, y el consiguiente aumento en peso corporal .

Con el objetivo de examinar esta hipótesis, se realizó el presente experimento.

Método.

Sujetos.

Se utilizaron 14 ratas macho de la cepa Wistar, suministradas por el servicio de Animalario de la Comisión de servicios técnicos de la Universidad de Granada, y cuyo peso al principio del estudio oscilaba entre 250-320 gramos. A su llegada al laboratorio, los animales fueron mantenidos en las mismas condiciones de los experimentos previos, es decir, con comida y agua ad libitum hasta el momento de la intervención quirúrgica.

Procedimiento Quirúrgico.

El procedimiento quirúrgico empleado fue idéntico al utilizado en el experimento 1, si bien hay que significar que en este caso los animales experimentales recibieron lesiones electrolíticas bilaterales en 2 regiones anatómicas diferentes (núcleo tuberomamilar ventral caudal (E1) y núcleo tuberomamilar ventral rostral (E2). En cuanto a los grupos control (lesión ficticia), el procedimiento fue el mismo que el utilizado en los animales lesionados, excepto que el electrodo sólo alcanzó la parte más dorsal de ambas estructuras tuberomamilares (E1+E2), sin ser introducido en el núcleo, y sin que se pasase corriente eléctrica alguna.

CAPÍTULO I

Procedimiento Experimental.

Inicialmente, los 14 animales fueron asignados de forma aleatoria al grupo experimental o control, quedando distribuidos de la siguiente forma: grupo experimental E1+E2 (n=8); grupo control E1+E2 (n=6).

Antes de la intervención quirúrgica, y durante un periodo de 7 días, los animales fueron instalados en condiciones de agua y comida ad libitum (pienso compuesto “sandermus”, Sanders, S.A, Madrid). Posteriormente, y como línea base de cada animal, se registró la cantidad de agua y comida ingerida así como el peso corporal durante los 4 días anteriores a ser sometidos al proceso quirúrgico.

El registro de la cantidad de agua y comida ingerida en la fase preoperatoria se realizó de forma idéntica a la descrita en los capítulos anteriores.

Finalizada la intervención, y una vez definidos el grupo experimental y control, se cuantificó el consumo de agua y comida de los animales así como el peso corporal de los mismos. Los resultados obtenidos durante el periodo de 25 días que duró la fase experimental fueron subdivididos en una serie de bloques, que representan las distintas fases conductuales observadas.

Análisis Estadístico.

Se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov con el objetivo de evaluar las diferencias entre el grupo lesionado y su respectivo grupo control en cada uno de los bloques establecidos en el transcurso del experimento.

Histología.

Se realizó, siguiendo el procedimiento descrito en el experimento anterior.

Resultados.

INGESTA DE COMIDA.

En cuanto a la ingesta de alimento, los resultados más relevantes fueron los siguientes:

Durante el periodo preoperatorio (línea base), no se observaron diferencias significativas entre el grupo tuberomamilar E1+E2 y su grupo control en la ingesta de comida { $D(8,6) = .16, p = n.s$ } (fig. 4.1- día -1).

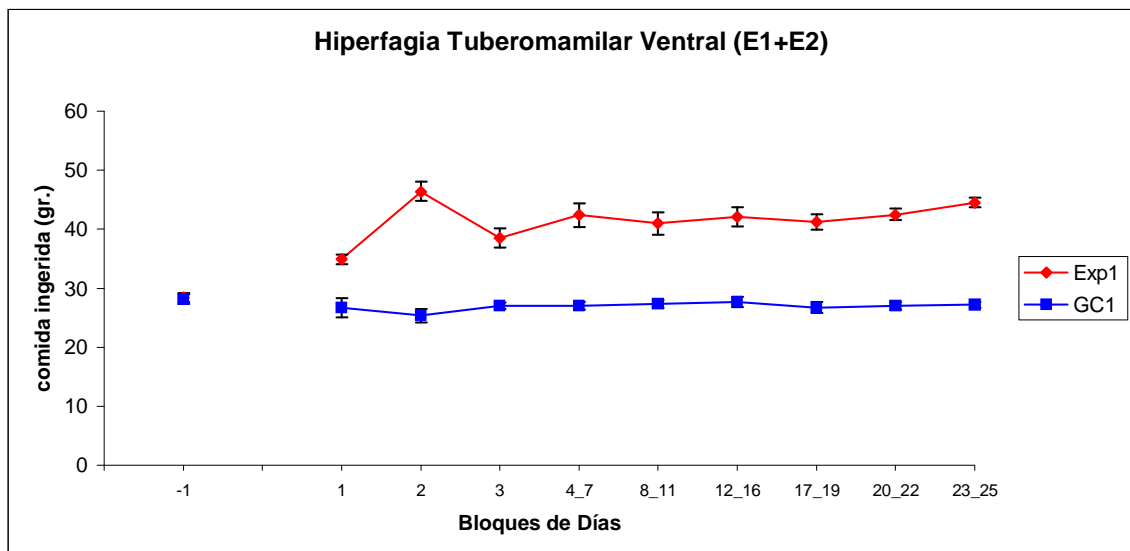


Figura 4.1: Cantidades medias de alimento ingeridas por el grupo experimental tuberomamilar ventral (E1+E2) y grupo control a lo largo de diferentes bloques de días tras la lesión electrolítica sumativa correspondiente.

Gr.Exp. Vs GC	L.B (-1)	Blo.1	Blo.2	Blo.3	Blo.4/7	Blo.8/11	Blo.12/16	Blo.17/19	Blo.20/22	Blo.23/25
	n.s	**	**	**	**	**	**	**	**	**

** p<0.01

* p<0.05

CAPÍTULO I

Sin embargo, durante el periodo postoperatorio, el consumo de alimento fue siempre significativamente superior en el grupo tuberomamilar lesionado que en los animales pertenecientes al grupo control en todos los bloques de días del experimento { **Bloque 1** $D(8,6) = 1,00, p < .005$; **Bloque 2** $D(8,6) = 1,00, p < .005$, **Bloque 3** $D(8,6) = 1,00, p < .005$; **Bloque 4/7** $D(8,6) = 1,00, p < .005$; **Bloque 8/11** $D(8,6) = 1,00, p = .005$; **Bloque 12/16** $D(8,6) = 1,00, p < .005$; **Bloque 17/19** $D(8,6) = 1,00, p < .005$; **Bloque 20/22** $D(8,6) = 1,00, p < .005$; **Bloque 23/25** $D(8,6) = 1,00, p < .005$ } (ver fig. 4.1).

INGESTA DE AGUA.

En el periodo de línea base (preoperatorio), no se observaron diferencias significativas entre el grupo lesionado tuberomamilar E1+E2 y grupo control en la ingesta de agua { $D(8,6) = .25, p = n.s$ } (fig. 4.2- día -1).

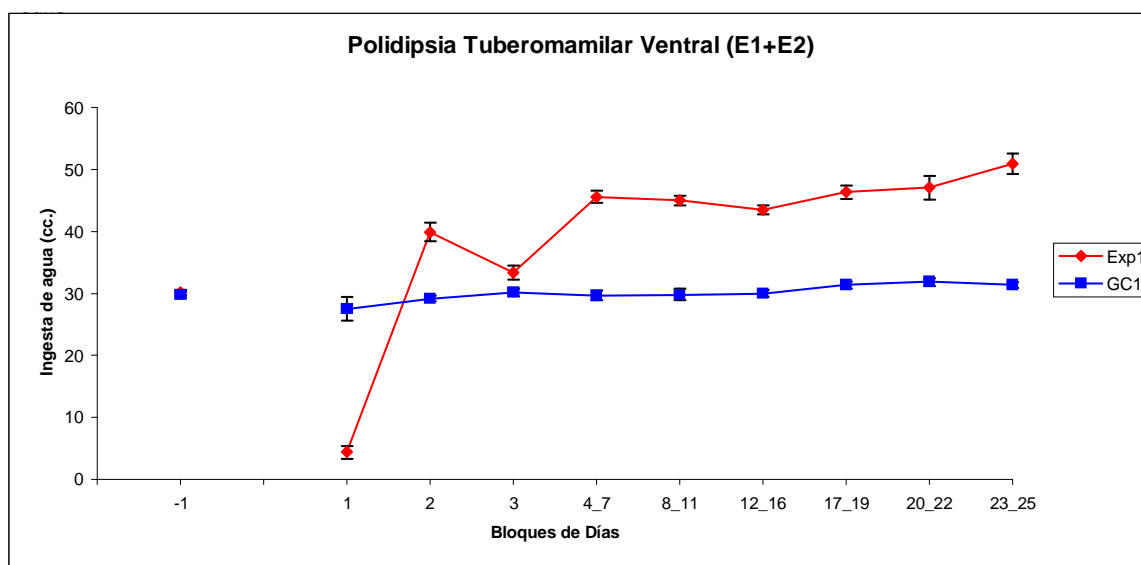


Figura 4.2: Cantidades medias de agua ingeridas por el grupo experimental tuberomamilar ventral (E1+E2) y grupo control a lo largo de diferentes bloques de días tras la lesión electrolítica sumativa correspondiente.

Gr.Exp. Vs GC	L.B (-1)	Blo.1	Blo.2	Blo.3	Blo.4/7	Blo.8/11	Blo.12/16	Blo.17/19	Blo.20/22	Blo.23/25
	n.s	**	**	n.s	**	**	**	**	**	**

** p<0.01

* p<0.05

Una vez realizada la intervención quirúrgica, los animales experimentales muestran un consumo de agua significativamente superior que los sujetos pertenecientes al grupo control no lesionado en todos los bloques de días analizados, exceptuando el día 1 (bloque 1), donde la ingesta tuberomamilar es menor respecto al grupo control y día 3 (bloque 3) que no revela diferencias significativas entre los animales del experimento {**Bloque 1** $D(8,6) = -1,00, p < .005$; **Bloque 2** $D(8,6) = 1,00, p < .005$; **Bloque 3** $D(8,6) = .58, p = n.s$; **Bloque 4/7** $D(8,6) = 1,00, p < .005$; **Bloque 8/11** $D(8,6) = 1,00, p = .005$; **Bloque 12/16** $D(8,6) = 1,00, p < .005$; **Bloque 17/19** $D(8,6) = 1,00, p < .005$; **Bloque 20/22** $D(8,6) = 1,00, p < .005$; **Bloque 23/25** $D(8,6) = 1,00, p < .005$ }(ver fig. 4.2).

PESO CORPORAL.

Las comparaciones efectuadas entre el grupo experimental y grupo control en el peso corporal (grs.) no difieren estadísticamente en el periodo de línea base { $D(8,6) = .20, p = n.s$ } (fig. 4.3- día -1).

Posteriormente, y una vez realizada la intervención quirúrgica se observa un incremento significativo en el peso corporal de los animales lesionados con respecto al grupo control fundamentalmente a partir del día 12 del experimento (bloque 12/16) {**Bloque 12/16** $D(8,6) = .75, p < .05$; **Bloque 17/19** $D(8,6) = .87, p < .025$; **Bloque 20/22** $D(8,6) = .87, p < .025$; **Bloque 23/25** $D(8,6) = 1,00, p < .005$ } (fig. 4.3).

CAPÍTULO I

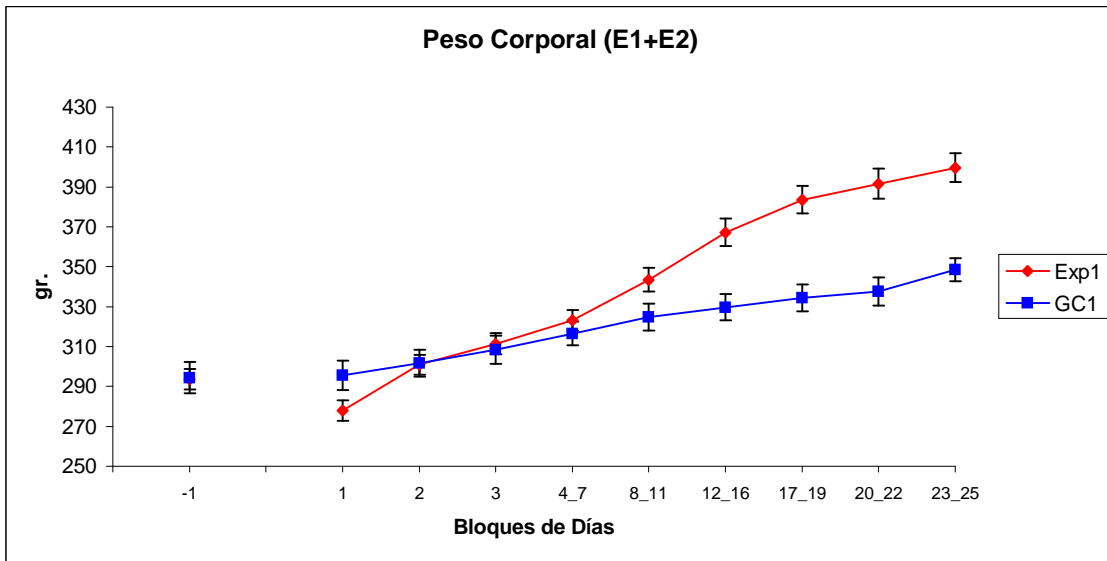


Figura 4.3: Variaciones en el peso corporal manifestadas por el grupo experimental tuberomamilar (E1+E2) y grupo control a lo largo de los diferentes bloques de días tras la lesión electrolítica sumativa correspondiente.

	L.B (-1)	Blo.1	Blo.2	Blo.3	Blo.4/7	Blo.8/11	Blo.12/16	Blo.17/19	Blo.20/22	Blo.23/25
Gr.Exp. Vs GC	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	*	**	**	**

** p<0.01

* p<0.05

Discusión.

En el apartado nutritivo, la manipulación experimental (lesiones electrolíticas E1+E2) de estas regiones tuberomamilares del hipotálamo posterior produce un incremento significativo en la ingesta de comida. En este caso sin embargo, hay que destacar que las lesiones bilaterales E1+E2 de los núcleos tuberomamilares ventrales, originan un comportamiento hiperfágico temprano (bloque 1) que permanece estable a lo largo del experimento, y que finalmente se ve reflejado en la mayor ganancia de peso corporal por parte de los animales lesionados con respecto al grupo control (figs. 4.1 y 4.3).

Todo parece indicar, que la mayor destrucción tuberomamilar como consecuencia de las lesiones bilaterales sumativas “E1+E2”, podría explicar el efecto hiperfágico más potente y duradero que se observa en el presente trabajo experimental.

En relación con esta interpretación, estudios neurohistoquímicos han confirmado la presencia de numerosas vías tuberomamilares (Adam et al., 1966; Inagaki et al., 1988; Lecklin et al., 1998; Panula et al., 1989; Watanabe et al., 1984) en regiones mediales periventriculares hipotalámicas que incluirían a los núcleos paraventricular y ventromedial tan relevantes en el control y regulación del equilibrio energético (Charnay et al., 1999; Choi et al., 1999; Doi et al., 1995; Elmquist et al., 1999; Flier et al., 1998; Hakansson et al., 1996, 1998; Havel et al., 2000; Hetherington y Ranson, 1940; Huang et al., 1996; Inui, 1999; Mercer et al., 1996; Nicolaidis, 1999; Swaab et al., 1995; Woods et al., 1998).

CAPÍTULO I

Por ejemplo, y con respecto al núcleo Paraventricular (PAV), existen numerosos estudios que resaltan la importancia de este centro hipotalámico en la nutrición (Choi et al., 1999; Havel et al., 2000; Swaab et al., 1995; Woods et al., 1998) como lo demuestra el hecho de que recientemente se haya demostrado un incremento en su actividad tras la administración central de leptina, tanto en ratones normales como en animales genéticamente obesos (Elmqvist et al., 1999) así como una abundante presencia de receptores de leptina en el núcleo paraventricular (Fei et al., 1997; Hakansson et al., 1996, 1998; Huang et al., 1996; Mercer et al., 1996; Yarnell et al., 1998).

La implicación del PAV en el comportamiento nutritivo también ha sido observada en diversos estudios clínicos. Así por ejemplo, Smeets et al., (1992) han puesto de manifiesto una serie de alteraciones en las neuronas paraventriculares de personas que padecen el síndrome de Prader-Willi (PWS) (trastorno que en la mayoría de los casos (70%) se encuentra relacionado con una delección del brazo largo del cromosoma 15 (Martín et al., 1998) y que cursa con retraso mental, hipogonadismo, corta estatura, además de hiperfagia y obesidad.

Algunos años antes, Hetherington y Ranson (1940) pusieron de manifiesto la relevancia de otro centro hipotalámico, el núcleo ventromedial (HVM), en el control y regulación de la conducta nutritiva. La destrucción del hipotálamo ventromedial provocaba un incremento notable en la ingesta de comida (hiperfagia) de los animales (ratas), y como consecuencia de ello una ganancia de peso corporal. Por el contrario, la estimulación eléctrica de dicha región en sujetos privados de alimento, producía un descenso significativo en el consumo de alimento (hipofagia) (Morley, 1980; Nicolaidis, 1999).

Por otra parte, este experimento es compatible con estudios comportamentales y electrofisiológicos que han demostrado que el bloqueo de la síntesis de histamina, neurotransmisor sintetizado exclusivamente en el complejo tuberomamilar (Onodera et al., 1994; Wada et al., 1991) o de sus receptores, produce un incremento en la ingesta de comida de los animales (Doi et al., 1994;

Fukogawa et al., 1989; Masaki et al., 2001, 2001; Morimoto et al., 2000; Sakata et al., 1994, 1988; Tuomisto et al., 1994).

En este sentido, se ha comprobado que ratas Zucker, genéticamente obesas, muestran niveles histaminérgicos más bajos (7 veces) que los animales normales, lo cual sugiere que la histamina tuberomamilar podría estar implicada de algún modo en el mantenimiento homeostático del equilibrio energético (Brown et al., 2001; Sakata et al., 1991).

Por el contrario, la administración central de histamina o fármacos que potencian su acción, disminuyen la toma de alimento tanto en animales (Brown et al., 2001; Clineschmidt et al., 1973; Fukogawa et al., 1989; Itoh et al., 1999; Lecklin et al., 1998; Masaki et al., 2001, 2001; Morimoto et al., 2000; Tuomisto et al., 1994), como en seres humanos (Clineschmidt et al., 1973).

Recientemente, estos datos se han visto apoyados por el hecho de que la activación del sistema tuberomamilar histaminérgico podría controlar el efecto anoréctico inducido por la hormona leptina en algunos centros hipotalámicos (Fukogawa et al., 1977; Itoh et al., 1999; Masaki et al., 2001, 2001; Morimoto et al., 2000).

Así, se ha podido comprobar que el tratamiento crónico central con histamina contribuye a mejorar las alteraciones en el equilibrio energético que manifiestan los animales obesos db/db (alteración del receptor de leptina) (Chen et al., 1996; Masaki et al., 2001).

Sin embargo, la histamina no ha sido implicada en la ingesta de agua (Doi et al., 1994; Fukogawa et al., 1989; Orthen-Gambill et al., 1992; Sakata et al., 1984, 1994; Tuomisto et al., 1994), lo cual sugiere que probablemente tampoco esté relacionada con la polidipsia tuberomamilar ventral observada en este estudio (fig. 4.2).

CAPÍTULO I

Las células tuberomamilares contienen en sus terminales un amplio número de péptidos así como otros neuromoduladores y neurotransmisores que pueden desempeñar una función destacada en este comportamiento. De hecho, algunas de estas sustancias se localizan en subpoblaciones de neuronas histaminérgicas, donde podrían actuar como co-transmisores modulando las funciones hídricas de estas células (Airaksinen et al., 1992; Brown et al., 2001; Köhler et al., 1986; Onodera et al., 1994; Pasanni et al., 2000; Saper et al., 1989; Schwartz et al., 1991; Staines et al., 1987; Wada et al., 1991).

Además, se da la circunstancia de que los núcleos tuberomamilares ventrales E1 y E2 emiten una gran cantidad de proyecciones hacia regiones o centros hipotalámicos implicados en la regulación hídrica que podrían explicar estas conductas consumatorias (Akins et al., 1990, 1993; Brown et al., 2001; Ericson et al., 1991; Harvey et al., 1965; Hatton et al., 1998; Kjaer et al., 1994, 1994, 1995; Knigge et al., 1999; Wagner et al., 1993; Weiss et al., 1989; Yang et al., 1989).

De cualquier manera, los resultados obtenidos en el presente experimento, indican que las lesiones electrolíticas conjuntas E1+E2 de los núcleos tuberomamilares ventrales, si bien inducen polidipsia, no modifican el patrón ni el volumen de ingesta de agua observado en los animales experimentales que presentan el mismo daño cerebral pero de forma individual (grupo tuberomamilar E1 y grupo tuberomamilar E2) (fig. 4.2)(ver exp. 1- fig. 1.1).

En efecto, como ya se había comprobado en estudios anteriores de la presente Tesis Doctoral (exp. 1), las lesiones realizadas en los núcleos tuberomamilares ventrales (E1 y E2) generan una respuesta hiperdípica de desarrollo lento, que no supera a la respuesta manifestada por el grupo control, hasta pasados algunos días después de la intervención quirúrgica (bloque 4/7 en adelante) (fig. 4.2/fig. 1.1).

En resumen, y a modo de conclusión los datos presentados permiten sugerir que las lesiones electrolíticas acumulativas de los núcleos tuberomamilares ventrales

EXPERIMENTO 4

E1+E2 generan una serie de alteraciones en los procesos regulatorios nutricionales que directa o indirectamente se ven acompañadas de un incremento en el consumo de agua.

CAPITULO II

**LA POLIDIPSIA TUBEROMAMILAR EN EL CONTEXTO DE LA REGULACIÓN
OSMÓTICA Y VOLEMICA DE FLUIDOS.**

EXPERIMENTO 5

La polidipsia tuberomamilar en el contexto de la regulación osmótica y volémica de fluidos.

Los resultados de los estudios anteriores han puesto de manifiesto que las lesiones electrolíticas de los diferentes núcleos tuberomamilares producen polidipsia.

Hasta el momento, y aunque se disponen de abundantes datos anatómicos y neurofisiológicos, se desconocen cuáles son las causas que provocan esta ingesta elevada de líquidos, si bien no parece estar relacionada con factores de carácter no homeostático (por ejemplo, consumo prandial de agua).

Por ello, parece necesario dilucidar si la polidipsia tuberomamilar puede ser explicada en función de alguna alteración en los procesos regulatorios que controlan la ingesta de líquidos. Cabe la posibilidad de que los núcleos tuberomamilares puedan formar parte de alguno de los circuitos neuroanatómicos osmóticos o volémicos descritos anteriormente, y que han sido relacionados de algún modo con regiones (poco determinadas) del hipotálamo posterior.

En efecto, diferentes estudios anatómicos han demostrado una estrecha relación entre el sistema tuberomamilar y estructuras cerebrales (p.e. SON, PAV, OVLT, etc) implicadas en la detección de cambios o alteraciones en la osmolaridad plasmática (Akins et al., 1993; Armstrong et al., 1985; Denton et al., 1999; Ericson et al., 1991; Haas et al., 1975, 1977; Inagaki et al., 1988, 1990; Kjaer et al., 1994, 1994; Knigge et al., 1999; Köhler et al., 1985; Kraly et al., 1995; Palacios et al., 1981; Saper et al., 1976; Schwartz et al., 1991; Weiss et al., 1989).

Así, por ejemplo, se ha podido comprobar que la estimulación de células tuberomamilares provoca la despolarización de neuronas magnocelulares pertenecientes al complejo SON-PAV, con la consiguiente liberación de factores

CAPÍTULO II

neurohipofisarios (ADH y OT) que, como se ha indicado anteriormente representan una respuesta apropiada ante situaciones que suponen una seria amenaza para el mantenimiento de un equilibrio hidromineral óptimo. En este sentido, conviene destacar las características morfológicas y anatómicas de los diferentes núcleos tuberomamilares, con sus amplias ramificaciones dendríticas extendiéndose por la capa endodimital de la superficie ventral del cerebro y receso mamilar, que los sitúan en una posición privilegiada para responder a los cambios o variaciones osmolares producidos en el organismo (Ericson et al., 1987; Reiner et al., 1987; Watanabe et al., 1984).

Todas estas observaciones sugieren, por ejemplo, que las lesiones electrolíticas tuberomamilares han podido interrumpir alguno de los circuitos implicados en la regulación osmótica de fluidos sensibles a la deshidratación celular. En ese caso, cabría esperar que cualquier manipulación experimental que imponga un desequilibrio en los niveles osmolares del plasma (por ejemplo, administración periférica de ClNa o sacarosa en concentraciones hipertónicas), debería generar una respuesta diferencial entre los animales tuberomamilares y controles.

Ahora bien, y siguiendo con el mismo planteamiento teórico, no se puede descartar la posibilidad de que la región tuberomamilar también pueda estar involucrada en el control de los niveles fisiológicos de sodio corporal, tal y como se desprende de las estrechas conexiones anatómicas existentes entre estos núcleos hipotalámicos y centros o zonas cerebrales encargadas de controlar los niveles de este electrolito (Adam et al., 1966; Bealer et al., 1983; Fitzsimons, 1998; Hatton et al., 1998; Huang et al., 1995; Mckinley et al., 1992; Moses et al., 1992; Panula et al., 1989; Pollard et al., 1976, 1992; Rowland, 1998; Taylor et al., 1972; Voisin et al., 1999; Wells et al., 1990; Yang et al., 1989; Wilcox et al., 1982).

De hecho esta posibilidad se ha visto respaldada por varios estudios experimentales y clínicos que muestran como una serie de traumatismos o daños en el sistema nervioso central, especialmente en regiones del hipotálamo posterior, (y en las que pueden estar afectados los núcleos tuberomamilares y/o sus conexiones),

provocan graves alteraciones en la concentración plasmática de sodio (Balment et al., 1986; Baylis et al., 1998; Bronstein et al., 2000; Diringier et al., 1991; Hollinshead, 1964; Iwasaki et al., 1991; Laszlo et al., 1966; Lichardus et al., 1969; Man et al., 1992; Morales et al., 1986; Natcheff et al., 1975; O'Connor, 1950; Price et al., 2000; Robertson, 1987, 1995; Robinson, 1991; Saborio et al., 2000; Vonderer et al., 1999).

Es más, como consecuencia de estas lesiones basales del cerebro se han llegado a observar frecuentes casos de polidipsia, tanto en seres humanos como en animales (Bacic et al., 1999; Blackburn et al., 1995; Briess et al., 1998; Fitzsimons, 1979; Morales y Puerto, 1986; Seckl et al., 1987; Tejedor del Real et al., 1972)

En resumen y de acuerdo con los resultados que acabamos de describir sería posible hipotetizar que la región tuberomamilar podría formar parte de un posible circuito cerebral sensible a las variaciones producidas en los niveles fisiológicos de sodio en el organismo. En este caso, la administración periférica de ClNa hipertónico en los animales tuberomamilares debería provocar una respuesta regulatoria diferente a la que se observe en los sujetos controles. Es más, si el efecto es específico al sodio, entonces cabría esperar que los animales experimentales y controles no mostrasen diferencias comportamentales entre sí ante los desafíos exclusivamente osmóticos (por ejemplo, sacarosa hipertónica).

Sin embargo, y a pesar de todas estas posibilidades teóricas no pueden olvidarse las múltiples conexiones existentes entre las vías nerviosas procedentes de estructuras volémicas importantes en la regulación del volumen extracelular (p.e, área preóptica medial, órgano subfornical, etc) y los diferentes núcleos tuberomamilares (Blass y Hanson, 1970; Buggy et al., 1974; Ericson, 1991; Ericson et al., 1987; Johnson et al., 1997; Kucharczyc et al., 1977; Ohmán et al., 1995; Panneton y Loewy, 1980; Pollard et al., 1976; Taylor et al., 1972; Wouterlood, 1988).

De acuerdo con estos estudios neuroanatómicos, las lesiones electrolíticas de los núcleos tuberomamilares podrían provocar la destrucción de proyecciones

CAPÍTULO II

nerviosas hacia estructuras troncoencefálicas, tal y como se ha observado en otras ocasiones, tras la manipulación de varias regiones cerebrales (Blass y Hanson, 1970). Esta posibilidad se puede examinar sometiendo a los animales tuberomamilares a alteraciones regulatorias de tipo volémico (por ejemplo, con glicol de polietileno), comparando sus reacciones con respecto a las que se produzcan en el correspondiente grupo control.

En conclusión, el objetivo principal del presente experimento es el de comprobar la posible participación de la región tuberomamilar en los procesos homeostáticos de regulación hidromineral.

Asimismo, y de modo análogo a los estudios anteriores, analizaremos esta posibilidad en cada uno de los núcleos tuberomamilares con la finalidad de disociar anatómicamente las posibles peculiaridades funcionales que puedan existir entre ellos con respecto a las diversas condiciones hidrominerales impuestas. Igualmente, en este experimento se ha incluido un grupo neurológico diabético (lesión anódica en la eminencia media) que nos puede servir de referencia para la caracterización teórica de la polidipsia tuberomamilar.

Método.

Sujetos.

Los animales empleados son ratas macho pertenecientes a la raza Wistar, suministradas por el servicio de Animalario de la Universidad de Granada, con un peso comprendido entre 250-330 gramos.

Todos ellos se mantuvieron en las mismas condiciones del capítulo anterior (cap. I).

Procedimiento Quirúrgico.

Fue idéntico al referido en el capítulo previo, excepto que en este caso no se practicó lesión electrolítica catódica en la Eminencia Media (EM-) debido a la escasa aportación de este grupo en las variables estudiadas (ver resultados cap. 1).

Procedimiento Experimental.

Antes de ser situados en el estereotáxico, los animales eran asignados aleatoriamente a uno de los grupos experimentales o control. Bajo estas condiciones se dispuso de un total de 34 animales, quedando compuestos los grupos de la siguiente forma:

EM+ (n = 6); E1 (n = 5); E2 (n = 6); E3 (n = 6); E4 (n = 5); Control (n = 6).

El registro de la cantidad de agua y comida ingerida en las fases pre y postoperatoria se realizó de manera idéntica a la descrita en el capítulo I.

Transcurridos 10 días después de la intervención quirúrgica, se inició una 2ª fase experimental con el propósito de comprobar si las polidipsias tuberomamilaes podían ser explicadas por alguna disfunción en los procesos homeostáticos de regulación de fluidos. Esta posible alteración fue examinada de forma experimental provocando diversas modalidades de desequilibrios osmóticos y volémicos. Persiguiendo este objetivo, los animales fueron sometidos a los siguientes tratamientos:

- Administración intraperitoneal (i.p) de 2cc de ClNa (2M) disuelto en agua destilada como desencadenante osmótico. Se registró la cantidad de agua ingerida en las 2 horas siguientes a la inyección.

CAPÍTULO II

- Administración intraperitoneal (i.p) de 2cc de sacarosa (2M) disuelta en agua destilada como desencadenante osmótico (ausencia de sodio), siguiendo el mismo proceso de registro que con el ClNa.

- Administración intraperitoneal (i.p) de 2cc de glicol de polietileno-20000 al 40%, disuelto en agua destilada como desencadenante de tipo volémico. En este caso, se registró la cantidad de agua ingerida por los animales a las 8 horas de la inyección, periodo de tiempo adecuado y suficiente (Fitzsimons, 1961) para apreciar los efectos dipsogénicos de este coloide.

- Administración intraperitoneal (i.p) de carácter ficticio (ficticia I) consistente en la infusión de 2cc de agua destilada. El proceso de registro se efectuó a las 2 horas, de manera análoga a los casos de la sacarosa y ClNa.

- Administración intraperitoneal (i.p) de carácter ficticio {2cc de agua destilada (ficticia II)}, utilizada como prueba control del efecto desencadenante del PEG, siguiendo un proceso idéntico al descrito para este último, es decir, los registros se cuantificaron 8 horas después de la inyección.

Todas las administraciones se realizaron en animales conscientes. En todos los casos, se retiró el alimento de la jaula durante el periodo de prueba. Una vez finalizado este proceso, el animal volvía a las condiciones de agua y comida ad libitum. El tiempo transcurrido entre cada tratamiento fue de cuatro días.

La diversidad de los productos administrados hizo necesario un balanceo adecuado. En este sentido, se eligió un contrabalanceo intragrupo incompleto.

A fin de comprobar el efecto de los diferentes tratamientos dipsogénicos sobre la polidipsia tuberomamilar se procedió a:

a) Comparar la ingesta de agua de los diferentes grupos experimentales y control en la situación de inyección ficticia (ficticia I y II), obteniendo así un índice de la existencia de polidipsia en los animales experimentales.

b) Contrastar la cantidad de agua ingerida después de la administración de los productos osmóticos pertinentes (CINa, sacarosa) con la situación de inyección ficticia I en el grupo control con la finalidad de estudiar los efectos dipsogénicos en ambos tratamientos.

c) Comparar la ingesta de agua entre los diferentes grupos experimentales y control, así como entre los grupos lesionados entre sí, en respuesta a los diferentes tratamientos dipsogénicos osmóticos (CINa, sacarosa). Para ello se realizó la siguiente corrección, idéntica a la efectuada por Morales y Puerto (1986) y basada en los estudios de Wallace y Harrell (1983): ésto es, la cantidad de agua consumida por los animales durante las 2 horas de registro que siguió a la administración del tratamiento ficticio (ficticia I), se consideró como índice de la ingesta espontánea de agua durante este periodo, y esta cantidad fue descontada del consumo total registrado en respuesta a los diferentes tratamientos dipsogénicos (CINa, sacarosa), con el objetivo de conocer así el efecto específico generado por la administración de cada uno de ellos.

d) Comprobar que la concentración de PEG utilizada es adecuada para ser considerada como desencadenante dipsogénico volémico. Para ello se contrasta la ingesta de agua manifestada por el grupo control ante el glicol de polietileno y en la situación de inyección ficticia (ficticia II).

e) Finalmente, se consideró necesario comparar la respuesta dada por los diferentes grupos experimentales y control, así como entre los grupos lesionados entre sí, ante el tratamiento dipsogénico de tipo volémico (PEG). Al igual que en la

CAPÍTULO II

condición anterior (productos osmóticos), se llevó a cabo la siguiente corrección: la cantidad de agua consumida por los animales durante las 8 horas de registro que siguen a la administración del tratamiento ficticio (ficticia II) fue restada del consumo total registrado en respuesta al tratamiento específico con glicol de polietileno.

Análisis Estadístico.

En la 1ª fase del experimento, se utilizó una prueba no paramétrica, Kruskal Wallis, con el objetivo de comparar los resultados globales en la ingesta de agua y comida entre los diferentes grupos lesionados y el control para cada bloque de días evaluado.

A su vez, para poder contrastar las diferencias en la ingesta entre los grupos experimentales individuales y el control, y entre los diferentes grupos lesionados entre sí en cada uno de los diferentes bloques de días se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

En relación a la 2ª fase del experimento (tratamientos dipsogénicos), también se utilizó el Anova de Kruskal Wallis (grupos independientes) para estudiar las diferencias globales entre los diferentes grupos para cada tipo de tratamiento (ClNa, Sacarosa y PEG). En el caso de existir efectos significativos, se realizó a un análisis más detallado usando la prueba de Kolmogorov-Smirnov, que permite analizar los resultados obtenidos en los grupos experimentales individuales y el control, así como entre cada uno de los diferentes grupos experimentales entre sí, en cada uno de los diferentes tratamientos (ClNa, Sacarosa y PEG).

Por otra parte, también se utilizó el Anova de Friedman (análisis intragrupo) para evaluar las posibles diferencias entre los diversos tratamientos en cada grupo lesionado y control. En el caso de existir resultados significativos, se pasó a un análisis más pormenorizado con la prueba de Wilcoxon, realizando comparaciones

entre los 3 tratamientos dipsogénicos (CINa, sacarosa, PEG) y el control (ficticia I y II) en cada uno de los diferentes grupos de lesión y control.

Histología.

Finalizado el experimento, los animales fueron perfundidos y el tejido nervioso sometido a análisis histológico. Dicho análisis se realizó siguiendo el procedimiento descrito en el capítulo previo (ilustraciones 1-8., capítulo I).

Resultados 1ª Fase Experimental.

INGESTA DE AGUA.

Durante el periodo preoperatorio (línea base), no se observaron diferencias significativas entre los grupos lesionados y grupo control por lo que respecta a la ingesta de agua {H (5, 34) = 2. 02, p = . 8462} (fig. 5.1., día -1).

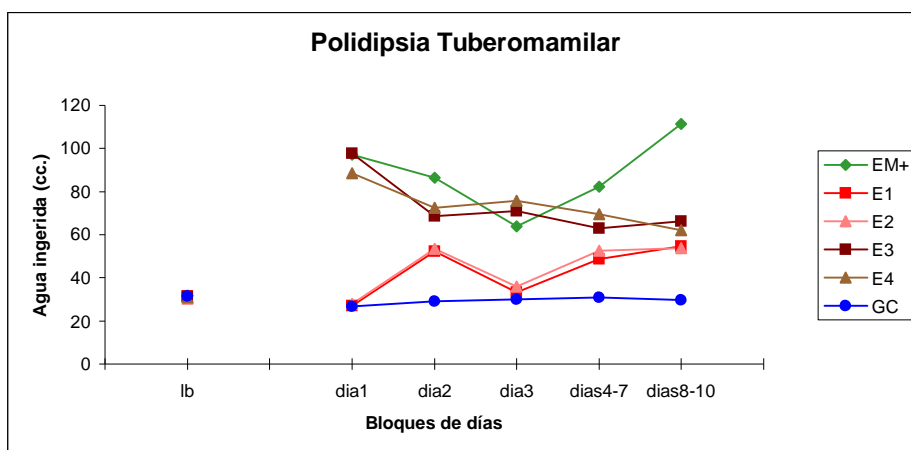


Figura 5.1: Polidipsia inducida mediante lesión electrolytica en los núcleos tuberomamilares a lo largo de diferentes bloques de días tras las lesiones electrolyticas correspondientes.

CAPÍTULO II

Una vez realizada la intervención quirúrgica, los animales difirieron en el consumo de agua en cada uno de los bloques de días analizados {**Bloque 1** $H(5,34)=24.94$, $p = .0001$ } {**Bloque 2** $H(5,34) = 20.90$, $p = .0008$ } {**Bloque 3** $H(5,34)= 24.64$, $p = .0002$ } {**Bloque 4/7** $H(5,34)= 25.36$, $p= .0001$ } {**Bloque 8/10** $H(5,34)= 26.58$, $p= .0001$ } (ver fig. 5.1).

Los datos más destacados fueron los siguientes:

Desde el primer día postoperatorio (bloque 1), los grupos tuberomamilares mediales (E3 y E4) presentaron diferencias significativas en la ingesta de agua respecto al grupo control (no lesionado), hecho que se mantiene durante los días restantes de la prueba. Resultados similares fueron observados en el grupo diabético {**EM+ vs. GC** $D(6, 6)= 1.00$, $p < .005$ (bloques 1, 2, 3, 4/7 y 8/10)} {**E3 vs. GC** $D(6, 6)= 1.00$, $p < .005$ (bloques 1, 2, 3, 4/7 y 8/10)} {**E4 vs. GC** $D(5, 6) = 1.00$, $p < .01$ (bloques 1, 2, 3, 4/7 y 8/10)} (ver figs. 5.2-5.6).

Por lo que respecta a los animales tuberomamilares ventrales E1 y E2, si bien no muestran diferencias en la respuesta consumatoria respecto al grupo control en los primeros días de la prueba (bloques 1 y 3), mantienen una línea de incremento progresiva en la toma de agua a lo largo de los días {**E1 vs. GC** $D(5,6) = 1.00$, $p < .01$ (bloques 2, 4/7 y 8/10)} {**E2 vs. GC** $D(6,6) = 1.00$, $p < .005$ (bloques 2, 4/7 y 8/10)}, llegando a igualar al grupo tuberomamilar medial E4 al final del experimento {**E1, E2 vs. E4** $D(5, 5) = .2$, $p = (n.s)$ (bloque 8/10)} (figs. 5.2-5.6).

Por último, un resultado a señalar es que si bien el grupo lesionado en la eminencia media (EM+) ingiere una mayor cantidad de agua que los animales tuberomamilares del grupo ventral (E1-E2) en los últimos días, ésto no sucede con respecto al grupo tuberomamilar medial E3- E4, en relación a los cuales no se observaron diferencias significativas a todo lo largo del experimento {**EM+ vs. E1** $D(6, 5) = .83$, $p < .05$ (bloques 4/7 y 8/10)} {**EM+ vs. E2** $D(6, 6) = .83$, $p < .05$ (bloque 4/7); $D(6, 6) = 1.00$, $p < .005$ (bloque 8/10)} {**EM+ vs. E3** $D(6, 6) = .16$, $p = (n.s)$ (bloque 1); $D(6, 6) = .50$, $p = (n.s)$ (bloques 2 y 4/7); $D(6, 6) = .33$, $p = (n.s)$

(bloque 3); $D(6, 6) = .66, p = (n.s)$ (bloque 8/10)}{EM+ vs.E4 $D(6, 5) = .50, p = (n.s)$ (bloque 1); $D(6, 5) = .66, p = (n.s)$ (bloque 2); $D(6, 5) = .00, p = (n.s)$ (bloque 3); $D(6, 5) = .46, p = (n.s)$ (bloque 4/7) (figs. 5.2-5.6).

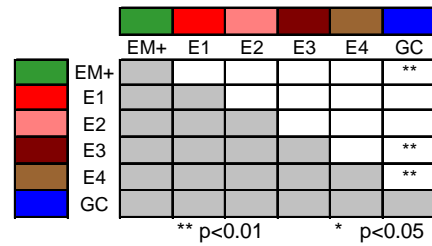
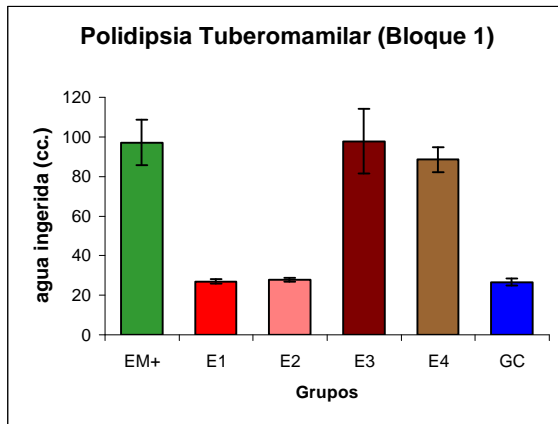


Figura 5.2: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupo control durante el **primer día** postoperatorio (bloque 1).

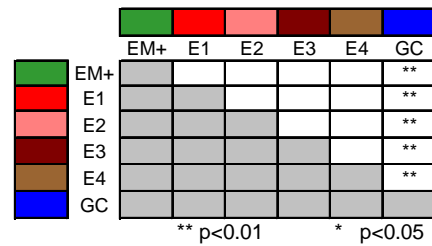
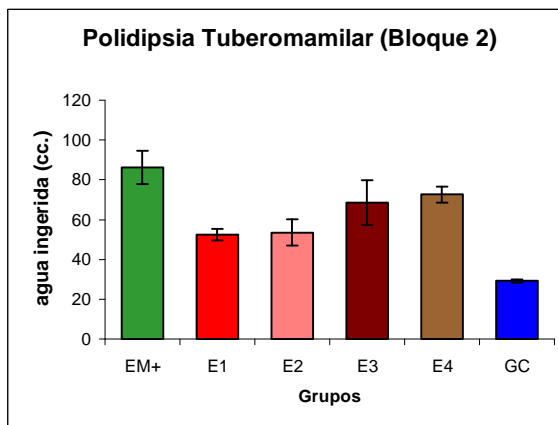


Figura 5.3: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupo control durante el **segundo día** postoperatorio (bloque 2).

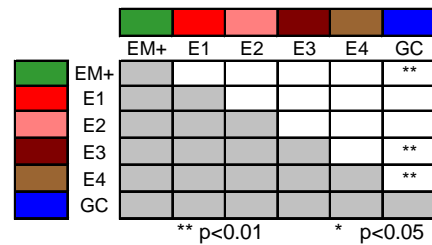
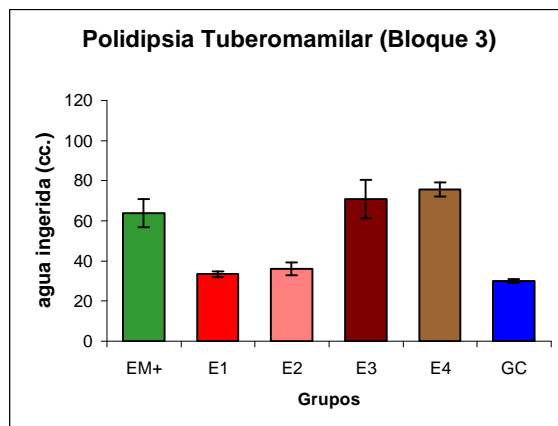


Figura 5.4: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupo control durante el **tercer día** postoperatorio (bloque 3).

CAPÍTULO II

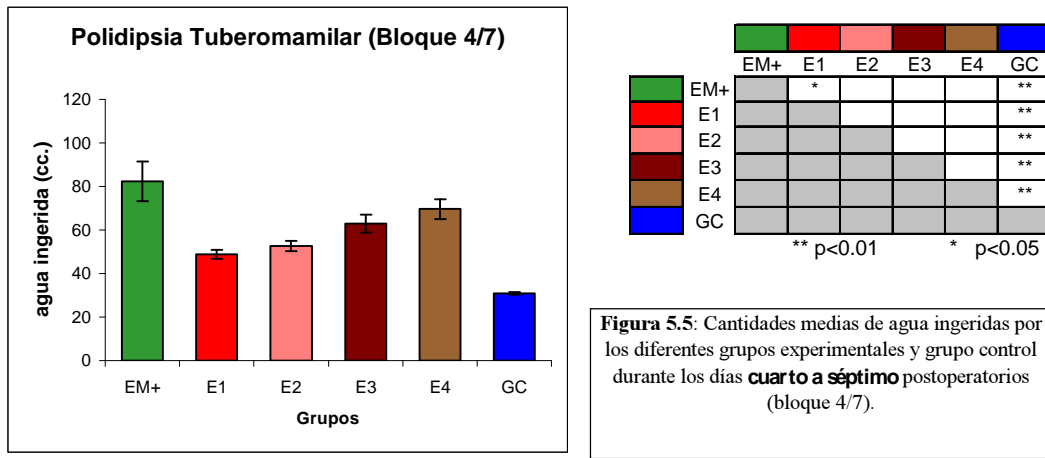


Figura 5.5: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupo control durante los días **cuarto a séptimo** postoperatorios (bloque 4/7).

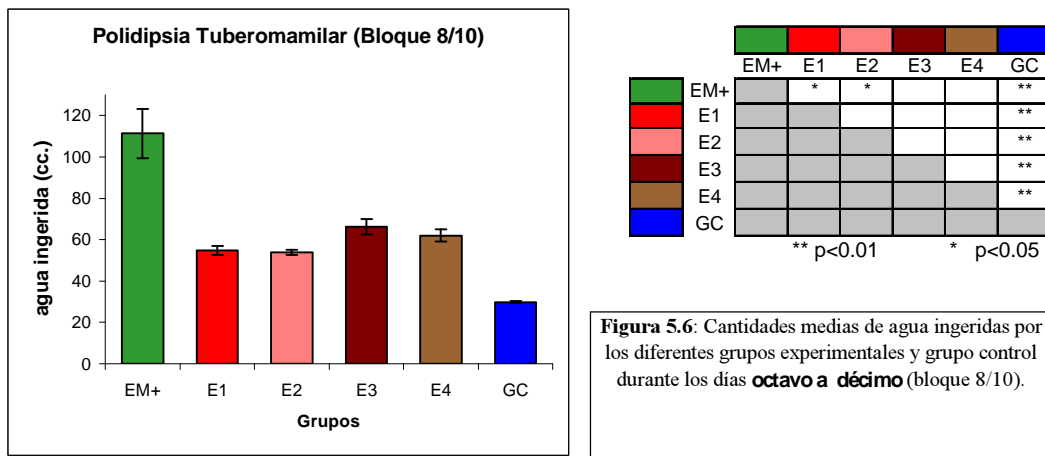


Figura 5.6: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupo control durante los días **octavo a décimo** (bloque 8/10).

INGESTA DE COMIDA.

En cuanto a la ingesta de alimento, los datos más relevantes fueron los siguientes:

Durante el día preoperatorio (línea base), no se observaron diferencias significativas entre los diferentes grupos experimentales y control en la ingesta de comida { $H(5, 34) = 1.27, p = .9378$ } (fig. 5.7., día -1).

Sin embargo, cuando se comparó el consumo de alimento entre todos los grupos lesionados y el control en general en cada bloque de días después de la intervención quirúrgica, se obtuvieron diferencias significativas {**Bloque 1** H (5, 34) = 13.53, p = .0188}{**Bloque 2** H (5, 34) = 20.03, p = .0012}{**Bloque 3** H (5, 34) = 26.34, p = .0001}{**Bloque 4/7** H (5, 34) = 27.66, p = .0000}{**Bloque 8/10** H (5, 34) = 28.99, p = .0000}(fig. 5.7).

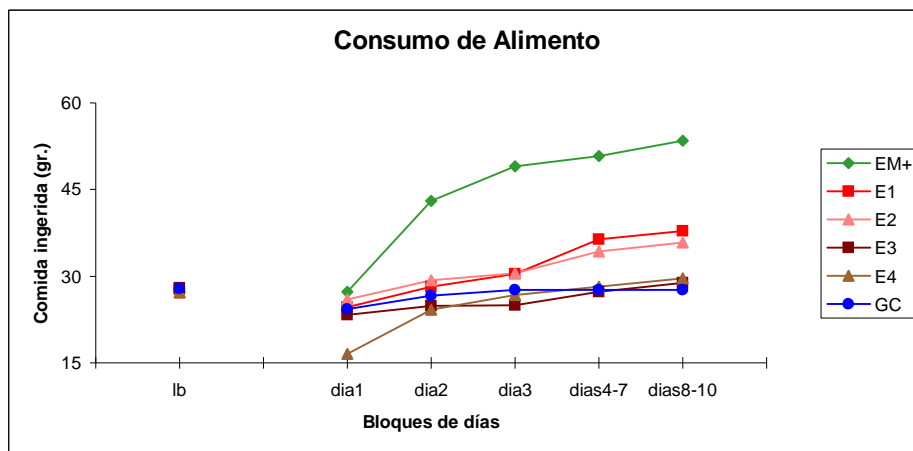


Figura 5.7: Cantidades medias de comida ingeridas por los grupos experimentales y grupo control a lo largo de diferentes bloques de días tras la lesión electrolítica correspondiente.

Estos resultados permiten realizar comparaciones más detalladas entre los diferentes grupos experimentales y control en cada uno de los bloques de días de la prueba. Los datos más relevantes fueron los siguientes:

En los 3 primeros días postlesión (bloques 1, 2 y 3) no se observaron diferencias significativas en el consumo de alimento entre los grupos tuberomamilares y el grupo control (ver figs. 5.8-5.10).

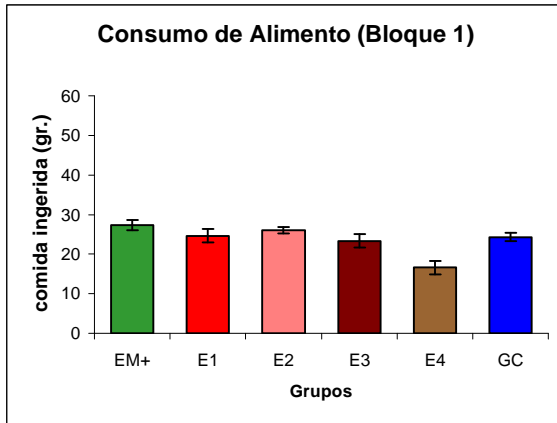
Sin embargo, a partir del 4° día postoperatorio (bloque 4/7) se produce un incremento significativo en la conducta de ingesta de los grupos tuberomamilares ventrales (E1 y E2) respecto al grupo control no lesionado {**E1 vs. GC** $D(5,6) = 1.00$, $p < .01$ (bloques 4/7 y 8/10)} {**E2 vs. GC** $D(6,6) = .83$, $p < .05$ (bloque 4/7);

CAPÍTULO II

$D(6,6) = 1.00$, $p < .005$ (bloque 8/10) (fig. 5.11). Estas diferencias con respecto al grupo control no fueron observadas en el caso de los animales tuberomamilares mediales (E3-E4){**E3 vs. GC** $D(6, 6) = .16$, $p = (n.s)$ (bloques 1, 3 y 4/7); $D(6, 6) = .33$, $p = (n.s)$ (bloque 2); $D(6, 6) = .66$, $p = (n.s)$ (bloque 8/10)}{**E4 vs. GC** $D(5, 6) = .00$, $p = (n.s)$ (bloques 1, 2 y 3); $D(5, 6) = .43$, $p = (n.s)$ (bloque 4/7); $D(5, 6) = .66$, $p = (n.s)$ (bloque 8/10) (figs. 5.8-5.12)}.

En cuanto al grupo con lesiones anódicas en la eminencia media, hay que señalar que no sólo mostró diferencias significativas en la ingesta de alimento con respecto al grupo control no lesionado durante casi la totalidad de la fase experimental, sino también en relación con los cuatro grupos tuberomamilares {**EM+ vs. E1** $D(6, 5) = 1.00$, $p < .01$ (bloques 3, 4/7 y 8/10)}{**EM+ vs. E2** $D(6, 6) = 1.00$, $p < .005$ (bloques 3, 4/7 y 8/10)}{**EM+ vs. E3** $D(6, 6) = 1.00$, $p < .005$ (bloques 3, 4/7 y 8/10)}{**EM+ vs. E4** $D(6, 5) = 1.00$, $p < .01$ (bloques 1, 2, 3, 4/7 y 8/10)}{**EM+ vs. GC** $D(6, 6) = 1.00$, $p < .005$ (bloques 2, 3, 4/7 y 8/10)}(figs. 5.8-5.12).

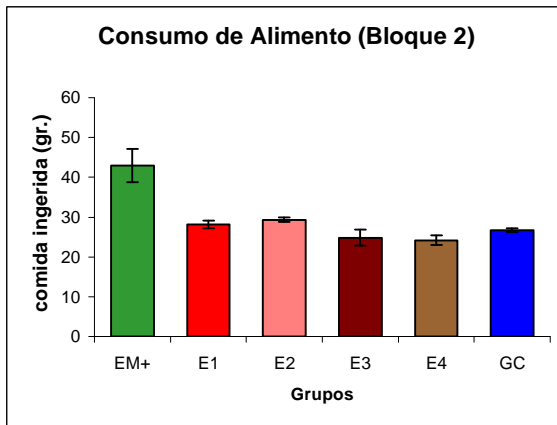
Finalmente, el análisis estadístico de los datos puso de manifiesto que conforme se sucedían los días, la ingesta de comida se incrementaba en los grupos tuberomamilares ventrales E1-E2, estableciéndose diferencias notables con los animales pertenecientes a los grupos tuberomamilares mediales E3-E4 (algo similar ocurrió con la ingesta de agua como pudimos observar anteriormente) {**E1 vs. E3** $D(5,6) = .83$, $p < .05$ (bloque 3); $D(5, 6) = 1.00$, $p < .01$ (bloques 4/7 y 8/10)}{**E1 vs. E4** $D(5, 5) = 1.00$, $p < .025$ (bloques 3, 4/7 y 8/10)}{**E2 vs. E3** $D(6, 6) = .83$, $p < .05$ (bloque 3); $D(6, 6) = .83$, $p < .05$ (bloque 4/7)}{**E2 vs. E4** $D(6, 5) = 1.00$, $p < .01$ (bloques 1, 2, 3 y 8/10); $D(6, 5) = .83$, $p < .05$ (bloque 4/7)}(figs. 5.8-5.12)}.



	EM+	E1	E2	E3	E4	GC
EM+					**	
E1						
E2					**	
E3						
E4						
GC						

** p<0.01 * p<0.05

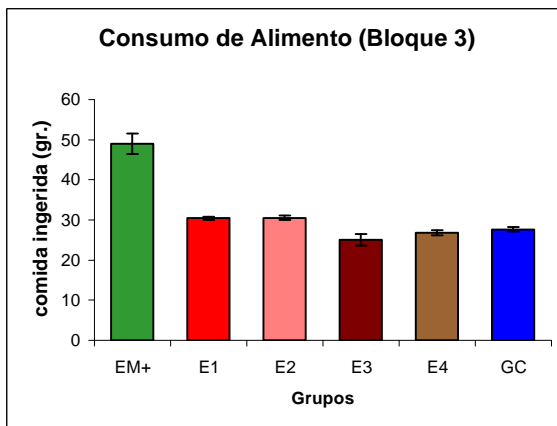
Figura 5.8: Cantidades medias de alimento consumidas por los diferentes grupos experimentales y grupo control durante el **primer** día postoperatorio (bloque 1).



	EM+	E1	E2	E3	E4	GC
EM+					**	**
E1						
E2					**	
E3						
E4						
GC						

** p<0.01 * p<0.05

Figura 5.9: Cantidades medias de alimento consumidas por los diferentes grupos experimentales y grupo control durante el **segundo** día postoperatorio (bloque 2).

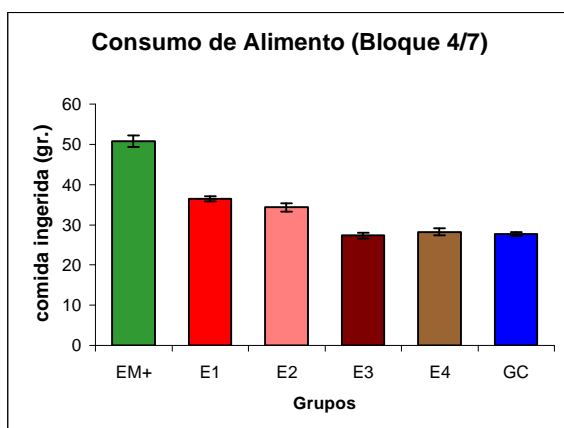


	EM+	E1	E2	E3	E4	GC
EM+		**	**	**	**	**
E1				*	**	
E2					**	
E3						
E4						
GC						

** p<0.01 * p<0.05

Figura 5.10: Cantidades medias de alimento consumidas por los diferentes grupos experimentales y grupo control durante el **tercer** día postoperatorio (bloque 2).

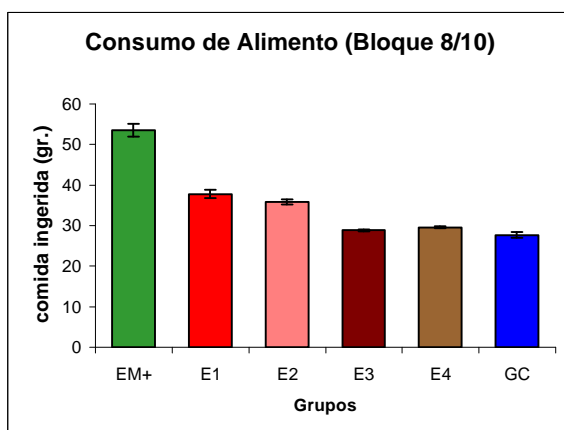
CAPÍTULO II



	EM+	E1	E2	E3	E4	GC
EM+		**	**	**	**	**
E1				**	**	**
E2				*	*	*
E3						
E4						
GC						

** p<0.01 * p<0.05

Figura 5.11: Cantidades medias de alimento consumidas por los diferentes grupos experimentales y grupo control durante los días **cuarto a séptimo** postoperatorios (bloque 4/7).



	EM+	E1	E2	E3	E4	GC
EM+		**	**	**	**	**
E1				**	**	**
E2					**	**
E3						
E4						
GC						

** p<0.01 * p<0.05

Figura 5.12: Cantidades medias de alimento consumidas por los diferentes grupos experimentales y grupo control durante los días **octavo a décimo** postoperatorios (bloque 8/10).

2ª Fase Experimental. Tratamientos Dipsogénicos.

Como se señaló en la Introducción de este capítulo, existe la posibilidad de que la polidipsia tuberomamilar pueda explicarse en función de alguna alteración en los procesos homeostáticos de la regulación de fluidos, por ejemplo en los mecanismos que se encargan de controlar las posibles variaciones en la osmolaridad plasmática.

Inicialmente y con el objetivo de estudiar este punto, se examinó la reacción de los animales (conducta de ingesta de líquidos) ante la inducción de desequilibrios regulatorios provocados por diversos tratamientos osmóticos; concretamente CNa y sacarosa en concentraciones hipertónicas.

El efecto desencadenante de estos productos también fue observado en el grupo control, comparándolo para ello con los resultados obtenidos tras la infusión de una solución neutra {inyección ficticia (ficticia I)(agua destilada)}. Así, se pudo constatar que tanto el ClNa como la sacarosa indujeron una mayor toma de agua que la sustancia control (agua destilada) {**ClNa vs. Ficticia** $Z = 2.20, p = .02$ }{**Sacarosa vs. Ficticia** $Z = 2.20, p = .02$ }(fig. 5.13).

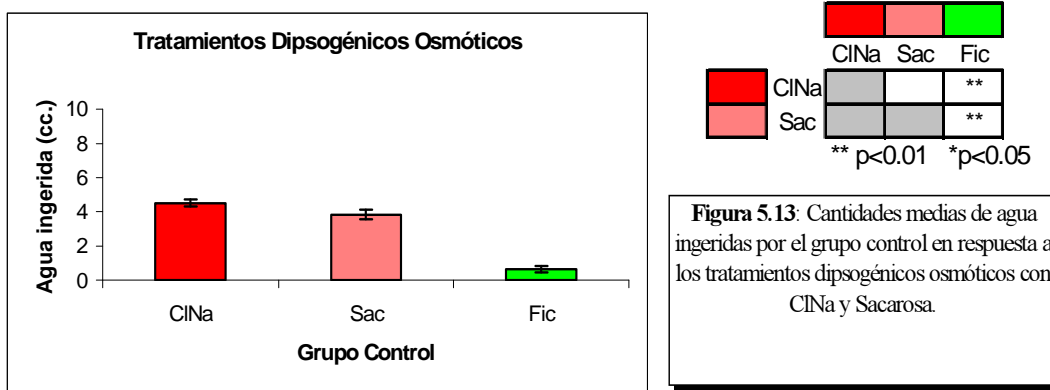


Figura 5.13: Cantidades medias de agua ingeridas por el grupo control en respuesta a los tratamientos dipsogénicos osmóticos con ClNa y Sacarosa.

Al llevar a cabo el análisis de los diferentes grupos para cada tipo de tratamiento osmótico, se observan diferencias significativas en la ingesta de agua únicamente para la condición de ClNa hipertónico {**ClNa** $H(5,34) = 27.82, p = .0000$ }, pero no para la sacarosa {**Sacarosa** $H(5,34) = 5.49, p = .35$ }.

Un estudio más detallado de los resultados reveló que los animales tuberomamilares mediales E3-E4 así como el grupo TMV E2 mostraron respuestas diferenciales en la ingesta de agua respecto al grupo control después de la inyección de ClNa {**E2 vs. GC** $D(6,6) = 1.00, p < .005$ }{**E3 vs. GC** $D(6,6) = 1.00, p < .005$ }{**E4 vs. GC** $D(5,6) = 1.00, p < .01$ }(fig. 5.14).

Es más, la conducta dipsogénica observada en el grupo TMM E3-E4 tras la administración de ClNa fue también significativamente superior a la desarrollada por los animales lesionados en los núcleos tuberomamilares ventrales {**E3 vs. E1**

CAPÍTULO II

D(6,5) = 0.0, p = .01; **E3 vs. E2** D(6,6) = .00, p < .05} {**E4 vs. E1** D(5,5) = 0.0, p < .025; **E4 vs. E2** D(5,6) = 0.0, p < .01} (fig. 5.14).

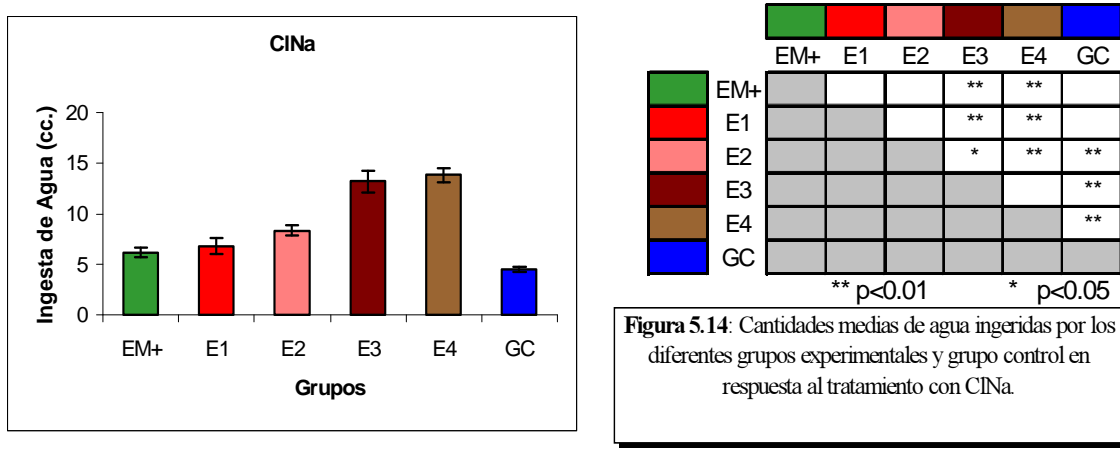


Figura 5.14: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupo control en respuesta al tratamiento con CINa.

Sin embargo, estos resultados como se indicó más arriba no fueron significativos tras la administración intraperitoneal de sacarosa. En este caso no existieron diferencias significativas en la ingesta de agua entre los diversos grupos experimentales tuberomamilares y grupo control, así como entre los animales tuberomamilares ventrales y mediales {**E1 vs. GC** D(5,6) = .13, p = (n.s); **E2 vs. GC** D(6,6) = .16, p = (n.s); **E3 vs. GC** D(6,6) = .50, p = (n.s); **E4 vs. GC** D(5,6) = .20, p = (n.s)} {**E1 vs. E3** D(5,6) = .00, p = (n.s); **E1 vs. E4** D(5,5) = .20, p = (n.s); **E2 vs. E3** D(6,6) = .00, p = (n.s); **E2 vs. E4** D(6,5) = .13, p = (n.s)} (fig. 5.15).

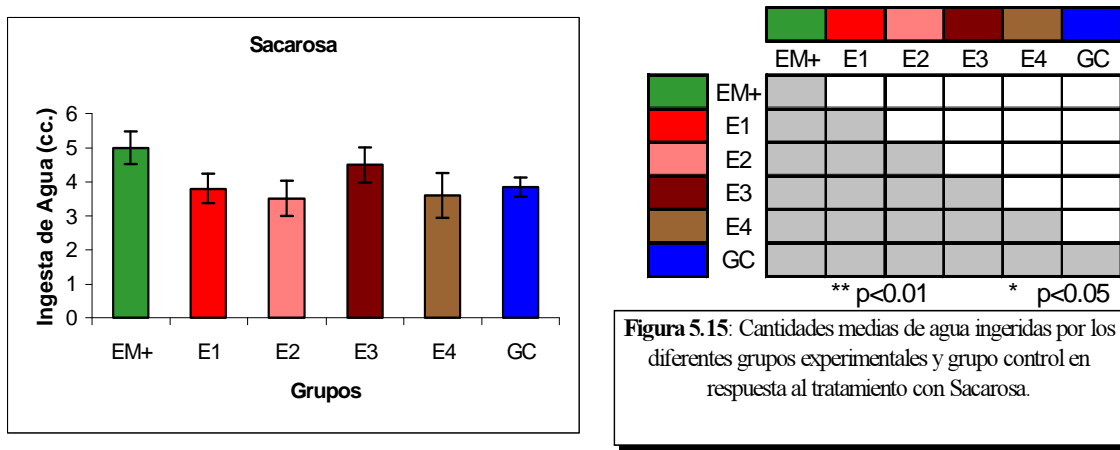


Figura 5.15: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupo control en respuesta al tratamiento con Sacarosa.

EXPERIMENTO 5

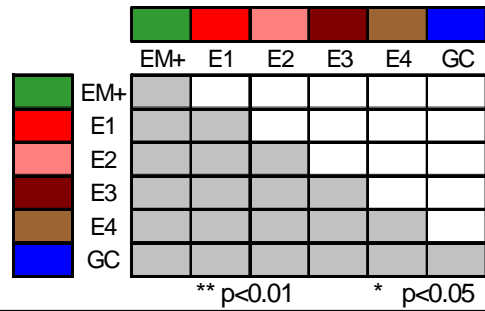
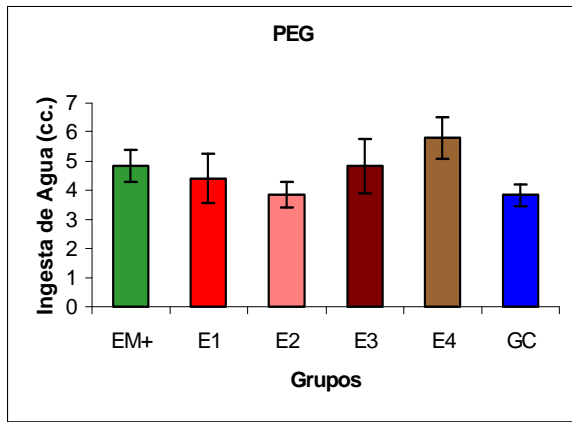


Figura 5.16: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupo control en respuesta al tratamiento con PEG.

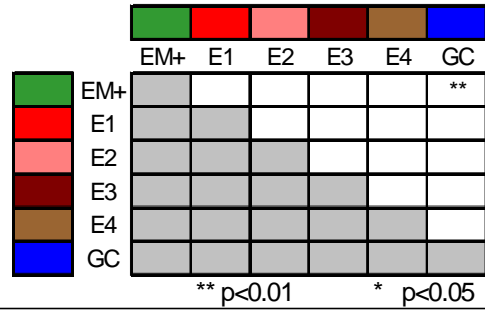
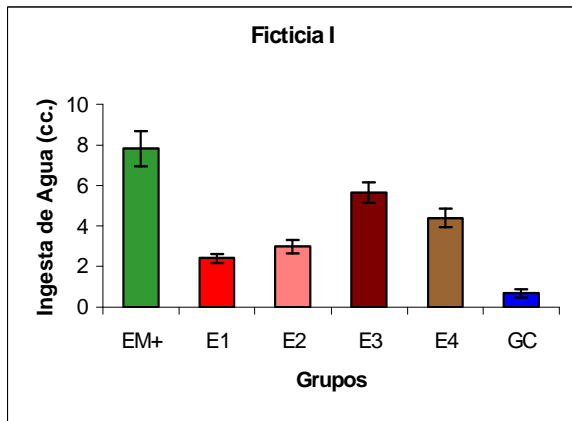


Figura 5.17: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupo control en respuesta al tratamiento con agua destilada (Ficticia I).

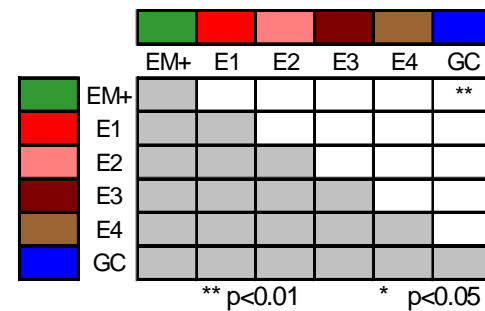
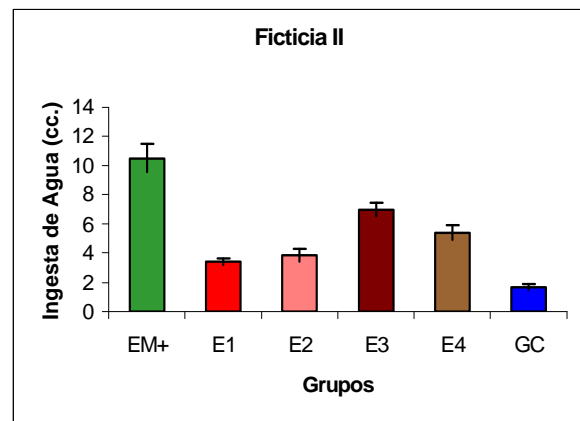


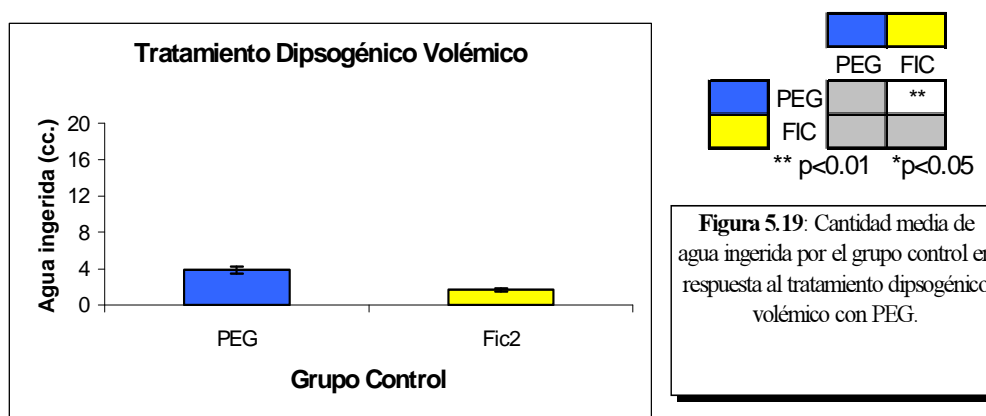
Figura 5.18: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupo control en respuesta al tratamiento con agua destilada (Ficticia II).

CAPÍTULO II

Un hecho que llama poderosamente la atención es que si bien el grupo diabético EM+ mostró un incremento significativo en el consumo de agua en relación al grupo control de falsa lesión tras la inyección ficticia (ficticia I) { $D(6,6) = 1.00, p < .005$ }, ahora no se observó una respuesta diferencial ante ninguno de los tratamientos osmóticos {EM+ vs. GC (CINa) $D(6,6) = .66, p = (n.s)$ } {EM+ vs. GC (sacarosa) $D(6,6) = .33, p = (n.s)$ } (figs. 5.14-5.15).

Finalmente, un último objetivo del presente trabajo experimental consistía en evaluar hasta qué punto la polidipsia tuberomamilar puede estar relacionada con los mecanismos volémicos que regulan la ingesta de líquidos. Para ello, se examinó la reacción de los animales (conducta de ingesta de líquidos) ante la inducción de desequilibrios provocados por los tratamientos volémicos.

En este caso, se empleó el glicol de polietileno, un coloide con propiedades dipsogénicas como ha quedado puesto de manifiesto en el presente estudio, en el cual el grupo control ingirió una mayor cantidad de agua que después de la infusión de la sustancia neutra {(Ficticia II)(agua destilada)} { $Z = 2.20, p = .02$ } (fig. 5.19).



Al analizar las posibles diferencias entre los grupos experimentales y lesión ficticia (GC) ante dicho tratamiento volémico, el análisis global de los datos no

reveló respuestas diferenciales entre los grupos experimentales y control { $H(5, 34) = 5.11, p = .40$ } (fig. 5.16).

Se vuelve a constatar una vez más que el grupo diabético EM+, si bien muestra una respuesta mayor durante la situación ficticia (ficticia II) que el grupo no lesionado { $D(6, 6) = 1.00, p < .005$ }, ésta no se mantiene ante la manipulación de tipo volémico { $D(6, 6) = .33, p = (n.s)$ } (figs. 5.16 y 5.18).

Discusión.

Los resultados obtenidos en el presente experimento confirman que las lesiones electrolíticas de los núcleos tuberomamilares inducen polidipsia, reproduciendo así los efectos obtenidos en el primer capítulo (fig. 5.1).

De nuevo se vuelven a constatar una serie de diferencias en las características de la hiperdipsia en función de la localización anatómica de la lesión electrolítica. Así, si bien el daño producido en la región tuberomamilar ventral produce una ingesta de agua elevada en los animales, ésta no es tan potente ni inmediata como la manifestada por el grupo tuberomamilar medial. Por su parte, los animales diabéticos (lesión anódica en la eminencia media) si bien muestran una mayor respuesta polidípica tras la lesión, ésta no llega a alcanzar valores significativos con respecto a los grupos E3 y E4 en ninguno de los días del experimento (fig. 5.1).

En el otro apartado regulatorio, y como ya se había descrito en los estudios previos, las lesiones electrolíticas de los grupos tuberomamilares ventrales (E1-E2) produjeron un incremento significativo en la ingesta de comida (fig. 5.7).

La hiperfagia observada mostró una progresión a lo largo de los días de la prueba, similar a lo que ya sucediera con la conducta hiperdípica de estos animales.

CAPÍTULO II

En resumen, estos resultados ratifican una vez más, que las lesiones electrolíticas de la región tuberomamilar producen una serie de alteraciones en los mecanismos regulatorios hídricos y nutritivos.

Ahora bien, y como ya se ha señalado, uno de los principales objetivos del presente experimento consistía en conocer si la polidipsia tuberomamilar y diabética podían ser analizadas en el contexto de los procesos homeostáticos implicados en la regulación hidromineral.

Existe la posibilidad de que el elevado consumo de agua observado tras las lesiones de los núcleos tuberomamilares, pueda depender en cierto modo de alguna anomalía en los circuitos cerebrales implicados en la regulación osmótica de fluidos. Sin embargo, los resultados obtenidos parecen descartar esta interpretación. En este sentido, se ha podido comprobar que los animales experimentales tuberomamilares y el grupo control no muestran diferencias significativas en la ingesta de agua tras la administración periférica de sacarosa hipertónica (fig. 5.15).

En cualquier caso, el hecho de que la polidipsia tuberomamilar no pueda ser explicada en función de alguna alteración en los procesos regulatorios osmóticos inducidos por sacarosa, no descarta otras posibilidades, sobre todo a partir de los resultados obtenidos tras la administración intraperitoneal (i.p) de ClNa hipertónico que muestran una respuesta dipsogénica significativamente superior del grupo tuberomamilar medial (E3-E4) y grupo tuberomamilar ventral rostral E2 con respecto al grupo control (fig. 5.14).

Dado que, conforme a los resultados obtenidos con la sacarosa, su explicación en términos osmóticos debe ser descartada, cabe la posibilidad de que la polidipsia tuberomamilar pueda estar relacionada de una u otra forma con los mecanismos cerebrales implicados en el control de los niveles internos de sodio corporal. En este sentido, se ha observado un incremento en la actividad celular del grupo TMM en situaciones de expansión de volumen extracelular que, como se sabe, correlacionan con valores elevados en este electrolito (Luckman et al., 1997).

Esta circunstancia podría estar relacionada con las características morfológicas de las neuronas tuberomamilares, con amplias ramificaciones dendríticas que se extienden por la capa ependimal de la superficie ventral del cerebro y receso mamilar, y que les permitirían detectar y responder ante determinadas moléculas y sustancias neuroactivas presentes en el LCF (Ericson et al., 1987; Reiner et al., 1987; Watanabe et al., 1984). En este sentido, varios autores han propuesto la existencia de una serie de sensores o receptores al ion sodio en la vecindad de la pared del III ventrículo y en contacto directo con el líquido cefalorraquídeo que serían activados ante los aumentos en la tonicidad del plasma (Anderson et al., 1967; Anderson y Olsson, 1973, Fitzsimons, 1998; Rowland, 1998).

A estas observaciones iniciales caben añadir las estrechas conexiones anatómicas existentes entre los núcleos tuberomamilares y algunas regiones del hipotálamo anterior relacionadas con la detección y control de los incrementos en la concentración plasmática, en donde el sodio suele ocupar un papel fundamental (Akins et al., 1990; Bealer et al., 1999; Brown et al., 2001; Han et al., 1996; Hatton 1990; Johnson et al., 1997; Kjaer et al., 1994, 1994; Knigge et al., 1999; Mckinley et al., 1994; Moses et al., 1992; Rowland, 1998; Sladek et al., 1994; Walters et al., 1974; Xu et al., 1996).

Es más, existen pruebas experimentales que demuestran cómo algunas manipulaciones en el sistema nervioso central, especialmente en el hipotálamo posterior (región de la que forman parte los núcleos tuberomamilares) afectan a los niveles internos de sodio, provocando en muchos casos la aparición de cuadros polidípsicos tanto en seres humanos como animales (Bacic et al., 1999; Blackburn et al., 1995; Briess et al., 1998; Cort, 1963; Diringer et al., 1991; Fitzsimons, 1979; Henessy et al., 1977; Morales y Puerto, 1986; Natcheff et al., 1975; Seckl et al., 1987; Tejedor del Real et al., 1972; Wijdicks et al., 1991).

En este sentido, los trabajos experimentales llevados a cabo en nuestro laboratorio por Morales y Puerto (1988), utilizando lesiones electrolíticas en la región mamilar, generaron una marcada polidipsia que fue interpretada en términos

CAPÍTULO II

de alguna alteración en la regulación hidromineral de los fluidos internos, dada la respuesta diferencial en la ingesta de agua observada en el grupo mamilar respecto al grupo control tras la administración periférica (i.p) de una solución hipertónica de ClNa.

Ahora, el presente estudio viene a confirmar y a ampliar los resultados obtenidos en aquella investigación, al establecer concretamente las estructuras anatómicas implicadas en este proceso comportamental. En efecto, conforme a los datos que acabamos de presentar son las lesiones electrolíticas de los núcleos tuberomamilares mediales (E3 y E4) y región tuberomamilar ventral rostral (E2) las que producen una alteración en los mecanismos regulatorios de sodio en el organismo, y cuya consecuencia conductual se manifiesta en una excesiva ingesta de agua.

Estas observaciones están en concordancia con los estudios que han demostrado una relación entre las células tuberomamilares y los niveles de sodio extracelular (Balment et al., 1980; Bealer et al., 1999; Chiriguer et al., 2001; Hussy et al., 2000; Kjaer et al., 1994, 1995; McKinley et al., 1983; Share et al., 2000; Soares et al., 1999).

Podría interpretarse, que el efecto diferencial obtenido en la prueba con ClNa por parte de alguno de los grupos experimentales es debido simplemente a la interrupción de vías y/o la destrucción de cuerpos celulares de los otros núcleos tuberomamilares que se encuentran próximos anatómicamente.

Esta posibilidad puede ser descartada si nos atenemos a los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación, donde queda puesto de manifiesto que las lesiones circunscritas a diferentes zonas de la región tuberomamilar, tanto a nivel ventral (E1 y E2) como a nivel medial (E3 y E4), provocan una serie de cuadros o patrones en el consumo de agua con características bien diferenciadas tanto cuantitativa como cualitativamente, como ya ha quedado reflejado anteriormente.

En otro orden de cosas, y por lo que respecta a los datos observados en este experimento sobre el efecto producido por los diversos tratamientos dipsogénicos osmóticos (ClNa y sacarosa) en el grupo de diabetes insípida (EM+), se puede proponer que la polidipsia tuberomamilar y la hiperdipsia inducida por lesión en la eminencia media deberían ser consideradas como manifestaciones propias de dos entidades diferentes.

Al contrario de lo sucedido en los animales tuberomamilares mediales (E3-E4) y E2 que se caracterizan por ser altamente sensibles a la administración de las soluciones salinas hipertónicas (ClNa), los sujetos diabéticos con lesión electrolítica anódica en la EM+ no sólo no responden de manera significativa (respecto del grupo control) a ninguno de los tratamientos dipsogénicos osmóticos implicados (ClNa y sacarosa) sino que la ingesta de agua tras la administración periférica de ClNa es inferior a la observada en los animales tuberomamilares mediales (E3-E4) (fig. 5.14-5.15).

Una interpretación inicial de estos resultados se podría obtener a partir de los estudios de Robertson (1983), quien ha observado una cierta incapacidad de los animales diabéticos para responder adecuadamente a los cambios o variaciones osmolares.

Sin embargo, esta interpretación puede no ser adecuada de acuerdo con los nuevos datos que han ido apareciendo en los últimos años.

En efecto, como ya ha quedado reflejado a lo largo del presente trabajo de investigación los animales diabéticos tienen alterados los mecanismos responsables de la conservación de fluidos, a lo que hay que añadir un aumento considerable en la osmolaridad plasmática (hipernatremia), provocado fundamentalmente por un incremento significativo en los niveles de sodio corporal (Bacic et al., 1999; Brimble et al., 1991; Bronstein et al., 2000; Edwards et al., 1984; Friedman et al., 1958, 1962; Hollinshead et al., 1964; Huang et al., 1996; Kavelaars et al., 2001; Laszlo et al.,

CAPÍTULO II

1966; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Pivonello et al., 2000; Price et al., 2000; Rolls, 1970; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1992; Swann et al., 1939).

Estas dos circunstancias hacen que estos animales en condiciones normales (ad libitum) deban ingerir grandes cantidades de agua con el objetivo de contrarrestar los déficits volémicos (poliuria) y osmóticos (hipernatremia) que padecen.

Si a estas dificultades regulatorias se le añade el desequilibrio osmolar tan acusado al que se ven sometidos los animales con DI (EM+) tras la administración de 2M ClNa (concentración superior a la del agua del mar) y 2M de sacarosa hipertónica, entonces cabría esperar que surjan una serie de respuestas fisiológicas y comportamentales que traten de reestablecer las alteraciones hidrominerales que se les ha impuesto. De hecho, varios trabajos experimentales han comprobado cómo animales (perros) con daño o lesiones en el sistema neurohipofisario (SON-PAV/Hipófisis posterior) fueron capaces de mostrar una respuesta antidiurética tras la administración de productos dipsogénicos osmóticos en concentraciones hipertónicas (Brooks et al., 1958). La presencia de células intactas en el SON y PAV de estos sujetos hipofisectomizados, revelada por estudios histológicos postmortem podría explicar estos resultados (Bronstein et al., 2000; Brooks et al., 1958; Dohanics et al., 1992; Heinbecker et al., 1941; Huang et al., 1996; Kawamoto et al., 1985; O'Connor, 1946).

Por otra parte, y dentro del mismo contexto, es un hecho bien conocido que la administración de una solución salina hipertónica podría facilitar una mayor retención de agua corporal mediante una reabsorción renal más acusada (Rose, 1986, 1994). En el caso de llegar a producirse esta respuesta fisiológica, cabría esperarse una disminución significativa tanto en la hipernatremia como en las pérdidas volumétricas de los animales diabéticos del estudio actual.

Asimismo, es importante tener en cuenta que los animales con lesión anódica en la eminencia media se encuentran privados de comida durante el experimento (tratamientos dipsogénicos), una situación en la que reducen drásticamente la ingesta

de agua como así se ha podido comprobar en el trabajo experimental anterior (exp.3); y que había sido demostrado por varios estudios clásicos (Curtis, 1924; Swann, 1939).

Estas y otras cuestiones relevantes para el presente trabajo de investigación serán retomadas y analizadas en mayor profundidad en capítulos posteriores de esta Tesis Doctoral.

Finalmente, el último objetivo que nos planteamos en este estudio pretendía examinar si la polidipsia tuberomamilar podría ser explicada por algún trastorno o alteración de tipo volémico, semejante al observado por otros autores tras lesiones en otras regiones cerebrales (Blass y Hanson, 1970; Kucharzyc y Mogenson, 1977). Es importante tener en cuenta al respecto, que el complejo tuberomamilar mantiene conexiones anatómicas con centros o zonas cerebrales implicadas en el control de la presión vascular (Brown et al., 2001; Ericson et al., 1987, 1991; Fitzsimons, 1998; Inagaki et al., 1988, 1990, 1991; Panneton y Loewy, 1980; Saper et al., 1976; Schwartz et al., 1991; Wada et al., 1991; Wouterlood, 1998 Yang et al., 1997). Sin embargo, el análisis de los datos permite pensar que esta hipótesis es improbable, ya que la respuesta consumatoria observada por parte de los animales tuberomamilaes y controles ante el tratamiento dipsogénico volémico (glicol de polietileno) no difiere significativamente entre ambos grupos (fig. 5.16).

Estos datos sugieren, que los mecanismos de regulación volémica de fluidos no parecen haber sido alterados como resultado de las lesiones tuberomamilaes.

Por otra parte, los resultados del presente experimento nos revelan que la ingesta de agua del grupo con lesión anódica en la EM+ tampoco difiere estadísticamente de la observada en los animales control tras la infusión de PEG. Esta respuesta en cierto modo parece lógica, después de comprobar que el tratamiento volémico presenta un menor (significativamente) efecto dipsogénico que la mera inyección de agua destilada (tratamiento ficticio II) en los animales diabéticos.

CAPÍTULO II

En resumen, y siguiendo con los mismos planteamientos teóricos esgrimidos en relación a los productos osmóticos, cabe la posibilidad de que la administración del coloide (PEG), que no deja de ser un agente diurético ya que ocasiona el secuestro de fluido plasmático del compartimento extracelular, puede facilitar en el grupo EM+ una mejor respuesta natriurética (disminución de los niveles de sal), que se traduciría finalmente en una importante reducción en la ingesta de agua. Esta interpretación se encuentra hoy en día avalada por una serie de trabajos experimentales que señalan que la DI mejora considerablemente con el tratamiento racional de fármacos que tengan propiedades diuréticas (Baylis et al., 1998; Fried et al., 1997; Niaudet et al., 1985; Rose, 1984; Saborio et al., 2000; Tetiker et al., 1999).

En este último sentido, se ha comprobado que el tratamiento farmacológico con Indapamida, un producto diurético y antihipertensivo que es capaz de incrementar la osmolaridad urinaria al mismo tiempo que reduce la osmolaridad plasmática, provocó una mejoría considerable en varias personas con diabetes insípida central (Tetiker et al., 1999).

En conclusión, los estudios que acabamos de describir parecen indicar que el incremento en el consumo de agua provocado por las lesiones electrolíticas de la Región Tuberomamilar podría venir desencadenado por alguna alteración en los procesos regulatorios hidrominerales del organismo.

CAPITULO III

**LESIONES ELECTROLÍTICAS DE LA EMINENCIA MEDIA: UN MODELO
EXPERIMENTAL DE DIABETES INSÍPIDA NEUROLÓGICA.**

EXPERIMENTO 6A

Efectos de la manipulación de la dieta sobre la polidipsia diabética inducida por lesiones electrolíticas en la Eminencia Media.

A través de los capítulos anteriores se ha examinado la posible implicación de la región tuberomamilar en la regulación hidromineral y nutritiva. Para tratar de caracterizar y comprender mejor estas conductas homeostáticas se incluyó un grupo de animales con lesiones electrolíticas anódicas en la eminencia media, con el objetivo de reproducir el modelo animal de diabetes insípida propuesto por Rolls, (1970).

Como ya se ha indicado, la diabetes insípida central se produce fundamentalmente por un déficit o ausencia de vasopresina, hormona secretada por la neurohipófisis y cuya función básica es la de modular la permeabilidad del agua en los túbulos colectores del riñón, permitiendo así la reabsorción de ésta y evitando su pérdida en la orina (Fried et al., 1997; Guyton, 1976; Robertson, 1983; Seckl et al., 1987).

Los resultados experimentales obtenidos en el presente estudio y en otros trabajos de investigación previos, sugieren que el modelo neurológico de diabetes insípida es más complejo de lo previsto y que algunos de sus planteamientos básicos merecen ser reexaminados.

En este sentido, hay que señalar que si bien estos animales diabéticos desarrollan una elevada hiperdipsia como consecuencia de una alteración en los mecanismos encargados de la conservación de fluidos (Hennesy et al., 1977; Hollinshead, 1964; Ikkos et al., 1954; Seckl et al., 1987), esta polidipsia no se observa en ciertas situaciones.

CAPÍTULO III

Así, por ejemplo, se ha podido comprobar que la privación de alimento (ver exp. 3., fig. 3.2) (Palmieri et al., 1969; Swann, 1939; Tittlebaum et al., 1960) repercute considerablemente sobre la polidipsia diabética. La diabetes insípida cursa con niveles elevados de osmolaridad plasmática (hipernatremia), provocada fundamentalmente por un incremento significativo en los niveles de sodio corporal como consecuencia de las graves pérdidas de líquido a través de la orina (Bacic et al., 1999; Bakker et al., 1976; Balment et al., 1986; Friedman et al., 1958; Hollinshead et al., 1964; Huang et al., 1996; Laszlo et al., 1966; Lichardus et al., 1973; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Rolls, 1970; Seckl et al., 1992), y existe la posibilidad de que la reducción en la ingesta de alimentos haya podido modificar la concentración de solutos y electrolitos de los fluidos orgánicos.

En este experimento, se evaluarán las repercusiones que puedan tener sobre el desarrollo de la polidipsia diabética ambas variables experimentales mencionadas (comida y sodio) a través de la manipulación mediante la privación de comida o la disponibilidad de cloruro sódico hipertónico de manera complementaria al agua ofrecida de manera ad libitum.

Con respecto a los datos expuestos hasta el momento, cabe la posibilidad de que los animales diabéticos con niveles elevados de sodio extracelular (hipernatremia) (Friedman et al., 1958, 1958, 1962; Lichardus et al., 1973; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Seckl et al., 1992), rechacen las soluciones salinas hipertónicas, ya que en caso contrario este comportamiento agravaría aun más si cabe ese desequilibrio osmolar.

Se podría pensar también que los animales diabéticos mostrasen una tendencia a ingerir soluciones hipotónicas o en su defecto soluciones salinas isotónicas que puedan corregir los severos problemas volémicos que desarrollan estos sujetos (Hennessy et al., 1977; Hollinshead, 1964; Ikkos et al., 1954; Lichardus et al., 1973; O'Connor, 1952; Rolls, 1970; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1987, 1992; Valtin et al., 1964).

En este estudio se incluye la cuantificación del volumen de orina excretado por los animales diabéticos y sus controles en estas mismas condiciones. Toda variación en la toma de líquidos suele venir acompañada de alguna alteración en la capacidad retentiva, un hecho que puede facilitar una mejor caracterización y comprensión de este trastorno polidíptico.

Método.

Sujetos.

Se utilizaron 26 ratas macho de la cepa Wistar, suministradas por el servicio de Animalario de Experimentación de la Comisión de servicios Técnicos de la Universidad de Granada. El peso de los animales al principio del estudio estuvo comprendido entre 260 y 340 gramos. El mantenimiento a su llegada al laboratorio fue idéntico al descrito en los experimentos previos.

Procedimiento Quirúrgico.

Dado que este estudio se centró exclusivamente en la polidipsia por diabetes insípida sólo se realizaron lesiones electrolíticas en la eminencia media (corriente anódica). El procedimiento empleado fue el que se detalló en el primer capítulo (experimento 1).

La cirugía en los animales controles fue idéntica a la de los grupos experimentales, a excepción de que en este caso la coordenada vertical tuvo un valor de 0.7 mm, con el fin de no alcanzar el núcleo. Además, no hubo paso de corriente a través del electrodo.

CAPÍTULO III

Procedimiento Experimental.

Antes de ser situados en el estereotáxico, los 26 animales fueron asignados, de forma aleatoria, a uno de los grupos experimentales o control, quedando distribuidos de la siguiente forma: grupo experimental EM+1 (n=7); grupo control EM+1 (n=6); grupo experimental EM+2 (n=7); grupo control EM+2 (n=6).

El registro de la cantidad de agua y comida ingerida en la fase preoperatoria, se realizó de forma idéntica a la descrita en los capítulos anteriores.

Una vez realizada la intervención quirúrgica, los animales recibieron un tratamiento específico {comida ad libitum, privación de alimento, cloruro sódico hipertónico (1.5%) } en cada uno de los 4 días que duró el experimento en función del grupo al que pertenecían (ver tablas 6a.1-6a.2).

En este experimento, los animales pertenecientes al grupo con lesión anódica en la eminencia media (EM+1) y grupo control EM+1 (GCEM+1) recibieron el siguiente tratamiento: Durante el 1º día (primeras 24 horas después de la operación), todos los sujetos permanecieron con agua ad libitum pero en una situación de privación completa de alimento que continuó durante el 2º día postoperatorio (24/48 horas). A partir del 3º día (48/72 horas), los animales recibieron su comida habitual (ad libitum) que fue retirada posteriormente en el 4º día (72/96 horas) (privación de alimento).

Tabla 6a.1.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL				
GRUPOS	DIA1	DIA2	DIA3	DIA4
EM1	PRIVACIÓN DE ALIMENTO	PRIVACIÓN DE ALIMENTO	COMIDA ESTÁNDAR	PRIVACIÓN DE ALIMENTO
GC1				

Por su parte, los animales del grupo experimental EM+2 y grupo control EM+2 (GCEM+2) dispusieron en su jaula (además del agua) de cloruro sódico hipertónico (1.5%) durante el 1º día de la prueba (primeras 24 horas). En el 2º día (desde las 24 a las 48 h.), tras retirar la solución salina, los sujetos permanecieron privados de alimento, el cual fue introducido de manera (ad libitum) en los 2 últimos días del experimento (48/72 h. y 72/96h.).

Tabla 6a.2.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL				
GRUPOS	DIA1	DIA2	DIA3	DIA4
EM2	CLNA 1.5%	PRIVACIÓN DE ALIMENTO	COMIDA ESTÁNDAR	COMIDA ESTÁNDAR
GC2				

Asimismo, hay que hacer notar que también se incluyó un grupo con lesión anódica en la eminencia media (EM+3) y su grupo control (GCEM+3), con agua y comida ad libitum (ver fig. 6a.2) pero cuyos datos no han sido incluidos.

En cada uno de los grupos lesionados y sus respectivos controles, se procedió a registrar la ingesta de líquido de cada animal en los 4 momentos diferentes de la prueba (días). Asimismo, se contabilizó el volumen de orina excretado. Para ello, los animales una vez operados permanecieron en todo momento en jaulas metabólicas (Tecniplast 3701MO-000) las cuales, mediante un sistema de filtrado permiten recoger la orina, libre de restos de comida.

Finalmente, también se registró la cantidad de comida ingerida por los diferentes grupos en aquellas situaciones que lo permitían.

CAPÍTULO III

Análisis Estadístico.

Se utilizó el Anova no paramétrico de Kruskal-Wallis (grupos independientes) con el objetivo de comparar los resultados globales en las variables estudiadas entre los grupos experimentales y controles para cada uno de los días de la prueba.

En el caso de existir diferencias significativas en el análisis global de alguna de las variables evaluadas, se pasaba a realizar un análisis post-hoc más detallado. En este caso, se analizaron las diferencias entre los grupos experimentales y controles, y entre los diferentes grupos lesionados entre sí, en cada uno de los 4 días del experimento (efecto tratamiento) mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Asimismo se utilizó un Anova de Friedman (análisis intragrupo) con el objetivo de analizar las diferencias entre los diversos tratamientos {comida habitual, privación de alimento, suero fisiológico hipertónico (1.5%) } en cada uno de los días del experimento para cada grupo experimental y control. En el caso de obtener efectos significativos en el análisis global de estas conductas se pasaba a un nivel de análisis más detallado.

Concretamente, y mediante la prueba de Wilcoxon, se realizaron comparaciones entre los diversos tratamientos efectuados en los diferentes días de la secuencia experimental para cada uno de los 4 grupos del experimento.

Histología.

Se realizó siguiendo el procedimiento descrito en el capítulo I.

Resultados.***INGESTA DE LIQUIDOS.***

Después de la intervención quirúrgica, los grupos muestran diferencias significativas en el consumo de líquidos para cada día analizado { **Día 1** H (3, 26) = 21.96, p = .0001; **Día 2** H (3, 26) = 13.66, p = .0034; **Día 3** H (3, 26) = 14.83, p = .0020; **Día 4** H (3, 26) = 20.03, p = .0002}(figs. 6a.2-6a.5).

Día 1: privación de alimento/ suero fisiológico hipertónico.

En el 1° día postoperatorio, el análisis estadístico entre grupos reveló que tanto el grupo con lesión anódica en la eminencia media (EM+1) como los animales pertenecientes al grupo experimental (EM+2) mostraron un consumo de líquido significativamente mayor que los grupos control (GCEM+1) y (GCEM+2) en las condiciones de privación de alimento y solución salina hipertónica (1.5%) respectivamente {**EM+ vs. GCEM+1** D (7, 6) = 1.00, p < .005; **EM+2 vs. GCEM+2** D(7,6) = 1.00, p < .005}(fig. 6a.2).

En este sentido hay que destacar que mientras los sujetos experimentales EM+1 y EM+2 incrementaron su ingesta con respecto a la línea base (antes de la operación) {**EM+1 (día 1 vs día -1)** Z = 2,36, p = .017; **EM+2 (día 1 vs. Día -1)** Z = 2.36, p = .017}, los animales control, o bien descendieron significativamente la toma de líquido cuando carecieron de comida {**GCEM+1 (día 1 vs. Día -1)** Z = 2.20, p = .027}, o por el contrario no presentaron diferencias significativas en la conducta consumatoria entre los dos periodos evaluados {**GCEM+2 (día 1 vs. día -1)** Z = .10, p = .91}(figs 6a.1 y 6a.2).

CAPÍTULO III

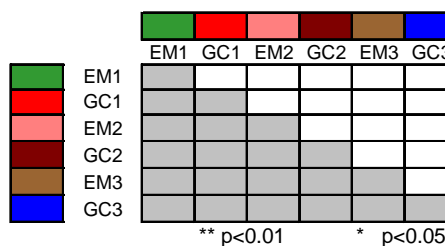
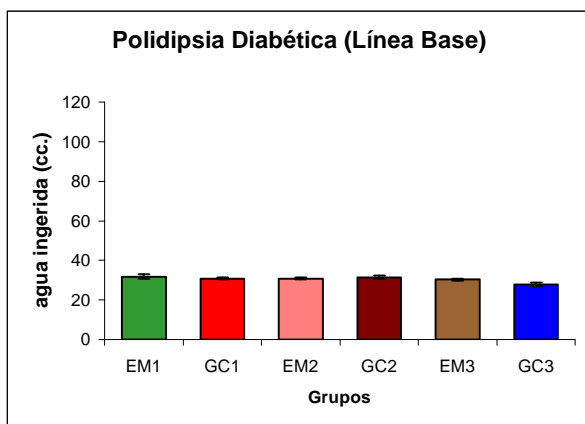


Figura 6a.1: Cantidades medias de agua ingeridas por los grupos experimentales y grupos control durante el periodo **preoperatorio** (línea base).

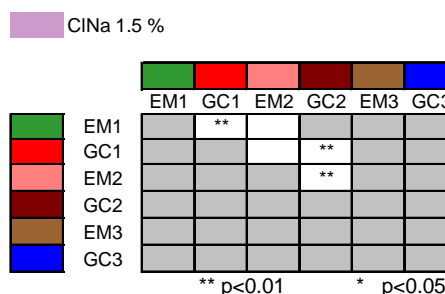
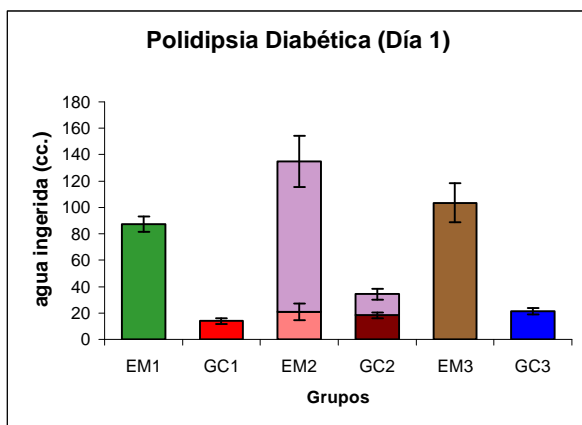


Figura 6a.2: Cantidades medias de agua ingeridas por los grupos experimentales y grupos control durante el **primer** día postoperatorio.

Por lo que respecta a las comparaciones entre los diferentes grupos experimentales (EM+1 vs. EM+2) hay que decir que no revelaron diferencias significativas en el consumo total de líquidos {EM+1 vs. EM+2 {D(7,7) = .00, p = n.s}. Sin embargo, cuando se analizó la ingesta de los grupos controles, los animales control no lesionados GCEM+2, que tuvieron la posibilidad de beber indistintamente cloruro sódico hipertónico (1.5%) y/o agua sí ingirieron un mayor volumen de líquido que los sujetos pertenecientes al grupo control EM+1 que sólo disponían de agua {GCEM+2 vs. GCEM+1 D(6, 6) = .00, p < .005}(fig. 6a.2).

Por último, conviene destacar la elevada ingesta efectuada por el grupo diabético EM+2 de la solución salina hipertónica (X = 114 c.c) que representa más del 82 % del total del líquido consumido a diferencia de la cantidad ingerida por el

grupo control ($X = 16$ c.c, 43.33 %) {**EM+2 % suero salino hipertónico (82.14) vs. GCEM+2 % suero salino hipertónico (43.33)** $D(7,6) = .85$, $p < .025$ }. Es más, esta preferencia por el cloruro sódico (1,5%) manifestada por el grupo experimental es significativamente mayor que la mostrada por el agua {**CINa vs. Agua** $Z = 2.19$, $p = .027$ }, una circunstancia que sin embargo no se observa en los animales del grupo control EM+2 {**CINa vs. Agua** $Z = .10$, $p = .91$ } (fig. 6a.2).

Día 2: privación de alimento/ privación de alimento.

En el 2º día del experimento, se pudo comprobar que el grupo lesionado EM+1 disminuyó significativamente la ingesta de agua con respecto al día anterior {**EM+1 (día 2 vs. día 1)** $Z = 2.36$, $p = .017$ }, si bien ésta todavía permaneció por encima de los valores observados en el grupo control (GCEM+1) tras la privación de alimento { $D(7, 6) = 1.00$, $p < .005$ } (fig. 6a.3). Esta circunstancia sin embargo, no se produjo en los animales experimentales EM+2, quienes a pesar de encontrarse en la misma condición experimental que el grupo diabético EM+1 (privación de alimento), no mostraron diferencias significativas con el grupo control (GCEM+2) { $D(7, 6) = .28$, $p = n.s$ }. Es más, el grupo EM+1 mostró una respuesta superior en la ingesta de agua que el grupo experimental EM+2 {**EM+1 vs. EM+2** $D(7, 7) = .85$, $p < .025$ }, un hecho que sin embargo no fue observado entre los grupos controles con falsa lesión {**GCEM+1 vs. GCEM+2** $D(6,6) = .016$, $p = n.s$ }.

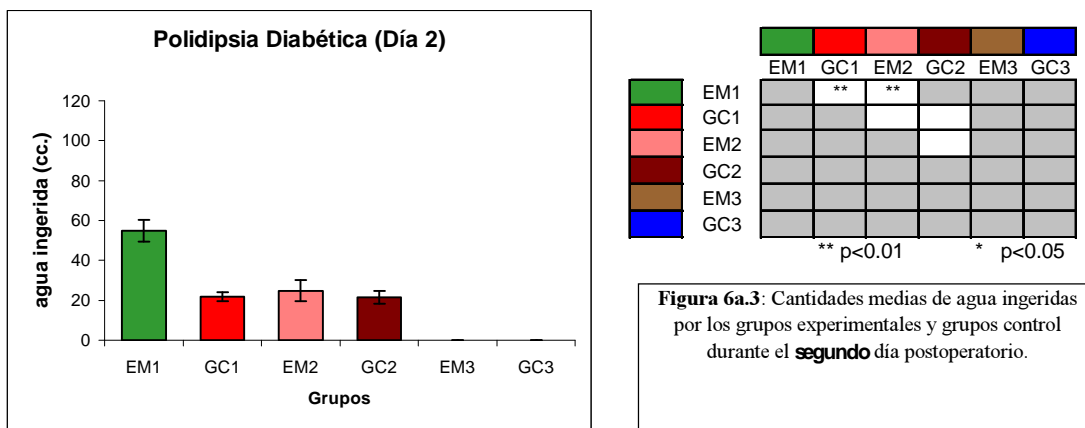


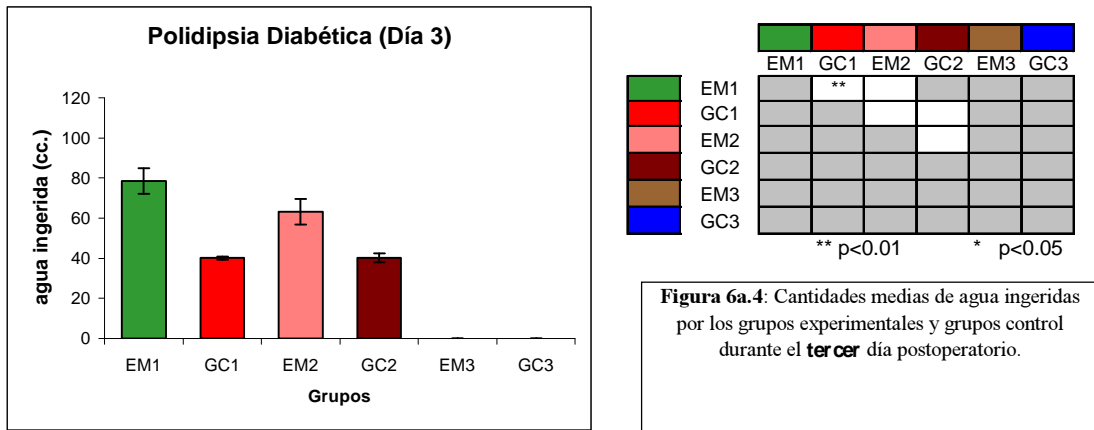
Figura 6a.3: Cantidades medias de agua ingeridas por los grupos experimentales y grupos control durante el **segundo** día postoperatorio.

Día 3: comida ad libitum/ comida ad libitum.

Los resultados más destacables en esta condición experimental fueron los siguientes:

Mientras que el grupo (EM+1) tomó mayor cantidad de agua que su grupo control (GCEM+1) en la presencia de alimento, no sucedió lo mismo con el grupo experimental EM+2 (comida ad libitum) {EM+1 vs. GCEM+1 $D(7,6) = 1.00, p < .005$ } {EM+2 vs. GCEM+2 $D(7,6) = .71, p = n.s$ } (fig. 6a.4).

A pesar de estas respuestas diferenciales entre los grupos experimentales y sus respectivos grupos control, hay que señalar que el análisis estadístico no reflejó diferencias significativas en la conducta de ingesta entre los animales pertenecientes a los dos grupos diabéticos {EM+1 vs. EM+2 $D(7,7) = .42, p = n.s$ } (fig. 6a.4).

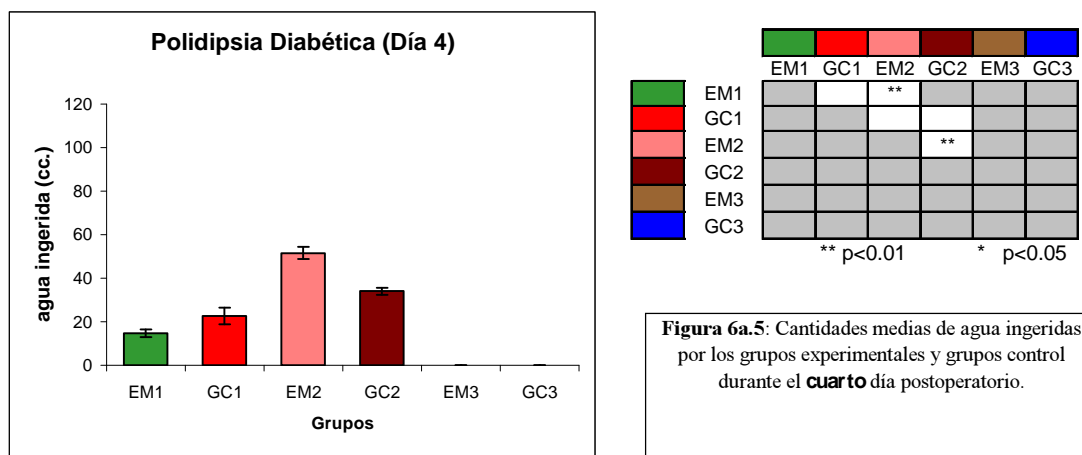


Día 4: privación de alimento/ comida ad libitum.

En el último día de la prueba, los animales experimentales EM+1 al ser privados de comida no muestran diferencias significativas en la ingesta de agua con su grupo control (GCEM+1) { $D(7,6) = -.50, p = n.s$ }(fig. 6a.5). El grupo lesionado EM+1 disminuye significativamente su respuesta consumatoria en esta condición (privación de alimento) respecto al día previo, cuando disponía de alimento {**EM+1 (día 4 vs. día 3)** $Z = 2,36, p = .017$ }(figs. 6a.4-6a.5).

Por su parte, el grupo experimental EM+2 (con comida) tomó, como cabría esperar, más agua que el grupo control (GCEM+2) y que los animales con lesión anódica en la eminencia media (EM+1) en la condición de privación de alimento {**EM+2 vs. GCEM+2** $D(7,6) = .85, p < .025$; **EM+2 vs. EM+1** $D(7,7) = .00, p < .005$ }(fig. 6a.5).

CAPÍTULO III



VOLUMEN DE ORINA.

Por lo que respecta al volumen de orina excretado por parte de los diferentes grupos lesionados y controles, se observaron diferencias significativas en cada uno de los días analizados, exceptuando el último de ellos {**Día 1** $H(3,26) = 28.91$, $p = .0000$; **Día 2** $H(3,26) = 22.36$, $p = .0004$; **Día 3** $H(3,26) = 21.28$, $p = .0007$; **Día 4** $H(3,26) = 5.31$, $p = n.s$ } (fig. 6a.6-6a.9).

Día 1: privación de comida/suero fisiológico hipertónico.

En el 1º día de la prueba, tanto los animales del grupo experimental EM+1 como los pertenecientes al grupo lesionado EM+2 excretaron una mayor cantidad de orina que sus respectivos grupos controles, en las condiciones de privación de alimento y solución salina hipertónica respectivamente {**EM+1 vs. GCEM+1** $D(7,6) = 1.00$, $p < .005$; **EM+2 vs. GCEM+2** $D(7,6) = .83$, $p < .025$ } (fig. 6a.6).

Por otra parte, el análisis entregrupos no reflejó diferencias significativas en el volumen de orina entre los diferentes grupos experimentales {**EM+1 vs. EM+2** $D(7,7) = -.42$, $p = n.s$ } (fig. 6a.6).

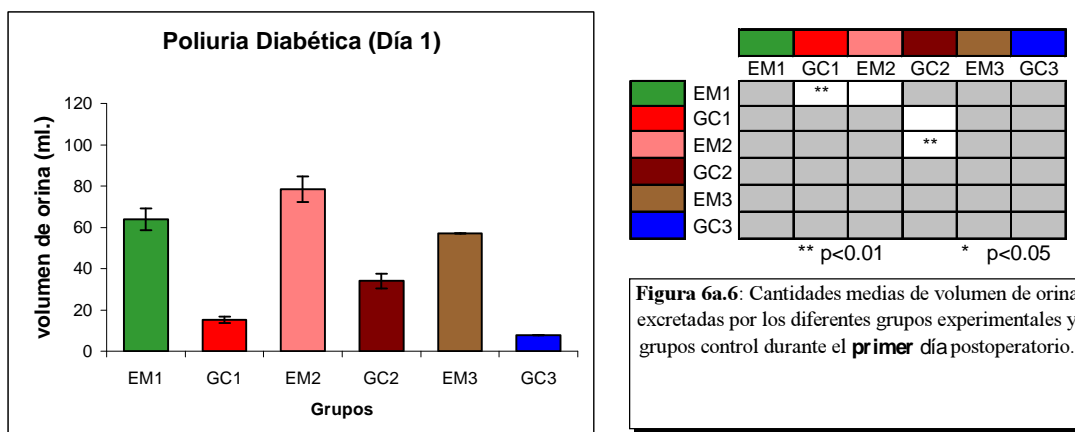


Figura 6a.6: Cantidades medias de volumen de orina excretadas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el **primer** día postoperatorio.

Día 2: privación de alimento/privación de alimento.

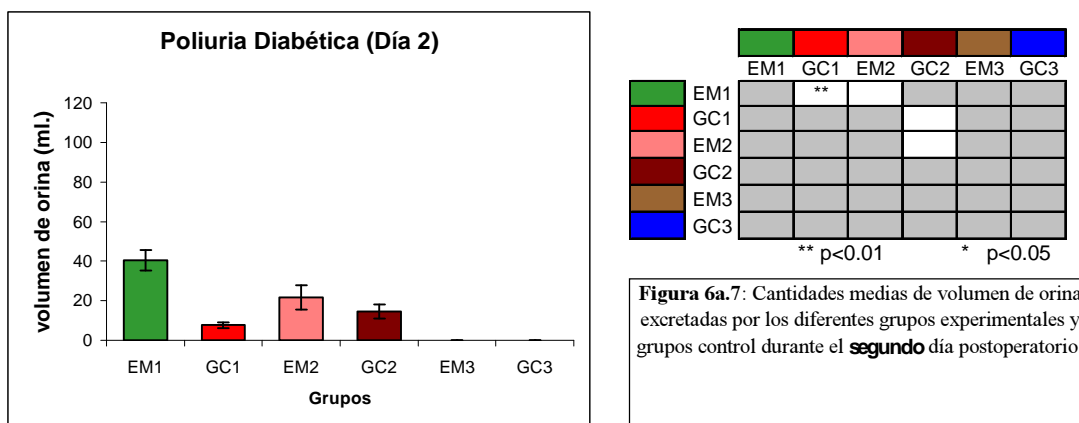
Los principales resultados observados en esta condición experimental pueden resumirse de la siguiente manera:

En primer lugar, se pudo comprobar que el grupo experimental EM+1 continúa mostrando una mayor respuesta diurética en la condición de privación de comida que el grupo control (GCEM+1) {D(7,6) = .85, p < .025}, si bien ésta disminuyó con respecto al día anterior {EM+1 (día 2 vs. día 1) Z = 2.36, p = .017}(fig. 6a.6-6a.7).

Por su parte, los animales lesionados EM+2 no mostraron diferencias significativas en la respuesta excretora con respecto a su grupo control (GCEM+2) en la situación de privación de alimento {D(7,6) = .38, p = n.s}. Como ya sucediera en el grupo anterior (EM+1), el grupo experimental EM+2 disminuyó el volumen de orina en esta condición (privación de alimento) respecto al día previo {EM+2 (día 2 vs. día 1) Z = 2.19, p = .027}(figs. 6a.6-6a.7).

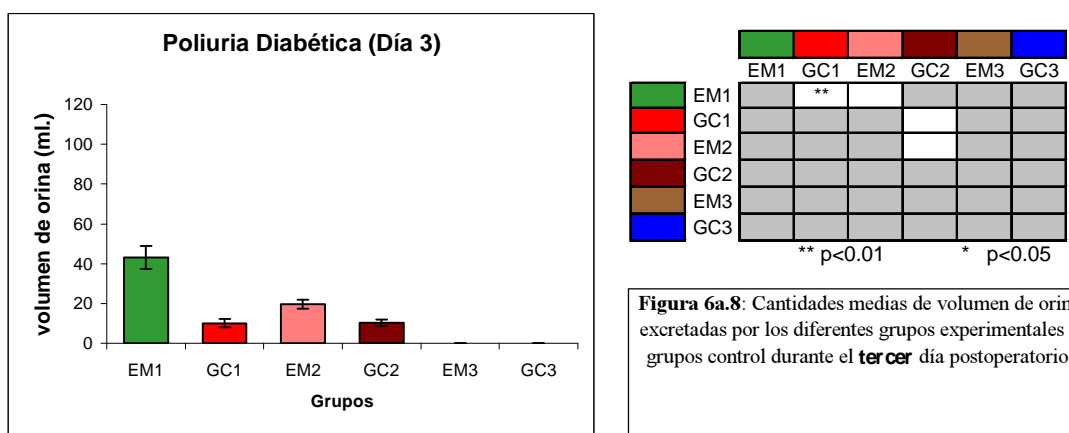
Sin embargo, hay que indicar que el análisis de los datos no reveló diferencias significativas en el volumen de orina excretado entre los dos grupos experimentales {EM+1 vs. EM+2 D(7,7)= .57, p = n.s}(fig. 6a.7).

CAPÍTULO III



Día 3: comida ad libitum/comida ad libitum.

El principal resultado observado es la ausencia de diferencias en la excreción de orina entre el grupo lesionado EM+2 y su control (GCEM+2) { $D(7,6) = .71$, $p = n.s$ } (fig. 6a.8). Por el contrario, el grupo experimental EM+1 (comida ad libitum) mostró una mayor respuesta diurética que el grupo control no lesionado (GCEM+1) { $D(7,6) = 1.00$, $p < .005$ }. Asimismo, se volvió a confirmar la ausencia de diferencias significativas en el volumen de orina excretado entre los diversos grupos lesionados ante las diferentes condiciones experimentales {EM+1 vs. EM+2 $D(7,7) = .71$, $p = n.s$ } (fig. 6a.8).



Día 4: privación de alimento/comida ad libitum.

Como ya se mencionó anteriormente, el análisis global de los datos no señaló la existencia de diferencias significativas en la respuesta diurética de los grupos experimentales y controles en este día de la prueba {H(3,26)= 5.31, p = n.s}, incluyendo al Grupo EM+2 que, recordemos, dispone de agua y comida “ad lib” (fig. 6a.9).

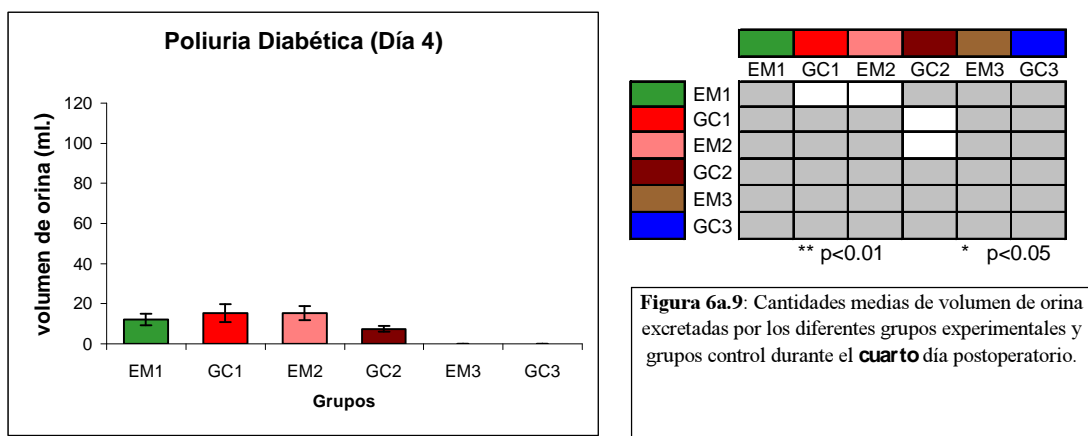
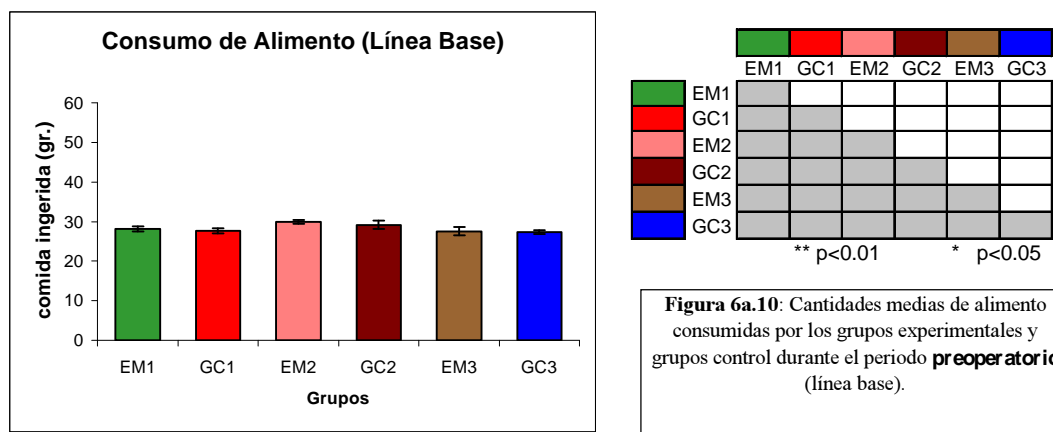


Figura 6a.9: Cantidades medias de volumen de orina excretadas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el **cuarto** día postoperatorio.

INGESTA DE COMIDA.

En cuanto a la ingesta de alimento, no se observaron diferencias significativas globales entre los grupos experimentales y controles en el día preoperatorio (línea base) {H(3,26) = 8.35, p = .13}(6a.10).

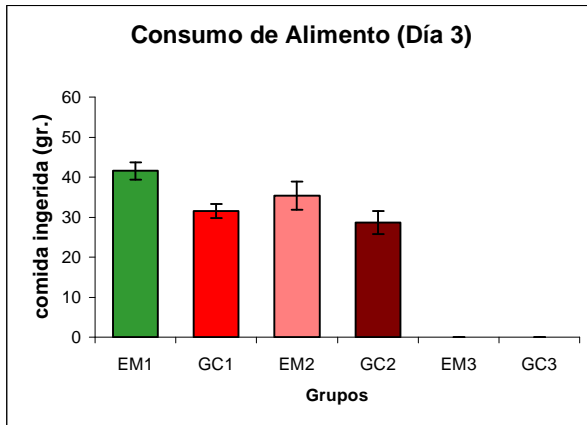
CAPÍTULO III



Posteriormente, y una vez intervenidos quirúrgicamente los animales, se analizaron las diferencias entre los diversos grupos experimentales y controles y entre los grupos experimentales entre sí en aquellas situaciones que tuviesen comida disponible.

Día 3: Grupo Experimental EM+1 vs. Grupo Control EM+1/ Grupo Experimental EM+2 vs. Grupo Control EM+2.

Durante este día, los animales experimentales EM+1 consumieron una mayor cantidad de comida que el grupo control no lesionado (GCEM+1) { $D(7,6) = .85$, $p = .025$ } (fig. 6a.13); una circunstancia que no fue observada cuando se comparan el grupo lesionado EM+2 con el grupo control (GCEM+2) o el grupo EM+1 respectivamente {**EM+2 vs.GCEM+2** $D(7,6) = .52$, $p = n.s.$; **EM+2 vs.EM+1** $D(7,7) = .42$, $p = n.s.$ }.



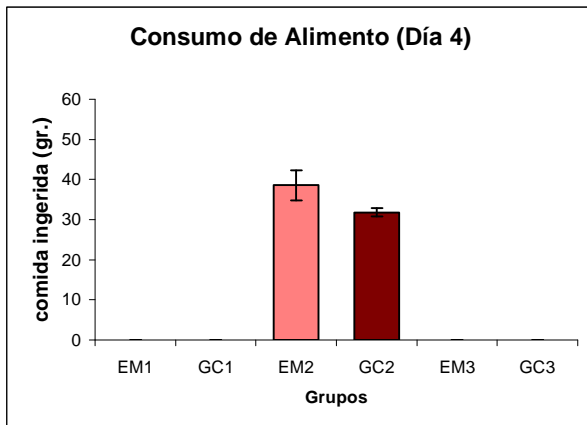
	EM1	GC1	EM2	GC2	EM3	GC3
EM1		**				
GC1						
EM2						
GC2						
EM3						
GC3						

** p<0.01 * p<0.05

Figura 6a.11: Cantidades medias de alimento consumidas por los grupos experimentales y grupos control durante el **tercer** día postoperatorio.

Día 4: Grupo Experimental EM+2 vs. Grupo Control EM+2.

En el último día de la prueba, se repiten los resultados obtenidos el día anterior entre el grupo experimental EM+2 y los animales pertenecientes al grupo control no lesionado (GCEM+2) {D(7,6) = .57, p = n.s}(fig. 6a.14).



	EM1	GC1	EM2	GC2	EM3	GC3
EM1						
GC1						
EM2						
GC2						
EM3						
GC3						

** p<0.01 * p<0.05

Figura 6a.12: Cantidades medias de alimento consumidas por los grupos experimentales y grupos control durante el **cuarto** día postoperatorio.

CAPÍTULO III

Discusión.

Los resultados del presente experimento parecen señalar que si bien la lesión electrolítica anódica de la eminencia media produce una marcada polidipsia, ésta puede ser modificada en función de la dieta de que disponen estos animales.

El daño ocasionado en la eminencia media, provoca de manera inmediata (primeras 24 horas postoperatorias) una notable alteración de carácter retentivo independientemente de la manipulación experimental a la que se ven sometidos los animales lesionados {privación de alimento/suero salino hipertónico/comida ad libitum (datos no presentados)}(fig. 6a.6) (Balment et al., 1986; Bronstein et al., 2000; Friedman et al., 1958; Laszlo et al., 1966; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1997).

En efecto, en este periodo se observa un paralelismo entre la elevada ingesta de líquidos de los animales diabéticos (EM+1/EM+2) y una pérdida considerable de fluido a través de la orina (hipovolemia) en ambas condiciones experimentales (privación de alimento/solución salina hipertónica) (figs. 6a.2 y 6a.6).

En cualquier caso, llama poderosamente la atención el elevado consumo de ClNa hipertónico que muestran los animales del grupo experimental EM+2 con respecto a su grupo control (GCEM+2), y que podría obedecer a alguna alteración de tipo volémico (fig. 6a.2) (Palmieri et al., 1969). En efecto, conviene recordar que en situaciones de hipovolemia como la que nos encontramos en este caso, se produce la activación del sistema enzimático-humoral renina-angiotensina-aldosterona que promueve entre otras respuestas fisiológicas compensatorias la ingesta de agua y ClNa (Buggy et al., 1974; Fitzsimons, 1987, 1998; Johnson et al., 1997; Morien et al., 1999; Phillips, 1987; Rose, 1984; Shelat et al., 1998; Stricker et al., 1987).

En otras palabras, la lesión electrolítica de la eminencia media, ha podido interferir con los mecanismos renales encargados de la conservación de fluidos, pero

no con la habilidad del sistema nervioso central para detectar el desequilibrio hidromineral provocado por la lesión (Cort, 1963; Friedman et al., 1962).

Los resultados que acabamos de presentar parecen señalar que el daño producido en la eminencia media desencadena de manera inmediata un déficit volémico que los animales intentarán compensar con la ingesta elevada de agua así como de soluciones hipertónicas de cloruro sódico.

Cabría esperar, que los animales diabéticos pudiesen equilibrar esos déficits en el volumen extracelular, desarrollando preferencias por una concentración de líquido isotónica (agua y ClNa al 0.9 %). Sin embargo, y contrariamente a lo reflejado por este planteamiento, se ha podido observar que los animales experimentales muestran una mayor predisposición por la solución salina (1.5%) que por el agua, lo que finalmente se traduce en una ingesta de líquidos con una concentración ligeramente hipertónica (agua y ClNa al 1.23%), prácticamente el doble de la manifestada por el grupo control (agua y ClNa al 0.62%) (fig. 6a.2).

Estos resultados, no dejan de ser sorprendentes, sobre todo si se tiene en cuenta que los animales diabéticos presentan severos cuadros de hipernatremia como consecuencia de las alteraciones producidas en los mecanismos encargados de la conservación de fluidos (Friedman et al., 1958, 1958, 1962; Lichardus et al., 1973; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Seckl et al., 1992).

En la actualidad, existen autores que describen el comportamiento compulsivo de los pacientes con diabetes insípida por conseguir alimentos que tengan un alto contenido en sal, si bien no se conoce cuál puede ser la explicación de este fenómeno (Rose, 1984).

Cabe la posibilidad de que la ingesta de la solución salina (1.5%) llevada a cabo por el grupo experimental EM+2 (en las primeras 24 horas postlesión) pueda ser la causa de las respuestas diferenciales observadas en el consumo de agua con respecto al grupo diabético EM+1 en el 2º día postquirúrgico, y que en este caso no

CAPÍTULO III

pueden ser atribuidas a una alteración de tipo volémico al no existir diferencias significativas entre ambos grupos en el volumen de orina excretado (fig. 6a.7).

En efecto, los animales experimentales que vuelven a estar privados de alimento (EM+1), si bien disminuyen de forma significativa su ingesta respecto al día anterior, todavía consumen mayor cantidad de agua que el grupo control (GCEM+1), un hecho que sin embargo no se produce en el grupo con lesión anódica EM+2 a pesar de encontrarse en la misma situación experimental (privación de alimento) (fig. 6a.3).

Se podría hipotetizar que las elevadas cantidades de ClNa hipertónico consumidas por los animales pertenecientes al grupo experimental EM+2 durante el 1º día después de la intervención quirúrgica ($X = 114$ c.c), y que representan más del 82% del total del líquido ingerido, podrían promover una mayor retención de fluidos como consecuencia del incremento de Na, facilitando la reabsorción de agua por parte del riñón con el objetivo de incrementar el volumen extracelular (Rose, 1984).

De ser cierta esta interpretación, se confirmaría una vez más que la diabetes insípida inducida por lesiones de la eminencia media no puede ser definida exclusivamente como un trastorno polidipsico secundario a una pérdida de líquidos; una circunstancia que ya pusieron de manifiesto en su momento Smith y McCann (1962, 1964) al documentar la presencia de hiperdipsia en animales diabéticos (lesión electrolítica en la eminencia media) nefroctomizados.

La presencia de alimento en el grupo experimental EM+2 provocó un aumento considerable en la ingesta de agua (días 3 y 4) de estos animales que incluso llega a ser superior significativamente a la observada en el grupo control (GCEM+2) en el último día de la prueba (figs 6a.4-6a.5). Por otra parte, hay que destacar el acusado descenso (no se obtuvieron diferencias significativas con relación al grupo control) que se produce en la conducta polidipsica de los animales pertenecientes al grupo experimental EM+1 cuando carecen de comida (día 4) (fig. 6a.5); unos resultados que se encuentran en la misma línea de otros estudios (Curtis, 1924;

Palmieri et al., 1969; Swann, 1939; Tittlebaum et al., 1960) y que ya habían sido reflejados en experimentos anteriores (ver exp.3).

Finalmente, y en consonancia con los datos que otros autores han puesto de manifiesto en relación con los niveles elevados de osmolaridad plasmática en la diabetes insípida (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) podría proponerse que el consumo elevado de alimento que muestran estos animales {ver Grupo Experimental EM+1 vs. Grupo Control EM+1 (día 3)(fig. 6a.11)}y que ha sido confirmado en experimentos previos de la presente Tesis Doctoral (ver exp. 1 y 4) podría agravar los problemas hipernatrémicos que padecen, provocando la ingesta de grandes cantidades de agua con la finalidad de resolver esos desequilibrios osmolares.

Esta idea se ve apoyada por una serie de estudios clásicos que han demostrado que la severidad de la diabetes insípida es proporcional a la cantidad de sodio ingerido por los animales durante las comidas (Curtis, 1924; Palmieri et al., 1969; Swann, 1939; Tittlebaum et al., 1960). Es más, cuando los animales diabéticos fueron privados de alimento o sometidos a una dieta carente en sal, entonces se observó una reducción significativa en la polidipsia, similar a la que hemos venido relatando a lo largo de este capítulo (Curtis, 1924; Palmieri et al., 1969; Swann, 1939).

En conclusión, los estudios que se han descrito en este capítulo, parecen demostrar que, si bien el comienzo de la Diabetes insípida (fase transitoria) no parece ser dependiente de la mayor o menor ingesta de comida de los animales, la fase permanente (polidipsica) de la enfermedad sí puede estar relacionada con este comportamiento. Lo que en un principio podría deberse a un problema en la conservación de fluidos también podría estar relacionado con un trastorno secundario a algún tipo de desequilibrio hidromineral. En concreto, y como ya se explicó anteriormente, una serie de autores señalan al ion sodio como la pieza clave en este proceso, sobre todo al conocer los datos que indican que los sujetos diabéticos tienen

CAPÍTULO III

un exceso de este mineral en el organismo (Bacic et al., 1999; Man et al., 1992; Seckl et al., 1992). Estas y otras cuestiones relevantes para el presente trabajo de investigación serán retomadas y analizadas en mayor profundidad en capítulos posteriores de esta Tesis Doctoral.

EXPERIMENTO 6B

Efectos de la administración periférica (i.p) de cloruro sódico hipertónico sobre el desarrollo y progresión de la polidipsia diabética inducida por lesiones electrolíticas en la Eminencia Media.

A través del estudio anterior (experimento 6A) se ha puesto de manifiesto que la polidipsia de índole diabética generada por lesiones de la eminencia media no puede ser considerada sólomente como un trastorno regulatorio secundario a la pérdida de líquidos (Smith y McCann, 1962, 1964).

En efecto, si bien los animales diabéticos desarrollan de manera inmediata (fase transitoria) una elevada hiperdipsia como consecuencia de una alteración en los mecanismos encargados de la conservación de fluidos (exp. 6A) (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; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1997), también presentan, una serie de desequilibrios osmolares de carácter hipernatrémico (incrementados o más reducidos en función de las características de la dieta alimenticia y de la ingesta de líquidos) (experimento.6A) que pueden reflejar un inadecuado control y regulación hidromineral (Bacic et al., 1999; Balment et al., 1986; Huang et al., 1996; Man et al., 1992; Seckl et al., 1992).

Concretamente, y como se ha venido indicando a lo largo de la presente Tesis Doctoral, cada vez cobra mayor fuerza la idea de que el sodio puede ser un componente fundamental en este proceso regulatorio (trastorno polidipsico), sobre todo al confirmarse repetidamente que los animales diabéticos muestran un exceso de este mineral en su organismo (Bacic et al., 1999; Balment et al., 1986; Friedman et al., 1958, 1962; Hollinshead, 1964; Huang et al., 1996; Laszlo et al., 1966; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Rolls, 1970; Seckl et al., 1992; Swann et al., 1939).

CAPÍTULO III

En relación con esta cuestión, diversos autores coinciden en señalar que los niveles elevados de sodio corporal observados durante el transcurso de la diabetes insípida podrían ser un fiel reflejo de una incapacidad renal para excretar una orina concentrada (Bacic et al., 1999; Balment et al., 1986; Huang et al., 1996; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Swann et al., 1939; Seckl et al., 1992; Titlebaum et al., 1960; Wolf, 1950).

Es posible que estas alteraciones en los procesos regulatorios hidrominerales puedan explicar las estrechas relaciones existentes entre la severidad de la polidipsia y poliuria en la diabetes insípida y la cantidad de sodio ingerido por los sujetos durante las comidas (Curtis, 1924; Palmieri et al., 1969; Swann, 1939; Titlebaum et al., 1960).

Como se ha descrito anteriormente, la presencia de alimento ad libitum en las jaulas de los animales diabéticos incrementa de manera significativa la ingesta de agua con respecto a los sujetos del grupo control no lesionado (exp.6A). Por el contrario, cuando a los mismos animales se les priva de comida o se les proporciona dietas hiposódicas, se observa una reducción significativa en el consumo de líquidos similar a la que hemos venido describiendo en los capítulos anteriores (ver exp. 3 y 6A) (Curtis 1924; Palmieri et al., 1969; Swann et al., 1939).

Una vez más, estos resultados parecen incidir en la relevancia de un adecuado control de los niveles de sodio corporal durante los procesos regulatorios (Fitzsimons, 1998; McKinley et al., 1983; Robertson, 1982, 1983; Robertson et al., 1995; Rose, 1984, 1986; Saltmarsh, 2001).

Desde esta óptica podría ser relevante analizar las consecuencias que podrían tener sobre el desarrollo y progresión del trastorno polidipsico diabético, la manipulación del medio interno a través de varias condiciones experimentales, a saber, la administración periférica (intraperitoneal) de una solución salina hipertónica (2 cc ClNa, 2M), la ingesta ad libitum de una comida estándar (0.25% de sodio), o la privación de alimento (y, por lo tanto, del consumo de ClNa).

En función de los argumentos esgrimidos anteriormente cabría esperar respuestas diferenciales en el comportamiento polidíptico de los animales diabéticos dependiendo de que las condiciones experimentales incrementen o disminuyan los desequilibrios osmolares que todo parece indicar que padecen.

Con el objetivo de examinar esta hipótesis, se realizó el presente experimento en el cual se incluye asimismo un estudio sobre la composición electrolítica de la orina (centrándonos particularmente en el sodio) así como del grado de concentración de la misma (osmolaridad).

Método.

Sujetos.

Se utilizaron 39 ratas macho de la cepa Wistar, suministradas por el servicio de Animalario de Experimentación de la Comisión de servicios técnicos de la Universidad de Granada. El peso de los animales al principio del estudio estuvo comprendido entre 240-320 gramos. El mantenimiento a su llegada al laboratorio fue idéntico al descrito en los experimentos previos.

Procedimiento Quirúrgico.

Fue idéntico al descrito en el capítulo I.

Procedimiento Experimental.

Inicialmente, los 39 animales fueron asignados de forma aleatoria a uno de los grupos experimentales o control, quedando distribuidos de la siguiente forma: grupo experimental EM+1 cloruro sódico hipertónico (2cc ClNa, 2M) (n=7); grupo control EM+1 cloruro sódico hipertónico (2cc ClNa, 2M) (n=6); grupo experimental EM+ 2 comida estándar ad libitum (n=7); grupo control EM+2 comida estándar ad

CAPÍTULO III

libitum (n=6); grupo experimental EM+3 privado de alimento (n=7); grupo control EM+3 privado de alimento (n=6).

El registro de la cantidad de agua y comida ingerida en la fase preoperatoria se realizó de forma idéntica a la descrita en los capítulos anteriores.

Después de efectuada la intervención quirúrgica, los animales recibieron un tratamiento específico (administración periférica (i.p) de ClNa (2cc, 2M), comida estándar ad libitum y privación de alimento) durante las primeras 48 horas en función del grupo al que pertenecían.

En este experimento, los animales pertenecientes al grupo con lesión anódica en la eminencia media (EM+1) y grupo control (GCEM+1) recibieron la administración periférica (i.p) de una solución salina hipertónica (2 cc ClNa, 2M) inmediatamente después de haber efectuado la intervención quirúrgica. En todo momento, estos animales permanecieron con agua ad libitum pero en una situación de privación completa de alimento, que continuó durante el 2º día postoperatorio (24/48 horas), aunque ahora sin recibir la administración intraperitoneal de la solución salina hipertónica.

Tabla 6b.1

Grupos	Día 1	Día 2	Día 3/7
EM1	Administración i.p De ClNa 2cc, 2M	Privación de Alimento	Comida Estándar
GC1			

Por su parte, los animales del grupo experimental EM+2 y grupo control (GCEM+2) dispusieron en su jaula (además del agua) de la presencia de comida estándar (0.25% de sodio) ad libitum durante las primeras 48 horas postoperatorias.

Tabla 6b.2

Grupos	Día 1	Día 2	Día 3/7
EM2	Comida Estándar	Comida Estándar	Comida Estándar
GC2			

Finalmente, también se incluyó un grupo con lesión anódica en la eminencia media (EM+3) y su grupo control (GCEM+3) con agua ad libitum pero privados de alimento en los 2 primeros días (48 horas) tras la intervención quirúrgica.

Tabla 6b.3

Grupos	Día 1	Día 2	Día 3/7
EM3	Privación de Alimento	Privación de Alimento	Comida Estándar
GC3			

Con el objetivo de comprobar el efecto de los diferentes tratamientos en los grupos lesionados y controles, se procedió a registrar la ingesta de agua y comida (sólo en la condición que lo permita) de cada animal durante las 48 horas siguientes a la intervención quirúrgica. Asimismo, también se cuantificaron los niveles de sodio en la orina (6, 6-24 y 24-48 horas) así como el volumen de la misma (6, 6-24 y 24-48 horas) y su grado de concentración (osmolaridad 6, 6-24 y 24-48 horas) en todos los grupos experimentales y controles. Para ello, los animales una vez intervenidos quirúrgicamente permanecieron durante 48 horas en jaulas metabólicas (Tecniplast 3701Mo-000) las cuales, mediante un sistema de filtrado permiten recoger la orina, libre de restos de comida, para su posterior procesamiento.

CAPÍTULO III

La concentración de sodio en la muestra de orina se determinó mediante un analizador automático (Beckman Instruments, Synchron CX3 Delta, USA) calculándose la excreción resultante de la siguiente manera:

$$U_{Na}V = [Na]_U \times D/1000,$$

Donde, $U_{Na}V$: excreción urinaria de sodio (mEq/l); $[Na]_U$: concentración urinaria de sodio (mosmol/Kg); D: diuresis (ml).

Por lo que se refiere a la determinación de la osmolaridad urinaria, se llevó a cabo mediante un osmómetro automático basado en técnicas de crioscopia (Osmostat OM-6020, Kyoto-Japón).

Finalmente, transcurridas las primeras 48 horas del experimento, todos los animales fueron devueltos a sus jaulas individuales, donde dispusieron de comida y agua ad libitum. En todos los casos, se procedió a seguir registrando la cantidad de agua y comida ingerida, con la finalidad de comprobar si la manipulación experimental llevada a cabo en los primeros días (primeras 48 horas postoperatorias) pudiera tener alguna repercusión sobre las conductas estudiadas.

Análisis Estadístico.

Se utilizó el Anova no paramétrico de Kruskal Wallis (grupos independientes) con el objetivo de comparar los resultados globales en las variables estudiadas entre los grupos experimentales y controles para cada uno de los días del experimento.

En el caso de existir diferencias significativas en el análisis global de alguna de las variables evaluadas se pasaba a realizar un análisis post-hoc más detallado. Para ello, se analizaron las diferencias entre los grupos experimentales y controles, y

entre los diferentes grupos lesionados entre sí en cada uno de los días del experimento mediante la prueba de Kolmogorov Smirnov.

Asimismo, se utilizó un Anova de Friedman (análisis intragrupo) con el objetivo de analizar las posibles diferencias en cada uno de los días del experimento para cada grupo experimental y control. En el caso de obtener efectos significativos en el análisis global de estas conductas se pasaba a un nivel de análisis más detallado.

Concretamente, y mediante la prueba de Wilcoxon se realizaron comparaciones entre las puntuaciones obtenidas en los diferentes días de la secuencia experimental para cada uno de los 6 grupos del experimento.

Histología.

Se realizó siguiendo el procedimiento descrito en el capítulo I.

Resultados.

INGESTA DE AGUA.

Una vez realizada la intervención quirúrgica (lesión electrolítica anódica de la eminencia media) los grupos muestran diferencias significativas en la ingesta de agua para cada día analizado {**Día 1** $H(5,39) = 29,14$, $p = .0000$, **Día 2** $H(5,39) = 30,70$, $p = .0000$, **Día 3** $H(5,39) = 30,30$, $p = .0000$, **Día 4** $H(5,39) = 30,68$, $p = .0000$, **Día 5** $H(5,39) = 28,70$, $p = .0000$, **Día 6** $H(5,39) = 31,91$, $p = .0000$, **Día 7** $H(5,39) = 31,70$, $p = .0000$ } (fig. 6b.1).

CAPÍTULO III

Día 1: administración (ip) ClNa hipertónico/comida ad libitum/privación de alimento.

El análisis estadístico entregrupos reveló que los animales pertenecientes a los grupos lesionados mostraron un consumo de agua significativamente superior que los grupos controles en las primeras 24 horas postoperatorias {**EM+1 vs. GCEM+1** $D(7,6) = 1.00, p < .005$; **EM+2 vs. GCEM+2** $D(7,6) = 1.00, p < .005$; **EM+3 vs. GCEM+3** $D(7,6) = 1.00, p < .005$ } (fig. 6b.1).

Por lo que respecta a las comparaciones entre los diferentes grupos experimentales entre sí, los resultados obtenidos mostraron que no había diferencias significativas en la ingesta de agua {**EM+1 vs. EM+3** $D(7,7) = .00, p = n.s$; **EM+2 vs. EM+3** $D(7,7) = .00, p = n.s$ } (fig. 6b.1).

Día 2: privación de alimento/comida “normal” ad libitum/privación de alimento.

En el 2° día del experimento (48 horas) se mantuvieron los mismos resultados del día anterior. Los animales pertenecientes a los grupos experimentales mostraron respuestas superiores en la ingesta de agua con respecto a los sujetos del grupo control {**EM+1 vs. GCEM+1** $D(7,6) = 1.00, p < .005$; **EM+2 vs. GCEM+2** $D(7,6) = 1.00, p < .005$; **EM+3 vs. GCEM+3** $D(7,6) = 1.00, p < .005$ } (fig. 6b.1).

Sin embargo, en el análisis entre grupos, el grupo lesionado EM+1 cloruro sódico hipertónico ingiere mayor cantidad de agua que el grupo experimental EM+3 que se encuentra privado de alimento {**EM+1 vs. EM+3** $D(7,7) = .85, p < .025$ }, una circunstancia que no se observa en las comparaciones efectuadas entre los animales pertenecientes a los correspondientes grupos controles {**GCEM+1 vs. GCEM+3** $D(6,6) = .00, p = n.s$ }, mientras que el grupo EM+2 ocupa una posición intermedia (fig. 6b.1).

En relación con estos resultados, hay que destacar el marcado descenso en la ingesta de agua mostrado por el grupo experimental EM+3 (48 horas) con respecto al primer día postoperatorio {**EM+3 (día 2 vs. día 1)** $Z = 2,36$, $p = .017$ }, y que no se llega a producir en los animales lesionados EM+1 y EM+2, que continuaron presentando una polidipsia estable {**EM+1 (día 2 vs. día 1)** $Z = .84$, $p = .39$; **EM+2 (día 2 vs. día 1)** $Z = .84$, $p = .39$ }. Por lo que respecta a los sujetos pertenecientes a los diferentes grupos control hay que decir que no se observaron diferencias significativas entre ambos periodos (fig. 6b.1).

Días 3/7: alimentación “ ad libitum “.

A partir del 3º día postoperatorio y ya con todos los animales experimentales y controles en condiciones de comida ad libitum, se observa una disminución significativa en la ingesta de agua con respecto al día anterior por parte de los animales pertenecientes a los grupos lesionados EM+1 y EM+2 {**EM+1 (día 3 vs. día 2)** $Z = 2,02$, $p = .04$; **EM+2 (día 3 vs. día 2)** $Z = 2,36$, $p = .017$ }. Esta disminución no se observó en los correspondientes grupos controles. Es más, incluso se produjo el efecto contrario, es decir, los animales del grupo control EM+1 y EM+2 incrementaron significativamente su ingesta en esta misma condición (comida estándar ad libitum) respecto al día previo {**GCEM+1 (día 3 vs. día 2)** $Z = 2,20$, $p = .027$; **GCEM+2 (día 3 vs. día 2)** $Z = 1,99$, $p = .04$ } (fig. 6b.1).

Este descenso significativo tampoco se observó en el grupo experimental EM+3 tras disponer de alimento por primera vez (día 3) {**EM+3 (día 3 vs. día 2)** $Z = 1,18$, $p = .23$ }. Es más, los animales pertenecientes a este grupo lesionado (EM+3) permanecieron por encima del grupo experimental EM+2 en la toma de agua en los últimos días del experimento {**EM+3 vs. EM+2** $D(7,7) = .85$, $p < .025$ (día 6), $D(7,7) = .85$, $p < .025$ (día 7)}, una circunstancia que no fue observada en los grupos controles no lesionados {**GCEM+3 vs. GCEM+2** $D(6,6) = .33$, $p = n.s$ (día 6); $D(6,6) = .33$, $p = n.s$ (día 7)} (fig. 6b.1).

CAPÍTULO III

Conforme transcurren los días (día 5 en adelante) se produce una progresión significativa en la ingesta de agua de cada uno de los grupos experimentales con respecto a los días previos. Estos resultados sin embargo tampoco fueron observados en los diferentes grupos controles {**EM+1 (día 6 vs día 5)** $Z = 2,36$, $p = .017$; (**día 7 vs. día 6**) $Z = 2,36$, $p = .017$ } {**EM+2 (día 6 vs. día 5)** $Z = 2,36$, $p = .017$; (**día 7 vs. día 6**) $Z = 2,36$, $p = .017$ } {**EM+3 (día 6 vs. día 5)** $Z = 2,36$, $p = .017$, (**día 7 vs. día 6**) $Z = 2,36$, $p = .017$ } {**GCEM+1 (día 6 vs. día 5)** $Z = 1,15$, $p = .24$, (**día 7 vs. día 6**) $Z = 1,21$, $p = .22$ } {**GCEM+2 (día 6 vs. día 5)** $Z = 1,27$, $p = .20$, (**día 7 vs. día 6**) $Z = .73$, $p = .46$ } {**GCEM+3 (día 6 vs. día 5)** $Z = .73$, $p = .46$, (**día 7 vs. día 6**) $Z = 1,82$, $p = .067$ } (fig. 6b.1).

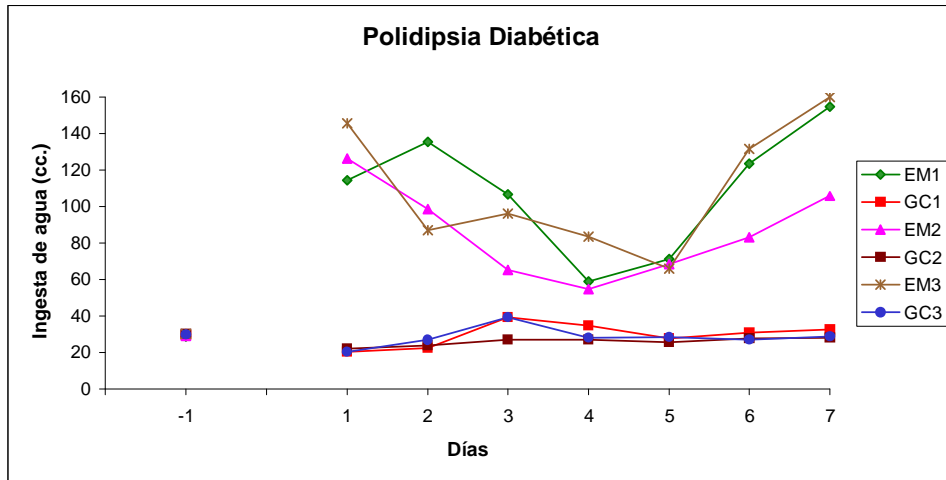


Figura 6b.1: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo postoperatorio y tras la manipulación de una serie de condiciones experimentales que afectan a los niveles de sodio en el organismo.



CAPÍTULO III

Por último hay que significar que a pesar de estas variaciones en el patrón de la polidipsia diabética entre los diferentes grupos experimentales, éstos manifestaron siempre una mayor respuesta hiperdipsica que los sujetos control durante todos los días de la prueba {**EM+1 vs. GCEM+1/EM+2 vs. GCEM+2/EM+3 vs. GCEM+3** $D(7,6) = 1,00, p < .005$ (días 3, 4, 5, 6 y 7)}(fig. 6b.1).

VOLUMEN DE ORINA.

El análisis global de la cantidad de orina excretada por parte de los grupos lesionados y controles reveló diferencias significativas entre ellos en cada una de las condiciones evaluadas (6, 6-24 y 24-48 horas).{**6 horas** $H(5,39) = 29,74, p = .0000$; **6-24 horas** $H(5,39) = 30,81, p = .0000$; **24-48 horas** $H(5,39) = 30,17, p = .0000$ }(fig. 6b.2., 6b.5., 6b.8).

Cuando se analizan estas diferencias de una manera más detallada, se observa que los animales experimentales presentan una mayor respuesta diurética que los sujetos de los grupos controles en las 3 mediciones efectuadas {**EM+1 vs. GCEM+1/EM+2 vs. GCEM+2/EM+3 vs. GCEM+3** $D(7,6) = 1,00, p < .005$ (6, 6-24 y 24-48 horas) (figs. 6b2., 6b.5., 6b.8)}. Sin embargo, se observa una significativa respuesta oligúrica en los sujetos pertenecientes a los grupos EM+2 y EM+3 en el 2º día postoperatorio (24-48 horas) con respecto al periodo 6-24 horas {**EM+2 (24-48 horas vs. 6-24 horas)** $Z = 2,36, p = .017$; **EM+3 (24-48 horas vs. 6-24 horas)** $Z = 2,36, p = .017$ }. Este efecto retentivo no fue manifestado por el grupo lesionado EM+1, que permaneció sin cambios en la respuesta diurética {**EM+1 (24-48 horas vs. 6-24 horas)** $Z = .31, p = .75$ }(fig. 6b.5).

El análisis estadístico entregrupos no reflejó diferencias significativas en el volumen de orina entre los diferentes grupos experimentales en cada una de las condiciones evaluadas (ver figs. 6b.2., 6b.5., 6b.8).

NIVELES DE SODIO EN ORINA.

Por lo que respecta a la respuesta natriurética de los grupos experimentales y controles, se observaron diferencias significativas en las 3 condiciones evaluadas (6, 24 y 48 horas) después de la intervención quirúrgica { **6 horas** $H(5,39) = 16,94$, $p = .0046$; **6-24 horas** $H(5,39) = 14,00$, $p = .0156$; **24-48 horas** $H(5,39) = 22,46$, $p = .0004$ }(figs. 6b.3., 6b.6., 6b.9).

Salvo el grupo lesionado EM+2 que mostró una menor concentración de sodio urinaria respecto al grupo control (GCEM+2) en el periodo 6-24 horas postoperatorias { **EM+2 vs. GCEM+2** $D(7,6) = .02$, $p < .025$ }, ninguno de los restantes grupos diabéticos (EM+1 y EM+3) manifestaron diferencias con los controles en la respuesta natriurética (fig. 6b.6).

Por otra parte, comparando los resultados de cada uno de los grupos de animales lesionados, se observa una mayor excreción de sodio en la orina por parte de los grupos diabéticos EM+1 (6 y 24-48 horas postoperatorias) y EM+2 (24-48 horas) respecto al grupo experimental EM+3 { **EM+1 vs. EM+3** $D(7,7) = .85$, $p < .025$ (6 y 24-48 horas); **EM+2 vs. EM+3** $D(7,7) = .85$, $p < .025$ (24-48 horas)}(figs. 6b.3., 6b.6., 6b.9)}.

OSMOLARIDAD URINARIA.

Las comparaciones realizadas entre los grupos lesionados y control en general, evidenciaron diferencias significativas en la osmolaridad urinaria en las diferentes condiciones evaluadas (6, 24 y 48 horas) tras la intervención quirúrgica { **6 horas** $H(5,39) = 32,54$, $p = .0000$; **6-24 horas** $H(5,39) = 29,03$, $p = .0000$; **24-48 horas** $H(5,39) = 32,70$, $p = .0000$ }(figs. 6b.4., 6b.7., 6b.10)

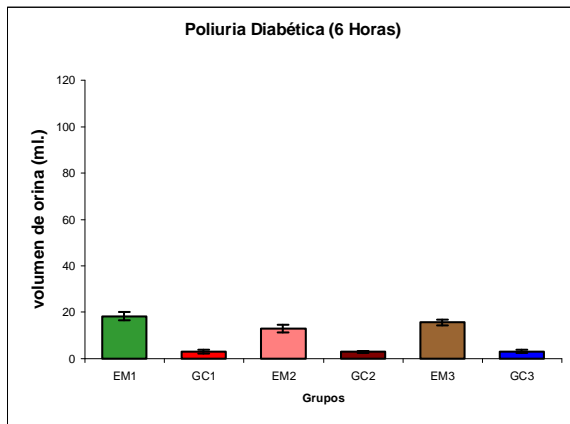
CAPÍTULO III

Los principales resultados pueden resumirse de la siguiente manera:

Los grupos experimentales mostraron una menor concentración urinaria que los grupos control en cada una de las situaciones analizadas {**EM+1 vs GCEM+1** $D(7,6) = -1.00, p < .005$ (6 y 24-48 horas), **EM+2 vs. GCEM+2** $D(7,6) = -.83, p < .025$ (6-24 horas)} {**EM+2 vs. GCEM+2** $D(7,6) = -1.00, p < .005$ (6, 6-24 y 24-48 horas)} {**EM+3 vs. GCEM+3** $D(7,6) = -1.00, p < .005$ (6, 6-24 y 24-48 horas) (figs. 6b.4., 6b.7., 6b.10)}.

Por lo que respecta a la comparación de los animales pertenecientes a los distintos grupos lesionados, se observó una mayor respuesta osmolar en la orina (6 y 24-48 horas) en el grupo experimental EM+1 cloruro sódico hipertónico y EM+2 comida “normal” ad libitum (24-48 horas) respecto al grupo diabético EM+3 privado de alimento {**EM+1 vs. EM+3** $D(7,7) = .85, p < .025$ (6 y 24-48 horas); **EM+2 vs. EM+3** $D(7,7) = .85, p < .025$ (24-48 horas)} (6b.4., 6b.7., 6b.10).

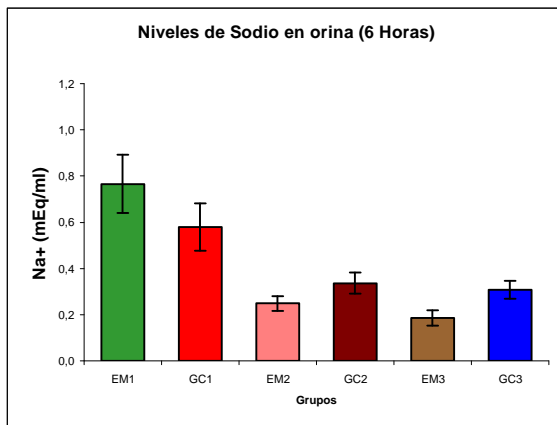
EXPERIMENTO 6B



	EM1	GC1	EM2	GC2	EM3	GC3
EM1		**				
GC1						
EM2				**		
GC2						
EM3						**
GC3						

** p<0.01 * p<0.05

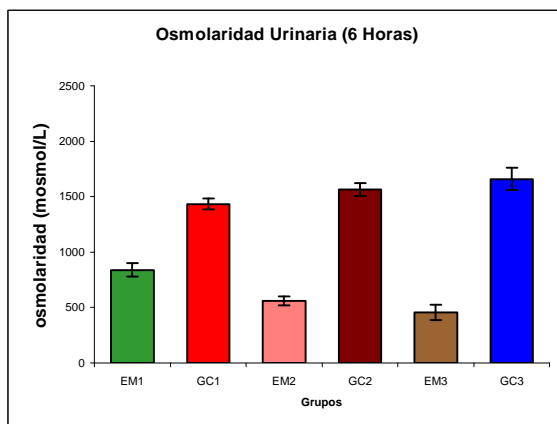
Figura 6b.2: Cantidades medias de volumen de orina excretadas por los diferentes grupos experimentales y grupos control a las **6 horas** después de la lesión electrolítica correspondiente y tras la manipulación de una serie de condiciones experimentales que afectan a los niveles de sodio en el organismo.



	EM1	GC1	EM2	GC2	EM3	GC3
EM1					**	
GC1						
EM2						
GC2						
EM3						
GC3						

** p<0.01 * p<0.05

Figura 6b.3: Cantidades medias de los niveles de sodio en orina excretadas por los grupos experimentales y grupos control **6 horas** después de la lesión electrolítica correspondiente y tras la manipulación de una serie de condiciones experimentales que afectan a los niveles de sodio en el organismo.

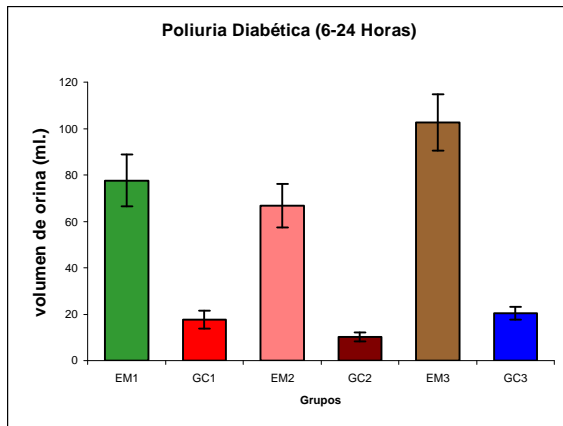


	EM1	GC1	EM2	GC2	EM3	GC3
EM1		**				
GC1						
EM2				**		
GC2						
EM3						**
GC3						

** p<0.01 * p<0.05

Figura 6b.4: Cantidades medias obtenidas en los valores de osmolaridad urinaria por parte de los grupos experimentales y grupos control **6 horas** después de la lesión electrolítica correspondiente y tras la manipulación de varias condiciones experimentales que afectan a los niveles de sodio en el organismo.

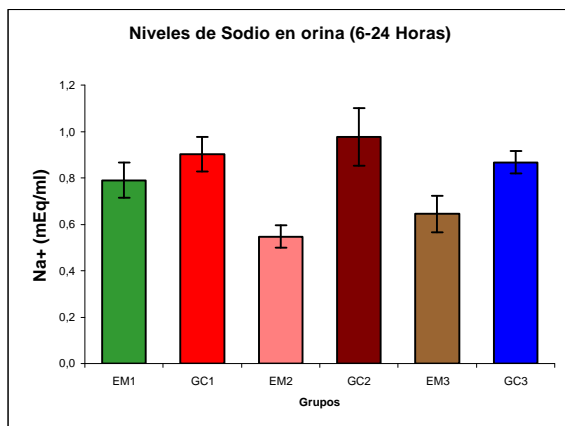
CAPÍTULO III



	EM1	GC1	EM2	GC2	EM3	GC3
EM1		**				
GC1						
EM2				**		
GC2						
EM3						**
GC3						

** p<0.01 * p<0.05

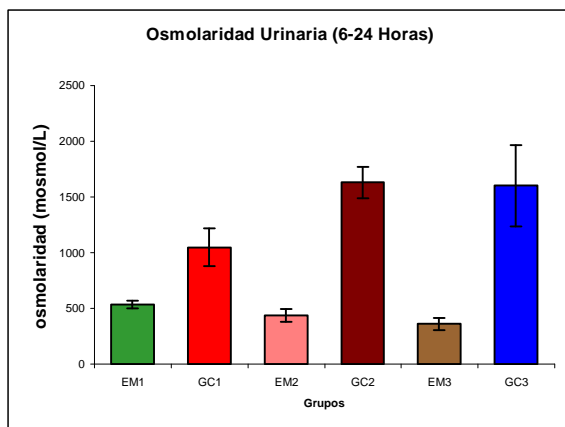
Figura 6b.5: Cantidades medias de volumen de orina excretadas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las 6-24 horas postoperatorias y tras la manipulación de una serie de condiciones experimentales que afectan a los niveles de sodio en el organismo.



	EM1	GC1	EM2	GC2	EM3	GC3
EM1						
GC1						
EM2				**		
GC2						
EM3						
GC3						

** p<0.01 * p<0.05

Figura 6b.6: Cantidades medias de los niveles de sodio en orina excretadas por los grupos experimentales y grupos control en el periodo comprendido entre las 6-24 horas postoperatorias tras la manipulación de una serie de condiciones experimentales que afectan a los niveles de sodio en el organismo.



	EM1	GC1	EM2	GC2	EM3	GC3
EM1						
GC1						
EM2				**		
GC2						
EM3						**
GC3						

** p<0.01 * p<0.05

Figura 6b.7: Cantidades medias obtenidas en los valores de osmolaridad urinaria por parte de los grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las 6-24 horas postoperatorias y tras la manipulación de varias condiciones experimentales que afectan a los niveles de sodio en el organismo.

EXPERIMENTO 6B

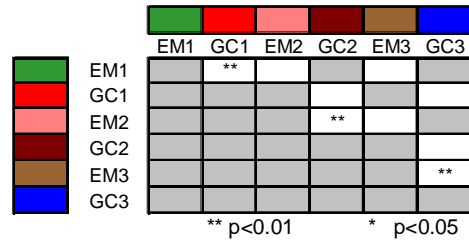
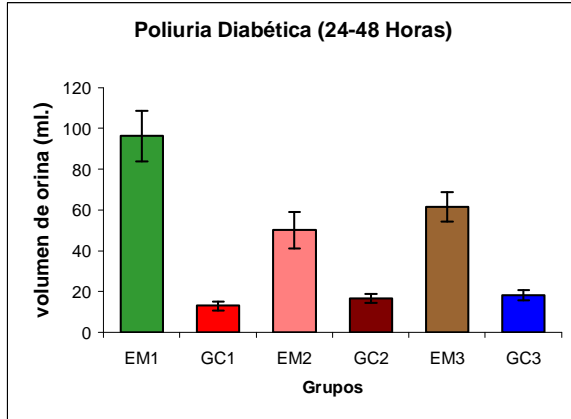


Figura 6b.8: Cantidades medias de volumen de orina excretadas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **24-48 horas** postoperatorias y tras la manipulación de una serie de condiciones experimentales que afectan a los niveles de sodio en el organismo.

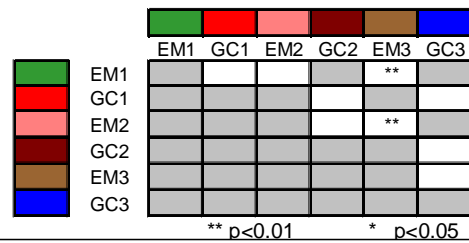
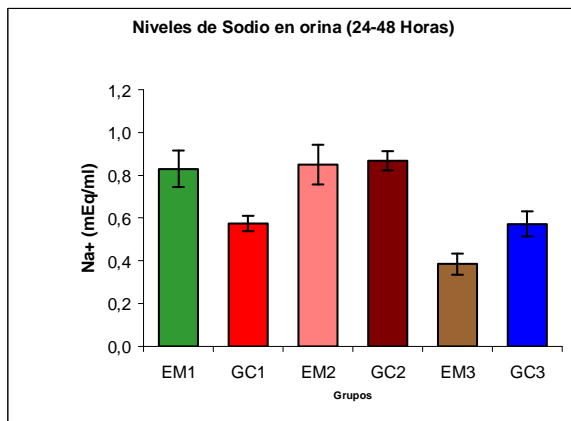


Figura 6b.9: Cantidades medias de los niveles de sodio en orina excretadas por los grupos experimentales y grupos control en el periodo comprendido entre las **24-48 horas** postoperatorias tras la manipulación de una serie de condiciones experimentales que afectan a los niveles de sodio en el organismo.

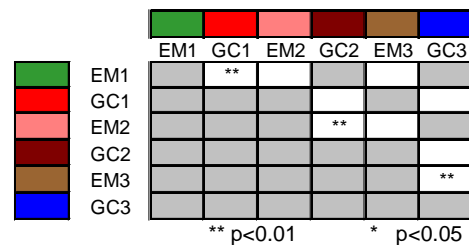
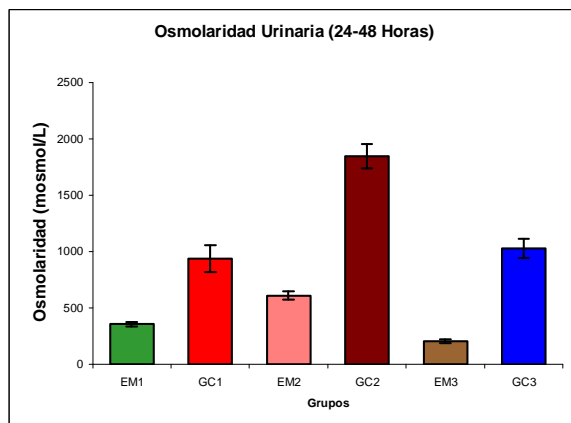


Figura 6b.10: Cantidades medias obtenidas en los valores de osmolaridad urinaria por parte de los grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **24-48 horas** postoperatorias y tras la manipulación de varias condiciones experimentales que afectan a los niveles de sodio en el organismo.

CAPÍTULO III

INGESTA DE COMIDA.

Una vez intervenidos quirúrgicamente los animales, se analizaron las diferencias entre los grupos experimentales y controles, y entre los grupos experimentales entre sí, en aquellas situaciones en que tuvieron comida disponible.

En este caso, hay que indicar que los grupos diabéticos mostraron una mayor ingesta de alimento que los grupos control en los últimos días de la prueba {**EM+1, 2 y 3 vs. GCEM+ 1, 2 y 3** (7,6) = .85, $p < .025$ (días 5, 6 y 7)}. En este sentido, hay que indicar que los animales diabéticos consumieron una mayor cantidad de comida, precisamente en los días en los que se observa una progresión significativa en el consumo de agua (día 7) (ver fig. 6b.1). Estas respuestas diferenciales en la conducta nutritiva según el momento del día analizado no fueron observadas en los grupos control, posiblemente porqué tampoco se reflejaron en la conducta de ingesta de agua de los mismos (figs 6b.1 y 6b.11).

<u>Ingesta de comida</u>	<u>Ingesta de agua</u>
EM+1 (día 7 vs. día 4) $Z = 2,36, p = .017$	$Z = 2,36, p = .017$
EM+2 (día 7 vs. día 4) $Z = 1,99, p = .04$	$Z = 2,36, p = .017$
EM+3 (día 7 vs. día 4) $Z = 1,88, p = .05$	$Z = 2,36, p = .017$
GCEM+1 (día 7 vs. día 4) $Z = 1,75, p = .07$	$Z = .94, p = .34$
GCEM+2 (día 7 vs. día 4) $Z = .94, p = .34$	$Z = .31, p = .75$
GCEM+3 (día 7 vs. día 4) $Z = .94, p = .26$	$Z = .40, p = .68$

CAPÍTULO III

Discusión.

Los resultados del presente experimento confirman que los animales con lesión electrolítica en la eminencia media desarrollan una importante hiperdipsia en las primeras horas tras la intervención, como consecuencia de una alteración en la conservación de fluidos (fig. 6b.1 y 6b.2) (experimento. 6A) (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; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1987, 1992; Swann et al., 1939). En efecto, apenas 6 horas después de la intervención quirúrgica (ver fig. 6b.2) se observa una elevada respuesta diurética en los animales diabéticos que no puede ser atribuida a la ingesta de agua, ya que la poliuria de los sujetos lesionados en las primeras horas se encuentra siempre “por delante” del consumo de líquidos (datos observados en nuestro laboratorio, no presentados).

Sin embargo, y a pesar de esta alteración en la retención renal de los fluidos corporales por parte de los animales diabéticos, no se puede descartar, tal y como ya sucediera en estudios anteriores (exp. 6A), que las lesiones electrolíticas de la eminencia media pueden desencadenar otro tipo de alteraciones regulatorias.

En este sentido, la administración periférica (i.p) de cloruro sódico hipertónico (2cc ClNa, 2M) que recibe el grupo experimental EM+1 (en las primeras 24 horas postlesión) puede facilitar la comprensión de los mecanismos regulatorios utilizados por los animales diabéticos y las respuestas diferenciales observadas en la ingesta de agua con respecto al grupo diabético EM+3 en el 2º día postquirúrgico, diferencias que no se observan en sus grupos controles (fig. 6b.1). En efecto, estas diferencias no pueden ser atribuidas a una alteración de tipo volémico ya que no existen diferencias significativas entre ambos grupos en el volumen de orina excretado (fig. 6b.8). Es más, los animales experimentales que vuelven a estar privados de alimento (EM+3) (24-48 horas) disminuyen de forma significativa su polidipsia respecto al día anterior (24 horas postoperatorias), circunstancia que no se

produce en el grupo con lesión anódica EM+1 a pesar de encontrarse en la misma condición experimental (privación de alimento) (fig. 6b.1).

Estos resultados, sugieren que la diabetes insípida que padecen estos animales puede sufrir una serie de cambios o modificaciones en función de las condiciones experimentales a las que se ven sometidos. En este caso en concreto, la mayor o menor concentración de sodio disponible en cada una de las manipulaciones experimentales realizadas (administración intraperitoneal de ClNa hipertónico (2cc, 2M) versus ingesta (0,25% de sodio) o privación de comida (ausencia de sodio) podría explicar las respuestas diferenciales observados en esta conducta regulatoria (ingesta de líquidos).

En relación con esta observación, se ha visto reflejado en el presente estudio que los sujetos con lesiones en la eminencia media pueden manifestar una seria dificultad a la hora de regular los excesos de sodio corporal. En efecto, si bien el grupo experimental EM+1 muestra una mayor respuesta natriurética (sodio en orina) que los animales pertenecientes al grupo lesionado EM+3 (6 y 24-48 horas) (figs. 6b.3., 6b.6., 6b.9), no es capaz de mantener estas diferencias en la excreción de sodio urinario con respecto a su propio grupo control a pesar de excretar un volumen de orina significativamente superior a éste. Esta idea se ve ratificada en la menor osmolaridad urinaria evidenciada por los animales diabéticos (EM+1, EM+2 y EM+3) respecto a los grupos control no lesionados (Czernichow et al., 1985; Robertson, 1983; Seckl et al., 1987, 1992)(figs. 6b.4., 6b.7., 6b.10).

Podría hipotetizarse que estas alteraciones en los procesos regulatorios hidrominerales, descritos en los animales diabéticos y que pueden provocar un aumento considerable en la osmolaridad plasmática (hipernatremia), podrían estar relacionados con la severidad y gravedad de la polidipsia y poliuria manifestadas en la diabetes insípida.

Los resultados experimentales obtenidos en el presente estudio y en otros trabajos de investigación previos parecen validar este planteamiento. Así por

CAPÍTULO III

ejemplo, y en función de los datos comentados anteriormente, se podría proponer que la administración periférica (i.p) de ClNa hipertónico (2cc, 2M) llevada a cabo en el grupo experimental EM+1 (primeras 24 horas postoperatorias) puede agravar los serios desequilibrios osmolares que parece que presentan los sujetos diabéticos (hipernatremia) (Balment et al., 1986; Friedman et al., 1958, 1962; Hollinshead, 1964; Huang et al., 1996; Laszlo et al., 1966; O'Connor 1950; Rolls, 1970; Swann et al., 1939). Si a estos problemas hipernatrémicos le añadimos el hecho de que estos animales manifiestan alteraciones inmediatas (6 y 24 horas) de tipo volémico (conservación de fluidos) como consecuencia de la lesión en la eminencia media, entonces sería posible explicar la polidipsia tan elevada que muestran estos sujetos (grupo experimental EM+1) en el 2º día postoperatorio con respecto a los otros grupos experimentales (EM+3).

En este sentido, la mera privación de alimento llevada a cabo en las primeras 24 horas postoperatorias en el grupo experimental EM+3 podría disminuir o al menos no agudizar las alteraciones osmolares que de por sí presentan estos sujetos tras el daño cerebral. Esta circunstancia se vería reflejada en el comportamiento posterior (48 horas) de los animales diabéticos que ahora y a diferencia de los animales del grupo experimental EM+1, beberían principalmente para tratar de reestablecer la elevada pérdida de líquidos (problemas volémicos), lo que provocaría que la respuesta consumatoria sea considerablemente menor que en el caso anterior (EM+1).

Estas ideas están en consonancia con una serie de estudios clásicos que demuestran que la privación de comida (Curtis, 1924; Palmieri et al., 1969; Swann et al., 1939; Titlebaum et al., 1960) y la adrenalectomía (Friedman et al., 1962), procedimientos ambos, que disminuyen los niveles de sodio en el plasma, reducen de forma significativa la polidipsia de los animales diabéticos.

A estos argumentos iniciales hay que añadir el hecho de que desde hace algunos años, la intervención farmacológica de la diabetes insípida central se ha complementado, y además con bastante éxito, con el uso racional de diuréticos y la

prescripción de dietas carentes de sal (Baylis et al., 1998; Fried et al., 1997; Niaudet et al., 1985; Rose, 1984; Saborio et al., 2000; Tetiker et al., 1999). La finalidad de tales tratamientos no es otra que la de provocar una mayor excreción de sodio (natriuresis) con el principal objetivo de tratar de disminuir la hipernatremia observada en este trastorno (Baylis et al., 1998; Friedman et al., 1958; Hollinshead, 1964; Saborio et al., 2000).

En resumen, estos resultados vuelven a significar la relación tan estrecha que se produce en la diabetes insípida entre la ingesta de agua y un óptimo control y regulación hidromineral, donde destaca el sodio como una pieza fundamental de este engranaje (Bie et al., 2000; Fitzsimons, 1998; Johnson et al., 1997; McKinley et al., 1983; Robertson, 1982, 1983; Robertson et al., 1995; Rose, 1984, 1986; Saltmarsh, 2001).

Por otra parte, hay que destacar el descenso tan acusado (días 3 y 4) que se produce en el comportamiento polidíptico de los animales pertenecientes a los grupos lesionados EM+1 y EM+2 en relación a los días previos y que sin embargo no se observa en el grupo experimental EM+3 a pesar de que se encuentran todos ellos ahora en la misma situación experimental (comida “normal” ad libitum) (fig. 6b.1).

En la actualidad, se piensa que esa disminución brusca en la ingesta de líquidos (EM+1 y EM+2) podría responder a una necesidad urgente de los animales de superar los serios desafíos osmóticos (hipernatremia) y volémicos (pérdida de líquidos) que presentan. En relación con esta cuestión, los sujetos diabéticos pueden ser capaces de en un momento dado (fase oligúrica o interfase) de mostrar una mejor respuesta retentiva, que se traduciría en una mayor excreción renal de sodio, así como en una menor pérdida de fluidos (Friedman et al., 1958; Huang et al., 1996; Ikkos et al., 1954; Levkoff et al., 1954; O'Connor, 1952; Shannon, 1942; White et al., 1938).

CAPÍTULO III

Realmente, esta respuesta regulatoria que puede venir dada por un aumento inesperado en la actividad endocrina neurohipofisaria (Heinbecker et al., 1941; Hollinshead, 1964; O'Connor, 1952; Seckl et al., 1992) podría ser la responsable del descenso tan significativo observado en la polidipsia de estos animales.

En este contexto, Brooks et al., (1958), Brunner et al., (1956) y Sawyer (1952) observaron que la administración periférica de factores neurohipofisarios en animales diabéticos (hipofisectomizados) provocaba un incremento en la excreción de sodio tras las infusiones de soluciones salinas hipertónicas.

De hecho, se pudo comprobar que el peso del lóbulo posterior de la hipófisis de los animales (ratas) diabéticos con lesiones en el tallo hipofisario disminuyó en un 50% después de la lesión durante la interfase (fase oligúrica, días 2-5) sin mostrar cambios aparentes en la fase transitoria poliúrica (día 1) (Laszlo et al., 1966).

En esta misma línea de resultados se comprobó que la mayoría de los pacientes (DI) requieren 3 o más dosis de desmopresina (fármaco antidiurético, análogo a la vasopresina) en las primeras 24 horas (fase transitoria) de la enfermedad debido a las graves pérdidas de fluido (poliuria). Sin embargo, ninguno de ellos necesitó el tratamiento antidiurético durante el 2º día (interfae oligúrica), donde de nuevo y confirmando los estudios con animales se produjo un incremento en la concentración urinaria (natriuresis) que correlaciona con altos niveles plasmáticos de hormonas neurohipofisarias (Seckl et al., 1987).

En cualquier caso, habrá que plantearse entonces porqué este periodo interfásico oligúrico no se refleja de una manera tan evidente en la conducta consumatoria del grupo con lesión anódica en la eminencia media EM+3 (días 3 y 4) (fig. 6b.1).

Es probable que una vez más, la repuesta a esta interrogante haya que buscarla en el estado hidromineral en que se encuentran estos animales. En este sentido, podría parecer lógico que los sujetos lesionados pertenecientes al grupo

experimental EM+3 no necesitan poner en marcha de una manera tan acuciante un mecanismo de emergencia (interfase oligúrica) como los casos referidos (EM+1/EM+2) ya que los desequilibrios osmóticos que han podido padecer estos animales, se han visto de alguna manera disminuidos durante las primeras 48 horas postoperatorias al encontrarse privados de alimento (obsérvese que los animales EM+3 muestran una menor respuesta natriurética que los sujetos pertenecientes a los grupos lesionados EM+1 y EM+2 en las 24-48 horas postoperatorias) (fig. 6b.9).

A esta circunstancia, habría que añadirle el hecho de que los sujetos del grupo lesionado EM+3 disponen por primera vez (día 3) de alimento ad libitum en sus jaulas; un dato que hace todavía más improbable que se produzca una reducción significativa en la polidipsia diabética de estos animales (fig. 6b.11).

De hecho, y en consonancia con los resultados que han puesto de manifiesto un incremento en los niveles de osmolaridad plasmática en la diabetes insípida (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), cabe la posibilidad de que el consumo tan elevado de comida que muestran todos los animales experimentales en el estudio actual (especialmente en los últimos días del experimento) y que ha sido confirmado en experimentos previos de la presente Tesis Doctoral (exp. 1 y 5) agudicen los problemas hipernatrémicos que poseen, provocando la ingesta de grandes cantidades de agua con la finalidad de resolver esos desequilibrios osmolares (fig. 6b.11).

En este sentido, si se analizan los resultados obtenidos en el presente trabajo, se puede observar que la recuperación de la conducta polidípica en los animales diabéticos (fase permanente{6º día}) coincide con un nuevo incremento en la ingesta de alimento por parte de los sujetos experimentales lesionados, corroborando los planteamientos previos que señalan que la severidad de la diabetes insípida puede estar relacionada con las cantidades de sodio ingerido por los animales durante las comidas (ver experimento 6A)(Curtis, 1924; Palmieri et al., 1969; Swann et al., 1939; Tittlebaum et al., 1960).

CAPÍTULO III

De ser cierta esta interpretación, se confirmaría una vez más que la diabetes insípida inducida por lesiones de la eminencia media no puede ser definida exclusivamente como un trastorno polidipsico secundario a una pérdida de líquidos sino que también puede verse afectada por una serie de alteraciones en la regulación hidromineral de los fluidos orgánicos (hipernatremia) que igualmente tendrán repercusiones sobre el comportamiento de ingesta de los sujetos diabéticos.

EXPERIMENTO 7

Efectos de la manipulación de la dieta y lesiones electrolíticas en la Eminencia Media sobre los niveles plasmáticos de sodio.

En los experimentos anteriores (6A, 6B), se ha puesto de manifiesto que la polidipsia diabética no puede ser explicada exclusivamente en función de una incapacidad para la conservación de fluidos. Los resultados descritos, son compatibles con observaciones previas llevadas a cabo por diferentes autores, que habían señalado que los animales diabéticos pueden manifestar una clara hiperdipsia a pesar de estar nefroctomizados (Smith y McCann, 1962, 1964).

En este sentido, se han propuesto diversas alternativas para explicar la elevada y permanente ingesta de agua observada en esta enfermedad. Una de las propuestas más sólidas que se contemplan actualmente es la que hace referencia a una posible alteración en la regulación tanto hídrica como mineral. Esta hipótesis está avalada por un gran número de trabajos que indican que los sujetos afectados por este trastorno polidipsico suelen presentar cuadros de hipernatremia, provocados fundamentalmente por un incremento en los niveles de sodio corporal como consecuencia de las excesivas pérdidas de fluido a través de la orina (poliuria) (Bacic et al., 1999; Bakker et al., 1976; Balment et al., 1986; Friedman et al., 1958, 1962; Huang et al., 1996; Laszlo et al., 1966; Lichardus et al., 1973; Man, et al., 1992; O'Connor, 1950; Seckl et al., 1992).

Algunos de los estudios realizados en la presente Tesis Doctoral parecen apuntar en esta misma dirección. Así, por ejemplo, se ha observado que los animales lesionados en la eminencia media presentan cambios significativos en la ingesta de agua después de la administración de una serie de tratamientos dipsogénicos (experimento. 5), unas intervenciones que modifican considerablemente la concentración de sodio en el organismo (Leksell et al., 1981; Olsson, 1973, 1975; Rose, 1986; Wells et al., 1990).

CAPÍTULO III

Por otra parte, la manipulación experimental de la dieta (en la cual, la sal es uno de sus elementos principales) o la disponibilidad de ClNa hipertónico, modifican el comportamiento de los animales lesionados, lo cual sugiere también que la polidipsia diabética puede estar relacionada con algún desequilibrio en el control y regulación de los niveles de sodio corporal (ver experimentos 6A y 6B).

En este sentido, varios estudios clínicos y experimentales han puesto de manifiesto que la administración de ClNa conlleva un incremento en la poliuria y polidipsia de la diabetes insípida (ver exp. 6B) (Curtis, 1924; Fisher et al., 1938; Fitz, 1914; Oehme et al., 1918; Rosebloom et al., 1916; Swann, 1939). Todo lo contrario sucede cuando los animales diabéticos (hipofisectomizados) son mantenidos con dietas hiposódicas, observándose ahora una reducción significativa en la ingesta de líquidos (llegando a alcanzar niveles preoperatorios), a pesar de que el consumo de alimento no se ve alterado en ningún momento (Swann, 1939).

Paralelamente, y en consonancia con estas observaciones, la presencia de comida ad libitum en las jaulas de los animales diabéticos, incrementa de manera significativa la ingesta de agua con respecto a los sujetos del grupo control (experimento 6A). Es más, cuando los animales lesionados fueron privados de alimento, se produjo un descenso significativo en la polidipsia diabética (experimentos 3, 6A y 6B).

En resumen, estos resultados parecen apoyar la idea de la importancia que pueden tener los niveles de sodio plasmático (Bie et al., 2000; Fitzsimons, 1998; Johnson et al., 1997; Mckinley et al., 1983; Rose, 1984, 1986; Robertson, 1982, 1983; Robertson et al., 1995; Saltmarsh, 2001), de modo que variaciones muy sutiles de este electrolito, pueden tener repercusiones significativas en la ingesta de líquidos (Robertson et al., 1983; Saltmarsh, 2001).

Desde esta óptica, podría ser relevante analizar las consecuencias que podría tener sobre la tonicidad plasmática la exposición a algunas de las condiciones experimentales descritas, a saber, disponer de cloruro sódico hipertónico (1.5%) de

manera complementaria al agua disponible, la ingesta ad libitum de comida estándar (0.25% de sodio) o carente en sal (0.04% de sodio), y la privación de alimento con o sin la presencia de agua.

En función de los argumentos esgrimidos anteriormente, cabría esperar un comportamiento regulatorio diferencial en los animales diabéticos hipernatémicos dependiendo de que las condiciones experimentales incrementen o disminuyan los desequilibrios osmolares.

Con el objetivo de examinar esta hipótesis se realizó el presente experimento en el cual se incluye asimismo un estudio sobre la composición electrolítica de la orina (centrándonos indudablemente en el sodio) así como del grado de concentración de la misma (osmolaridad).

Método.

Sujetos.

En este estudio, se utilizaron 65 ratas macho de la cepa Wistar suministradas por el servicio de Animalario de Experimentación de la Comisión de servicios técnicos de la Universidad de Granada, con un peso comprendido entre 250-340 gramos. Todos ellos se mantuvieron en las mismas condiciones de los experimentos previos.

Procedimiento Quirúrgico.

Fue idéntico al descrito en el capítulo I.

CAPÍTULO III

Procedimiento Experimental.

Antes de ser situados en el estereotáxico, los 65 animales fueron asignados aleatoriamente a uno de los grupos experimentales o control, para quedar distribuidos de la siguiente forma: grupo experimental EM+1 **privado de comida** (n=7); grupo control EM+1 **privado de comida** (n=6); grupo experimental EM+2 **cloruro sódico hipertónico (1.5%)** (n=7); grupo control EM+2 **cloruro sódico hipertónico** (n=6); grupo experimental EM+3 **comida estándar** ad libitum (n=7); grupo control EM+3 **comida estándar** ad libitum (n=6); grupo experimental EM+4 **comida sin sal** (n=7); grupo control EM+4 **comida sin sal** (n=6); grupo experimental EM+5 **privado de alimento y agua** (n=7); grupo control EM+5 **privado de alimento y agua** (n=6).

El registro de la cantidad de agua y comida ingerida en la fase preoperatoria se realizó de forma idéntica a la descrita en los capítulos anteriores.

Después de llevar a cabo la intervención quirúrgica, los animales recibieron un tratamiento específico (privación de comida, cloruro sódico hipertónico, comida estándar ad libitum, comida sin sal, privación de alimento y agua) durante las primeras 24 horas en función del grupo al que pertenecían .

En este sentido conviene señalar que todos los animales del experimento fueron habituados, antes de ser operados, a las condiciones experimentales que de algún modo suponían algún tipo de situación novedosa (p.e. comida sin sal) para evitar así el posible rechazo de las mismas (neofobia).

Con el objetivo de comprobar el efecto de los diferentes tratamientos en los grupos experimentales y controles se procedió a registrar la ingesta de líquido de cada animal durante las 24 horas siguientes a la intervención quirúrgica. Asimismo, también se cuantificó la cantidad de comida ingerida en aquellos grupos que así lo permitían.

Finalmente, y de cara al estudio de uno de los principales objetivos de este experimento, se analizaron los niveles de sodio en el plasma (primeras 24 horas postoperatorias) y orina (6 y 6-24 horas); así como el volumen de la misma (6 y 6-24 horas) y su grado de concentración (osmolaridad 6 y 6-24 horas) en todos los grupos experimentales y controles. Para ello, los animales una vez intervenidos quirúrgicamente permanecieron en todo momento en jaulas metabólicas (Tecniplast 3701MO-000) las cuales, mediante un sistema de filtrado permiten recoger la orina, libre de restos de comida.

El análisis de los valores plasmáticos de sodio en los diferentes animales fue llevado a cabo inmediatamente después de finalizar el experimento (24 horas). Para ello, los sujetos pertenecientes a los grupos lesionados y controles fueron anestesiados mediante la administración (i.p) de pentotal sódico (Tiopental Sódico, Lab. Abbott 40 mg/Kg). Seguidamente, y una vez inhibidos los reflejos corneales y nociceptivos se practica una incisión longitudinal de unos 4 cms por la línea alba y otra perpendicular a la anterior en forma de cruz con el objetivo de tener libre acceso a la cavidad abdominal.

Mediante la utilización de gasas estériles se desplaza el paquete intestinal dejando al descubierto aorta y cava abdominales. En ese momento, se introduce en la bifurcación de las arterias ilíacas una aguja heparinizada (heparina sódica, LEO) con la finalidad de extraer la mayor cantidad posible de sangre (alrededor del 8% de peso corporal) que luego será centrifugada (800-1000g, Grigel) para poder así obtener los elementos formes del plasma (hematíes, plaquetas, glóbulos, etc). Una vez que el plasma se encuentra separado, se congela para una posterior medición. En este caso, el sodio fue determinado mediante análisis rutinario selectivo por electrodos (Beckman Instruments, Synchron CX3 Delta, USA).

Por otra parte, a las 6 y 24 horas después de haber realizado la intervención quirúrgica se determinó la diuresis y se recogieron muestras de orina para su posterior procesamiento, analizando principalmente la excreción de sodio (U_{Na} V) y osmolaridad urinaria.

CAPÍTULO III

La concentración de sodio en la muestra de orina se determinó mediante un analizador automático (Beckman Instruments, Synchron CX3 Delta, USA) calculándose la excreción resultante de la siguiente manera:

$$U_{Na}V = [Na]_U \times D/1000,$$

Donde, $U_{Na}V$: excreción urinaria de sodio (mEq/l); $[Na]_U$: concentración urinaria de sodio (mosmol/Kg); D: diuresis (ml).

Por lo que se refiere a la determinación de la osmolaridad urinaria, se llevó a cabo mediante un osmómetro automático basado en técnicas de crioscopia (Osmostat OM-6020, Kyoto-Japón).

Una característica importante que debemos tener en cuenta al respecto de estas comparaciones es la introducción de un grupo experimental eminencia media así como de su respectivo grupo control que se encuentran privados tanto de alimento como de agua durante las 24 horas del estudio. La introducción de esta condición experimental puede aportar datos más consistentes acerca del grado de retención renal y regulación hidromineral de los animales diabéticos sin el posible “enmascaramiento” de los resultados como consecuencia de la ingesta de líquidos o alimento.

Análisis Estadístico.

Se utilizó el Anova no paramétrico de Kruskal-Wallis para evaluar los resultados globales en las diferentes variables estudiadas en los grupos lesionados y controles durante el día de la prueba.

Después de comprobar la existencia del efecto global en alguna de estas variables, se ha pasado a realizar un análisis más pormenorizado. Para ello, se examinaron las diferencias entre los grupos experimentales y sus respectivos controles, y entre los diferentes grupos lesionados entre sí, mediante la prueba no paramétrica de Kolmogorov-Smirnov.

Asimismo, y mediante la prueba de Wilcoxon se realizaron comparaciones entre las puntuaciones obtenidas en alguna de las condiciones experimentales para cada uno de los 6 grupos del experimento.

Histología.

Se realizó siguiendo el procedimiento descrito en el capítulo I.

CAPÍTULO III

Resultados.

INGESTA DE LÍQUIDOS.

Una vez realizada la intervención quirúrgica (lesión electrolítica anódica de la eminencia media) los grupos muestran diferencias significativas en la ingesta durante el día de la prueba { $H(7,52) = 43.09$, $p = .0000$ } (fig. 7.1).

El análisis entregrupos reveló que los animales pertenecientes a los grupos lesionados mostraron un consumo de líquido significativamente mayor que los grupos controles en las primeras 24 horas postoperatorias {**EM+ privado de comida vs. GCEM+ privado de comida** $D(7,6) = 1.00$, $p < .005$, **EM+ cloruro sódico hipertónico vs. GCEM+ cloruro sódico hipertónico** $D(7,6) = 1.00$, $p < .005$, **EM+ comida estándar ad libitum vs. GCEM+ comida estándar ad libitum** $D(7,6) = 1.00$, $p < .005$, **EM+ comida sin sal vs. GCEM+ comida sin sal** $D(7,6) = 1.00$, $p < .005$ } (fig. 7.1).

Estas diferencias no fueron observadas en los grupos lesionados, si exceptuamos al grupo diabético EM+ en la condición de cloruro sódico hipertónico que mostró una ingesta de líquidos significativamente superior que los animales pertenecientes al grupo lesionado EM+ que se encontraban privados de comida {**EM+ cloruro sódico hipertónico vs. EM+ privado de comida** $D(7,7) = .00$, $p < .005$ } (fig. 7.1).

Tal y como ya había sucedido en el experimento anterior, el grupo EM+ con ClNa disponible manifiesta una clara preferencia por la solución salina ($X = 137$ c.c, el 88.57% del líquido consumido) si lo comparamos con las cantidades ingeridas por el grupo control ($X = 15$ c.c, 55.16%) {**EM+ % cloruro sódico hipertónico (88.57) vs. GCEM+ % cloruro sódico hipertónico (55.16)** $D(7,6) = 1.00$, $p < .005$ } (fig. 7.1).

EXPERIMENTO 7

Es más, esta preferencia por el cloruro sódico hipertónico desarrollada por el grupo diabético es significativamente superior que la mostrada por el agua (**CINa vs. Agua** $Z = 2.36, p = .01$ }, una circunstancia que sin embargo no se llega a observar en los animales del grupo control {**CINa vs. Agua** $Z = 1.57, p = .11$ }.

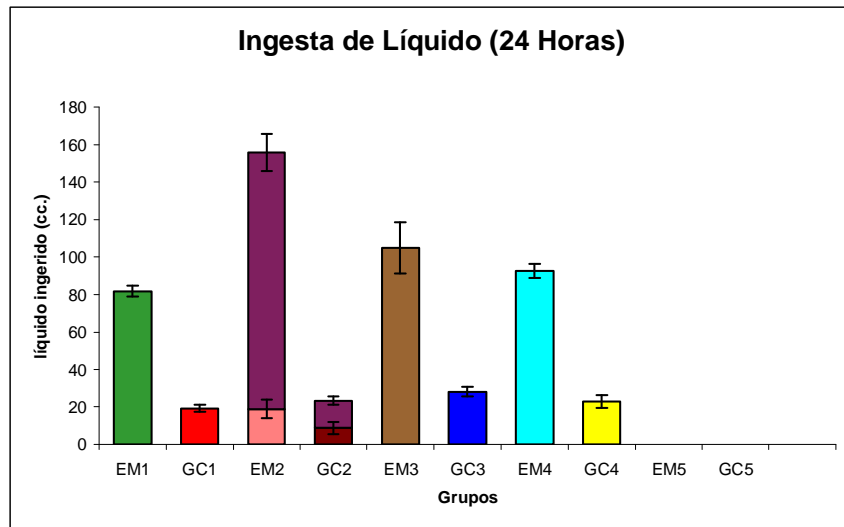
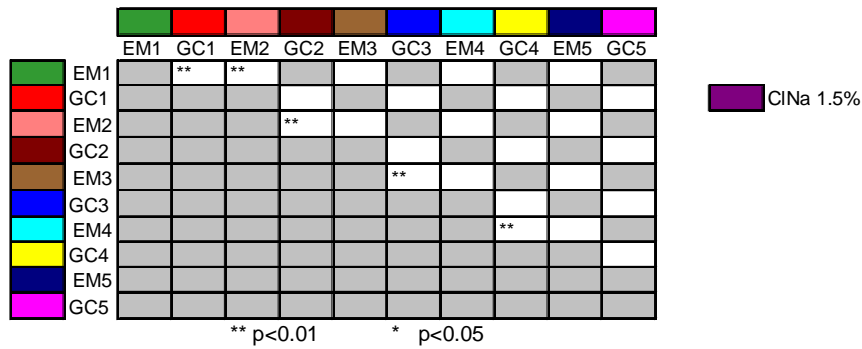


Figura 7.1: Cantidades medias de líquido ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control después de la lesión electrolítica correspondiente tras ser sometidos a una serie de manipulaciones experimentales que afectan a la dieta de los mismos.

VOLUMEN DE ORINA A LAS 6 HORAS.

El análisis global de la cantidad de orina excretada por parte de los grupos lesionados y controles, 6 horas después de la intervención quirúrgica, reveló diferencias significativas entre ellos { $H(9,65) = 45.69, p = .0000$ } (fig. 7.2).

A pesar del corto periodo de tiempo transcurrido tras la lesión electrolítica, los animales experimentales presentan una mayor respuesta diurética que los sujetos del grupo control, exceptuando el grupo EM+ cloruro sódico hipertónico que, de un modo llamativo no mostró diferencias significativas en el volumen de orina excretado con respecto al grupo control no lesionado {**EM+ privado de comida vs. GCEM+ privado de comida** $D(7,6) = 1.00, p < .005$, **EM+ comida estándar ad libitum vs. GCEM+ comida estándar ad libitum** $D(7,6) = .85, p < .025$, **EM+ comida sin sal vs. GCEM+ comida sin sal** $D(7,6) = .85, p < .025$, **EM+ cloruro sódico hipertónico vs. GCEM+ cloruro sódico hipertónico** $D(7,6) = .71, p = n.s$ } (fig. 7.2).

El resultado obtenido en los animales privados de alimento y agua, evidencia una gran dificultad en la conservación de fluidos por parte del grupo diabético {**EM+ privado de alimento y agua vs. GCEM+ privado de alimento y agua** $D(7,6) = .85, p < .025$ } (fig. 7.2).

Por otro lado, el análisis estadístico entregrupos no reflejó diferencias significativas en el volumen de orina entre los diferentes grupos experimentales (ver fig. 7.2).

VOLUMEN DE ORINA A LAS 24 HORAS (Periodo 6-24 Horas Postoperatorio).

El análisis estadístico de los datos mostró diferencias significativas en el volumen de orina excretado por los grupos lesionados y controles, transcurridas 24 horas después de la cirugía (periodo 6-24 horas postoperatorias) $\{H(9,65) = 55.55, p = .0000\}$ (fig. 7.5).

Los resultados observados no difieren en gran medida de los comentados anteriormente (6 horas), es decir, los animales diabéticos continúan desarrollando una respuesta diurética significativamente superior que los animales controles **{EM+ privado de comida vs. GCEM+ privado de comida** $D(7,6) = 1.00, p < .005$, **EM+ comida estándar ad libitum vs. GCEM+ comida estándar ad libitum** $D(7,6) = 1.00, p < .005$, **EM+ comida sin sal vs. GCEM+ comida sin sal** $D(7,6) = .85, p < .025$ }. En este caso, sin embargo el grupo experimental EM+ cloruro sódico hipertónico excretó un mayor volumen de orina que el grupo control no lesionado **{EM+ cloruro sódico hipertónico vs. GCEM cloruro sódico hipertónico** $D(7,6) = 1.00, p < .005$ }(fig. 7.5).

Por el contrario, los animales diabéticos carentes de alimento y agua no presentan ahora (24 horas después de la intervención quirúrgica) diferencias significativas en el volumen de orina con su grupo control **{EM+ privado de alimento y agua vs. GCEM+ privado de alimento y agua** $D(7,6) = .00, p = n.s$ }.

Por otra parte, el análisis entregrupos constató una mayor diuresis en los grupos experimentales EM+ privados de comida y EM+ comida estándar ad libitum respecto a los animales lesionados que disponían de comida carente en sal **{EM+ privado de comida vs. EM+ comida sin sal** $D(7,7) = 1.00, p < .005$, **EM+ comida estándar ad libitum vs. EM+ comida sin sal** $D(7,7) = .85, p < .025$ }(fig. 7.5). Estos resultados también fueron observados en el grupo control EM+ privado de

CAPÍTULO III

comida cuando se comparó el volumen de orina excretado con los animales pertenecientes al grupo control comida sin sal {**GCEM+ privado de comida vs. GCEM+ comida sin sal** $D(7,6) = .83, p < .05$ }, si bien es conveniente precisar que estas respuestas diferenciales fueron estadísticamente inferiores a las obtenidas en las comparaciones llevadas a cabo entre los respectivos grupos diabéticos EM+ privado de comida vs. EM+ comida sin sal {**EM+ privado de comida - EM+ comida sin sal vs. GCEM+ privado de comida - GCEM+ comida sin sal** ($X = 9.83$ vs. $X = 23.57$) $D = -.83, p < .025$ }.

SODIO PLASMÁTICO (24 horas).

Las diferentes comparaciones entre los grupos experimentales y controles en general, señalaron diferencias significativas en los niveles de sodio corporal, 24 horas después de la intervención quirúrgica { $H(9,65) = 50.14, p = .0000$ } (fig. 7.8).

Cuando analizamos de una manera detallada estas diferencias, se observó que los animales lesionados EM+ en las condiciones suero salino hipertónico y comida estándar ad libitum presentaron unos valores elevados de sodio plasmático respecto a los grupos controles {**EM+ cloruro sódico hipertónico vs. GCEM+ cloruro sódico hipertónico** $D(7,6) = 1.00, p < .005$, **EM+ comida estándar vs. GCEM+ comida estándar** $D(7,6) = .83, p < .025$ }. Sin embargo, un resultado a destacar es la clara hipernatremia que manifiestan los animales diabéticos privados de alimento y agua {**EM+ privado de alimento y agua vs. GCEM+ privado de alimento y agua** $D(7,6) = .85, p < .025$ } (fig. 7.8).

No se observaron diferencias significativas en los niveles de sodio corporal (24 horas postoperatorias) entre los grupos experimentales (ver fig. 7.8).

	EM1	GC1	EM2	GC2	EM3	GC3	EM4	GC4	EM5	GC5
EM1										
GC1										
EM2				**						
GC2										
EM3						**				
GC3										
EM4										
GC4										
EM5										**
GC5										

** p<0.01 * p<0.05

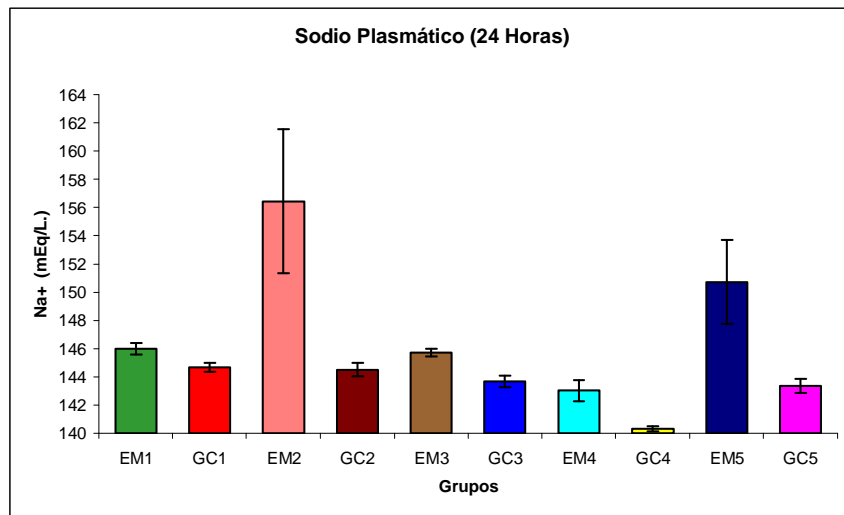


Figura 7.8: Cantidades medias obtenidas en los niveles de sodio plasmático por los diferentes grupos experimentales y grupos control en las primeras 24 horas postoperatorias.

NIVELES DE SODIO EN ORINA A LAS 6 HORAS.

El análisis estadístico no paramétrico no reveló diferencias significativas en los niveles de sodio urinario entre los grupos experimentales y controles, y entre los grupos lesionados entre sí, 6 horas después de la intervención quirúrgica (ver fig. 7.3).

CAPÍTULO III

NIVELES DE SODIO EN ORINA A LAS 24 HORAS (Periodo 6-24 Horas Postoperatorio).

Transcurridas las primeras 24 horas después de haber realizado la intervención quirúrgica, se observaron diferencias significativas entre los grupos experimentales y grupos controles en general en la respuesta natriurética (periodo 6-24 horas postoperatorias) { $H(9,65) = 39.29, p < .0000$ } (fig. 7.6).

Concretamente, analizando las comparaciones entre los animales lesionados, se observa una mayor natriuresis en el grupo experimental perteneciente a la condición suero salino hipertónico respecto al grupo diabético privado de comida {**EM+ cloruro sódico hipertónico vs. EM+ privado de comida** $D(7,7) = .00, p < .005$ }, una circunstancia que también fue observada en los grupos controles {**GCEM+ cloruro sódico hipertónico vs. GCEM privado de comida** $D(6,6) = .00, p < .005$ } (fig. 7.6).

Por otra parte, las comparaciones entre los diferentes grupos diabéticos y sus respectivos grupos controles no revelaron diferencias significativas en la excrección de sodio urinario (ver fig. 7.6).

OSMOLARIDAD URINARIA A LAS 6 HORAS.

Por lo que respecta a la osmolaridad urinaria de los grupos experimentales y controles, se observaron diferencias significativas, 6 horas después de la intervención quirúrgica { $H(9,65) = 38.58, p < .0000$ } (fig. 7.4).

Los principales resultados en esta condición experimental pueden resumirse de la siguiente manera:

En primer lugar, hay que señalar que si exceptuamos al grupo lesionado EM+ en la condición de cloruro sódico hipertónico, todos los demás, incluyendo el grupo experimental EM+ privado de alimento y agua, mostraron una menor concentración de la orina que sus respectivos grupos controles {**EM+ privado de comida vs. GCEM+ privado de comida** $D(7,6) = .00, p < .025$, **EM+ cloruro sódico hipertónico vs. GCEM+ cloruro sódico hipertónico** $D(7,6) = .07, p = n.s$, **EM+ comida estándar ad libitum vs. GCEM+ comida estándar ad libitum** $D(7,6) = .00, p < .025$, **EM+ comida sin sal vs. GCEM+ comida sin sal** $D(7,6) = .00, p < .025$, **EM+ privado de alimento y agua vs. GCEM+ privado de alimento y agua** $D(7,6) = .00, p < .025$ }(fig. 7.4).

Por su parte, el análisis de los datos no reveló diferencias significativas en los niveles de osmolaridad urinaria entre los grupos experimentales (ver fig. 7.4).

OSMOLARIDAD URINARIA A LAS 24 HORAS (Periodo 6-24 Horas Postoperatorio).

Una vez más, las comparaciones realizadas entre los grupos lesionados y controles en general, evidenciaron diferencias significativas en la osmolaridad urinaria, 24 horas después de las lesiones electrolíticas (periodo 6-24 horas postoperatorias) { $H(9,65) = 46.20, p = .0000$ } (fig. 7.7).

Sin embargo, en este caso, el análisis entregrupos mostró una menor concentración urinaria en los grupos diabéticos que disponían de alimento {**EM+ comida estándar ad libitum vs. GCEM+ comida estándar ad libitum** $D(7,6) = .00, p < .025$, **EM+ comida sin sal vs. GCEM+ comida sin sal** $D(7,6) = .00, p < .025$ } así como en los animales que se encontraban privados de comida {**EM+**

CAPÍTULO III

privado de comida vs. GCEM+ privado de comida $D(7,6) = .00, p < .005$ (fig. 7.7).

Por lo que respecta a los animales pertenecientes a los grupos lesionados en las condiciones suero salino hipertónico y privado de alimento y agua, hay que indicar que no se produjeron diferencias significativas en los niveles de osmolaridad urinaria transcurridas 24 horas después de la intervención quirúrgica {**EM+ cloruro sódico hipertónico vs. GCEM+ cloruro sódico hipertónico** $D(7,6) = .16, p = n.s$, **EM+ privado de alimento y agua vs. GCEM+ privado de alimento y agua** $D(7,6) = .28, p = n.s$ } (fig. 7.7).

Por último, cabe señalar que el análisis de los datos reveló únicamente diferencias significativas en la concentración urinaria entre los grupos experimentales privados de comida y aquellos que se encontraban en la condición de privación de alimento y agua, siendo estos últimos los que presentan mayor osmolaridad en la orina {**EM+ privado de alimento y agua vs. EM+ privado de comida** $D(7,7) = .00, p < .005$ } (fig. 7.7).

EXPERIMENTO 7

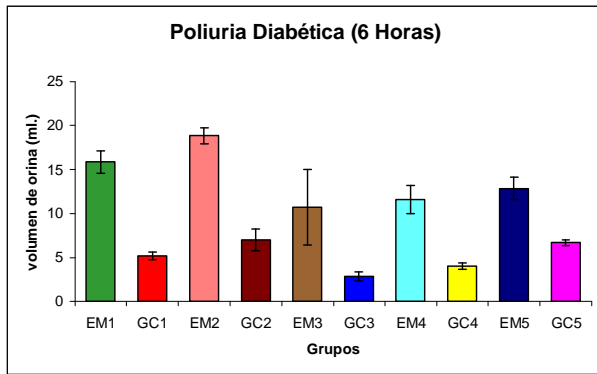


Figura 7.2: Cantidades medias de volumen de orina excretadas por los diferentes grupos experimentales y grupos control **6 horas** después de la lesión electrolytica correspondiente y tras ser sometidos a una serie de manipulaciones experimentales que afectan a la dieta de los mismos.

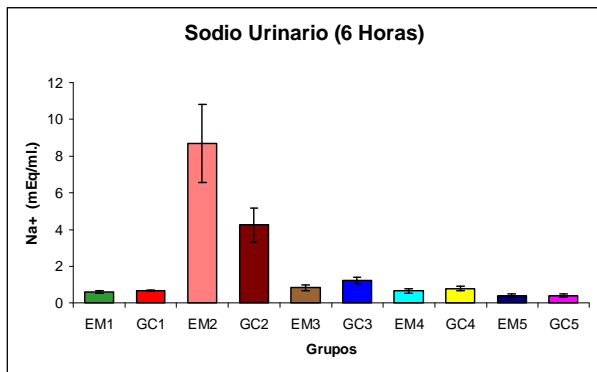
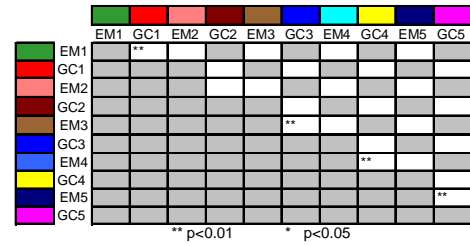


Figura 7.3: Cantidades medias obtenidas en los niveles de sodio en orina por los diferentes grupos experimentales y grupos control **6 horas** después de la lesión electrolytica correspondiente y tras ser sometidos a una serie de manipulaciones experimentales que afectan a la dieta de los mismos..

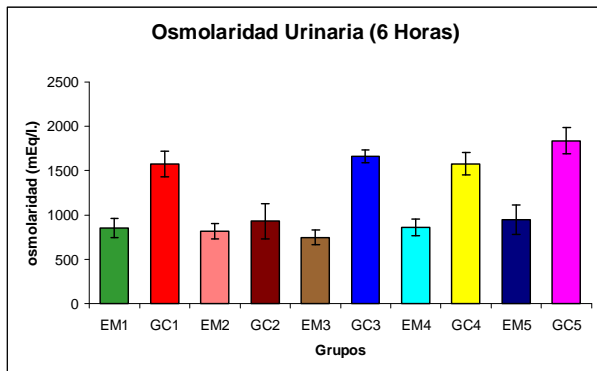
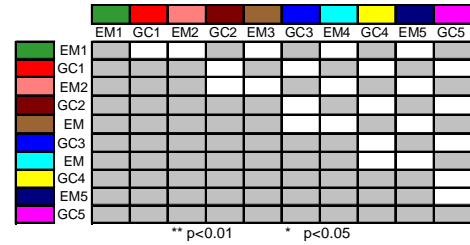
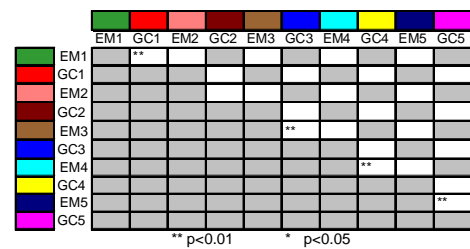


Figura 7.4: Cantidades medias obtenidas en los niveles de osmolaridad urinaria por los diferentes grupos experimentales y grupos control **6 horas** después de la lesión electrolytica correspondiente tras ser sometidos a una serie de manipulaciones experimentales que afectan a la dieta de los mismos.



CAPÍTULO III

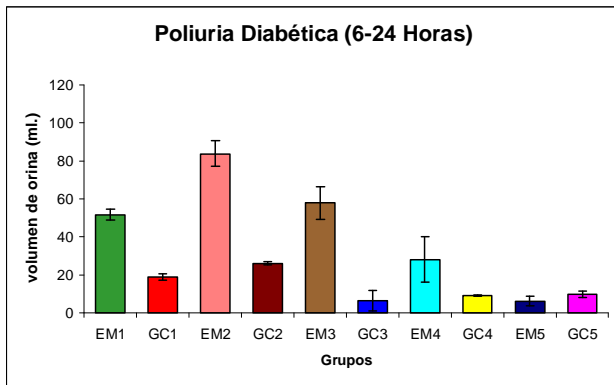


Figura 7.5. Cantidades medias de volumen de orina excretadas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo **6-24 horas** postoperatorio tras ser sometidos a una serie de manipulaciones experimentales que afectan a la dieta de los mismos.

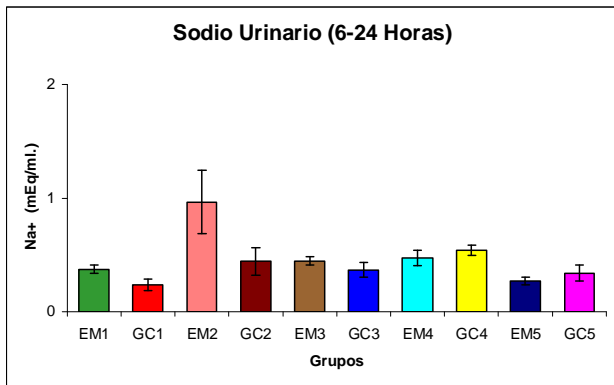
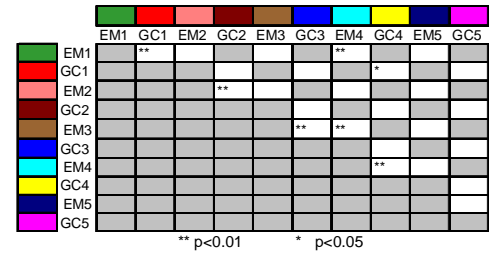


Figura 7.6. Cantidades medias obtenidas en los niveles de sodio en orina por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **6-24 horas** postoperatorias tras ser sometidos a una serie de manipulaciones experimentales que afectan a la dieta de los mismos.

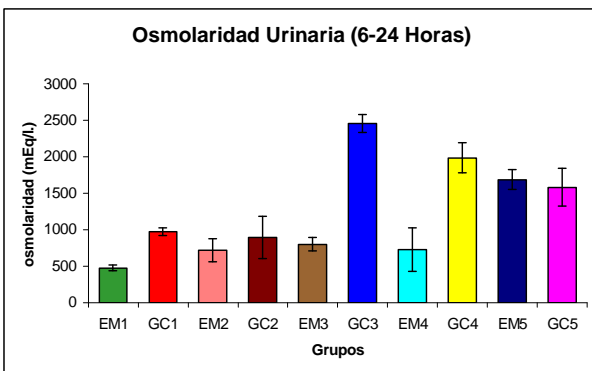
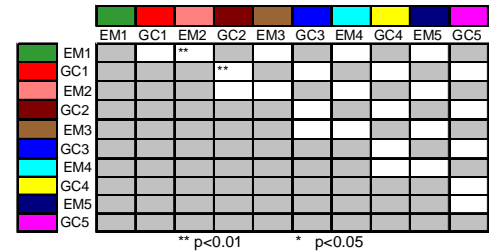
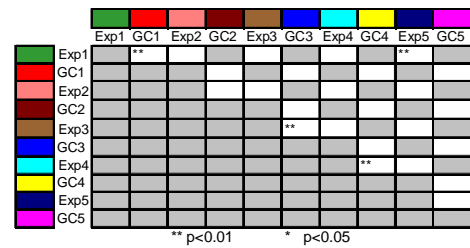


Figura 7.7. Cantidades medias obtenidas en los niveles de osmolaridad urinaria por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **6-24 horas** postoperatorias tras ser sometidos a una serie de manipulaciones experimentales que afectan a la dieta de los mismos.



INGESTA DE COMIDA.

En cuanto a la ingesta de alimento, no se observaron diferencias significativas globales entre los grupos experimentales y controles durante el periodo preoperatorio { $H(9,65) = 12.44, p = .18$ } (fig. 7.9).

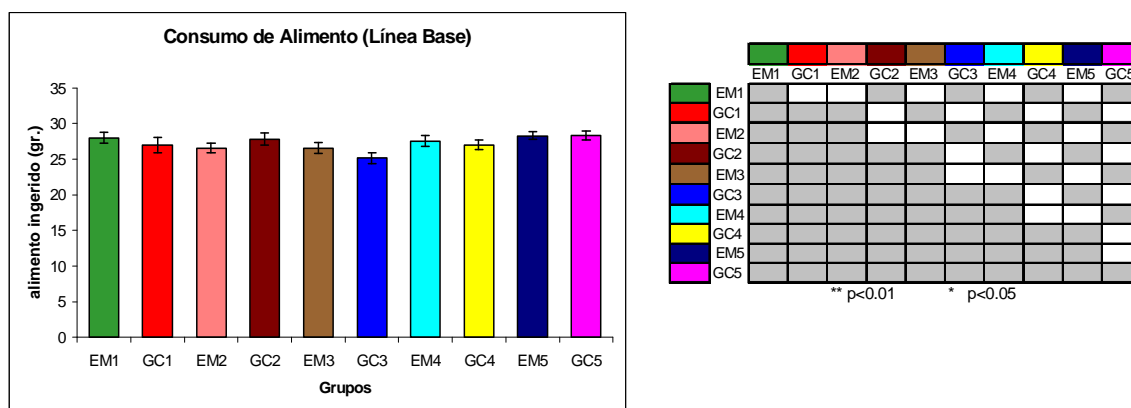


Figura 7.9: Cantidades medias de alimento consumidas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo preoperatorio (línea base).

Posteriormente, y una vez intervenidos quirúrgicamente, se analizaron las diferencias entre los grupos experimentales y controles y entre los grupos lesionados entre sí en aquellas situaciones que lo permitían.

Grupo Experimental EM+ comida estándar ad libitum vs. Grupo Control EM+ comida estándar ad libitum/ Grupo Experimental EM+ comida sin sal vs. Grupo Control EM+ comida sin sal.

Los animales experimentales EM+ comida sin sal consumieron mayor cantidad de comida que el grupo control no lesionado {**EM+ comida sin sal vs. GCEM+ comida sin sal** $D(7,6) = .85, p < .025$ }, una circunstancia que no fue observada cuando se comparan el grupo experimental comida estándar ad libitum con el grupo control o con el grupo EM+ comida sin sal respectivamente {EM+

CAPÍTULO III

comida estándar ad libitum vs. GCEM+ comida estándar ad libitum $D(7,6) = .57, p = n.s$, EM+ comida estándar ad libitum vs. GCEM+ comida sin sal $D(7,6) = .00, p = n.s$ }(fig. 7.10).

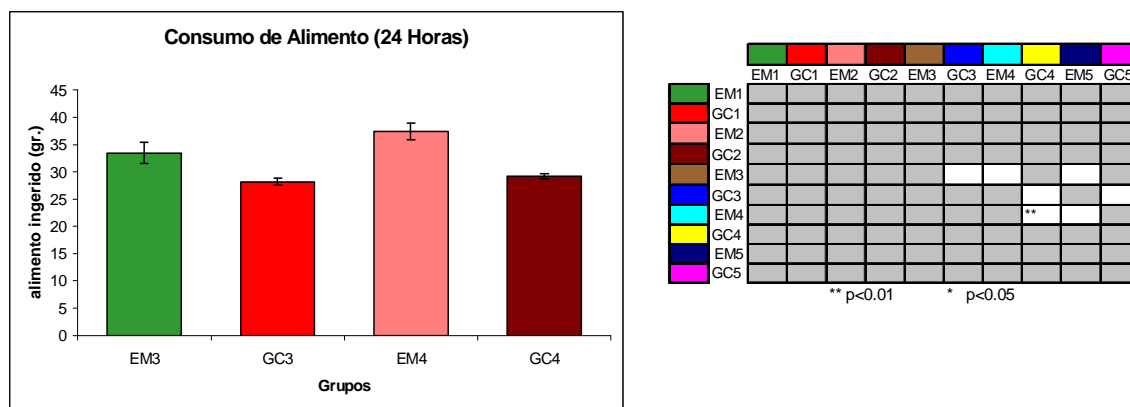


Figura 7.10: Cantidades medias de alimento consumidas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo postoperatorio.

Discusión.

Los resultados del presente trabajo experimental confirman que la lesión electrolítica de la eminencia media provoca una rápida y potente polidipsia, independientemente de las variaciones en la dieta de los animales (fig. 7.1).

Se pone, igualmente de manifiesto en este estudio, la dificultad que supone para los animales diabéticos la conservación de los fluidos corporales. En efecto, apenas 6 horas después de la intervención quirúrgica se observa una marcada respuesta poliúrica en los sujetos lesionados (ver fig. 7.2) que no puede ser explicada en función del consumo de líquidos, ya que la diuresis de los animales diabéticos en las primeras horas siempre “va por delante” de la ingesta de agua (datos observados en nuestro laboratorio, no presentados). Es más, el hecho de que el grupo experimental que se encuentra privado de alimento y sobre todo de agua también muestre una mayor respuesta diurética respecto al grupo control, parece indicar que el comienzo de la diabetes insípida (fase transitoria) puede estar supeditado a una

anomalía en la retención renal de fluidos (fig. 7.2) (Ikkos et al., 1954; Seckl et al., 1992; Swann, 1939).

Sin embargo, junto a estos resultados iniciales estrictamente de tipo volémico hay que añadir la posibilidad de que las lesiones electrolíticas de la eminencia media puedan haber desencadenado también otro tipo de alteraciones.

Con respecto a la primera de las variables implicadas (volemia), los resultados de este experimento muestran un aumento en la osmolaridad plasmática (hipernatremia) del grupo diabético carente de alimento y agua respecto al grupo control no lesionado, y que podría ser provocado fundamentalmente por los elevados niveles de sodio que presentan estos animales en el organismo como consecuencia de las graves pérdidas de fluido a través de la orina (24 horas postoperatorias)(fig. 7.8) (Balment et al., 1986; Friedman et al., 1958, 1962; Hollinshead, 1964; Huang et al., 1996; Laszlo et al., 1966; O'Connor, 1950; Rolls, 1970; Swann, 1939).

Sin embargo, varios autores han propuesto que los desequilibrios osmolares (hipernatremia) reflejados en la diabetes insípida podrían ser causados también por una serie de alteraciones en el control y regulación hidromineral de los fluidos orgánicos como consecuencia de una retención inapropiada de los niveles de sodio corporal (Bacic et al., 1999; Balment et al., 1986; Huang et al., 1996; Man et al., 1992; Seckl et al., 1992).

En relación con esta interpretación, destaca el hecho de que los grupos de animales experimentales que teóricamente toman en proporción una mayor cantidad de sodio debido a la condición experimental a la que pertenecen (Grupo EM+ cloruro sódico hipertónico (1.5%)/Grupo EM+ comida estándar ad libitum (0.25% de contenido de sodio) son los únicos que presentan un aumento significativo en la concentración plasmática con respecto a los grupos controles no lesionados (fig. 7.8).

Por el contrario, los animales diabéticos que disponen de una alimentación con contenidos más bajos en este electrolito, no muestran los severos cuadros de

CAPÍTULO III

hipernatremia comentados anteriormente (Grupo EM+ privado de comida/Grupo EM+ comida sin sal). En estos casos, la potente polidipsia desarrollada, junto con las características de la dieta hiposódica son capaces de reducir la hipernatremia observada en la diabetes insípida (ver Grupo EM+ privado de comida y agua).

En otras palabras, los datos presentados en este estudio sugieren que el daño producido en la eminencia media, aparte de provocar un inmediato déficit volémico, también desencadena alteraciones en la regulación hidromineral de fluidos (hipernatremia) que pueden ser incrementadas o reducidas en función de las características de la dieta alimenticia y de la ingesta de líquidos.

En este sentido, sería importante dilucidar cuál puede ser la causa de la retención excesiva de sodio plasmático manifestada por los sujetos diabéticos (Bacic et al., 1999; Balment et al., 1986; Huang et al., 1996; Man et al., 1992; Seckl et al., 1992).

Diversos autores han propuesto que la clave puede residir en la incapacidad del riñón para poder excretar una orina concentrada (O'Connor, 1950; Swann et al., 1939; Titlebaum et al., 1960; Wolf, 1950).

Los resultados de este experimento parecen confirmar una menor respuesta natriurética en los animales con lesiones en la eminencia media. En efecto, si bien se ha demostrado que existen grupos experimentales (Grupo EM+ cloruro sódico hipertónico/Grupo EM+ comida estándar ad libitum) que muestran niveles elevados en la tonicidad plasmática en relación a los grupos control, éstos no son capaces de liberar este exceso de electrolitos (sodio en orina), a pesar de excretar un volumen de orina significativamente superior al observado en el grupo control no lesionado (fig. 7.2). Es más, esta idea se ve ratificada cuando se observa que la osmolaridad urinaria de los animales diabéticos es menor que la de los grupos controles (figs. 7.4-7.7) (Czernichow et al., 1985; Robertson, 1983; Seckl et al., 1987, 1992).

Sin embargo, y contrariamente a lo reflejado por este planteamiento, conviene matizar que los datos experimentales también han revelado que cuando los animales que desarrollan diabetes insípida no tienen un libre acceso al agua (Grupo EM+ privado de comida y agua) o muestran un elevado consumo de ClNa hipertónico (Grupo EM+ cloruro sódico hipertónico) son capaces de concentrar su orina.

Es probable que la preferencia por la solución salina hipertónica (ClNa) manifestada por el grupo diabético (88,57% del total del líquido ingerido), pueda ser explicada como un intento por parte de estos animales de conseguir un adecuado control volémico. La ganancia de Na extracelular como consecuencia de la ingesta elevada de ClNa hipertónico, facilitaría la reabsorción de agua por parte del riñón, provocando una mayor retención de fluidos con el consiguiente incremento en el volumen extracelular (Rose, 1984).

En este sentido, es un hecho constatado que ante situaciones de hipovolemia como las que nos encontramos en este caso, se produce la activación del sistema enzimático-humoral renina-angiotensina-aldosterona que promueve además de las respuestas fisiológicas compensatorias comentadas anteriormente (mayor reabsorción renal de agua y ClNa), un reestablecimiento de la presión arterial (que se encuentra disminuida en estos casos) así como la búsqueda e ingesta de líquidos, preferentemente agua y ClNa (Buggy et al., 1974; Fitzsimons, 1987, 1998; Johnson et al., 1997; Morien et al., 1999; Phillips, 1987; Shelat et al., 1998; Stricker, 1983, 1984; Stricker et al., 1987; Rose, 1984).

Los resultados obtenidos en el presente experimento parecen confirmar esta posibilidad ya que el grupo experimental “cloruro sódico hipertónico” evidenció una mayor respuesta retentiva, como lo demuestra el hecho de que no se llegaron a observar diferencias significativas en el volumen de orina excretado (primeras 6 horas) (ver fig. 7.2) así como en la osmolaridad urinaria (24 horas postoperatorias) (fig. 7.7) con respecto al grupo control. Una prueba evidente que señala que bajo ciertas condiciones los animales diabéticos pueden desarrollar respuestas

CAPÍTULO III

alternativas, y que si bien el problema renal es un componente de la enfermedad no parece ser el único.

CAPITULO IV

**EFFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN INTRAPERITONEAL DE OXITOCINA
SOBRE LA POLIDIPSIA DE ÍNDOLE DIABÉTICA Y TUBEROMAMILAR.**

EXPERIMENTO 8

Implicación de la oxitocina en la polidipsia de índole diabética inducida por lesiones electrolíticas en la eminencia media.

Los resultados del capítulo anterior han puesto de manifiesto que los animales diabéticos con lesión electrolítica anódica en la eminencia media desarrollan una elevada ingesta de agua como consecuencia de una serie de alteraciones tanto en la conservación como en la regulación hidromineral de fluidos (ver exp. 6A, 6B y 7).

En la actualidad, se piensa que estas alteraciones tras el daño cerebral pueden estar relacionadas con la pérdida o ausencia de algún factor neuroendocrino. De hecho más del 80% de las neuronas magnocelulares hipotalámicas pertenecientes a los núcleos supraóptico y paraventricular se encuentran dañadas en los casos de diabetes insípida central o neurogénica (Bacic et al., 1999; Kurokawa et al., 1998; Laszlo et al., 1966; Maghnie et al., 1998; Moses et al., 1992; Randall et al., 1960).

Los núcleos supraóptico y paraventricular hipotalámicos sintetizan y almacenan en sus cuerpos celulares una serie de hormonas que a través de sus axones son secretadas en la hipófisis posterior (Badoer, 2001; Bastos et al., 2001; Bealer et al., 1999; Cajal, 1894 en Pickford et al., 1945; Briski et al., 2000; Chiriguer et al., 2001; Cunningham et al., 1991; Hussy et al., 2000; Lincoln et al., 1982; Miyata et al., 2001; 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), en respuesta a desequilibrios en los niveles hidrominerales del organismo (Brimble et al., 1977; Dogterom, 1977; Jones et al., 1969; Mckinley et al., 1994; Morris et al., 1984; Rowland, 1998; Sladek et al., 1994; Xu et al., 1996).

Las anomalías en este eje hipotalámico neurohipofisario suelen provocar diversos trastornos en lo relacionado con la síntesis, almacenamiento y liberación de estos factores endocrinos en la circulación (Balment et al., 1986; Demunbrun et al.,

CAPÍTULO IV

1954; Heinbecker et al., 1941; Laszlo et al., 1966; Lichardus et al., 1973; Moses et al., 1992).

En la última década, y gracias al desarrollo de nuevas tecnologías, se han podido confirmar muchas de estas apreciaciones. En efecto, mediante pruebas de neuroimagen, se ha observado que la intensidad de la señal del lóbulo posterior (neurohipófisis) se encuentra atenuada en las personas diabéticas (Kurokawa et al., 1998; Maghnie et al., 1998; Moses et al., 1992, 1993).

En efecto, como se ha descrito anteriormente es bien sabido que una gran variedad de enfermedades de índole adquiridas, genéticas e idiopáticas afectan al eje hipotálamo-hipófisis posterior, provocando una carencia notable en la hormona antidiurética o vasopresina (Bacic et al., 1999; Isidro et al., 1998; Randall et al., 1960; Robertson, 1995; Seckl et al., 1987). El resultado se traduce, en una incapacidad renal para poder concentrar la orina y conservar el fluido corporal. Consecuentemente, se producen pérdidas elevadas de líquido (poliuria) que ocasionan una sed extrema (polidipsia), uno de los síntomas principales de la diabetes insípida (ver experimentos 6A, 6B y 7).

Por todo ello, no resulta extraño que uno de los tratamientos más efectivos a la hora de controlar esta enfermedad consista en la prescripción de un análogo de la hormona antidiurética (ADH), el dAAVP (1 desamino-8 arginina vasopresina), agonista selectivo al receptor tubular renal V2, que de hecho ofrece una acción antidiurética más potente y prolongado que la de la propia hormona (Fjellestad-Paulsen et al., 1993; Greger et al., 1986; Kumar et al., 1998; Maghnie et al., 2000; Saborio et al., 2000; Singer et al., 1997).

En cualquier caso, y junto a estos estudios, hay que añadir que el tratamiento farmacológico de la diabetes insípida neurogénica se ha complementado recientemente, y además con buenos resultados, con el uso racional de diuréticos y una restricción de sal en la dieta (Baylis et al., 1998; Fried et al., 1997; Niaudet et al., 1985; Rose, 1984; Saborio et al., 2000; Tetiker et al., 1999).

El objetivo de estos tratamientos no es otro que el tratar de corregir los desequilibrios osmolares (hipernatremia) que presentan estos sujetos (ver experimento 7) (Baylis et al., 1998; Friedman et al., 1958, 1962; Hollinshead et al., 1964; Saborio et al., 2000), provocados fundamentalmente por un incremento significativo en los niveles de sodio corporal (experimento 7) (Bacic et al., 1999; Balment et al., 1986; Bronstein et al., 2000; Friedman et al., 1958; Huang et al., 1996; Kavellaars et al., 2001; Laszlo et al., 1966; Man et al., 1992; Moses et al., 1993; O'Connor, 1950; Pivonello et al., 2000; Price et al., 2000; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1992), y todo ello como consecuencia de una incapacidad renal para excretar una orina concentrada (natriuresis) (experimentos 6B y 7) (Bacic et al., 1999; Balment et al., 1986; Huang et al., 1996; Laszlo et al., 1966; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Rose, 1984; Seckl et al., 1992; Swann, 1939; Wolf, 1950).

En relación con esta cuestión, se dispone de abundante información que pone de manifiesto la existencia de un sistema cerebral encargado de controlar y regular los valores de sodio en el organismo.

Así por ejemplo, se ha constatado que diversas manipulaciones en el sistema nervioso central pueden producir una serie de alteraciones en la necesaria respuesta natriurética inducida por incrementos en la osmolaridad plasmática (Balment et al., 1986; Bealer et al., 1983; Cort, 1963; Edwards et al., 1984; Gutkowska et al., 1997; Laszlo et al., 1966; Lichardus et al., 1969; Mckinley et al., 1983; Natcheff et al., 1975; O'Connor, 1952; Robertson, 1995; Thrasher et al., 1983; Wells et al., 1990).

Estos resultados se han visto fortalecidos en la última década por una serie de estudios que parecen coincidir en que al igual que sucede con la distorsionada respuesta renal para la conservación de fluidos observada (ver exp. 6B y 7) (Bacic et al., 1999; Isidro et al., 1998; Mckinley et al., 1991; Randall et al., 1960; Robertson, 1995; Seckl et al., 1987); las alteraciones hidrominerales descritas en estos pacientes pueden deberse también a la ausencia de algunos factores hormonales de origen neurohipofisario (Fitzsimons, 1998; Kadekaro et al., 1992; Kurokawa et al., 1998; Maghnie et al., 1998; Moses et al., 1992; Murphy et al., 1998; Pierson et al., 1995).

CAPÍTULO IV

En efecto, la administración de extractos pertenecientes a la hipófisis posterior en animales diabéticos restauró completamente la función natriurética (Lichardus et al., 1973; O'Connor, 1950).

Actualmente, se cree que la oxitocina, un péptido neuroendocrino, sintetizado en los núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo (Badoer, 2001; Bealer et al., 1999; Briski et al., 2000; Cajal, 1894 en Pickford et al., 1945; Cunningham et al., 1991; Hussy et al., 2000; Lincoln et al., 1982; Miyata et al., 2001; Poulain et al., 1977; Swaab et al., 1975; Thunhorst et al., 1998; Wakerley et al., 1988; Xiong et al., 1996; Zaida-Díaz et al., 2000; Zheng-dong et al., 2000) puede ser uno de los responsables de la protección rápida y urgente que se produce ante los incrementos en el sodio extracelular y en la osmolaridad (Balment et al., 1980; Bourque et al., 1994; Edwards et al., 1984; Huang et al., 1999; Jones et al., 1969; Kjaer et al., 1995; Mckinley et al., 1983; Soares et al., 1999) y que, en definitiva puede ser un sistema afectado tras las lesiones o daño cerebral que padecen estos sujetos.

Esta interpretación se encuentra respaldada por una serie de estudios experimentales que han comprobado que la administración de antagonistas oxitocinérgicos inhibe la excreción de sodio renal (Blackburn et al., 1995; Huang et al., 1995, 1996; Walter et al., 2000), mientras que la administración de oxitocina restauró dicha respuesta natriurética (Balment et al., 1980; Conrad et al., 1986; Forsling et al., 1994; Peters et al., 1970; Verbalis et al., 1991; Walter et al., 2000), incluso en animales hipofisectomizados (Brooks et al., 1958; Brunner et al., 1956; Dicker, 1957; Sawyer, 1952).

En resumen, estos datos parecen destacar la importancia de este factor neurohipofisario, la hormona oxitocina, en el control y regulación hidromineral de los fluidos orgánicos (Balment et al., 1980; Bourque et al., 1994; Fitzsimons, 1998; Huang et al., 1995, 1999; Hussy et al., 2000; Kadekaro et al., 1992; Landgraf et al., 1983; Murphy et al., 1998; Pierson et al., 1995; Soares et al., 1999; Weitzman et al., 1978).

De cara a la presente Tesis Doctoral, y como quedó reflejado en los experimentos previos, la hiperdipsia de los animales con lesión electrolítica en la eminencia media no puede ser definida exclusivamente como un trastorno regulatorio secundario a una pérdida de fluidos (ver exp. 6A, 6B y 7) (Smith et al., 1962, 1964).

Existe la posibilidad de que las alteraciones en los procesos regulatorios hidrominerales descritas en los animales diabéticos, y que provocan un aumento considerable en la osmolaridad plasmática (hipernatremia), podrían explicar los cuadros de ingesta elevados (polidipsia) que se observan durante el desarrollo de la diabetes insípida.

Concretamente, se ha puesto de manifiesto que la polidipsia de los animales experimentales se incrementa significativamente cuando éstos se encuentran expuestos a altos contenidos de sodio, bien de forma directa a través de la dieta (exp. 6A y 7) o después de la administración periférica (i.p) de ClNa hipertónico (ver experimento 6B) (Curtis, 1924; Fisher et al., 1938; Oehme et al., 1918; Rosenblom et al., 1916; Swann, 1939, Wolf, 1958); confirmándose una vez más las dificultades que presentan los animales diabéticos a la hora de conseguir un adecuado control y equilibrio hidromineral, donde el sodio es un elemento principal (Bie et al., 2000; Fitzsimons, 1998; Johnson et al., 1997; McKinley et al., 1983; Robertson, 1982, 1983; Robertson et al., 1995; Rose, 1984, 1986; Saltmarsh, 2001).

Desde esta óptica, podría ser relevante analizar las consecuencias que pudiera tener sobre el desarrollo de la polidipsia diabética la administración periférica (i.p) de este factor endocrino neurohipofisario, la oxitocina. En función de los argumentos esgrimidos anteriormente (Balment et al., 1980; Bourque et al., 1994; Brunner et al., 1956; Dicker et al., 1946; Fitzsimons, 1998; Hollishead 1964; Huang et al., 1999; Hussy et al., 2000; Kadekaro et al., 1992; Landgraf et al., 1983; Laszlo et al., 1966; Lichardus et al., 1973; O'Connor, 1950; Pierson et al., 1995; Swayer, 1952; Soares et al., 1999; Weitzman et al., 1978), cabría esperar que dicho tratamiento produjese una mayor facilitación en la respuesta natriurética de los sujetos experimentales (lesión

CAPÍTULO IV

electrolítica anódica de la eminencia media), lo cual podría repercutir sobre el comportamiento polidíptico diabético de los mismos.

Método.

Sujetos.

Se utilizaron 22 ratas macho de la cepa Wistar, suministradas por el servicio de Animalario de la Comisión de servicios técnicos de la Universidad de Granada. El peso de los animales al principio del estudio estuvo comprendido entre 265-340 gramos. A su llegada al laboratorio, los animales fueron mantenidos en las mismas condiciones de los experimentos previos, es decir, con comida y agua ad libitum, hasta el momento de la intervención quirúrgica.

Procedimiento Quirúrgico.

Fue idéntico al documentado en el capítulo I.

Procedimiento Experimental.

Inicialmente, los 22 animales fueron asignados de forma aleatoria a uno de los grupos experimentales o control, quedando distribuidos de la siguiente forma: grupo experimental EM+ “oxitocina” (EMOT) (n=6), grupo control EM+ “oxitocina” (GCOT) (n=5), grupo experimental EM+ “suero fisiológico” (EMSF) (n=6), grupo control EM+ “suero fisiológico” (GCSF) (n=5).

El registro de la cantidad de agua y comida ingerida en la fase preoperatoria se realizó de forma idéntica a la descrita en los capítulos anteriores.

EXPERIMENTO 8

Transcurridas 8 horas después de la intervención quirúrgica, los animales recibieron un tratamiento específico (administración periférica (i.p) de oxitocina y suero fisiológico) en función del grupo al que pertenecían (ver cuadro).

En este sentido, los animales que fueron asignados al grupo experimental EMOT y grupo control (GCOT) recibieron 8 horas después de la intervención quirúrgica la administración periférica (i.p/1c.c) de la hormona neurohipofisaria (Oxitocina, Lab. Iven, 22microg/Kg). El mismo procedimiento se siguió con el resto de los animales del experimento (grupo experimental EMSF y grupo control GCSF), si bien en este caso, el tratamiento consistió en la administración (i.p/1c.c) de suero salino isotónico (Apiroserum, Lab. Ybis. Madrid).

Con el objetivo de tratar de estudiar el desarrollo y progresión del comportamiento polidíptico de los diferentes animales del experimento (efecto lesión), se registró la ingesta de agua de cada animal 8 horas después de la intervención quirúrgica. Asimismo, el efecto de la variable tratamiento (oxitocina vs. suero fisiológico) sobre la conducta consumatoria diabética se cuantificó 16 horas después de la administración intraperitoneal, coincidiendo con las primeras 24 horas postoperatorias (periodo 8-24 horas postlesión).

Siguiendo con la misma lógica anterior, se registró el volumen de orina excretado por los diversos grupos durante los mismos periodos ya reseñados (8 y 8-24 horas respectivamente). Igualmente, se cuantificó el efecto del tratamiento sobre la regulación hidromineral, midiendo los niveles de sodio en la orina (8 y 8-24 horas) y su concentración (8 y 8-24 horas) en todos los animales del experimento. Para ello, los animales una vez intervenidos quirúrgicamente permanecieron durante este tiempo (primeras 24 horas postoperatorias) en jaulas metabólicas (Tecniplast 3701M0-000) las cuales, mediante un sistema de filtrado permiten recoger la orina, libre de impurezas (restos de heces, serrín, comida, etc) para su posterior procesamiento.

CAPÍTULO IV

La concentración de sodio en la muestra de orina se determinó mediante un analizador automático (Beckman Instruments, Synchron CX3 Delta, USA), calculándose la excreción resultante de la siguiente manera:

$$U_{Na}V = [Na]_U \times D/1000,$$

Donde, $U_{Na}V$: excreción urinaria de sodio (mEq/l); $[Na]_U$: concentración urinaria de sodio (mosmol/Kg); D: diuresis (ml).

Por lo que se refiere a la determinación de la osmolaridad urinaria, se llevó a cabo mediante un osmómetro automático basado en técnicas de crioscopía (Osmostat OM-6020, Kyoto-Japón).

En cualquier caso, es necesario indicar que en todo momento los sujetos experimentales así como sus respectivos controles estuvieron privados de alimento.

Finalmente, y una vez transcurridas las primeras 24 horas de la fase experimental, los animales fueron devueltos a sus jaulas individuales (ver cap.I) donde se les ofreció simultáneamente y en dos botellas separadas, una solución salina hipertónica (1.5%) y otra de agua desmineralizada, de forma que pudiesen elegir libremente de una u otra indistintamente (contrabalanceo). Se registró el volumen total consumido de cada una de las 2 opciones posibles con la finalidad de comprobar si la manipulación experimental llevada a cabo en el primer día (periodo 8-24 horas postoperatorio) podría tener alguna repercusión sobre las conductas regulatorias estudiadas (ingesta de líquido).

En todos los casos, los registros se efectuaron en 2 momentos diferentes del día (a las 30 y 48 horas postoperatorias), matizando que en la primera situación (periodo 24-30 horas postoperatorio) los animales todavía se encontraban privados de alimento. Una vez llevada a cabo dicha medida, todos los sujetos volvieron a disponer de comida ad libitum en sus jaulas, por lo que también se analizó el

comportamiento nutritivo de todos los sujetos en el periodo 30-48 horas después de la intervención quirúrgica.

Análisis Estadístico.

De la misma forma que en los experimentos previos, se empleó un Anova no paramétrico de Kruskal Wallis (grupos independientes) con el objetivo de analizar las posibles diferencias en las variables estudiadas entre todos los grupos experimentales y control para cada uno de los registros o medidas efectuadas.

En el caso de obtener un efecto global en alguna de estas variables, se pasaba a realizar un análisis más detallado. Para ello, se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov con el objetivo de evaluar las diferencias entre los grupos lesionados y sus respectivos controles, y entre los diferentes grupos experimentales entre sí en cada uno de los registros o medidas efectuadas.

Asimismo, se utilizó un Anova de Friedman (análisis intragrupo) con el objetivo de analizar las posibles diferencias en cada uno de los momentos evaluados para cada grupo experimental y control. En el caso de obtener efectos significativos en el análisis global de estas conductas se pasaba a un nivel de análisis más detallado. Concretamente, y mediante la prueba de Wilcoxon, se realizaron comparaciones entre las puntuaciones obtenidas en los diferentes periodos de la secuencia experimental para cada uno de los 4 grupos del experimento.

Histología.

Se realizó, siguiendo el procedimiento descrito en el capítulo I.

CAPÍTULO IV

Resultados.

INGESTA DE LÍQUIDO.

Una vez realizada la intervención quirúrgica, los animales difieren en el consumo de agua en cada una de las condiciones evaluadas {**8 horas** $H(3,22) = 13,45$, $p = .0038$; **8-24 horas** $H(3,22) = 19,45$, $p = .0002$; **24-30 horas** $H(3,22) = 17,43$, $p = .0006$; **30-48 horas** $H(3,22) = 17,05$, $p = .0007$ } (figs 8.1, 8.5, 8.9 y 8.11).

El análisis estadístico entregrupos reveló que los animales pertenecientes a los grupos lesionados mostraron un consumo de agua significativamente superior que los grupos control en las primeras 8 horas postoperatorias {**EMOT vs. GCOT** $D(6,5) = 1.00$, $p < .01$ } {**EMSF vs. GCSF** $D(6,5) = .83$, $p < .05$ } (fig. 8.1).

Por lo que respecta a las comparaciones entre los diferentes grupos experimentales y controles entre sí, los resultados obtenidos señalan que no había diferencias significativas en la respuesta polidípica {**EMOT vs. EMSF** $D(6,6) = .33$, $p = n.s$ } {**GCOT vs. GCSF** $D(5,5) = .00$, $p = n.s$ } (fig. 8.1).

Una vez incluida la variable tratamiento (periodo 8-24 horas postoperatorias), los animales diabéticos continúan desarrollando una respuesta de ingesta superior a la de los animales pertenecientes al grupo control {**EMOT vs. GCOT** $D(6,5) = .83$, $p < .05$ } {**EMSF vs. GCSF** $D(6,5) = 1.00$, $p < .01$ }, si bien hay que resaltar que mientras los sujetos experimentales que reciben la administración periférica de la solución salina isotónica incrementan de manera significativa su ingesta (periodo 8-24 horas) respecto a las primeras 8 horas postoperatorias (resultados no observados en el grupo control correspondiente), no sucede lo mismo con el resto de los animales con lesión electrolítica en la eminencia media, que sorprendentemente no muestran diferencias significativas en su respuesta polidípica tras el tratamiento hormonal (oxitocina) en un periodo de 16 horas (8-24 horas postlesión) respecto a la condición anterior (primeras 8 horas postoperatorias), { **EMSF** $Z = 2,20$, $p = .02$;

21,50cc (**8 horas**) vs. 79,50cc (**8-24 horas**) {EMOT $Z = 1,88$, $p = .06$; 25,66cc (**8 horas**) vs. 40,00cc (**8-24 horas**)}, a pesar de que el grupo control que recibe el mismo tratamiento (oxitocina) duplica su consumo de agua tras la administración de la hormona neurohipofisaria {GCOT $Z = 2,02$, $p = .04$; 10cc (**8 horas**) vs. 21,60cc (**8-24 horas**)} (fig. 8.5).

Es más, al analizar las comparaciones entre los diferentes grupos lesionados, se observa que los animales que recibieron la administración intraperitoneal de oxitocina ingieren una menor cantidad de agua que los sujetos experimentales EM+ “suero fisiológico” en el periodo 8-24 horas postoperatorio {EMOT vs. EMSF $D(6,6) = .00$, $p < .005$ }. Todo lo contrario sucede con el grupo control “oxitocina” que muestra una mayor ingesta de agua que los animales controles que reciben la administración de suero salino isotónico en el mismo periodo (8-24 horas) {GCOT vs. GCSF $D(5,5) = 1.00$, $p < .025$ } (fig. 8.5).

En el 2º día del experimento (24-30 y 30-48 horas), todos los animales pertenecientes a los grupos experimentales (EMOT vs. EMSF) mostraron respuestas superiores en la ingesta de agua con respecto a sus respectivos controles {EMOT vs. GCOT $D(6,5) = 1,00$, $p < .01$ (24-30 y 30-48 horas)} {EMSF vs. GCSF $D(6,5) = 1,00$, $p < .01$ (24-30 y 30-48 horas)} (figs. 8.9 y 8.11).

El análisis estadístico entregrupos no reflejó diferencias significativas en las medidas efectuadas (24-30 y 30-48 horas postoperatorias) entre los grupos lesionados en la eminencia media {EMOT vs. EMSF $D(6,6) = .50$, p (n.s) **24-30 horas**; $D(6,6) = .33$, p (n.s) **30-48 horas**} aunque el consumo de agua del grupo EM/OT es siempre mayor que el grupo EM/SF.

Hay que significar que en estas condiciones (24-30 y 30-48 horas postlesión) todos los animales tienen la posibilidad de (además del agua), ingerir una solución salina hipertónica (1,5%). En este sentido, el análisis de los datos señaló que los grupos experimentales diabéticos (EM+ “oxitocina/suero fisiológico”) muestran una mayor preferencia por la solución salina hipertónica en el periodo 30-48 horas

CAPÍTULO IV

postoperatorias que los grupos control no lesionados {**EMOT vs. GCOT** $D(6,5) = .83$, $p < .05$ (**30-48 horas**)} {**EMSF vs. GCSF** $D(6,5) = 1,00$, $p < .01$ (**30-48 horas**)} (fig. 8.12).

Conviene destacar sin embargo, que el consumo de ClNa en los animales experimentales es notablemente inferior al desarrollado por el agua en este mismo periodo {**EM/OT** $Z = 2,20$, $p = .02$; 88,50cc (**agua**) vs. 15,50cc (**ClNa**)} {**EM/SF** $Z = 2,20$, $p = .02$; 73,16cc (**agua**) vs. 10,50cc (**ClNa**)} (figs. 8.11 y 8.12).

VOLUMEN DE ORINA A LAS 8 HORAS.

El análisis de la cantidad de orina excretada por parte de los grupos experimentales y controles reveló diferencias significativas entre ellos, 8 horas después de la intervención quirúrgica { $H(3,22) = 15,47$, $p = .0015$ } (fig. 8.2).

A pesar del corto periodo de tiempo transcurrido tras las lesiones electrolíticas, los animales pertenecientes a los diferentes grupos experimentales (“oxitocina vs. suero fisiológico”) excretaron una mayor cantidad de orina que los respectivos grupos control {**EMOT vs. GCOT** $D(6,5) = 1,00$, $p < .01$ } {**EMSF vs. GCSF** $D(6,5) = .83$, $p < .05$ } (fig. 8.2).

Por otro lado, el análisis entregrupos no reflejó diferencias significativas en el volumen de orina entre los diferentes grupos lesionados.

VOLUMEN DE ORINA A LAS 24 HORAS (Periodo 8-24 Horas Postoperatorio).

El análisis estadístico de los datos mostró diferencias significativas en el volumen de orina excretado por los grupos lesionados y controles, en el periodo de 8-24 horas desde de la intervención { $H(3,22) = 16,80, p = .0008$ } (fig. 8.6).

Los resultados observados no difieren en gran medida de los comentados anteriormente (8 horas), es decir, los animales experimentales continúan desarrollando una respuesta diurética significativamente superior que los sujetos control {**EMOT vs. GCOT** $D(6,5) = 1,00, p < .05$ } {**EMSF vs. GCSF** $D(6,5) = 1,00, p < .01$ } (fig. 8.6).

El análisis entregrupos no reflejó diferencias significativas en la respuesta diurética entre los diferentes grupos experimentales.

NIVELES DE SODIO EN ORINA A LAS 8 HORAS.

El análisis estadístico no paramétrico entregrupos no reveló diferencias significativas en los niveles de sodio urinario entre los grupos experimentales y controles, y entre los grupos lesionados entre sí, 8 horas después de la intervención quirúrgica { $H (3,22) = 7, 61, p < .0546$ } (fig. 8.3).

CAPÍTULO IV

NIVELES DE SODIO EN ORINA A LAS 24 HORAS (Periodo 8-24 Horas Postoperatorio).

Transcurridas las primeras 24 horas desde la intervención quirúrgica (periodo 8-24 horas postlesión), se observaron diferencias significativas entre los grupos experimentales y grupos controles en general en la respuesta natriurética { $H(3,22) = 9,24, p = .0262$ } (fig. 8.7).

Las comparaciones entre los diferentes grupos lesionados y sus respectivos grupos control revelaron una mayor natriuresis en el grupo experimental diabético que recibe la administración (i.p) de oxitocina con respecto al grupo control no lesionado {**EMOT vs. GCOT** $D(6,5) = .83, p < .05$ } (fig. 8.7).

Por otra parte, comparando los grupos experimentales, se observan niveles superiores de sodio en orina en el grupo lesionado que recibe la administración periférica de la hormona neurohipofisaria (oxitocina) que en los animales experimentales que son sometidos al tratamiento de suero salino isotónico {**EMOT vs. EMSF** $D(6,6) = .83, p < .05$ }; una circunstancia que no se observa en los animales del grupo control {**GCOT vs. GCSF** $D(5,5) = .60, p (n.s)$ } (fig. 8.7).

OSMOLARIDAD URINARIA A LAS 8 HORAS.

Por lo que respecta a la osmolaridad urinaria de los grupos experimentales y control, se observaron diferencias significativas, 8 horas después de la intervención quirúrgica { $H(3,22) = 15,47, p = .0015$ } (fig. 8.4).

Los principales resultados en esta condición experimental pueden resumirse de la siguiente manera:

En primer lugar, hay que señalar que todos los animales lesionados mostraron una menor concentración de la orina que sus respectivos grupos control {**EMOT vs. GCOT** $D(6,5) = .00, p < .01$ } {**EMSF vs. GCSF** $D(6,5) = .00, p < .01$ } (fig. 8. 4).

Por su parte, el análisis de los datos no reveló diferencias significativas en los niveles de osmolaridad urinaria entre los grupos experimentales.

OSMOLARIDAD URINARIA A LAS 24 HORAS (Periodo 8-24 Horas Postoperatorio).

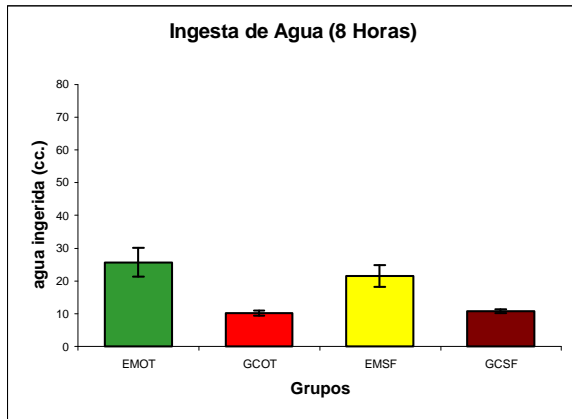
Una vez más, las comparaciones realizadas entre los grupos lesionados y controles en general, evidencian diferencias significativas en la osmolaridad urinaria en el periodo 8-24 horas después de las lesiones electrolíticas { $H(3,22) = 16,80, p = .0008$ } (fig. 8.8).

En este caso, el análisis entregupos mostró una menor concentración urinaria en los grupos experimentales que recibieron la administración de suero salino isotónico con respecto al grupo control {**EMSF vs. GCSF** $D(6,5) = .00, p < .01$ }.

Por lo que respecta a los animales pertenecientes a los grupos lesionados que reciben la administración intraperitoneal de oxitocina hay que indicar que no se producen diferencias significativas en los niveles de osmolaridad urinaria con respecto al grupo control no lesionado, transcurridas 24 horas desde la intervención quirúrgica (periodo 8-24 horas postlesión) {**EMOT vs. GCOT** $D(6,5) = .33, p = n.s$ }(fig. 8.8).

Estos resultados parecen confirmarse a la hora de realizar las comparaciones entre los diferentes grupos experimentales, donde se observa que aquellos animales que recibieron la administración de la hormona neurohipofisaria “oxitocina” presentan una mayor osmolaridad en la orina que los que recibieron la inyección de suero fisiológico {**EMOT vs. EMSF** $D(6,6) = .83, p < .05$ }(ver fig. 8. 8).

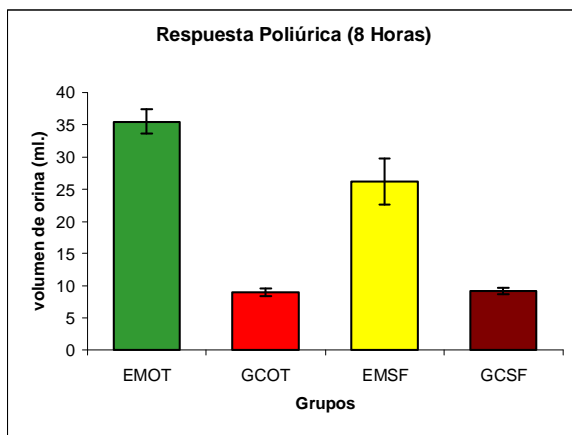
CAPÍTULO IV



	EMOT	GCOT	EMSF	GCSF
EMOT		**		
GCOT				
EMSF				*
GCSF				

** p<0.01 * p<0.05

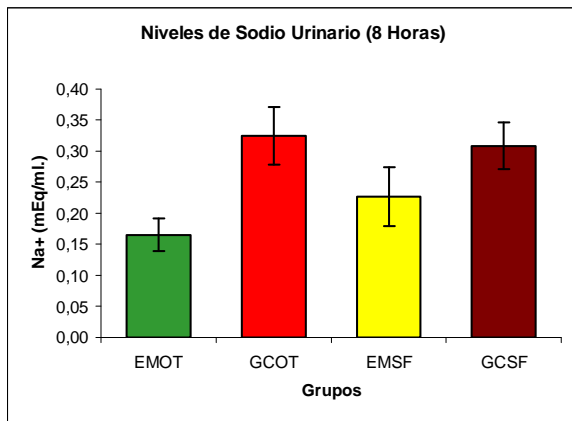
Figura 8.1: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante las primeras **8 horas** postoperatorias.



	EMOT	GCOT	EMSF	GCSF
EMOT		**		
GCOT				
EMSF				*
GCSF				

** p<0.01 * p<0.05

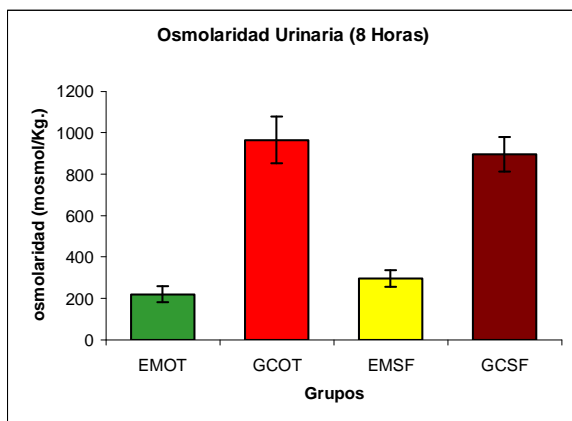
Figura 8.2: Cantidades medias en el volumen de orina excretado por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante las primeras **8 horas** postoperatorias.



	EMOT	GCOT	EMSF	GCSF
EMOT				
GCOT				
EMSF				
GCSF				

** p<0.01 * p<0.05

Figura 8.3: Cantidades medias obtenidas en los niveles de sodio urinario por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante las primeras **8 horas** postoperatorias.

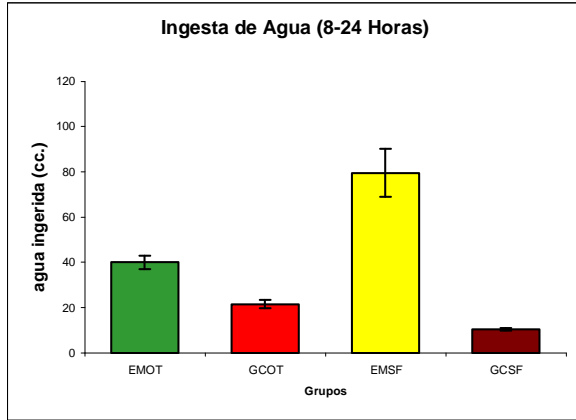


	EMOT	GCOT	EMSF	GCSF
EMOT		**		
GCOT				
EMSF				
GCSF				**

** p<0.01 * p<0.05

Figura 8.4: Cantidades medias en los niveles de osmolaridad urinaria reflejadas por los grupos experimentales y grupos control durante las primeras **8 horas** postoperatorias.

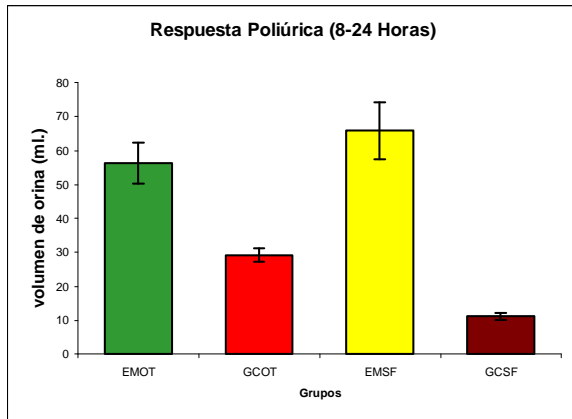
EXPERIMENTO 8



	EMOT	GCOT	EMSF	GCSF
EMOT		*	**	
GCOT				**
EMSF				**
GCSF				

** p<0.01 * p<0.05

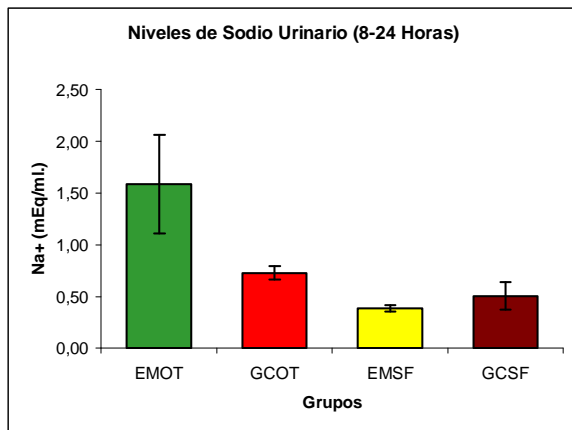
Figura 8.5: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **8-24 horas** postoperatorias.



	EMOT	GCOT	EMSF	GCSF
EMOT		*		
GCOT				
EMSF				**
GCSF				

** p<0.01 * p<0.05

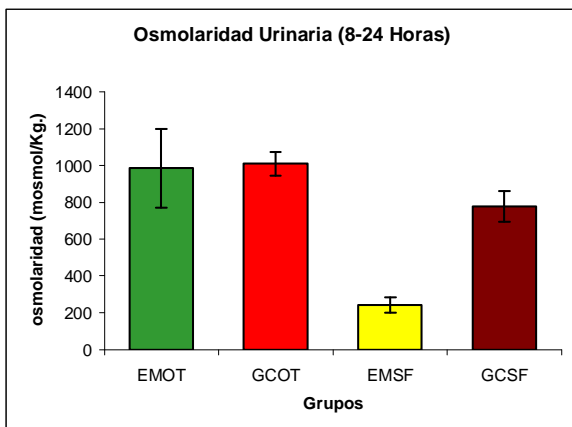
Figura 8.6: Cantidades medias en el volumen de orina excretado por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante periodo comprendido entre las **8-24 horas** postoperatorias.



	EMOT	GCOT	EMSF	GCSF
EMOT		*	*	
GCOT				
EMSF				
GCSF				

** p<0.01 * p<0.05

Figura 8.7: Cantidades medias obtenidas en los niveles de sodio urinario por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **8-24 horas** postoperatorias.

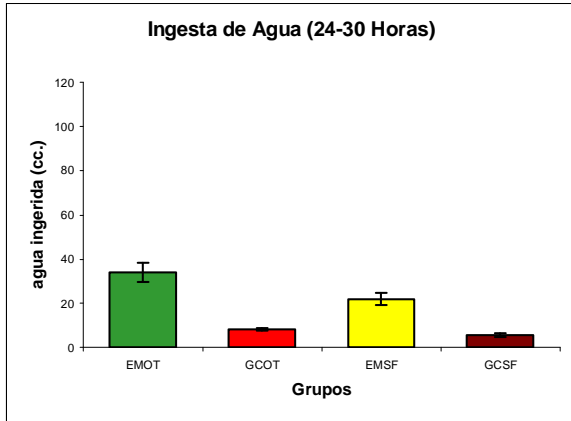


	EMOT	GCOT	EMSF	GCSF
EMOT			*	
GCOT				
EMSF				**
GCSF				

** p<0.01 * p<0.05

Figura 8.8: Cantidades medias en los niveles de osmolaridad urinaria reflejadas por los grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **8-24 horas** postoperatorias.

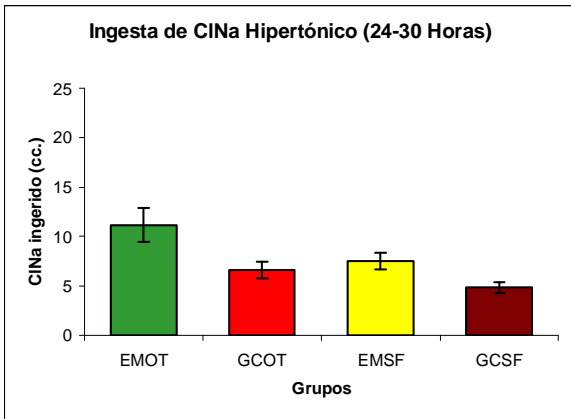
CAPÍTULO IV



	EMOT	GCOT	EMSF	GCSF
EMOT		**		
GCOT				
EMSF				**
GCSF				

** p<0.01 * p<0.05

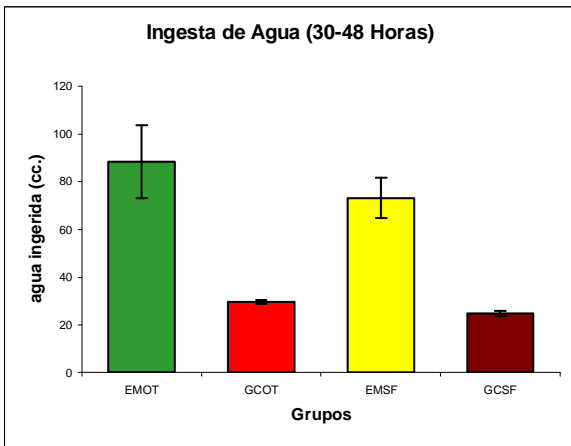
Figura 8.9: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **24-30 horas** postoperatorias.



	EMOT	GCOT	EMSF	GCSF
EMOT				
GCOT				
EMSF				
GCSF				

** p<0.01 * p<0.05

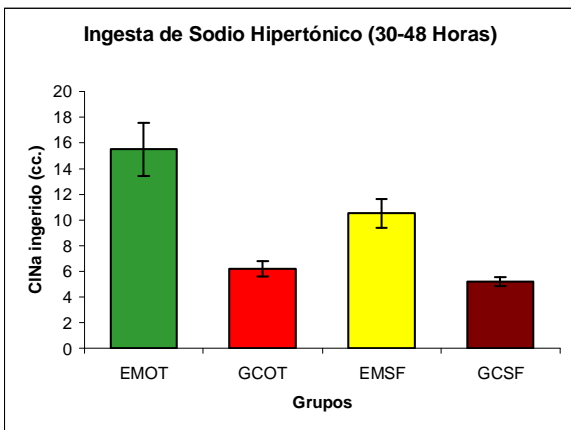
Figura 8.10: Cantidades medias en la ingesta de ClNa hipertónico obtenidas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **24-30 horas** postoperatorias.



	EMOT	GCOT	EMSF	GCSF
EMOT		**		
GCOT				
EMSF				**
GCSF				

** p<0.01 * p<0.05

Figura 8.11: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **30-48 horas** postoperatorias.



	EMOT	GCOT	EMSF	GCSF
EMOT		*		
GCOT				
EMSF				**
GCSF				

** p<0.01 * p<0.05

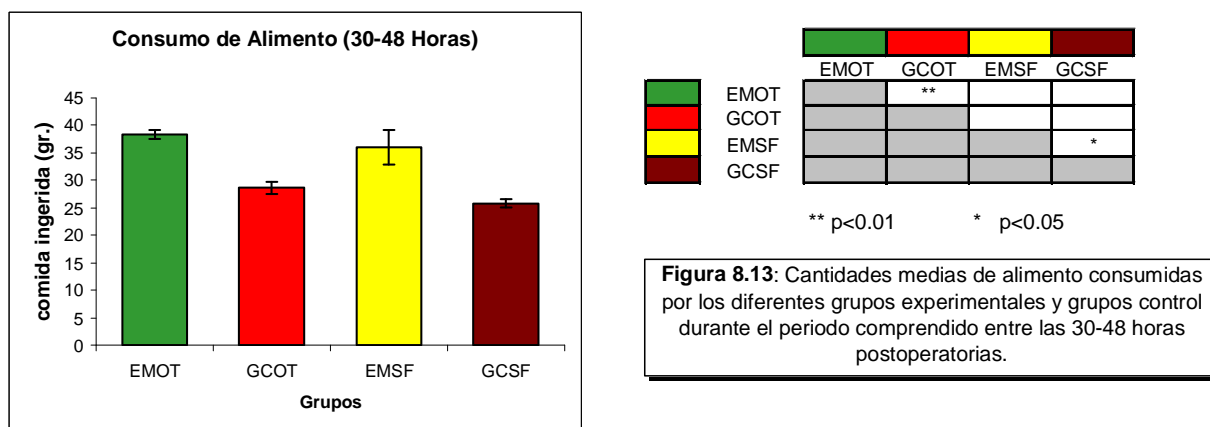
Figura 8.12: Cantidades medias en la ingesta de ClNa hipertónico obtenidas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **30-48 horas** postoperatorias.

INGESTA DE COMIDA (Periodo 30-48 Horas Postoperatorio).

En cuanto a la ingesta de alimento, se observaron diferencias significativas globales entre los grupos lesionados y controles, en el periodo 30-48 horas después de la intervención quirúrgica { $H(3,22) = 14,48, p = .0023$ } (fig. 8.13).

Concretamente, los animales diabéticos consumieron una mayor cantidad de alimento que los sujetos del grupo control {**EMOT vs. GCOT** $D(6,5) = 1.00, p < .01$ } {**EMSF vs. GCSF** $D(6,5) = .83, p < .05$ } (ver fig. 8.13).

El análisis estadístico entregrupos no reflejó diferencias significativas en la conducta hiperfágica entre los grupos experimentales.



Discusión.

Los resultados del presente trabajo experimental confirman que las lesiones electrolíticas de la eminencia media provocan una respuesta polidíptica ya en las primeras 8 horas postoperatorias (fig. 8.1) (ver experimentos 6B y 7). Ello es debido en buena parte a la dificultad para mantener un control adecuado en la conservación de los fluidos corporales (ver exp. 6A, 6B y 7) (Balment et al., 1986; Bronstein et al.,

CAPÍTULO IV

2000; Friedman et al., 1958; Hennesy et al., 1977; Hollinshead, 1964; Ikkos et al., 1954; Laszlo et al., 1966; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1992, 1997; Swann, 1939).

En este sentido, los resultados de las lesiones electrolíticas anódicas de la eminencia media muestran una marcada diuresis al poco tiempo de practicarse la intervención quirúrgica (fig. 8.2), que no puede ser explicada en función del consumo de líquidos, ya que el volumen de orina (poliuria) va siempre “por delante” de la ingesta de agua en este periodo (datos observados en nuestro laboratorio, no presentados).

Sin embargo, todo parece indicar que las diversas alteraciones producidas en el sistema neurohipofisario pueden explicar los graves problemas regulatorios tanto hídricos como minerales que manifiestan los sujetos que padecen diabetes insípida neurológica.

Concretamente, una serie de investigaciones han observado una fuerte correlación entre la intensidad de la señal emitida por las imágenes de resonancia magnética y los niveles neuroendocrinos en la hipófisis posterior (Czernichow et al., 2000; Kucharzyc et al., 1986, 1998; Kurokawa et al., 1998; Maghnie et al., 2000; Moses et al., 1992; Saborio et al., 2000). Los resultados observados en estos trabajos señalan que los pacientes con trastornos polidípsicos presentan una reducción notable en la intensidad de la señal emitida por las imágenes (Kurokawa et al., 1998; Maghnie et al., 1998, 2000; Moses et al., 1992); lo que conlleva una disminución significativa en la síntesis, almacenamiento y liberación de hormonas neurohipofisarias (Bronstein et al., 2000; Czernichow et al., 2000; Demunbrun et al., 1954; González-Portillo et al., 1998; Greger, 1986; Huang et al., 1996; Heinbecker et al., 1941; Hollinshead, 1964; Kurokawa et al., 1998; Laszlo et al., 1966; Macias-Batista et al., 1999; Maghnie et al., 2000; Mirsky et al., 1954; Moses et al., 1992; Robertson, 1995; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1987, 1992; Si-hoe et al., 2000; Song et al., 1999).

Estas observaciones confirman un hecho bien conocido, a saber, que en una gran variedad de enfermedades regulatorias de índole adquiridas, genéticas o idiopáticas, ha quedado afectado el eje hipotálamo-hipófisis posterior y particularmente la principal hormona que históricamente se ha vinculado a estos trastornos, la vasopresina, cuya principal función es la de modular la permeabilidad del agua en los túbulos colectores del riñón, permitiendo así la reabsorción de ésta (Fried et al., 1997; Robertson, 1983; Seckl et al., 1987).

De hecho, uno de los tratamientos más efectivos desde el punto de vista clínico para hacer frente a los desequilibrios hídricos ocasionados por esta enfermedad, consiste en la prescripción de un análogo de la hormona antidiurética, el dAAVP (1-desamino-8 arginina vasopresina) cuyo efecto es incluso más potente y prolongado que el de la propia hormona (Greger et al., 1986).

Sin embargo, junto a estos argumentos iniciales hay que añadir que desde hace algunos años, la intervención farmacológica de la diabetes insípida central se ha complementado y además con bastante éxito con el uso racional de diuréticos y la prescripción de dietas carentes en sal (Baylis et al., 1998; Fried et al., 1997; Niaudet et al., 1985; Rose, 1984; Saborio et al., 2000; Tetiker et al., 1999). El objetivo del primero de los tratamientos no es otro que el provocar un aumento selectivo en la excreción de sodio (natriuresis) sin afectar a la reabsorción de agua, con la finalidad en general de tratar de disminuir la hipernatremia observada en este trastorno, y que podría reflejar una retención inapropiada en los niveles de sodio corporal (ver experimento 7); (Bacic et al., 1999; Balment et al., 1986; Baylis et al., 1998; Friedman et al., 1998; Hollinshead, 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).

En efecto, en la presente Tesis Doctoral también se ha observado un considerable aumento en los niveles de sodio corporal en sujetos que presentan diabetes insípida y que ello trae consigo un deterioro regulatorio en forma de un incremento significativo en la conducta polidipsica y poliúrica. Por ejemplo, la

CAPÍTULO IV

presencia de comida ad libitum en las jaulas de los animales diabéticos incrementó de manera significativa la ingesta de agua con respecto al grupo control (ver experimento 6A).

Estos resultados se han visto fortalecidos en las últimas décadas por una serie de estudios que parecen coincidir en que al igual que sucede con la ausencia de una adecuada respuesta renal para la conservación de fluidos (ver exp. 6B y 7) (Bacic et al., 1999; Isidro et al., 1998; Mckinley et al., 1991; Randall et al., 1960; Robertson, 1995; Seckl et al., 1987), las alteraciones hidrominerales descritas en estos casos pueden deberse también a alguna anomalía de los factores hormonales neurohipofisarios (Fitzsimons, 1998; Kadekaro et al., 1992; Kurokawa et al., 1998; Maghnie et al., 1998; Moses et al., 1992; Murphy et al., 1998; Pierson et al., 1995; Renaud et al., 1991).

Así, la administración periférica (i.p) de oxitocina, un péptido neuroendocrino sintetizado en los núcleos supraóptico y paraventricular hipotalámicos, 8 horas después de la intervención quirúrgica provoca importantes cambios en la regulación hidromineral de los animales polidípsicos.

Si bien los animales diabéticos a quienes se les administra oxitocina continúan tomando mayor cantidad de agua que los sujetos pertenecientes al grupo control, ésta polidipsia es significativamente inferior a la que se observa en los animales lesionados que reciben una infusión de suero fisiológico, a pesar de no existir diferencias significativas entre ambos grupos en el volumen de orina excretado (fig. 8.5).

Estas respuestas diferenciales en la ingesta de agua entre los diferentes grupos experimentales del presente experimento, no pueden ser explicadas por un efecto aversivo del tratamiento con oxitocina como sugieren algunos autores (se ha observado un incremento en los niveles de oxitocina plasmáticos en los animales que han sido sometidos a un aprendizaje aversivo-gustativo, fenómeno en el cual una sustancia novedosa (sabor) es asociada con una sensación gastrointestinal

desagradable provocada por la administración de un producto aversivo (CILI, sulfato de cobre, CCK, etc)(Verbalis et al., 1991). En efecto, los animales pertenecientes a los grupos control que reciben la administración periférica de oxitocina no muestran la característica disminución en la ingesta de agua en el mismo periodo (8-24 horas postoperatorias) con respecto a los sujetos del grupo control que reciben la infusión (i.p) de la solución salina (fig. 8.5). De hecho, una comparación entre los dos grupos control diabéticos permiten observar un consumo de líquidos significativamente superior en aquellos animales que fueron tratados con la hormona neurohipofisaria.

Estos resultados parecen confirmar un papel importante para los factores neurohipofisarios como la oxitocina, en el control y regulación hidromineral de los fluidos orgánicos (Balment et al., 1980; Bourque et al., 1994; Fitzsimons, 1998; Huang et al., 1999; Huang et al., 1995; Hussy et al., 2000; Kadekaro et al., 1992; Landgraff et al., 1983; Murphy et al., 1998; Pierson et al., 1995; Soares et al., 1999; Weitzman et al., 1978). Esta hormona puede constituir un mecanismo de protección ante las amenazas de un incremento en el sodio extracelular y en la osmolaridad (Balment et al., 1980; Bourque et al., 1994; Edwards et al., 1984; Huang et al., 1999; Jones et al., 1969; Kjaer et al., 1995; McKinley et al., 1983; Soares et al., 1999).

Como se ha visto en estudios anteriores y también en la presente Tesis Doctoral (ver experimentos 6B y 7) los sujetos que desarrollan el trastorno de la diabetes insípida neurogénica manifiestan serias dificultades a la hora de regular los elevados niveles de sodio corporal. Diversos autores, han propuesto que la clave puede residir en la incapacidad del riñón para excretar una orina concentrada (O'Connor, 1950; Swann, 1939; Titlebaum et al., 1960; Wolf, 1950). En este sentido, se ha podido observar (exp.7) que algunos grupos experimentales a pesar de mostrar unos valores elevados en la osmolaridad plasmática con respecto a los grupos control no lesionados, no son capaces de liberar este exceso de sodio en orina.

En función de estos resultados, se podría hipotetizar que la disminución en el comportamiento polidipsico observada en los animales que reciben la administración periférica de oxitocina podría deberse a los efectos natriuréticos (excreción de sodio)

CAPÍTULO IV

que presenta esta hormona neurohipofisaria (Balment et al., 1980; Brooks et al., 1958; Brunner et al., 1956; Conrad et al., 1986; Forsling et al., 1994; Huang et al., 1995, 1996; Lichardus et al., 1973; O'Connor 1950; Peters et al., 1970; Sawyer, 1952; Sjoquist et al., 1993; Verbalis et al., 1991; Walter et al., 2000).

En este sentido, el presente estudio revela cómo los animales experimentales diabéticos tras recibir la administración (i.p) de oxitocina muestran mayores niveles de sodio en orina (8-24 horas después de la lesión) (fig. 8.7) que los sujetos del grupo control, una circunstancia que no se observa antes de la administración del péptido. Es más, los animales lesionados que son sometidos al tratamiento con oxitocina evidencian una mayor respuesta natriurética así como un incremento significativo en la osmolaridad urinaria (8-24 horas postlesión) que los sujetos diabéticos que reciben la infusión (i.p) de suero salino, y que curiosamente muestran una respuesta polidipsica superior (fig. 8.7).

Posteriormente, y una vez que los efectos de la oxitocina parecen decaer con el paso del tiempo, se puede observar como el grupo experimental (EM/OT) vuelve a mostrar un comportamiento hiperdipsico tan potente (48 horas postoperatorias) como el desarrollado por los animales que habían recibido la administración de suero salino isotónico (fig. 8.9 y 8.11).

En relación con esta cuestión, es un hecho bien documentado que las hormonas neurohipofisarias sintetizadas en los núcleos supraóptico y paraventricular hipotalámicos (entre las que se encuentra, la oxitocina) presentan una vida media muy corta en el organismo cuando son liberadas desde la hipófisis posterior al sistema circulatorio (Robertson, 1995).

La polidipsia observada a las 48 horas de la intervención quirúrgica puede obedecer fundamentalmente al intento por parte de los grupos lesionados (“oxitocina vs. suero fisiológico”) de reestablecer el serio problema volémico que presentan y que se refleja en una elevada pérdida de líquidos a través de la orina (ver experimentos 6B y 7).

En este sentido, tanto la administración del factor natriurético oxitocina en uno de los grupos experimentales (EM/OT), como el comportamiento polidíptico desarrollado por el otro grupo lesionado (EM/SF), podrían reducir de manera considerable los desequilibrios osmolares (hipernatremia) que pueden manifestar estos animales (ver experimento 7)(Baylis et al., 1998; Friedman et al., 1958, 1962; Hollinshead et al., 1964; Saborio et al., 2000).

Concretamente, en el caso del grupo experimental que es sometido a la intervención hormonal con oxitocina, se ha podido confirmar en el presente estudio que es capaz de mostrar una mayor respuesta natriurética que el grupo control no lesionado, lo que de alguna manera facilitaría un control más adecuado de los niveles de sodio en el organismo.

Por otra parte, la respuesta comportamental (polidipsia), mostrada por el grupo lesionado (EMSF) podría conllevar posiblemente una menor reabsorción de sodio a nivel renal (Palmieri et al., 1969; Rose, 1984), lo que implicaría una disminución en el grado de hipernatremia que presentan los animales diabéticos (ver experimento. 7).

Sin embargo, y a pesar de todas estas respuestas tanto fisiológicas como comportamentales manifestadas por los grupos diabéticos en un primer momento del experimento (primeras 24 horas postoperatorias), y que parecen tener como finalidad el hacer frente a las alteraciones hidrominerales ya comentadas, no se puede olvidar los severos problemas en la conservación de fluidos que presentan estos sujetos (ver experimentos 6B y 7).

Relacionado con esta apreciación, destaca el mayor consumo de C1Na hipertónico y de agua que muestran los animales experimentales con respecto a los grupos control no lesionados en el periodo 30-48 horas postoperatorio, a lo que habría que añadir el comportamiento hiperfágico desarrollado por los sujetos lesionados durante el mismo periodo (figs. 8.12 y 8.13). En efecto, conviene recordar que en situaciones de hipovolemia se produce la activación del sistema enzimático-

CAPÍTULO IV

humoral renina-angiotensina-aldosterona que promueve entre otras respuestas fisiológicas compensatorias la ingesta de agua y ClNa (Buggy et al., 1974; Fitzsimons, 1987, 1998; Johnson et al., 1997; Morien et al., 1999; Phillips, 1987; Rose, 1984; Shelat et al., 1998; Stricker et al., 1987).

En resumen, los resultados del presente experimento parecen confirmar que los cuadros de ingesta de líquidos tan elevados (polidipsia) que se observan durante el desarrollo de la diabetes insípida inducida por lesiones electrolíticas en la eminencia media, son causados por una serie de alteraciones hidrominerales que podrían ser disminuidas por la administración de hormonas neurohipofisarias, tanto vasopresina como oxitocina.

Esta interpretación se ve apoyada por los datos clínicos recientes que señalan que el tratamiento farmacológico de la diabetes insípida neurogénica con Pituitrin, un extracto de la hipófisis posterior que contiene vasopresina y oxitocina, genera una mejor repuesta regulatoria en los pacientes que desarrollan este trastorno diabético (Simmons, et al., 2002).

EXPERIMENTO 9

Efectos de la administración periférica (i.p) de oxitocina sobre la polidipsia tuberomamilar medial.

Cabe la posibilidad de que el elevado consumo de agua que se observa tras la lesión electrolítica de la región tuberomamilar medial pueda estar relacionada de una u otra forma con los mecanismos cerebrales implicados en el control de los niveles internos de sodio corporal (ver experimento 5), tal y como se desprende de las estrechas conexiones anatómicas existentes entre estos núcleos hipotalámicos y centros o zonas cerebrales encargados de controlar los niveles de este electrolito (Bealer et al., 1983, 1999; Hatton et al., 1998; Huang et al., 1995; McKinley et al., 1992; Moses et al., 1992; Panula et al., 1989; Pollard et al., 1976; Rowland, 1998; Voisin et al., 1999; Wells et al., 1990; Wilcox et al., 1982).

Prueba de ello son los casos de polidipsia documentados en seres humanos provocados por daño o lesiones en estructuras basales del cerebro (Blackburn et al., 1995; Bacic et al., 1999; Bries et al., 1998; Fitzsimons, 1979; Mellinger y Zafar, 1983; Robertson, 1987; Robertson 1995; Seckl et al., 1987) región en la que también se encuentran los núcleos tuberomamilares (Ericson et al., 1987, 1991; Inagaki et al., 1988; 1990; Köhler et al., 1986; Panula et al., 1984; Schwartz et al., 1991, 1994; Watanabe et al., 1984). Estos cuadros polidípsicos cursan con alteraciones en la osmolaridad plasmática y en los niveles de sodio corporal (Bacic et al., 1999; Iwasaki et al., 1991; Man et al., 1992; Robertson, 1987, 1995; Robinson et al., 1991; Seckl et al., 1992; Van der Post et al., 1997; Vonderer et al., 1999).

A estos argumentos iniciales, hay que añadir recientes trabajos experimentales que han demostrado que esta región del hipotálamo posterior mantiene conexiones con estructuras cerebrales implicadas en el control hidromineral y regulación de fluidos (Akins et al., 1990, 1993; Bealer et al., 1999; Ericson et al., 1987, 1991; Haas et al., 1977; Köhler et al., 1985; Kjaer et al., 1994, 1994, 1995; Knigge et al., 1999; Inagaki et al., 1988, 1990; Onodera et al., 1994; Panula et al.,

CAPÍTULO IV

1989; Saper et al., 1976, 1979; Smith et al., 1993, 1996; Watanabe et al., 1984; Weiss et al., 1989).

En efecto, diferentes estudios anatómicos han señalado la existencia de una estrecha relación entre el sistema tuberomamilar y regiones cerebrales (p.e. SON, PAV, OVLT, etc) implicadas en la detección de cambios o alteraciones en la osmolaridad plasmática (Akins et al., 1993; Denton et al., 1999; Ericson et al., 1991; Haas et al., 1975, 1977; Inagaki et al., 1988, 1990; Kjaer et al., 1994, 1994; Knigge et al., 1999; Köhler et al., 1985; Kraly et al., 1995; Saper et al., 1976, 1979; Schwartz et al., 1991; Weiss et al., 1989).

Así por ejemplo, la estimulación eléctrica de las células tuberomamilares generó potenciales excitadores monosinápticos en neuronas supraópticas del hipotálamo (Hatton et al., 1998; Kjaer et al., 1994; Smith et al., 1993, 1996; Weiss et al., 1989) que en algunos casos incrementaron su actividad en más del 200% en comparación con las células de los animales (ratas) no estimuladas (Hatton et al., 1998). Resultados similares fueron observados en las neuronas neurosecretoras del núcleo paraventricular (Schwartz et al., 1991).

Estas observaciones están en concordancia con los datos obtenidos utilizando métodos farmacológicos. Así, se ha podido demostrar que la histamina (un neurotransmisor sintetizado exclusivamente en el núcleo tuberomamilar) o fármacos que la potencian, desarrollan expresión de c-fos en neuronas magnocelulares hipotalámicas del SON y PAV (Bealer et al., 1999; Kjaer et al., 1994, 1994, 1995; Knigge et al., 1999; Nakamura et al., 1996) provocando un aumento rápido en los niveles de vasopresina y oxitocina plasmáticos de los animales, que son las responsables de alguna de las respuestas correctoras ante diferentes desequilibrios osmóticos (Bealer et al., 1999; Brown et al., 2001; Kjaer et al., 1994, 1994, 1995; Knigge et al., 1999; Schwartz et al., 1991; Weiss et al., 1989).

Por otra parte y como cabría esperar, el bloqueo farmacológico de las terminales tuberomamilares produce un descenso significativo en la secreción de las

hormonas neurohipofisarias vasopresinérgicas (Kjaer et al., 1994, 1995; Knigge et al., 1994) y oxitocinérgicas (Bastos et al., 2001; Bealer et al., 1999; Bourque et al., 1994; Chiriguer et al., 2001; Cunningham et al., 1991; Gutkowska et al., 1997; Huang et al., 1999; Hussy et al., 2000; Kjaer et al., 1995; Lightman, 1990; Miyata et al., 2001; Robertson, 1983; Soares et al., 1999; Verbalis et al., 2000; Voisin et al., 1999; Wakerley, 1987).

En resumen, estos resultados parecen sugerir que una serie de irregularidades en los valores osmolares plasmáticos, donde el sodio ocupa un papel fundamental (Bie et al., 2000; Fitzsimons, 1998; Johnson et al., 1997; McKinley et al., 1983; Robertson, 1982, 1983; Robertson et al., 1995; Rose, 1984; Saltmarsh, 2001) pueden tener una cierta relevancia en la ingesta elevada de agua observada en los animales con lesión electrolítica en los núcleos tuberomamilaes (ver exp. 1 y 5).

De ser así, cabría esperar que la administración periférica del factor natriurético hipofisario, oxitocina, que podría paliar en cierto modo las alteraciones hipernatémicas ya comentadas (véase experimento anterior), produjese un descenso significativo en la polidipsia tuberomamilar.

Con el objetivo de tratar de examinar estas cuestiones se realizó el presente experimento, en el cual se incluye un estudio sobre la composición electrolítica de la orina (centrándonos en los niveles de sodio) así como del grado de concentración de la misma (osmolaridad).

CAPÍTULO IV

Método.

Sujetos.

Se utilizaron 22 ratas macho de la cepa Wistar, suministradas por el servicio de experimentación de la Comisión de servicios técnicos de la Universidad de Granada, y cuyo peso al principio del estudio oscilaba entre 265-340 gramos. A su llegada al laboratorio, los animales fueron mantenidos en las mismas condiciones de los experimentos previos, es decir, con comida y agua ad libitum hasta el momento de la intervención quirúrgica.

Procedimiento Quirúrgico.

Dadas las similitudes morfológicas, neuroanatómicas (Ericson et al., 1987; Schwartz et al., 1991; Watanabe et al., 1984) y funcionales (ver capítulos I y II) observadas entre los núcleos tuberomamilares mediales (E3 y E4), se ha optado en este estudio y con el objetivo de simplificar los resultados, por centrarse exclusivamente en el grupo tuberomamilar medial ventral E3.

El procedimiento quirúrgico empleado para lesionar dicha región anatómica fue idéntico al descrito en los capítulos I y II. En cuanto a los grupos controles (lesión ficticia) el procedimiento fue similar al de los animales lesionados, excepto que el electrodo sólo alcanzó la parte más dorsal del E3 sin introducirse en el núcleo, y que no se pasó corriente eléctrica alguna.

Procedimiento Experimental.

Inicialmente, los 22 animales fueron asignados de forma aleatoria a uno de los grupos experimentales o control, quedando distribuidos de la siguiente forma: grupo experimental E3 “oxitocina” (E3OT)(n=6); grupo control E3 “oxitocina” (GCOT)(n=5); grupo experimental E3 “suero fisiológico” (E3SF)(n=6); grupo control E3 “suero fisiológico” (GCSF)(n=5).

El registro de la cantidad de agua y comida ingerida en la fase preoperatoria se realizó de forma idéntica a la descrita en los capítulos anteriores.

Transcurridas 8 horas después de la intervención quirúrgica, los animales recibieron un tratamiento específico (administración periférica (i.p) de oxitocina y suero fisiológico) en función del grupo al que pertenecían (ver cuadro).

En este sentido, los animales que fueron asignados al grupo experimental E3/OT y grupo control (CE3/OT) recibieron la administración periférica (i.p/1c.c) de la hormona neurohipofisaria (Oxitocina, Lab. Iven, 22microg/Kg). El mismo procedimiento aconteció con el resto de los animales del experimento (grupo experimental E3/SF y grupo control E3/SF), si bien en este caso, el tratamiento consistió en la administración (i.p/1c.c) de suero salino isotónico (Apiroserum, Lab. Ybis. Madrid).

Con el objetivo de tratar de estudiar el desarrollo y progresión del comportamiento polidíptico de los diferentes animales del experimento (efecto lesión), se registró la ingesta de agua de cada animal 8 horas después de la intervención quirúrgica. Asimismo, el efecto de la variable tratamiento (oxitocina vs. suero fisiológico) sobre la conducta consumatoria tuberomamilar se cuantificó 16 horas después de la administración intraperitoneal coincidiendo con las primeras 24 horas postoperatorias (periodo 8-24 horas postlesión).

Por otra parte, y siguiendo con el mismo planteamiento anterior, se registró el volumen total de orina excretado por los diversos grupos durante los periodos ya reseñados (8 y 24 horas respectivamente). Asimismo, con el objetivo de evaluar la posible implicación del factor endocrino hipofisario (oxitocina) en la regulación hidromineral se cuantificaron los niveles de sodio en la orina (8 y 24 horas) y su grado de concentración (8 y 24 horas) en todos los animales del experimento. Para ello, los animales una vez intervenidos quirúrgicamente permanecieron durante este tiempo (primeras 24 horas postoperatorias) en jaulas metabólicas (Tecniplast 3701MO-000) las cuales, mediante un sistema de filtrado permiten recoger la orina

CAPÍTULO IV

libre de impurezas (restos de heces, serrín, comida, etc) para su posterior procesamiento.

La concentración de sodio en la muestra de orina se determinó mediante un analizador automático (Beckman Instruments, Synchron CX3 Delta, USA), calculándose la excreción resultante de la siguiente manera:

$$U_{Na}V = [Na]_U \times D/1000,$$

Donde, $U_{Na}V$: excreción urinaria de sodio (mEq/l); $[Na]_U$: concentración urinaria de sodio (mosmol/Kg); D: diuresis (ml).

Por lo que se refiere a la determinación de la osmolaridad urinaria, se llevó a cabo mediante un osmómetro automático basado en técnicas de crioscopia (Osmostat OM-6020, Kyoto-Japón).

En cualquier caso, es necesario indicar que en todo momento los sujetos experimentales así como sus respectivos controles estuvieron privados de alimento.

Finalmente, y una vez transcurridas las primeras 24 horas de la fase experimental, los animales fueron devueltos a sus jaulas individuales (ver cap.I) donde se les ofreció simultáneamente y en dos botellas separadas, una solución salina hipertónica (1.5%) y otra de agua desmineralizada, de forma que pudiesen elegir libremente de una u otra indistintamente. En este caso, se registró el volumen total consumido de cada una de las 2 opciones posibles con la finalidad de comprobar si la manipulación experimental llevada a cabo en el primer día (periodo 8-24 horas postoperatorio) podría tener alguna repercusión sobre las conductas regulatorias estudiadas (ingesta de líquido).

En todos los casos, los registros se efectuaron en 2 momentos del día diferentes (a las 30 y 48 horas postoperatorias), matizando que en la primera situación (periodo 24-30 horas postlesión) los animales todavía se encontraban

privados de alimento. Una vez llevada a cabo dicha medida, todos los sujetos volvieron a disponer de comida ad libitum en sus jaulas, por lo que también se analizó el comportamiento nutritivo de todos los sujetos en el periodo 30-48 horas después de la intervención quirúrgica.

Análisis Estadístico.

De la misma forma que en los experimentos previos, se empleó un Anova no paramétrico de Kruskal Wallis (grupos independientes) con el objetivo de analizar las posibles diferencias en las variables estudiadas entre todos los grupos experimentales y control para cada uno de los registros o medidas efectuadas.

En el caso de confirmarse el efecto global en alguna de estas variables, se pasaba a realizar un análisis más detallado. Para ello, se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov con el objetivo de evaluar las diferencias entre los grupos lesionados y sus respectivos controles, y entre los diferentes grupos experimentales entre sí en cada uno de los registros o medidas efectuadas.

Asimismo, se utilizó un Anova de Friedman (análisis intragrupo) con el objetivo de analizar las posibles diferencias en cada uno de los momentos evaluados para cada grupo experimental y control. En el caso de obtener efectos significativos en el análisis global de estas conductas se pasaba a un nivel de análisis más detallado. Concretamente, y mediante la prueba de Wilcoxon, se realizaron comparaciones entre las puntuaciones obtenidas en los diferentes periodos de la secuencia experimental para cada uno de los 4 grupos del experimento.

Histología.

Se realizó, siguiendo el procedimiento descrito en el capítulo I.

CAPÍTULO IV

Resultados.

INGESTA DE LÍQUIDOS.

Una vez realizada la intervención quirúrgica, los animales difieren en el consumo de agua en cada una de las condiciones evaluadas {**8 horas** $H(3,22) = 15,90$, $p = .0012$; **8-24 horas** $H(3,22) = 15,70$, $p = .0013$; **24-30 horas** $H(3,22) = 13,19$, $p = .0042$; **30-48 horas** $H(3,22) = 17,56$, $p = .0005$ } (figs. 9.1, 9.5, 9.9 y 9.11).

Así por ejemplo, se puede observar una mayor ingesta de agua por parte de los animales tuberomamilares (oxitocina/suero fisiológico) respecto a los grupos controles en las primeras 8 horas postoperatorias {**E3OT vs GCOT** $D(6,5) = 1,00$, $p < .01$ } {**E3SF vs. GCSF** $D(6,5) = 1,00$, $p < .01$ } (fig. 9.1).

El análisis entregrupos no reveló diferencias significativas en el consumo de agua entre los grupos lesionados.

Una vez incluida la variable tratamiento, los resultados cambian drásticamente ya que la administración periférica (i.p) de la hormona neurohipofisaria “oxitocina” en el grupo tuberomamilar medial ventral E3 provoca que las diferencias en la ingesta de agua respecto al grupo control no lesionado no sean ahora significativas (periodo 8-24 horas postoperatorias) {**E3OT vs. GCOT** $D(6,5) = .50$, $p = n.s$ } (fig. 9.5).

Conviene destacar el descenso en la ingesta de agua mostrado por el grupo experimental “oxitocina” en 16 horas (8-24 horas postlesión) respecto a la condición anterior (primeras 8 horas postoperatorias) {**E3OT (8-24 horas vs. 8 horas)** $Z = 2,20$, $p = .02$ (60,33cc vs. 23,33 cc) y que no se llega a producir ni en los animales pertenecientes al grupo control (que incluso muestran un incremento significativo en la ingesta), ni en el grupo lesionado que recibe la administración periférica de suero fisiológico {**GCOT (8-24 horas vs. 8 horas)** $Z = 2,02$, $p = .04$ (10,00 cc vs. 18,60

cc) {E3SF (**8-24 horas vs. 8 horas**) $Z = 1,15$, $p = .24$ (63,83 cc vs. 67,66 cc). Es más, los animales con lesión electrolítica en la región tuberomamilar medial ventral E3 en la condición suero fisiológico, siguen manteniendo una elevada respuesta polidípica (8-24 horas) respecto a los sujetos del grupo control no lesionado {E3SF vs. CE3SF $D(6,5) = 1,00$, $p < .01$ } (fig. 9.5).

Por lo que respecta a las comparaciones efectuadas entre los grupos experimentales, los animales que reciben la administración i.p de oxitocina ingieren una menor cantidad de agua que los animales tuberomamilares que reciben la infusión de la solución salina isotónica {E3OT vs. E3SF $D(6,6) = .00$, $p < .005$ }, una circunstancia que no fue observada en los grupos control no lesionados {GCOT vs. GCSF $D(5,5) = .80$, $p = n.s$ } (fig. 9.5).

En el 2° día del experimento (24-30 y 30-48 horas), todos los animales pertenecientes a los grupos experimentales mostraron mayores ingestas de agua respecto a los sujetos del grupo control, excepto el grupo tuberomamilar “suero fisiológico” que no evidenció estas diferencias cuando la medición fue realizada a las 30 horas postoperatorias {E3OT vs. GCOT $D(6,5) = 1,00$, $p < .01$ (**24-30 y 30-48 horas**)} {E3SF vs. GCSF $D(6,5) = .33$, $p = n.s$ (30 horas), $D(6,5) = 1,00$, $p < .01$ (**30-48 horas**)} (figs. 9.9 y 9.11).

El análisis estadístico entregrupos reflejó que el grupo lesionado que recibió la administración intraperitoneal de suero fisiológico tomó menor cantidad de agua durante un periodo de ingesta de 6 horas (24-30 horas postoperatorias) que el grupo experimental E3 “oxitocina” {E3OT vs. E3SF $D(6,5) = 1,00$, $p < .005$ (**24-30 horas**)}, una circunstancia que no fue observada en las comparaciones efectuadas entre los animales pertenecientes a los grupos control {GCOT vs. GCSF $D(5,5) = .40$, $p = n.s$ } (fig. 9.9).

Hay que significar que en estas condiciones (24-30 y 30-48 horas postoperatorias), todos los animales tuvieron la posibilidad de (además del agua) ingerir una solución salina hipertónica (1,5%). En este sentido, el análisis estadístico

CAPÍTULO IV

de los datos señaló que el grupo tuberomamilar “oxitocina” muestra una mayor preferencia por la solución salina hipertónica en alguna de las mediciones efectuadas (30 y 48 horas) respecto al grupo control {**E3OT vs. GCOT** $D(6,5) = .83, p < .05$ (30 horas); $D(6,5) = 1,00, p < .01$ (**30-48 horas**)} y a los animales que tienen la misma lesión, pero a los cuales se les administra suero fisiológico {**E3OT vs. E3SF** $D(6,6) = .83, p < .05$ (**24-30 horas**); $D(6,6) = 1,00, p < .005$ (**30-48 horas**) (figs. 9.10 y 9.12)}.

VOLUMEN DE ORINA A LAS 8 HORAS.

El análisis global de la cantidad de orina excretada por parte de los grupos experimentales y controles reveló diferencias significativas entre ellos, 8 horas después de la intervención quirúrgica { $H(3,22) = 15,82, p = .0012$ }(fig. 9.2).

A pesar del corto periodo de tiempo transcurrido tras las lesiones electrolíticas, los animales experimentales (oxitocina/suero fisiológico) excretaron una mayor cantidad de orina que los sujetos del grupo control {**E3OT vs. GCOT** $D(6,5) = 1,00, p < .01$ }{**E3SF vs. GCSF** $D(6,5) = 1,00, p < .01$ }(fig. 9.2).

Por otro lado, el análisis entregrupos no reflejó diferencias significativas en el volumen de orina entre los grupos lesionados.

VOLUMEN DE ORINA A LAS 24 HORAS (Periodo 8-24 Horas Postoperatorio).

El análisis estadístico de los datos mostró diferencias significativas en el volumen de orina excretado por los grupos lesionados y controles, transcurridas 16 horas después de la administración intraperitoneal (oxitocina vs. suero fisiológico) (periodo 8-24 horas postlesión) { $H(3,22) = 15,10, p = .0017$ }(fig. 9.6).

Los resultados observados difieren en gran medida de los comentados anteriormente (8 horas postoperatorias). Mientras que los animales experimentales “suero fisiológico” continúan desarrollando una respuesta diurética significativamente superior que los sujetos control { **E3SF vs. GCSF** $D(6,5) = 1,00, p < .01$ }, el grupo lesionado que recibe la administración periférica de oxitocina no excretó un mayor volumen de orina que el grupo control no lesionado { **E3OT vs. GCOT** $D(6,5) = .66, p = n.s$ }(fig. 9.6).

Sin embargo, el análisis entregrupos no llegó a alcanzar diferencias significativas en la respuesta diurética entre los grupos experimentales.

NIVELES DE SODIO EN ORINA A LAS 8 HORAS.

El análisis estadístico no paramétrico entregrupos no reveló diferencias significativas en los niveles de sodio urinario entre los grupos experimentales y controles, y entre los grupos lesionados entre sí, 8 horas después de la intervención quirúrgica { $H(3,22) = 2,01, p = .5690$ }(fig. 9.3).

CAPÍTULO IV

NIVELES DE SODIO EN ORINA A LAS 24 HORAS (Periodo 8-24 Horas Postoperatorio).

Transcurridas 16 horas desde la administración intraperitoneal (oxitocina vs. suero fisiológico), se observan diferencias significativas entre los grupos experimentales y grupos controles en general en la respuesta natriurética durante el periodo 8-24 horas postoperatorio { $H(3,22) = 11,57, p = .0090$ }(fig. 9.7).

Las comparaciones entre los diferentes grupos lesionados y sus respectivos grupos control no revelaron diferencias significativas en los niveles de sodio urinario, si bien se produce una mayor pérdida de sodio en orina por parte del grupo lesionado E3OT con respecto a los animales pertenecientes a su grupo control {**E3OT vs. GCOT** $D(6,5) = .80, p = n.s (1.68 vs .75)$ }{**E3SF vs. GCSF** $D(6,5) = .00, p = n.s (.47 vs. .59)$ (fig. 9.9)}.

Por otra parte, analizando las comparaciones entre los animales lesionados, se observa una mayor respuesta natriurética en el grupo experimental que recibe la administración periférica de la hormona neurohipofisaria (oxitocina) que en los animales experimentales que son sometidos al tratamiento de suero salino isotónico {**E3OT vs. E3SF** $D(6,6) = 1,00, p < .01$ (fig. 9.9)}.

OSMOLARIDAD URINARIA A LAS 8 HORAS.

Por lo que respecta a la osmolaridad urinaria de los grupos experimentales y control, se observaron diferencias significativas, 8 horas después de la intervención quirúrgica { $H(3,22) = 15,71, p = .0013$ }(fig. 9.4).

Los principales resultados en esta condición experimental pueden resumirse de la siguiente manera:

En primer lugar, hay que señalar que todos los animales lesionados (oxitocina/suero fisiológico) mostraron una menor concentración de la orina que sus respectivos grupos control {**E3OT vs. GCOT** $D(6,5) = .00, p < .01$ }{**E3SF vs. CGSF** $D(6,5) = .00, p < .01$ }(9.4).

Por su parte, el análisis de los datos no reveló diferencias significativas en los niveles de osmolaridad urinaria entre los grupos experimentales.

OSMOLARIDAD URINARIA A LAS 24 HORAS (Periodo 8-24 Horas Postoperatorio).

Una vez más, las comparaciones realizadas entre los grupos lesionados y controles en general, evidencian diferencias significativas en la osmolaridad urinaria, durante el periodo comprendido entre las 8 y 24 horas después de las lesiones electrolíticas { $H(3,22) = 13,23, p = .0042$ } (fig. 9.8).

Sin embargo, el análisis entregrupos mostró una menor concentración urinaria solamente en los grupos experimentales que recibieron la administración de suero salino isotónico con respecto a su grupo control {**E3SF vs. GCSF** $D(6,5) = .00, p < .01$ }. Por su parte, los animales pertenecientes a los grupos lesionados que reciben la administración intraperitoneal de oxitocina no mostraron diferencias significativas en los niveles de osmolaridad urinaria con respecto al grupo control no lesionado, transcurridas 16 horas desde la administración (periodo 8-24 horas postlesión) {**E3OT vs. GCOT** $D(6,5) = .33, p = n.s$ (fig. 9.8)}.

Estos resultados se confirman a la hora de realizar las comparaciones entre los diferentes grupos experimentales, donde se observa que aquellos animales que recibieron la administración de la hormona neurohipofisaria “oxitocina” presentan una mayor osmolaridad en la orina que los que recibieron la inyección de suero fisiológico {**E3OT vs. E3SF** $D(6,6) = 1,00, p < .005$ (fig. 9.8)}.

CAPÍTULO IV

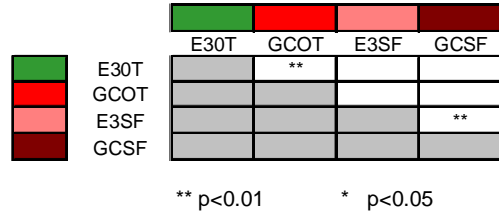
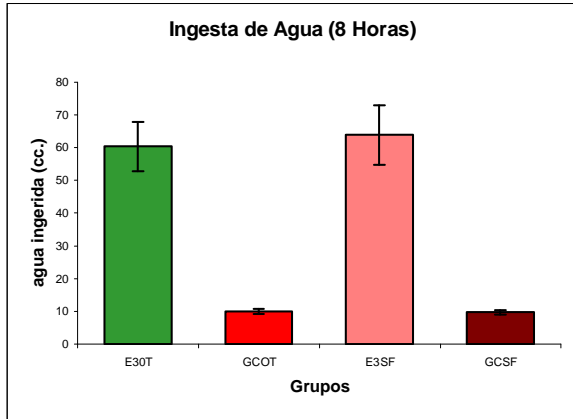


Figura 9.1: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante las primeras **8 horas** postoperatorias.

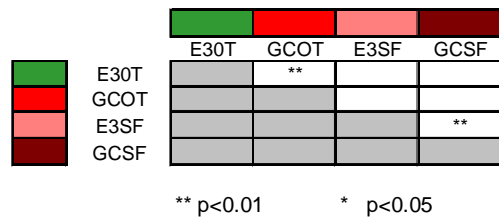
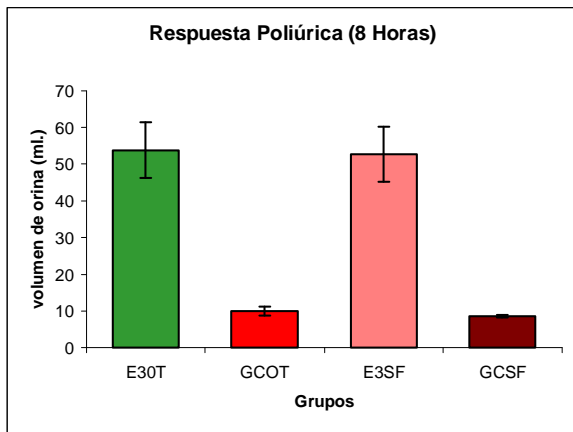


Figura 9.2: Cantidades medias obtenidas en el volumen de orina excretado por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante las primeras **8 horas** postoperatorias.

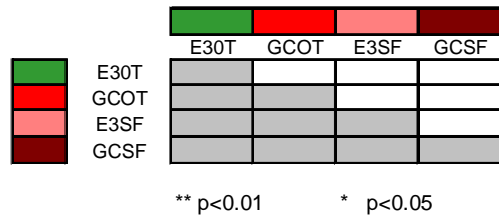
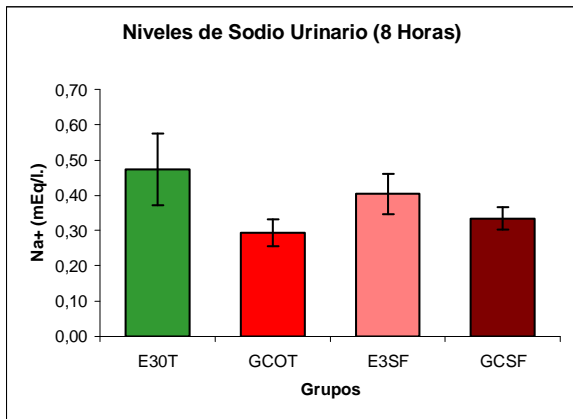


Figura 9.3: Cantidades medias obtenidas en los niveles de sodio urinario por los diferentes grupos experimentales grupos control durante las primeras **8 horas** postoperatorias.

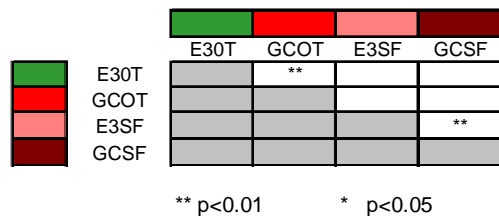
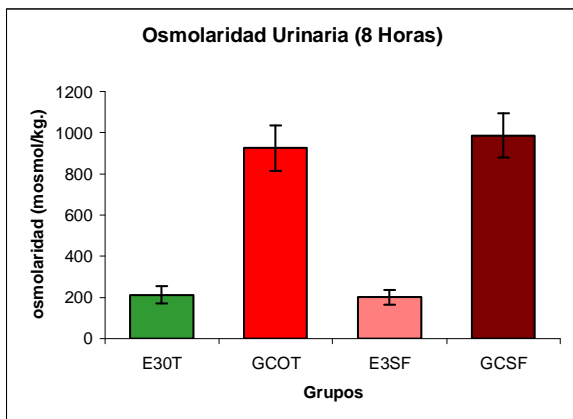


Figura 9.4: Cantidades medias en la osmolaridad urinaria reflejadas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante las primeras **8 horas** postoperatorias.

EXPERIMENTO 9

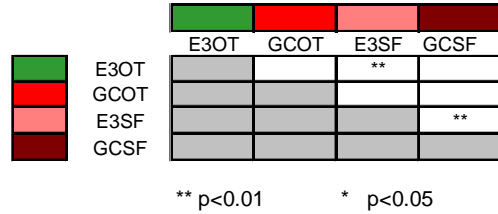
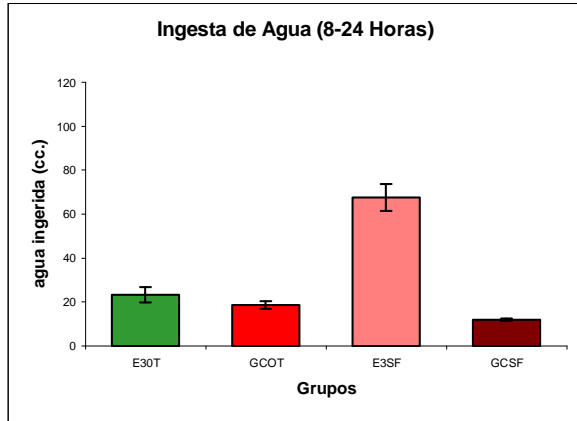


Figura 9.5: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **8-24 horas** postoperatorias.

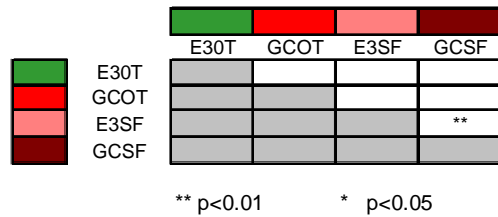
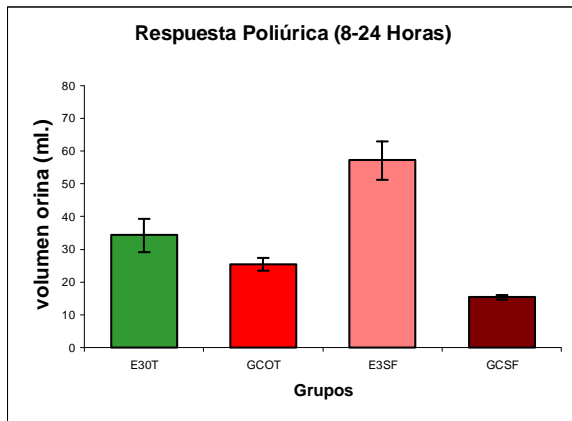


Figura 9.6: Cantidades medias obtenidas en el volumen de orina excretado por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **8-24 horas** postoperatorias.

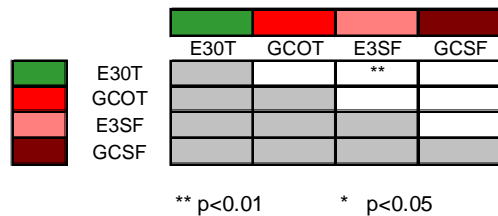
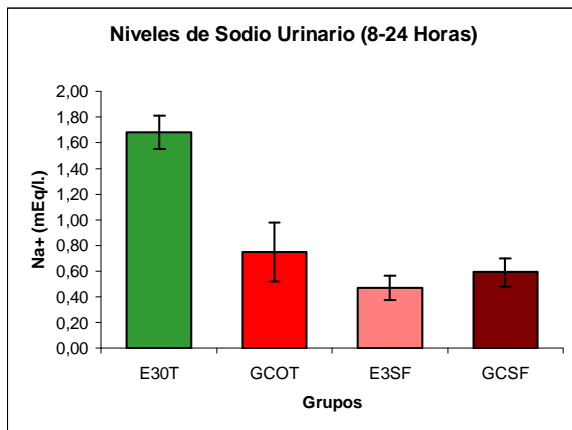


Figura 9.7: Cantidades medias obtenidas en los niveles de sodio urinario por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **8-24 horas** postoperatorias.

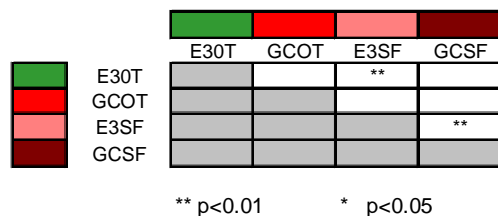
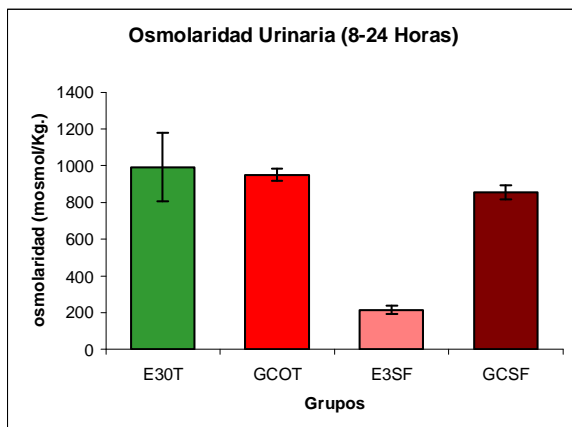
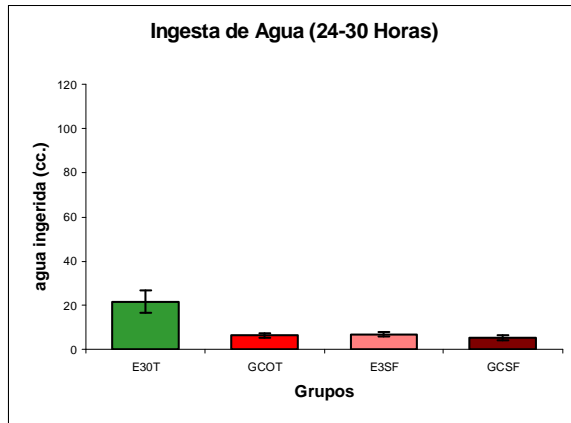


Figura 9.8: Cantidades medias en la osmolaridad urinaria reflejadas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **8-24 horas** postoperatorias.

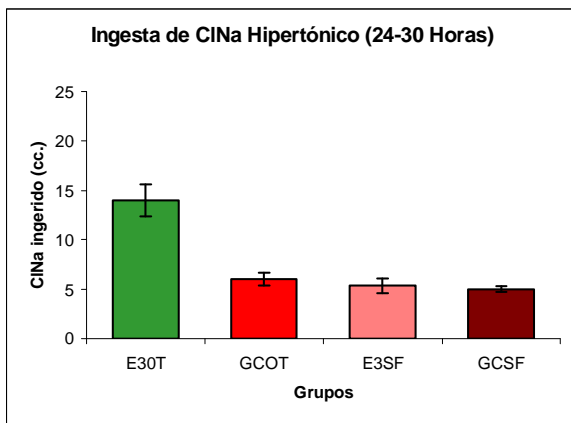
CAPÍTULO IV



	E30T	GCOT	E3SF	GCSF
E30T		**	**	
GCOT				
E3SF				
GCSF				

** p<0.01 * p<0.05

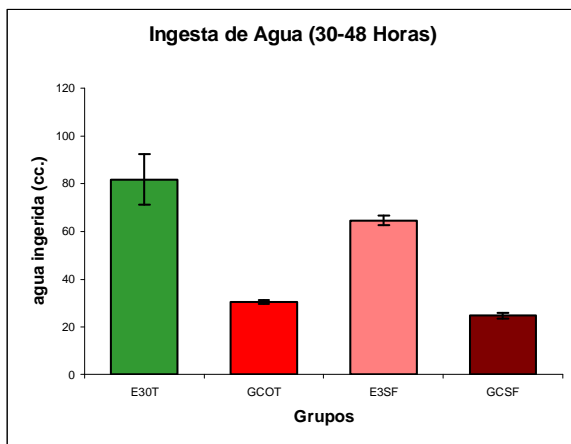
Figura 9.9: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **24-30 horas** postoperatorias.



	E30T	GCOT	E3SF	GCSF
E30T		*	*	
GCOT				
E3SF				
GCSF				

** p<0.01 * p<0.05

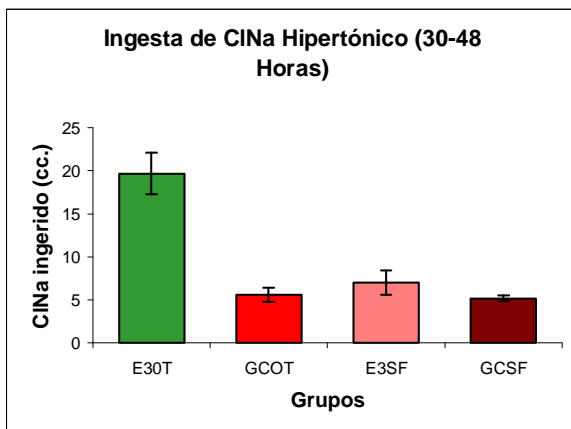
Figura 9.10: Cantidades medias obtenidas en la ingesta de C1Na hipertónico por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **24-30 horas** postoperatorias.



	E30T	GCOT	E3SF	GCSF
E30T		**		
GCOT				
E3SF				**
GCSF				

** p<0.01 * p<0.05

Figura 9.11: Cantidades medias de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **30-48 horas** postoperatorias.



	E30T	GCOT	E3SF	GCSF
E30T		**	**	
GCOT				
E3SF				
GCSF				

** p<0.01 * p<0.05

Figura 9.12: Cantidades medias obtenidas en la ingesta de C1Na hipertónico por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **30-48 horas** postoperatorias.

INGESTA DE COMIDA (Periodo 30-48 Horas Postoperatorio).

En cuanto a la ingesta de alimento, no se observaron diferencias significativas globales entre los grupos lesionados y controles, 48 horas después de la intervención quirúrgica (periodo 30-48 horas postoperatorio) { $H(3,22) = 4,22, p = .2385$ } (ver tablas) (fig. 9.13).

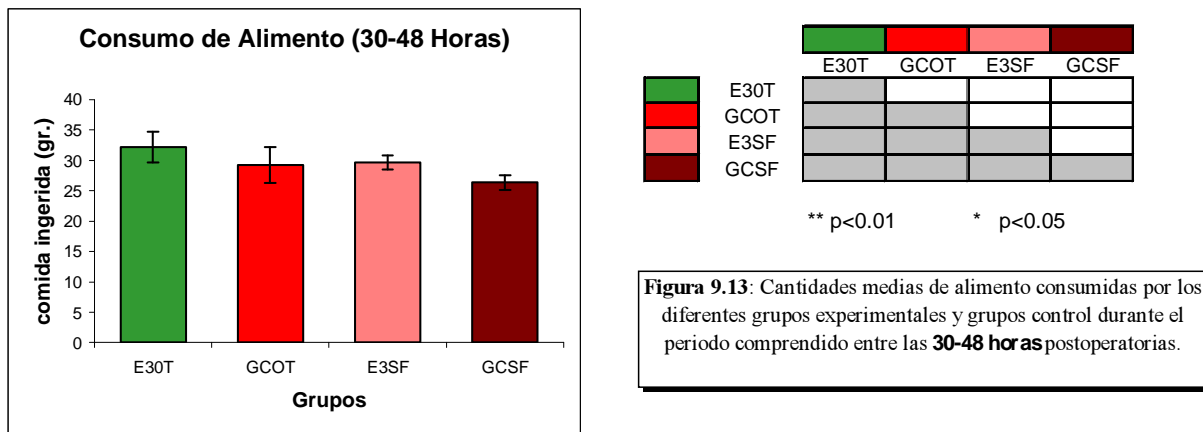


Figura 9.13: Cantidades medias de alimento consumidas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo comprendido entre las **30-48 horas** postoperatorias.

Discusión.

Los resultados del presente trabajo experimental ponen de manifiesto que las lesiones electrolíticas de la región tuberomamilar ventral medial (E3) provocan una respuesta polidíptica potente e inmediata (primeras 8 horas postoperatorias) (ver exp. 1 y 5) (fig. 9.1) que precede en la mayoría de los periodos evaluados a la repuesta poliúrica (datos observados en nuestro laboratorio, no presentados).

En relación con este punto, conviene recordar que los animales tuberomamilaes mediales, aun siendo polidípticos, son capaces de distribuir su ingesta a lo largo del día de forma semejante a los sujetos control no lesionados (ver exp.2) (Morales et al., 1986), una circunstancia que no fue observada en el grupo diabético (lesión electrolítica anódica en la eminencia media), donde la ritmicidad

CAPÍTULO IV

nocturna/diurna en la ingesta de agua se ve profundamente afectada después del daño cerebral.

Hasta el momento, y aunque se disponen de abundantes datos anatómicos y neurofisiológicos, se desconocen cuáles pueden ser las causas que provocan esta ingesta elevada de líquidos en los animales tuberomamilaes, si bien no parece estar relacionada con factores de carácter no homeostático (por ejemplo, consumo prandial de agua (ver exp. 3).

No se puede descartar la posibilidad de que la región tuberomamilar pueda estar involucrada en la regulación hidromineral de los fluidos internos, tal y como se desprende de los resultados obtenidos en la presente Tesis Doctoral, que muestran que las lesiones electrolíticas de los núcleos tuberomamilaes mediales pueden producir una alteración en los mecanismos regulatorios de sodio en el organismo, y cuya consecuencia comportamental se manifieste en una elevada ingesta de agua (ver exp.5).

En este sentido, hay que destacar el incremento en la actividad celular del grupo tuberomamilar medial observado en situaciones de expansión de volumen extracelular, que como se sabe correlacionan con valores elevados de sodio corporal (Luckman et al., 1997).

Esta circunstancia, podría estar relacionada con las características morfológicas y anatómicas de las neuronas tuberomamilaes, con sus amplias ramificaciones dendríticas extendiéndose por la capa ependimal de la superficie ventral del cerebro y receso mamilar, y que les permiten acceder a los cambios o variaciones osmolares producidas en el organismo (Ericson et al., 1987; Reiner et al., 1987; Watanabe et al., 1984).

En relación con esta cuestión, varios autores han propuesto la existencia de una serie de sensores o receptores de sodio en la vecindad de la pared del III ventrículo, y en contacto directo con el líquido cefalorraquídeo que serían activados

ante los incrementos en la tonicidad plasmática (Anderson y Olsson, 1973; Fitzsimons, 1998; Rowland, 1998).

Recientemente, una serie de estudios neurofisiológicos, neuroquímicos y anatómicos han puesto de manifiesto una estrecha relación entre el sistema tuberomamilar y zonas o regiones cerebrales implicadas en la detección y control de cambios o alteraciones en la osmolaridad plasmática, donde el sodio ocupa un papel fundamental (Bealer et al., 1999; Brown et al., 2001; Akins et al., 1993; Denton et al., 1999; Ericson et al., 1991; Hatton et al., 1998; Huang et al., 1995; Johnson et al., 1997; Kjaer et al., 1994, 1994, 1995; Knigge et al., 1999; Kraly et al., 1995; McKinley et al., 1994; Oliet y Bourque, 1993; Rowland, 1998; Sladek et al., 1994; Voisin et al., 1999).

En esta misma línea, se ha constatado que una serie de lesiones o daños cerebrales localizados en la parte basal del cerebro y/o zonas hipotalámicas adyacentes al III ventrículo (la misma región donde se encuentran los núcleos tuberomamilares) (Brown et al., 2001; Ericson et al., 1987, 1991; Köhler et al., 1986) provocan importantes desequilibrios en los niveles internos de sodio en el organismo (Bacic et al., 1999; Cort, 1963; Fitzsimons, 1979; Hennesy et al., 1977; Morales et al., 1986; Natcheff et al., 1975; Price et al., 2000; Saborio et al., 2000; Vonderren et al., 1999), originándose en muchos casos la aparición de cuadros polidípsicos tanto en seres humanos como animales (Bacic et al., 1999; Blackburn et al., 1995; Grossman et al., 1963; Fitzsimons, 1979; Hennesy et al., 1977; Morales et al., 1986; Robetson, 1987, 1995; Seckl et al., 1987; Sclafani et al., 1969; Tejedor del Real et al., 1972; Van der Post et al., 1997; Vonderren et al., 1999).

En este sentido, los trabajos experimentales llevados a cabo en nuestro laboratorio por Morales y Puerto (1988), utilizando lesiones electrolíticas de la región mamilar, desarrollan una marcada polidípsia que fue interpretada en términos de alguna alteración en la regulación hidromineral de los fluidos internos, dada la respuesta diferencial en la ingesta de agua observada en el grupo mamilar respecto al

CAPÍTULO IV

grupo control no lesionado tras la administración periférica (i.p) de una solución hipertónica de ClNa.

Ahora, el presente estudio viene a confirmar y a extender los resultados obtenidos en aquella investigación.

En efecto, tal y como había sucedido en el estudio con animales diabéticos (exp. 8), la administración periférica (i.p) de la hormona neurohipofisaria oxitocina en el grupo tuberomamilar medial, (8 horas después de la intervención quirúrgica), disminuye de forma significativa la polidipsia de estos animales respecto a las condiciones evaluadas anteriormente (a pesar de tratarse de un periodo de 16 horas), hasta tal punto que no se producen respuestas diferenciales en la ingesta de agua con respecto al grupo control no lesionado (periodo 8-24 horas postlesión) (ver fig. 9.5).

Estos resultados no se observan en los animales tuberomamilares que reciben la administración (i.p) de una solución salina isotónica, y que mantienen su patrón polidíptico. Es más, el consumo de agua del grupo tuberomamilar medial “suero fisiológico” es significativamente superior al manifestado por los animales experimentales que presentan el mismo daño cerebral, pero que reciben la administración periférica (i.p) de oxitocina, a pesar de no existir diferencias significativas entre ambos grupos en el volumen de orina excretado (fig. 9.5).

Estas respuestas diferenciales en la ingesta de agua entre los grupos lesionados del presente experimento, no pueden ser explicadas por un efecto aversivo del tratamiento neuroendocrino (oxitocina) como sugieren algunos autores (se ha observado un incremento en los niveles de oxitocina plasmáticos en los animales que han sido sometidos a un aprendizaje aversivo-gustativo, fenómeno en el cual una sustancia novedosa (sabor) es asociada con una sensación gastrointestinal desagradable provocada por la administración de un producto aversivo (CILI, sulfato de cobre, CCK, etc)(Verbalis et al., 1991).

En efecto, los animales pertenecientes al grupo control que reciben la administración periférica de oxitocina (8 horas postlesión) no muestran ese descenso tan acusado en la ingesta de agua en el periodo comprendido entre las 8 y 24 horas postoperatorias respecto a los sujetos del grupo control que reciben la infusión (i.p) de la solución salina. Es más, la administración de la hormona neurohipofisaria provocó un consumo de líquidos significativamente mayor en este mismo intervalo de tiempo en el grupo control respecto a las primeras 8 horas postoperatorias (no recibían la administración de oxitocina), una circunstancia que no se llega a observar en los animales del grupo control que reciben la infusión de suero salino isotónico (figs. 9.1 y 9.5).

En relación con esta observación, cada vez se disponen de un mayor número de datos que sugieren la implicación de los péptidos neurohipofisarios (principalmente oxitocina) en la regulación hídrica y excreción de ClNa en vertebrados (ver experimento anterior) (Bealer et al., 1999; Bourque et al., 1994; Chiriguer et al., 2001; Fitzsimons, 1998; Huang et al., 1999; Murphy et al., 1998; Pierson et al., 1995; Randolph et al., 1998; Shojo et al., 2000; Soares et al., 1999; Verbalis et al., 2000; Voisin et al., 1999; Walter et al., 2000).

Es por ello, por lo que algunos investigadores sugieren que la respuesta oxitocinérgica puede representar un sistema de reacción ante los incrementos de sodio extracelular y osmolaridad (Balment et al., 1980; Edwards et al., 1984; Jones et al., 1969; Kjaer et al., 1995; McKinley et al., 1983).

En este sentido, diversos estudios han comprobado que la administración de antagonistas oxitocinérgicos inhibe la excreción de sodio renal (Balment et al., 1986; Cort, 1963; Huang et al., 1995, 1996; Walter et al., 2000) mientras que la función natriurética puede ser restituida mediante infusiones de oxitocina (Huang et al., 1995; Sjoquist et al., 1999). La administración de la hormona neurohipofisaria dentro de rangos fisiológicos produjo un incremento significativo en la excreción de sodio renal tanto en ratas conscientes (Balment et al., 1980) como en animales mantenidos

CAPÍTULO IV

en dietas deficientes en sodio (Balment et al., 1980; Conrad et al., 1986; Forsling et al., 1994; Verbalis et al., 1991; Walter et al., 2000).

Relacionado con este punto, conviene destacar que coincidiendo con la disminución en la ingesta de agua descrita en el grupo tuberomamilar medial tras la administración de oxitocina, se observa una mayor liberación de sodio en orina (natriuresis) respecto al grupo lesionado que recibió la administración periférica de suero fisiológico (periodo 8-24 horas postlesión) (fig. 9.7). Es más, al analizar los niveles de osmolaridad urinaria se puede comprobar que los animales experimentales que reciben la administración de la hormona neurohipofisaria presentan una mayor concentración en la orina que el grupo tuberomamilar medial “suero fisiológico”, que a su vez muestra una osmolaridad urinaria significativamente inferior que los animales pertenecientes al grupo control no lesionado (fig. 9. 8).

Es posible que la mayor respuesta natriurética mostrada por el grupo experimental que recibe la administración de oxitocina, lo que de alguna manera facilitaría un control más adecuado sobre los niveles de sodio en el organismo, pueda explicar las respuestas diferenciales observadas en el consumo de líquidos (agua y ClNa) con respecto a los animales tuberomamilaes que reciben la administración periférica de suero salino isotónico en la última fase del experimento (24-30 y 30-48 horas postoperatorias).

En relación con esta interpretación, podría hipotetizarse que dado que la administración de la hormona neurohipofisaria conlleva una pérdida significativa de sodio en orina) (ver exp. 8) pudiese provocar un déficit en los niveles de sodio extracelular con respecto al agua (hiponatremia), que explicaría las preferencias por la solución de ClNa hipertónica que muestran los animales lesionados respecto al grupo experimental que recibe la administración periférica de suero fisiológico (periodo 24-30 y 30-48 horas postoperatorio).

La mayor respuesta comportamental (polidipsia) llevada a cabo por el grupo lesionado “suero fisiológico” en el periodo que transcurre entre las 8 y 24 horas

postoperatorias, si bien, en cierta manera, podría también disminuir los niveles de sodio corporal (posiblemente como consecuencia de una menor reabsorción renal de sodio (Palmieri et al., 1969; Rose, 1984) nunca llegaría a alcanzar los niveles de hiponatremia que se han podido producir en el grupo tuberomamilar “oxitocina”.

En resumen, y de acuerdo con los resultados que acabamos de describir, la polidipsia tuberomamilar podría estar relacionada con una serie de alteraciones en los procesos regulatorios hidrominerales, donde el sodio puede ocupar un papel fundamental (Bie et al., 2000; Fitzsimons, 1998; Johnson et al., 1997; McKinley et al., 1983; Robertson, 1982, 1983; Robertson et al., 1995; Rose, 1984; Saltmarsh, 2001), que estarían mediados fundamentalmente por la ausencia de factores hormonales de origen neurohipofisario.

Recientemente, se ha podido comprobar que la activación de células tuberomamilares ante varios desencadenantes osmolares (deshidratación, privación de líquidos, etc) provoca la despolarización de neuronas magnocelulares pertenecientes al complejo supraóptico-paraventricular, con la consiguiente liberación de factores neurohipofisarios (ADH y oxitocina) que, como se ha visto anteriormente representan una respuesta apropiada ante situaciones que suponen una seria amenaza para el mantenimiento de un óptimo equilibrio hidromineral (Akins et al., 1990, 1993; Brown et al., 2001; Kjaer et al., 1994, 1994, 1995).

Por otra parte, y como cabría esperar, el bloqueo farmacológico de las células tuberomamilares provoca una disminución significativa en la secreción de las hormonas de la hipófisis posterior vasopresinérgicas (Kjaer et al., 1994, 1994) y oxitocinérgicas (Bealer et al., 1999; Kjaer et al., 1995) ante los mismos desencadenantes osmóticos.

DISCUSIÓN FINAL

DISCUSIÓN FINAL

Introducción.

Uno de los mecanismos adaptativos más importantes que poseen los organismos superiores es la capacidad para mantener y regular sus niveles hídricos dentro de límites fisiológicos, así como la búsqueda y consumo de líquidos, a través de una interacción perfecta entre los factores periféricos y el sistema neuroendocrino.

Como ya se ha reflejado a lo largo de este trabajo, numerosas estructuras y circuitos neuroanatómicos parecen estar implicados en esta conducta consumatoria.

La búsqueda y explicación funcional de tales circuitos es uno de los objetivos principales de la Psicobiología de la regulación de fluidos y también del presente proyecto de investigación.

La metodología más empleada por los diferentes autores ha consistido en interrumpir zonas más o menos específicas del sistema nervioso central y analizar su influencia en el consumo de líquidos. Así por ejemplo, lesiones de estructuras subcorticales como la amígdala (Grossman et al., 1963), septum (Harvey et al., 1965), hipotálamo medial (Sclafani et al., 1969), núcleos del rafe (Coscina et al., 1972; Lorens et al., 1971), eminencia media (Rolls, 1970), hipotálamo posterior (Hennesy y Grossman, 1977), área mamilar (Morales y Puerto, 1986; Tejedor del Real et al., 1972) entre otras, inducen polidipsia, esto es, una ingesta de agua significativamente superior a la de un sujeto control sin daño cerebral alguno.

En nuestro laboratorio, lesiones electrolíticas confinadas en una región situada en el hipotálamo posterior modifican sensiblemente y de forma permanente el consumo diario de agua (Morales y Puerto, 1986). Pues bien, dada su localización anatómica, el sistema tuberomamilar, con sus subnúcleos constituyentes, podría ser la zona cerebral crucial, implicada en esta conducta.

DISCUSIÓN FINAL

Polidipsia Tuberomamilar

En estos casos, el incremento en la ingesta de agua de los animales tuberomamilares, es potente y duradera, y la polidipsia observada parece ser específica y peculiar a cada grupo tuberomamilar. En efecto, el análisis de los datos ha revelado la existencia de diferencias tanto cuantitativas como cualitativas dependiendo de la localización anatómica de las lesiones electrolíticas correspondientes (ver fig. 1.1) (experimento 1 y 5).

En este sentido, las lesiones de los núcleos tuberomamilares mediales E3 y E4, originan una respuesta polidíptica temprana, ya desde el primer día tras la intervención, sin alteración alguna en la ingesta de alimento, en la misma línea de los resultados comunicados por varios autores tras la manipulación de regiones amplias del hipotálamo posterior (Hennesy et al., 1977; Morales et al., 1986; Tejedor del Real et al., 1972).

Por el contrario, las lesiones electrolíticas tuberomamilares ventrales E1 y E2, si bien producen un incremento significativo en la ingesta de agua, ésta no es tan marcada como la anterior, ya que no se observan diferencias significativas con respecto al grupo no lesionado hasta que no transcurren una serie de días (4/7 en adelante). En otras palabras, su desarrollo es más lento.

Podríamos señalar por tanto que las lesiones circunscritas a diferentes zonas de la región tuberomamilar, tanto a nivel ventral (E1 y E2) como a nivel medial (E3 y E4), provocan una serie de cuadros o patrones en el consumo de agua con características diferenciadas.

Estos resultados se ven apoyados por una serie de estudios previos de carácter neuroanatómico y neurofisiológico, que han permitido analizar las características morfológicas de las neuronas individuales de la zona tuberomamilar, confirmando una clara diferenciación entre la “región tuberomamilar ventral”, donde

la mayoría de las neuronas son magnocelulares y compactas, y la “región tuberomamilar medial”, en la que predominan células de tamaño medio, menos organizadas (Akins et al., 1993; Armstrong y Sladek, 1985; Ericson et al., 1987, 1991; Hatton et al., 1998; Kjaer et al., 1995; Köhler et al., 1985; Reiner et al., 1987; Schwartz et al., 1991; Wagner et al., 1993; Watanabe et al., 1984; Weiss et al., 1989; Yang et al., 1989).

En cualquier caso, un hecho que se puede destacar en estos trabajos (experimentos 1 y 5), y que se encuentra relacionado con la disociación funcional entre los grupos tuberomamilares, es que la “polidipsia ventral E1 y E2” se manifiesta conjuntamente con un aumento significativo en el consumo de comida, mostrando diferencias significativas al final del estudio (días 8/11 en adelante) con respecto a los grupos tuberomamilares mediales y control (falsa lesión).

Dadas las semejanzas (entre E1 y E2) tanto morfológicas, como estructurales (algunos autores piensan que pueden derivar de un grupo celular común y que se ha dividido durante el desarrollo; (Ericson et al., 1987; Inagaki et al., 1990; Köhler et al., 1985; Schwartz et al., 1991; Watanabe et al., 1984) y funcionales (obsérvese como las lesiones electrolíticas de ambos núcleos hipotalámicos presentan el mismo cuadro o patrón en la ingesta de comida) en esta Tesis se ha optado por analizar las consecuencias que podría tener sobre el consumo de alimento la destrucción conjunta (E1 + E2) (lesiones electrolíticas) de ambas regiones del hipotálamo posterior (experimento 4).

Implicación de la región Tuberomamilar Ventral en el comportamiento nutritivo.

Los resultados volvieron a confirmar el incremento significativo en el consumo de alimento que se produce tras la manipulación experimental de estas regiones hipotalámicas (E1 y E2). En este caso sin embargo, hay que destacar que las lesiones bilaterales de los núcleos tuberomamilares ventrales (E1 + E2) originan un

DISCUSIÓN FINAL

comportamiento hiperfágico temprano (desde el 1º día, bloque 1) que permanece estable a lo largo del experimento, y que finalmente se ve reflejado en la mayor ganancia de peso corporal por parte de los animales lesionados con respecto al grupo control.

La mayor destrucción tuberomamilar que se produce como consecuencia de las lesiones bilaterales sumativas “E1 + E2” podría explicar el efecto hiperfágico tan potente y duradero que se observa en este experimento (exp. 4).

En relación con esta cuestión, se dispone de abundantes datos que indican cómo diversas manipulaciones farmacológicas que afectan al sistema tuberomamilar repercuten de una manera significativa en el comportamiento nutritivo.

Así por ejemplo, estudios comportamentales y electrofisiológicos, han demostrado que el bloqueo de la síntesis de histamina, neurotransmisor sintetizado exclusivamente en el complejo tuberomamilar (Onodera et al., 1994; Stevens et al., 2001; Wada et al., 1991) o de sus receptores postsinápticos (principalmente H1) produce un incremento en la ingesta de comida de los animales. Este comportamiento suele estar acompañado por un aumento de peso considerable, sin cambios consistentes en la toma de agua y excreción de orina (Doi et al., 1994; Fukagawa et al., 1989; Masaki et al., 2001, 2001; Morimoto et al., 2000; Ookuma et al., 1989; Orthen-Gambill et al., 1992; Sakata et al., 1988, 1990, 1991, 1994; Schwartz et al., 1988; Tuomisto et al., 1994). Más aun, los efectos más potentes se obtienen cuando los inhibidores histaminérgicos se aplican en regiones mediales periventriculares hipotalámicas en torno a los núcleos paraventricular y ventromedial con un reconocido papel en el control y regulación del equilibrio energético (Charnay et al., 1999; Choi et al., 1999; Doi et al., 1995; Elmquist et al., 1999; Flier et al., 1998; Hakansson et al., 1996, 1998; Havel et al., 2000; Hetherington y Ranson, 1940; Huang et al., 1996; Inui, 1999; Mercer et al., 1996; Nicolaidis, 1999; Swaab et al., 1995; Tokunaga et al., 1986; Woods et al., 1998). Esto parece indicar que los efectos supresores del apetito mediados por las fibras tuberomamilares

histaminérgicas puede llevarse a cabo a través de sus receptores en estas estructuras hipotalámicas.

En este sentido, hay que señalar que los cuerpos celulares de las células tuberomamilares ventrales muestran niveles elevados de CART (transcriptor regulado por cocaína y anfetamina), un neuropéptido anoréctico que ha sido identificado recientemente y cuya administración central (PAV) produce un descenso significativo en la ingesta de comida (Dall Vechia et al., 2000; Douglas et al., 1995; Elias et al., 2001; Elmquist et al., 1999; Inui, 1999; Kristensen et al., 1998).

Asimismo, en los últimos años, diversos estudios neuroanatómicos han mostrado la existencia de numerosas proyecciones inhibitorias galanérgicas sobre neuronas tuberomamilares ventrales (E1 y E2) (Köhler et al., 1986; Sherin et al., 1998). Conviene recordar al respecto, que la galanina (péptido de 29 aminoácidos) es uno de los principales agentes orexigénicos conocidos en la actualidad. Su administración en el sistema nervioso central estimula la conducta de ingesta, especialmente de lípidos (Havel et al., 2000 Leibowitz et al., 1998).

En resumen, los datos descritos hasta el momento, parecen reflejar una relación inversa entre la actividad tuberomamilar histaminérgica y la conducta nutritiva.

Esta afirmación también se ve apoyada por numerosos trabajos que han demostrado que la administración central de histamina o fármacos que potencian su acción, disminuyen la toma de alimento, tanto en animales (Brown et al., 2001; Clineschmidt et al., 1973; Fukagawa et al., 1989; Itoh et al., 1998; 1999; Lecklin et al., 1998; Masaki et al., 2001, 2001; Morimoto et al., 2000; Tuomisto et al., 1994; Wagner et al., 1963), como en seres humanos (Clineschmidt et al., 1973). En este sentido, Itoh y colaboradores (1991) han indicado que la liberación de histamina tuberomamilar en el hipotálamo se incrementó de manera significativa después de la ingesta de alimento en animales (ratas) saciados.

DISCUSIÓN FINAL

En la misma línea de estos resultados, se ha comprobado que ratas Zucker, genéticamente obesas, muestran niveles histaminérgicos más bajos (7 veces) que los animales normales; lo cual sugiere que la histamina tuberomamilar podría estar implicada de algún modo en el mantenimiento homeostático del equilibrio energético (Brown et al., 2001; Sakata et al., 1991).

En relación con esta idea, algunos investigadores han propuesto que el efecto anoréctico tuberomamilar puede ser explicado a través de la activación de los centros hipotalámicos implicados en la integración de señales saciadoras. De hecho, esta regulación podría llevarse a cabo a través de los núcleos mediales hipotalámicos paraventricular y ventromedial (PAV/HVM), en los cuales las fibras tuberomamilares histaminérgicas se distribuyen densamente (Adam et al., 1966; Fernández-Novoa et al., 2001; Grossman, 1980; Inagaki et al., 1988; Itoh et al., 1991; Lecklin et al., 1998; Orthen-Gambill et al., 1992; Panula et al., 1985, 1989; Watanabe et al., 1984) y en los que los receptores de leptina son abundantes (Doi et al., 1994; Fei et al., 1997; Hakansson et al., 1996, 1998; Huang et al., 1996; Mercer et al., 1996; Morimoto et al., 2000; Yarnell et al., 1998)

Por ejemplo, y con respecto al núcleo paraventricular (PAV), existen numerosos estudios que resaltan la importancia de este centro hipotalámico en la nutrición (Choi et al., 1999; Havel et al., 2000; Leibowitz et al., 1981; Swaab et al., 1995; Tokunaga et al., 1986; Woods et al., 1996, 1998) como lo demuestra el hecho de que recientemente se haya demostrado un incremento en su actividad tras la administración de leptina, tanto en ratones normales como en animales genéticamente obesos (Elmqvist et al., 1999; Fei et al., 1997; Hakansson et al., 1996, 1998; Huang et al., 1996; Mercer et al., 1996; Yarnell et al., 1998).

La implicación del PAV en el comportamiento nutritivo también ha sido observada en diversos estudios clínicos. Así, por ejemplo, Smeets y cols. (1992) han puesto de manifiesto una serie de alteraciones en el núcleo paraventricular de personas que padecen el síndrome de Prader-Willi (PWS), trastorno que en la mayoría de los casos (70%) se encuentra relacionado con una delección del brazo

largo del cromosoma 15 (Martín et al., 1998), y que cursa con retraso mental, hipogonadismo, corta estatura, además de hiperfagia y obesidad.

En concreto, se ha observado una reducción del 28% y 41% respectivamente, en el volumen de esta región hipotalámica así como en el número de células paraventriculares en los pacientes PWS. Estos mismos resultados también han sido documentados por otros autores (Swaab et al., 1993).

Por otra parte, los estudios clásicos de Hetherington y Ranson (1940), ya habían puesto de manifiesto la relevancia del núcleo ventromedial (HVM), en el control y regulación de la conducta nutritiva. La destrucción del hipotálamo ventromedial provocaba un incremento notable en la ingesta de comida (hiperfagia) de los animales (ratas), y como consecuencia de ello una ganancia en el peso corporal. Por el contrario, la estimulación eléctrica de dicha región en sujetos privados de alimento producía un descenso significativo en el consumo de comida (hipofagia) (Nicolaidis, 1999).

Recientemente, estos datos se han visto confirmados por el hecho de que la activación del sistema tuberomamilar histaminérgico podría controlar el efecto anoréctico inducido por la hormona leptina en alguno de estos centros hipotalámicos (Fukogawa et al., 1977; Itoh et al., 1999; Masaki et al., 2001, 2001; Morimoto et al., 2000; Yashimatsu et al., 1999).

Así, se ha podido comprobar que el tratamiento crónico central con histamina contribuye a mejorar las alteraciones en el equilibrio energético que manifiestan los animales obesos db/db (alteración del receptor de leptina) (Cheng et al., 1996; Masaki et al., 2001). Este descubrimiento ha sido validado en los últimos años por el hecho de que la administración de alfa-fluoro-metyl-histamina (alfa-FMH) (un inhibidor irreversible de la síntesis de histamina) atenúa la respuesta anoréctica llevada a cabo por la leptina en animales (ratas) (Morimoto et al., 2000; Yashimatsu et al., 1999).

DISCUSIÓN FINAL

Todas estas observaciones parecen indicar pues, que con la región tuberomamilar nos encontramos ante un nuevo sistema hipotalámico que reúne todas las características para poder desempeñar una función relevante en el comportamiento nutritivo; un tema de extraordinaria importancia no sólo científica sino también clínica dado el gran número de trastornos alimenticios como la obesidad, la bulimia o la anorexia nerviosa cuya incidencia, al menos en las sociedades occidentales se incrementa día a día (Rowland, 1998). El efecto hiperfágico observado en los sujetos tuberomamilares ventrales E1 y E2 podría estar relacionado con la destrucción de estas fibras histaminérgicas tuberomamilares nutricionales como consecuencia de las lesiones electrolíticas, lo que provocaría un aumento en la ingesta de comida de los animales, en la misma línea que los estudios anteriores.

El hecho de que la histamina no haya sido implicada en la ingesta de agua (Doi et al., 1994; Fukogawa et al., 1989; Orthen-Gambill et al., 1992; Sakata et al., 1984, 1990, 1994; Schwartz et al., 1988; Tuomisto et al., 1994), sugiere que su participación no es relevante en la polidipsia tuberomamilar ventral observada en estos estudios (experimentos 1, 4 y 5). Sin embargo, las células tuberomamilares contienen en sus terminales un amplio número de péptidos así como otros neuromoduladores y neurotransmisores que pueden desempeñar una función destacada en este comportamiento. De hecho, algunas de estas sustancias se localizan en subpoblaciones de neuronas histaminérgicas, donde pueden actuar como co-transmisores modulando las funciones de estas células (Airaksinen et al., 1992; Brown et al., 2001; Köhler et al., 1986; Onodera et al., 1994; Pasanni et al., 2000; Saper et al., 1989; Schwartz et al., 1991; Wada et al., 1991).

Además, los núcleos tuberomamilares ventrales E1-E2 emiten un gran número de proyecciones hacia regiones o centros hipotalámicos implicados en la regulación hídrica que podrían explicar estas conductas consumatorias (Akins et al., 1990, 1993; Armstrong y Sladek, 1985; Bealer et al., 1999; Brown et al., 2001; Coscina et al., 1972; Ericson et al., 1991; Grossman et al., 1963; Harvey et al., 1965; Hatton et al., 1998; Kjaer et al., 1994, 1994, 1995; Knigge et al., 1999; Lorens, 1971;

Morales et al., 1986; Sclafani et al., 1969; Tejedor del Real et al., 1972; Wagner et al., 1993; Weiss et al., 1989; Yang et al., 1989).

Efectos de las lesiones tuberomamilares y eminencia media sobre la ritmicidad nocturna/diurna en la ingesta de agua y comida.

Los datos enumerados demuestran que las lesiones electrolíticas de los diferentes núcleos tuberomamilares generan una serie de alteraciones en los procesos regulatorios hídricos y nutricionales, con características peculiares en cada uno de ellos. Esta polidipsia tuberomamilar no puede ser explicada sin embargo como una resultante de la irritación del tejido cerebral producido por la lesión electrolítica. En otros casos, el efecto irritativo tiene lugar como consecuencia del depósito de iones metálicos en el cerebro tras el paso de una corriente eléctrica a través de un electrodo anódico (corriente positiva), como puso de manifiesto Rolls, (1970) en el modelo animal de diabetes insípida (lesión de la eminencia media); si bien, éste no es el caso de las lesiones efectuadas en los grupos tuberomamilares, en las cuales se ha utilizado corriente catódica.

Se han observado (exp. 2) otras diferencias entre la polidipsia tuberomamilar y la generada tras lesiones de la eminencia media, a saber, la lesión tuberomamilar no modificó la ritmicidad en la toma de agua, que permaneció dentro de valores normales, semejantes al grupo no lesionado. La ingesta se realizó principalmente durante la noche, periodo de máxima actividad en estos animales. Este hecho parece indicar que la polidipsia tuberomamilar posee un cuadro primario, no dependiente de poliuria, ya que de haber quedado afectado el proceso de retención y conservación de agua, la polidipsia también se hubiera manifestado durante el periodo diurno.

Una vez más se vuelve a manifestar aquí la persistencia y especificidad de la hiperdipsia tuberomamilar que, en este sentido comparte características comunes con las observadas tras la manipulación de otras regiones subcorticales (Brown, 1998;

DISCUSIÓN FINAL

Coscina et al., 1972; Grossman et al., 1963; Harvey et al., 1965; Hennesy et al., 1977; Kavelaars et al., 2001; Lorens et al., 1971; Morales et al., 1986; Saborio et al., 2000; Sclafani et al., 1969; Tejedor del Real et al., 1972).

Estos resultados, contrastan con los obtenidos en los animales con lesiones electrolíticas anódicas en la eminencia media (EM+), en los cuales la ritmicidad nocturna/diurna en la ingesta de agua, se ve profundamente afectada después de la lesión. En concreto, estos sujetos distribuyen la ingesta de manera continuada a lo largo del día, contrariamente a lo descrito para los animales tuberomamilares y controles no lesionados, lo cual sugiere posiblemente alguna alteración en los mecanismos de conservación de fluidos (Morales et al., 1986).

Esta ausencia de ritmicidad en la toma de agua también está presente en el consumo de alimento, ya que ahora los animales polidípicos con lesiones anódicas en la eminencia media, y al contrario que el grupo tuberomamilar y control (lesión ficticia), muestran un volumen de ingesta de comida parecida en los dos periodos del día analizados (día/noche). Este efecto puede deberse a la gran extensión de la lesión que podría afectar a centros hipotalámicos mediobasales-periventriculares (adyacentes a la zona de estudio), y que son relevantes en el control de la ingesta de alimento (Arletti et al., 1989; Choi et al., 1999; Del Vechia et al., 2000; Havel et al., 2000; Inui, 1999; Mercer et al., 1996; Nicolaidis, 1999; Powley, 1977; Sakurai, 1999; Tokunaga et al., 1986; Verbalis et al., 1986; Woods et al., 1996, 1998). Entre estas estructuras hipotalámicas lesionadas, podrían encontrarse también los núcleos “tuberomamilares ventrales E1 y E2”, que como ya ha quedado reflejado pueden formar parte de un circuito neural implicado en el control nutritivo.

En relación con esta cuestión conviene destacar la ausencia de ritmicidad nocturna-diarina en la ingesta de comida observada en los animales lesionados en el núcleo “tuberomamilar ventral E1”, y que no muestra diferencias estadísticamente significativas con el grupo diabético (EM+).

Existe la posibilidad, de que esta alteración en el habitual patrón rítmico nutritivo pueda explicarse como el resultado de una necesidad permanente de tomar alimento; y en este sentido una serie de estudios recientes, han propuesto una vez más que la histamina hipotalámica, puede estar implicada (Fukagawa et al., 1989; Sakata et al., 1994). En efecto, se ha demostrado que el bloqueo histaminérgico induce al consumo de comida durante el día, cuando los niveles de histamina permanecen elevados y no durante la noche, cuando son bajos (Fukagawa et al., 1989; Sakata et al., 1994). Estos resultados podrían explicarse, asumiendo que la histamina neuronal, sintetizada principalmente en los núcleos tuberomilares, regula los ritmos circadianos de la ingesta de comida en los animales (Brown et al., 2001; Doi et al., 1994; Fernández-Novoa et al., 2001; Sakata et al. 1994). Entre las pruebas que parecen avalar estas hipótesis se encuentran los estudios neurohistoquímicos que han permitido comprobar como un gran número de fibras tuberomilares histaminérgicas y receptores H1, se localizan en el hipotálamo ventromedial, paraventricular y sobre todo en el núcleo supraquiasmático, una región fundamental en el control de la ritmicidad circadiana (Beck et al., 1981; Doi et al., 1994; Palacios et al., 1981; Panula et al., 1989; Tuomisto et al., 2001; Watanabe et al., 1984).

Por lo tanto, si estos resultados se confirman, una posible explicación de la alteración en la ritmicidad nocturna/diurna en la ingesta de comida observada en el grupo “tuberomililar ventral caudal E1”, podría deberse a la interrupción de vías (hay que recordar que estos resultados ya habían sido observados en nuestro laboratorio cuando al lesionar electrolíticamente el área milar, región del hipotálamo posterior que recibe un gran número de proyecciones nerviosas del sistema tuberomililar (Adam et al., 1996; Inagaki et al., 1988; Köhler et al., 1986; Wilcox et al., 1982), se observó una alteración similar en la ritmicidad nocturna/diurna del consumo de alimento en los animales lesionados (Morales, 1986., Tesis Doctoral) o a la destrucción de cuerpos celulares tuberomilares histaminérgicos, que impedirían que esta conducta regulatoria se manifestara diferencialmente durante los periodos de luz y de oscuridad.

DISCUSIÓN FINAL

Prandialidad: Polidipsia Tuberomamilar y Diabética.

Un último objetivo de esta serie experimental (experimento 3), pretendía examinar si las polidipsias descritas anteriormente, podrían deberse a alguna alteración en los mecanismos de índole no homeostáticos. Un déficit en la secreción salivar suele originar un patrón prandial de ingesta de agua, de forma que el sujeto para poder comer, ingeriría finalmente mayores cantidades de líquido con objeto de humedecer sus estructuras orofaríngeas y facilitar así su deglución (Ramos et al, 1991).

La participación de un proceso de sed prandial en los grupos tuberomamilares y eminencia media ha sido examinada y excluida en este estudio. Concretamente, y siguiendo el procedimiento habitual (Ramos et al., 1991), se pudo comprobar que la privación de comida durante 22 horas en los sujetos experimentales, no produjo (en las 2 horas siguientes) diferencias con respecto a los grupos control en la frecuencia de ingesta de agua en presencia de alimento seco. Es más, los datos observados en la prueba de prandialidad se encuentran muy lejos de las frecuencias obtenidas en programas semejantes llevados a cabo por otros autores (Ramos et al., 1991).

Estos resultados, por tanto, parecen indicar que las polidipsias documentadas no se deben a cambios producidos en la secreción salivar, es decir, a factores de carácter no-homeostático (sed prandial). En este sentido, la privación de comida no consiguió invertir la polidipsia en los sujetos tuberomamilares, es decir, en ausencia de alimento los animales con lesión tuberomamilar (incluso los tuberomamilares ventrales E1 y E2) continúan consumiendo mayores cantidades de agua que el grupo control no lesionado, lo que parece indicar que en la hiperdipsia observada no hay una dependencia del consumo de alimento.

Este no fue el caso de la polidipsia inducida mediante lesiones anódicas en la eminencia media, ya que en este grupo, la polidipsia fue abolida totalmente cuando los animales dejaron de disponer de alimento.

Este resultado merece ser destacado, ya que sugiere que los animales con lesión anódica en la eminencia media están capacitados (en caso de privación) para la retención de agua. Si esto es así, la polidipsia descrita no se justificaría exclusivamente por las pérdidas excesivas de líquido a través de la orina (Curtis, 1924; Swann,1939).

A favor de esta última posibilidad se pueden reseñar los estudios de Smith y McCann (1962, 1964), quienes documentaron la presencia de hiperdipsia en animales diabéticos (lesión electrolítica anódica en la eminencia media) a pesar de ser nefrectomizados.

En la misma línea, Bellows, citado por Rolls, (1970), ligó las arterias renales de animales diabéticos, y sin embargo éstos continuaron consumiendo 4-5 veces más agua que cuando se encontraban en un estado normal.

En resumen, estos estudios parecen plantear la necesidad de reconsiderar el modelo animal de diabetes insípida atribuido a Rolls (1970). Es más, el hecho de que las lesiones electrolíticas con corriente negativa (catódica), semejante a la utilizada en los grupos tuberomamilares y localizada en la eminencia media (EM-) no provoque ninguna alteración en la regulación hídrica, sugiere que el papel de esta región en la conducta consumatoria de agua es todavía incierto.

En función de los datos obtenidos (exp. 1, 2 y 3) se podría hipotetizar que la polidipsia observada en los animales con lesión positiva en la eminencia media, podría representar, de algún modo, un sistema integrador de los efectos conseguidos tras las lesiones electrolíticas en los distintos núcleos tuberomamilares. De hecho el daño producido con la lesión anódica de la eminencia media podría incluir a los núcleos tuberomamilares, principalmente a los grupos tuberomamilares mediales (E3 y E4) que se encuentran a ambos lados del receso mamilar y cuyas proyecciones nerviosas, han podido quedar destruídas por la lesión.

DISCUSIÓN FINAL

A favor de esta propuesta, se puede citar las semejanzas observadas en la polidipsia manifestada por ambos grupos experimentales (tuberomamilar medial (E3 y E4) y EM+), después de la intervención quirúrgica:

- Polidipsia en el día inmediatamente posterior a la lesión (fase poliúrica).
- Descenso significativo en la ingesta de agua durante aproximadamente 3 días postlesión (fase oligúrica o interfase).
- Recuperación y estabilización de la polidipsia (fase permanente).

Implicación de la Región Tuberomamilar en la Regulación Hidromineral.

Por último, y dentro de un contexto clínico, podría ser relevante determinar si los efectos obtenidos con las lesiones tuberomamilares, puedan ser de utilidad para explicar alguno de los trastornos humanos asociados a alteraciones en el control de fluidos.

Ya se ha hablado anteriormente en la Introducción, de la existencia de una serie de cuadros polidípsicos, de tipo primario, cuyas causas no son bien conocidas. Estas alteraciones no siempre pueden ser justificadas por una pérdida de grandes cantidades de orina, ya que la ausencia de anomalías en la conservación de fluidos es la característica más notable de estos pacientes (Dunn, 1990; Fitzsimons, 1979; Robertson, 1987; Vonderer et al., 1999). Por otra parte, existe coincidencia entre los distintos autores en la posibilidad de que estos trastornos puedan ser debidos a daños o lesiones de algunas estructuras cerebrales localizadas en la parte basal del cerebro (Bacic et al., 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; Tejedor del Real et al., 1972), la misma región donde se encuentran los núcleos tuberomamilaes (Brown et al., 2001; Ericson et al 1987, 1991; Fujimoto et al., 1990; Grunthel, 1929 citado en Ericson et al., 1987; Inagaki et al., 1988; 1990; Köhler et al., 1986; Panula et al., 1984; Schwartz, 1990, 1994; Schwartz et al 1991; Watanabe et al., 1984) y que particularmente suelen provocar diversos desequilibrios o variaciones en la osmolaridad plasmática así como en los niveles de sodio corporal, modificando sensiblemente de esta manera el consumo de agua (Bacic et al., 1999; Bealer et al., 1983; Bronstein, 2000; Brown 1998; Cort, 1963; Dorniger et al., 1991; Fitzsimons, 1979; Iwasaki et al., 1991; Kavelaars et al., 2001; Keeler et al., 1972; Lichardus et al., 1969; Natcheff et al., 1975; Robertson, 1995; Rolls, 1970; Robertson, 1987; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1987; Van der Post et al., 1997; Vonderen et al., 1999).

Todos estos planteamientos iniciales justificaban, por tanto, que uno de los principales objetivos de los siguientes experimentos de la presente Tesis Doctoral fuese el tratar de examinar las consecuencias de las lesiones tuberomamilaes en la regulación hidromineral de los animales y en la explicación de las conductas polidípsicas.

Existe la posibilidad de que el elevado consumo de agua observado tras las lesiones de los núcleos tuberomamilaes pueda depender, en cierto modo, de alguna anomalía en los circuitos cerebrales implicados en la regulación hidromineral de fluidos.

En este sentido, diferentes estudios anatómicos han demostrado la existencia de una estrecha relación entre el sistema tuberomamilar y estructuras cerebrales implicadas en la detección de cambios o alteraciones en la osmolaridad plasmática (Akins et al., 1993; Armstrong et al., 1985; Denton et al., 1999; Ericson et al., 1991; Ericson, 1989; Haas et al., 1975, 1977, 1982; Inagaki et al., 1988, 1990; Kjaer et al., 1994, 1994, 1995; Knigge et al., 1999; Köhler et al., 1985; Kraly et al., 1995;

DISCUSIÓN FINAL

Palacios et al., 1981; Panula, 1981; Schwartz et al., 1991; Swanson, 1987; Weiss et al., 1989).

Así por ejemplo, la estimulación eléctrica de las células tuberomilares generó potenciales excitatorios monosinápticos en neuronas supraópticas del hipotálamo (Hatton et al., 1998; Kjaer et al., 1994; Weiss et al., 1989; Yang et al., 1989) que en algunos casos incrementaron su actividad en más del 200% en comparación con las células de los animales (ratas) no estimuladas (Hatton et al., 1998). Resultados similares fueron observados en las neuronas neurosecretoras del núcleo paraventricular (Haas et al., 1982; Schwartz et al., 1991).

Estas observaciones están en concordancia con los resultados obtenidos utilizando métodos farmacológicos. Así, se ha podido demostrar que la histamina (neurotransmisor sintetizado exclusivamente en los núcleos tuberomilares) o fármacos que la potencian expresan c-fos en neuronas pertenecientes al complejo SON-PAV (Airaksinen et al., 1991; Bealer et al., 1999; Kjaer et al., 1994, 1994, 1995; Knigge et al., 1999) cuya activación representa una respuesta apropiada ante situaciones que suponen una seria amenaza para el mantenimiento de un equilibrio hidromineral óptimo (Bealer et al., 1999; Brown et al., 2001; Kjaer et al., 1994, 1994, 1995; Knigge et al., 1999; Schwartz et al., 1991; Tuomisto et al., 1984; Weiss et al., 1989).

Por otra parte, y como cabría esperar, el bloqueo farmacológico de las terminales tuberomilares produce un descenso significativo en la activación de las neuronas magnocelulares hipotalámicas de los núcleos anteriormente referidos (SON-PAV) (Bastos et al., 2001; Bealer et al., 1999; Bourque et al., 1994; Chiriguer et al., 2001; Cunningham et al., 1991; Gutkowska et al., 1997; Huang et al., 1999; Hussy et al., 2000; Kjaer et al., 1994, 1994, 1995; Knigge et al., 1999; Lightman, 1990; Miyata et al., 2001; Soares et al., 1999; Verbalis et al., 2000; Wakerley, 1987).

Todas estas observaciones, por tanto, parecen sugerir que las lesiones electrolíticas tuberomamilares han podido interrumpir alguno de los circuitos implicados en la regulación osmótica de fluidos, sensibles a la deshidratación celular.

Sin embargo, los resultados obtenidos en el capítulo III (experimento 5) parecen descartar esta interpretación inicial. En este sentido, se ha podido comprobar que los animales experimentales tuberomamilares y el grupo control no muestran diferencias significativas en la ingesta de agua tras la administración periférica (i.p) de una solución dipsogénica de sacarosa hipertónica.

En cualquier caso, el hecho de que la polidipsia tuberomamilar no pueda ser explicada en función de alguna alteración en los procesos regulatorios osmóticos inducidos por sacarosa, no descarta otras posibilidades, sobre todo a partir de los resultados obtenidos tras la administración (i.p) de ClNa hipertónico que muestran una respuesta dipsogénica significativamente superior del grupo tuberomamilar medial (E3-E4) y grupo tuberomamilar ventral rostral E2 con respecto al grupo control.

Es posible que la polidipsia tuberomamilar pueda estar relacionada de una u otra forma con los mecanismos cerebrales implicados en el control de los niveles internos de sodio corporal. En este sentido, se ha observado un incremento en la actividad celular del grupo tuberomamilar medial (TMM) en situaciones de expansión de volumen extracelular que, como se sabe, correlacionan con valores elevados en este electrolito (Luckman et al., 1997).

Esta circunstancia podría estar relacionada con las características morfológicas de las neuronas tuberomamilares, con amplias ramificaciones dendríticas que se extienden por la capa ependimal de la superficie ventral del cerebro y receso mamilar, y que les permitirían detectar y responder ante determinadas moléculas y sustancias neuroactivas presentes en el líquido cefalorraquídeo (Ericson et al., 1987; Fernández-Novoa et al., 2001; Reiner et al., 1987; Watanabe et al., 1984). En este sentido, varios autores han propuesto la

DISCUSIÓN FINAL

existencia de una serie de sensores o receptores al ion sodio en la vecindad de la pared del III ventrículo y en contacto directo con el LCF que serían activados ante los aumentos en la tonicidad del plasma (Anderson et al., 1967; Anderson y Olsson, 1973; Fitzsimons, 1998; Rowland, 1998).

A estas observaciones iniciales caben añadir las estrechas conexiones anatómicas existentes entre los núcleos tuberomamilares y algunas regiones del hipotálamo anterior relacionadas con la detección y control de los incrementos en la concentración plasmática, en donde el sodio suele ocupar un papel fundamental (Akins et al., 1990; Bealer et al., 1999; Brown et al., 2001; Han et al., 1996; Hatton, 1990; Johnson et al., 1997; Kjaer et al., 1994, 1994, 1995; Knigge et al., 1999; McKinley et al., 1994; Moses et al., 1992; Rowland, 1998; Sladek, 1994; Vincent et al., 1990; Walter et al., 1974; Xuz et al., 1996).

Es más, varios estudios experimentales y clínicos han demostrado que una serie de traumatismos o daños diversos en el sistema nervioso central, especialmente en regiones del hipotálamo posterior (y en las que podrían estar afectados los núcleos tuberomamilares y/o sus conexiones) provocan importantes desequilibrios en los niveles internos de sodio en el organismo, originándose en muchos casos la aparición de cuadros polidípsicos tanto en seres humanos como animales (Bacic et al., 1999; Blackburn et al., 1995; Briess et al., 1998; Cort, 1963; Dorniger et al., 1991; Fitzsimons, 1979; Henessy et al., 1977; Morales y Puerto, 1986; Natcheff et al., 1975; Seckl et al., 1987; Tejedor del Real et al., 1972).

En este sentido, Bacic y colbs. (1999) han descrito recientemente severos estados de hipernatremia o hiponatremia en soldados que habían sufrido daños cerebrales como consecuencia de herida/s de bala (Guerra de Bosnia). Los problemas más serios en la concentración de sodio plasmático fueron observados cuando las lesiones afectaron a estructuras localizadas en la base del cráneo y/o zonas hipotalámicas adyacentes al III ventrículo (Bacic et al., 1999).

Asimismo, los trabajos experimentales llevados a cabo en nuestro laboratorio por Morales y Puerto (1988) utilizando lesiones electrolíticas en la región mamilar, generaron una marcada polidipsia que fue interpretada en términos de alguna alteración en la regulación hidromineral de los fluidos internos, dada la respuesta diferencial en la ingesta de agua observada entre el grupo mamilar y el grupo control tras la administración periférica (i.p) de una solución hipertónica de ClNa.

Ahora, el presente estudio presentado en el capítulo III (experimento 5) viene a confirmar y a extender los resultados obtenidos en aquella investigación, al establecer concretamente las estructuras anatómicas implicadas en este proceso comportamental. En efecto, conforme a los datos que acabamos de presentar son las lesiones electrolíticas de los núcleos tuberomamilares mediales (E3-E4) y región tuberomamilar ventral rostral (E2) las que producen una alteración en los mecanismos regulatorios de sodio en el organismo, y cuya consecuencia conductual se manifiesta en una elevada ingesta de agua.

Podría interpretarse no obstante, que el efecto diferencial obtenido en la prueba con ClNa por parte de alguno de los grupos experimentales es debido simplemente a la interrupción de vías y/o la destrucción de cuerpos celulares de los otros núcleos tuberomamilares que se encuentran próximos anatómicamente.

Esta posibilidad puede ser descartada si nos atenemos a los resultados observados en el presente trabajo de investigación (experimentos 1 y 5), donde queda puesto de manifiesto que las lesiones circunscritas a diferentes zonas de la región tuberomamilar, tanto a nivel ventral (E1 y E2) como a nivel medial (E3 y E4), provocan una serie de cuadros o patrones en el consumo de agua con características bien diferenciadas, tanto cuantitativa como cualitativamente, como ya ha quedado reflejado anteriormente.

En otro orden de cosas, y en lo que respecta a los datos observados en este experimento sobre el efecto producido por los diversos tratamientos dipsogénicos osmóticos (ClNa y sacarosa) sobre el grupo de diabetes insípida (EM+), se puede

DISCUSIÓN FINAL

proponer que la polidipsia tuberomamilar y la hiperdipsia inducida por lesión en la eminencia media deberían ser consideradas como manifestaciones propias de dos entidades diferentes.

Al contrario de lo sucedido en los animales tuberomamilaes mediales (E3-E4) y E2 que se caracterizan por ser altamente sensibles a la administración de las soluciones salinas hipertónicas (CINa), los sujetos diabéticos con lesión electrolítica anódica en la EM+ no sólo no responden de manera significativa (respecto del grupo control) a ninguno de los tratamientos dipsogénicos osmóticos implicados (CINa y sacarosa) sino que la ingesta de agua tras la administración periférica de CINa es inferior a la observada en los animales tuberomamilaes mediales (E3-E4).

Una interpretación inicial de estos resultados se podría obtener a partir de los estudios de Robertson (1983), quien ha observado una cierta incapacidad de los animales diabéticos para responder adecuadamente a los cambios o variaciones osmolares.

Sin embargo, esta interpretación quizá deba ser matizada de acuerdo con los nuevos datos que han ido apareciendo en los últimos años.

En efecto, como ya ha quedado reflejado a lo largo del presente trabajo de investigación los animales diabéticos tienen alterados los mecanismos responsables de la conservación de fluidos, a lo que hay que añadir un aumento considerable en la osmolaridad plasmática (hipernatremia), provocado fundamentalmente por un incremento significativo en los niveles de sodio corporal (Bacic et al., 1999; Brimble et al., 1991; Bronstein et al., 2000; Edwards et al., 1984; Friedman et al., 1958, 1962; Hollinshead et al., 1964; Huang et al., 1996; Kavelaars et al., 2001; Laszlo et al., 1966; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Pivonello et al., 2000; Price et al., 2000; Rolls, 1970; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1992; Swann, 1939; Valtin, 1967; Verbalis et al., 1985).

Estas dos circunstancias hacen que estos animales en condiciones normales (*ad libitum*) deban ingerir grandes cantidades de agua con el objetivo de contrarrestar los déficit volémicos (poliuria) y osmóticos (hipernatremia) que padecen.

Si a estas dificultades regulatorias se le añade el desequilibrio osmolar tan acusado al que se ven sometidos los animales con DI (EM+) tras la administración de ClNa 2M y de sacarosa hipertónica 2M, entonces cabría esperar que surjan una serie de respuestas fisiológicas y comportamentales que traten de reestablecer las alteraciones hidrominerales que se les ha impuesto. De hecho, varios trabajos experimentales han comprobado cómo animales (perros) con daño o lesiones en el sistema neurohipofisario (SON-PAV/Hipófisis posterior) fueron capaces de mostrar una respuesta antidiurética tras la administración de productos dipsogénicos osmóticos en concentraciones hipertónicas (Brooks et al., 1958; Lipsett et al., 1956). La presencia de células intactas en los núcleos supraóptico y paraventricular de estos sujetos hipofisectomizados revelada por estudios histológicos postmortem podría explicar estos resultados (Bronstein et al., 2000; Brooks et al., 1958; Dohenics et al., 1992; Heinbecker et al., 1941; Huang et al., 1996; Kawamoto et al., 1985).

Por otra parte, y dentro del mismo contexto, es un hecho bien conocido que la administración de una solución salina hipertónica podría facilitar una mayor retención de agua corporal mediante una reabsorción renal más acusada (Rose, 1986; Saltmarsh, 2001). En el caso de llegar a producirse esta respuesta fisiológica, se podría esperar una disminución significativa tanto en la hipernatremia como en las pérdidas volumétricas de los animales diabéticos del estudio actual.

Asimismo, es importante tener en cuenta que los animales con lesión anódica en la eminencia media se encuentran privados de comida durante el experimento (tratamientos dipsogénicos), una situación en la que reducen drásticamente la ingesta de agua como se ha podido comprobar en el trabajo experimental anterior (exp.3) y en varios estudios clásicos con animales hipofisectomizados (Curtis, 1924; Swann, 1939).

DISCUSIÓN FINAL

Finalmente, el último objetivo que nos planteamos en este estudio (experimento 5) pretendía examinar si la polidipsia tuberomamilar podría ser explicada por algún trastorno o alteración de tipo volémico, semejante al observado por otros autores tras lesiones en otras regiones cerebrales (Blass y Hanson, 1970; Kucharzyc y Mogenson, 1977). Es importante tener en cuenta al respecto, que el complejo tuberomamilar mantiene conexiones anatómicas con centros o zonas cerebrales implicadas en el control de la presión vascular (p.e. área preóptica medial, órgano subfornical, etc) (Brown et al., 2001; Cirello et al., 1983; Ericson, 1989, 1991; Ericson et al., 1987, 1991; Fitzsimons, 1998; Inagaki et al., 1988, 1990, 1991; Panneton y Loewy, 1980; Schwartz et al., 1991; Swanson, 1987; Wada et al., 1991; Wouterlood, 1998; Yang et al., 1997). Sin embargo, el análisis de los datos permite pensar que esta hipótesis es improbable, ya que la respuesta consumatoria observada por parte de los animales tuberomamilares y controles ante el tratamiento dipsogénico volémico (glicol de polietileno) no difiere significativamente entre ambos grupos.

Estos datos sugieren, que los mecanismos de regulación volémica de fluidos no parecen haber sido alterados como resultado de las lesiones tuberomamilares.

Por otra parte, los resultados del presente experimento nos revelan que la ingesta de agua del grupo con lesión anódica en la EM+ tampoco difiere estadísticamente de la observada en los animales control tras la infusión de PEG. Esta respuesta en cierto modo parece lógica, después de comprobar que el tratamiento volémico presenta un menor (significativamente) efecto dipsogénico que la mera inyección de agua destilada (tratamiento ficticio II) en los animales diabéticos.

En resumen, y siguiendo con los mismos planteamientos teóricos esgrimidos en relación a los productos osmóticos, cabe la posibilidad de que la administración del coloide (PEG), que no deja de ser un agente diurético ya que ocasiona el secuestro de fluido plasmático del compartimento extracelular, puede facilitar en el grupo EM+ una mejor respuesta natriurética (disminución de los niveles de sal), que

se traduciría finalmente en una importante reducción en la ingesta de agua. Esta interpretación se encuentra hoy en día avalada por una serie de trabajos experimentales que señalan que la DI mejora considerablemente con el tratamiento racional de fármacos que tengan propiedades diuréticas (Baylis et al., 1998; Fried et al., 1997; Niaudet et al., 1985; Rose, 1984; Saborio et al., 2000).

En este sentido, se ha comprobado que el tratamiento farmacológico con Indapamida, un producto diurético y antihipertensivo que es capaz de incrementar la osmolaridad urinaria al mismo tiempo que reduce la osmolaridad plasmática, provocó una mejoría considerable en varias personas con diabetes insípida central (Tetiker et al., 1999).

En conclusión, el estudio que acabamos de describir parece indicar que el incremento en el consumo de agua provocado por las lesiones electrolíticas de la región tuberomamilar podría venir desencadenado por alguna alteración en los procesos regulatorios hidrominerales del organismo. Asimismo, los resultados experimentales obtenidos en el presente trabajo como en investigaciones previas (experimento 3) sugieren que el modelo neurológico de diabetes insípida es más complejo de lo previsto y que algunos de sus planteamientos básicos merecen ser reexaminados.

Modelo animal de Diabetes Insípida Neurológica inducido por lesiones electrolíticas en la Eminencia Media.

Poliuria y Polidipsia Diabética.

Así, los resultados obtenidos en el capítulo IV de esta serie experimental ponen de manifiesto que el daño ocasionado en la eminencia media provoca, independientemente de la manipulación experimental a la que se ven sometidos los animales lesionados en estos estudios (experimento 6A, 6B y 7) (privación de

DISCUSIÓN FINAL

alimento/disponibilidad de suero salino hipertónico/comida ad libitum/administración i.p de ClNa/privación de alimento y agua/comida carente de sodio), una respuesta polidíptica en las primeras horas tras la intervención (fase transitoria), como consecuencia de una alteración en la conservación de fluidos (Balment et al., 1986; Bronstein et al., 2000; Hennesy et al., 1977; Hollinshead, 1964; Ikkos et al., 1954; Laszlo et al., 1966; Friedman et al., 1958; Saborio et al., 2000; Seckl et al., 1997; Verbalis et al., 1985). En efecto, apenas 6 horas después de la intervención quirúrgica se observa una elevada respuesta diurética en los animales diabéticos (experimentos 6B y 7) que no puede ser atribuida a la ingesta de agua, ya que la poliuria de los sujetos lesionados en las primeras horas se encuentra siempre “por delante” del consumo de líquidos (datos observados en nuestro laboratorio, no presentados). Es más, el hecho de que animales lesionados en la eminencia media que se encuentran privados de alimento y sobre todo de agua también muestren una mayor respuesta diurética respecto al grupo control (experimento 7), parece indicar que el comienzo de la diabetes insípida (fase transitoria) puede estar supeditado a una anomalía en la retención renal de fluidos (Ikkos et al., 1954; Seckl et al., 1992; Swann, 1939).

A favor de esta interpretación, destaca el elevado consumo de ClNa hipertónico (1.5%) que muestran los animales diabéticos con respecto a sus grupos control (superior al 80% del total del líquido consumido)(experimento 6A y 7) y que podría ser explicado como un intento por parte de estos sujetos de conseguir un adecuado control volémico. En efecto, conviene recordar que en situaciones de hipovolemia como la que nos encontramos en este caso, se produce la activación del sistema enzimático-humoral renina-angiotensina-aldosterona que promueve entre otras respuestas fisiológicas compensatorias, un reestablecimiento de la presión arterial (que se encuentra disminuida en estos casos) así como la búsqueda e ingesta de líquidos, preferentemente agua y ClNa (Buggy et al., 1974; Fitzsimons, 1987, 1998; Johnson et al., 1997; Morien et al., 1999; Phillips, 1987; Rose, 1984; Stricker et al., 1987).

En otras palabras, la lesión electrolítica de la eminencia media, ha podido interferir con los mecanismos renales encargados de la conservación de fluidos, pero no con la habilidad del sistema nervioso central para detectar el desequilibrio hidromineral provocado por la lesión (Cort, 1963; Friedman et al., 1962).

Efectos de la manipulación de la dieta sobre la Polidipsia Diabética Neurológica inducida por lesiones electrolíticas en la Eminencia Media.

Los resultados que acabamos de presentar en el capítulo IV, por tanto, parecen confirmar que el daño producido en la eminencia media desencadena de manera inmediata un déficit volémico que los animales intentarán compensar con la ingesta elevada de agua así como de soluciones hipertónicas de cloruro sódico.

Cabría esperar, que los animales diabéticos pudiesen equilibrar esos déficits en el volumen extracelular, desarrollando preferencias por una concentración de líquido isotónica (agua y ClNa al 0.9 %). Sin embargo, y contrariamente a lo reflejado por este planteamiento, se ha podido observar que los animales experimentales muestran una mayor predisposición por la solución salina (1.5%) que por el agua, lo que finalmente se traduce en una ingesta de líquidos con una concentración ligeramente hipertónica (agua y ClNa al 1.23%), prácticamente el doble de la manifestada por el grupo control (agua y ClNa al 0.62%) (experimento 6A).

En la actualidad, existen autores que describen el comportamiento compulsivo de los pacientes con diabetes insípida por conseguir alimentos que tengan un alto contenido en sal, si bien no se conoce cuál puede ser la explicación de este fenómeno (Rose, 1984).

Cabe la posibilidad de que la ingesta de la solución salina (1.5%) llevada a cabo por el grupo experimental EM+2 (en las primeras 24 horas postlesión) pueda ser la causa de las respuestas diferenciales observadas en el consumo de agua con respecto al grupo diabético EM+1 en el 2º día postquirúrgico, y que en este caso no

DISCUSIÓN FINAL

pueden ser atribuidas a una alteración de tipo volémico al no existir diferencias significativas entre ambos grupos en el volumen de orina excretado (experimentos 6A).

En efecto, los animales experimentales que vuelven a estar privados de alimento (EM+1), si bien disminuyen de forma significativa su ingesta respecto al día anterior, todavía consumen mayor cantidad de agua que el grupo control (GCEM+1), un hecho que sin embargo no se produce en el grupo con lesión anódica EM+2 a pesar de encontrarse en la misma situación experimental (privación de alimento).

Se podría hipotetizar que las elevadas cantidades de ClNa hipertónico consumidas por los animales pertenecientes al grupo experimental EM+2 durante el 1º día después de la intervención quirúrgica ($X = 114$ c.c), y que representan más del 82% del total del líquido ingerido, podrían promover una mayor retención de fluidos como consecuencia de la ganancia de Na^+ extracelular, facilitando la reabsorción de agua por parte del riñón provocando una mayor retención de fluidos con el consiguiente incremento en el volumen extracelular (Rose, 1984).

En este sentido, diversas investigaciones han demostrado que la ingesta de agua por sí sola no es la mejor respuesta para intentar mantener un adecuado control hidromineral, ya que en ausencia de sodio, el agua es incapaz de pasar rápidamente al plasma a través de la pared intestinal con el objetivo de restaurar el volumen del fluido extracelular. Este proceso sería facilitado por los iones de sodio (Saltmarsh, 2001).

Efectos de la administración periférica (i.p) de cloruro sódico hipertónico sobre el desarrollo y progresión de la polidipsia diabética neurológica inducida por lesiones electrolíticas en la Eminencia Media.

Los resultados obtenidos en el experimento 6b de esta serie experimental parecen confirmar esta posibilidad ya que el grupo diabético que recibe la administración i.p de ClNa hipertónico muestra una mayor respuesta retentiva, como lo demuestra el hecho de que no se observan diferencias significativas en el volumen de orina excretado (6 horas postoperatorias) así como en la osmolaridad urinaria (24 horas postlesión) con respecto al grupo control.

De ser cierta esta interpretación, se confirmaría una vez más que la polidipsia de índole diabética inducida por lesiones de la eminencia media no puede ser definida exclusivamente como un trastorno regulatorio secundario a una pérdida de líquidos ya que también puede verse afectada por una serie de alteraciones en la regulación hidromineral de los fluidos orgánicos que igualmente tendrán repercusiones sobre el comportamiento de ingesta de los sujetos diabéticos (Bellows, 1938; Smith y McCann, 1962, 1964).

Concretamente, se ha puesto de manifiesto en esta serie experimental (capítulo IV) que la manipulación de la dieta (en la cual la sal es uno de sus elementos principales) o la administración i.p de ClNa hipertónico, modifican el comportamiento polidipsico de los animales con lesión electrolítica en la eminencia media, lo que sugiere que el sodio puede ser un componente fundamental en este proceso regulatorio (trastorno polidipsico), más si cabe al confirmarse que los animales diabéticos muestran un exceso de este mineral en el organismo (experimento 7) (Bacic et al., 1999; Balment et al., 1986; Friedman et al., 1958, 1962; Hollinshead, 1964; Huang et al., 1996; Laszlo et al., 1966; Man et al., 1992; O' Connor, 1950; Rolls, 1970; Seckl et al., 1992; Swann et al., 1939; Verbalis et al., 1985).

DISCUSIÓN FINAL

Polidipsia Diabética e Hipernatremia.

En efecto, los resultados del experimento 7 muestran un aumento en la osmolaridad plasmática (hipernatremia) del grupo lesionado que no dispone de alimento y agua con respecto a su grupo control (24 horas postoperatorias), y que es provocado fundamentalmente por los elevados niveles de sodio que presentan estos animales en el organismo como consecuencia de las graves pérdidas de fluido que se producen a través de la orina.

Varios autores han propuesto que los desequilibrios osmolares (hipernatremia) reflejados en la diabetes insípida podrían ser causados por una serie de alteraciones en el control y regulación hidromineral de los fluidos orgánicos como consecuencia de una retención inapropiada de los niveles de sodio corporal (Bacic et al., 1999; Balment et al., 1986; Huang et al., 1996; Man et al., 1992; Seckl et al., 1992).

En relación con esta interpretación, destaca el hecho de que los grupos de animales experimentales que teóricamente toman en proporción una mayor cantidad de sodio debido a la condición experimental a la que pertenecen (Grupo EM+ cloruro sódico hipertónico (1.5%)/Grupo EM+ comida estándar ad libitum (0.25% de contenido de sodio) son los únicos que presentan un aumento significativo en la concentración plasmática con respecto a los grupos controles no lesionados.

Por el contrario, los animales diabéticos que disponen de una alimentación con contenidos más bajos en este electrolito, no muestran los severos cuadros de hipernatremia comentados anteriormente (Grupo EM+ privado de comida/Grupo EM+ comida sin sal). En estos casos, la potente polidipsia desarrollada, junto con las características de la dieta hiposódica son capaces de reducir la hipernatremia observada en la diabetes insípida (ver Grupo EM+ privado de comida y agua).

En función de estos resultados, diversos autores coinciden en señalar que los niveles elevados de sodio corporal observados durante el transcurso de la diabetes insípida podrían ser un fiel reflejo de una incapacidad renal para excretar una orina concentrada (Bacic et al., 1999; Balment et al., 1986; Friedman et al., 1958 ; Huang et al., 1996; Man et al., 1992; O'Connor, 1950; Seckl et al., 1992; Swann, 1939; Titlebaum et al., 1960; Wolf, 1950).

Los resultados de este experimento parecen confirmar una menor respuesta natriurética en los animales con lesiones en la eminencia media. En efecto, si bien se ha demostrado que existen grupos experimentales (Grupo EM+ cloruro sódico hipertónico/Grupo EM+ comida estándar ad libitum) que muestran niveles elevados en la tonicidad plasmática con respecto a sus respectivos grupos control, éstos no son capaces de liberar este exceso de electrolitos (sodio en orina), a pesar de excretar un volumen de orina significativamente superior al observado en los grupos control no lesionados. Es más, esta idea se ve ratificada cuando se observa que la osmolaridad urinaria de los animales diabéticos es menor que la de los grupos controles (Czernichow et al., 1985; Robertson, 1983; Seckl et al., 1987, 1992).

En otras palabras, los datos presentados en estos estudios (experimento 6a, 6b y 7) sugieren que el daño producido en la eminencia media, aparte de provocar un inmediato déficit volémico, también desencadena alteraciones en la regulación hidromineral de fluidos (hipernatremia) que pueden ser incrementadas o reducidas en función de las condiciones experimentales a las que se ven sometidos los animales. En este caso en concreto, la mayor o menor concentración de sodio disponible en cada una de las manipulaciones experimentales llevadas a cabo podría explicar las respuestas diferenciales observadas en esta conducta regulatoria (ingesta de líquidos).

Por ejemplo, la presencia de comida ad libitum en las jaulas de los animales diabéticos incrementó de manera significativa la ingesta de agua con respecto a los sujetos del grupo control (experimento 6A). Es probable que el consumo tan elevado de alimento que muestran los animales experimentales en estos estudios

DISCUSIÓN FINAL

(experimento 6B) y que ha sido confirmado en experimentos previos de la presente Tesis Doctoral (experimento 1 y 5) pueda agudizar los problemas hipernatrémicos que poseen (experimento 7), provocando la ingesta de grandes cantidades de agua con la finalidad de resolver esos desequilibrios osmolares.

En este sentido, si se analizan los resultados obtenidos en el experimento 6b, se puede observar que la recuperación de la conducta polidíptica en los animales diabéticos (fase permanente {6° día}) coincide con un incremento en la ingesta de comida por parte de los sujetos lesionados, corroborando los planteamientos previos que señalan que la severidad de la diabetes insípida puede estar relacionada con las cantidades de sodio ingerido por los animales durante las comidas (Curtis, 1924; Palmieri et al., 1969; Swann, 1939; Titlebaum et al., 1960).

Siguiendo el mismo razonamiento anterior, la administración periférica (i.p) de ClNa hipertónico (2cc, 2M) que recibe el grupo diabético EM+1 tras la intervención quirúrgica (experimento 6B) pudiera agravar los serios desequilibrios osmolares que presentan los sujetos diabéticos (hipernatremia) (experimento 7) (Balment et al., 1986; Friedman et al., 1958, 1962; Hollinshead, 1964; Huang et al., 1996; Laszlo et al., 1966; O'Connor, 1950; Rolls, 1970; Swann, 1939; Verbalis et al., 1985), lo que explicaría la polidipsia tan elevada que muestran estos sujetos (grupo experimental EM+1) en el 2° día postoperatorio con respecto a otros grupos experimentales (EM+3) a pesar de encontrarse en la misma condición experimental y no existir diferencias significativas entre ambos grupos en el volumen de orina excretado.

Todo lo contrario, sucede cuando los grupos lesionados son privados de alimento o sometidos a una dieta carente de sal (hiposódica). Estas situaciones, que no incrementan las alteraciones osmolares ya comentadas, producen un acusado descenso en la ingesta de agua (no se obtuvieron diferencias significativas con respecto al grupo control) (experimento 6A y 6B), que en algunos casos llega a ser incluso inferior a la observada en los animales controles no lesionados (experimento 3). Estos resultados se encuentran en la misma línea que una serie de estudios

clásicos que indican que la adrenalectomía, un procedimiento que disminuye los niveles de sodio en el plasma, reduce de forma significativa la polidipsia y respuesta poliúrica de los animales diabéticos (hipofisectomizados) (Friedman et al., 1962).

En resumen, los estudios que se han descrito en este capítulo, parecen demostrar que, si bien el inicio de la diabetes insípida (fase transitoria) no parece ser dependiente de la mayor o menor concentración de sodio disponible en cada una de las manipulaciones experimentales llevadas a cabo, la fase permanente (polidipsica) de la enfermedad sí puede estar asociada con estas condiciones. Lo que en un principio podría deberse a un problema en la conservación de fluidos también puede estar relacionado con un trastorno secundario a algún tipo de desequilibrio hidromineral.

Implicación de la Oxitocina en la polidipsia de índole diabética inducida por lesiones electrolíticas en la Eminencia Media.

En la actualidad, se piensa que estos problemas regulatorios tanto hídricos como minerales manifestados por los sujetos diabéticos tras el daño cerebral, pueden estar relacionadas con la pérdida o ausencia de algún factor neuroendocrino. De hecho más del 80% de las neuronas magnocelulares hipotalámicas pertenecientes a los núcleos supraóptico y paraventricular sintetizan y almacenan en sus cuerpos celulares una serie de hormonas que a través de sus axones son secretadas en la hipófisis posterior (Badoer, 2001; Bastos et al., 2001; Briski et al., 2000; Cajal, 1894 en Pickford et al., 1945; Chiriguer et al., 2001; Cunningham et al., 1991; Miyata et al., 2001, 2001) y se encuentran dañadas en los casos de diabetes insípida central o neurogénica (Bacic et al., 1999; Fujisawa et al., 1987; Kurokawa et al., 1998; Laszlo et al., 1966; Maghnie et al., 1998; Moses et al., 1992).

En la última década, y gracias al desarrollo de 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

DISCUSIÓN FINAL

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., 1998, 2000; Moses et al., 1992, 1993; 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).

Estas observaciones confirman un hecho bien conocido, a saber, que en una gran variedad de enfermedades regulatorias de índole adquiridas, genéticas o idiopáticas, ha quedado afectado el eje hipotálamo-hipófisis posterior y particularmente la principal hormona que históricamente se ha vinculado a estos trastornos, la vasopresina (ADH), cuya principal función es la de modular la permeabilidad del agua en los túbulos colectores del riñón, permitiendo así la reabsorción de ésta (Fried et al., 1997; Robertson, 1983; Seckl et al., 1987). El resultado se traduce, en una incapacidad renal para poder concentrar la orina y conservar el fluido corporal. Consecuentemente, se producen pérdidas elevadas de líquido (poliuria) que ocasionan una sed extrema (polidipsia), uno de los síntomas principales de la diabetes insípida (experimentos 6B y 7).

Por todo ello, no resulta extraño que uno de los tratamientos más efectivos desde el punto de vista clínico para hacer frente a los desequilibrios hídricos ocasionados por esta enfermedad, consista en la prescripción de un análogo de la hormona antidiurética (ADH), el dAAVP (1 desamino-8 arginina vasopresina), agonista selectivo al receptor tubular renal V2, cuyo efecto es incluso más potente y prolongado que el de la propia vasopresina (Fjellestad-Paulsen et al., 1993; Maghnie et al., 2000; Saborio et al., 2000).

Sin embargo, junto a estos argumentos iniciales, estrictamente de tipo volémico, hay que añadir que desde hace algunos años, la intervención farmacológica de la diabetes insípida neurológica se ha complementado, y además con buenos resultados, con el uso racional de diuréticos y una restricción de sal en la

dieta (Baylis et al., 1998; Fried et al., 1997; Niaudet et al., 1985; Rose, 1984; Saborio et al., 2000; Tetiker et al., 1999). El objetivo del primero de los tratamientos no es otro que el provocar un aumento selectivo en la excreción de sodio (natriuresis) sin afectar a la reabsorción de agua, con la finalidad en general de tratar de disminuir la hipernatremia observada en este trastorno, provocada fundamentalmente por una retención inapropiada en los niveles de sodio corporal (experimento 7) (Bacic et al., 1999; Balment et al., 1986; Baylis et al., 1998; Friedman et al., 1958; Hollinshead, 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).

Diversos estudios realizados en las últimas décadas parecen coincidir en que al igual que sucede con la distorsionada respuesta renal para la conservación de fluidos (experimento 6b y 7) (Bacic et al., 1999; Bie et al., 1992; Isidro et al., 1998; Ito et al., 1991, 1993; Mckinley et al., 1991; Robertson, 1995; Seckl et al., 1987), las alteraciones hidrominerales descritas en estos casos pueden deberse también a la ausencia de algunos factores hormonales de origen neurohipofisario (Fitzsimons, 1998; Fujisawa et al., 1987; Kadekaro et al., 1992; Kurokawa et al., 1998; Maghnie et al., 1998; Moses et al., 1992; Murphy et al., 1998; Pierson et al., 1995).

En efecto, los resultados obtenidos en el capítulo IV (experimento 8) del presente proyecto de investigación ponen de manifiesto que la administración periférica (i.p) de oxitocina, un péptido neuroendocrino sintetizado en los núcleos supraóptico y paraventricular hipotalámicos provoca importantes cambios en la regulación hidromineral de los animales diabéticos a las pocas horas después de haberse realizado la intervención quirúrgica.

En este sentido, se ha podido comprobar que si bien los animales lesionados a quienes se les administra oxitocina continúan tomando mayor cantidad de agua que los sujetos pertenecientes al grupo control, ésta polidipsia es significativamente inferior a la que se observa en los animales experimentales que reciben una infusión de suero fisiológico, a pesar de no existir diferencias significativas entre ambos grupos en el volumen de orina excretado.

DISCUSIÓN FINAL

Estas respuestas diferenciales en la ingesta de agua entre los diferentes grupos experimentales, no pueden ser explicadas por un efecto aversivo del tratamiento con oxitocina como sugieren algunos autores (se ha observado un incremento en los niveles de oxitocina plasmáticos en los animales que han sido sometidos a aprendizaje aversivo-gustativo, fenómeno en el cual una sustancia novedosa (sabor) es asociada con un malestar gastrointestinal provocado por la administración de un producto aversivo (CILI, sulfato de cobre, CCK, etc) (Verbalis et al., 1991). De hecho, los animales pertenecientes al grupo control que reciben la administración periférica de oxitocina no muestran la característica disminución en la ingesta de agua en el mismo periodo (8-24 horas postoperatorias) con respecto a los sujetos del grupo control que reciben la infusión (i.p) de la solución salina. Es más, una comparación entre los dos grupos control diabéticos permite observar un consumo de líquidos significativamente superior en los animales que fueron tratados con la hormona neurohipofisaria.

Estos resultados, por tanto, parecen confirmar la relevancia de factores neuroendocrinos como la oxitocina, en el control y regulación hidromineral de los fluidos orgánicos (Balment et al., 1980; Bourque et al., 1994; Fitzsimons, 1998; Huang et al., 1999; Huang et al., 1995; Hussy et al., 2000; Kadekaro et al., 1992; Pierson et al., 1995; Soares et al., 1999; Weitzman et al., 1978).

Concretamente, se podría hipotetizar que la disminución en el comportamiento polidíptico observada en los animales que reciben la administración periférica de oxitocina podría deberse a los efectos natriuréticos (excreción de sodio) de esta hormona neurohipofisaria (Balment et al., 1980; Brooks et al., 1958; Brunner et al., 1956; Conrad et al., 1986; Dickers et al., 1946; Forsling et al., 1994; Huang et al., 1995, 1996; Lichardus et al., 1973; O'Connor, 1950; Petersen et al., 1970; Sawyer, 1952; Verbalis et al., 1991; Walter et al., 2000). Este hecho, de algún modo, podría reducir de manera considerable los serios desequilibrios osmolares (hipernatremia) que manifiestan estos animales (experimento 7) (Baylis et al., 1998; Friedman et al., 1958, 1962; Hollinshead et al., 1964; Saborio et al., 2000).

En este sentido, el presente estudio revela como los animales experimentales diabéticos tras recibir la administración (i.p) de oxitocina muestran mayores niveles de sodio en orina (8-24 horas después de la lesión) que los sujetos del grupo control, una circunstancia que no se observa antes de la administración del péptido. Es más, los animales lesionados que son sometidos al tratamiento con oxitocina evidencian una mayor respuesta natriurética así como un incremento significativo en la osmolaridad urinaria (8-24 horas postlesión) que los sujetos diabéticos que reciben la infusión i.p de suero salino, y que curiosamente muestran una respuesta polidípica superior.

Estos resultados se han visto respaldados recientemente por una serie de estudios que han confirmado que la administración de antagonistas oxitocinérgicos inhibe la excreción de sodio renal ante varias condiciones experimentales que provocan un incremento en la tonicidad plasmática (privación de líquidos, administración de ClNa hipertónico, etc) (Blackburn et al., 1995; Huang et al., 1995, 1996; Walter et al., 2000), mientras que la administración de oxitocina restauró dicha respuesta natriurética (Huang et al., 1995).

En resumen, los resultados del presente capítulo (experimento 8) parecen corroborar que los cuadros de ingesta tan elevados (polidipsia) que se observan durante el desarrollo de la diabetes insípida inducida por lesiones electrolíticas en la eminencia media, son causados por una serie de alteraciones hidrominerales que podrían ser disminuidas por la administración de hormonas neurohipofisarias, tanto vasopresina como oxitocina. En efecto, datos clínicos recientes señalan que el tratamiento farmacológico de la diabetes insípida neurogénica con Pituitrin, un extracto de la hipófisis posterior que contiene vasopresina y oxitocina, genera una mejor respuesta regulatoria en los pacientes que manifiestan este trastorno diabético (Simmons, et al., 2002).

DISCUSIÓN FINAL

Implicación de la región tuberomamilar en el control y regulación neuroendocrina del metabolismo de agua y sodio corporal.

Estas observaciones junto con los datos obtenidos en experimentos previos de la presente Tesis Doctoral (experimento 5) que indican que la polidipsia tuberomamilar puede estar relacionada de una u otra forma con los mecanismos cerebrales implicados en el control y regulación neuroendocrina del metabolismo de agua y sodio corporal, justificaban la intervención farmacológica del péptido neurohipofisario oxitocina en dicha región anatómica (subnúcleo tuberomamilar medial E3) (experimento 9).

En relación con esta cuestión, varios trabajos experimentales han observado una actividad celular incrementada en neuronas del hipotálamo posterior, concretamente en los núcleos tuberomamilares dorsomediales (E3 y E4), en animales (ratas) hipertensos (Kjaer et al., 1995; Schwartz et al., 1991).

Estos resultados se encuentran en la misma línea que una serie de estudios publicados recientemente que han comprobado que la activación de células tuberomamilares, ante varios desencadenantes osmolares (deshidratación, privación de líquidos, etc), provoca la despolarización de neuronas magnocelulares pertenecientes al complejo supraóptico-paraventricular, con la consiguiente liberación de factores neuroendocrinos (vasopresina y oxitocina) que, como se ha visto anteriormente representan una respuesta apropiada ante situaciones que suponen una seria amenaza para el mantenimiento de un óptimo equilibrio hidromineral (Akins et al., 1990, 1993; Brown et al., 2001; Kjaer et al., 1994, 1994, 1995).

Por otra parte, y como cabría esperar, el bloqueo farmacológico de las células tuberomamilares conlleva una disminución significativa en la secreción de las hormonas de la hipófisis posterior vasopresinérgicas (Kjaer et al., 1994, 1994) y

oxitocinérgicas (Bealer et al., 1999; Kjaer et al., 1995) ante los mismos desencadenantes osmóticos.

En función de estos datos, no se puede descartar la posibilidad de que las lesiones electrolíticas tuberomamilares hayan podido interrumpir alguno de estos circuitos cerebrales (eje hipotálamo-hipófisis posterior) implicados en el control y regulación hídrica y mineral de los fluidos internos, donde el sodio ocupa un papel relevante (Bie et al., 2000; Fitzsimons, 1998; Johnson et al., 1997; McKinley et al., 1983; Robertson, 1982, 1983; Robertson et al., 1995; Rose, 1984; Saltmarsh, 2001) con la consiguiente aparición de la respuesta polidíptica.

De ser así, cabría esperar que la administración periférica (i.p) del factor natriurético hipofisario, oxitocina, que podría paliar en cierto modo las posibles irregularidades hidrominerales comentadas produjese un descenso significativo en la polidipsia tuberomamilar.

En efecto, tal y como había sucedido en el estudio con los animales diabéticos (experimento 8), la administración i.p de oxitocina en el grupo tuberomamilar medial (8 horas después de la intervención quirúrgica), disminuye de forma significativa la polidipsia de estos animales respecto a las condiciones evaluadas anteriormente (a pesar de tratarse de un periodo de 16 horas), hasta tal punto que no se producen respuestas diferenciales en la ingesta de agua con respecto al grupo control no lesionado (periodo 8-24 horas postlesión).

Estos resultados no se observan en los animales tuberomamilares que reciben la administración (i.p) de una solución salina isotónica, y que mantienen su patrón polidíptico. Es más, el consumo de agua del grupo tuberomamilar medial “suero fisiológico” es significativamente superior al manifestado por los animales experimentales que presentan el mismo daño cerebral, pero que reciben la administración periférica (i.p) de oxitocina, a pesar de no existir diferencias significativas entre ambos grupos en el volumen de orina excretado.

DISCUSIÓN FINAL

Estas respuestas diferenciales en la ingesta de agua entre los grupos lesionados del presente experimento, no pueden ser explicadas por un efecto aversivo del tratamiento neuroendocrino (oxitocina) como sugieren algunos autores (Verbalis et al., 1991) ya que los animales pertenecientes al grupo control que reciben la administración periférica de oxitocina (8 horas postlesión) no muestran ese descenso tan acusado en la ingesta de agua en el periodo comprendido entre las 8 y 24 horas postoperatorias respecto a los sujetos del grupo control que reciben la infusión (i.p) de la solución salina. Es más, la administración de la hormona neurohipofisaria provocó un consumo de líquidos significativamente mayor en este mismo intervalo de tiempo en el grupo control respecto a las primeras 8 horas postoperatorias (no recibían la administración de oxitocina), una circunstancia que no se llega a observar en los animales del grupo control que reciben la infusión de suero salino isotónico.

Una vez más, los datos obtenidos en esta serie experimental (capítulo V) parecen confirmar la relevancia del péptido neurohipofisario oxitocina en la regulación hídrica y mineral en vertebrados, pudiendo representar un sistema de reacción rápido y eficaz ante los posibles incrementos de sodio extracelular y osmolaridad que pueden manifestar los animales tuberomamilaes.

Relacionado con este punto, conviene destacar que coincidiendo con la disminución en la ingesta de agua descrita en el grupo tuberomamilar medial tras la administración de oxitocina, se observa una mayor liberación de sodio en orina (natriuresis) respecto al grupo lesionado que recibió la administración periférica de suero fisiológico (periodo 8-24 horas postlesión). Es más, al analizar los niveles de osmolaridad urinaria se puede comprobar que los animales experimentales que reciben la administración de la hormona neurohipofisaria presentan una mayor concentración en la orina que el grupo tuberomamilar medial “suero fisiológico”, que a su vez muestra una osmolaridad urinaria significativamente inferior que los animales pertenecientes al grupo control no lesionado.

Es posible que la mayor respuesta natriurética mostrada por el grupo experimental que recibe la administración de oxitocina, (lo que de alguna manera

facilitaría un control más adecuado sobre los niveles de sodio en el organismo), pueda explicar las respuestas diferenciales observadas en el consumo de líquidos (agua y ClNa) con respecto a los animales tuberomamilaes que reciben la administración periférica de suero salino isotónico en la última fase del experimento (24-30 y 30-48 horas postoperatorias).

En relación con esta interpretación, podría hipotetizarse que dado que la administración de la hormona neurohipofisaria conlleva una pérdida significativa de sodio en orina) (experimentos 8 y 9), se puede provocar un déficit en los niveles de sodio extracelular (hiponatremia), que explicaría las preferencias por la solución de ClNa hipertónica que muestran los animales lesionados respecto al grupo experimental con suero fisiológico (periodo 24-30 y 30-48 horas postoperatorio).

En resumen, y de acuerdo con los resultados que acabamos de describir, la polidipsia tuberomamilar podría estar relacionada con una serie de alteraciones en los procesos regulatorios hidrominerales, donde el sodio puede ocupar un papel fundamental (Bie et al., 2000; Fitzsimons, 1998; Johnson et al., 1997; McKinley et al., 1983; Robertson, 1982, 1983; Robertson et al., 1995; Rose, 1984; Saltmarsh, 2001), y que estarían mediadas fundamentalmente por la ausencia de factores hormonales de origen neurohipofisario.

DISCUSIÓN FINAL

Hipotálamo Posterior: Región Tuberomamilar. Implicación en los trastornos polidípsicos humanos.

Por último, y ya dentro del contexto clínico, sería interesante determinar si los efectos obtenidos como resultado de las lesiones tuberomamilares podrían explicar alguno de los trastornos humanos asociados con las polidipsias primarias (Dunn, 1990; Vonderen et al., 1999).

En este sentido, varios autores parecen coincidir en la posibilidad de que estas anomalías en la ingesta de líquidos pueden deberse a una serie de daños o lesiones localizados frecuentemente en la base del cerebro y/o zonas hipotalámicas adyacentes al III ventrículo (Bacic et al., 1999; Fitzsimons, 1979; Mellinger y Zafar, 1983; Robertson, 1987, 1995), donde como hemos visto a través de diferentes estudios anatómicos se encuentran los núcleos tuberomamilares (Brown et al., 2001; Ericson et al., 1987, 1991; Inagaki et al., 1988, 1990; Köhler et al., 1986; Panula et al., 1984; Schwartz et al., 1991; Watanabe et al., 1984).

Estas lesiones cerebrales suelen provocar diversos desequilibrios o variaciones en la osmolaridad del plasma así como en los niveles de sodio corporal, modificando sensiblemente de esta manera el consumo de agua (Bacic et al., 1999; Bronstein, 2000; Robertson, 1987, 1995; Seckl et al., 1987; Vonderen et al., 1999).

En relación con esta apreciación, una serie de estudios postmortem en pacientes esquizofrénicos, han observado una menor densidad neuronal bilateral (34%) en los cuerpos mamilares, región del hipotálamo posterior que mantiene estrechas conexiones sinápticas con los núcleos tuberomamilares, con respecto a personas normales (Briess et al., 1998). Es necesario recordar al respecto, que es bastante común entre la población psiquiátrica, y especialmente entre personas que padecen de esquizofrenia (6-17%) encontrarnos con volúmenes de ingesta de agua que pueden oscilar entre los 5 y 20 litros diarios (Barjau et al., 2000; Guisado et al., 2000; Kawai et al., 2001; Lerner et al., 2000; Mercier-Guidez, 2000; Verghese et al.,

1993). En alguno de estos casos, se han observado niveles de sodio plasmáticos significativamente elevados (hipernatremia), que contrastan con los valores de otros electrolitos (K⁺, Ca) que permanecen dentro de los rangos habituales (Lerner et al., 2000). Inicialmente, estos resultados obtenidos de la práctica clínica coinciden con los observados en nuestro laboratorio tras lesiones electrolíticas de la región mamilar (Morales y Puerto, 1988).

En el futuro, puede ser relevante examinar si estos resultados observados en la población psicótica podrían estar relacionados con algún tipo de alteración en los circuitos cerebrales implicados en la regulación de los niveles internos de sodio en el organismo y que experimentalmente han sido localizados principalmente en regiones del hipotálamo posterior, y quizá en el sistema tuberomamilar (sus subnúcleos constituyentes y/o sus conexiones).

De ser así, el tratamiento farmacológico con factores natriuréticos que incrementen la excreción renal de sodio sin afectar a la reabsorción de agua, así como el consumo de alimentos carentes de sal que no agraven los posibles desequilibrios osmolares producidos en este trastorno regulatorio, podría favorecer significativamente la polidipsia psicogénica.

Igualmente, y dentro de las polidipsias primarias, existen otros cuadros que cursan con manifestaciones de hiperdipsia. Este es el caso, por ejemplo, del aumento en la ingesta de líquidos y poliuria que se produce en ocasiones durante el embarazo (Bronstein et al., 2000; Iwasaki et al., 1991; Leggett et al., 1999; Robinson et al., 1991; Seckl et al., 1992).

Debido a que la polidipsia gestacional aparece fundamentalmente durante el primer trimestre del embarazo, algunos autores piensan que ciertos factores hormonales implicados en la regulación hidromineral podrían ser los responsables de estas alteraciones en la ingesta de líquidos (Robertson, 1983). En efecto, durante estos periodos se ha observado en estas personas polidípsicas una ausencia de

DISCUSIÓN FINAL

respuesta renal a la ADH (Durr et al., 1987; Singer et al., 1997) así como una reducción en los niveles de oxitocina plasmáticos (Van der Post et al., 1997).

En la actualidad, se desconoce cuál puede ser la explicación concreta de estos hechos, sin embargo algunas investigaciones sugieren que podría deberse a la acción de la vasopresinasa, un aminopéptido elaborado por el tejido placentario durante el embarazo, que produce la degradación de la vasopresina, oxitocina así como de otros péptidos (Fuwisaki et al., 1991; Iwasaki et al., 1991). De hecho, se ha observado que la actividad de esta sustancia decae gradualmente durante el postparto (Davison et al., 1989; Iwasaki et al., 1991), periodo en el que no existen alteraciones aparentes en los niveles de ADH y OT (Van der Post et al., 1997) y en el que tampoco aparecen cuadros de polidipsia (Iwasaki et al., 1991).

El tratamiento farmacológico más recomendado a la hora de intentar resolver el trastorno de la hiperdipsia gestacional es la desmopresina (dDAVP) fundamentalmente por el hecho de que no es degradada por la vasopresinasa (Kumar et al., 1998).

Además, y debido a que durante el embarazo se ha observado también un incremento significativo del 30-40% del volumen plasmático (Brown, 1988; Randolph et al., 1998; Van der Post et al., 1997) y que en muchas ocasiones viene acompañado de elevados niveles de sodio corporal (154 mosm/l) (Iwasaki et al., 1991) es práctica habitual recomendar a estas personas una restricción del consumo de ClNa con el fin de disminuir el volumen extracelular. Es más, este tratamiento será efectivo en mujeres embarazadas hipertensas debido a que como se sabe la hipertensión puede ser una consecuencia de la retención inapropiada de sal y de la expansión de volumen (Van der Post et al., 1997).

En resumen, tanto los estudios clínicos que hemos presentado como los datos observados en esta serie experimental permiten concluir que los niveles plasmáticos de sodio (responsable fundamental de los incrementos en osmolaridad) (Bie et al., 2000; Bronstein et al., 2000; Camargo et al., 2001; Fitzsimons, 1998; Huang et al.,

1995; Johnson et al., 1997; Natcheff et al., 1975; Robertson, 1982, 1983; Robertson et al., 1982; Rose, 1984, 1986; Saltmarsh, 2001; Schoorlemmer et al., 2000; Stricker et al., 2000; Verbalis et al., 2000), pueden jugar un papel importante en la modulación de la ingesta de agua. Este hecho pone de manifiesto la importancia que pueden tener en el mantenimiento del volumen y composición de los fluidos orgánicos, los mecanismos encargados del control del equilibrio hidromineral, y particularmente los factores endocrinos de origen neurohipofisario como la oxitocina y vasopresina (ver experimentos 8 y 9).

La posibilidad de establecer un paralelismo entre estos estudios en animales y los trastornos clínicos es una tarea que aún está por realizar. No obstante, en este tipo de relación entre el campo clínico y experimental, la Psicobiología ha demostrado ser relevante, aportando detallados modelos animales de alteraciones patológicas específicas que permiten comprender las características de determinados síndromes, así como su posible solución terapéutica.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1.- Las lesiones electrolíticas de los núcleos tuberomamilares son un proceso inductor de polidipsia específica y permanente. La polidipsia observada muestra una serie de cuadros o patrones bien definidos, dependiendo de la localización de las lesiones dentro del complejo tuberomamilar.

2.- Las lesiones electrolíticas individuales de los núcleos tuberomamilares ventrales E1 y E2 inducen hiperfagia.

3.- Este aumento en la ingesta de alimento se ve potenciado por las lesiones electrolíticas conjuntas de ambas estructuras, produciéndose una ganancia de peso corporal por parte de los animales lesionados con respecto al grupo control.

4.- La ritmicidad diurna/nocturna asociada al consumo de agua es distinta entre sujetos tuberomamilares y los sujetos polidípsicos por lesión en la eminencia media, aunque análoga a los animales controles.

5.- Tanto los animales con lesión anódica en la eminencia media (EM+) como los tuberomamilares ventrales E1, carecen de ritmicidad diurna/nocturna en la ingesta de comida.

6.- La polidipsia tuberomamilar es independiente de procesos no homeostáticos (sed prandial) que controlan la ingesta de agua.

7.- La polidipsia tuberomamilar es independiente de la ingesta de alimento, ya que la privación de comida no altera significativamente la hiperdipsia conseguida, siempre por encima del grupo control. Esto no sucede en los animales lesionados en la eminencia media (EM+), que reducen su ingesta de agua de manera significativa, e incluso por debajo del grupo control no lesionado.

CONCLUSIONES

8.- La polidipsia del modelo animal de diabetes insípida inducida por lesiones electrolíticas en la eminencia media, no puede ser explicada simplemente por la pérdida de grandes cantidades de fluido (poliuria).

9.- La polidipsia tuberomamilar refleja algún tipo de alteración en la regulación hidromineral de los fluidos internos, dada la respuesta diferencial en la ingesta de agua observada entre los grupos tuberomamilares mediales (E3-E4) y tuberomamilar ventral rostral E2 con respecto al grupo control tras la administración periférica (i,p) de ClNa.

10.- La polidipsia tuberomamilar y la hiperdipsia diabética inducida por lesiones en la eminencia media pueden ser consideradas como manifestaciones propias de 2 entidades diferentes.

11.- Al contrario de lo sucedido con los animales tuberomamilares mediales (E3-E4) y tuberomamilares ventrales (E2), los sujetos diabéticos con lesiones electrolíticas en la eminencia media reducen significativamente la ingesta de agua tras la administración periférica de ClNa.

12.- El daño producido en la eminencia media desencadena de manera inmediata un déficit volémico que los animales intentarán compensar con la ingesta elevada de agua así como de soluciones hipertónicas de cloruro sódico.

13.- Los animales con lesiones electrolíticas en la eminencia media muestran un aumento en la osmolaridad plasmática (hipernatremia) provocado fundamentalmente por los niveles elevados de sodio que presentan estos animales en el organismo y por la imposibilidad de liberar este exceso de electrolitos y ello a pesar de excretar un volumen de orina significativamente superior al observado en el grupo control.

CONCLUSIONES

14.- La administración periférica (i.p) de oxitocina disminuye el comportamiento polidípico observado en los animales diabéticos, mostrando éstos, mayores niveles de sodio urinario que los sujetos pertenecientes al grupo control.

15.- El mismo efecto se observa en los animales tuberomamilaes mediales (E3), quienes tras recibir la administración periférica de oxitocina disminuyen de forma significativa su polidipsia, coincidiendo con una mayor respuesta natriurética.

APÉNDICE

ABREVIATURAS

ADH	vasopresina
AGRP	proteína agouti
AII	angiotensina
Alfa-FMH	alfa fluoro-metilhistamina
Alfa-MSH	hormona estimulante de los melanocitos
AM	adrenomedulina
ANP	péptido natriurético atrial
ARQ	núcleo arqueado
AV3V	región anteroventral al III ventrículo
BH	barrera hematoencefálica
C.V	cerebro-ventricular
CART	transcriptor regulado por cocaína y anfetamina
CFR	líquido cefalorraquídeo
CLNA	Cloruro sódico
DI	diabetes insípida
E1	núcleo tuberomamilar ventral caudal
E2	núcleo tuberomamilar ventral rostral
E3	núcleo tuberomamilar ventral medial
E4	núcleo tuberomamilar dorsal medial
E5	núcleo tuberomamilar difuso
HL	hipotálamo lateral
HVM	hipotálamo ventromedial
I.C	intracerebral
I.V	intravenosa
MFB	fascículo prosencefálico medial
NPY	neuropéptido Y
NTS	núcleo del Tracto solitario
OT	oxitocina
OVL	órgano vasculoso de la lámina terminalis

PAV	núcleo paraventricular
PEG	glicol de polietileno
POMC	propiomelanocortina
PWS	síndrome de Prader-Willi
SFO	órgano subfornical
SIADH	síndrome de secreción inapropiada de vasopresina
SON	núcleo supraóptico
TM	tuberomamilar
TMM	tuberomamilar medial
TMV	tuberomamilar ventral

TABLAS

Grupos	LBase			Bloque 1 (Día 1)			Bloque 2 (Día 2)		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM+	32	2,27	0,86	64	14,79	5,59	102,43	30,93	11,69
EM-	30,8	1,72	0,77	35,6	8,57	3,83	42,8	3,92	1,75
E1	30,4	0,49	0,22	25,6	9,75	4,36	41,4	3,2	1,43
E2	30,2	0,75	0,33	28,6	13,11	5,86	49,60	10,05	4,5
E3	31,4	1,36	0,61	63,8	1,94	0,87	56,8	6,76	3,03
E4	31	1,15	0,47	95,5	4,82	1,97	85,33	7,48	3,05
GC	32	1,9	0,85	26,8	4,31	1,93	29,6	3,01	1,34

Grupos	Bloque 3 (Día 3)			Bloque 4/7 (Días 4-7)			Bloque 8/11 (Días 8-11)		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM+	83,43	22,64	8,56	64	17,4	6,59	87,43	25,8	9,79
EM-	42	4,2	1,88	36,4	3,38	1,51	39,8	4,87	2,18
E1	34,8	3,43	1,53	44,8	5,31	2,37	53,4	2,42	1,08
E2	43,2	7,55	3,38	49,6	8,62	3,85	58,8	11,25	5,03
E3	52,8	7,73	3,46	52,6	1,2	0,54	58,2	4,79	2,14
E4	73,67	10,99	4,49	74,5	10,84	4,43	81,17	8,11	3,31
GC	30,2	2,99	1,34	28,4	3,01	1,59	29,4	3,56	1,25

Grupos	Bloque 12/16 (Días 12-16)		
	Media	Sx	Sem
EM+	96,29	31,38	11,86
EM-	39,8	4,17	1,86
E1	58,6	3,38	1,51
E2	62,2	10,23	4,57
E3	67	9,74	4,35
E4	75,5	10,61	4,33
GC	29,6	2,8	1,57

Tabla 1: Promedio, desviación y error estándar de las cantidades de agua ingeridas por los grupos experimentales y grupo control a lo largo de los días tras la lesión electrolítica correspondiente.

APÉNDICE

Grupos	LBase			Bloque 1 (Día 1)			Bloque 2 (Día 2)		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM+	25,86	0,99	0,37	37,57	7,87	2,98	48,57	7,58	2,86
EM-	26,2	2,04	0,91	20,8	10,7	4,79	27,4	10,07	4,5
E1	26,8	1,17	0,52	29	2,97	1,33	32,20	4,26	1,91
E2	26,2	2,14	0,95	32,8	6,08	2,72	32,2	4,35	1,95
E3	28,6	0,49	0,22	22,8	1,47	0,66	29,4	3,07	1,37
E4	26,33	1,49	0,61	16	1,83	0,75	21,5	2,36	0,96
GC	27,8	2,64	1,18	27,8	2,48	1,11	26,4	2,58	1,15

Grupos	Bloque 3 (Día 3)			Bloque 4/7 (Días 4-7)			Bloque 8/11 (Días 8-11)		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM+	57	7,41	2,8	55,29	8,05	3,04	59,71	7,67	2,9
EM-	32,8	6,05	2,7	32,4	2,87	1,28	32	3,63	1,62
E1	33	2,97	1,33	34,4	4,13	1,85	33,2	2,32	1,04
E2	31	4,05	1,81	32,4	4,27	1,91	32,2	2,32	1,04
E3	28,4	3,14	1,4	25,8	2,79	1,25	27	1,1	0,49
E4	26,83	1,07	0,44	25,33	2,29	0,93	25,67	2,87	1,17
GC	25	3,16	1,41	26,40	2,42	1,08	25,4	1,85	0,83

Grupos	Bloque 12/16 (Días 12-16)		
	Media	Sx	Sem
EM+	58,71	11,62	4,39
EM-	32,2	3,31	1,48
E1	33,2	2,04	0,91
E2	31,4	2,33	1,04
E3	27,4	2,15	0,96
E4	25,17	2,27	0,93
GC	26,2	0,75	0,33

Tabla 2: Promedio, desviación y error estándar de las cantidades de alimento consumidas por los grupos experimentales y grupo control a lo largo de los días tras la lesión electrolítica correspondiente.

Grupos	Lbase (Días -2/-1)			Lesión (Días 17/18)		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM+	88	4,24	1,6	55,43	3,89	1,47
EM-	85,2	4,35	1,95	79,8	10,53	4,71
E1	82,6	5,1	2,27	83,6	3,9	1,73
E2	89	1,8	0,8	89	4,8	2,14
E3	86,2	4,1	1,82	84,4	3,7	1,64
E4	84,67	2,69	1,1	88,3	3,25	1,3
GC	83,6	5,1	2,27	81,2	5,4	2,42

Tabla 3: Promedio, desviación y error estándar de los porcentajes de agua ingerida durante la fase nocturna en los diferentes grupos experimentales y grupo control antes (días -2/-1) y después (días 17 y 18) de la lesión electrolítica correspondiente.

Grupos	Lbase (Días -2/-1)			Lesión (Días 17/18)		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM+	80,57	6	2,27	55,86	3,91	1,48
EM-	83,2	3,54	1,58	75,6	11,62	5,2
E1	81	3,4	1,52	65,6	6,9	3,11
E2	78,4	3,7	1,64	81,8	4,9	2,18
E3	77,6	5,1	2,27	76,6	2,7	1,19
E4	78,83	5,9	2,41	83,83	3,39	1,38
GC	78,8	5,1	2,29	80,6	0,8	0,36

Tabla 4: Promedio, desviación y error estándar de los porcentajes de alimento consumido durante la fase nocturna en los diferentes grupos experimentales y grupo control antes (días -2/-1) y después (días 17 y 18) de la lesión electrolítica correspondiente.

APÉNDICE

Grupos	Lbase (Día -6)			Lesión (Día 21)		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM+	10,29	0,88	0,33	10	0,63	0,28
EM-	10	0,63	0,28	9,8	0,98	0,44
E1	9,6	1	0,46	9,6	0,5	0,22
E2	10	1,7	0,75	9,6	1,7	0,78
E3	9,8	1,7	0,77	9,6	1,9	0,83
E4	9,83	1,21	0,5	9,83	0,69	0,28
GC	9,6	1	0,46	10	0,6	0,28

Tabla 5: Promedio, desviación y error estándar de las frecuencias de ingesta de agua en cada uno de los grupos experimentales y grupos control después de un programa de privación de comida antes (día -6) y después (día 21) de la lesión electrolítica correspondiente.

Grupos	Día 21			Día 22		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM+	101,43	30,87	11,67	11,86	4,85	1,83
EM-	37,2	5,67	2,54	16,2	5,49	2,46
E1	61	3,6	1,6	39	0,89	0,4
E2	60,4	2,4	1,08	43,8	12,78	5,72
E3	70,4	11,7	5,22	57,8	20,76	9,28
E4	80	10,28	4,2	48	2,24	0,91
GC	30	2,4	1,1	22	1,79	0,8

Tabla 6: Promedio, desviación y error estándar de las cantidades de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control antes (día 21) y después (día 22) de un programa de privación de comida (24 horas).

Grupos	LBase			Bloque 1 (Día 1)			Bloque 2 (Día 2)		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
Exp	30,13	1,17	0,41	4,38	2,91	1,03	39,88	4,2	1,48
GC	29,8	1,34	0,55	27,5	4,72	1,93	29,17	1,07	0,44

Grupos	Bloque 3 (Día 3)			Bloque 4/7 (Días 4-7)			Bloque 8/11 (Días 8-11)		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
Exp	33,38	3,31	1,17	45,63	2,83	1	45	2,18	0,77
GC	30,17	1,46	0,6	29,67	1,89	0,77	29,83	2,41	0,98

Grupos	Bloque 12/16			Bloque 17/19			Bloque 20/22		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
Exp	43,5	2,06	0,73	46,38	3,04	1,07	47,13	5,4	1,91
GC	30	1,29	0,53	31,33	1,37	0,56	31,83	1,57	0,64

Grupos	Bloque 23/25		
	Media	Sx	Sem
Exp	50,88	4,70	1,66
GC	31,33	1,11	0,45

Tabla 7: Promedio, desviación y error estándar de las cantidades de agua ingeridas por el grupo experimental tuberomamilar ventral (E1+E2) y grupo control a lo largo de diferentes bloques de días tras la lesión electrolítica sumativa correspondiente.

APÉNDICE

Grupos	LBase			Bloque 1 (Día 1)			Bloque 2 (Día 2)		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
Exp	28,38	2,23	0,79	34,88	2,42	0,86	46,38	4,53	1,6
GC	28,17	1,95	0,8	26,67	4,11	1,68	25,33	2,87	1,17

Grupos	Bloque 3 (Día 3)			Bloque 4/7 (Días 4-7)			Bloque 8/11 (Días 8-11)		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
Exp	38,5	4,5	1,59	42,38	5,74	2,03	41	5,48	1,94
GC	27	1,29	0,53	27	1,63	0,67	27,3	1,6	0,65

Grupos	Bloque 12/16			Bloque 17/19			Bloque 20/22		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
Exp	42,13	4,70	1,66	41,25	3,7	1,31	42,5	2,74	0,97
GC	27,67	1,97	0,81	26,67	2,21	0,9	27	1,53	0,62

Grupos	Bloque 23/25		
	Media	Sx	Sem
Exp	44,5	2,29	0,81
GC	27,17	1,34	0,55

Tabla 8: Promedio, desviación y error estándar de las cantidades de alimento ingeridas por el grupo experimental tuberomamilar ventral (E1+E2) y grupo control a lo largo de diferentes bloques de días tras la lesión electrolítica sumativa correspondiente.

Grupos	LBase			Bloque 1 (Día 1)			Bloque 2 (Día 2)		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM+	293	14,36	5,08	278	14,71	5,2	300	13,67	4,83
EM-	294	19,26	7,86	295	17,97	7,34	301	16,75	6,84

Grupos	Bloque 3 (Día 3)			Bloque 4/7 (Días 4-7)			Bloque 8/11 (Días 8-11)		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM+	311	14,93	5,28	323	14,63	5,17	343	16,73	5,92
EM-	308	17,31	7,07	316	14,52	5,93	324	16,43	6,71

Grupos	Bloque 12/16			Bloque 17/19			Bloque 20/22		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM+	367	19,37	6,85	383	19,44	6,87	391	21,04	7,44
EM-	329	15,99	6,53	334	16,55	6,76	337	17,25	7,04

Grupos	Bloque 23/25		
	Media	Sx	Sem
EM+	399	20,31	7,18
EM-	348	14,5	5,92

Tabla 9: Promedio, desviación y error estándar en el peso corporal manifestadas por el grupo experimental tuberomamilar ventral (E1+E2) y grupo control a lo largo de los diferentes bloques de días tras la lesión electrolítica sumativa correspondiente.

Grupos	LBase			Día 1			Día 2		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM+	31,67	1,8	0,73	97,17	27,93	11,4	26,33	20,55	8,39
E1	31,4	1,2	0,54	53,6	6,37	8,78	52,4	6,37	2,85
E2	30,3	1,5	0,61	42,5	3,2	1,31	53,5	16,1	6,57
E3	31,2	1,7	0,68	97,8	39,7	16,19	68,5	27,9	11,38
E4	31	2,1	0,94	88,6	14,1	6,31	72,6	9,1	4,07
GC	31,5	1,89	0,77	25	5,26	2,15	29,17	2,03	0,83

Grupos	Día 3			Días 4/7			Días 8/10		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM+	63,83	17,39	7,1	82,33	22,49	9,18	111,33	29,35	11,98
E1	50,8	9,5	4,25	48,8	4,79	2,14	54,8	5,11	2,29
E2	39,8	6,5	2,64	52,7	5,7	2,34	53,8	3,3	1,34
E3	71	23,5	9,58	63	10,3	4,2	66,2	9,3	3,79
E4	75,6	7,7	3,45	69,6	10,4	4,65	62	6,5	2,93
GC	30	2,58	1,05	30,83	1,67	0,68	29,83	1,07	0,44

Tabla 10: Promedio, desviación y error estándar de las cantidades de agua ingeridas por los grupos experimentales y grupo control a lo largo de los diferentes bloques de días tras la lesión electrolítica correspondiente.

Grupos	LBase			Día 1			Día 2		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM+	27,3	1,97	0,81	27,3	3,25	1,33	43	10,18	4,16
E1	27,8	1,33	0,59	28,4	3,61	1,61	33,4	2,15	0,96
E2	27,2	2	0,8	30	2,9	1,2	31	1,8	0,75
E3	28	1,2	0,47	23,3	4,1	1,68	24,8	4,8	1,95
E4	27,2	1,2	0,52	16,6	3,9	1,73	24,2	2,6	1,18
GC	27,83	1,07	0,44	26,67	1,25	0,51	27,6	1,25	0,51

Grupos	Día 3			Días 4/7			Días 8/10		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM+	49	6,22	2,54	50,83	3,53	1,44	53,5	3,82	1,56
E1	34,2	1,94	0,87	36,4	1,36	0,61	37,8	2,32	1,04
E2	33,7	1,6	0,65	34,3	2,5	1,02	35,8	1,6	0,64
E3	25	3,6	1,45	27,3	1,7	0,69	28,8	0,7	0,28
E4	26,8	1,5	0,66	28,2	1,9	0,87	29,6	0,5	0,22
GC	27,67	1,37	0,56	27,67	1,25	0,51	27,67	1,70	0,69

Tabla 11: Promedio, desviación y error estándar de las cantidades de comida ingeridas por los grupos experimentales y grupo control a lo largo de los diferentes bloques de días tras la lesión electrolítica correspondiente.

Grupos	CINa			Sacarosa			Ficticia I		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM+	6,17	1,07	0,44	5,00	1,15	0,47	7,83	2,11	0,86
E1	6,80	1,72	0,77	3,80	0,98	0,44	2,40	0,49	0,22
E2	8,33	1,25	0,51	3,50	1,26	0,51	3,00	0,82	0,33
E3	13,17	2,67	1,09	4,50	1,26	0,51	5,67	1,25	0,51
E4	13,80	1,47	0,66	3,60	1,50	0,67	4,40	1,02	0,46
GC	4,50	0,50	0,20	3,83	0,69	0,28	0,67	0,47	0,19

Grupos	PEG			Ficticia II		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM+	4,83	1,34	0,55	10,50	2,36	0,96
E1	4,40	1,85	0,83	3,40	0,49	0,22
E2	3,83	1,07	0,44	3,83	1,07	0,44
E3	4,83	2,27	0,93	7,00	1,15	0,47
E4	5,80	1,60	0,72	5,40	1,20	0,54
GC	3,83	0,90	0,37	1,67	0,47	0,19

Tabla 12: Promedio, desviación y error estándar de las cantidades de agua ingeridas por los grupos experimentales y grupos control en respuesta a tratamientos dipsogénicos osmóticos y volémicos

APÉNDICE

Grupos	Día 1			Día 2			Día 3			Día 4		
	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem
EM1	87,43	15,69	5,93	54,86	14,07	5,32	78,43	16,76	6,33	14,71	4,37	1,65
GC1	13,83	5,21	2,13	21,83	5,43	2,22	40,17	1,86	0,76	22,67	9,48	3,87
EM2	134,7	16,57	6,26	24,86	13,81	5,22	63,14	17,03	6,44	51,57	7,13	2,69
GC2	34,33	5,53	2,26	21,50	7,99	3,26	40,17	5,24	2,14	34,00	3,96	1,62
EM3	103,4	39,18	14,81									
GC3	21,50	6,16	2,51									

Tabla 13: Promedio, desviación y error estándar de las cantidades de líquido ingeridas por los grupos experimentales y grupos control tras una serie de manipulaciones relacionadas con la dieta.

Grupos	Día 1			Día 2			Día 3			Día 4		
	Med.	Sx	Sem	Med.	Sx	Sem	Med.	Sx	Sem	Med.	Sx	Sem
EM1	64,00	13,15	4,97	40,43	13,87	5,24	43,14	15,65	5,92	12,14	7,24	2,74
GC1	15,17	9,49	3,88	7,67	3,54	1,45	10,00	5,07	2,07	15,33	11,16	4,56
EM2	78,43	28,54	10,79	21,71	16,32	6,17	19,57	6,11	2,31	15,29	9,05	3,42
GC2	34,00	9,87	4,03	14,67	8,79	3,59	10,33	3,94	1,61	7,50	3,25	1,33
EM3	57,00	30,50	11,53									
GC3	7,67	1,37	0,56									

Tabla 14: Promedio, desviación y error estándar de las cantidades de volumen de orina excretadas por los grupos experimentales y grupos control tras una serie de manipulaciones relacionadas con la dieta.

Grupos	Día 1			Día 2			Día 3			Día 4		
	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem
EM1							41,57	5,78	2,18			
GC1							31,50	4,35	1,78			
EM2							35,43	9,29	3,51	38,57	9,85	3,72
GC2							28,67	7,16	2,92	31,83	2,48	1,01
EM3	24,57	4,27	1,61	43,57	5,83	2,20						
GC3	25,17	4,91	2,01	27,83	2,73	1,12						

Tabla 15: Promedio, desviación y error estándar de las cantidades de alimento consumidas por los grupos experimentales y grupos control tras una serie de manipulaciones relacionadas con la dieta.

Grupos	L.Base			Día 1			Día 2			Día 3		
	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem
EM1	28,86	2,59	0,98	114,29	30,45	11,51	135,57	39,73	15,02	106,71	21,09	7,97
GC1	29,50	1,38	0,57	20,33	7,82	3,19	22,33	6,97	2,84	39,17	5,27	2,15
EM2	29,00	3,89	1,47	126,29	45,36	17,14	98,57	26,00	9,83	65,14	28,68	10,84
GC2	30,17	1,46	0,60	21,83	5,55	2,27	23,83	3,48	1,42	27,17	2,54	1,04
EM3	30,14	1,36	0,51	145,71	39,02	14,75	87,14	15,12	5,72	96,00	27,81	10,51
GC3	29,83	1,07	0,44	20,33	7,20	2,94	26,83	4,34	1,77	39,17	4,56	1,86

Grupos	Día 4			Día 5			Día 6			Día 7		
	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem
EM1	59,14	8,85	3,35	71,29	12,26	4,63	123,71	21,34	8,07	154,86	31,03	11,73
GC1	34,67	6,52	2,66	27,83	3,67	1,50	30,83	6,01	2,45	32,50	5,74	2,34
EM2	54,71	16,27	6,15	68,57	15,49	5,85	83,29	11,83	4,47	105,86	24,26	9,17
GC2	27,17	3,44	1,40	25,50	4,96	2,02	27,67	3,68	1,50	28,00	3,06	1,25
EM3	83,71	26,27	9,93	66,14	15,53	5,87	131,71	20,98	7,93	160,00	15,64	5,91
GC3	28,00	2,31	0,94	28,33	2,21	0,90	27,17	2,41	0,98	28,67	3,25	1,33

Tabla 16: Promedio, desviación y error estándar de las cantidades de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo postoperatorio y tras la manipulación de una serie de condiciones experimentales que afectan a los niveles de sodio en el organismo.

Grupos	Día 3			Día 4			Día 5			Día 6		
	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem
EM1	28,14	1,55	0,59							41,57	5,78	2,18
GC1	27,67	1,70	0,69							31,50	4,35	1,78
EM2	29,86	1,25	0,47							35,43	9,29	3,51
GC2	29,17	2,61	1,07							28,67	7,16	2,92
EM3	27,57	2,66	1,01	24,57	4,27	1,61	43,57	5,83	2,20			
GC3	27,33	1,11	0,45	25,17	4,91	2,01	27,83	2,73	1,12			

Grupos	Día 7		
	Med	Sx	Sem
EM1			
GC1			
EM2	38,57	9,85	3,72
GC2	31,83	2,48	1,01
EM3			
GC3			

Tabla 17: Promedio, desviación y error estándar de las cantidades de alimento consumidas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo postoperatorio tras la manipulación de una serie de condiciones experimentales que afectan a los niveles de sodio en el organismo.

APÉNDICE

Grupos	6 Horas			6/24 Horas			24/48 Horas		
	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem
EM1	18,29	4,74	1,79	77,57	29,50	11,15	96,14	32,86	12,42
GC1	3,17	2,11	0,86	17,67	9,23	3,77	13,00	5,42	2,21
EM2	13,00	4,44	1,68	66,71	24,92	9,42	50,14	23,49	8,88
GC2	3,00	1,00	0,41	10,17	4,71	1,92	16,50	5,35	2,18
EM3	15,57	3,37	1,28	102,57	32,24	12,19	61,43	18,88	7,14
GC3	3,17	1,77	0,72	20,33	6,87	2,81	18,17	5,79	2,36

Tabla 18: Promedio, desviación y error estándar de las cantidades de volumen de orina excretadas por los diferentes grupos experimentales y grupos control tras la lesión electrolítica correspondiente y después de la manipulación de una serie de condiciones experimentales que afectan a los niveles de sodio en el organismo.

Grupos	6 Horas			6/24 Horas			24/48 Horas		
	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem
EM1	0,77	0,33	0,13	0,79	0,20	0,08	0,83	0,23	0,09
GC1	0,58	0,25	0,10	0,90	0,18	0,07	0,58	0,09	0,04
EM2	0,25	0,08	0,03	0,55	0,13	0,05	0,85	0,25	0,09
GC2	0,34	0,11	0,05	0,98	0,30	0,12	0,87	0,11	0,04
EM3	0,19	0,09	0,03	0,64	0,21	0,08	0,38	0,13	0,05
GC3	0,31	0,10	0,04	0,87	0,12	0,05	0,57	0,14	0,06

Tabla 19: Promedio, desviación y error estándar de las cantidades de sodio en orina excretadas por los diferentes grupos experimentales y grupos control tras la lesión electrolítica correspondiente y después de la manipulación de una serie de condiciones experimentales que afectan a los niveles de sodio en el organismo.

Grupos	6 Horas			6/24 Horas			24/48 Horas		
	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem
EM1	838	160,7	60,75	532,43	92,27	34,88	357,71	51,09	19,31
GC1	1434	122,9	50,19	1048,3	413,12	168,66	935,00	289,26	118,09
EM2	559	106,3	40,20	435,86	155,66	58,84	608,71	99,27	37,52
GC2	1567	142,3	58,11	1629,3	341,00	139,21	1847,5	257,87	105,28
EM3	456	181,6	68,64	359,43	138,79	52,46	205,71	48,29	18,25
GC3	1659	247,1	100,8	1601,5	893,67	364,84	028,67	203,49	83,07

Tabla 20: Promedio, desviación y error estándar de las cantidades obtenidas en los valores de osmolaridad urinaria por parte de los diferentes grupos experimentales y grupos control tras la lesión electrolítica correspondiente y después de la manipulación de una serie de condiciones experimentales que afectan a los niveles de sodio en el organismo.

24 Horas			
Grupos	Media	Sx	Sem
EM1	81,86	8,06	3,05
GC1	19,17	4,63	1,89
EM2	155,8	12,8	4,83
GC2	23,33	7,67	3,13
EM3	105	33,42	13,64
GC3	28	6,53	2,67
EM4	92,57	8,91	3,64
GC4	22,83	8,47	3,46
EM5			
GC5			

Tabla 21: Promedio, desviación y error estándar de las cantidades de líquido ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control después de la lesión electrolítica correspondiente tras ser sometidos a una serie de manipulaciones experimentales que afectan a la dieta de los mismos.

24 Horas			
Grupos	Media	Sx	Sem
EM1	146	1,07	0,40
GC1	144,6	0,75	0,30
EM2	156,4	13,5	5,09
GC2	144,5	1,12	0,46
EM3	145,7	0,7	0,29
GC3	143,6	0,94	0,38
EM4	143	1,85	0,76
GC4	140,3	0,47	0,19
EM5	150,7	7,26	2,97
GC5	143,3	1,25	0,51

Tabla 22: Promedio, desviación y error estándar de las cantidades obtenidas en los niveles de sodio plasmático por los diferentes grupos experimentales y grupos control después de la lesión electrolítica correspondiente tras ser sometidos a una serie de manipulaciones experimentales que afectan a la dieta de los mismos.

APÉNDICE

Grupos	6 Horas			6/24 Horas		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM1	15,86	3,4	1,28	51,71	7,81	2,95
GC1	5,17	1,07	0,44	18,83	4,3	1,75
EM2	18,86	11,36	4,29	83,71	22,66	8,56
GC2	7,00	1,29	0,53	26,17	13,33	5,44
EM3	10,71	3,92	1,60	57,86	29,56	12,07
GC3	2,83	0,9	0,37	6,50	1,12	0,46
EM4	11,57	3,06	1,25	28,14	6,01	2,45
GC4	4,00	0,82	0,33	9,00	4,47	1,83
EM5	12,86	1,96	0,80	6,14	2,59	1,06
GC5	6,67	1,8	0,73	9,83	2,11	0,86

Tabla 23: Promedio, desviación y error estándar en las cantidades de volumen excretadas por los diferentes grupos experimentales y grupos control después de la lesión electrolítica correspondiente y tras ser sometidos a una serie de manipulaciones experimentales que afectan a la dieta de los mismos.

Grupos	6 Horas			6/24 Horas		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM1	0,37	0,1	0,04	0,61	0,15	0,06
GC1	0,24	0,12	0,05	0,67	0,12	0,05
EM2	0,97	0,7	0,28	8,68	5,7	2,14
GC2	0,44	0,3	0,12	4,25	2,24	0,92
EM3	0,45	0,09	0,04	0,85	0,4	0,16
GC3	0,37	0,16	0,06	1,24	0,45	0,18
EM4	0,47	0,17	0,07	0,67	0,31	0,13
GC4	0,54	0,11	0,04	0,80	0,33	0,13
EM5	0,27	0,09	0,03	0,41	0,25	0,10
GC5	0,34	0,18	0,07	0,42	0,2	0,08

Tabla 24: Promedio, desviación y error estándar en los niveles de sodio en orina excretados por los diferentes grupos experimentales y grupos control después de la lesión electrolítica correspondiente y tras ser sometidos a una serie de manipulaciones experimentales que afectan a la dieta de los mismos.

TABLAS

Grupos	6 Horas			6/24 Horas		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EM1	851,5	286,2	108,1	471,29	106,64	40,31
GC1	1573	346,8	141,5	974,83	121	49,40
EM2	817,5	218,7	82,65	716,00	240,1	90,76
GC2	928	173,2	70,71	895,50	299,2	122,15
EM3	747	222,3	90,76	801,29	740,01	302,11
GC3	1663	305,5	124,7	2457,5	500,7	204,41
EM4	857,7	397,8	162,4	727,00	332,12	135,59
GC4	1575	357,6	146,0	1988,3	635,51	259,44
EM5	947,2	348,2	142,1	1690,5	285,68	116,63
GC5	1835	382,2	156,0	1581,5	248,75	101,55

Tabla 25: Promedio, desviación y error estándar en los niveles de osmolaridad urinaria por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante varios periodos postoperatorios tras ser sometidos a una serie de manipulaciones experimentales que afectan a la dieta de los mismos.

Grupos	24 Horas		
	Media	Sx	Sem
EM1			
GC1			
EM2			
GC2			
EM3	33,43	4,81	1,96
GC3	28,17	1,57	0,64
EM4	37,43	3,66	1,49
GC4	29,17	1,07	0,44
EM5			
GC5			

Tabla 26: Promedio, desviación y error estándar de las cantidades de alimento consumidas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo postoperatorio.

APÉNDICE

Grupos	8 Horas			8/24 Horas			24/30 Horas			30/48 Horas		
	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem
EMOT	25,67	10,9	4,44	40,00	7,6	3,10	34,00	10,4	4,25	88,50	37,3	15,23
GCOT	10,20	1,72	0,77	21,60	4,27	1,91	8,20	1,33	0,59	29,60	1,74	0,78
EMSF	21,50	8,14	3,32	79,50	25,82	10,54	21,83	6,54	2,67	73,17	20,47	8,36
GCSF	10,80	1,47	0,66	10,40	1,5	0,67	5,60	2,06	0,92	24,80	1,54	0,87

Tabla 27: Promedio, desviación y error estándar en las cantidades de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante varios periodos postoperatorios.

Grupos	8 Horas			8/24 Horas		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EMOT	35,50	4,6	1,87	56,33	14,8	6,05
GCOT	9,00	1,41	0,63	29,20	4,66	2,09
EMSF	26,17	8,74	3,57	65,83	20,23	8,26
GCSF	9,20	1,17	0,52	11,20	2,32	1,04

Tabla 28: Promedio, desviación y error estándar en el volumen de orina excretado por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante varios periodos postoperatorios.

Grupos	8 Horas			8/24 Horas		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EMOT	0,17	0,1	0,03	1,59	1,2	0,48
GCOT	0,32	0,1	0,05	0,73	0,14	0,06
EMSF	0,23	0,12	0,05	0,39	0,07	0,03
GCSF	0,31	0,08	0,04	0,51	0,29	0,13

Tabla 29: Promedio, desviación y error estándar en los niveles de sodio urinario excretado por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante varios periodos postoperatorios.

Grupos	8 Horas			8/24 Horas		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
EMOT	220,6	94,6	38,62	986,00	526	214,74
GCOT	965,2	251,7	112,5	1010	143,8	64,33
EMSF	297,6	97,86	39,95	243,33	102,73	41,94
GCSF	895,4	186,7	83,49	776,80	189,58	84,78

Tabla 30: Promedio, desviación y error estándar en los niveles de osmolaridad urinaria reflejados por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante varios periodos postoperatorios.

Grupos	24/30 Horas			30/48 Horas		
EMOT	11,17	4,2	1,71	15,50	5,1	2,06
GCOT	6,60	1,85	0,83	6,20	1,33	0,59
EMSF	7,50	2,06	0,84	10,50	2,75	1,12
GCSF	4,80	1,17	0,52	5,20	0,75	0,33

Tabla 31: Promedio, desviación y error estándar en las cantidades de CINA ingeridas por los grupos experimentales y grupos control durante varios periodos postoperatorios.

Grupos	30/48 Horas		
	Media	Sx	Sem
EMOT	38,33	1,9	0,77
GCOT	28,60	2,42	1,08
EMSF	36,00	7,66	3,13
GCSF	25,80	1,72	0,77

Tabla 32: Promedio, desviación y error estándar en las cantidades de alimento consumidas por los grupos experimentales y grupos control durante el periodo postoperatorio.

APÉNDICE

Grupos	8 Horas			8/24 Horas			24/30 Horas			30/48 Horas		
	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem	Med	Sx	Sem
E3OT	60,33	18,48	7,54	23,33	8,73	3,56	21,67	12,24	5,00	81,83	25,87	10,56
GCOT	10,00	1,67	0,75	18,60	3,83	1,71	6,40	2,15	0,96	30,40	1,50	0,67
E3SF	63,83	22,56	9,21	67,67	14,79	6,04	6,83	2,41	0,98	64,67	5,12	2,09
GCSF	9,80	1,60	0,72	12,00	1,41	0,63	5,40	2,50	1,12	24,60	2,65	1,19

Tabla 33: Promedio, desviación y error estándar en las cantidades de agua ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante varios periodos postoperatorios.

Grupos	8 Horas			8/24 Horas		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
E3OT	53,83	18,31	7,47	34,33	12,36	5,05
GCOT	10,00	2,83	1,26	25,40	4,22	1,89
E3SF	52,67	18,47	7,54	57,17	14,39	5,88
GCSF	8,60	0,80	0,36	15,40	1,50	0,67

Tabla 34: Promedio, desviación y error estándar en el volumen de orina excretado por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante varios periodos postoperatorios.

Grupos	8 Horas			8/24 Horas		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
E3OT	0,47	0,25	0,10	1,68	0,32	0,13
GCOT	0,29	0,09	0,04	0,75	0,51	0,23
E3SF	0,40	0,14	0,06	0,47	0,23	0,10
GCSF	0,33	0,07	0,03	0,59	0,25	0,11

Tabla 35: Promedio, desviación y error estándar en los niveles de sodio excretados por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante varios periodos postoperatorios.

Grupos	8 Horas			8/24 Horas		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
E3OT	212,3	100,9	41,20	992,00	458,52	187,19
GCOT	925,4	247,2	110,5	951,40	76,99	34,43
E3SF	201	89,58	36,57	215,83	57,29	23,39
GCSF	986	237,1	106	855,40	87,45	39,11

Tabla 36: Promedio, desviación y error estándar en los niveles de osmolaridad urinaria reflejados por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante varios periodos postoperatorios.

Grupos	24/30 Horas			30/48 Horas		
	Media	Sx	Sem	Media	Sx	Sem
E3OT	14,00	3,92	1,60	19,67	5,96	2,43
GCOT	6,00	1,41	0,63	5,60	1,85	0,83
E3SF	5,33	1,80	0,73	7,00	3,42	1,39
GCSF	5,00	0,63	0,28	5,20	0,75	0,33

Tabla 37: Promedio, desviación y error estándar en las cantidades de CINA ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante varios periodos postoperatorios.

Grupos	30/48 Horas		
	Media	Sx	Sem
E3OT	32,17	6,23	2,54
GCOT	29,20	6,68	2,99
E3SF	29,67	2,75	1,12
GCSF	26,40	2,73	1,22

Tabla 38: Promedio, desviación y error estándar en las cantidades de alimento ingeridas por los diferentes grupos experimentales y grupos control durante el periodo postoperatorio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIRAKSINEN, M., ALANEN, S., SZABAT, E., VISSER, & PANULA, P. (1992). Multiple neurotransmitters in the tuberomammillary nucleus: comparison of rat, mouse, and guinea pig. J. Comp. Neurol., 323: 103-116.
- AKINS, V & BEALER, S. (1993). Hypothalamic histamine release, neuroendocrine and cardiovascular responses during tuberomammillary nucleus stimulation in the conscious rat. Neuroendocrinology., 57: 849-855.
- ARMSTRONG, W & SLADEK, C. (1985). Evidence for excitatory actions of histamine on supraoptic neurons in vitro: mediation by an H1-type receptor. Neuroscience. 16: 307-322.
- BACIC, A & GLUNCIC, I. (1999). Disturbances in plasma sodium in patients with war head injuries. Milit. Medic., 164: 214-216.
- BARJAU, J & CHINCHILLA, A. (2000). Polidipsia primaria y trastornos de la conducta alimentaria: a propósito de tres casos. Act. Esp. Psiquiatr., 28 : 137-139.
- BASTOS, R., FAVARETTO, A., GUTKOWSKA, J., McCANN, S AND ANTUNES-RODRIGUES, J. (2001). Alpha-adrenergic agonists inhibit the dipsogenic effect of angiotensin II by their stimulation of atrial natriuretic peptide release. Brain Res., 895: 80-88.
- 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.
- BLASS, E & HANSON, D. (1970). Primary hyperdipsia in the rat following septal lesions. J. Comp. Physiol. Psychol., 70: 87-93.
- BOURQUE, C. W., OLIET, S AND RICHARD, D. (1994). Osmoreceptors, osmoreception, and osmoregulation. Front. Neuroendoc., 15: 231-274.
- 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.
- BROWN, M. (1988). Sodium and plasma volume regulation in normal and hypertensive pregnancy: a review of physiology and clinical implications. Clin. Exp. Hypert. Preg., B7: 265-282.
- BROWN, R., STEVENS, D AND HAAS, H. (2001). The physiology of brain histamine. Progr. Neurobiol., 63: 637-672.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BUGGY, J & JOHNSON, A. K. (1977). Preoptic-hypothalamic periventricular lesions: thirst deficits and hypernatremia. Am. J. Physiol., 233: R44-R52.
- CHIRIGUER, R., ROCHA, M. A., ANTUNES-RODRIGUES, J & FRANCI, C. (2001). Hypothalamic atrial natriuretic peptide and secretion of oxytocin. Brain Res., 889: 239-242.
- CORREA, F & SAAVEDRA, J. (1981). Increase in histamine concentrations in discrete hypothalamic nuclei of spontaneously hypertensive rats. Brain Res., 205: 445-451.
- CORT, J. H. (1963). Spontaneous salt intake in the rat following lesions in the posterior hypothalamus. Physiol. Bohemosl., 12 : 502-505.
- COSCINA, D., GRANT, L., BALAGURA, S AND GROSSMAN, S. (1972). Hyperdipsia after serotonin-depleting midbrain lesions. Nature., 235: 63-64.
- CUNNINGHAM, E & SAWCHENKO, P. (1991). Reflex control of magnocellular vasopressin and oxytocin secretion. Trends Neurosc., 14: 406-411.
- DIEPEN, R. (1962). Der Hypothalamus. In: Köhler, C et al., 1985. The cytoarchitecture, histochemistry and projections of the tuberomammillary nucleus in the rat. Neuroscience., 16: 85-110.
- DOI, T., SAKATA, T., YOSHIMATSU, H., MACHIDORI, H., KUROKAWA, M., JAYASEKARA, L AND NIKI, N. (1994). Hypothalamic neuronal histamine regulates feeding circadian rhythm in rats. Brain Res., 641 : 311-318.
- DUNN, J. (1990). Differential diagnosis of polyuria and polydipsia. In: Hutchinson, M ed. Manual of small animal endocrinology, 1st ed. Worthing, UK: Amherst Offset Ltd., 155-167.
- 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.
- ERICSON, H., BLOMQUIST, A AND KÖHLER, C. (1991). Origin of neuronal inputs to the region of the tuberomammillary nucleus of the rat brain. J. Comp. Neurol., 311: 45-64.
- FITZSIMONS, J. (1979). The physiology of thirst and sodium appetite. Cambridge University Press.
- FUJIMOTO, K., SAKATA, T., OOKUMA, M., YAMATODANI, A AND WADA, H. (1990). Hypothalamic histamine modulates adaptive behavior of rats at high environmental temperature. Experientia., 46: 284-285.
- FUKAGAWA, K., SAKATA, T., SHIRAIISHI, T., YOSHIMATSU, H., FUJIMOTO, K., OOKUMA, K AND WADA, H. (1989). Neuronal histamine modulates feeding behavior through H1-receptor in rat hypothalamus. Am. J. Physiol., 256: R605-R611.
- GROSSBERG, S. (2000). The imbalanced brain: from normal behavior to schizophrenia. Biol. Psychiatry., 48: 81-98.
- GROSSMAN, SP & GROSSMAN, L. (1963). Food and water intake following lesions or electrical stimulation of the amigdala. Am. J. Physiol., 205: 761-765.
- GUISADO, J., HERNÁNDEZ, M., JUÁREZ, C AND GONZALEZ-LLERA, F. (2000). Intoxicación hídrica con hiponatremia: a propósito de dos casos clínicos. Act. Esp. Psiquiatr., 28: 67-70.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GUTKOWSKA, J., JANKOWSKI, M., LAMBERT, C., MUKADDAM-DAHER, S., ZINGG, H & McCANN. (1997). Oxytocin releases atrial natriuretic peptide by combining with oxytocin receptors in the heart. Proc. Natl. Acad. Scienc., 94: 11704-11709.
- GUYTON, A. C. (1976). Tratado de Fisiología Médica. Interamericana.
- HARVEY, J & HUNT, H. (1965). Effects of septal lesions on thirst in the rat as indicated by water consumption and operant responsivity for water reward. J. Comp. Physiol. Psychol., 59: 49-56.
- HATTON, G. I. & LI, Z. H. (1998). Neurophysiology of magnocellular neuroendocrine cells: recent advances. Prog. Brain Res., 119: 77-99.
- 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.
- HIGUCHI, M., YANAI, K., OKAMURA, N., MEGURO, K., ARAI, H., ITOH, M et al. (2000). Histamine H1 receptors in patients with alzheimer's disease assessed by positron emission tomography. Neuroscience. 99: 721-729.
- 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.
- HWAN KIM, S., CAIRNS, N., FOUNTOULAKIS, M AND LUBEC, G. (2001). Decreased brain histamine-releasing factor protein in patients with Down syndrome and alzheimer's disease. Neurosc. Lett., 300: 41-44.
- 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.
- IWASAKI, Y., OISO, Y., KONDO, K., TAKAGI, S., TAKATSUKI, K., HASEGAWA, H et al. (1991). Aggravation of subclinical diabetes insipidus during pregnancy. New Engl. J. Med., 324: 522-526.
- KAVELAARS, J., TAMMSMA, J AND MEINDERS, A. (2001). Hyponatremia in a non insulin dependent (type 2) diabetic patient with central diabetes insipidus. Netherl. J. Med., 58: 150-154.
- KAWAI, N., BABA, A., SUZUKI, T AND SHIRAIISHI, H. (2001). Roles of arginine vasopressin and atrial natriuretic peptide in polydipsia-hyponatremia os schizophrenic patients. Psychiatr. Res., 101: 39-45.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- KJAER, A., KNIGGE, U., ROULEAU, A., GARBARG, M AND WARBERG, J. (1994a). Dehydration-induced release of vasopressin involves activation of hypothalamic histaminergic neurons. Endocrinology., 135: 675-681.
- KJAER, A., LARSEN, P., KNIGGE, U AND WARBERG, J. (1994b). Histaminergic activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Endocrinology., 135: 1171-1177.
- 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.
- 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.
- 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.
- KÖHLER, C., SWANSON, L., HAGLUND, L AND WUS, J. (1985). The cytoarchitecture, histochemistry and projections of the tuberomammillary nucleus in the rat. Neuroscience., 16 : 85-110.
- KRALY, S., TRIBUZIO, R., KIM, Y., KEEFE, M AND FINKELL, J. (1995). Histamine H3 receptors contribute to drinking elicited by eating in rats. Physiol. Behav., 58: 1091-1097.
- LERNER, V., MIODOWNIK, C., LIBOV, I AND KOTLER, M. (2000). Unusual combination: polydipsia with hypernatremia in a schizophrenic patient. Isr. J. Psychiatr. Rel. Scienc., 37 : 37-40.
- LEURS, R., BLANDINA, P., TEDFORD, C AND TIMMERMAN, H. (1998). Therapeutic potential of histamine H3 receptor agonists and antagonists. Tips., 19 : 177-183.
- LICHARDUS, B & PONEC, J. (1973). On the role of the hypophysis in the renal mechanism of body fluid volumes regulation. Endocrinologie., 61 : 403-412.
- LIGHTMAN, S. (1990). Central nervous system control of fluid balance physiology and pathology. Acta Neurochir., 47: 90-94.
- LORENS, S., SORENSEN, J AND YUNGER, L. (1971). Behavioral and neurochemical effects of lesions in the raphé system of the rat. J. Comp. Physiol. Psychol., 77: 48-52.
- MASAKI, T., YOSHIMATSU, H., CHIBA, S., WATANABE, T & SAKATA, T. (2001). Targeted disruption of histamine H1-receptor attenuates regulatory effects of leptin on feeding, adiposity and UCP family in mice. Diabetes., 50: 385-391.
- MELLINGER, R & ZAFAR, M. (1983). Primary Polydipsia. Arch. Int. Med., 143: 1249-1251.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- MERCIER-GUIDEZ, E & LOAS, G. (2000). Polydipsia and water intoxication in 353 psychiatric inpatients: an epidemiological and psychopathological study. Eur. Psychiatr., **15**: 306-311.
- 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.
- MORALES, A & PUERTO, A. (1988). A study of the response to several dipsogenic treatments in rats with mammillary polydipsia and with centrally induced diabetes insipidus. Behav. Brain Res., **31**: 69-74.
- 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). Mammillary polydipsia and diabetes insipidus: a study of the rhythmicity of water intake. Physiol. Behav., **45** : 911-915.
- 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., CUBERO, I AND PUERTO, A. (1990). Psicobiología de la regulación de fluidos: implicación del área mamilar. Psiquis., **189**: 42-53.
- NAKAMURA, S., OHNISHI, K., NISHIMURA, M., SUENAGA, T., AKIGUCHI, I., KIMURA, J & KIMURA, T. (1996). Large neurons in the tuberomammillary nucleus in patients with Parkinson's disease and multiple system atrophy. Neurology. **46**: 1693-1696.
- NATCHEFF, N., PIRYOVA, B., GARCHEV, R AND KIRKOVA, L. (1975). Influence of the hypothalamic mammillary area on the kidney function in rats. Agressologie., **16**: 367-372.
- ONODERA, K., YAMATODANI, A., WATANABE, T AND WADA, H. (1994). Neuropharmacology of the histaminergic neuron system in the brain and its relationship with behavioural disorders. Progr. Neurobiol., **42**: 685-702.
- PALACIOUS, J., WAMSLEY, J AND KUCHAR, M. (1981). The distribution of histamine H1-receptors in the rat brain: an autoradiographic study. Neuroscience., **6**: 15-37.
- PANULA, P., YANG, T AND COSTA, E. (1984). Histamine-containing neurons in the rat hypothalamus. Proc. Natl. Acad. Scienc., **81**: 2572-2576.
- PASSANI, M., BACCIOTTINI, L., MANNAIONI, P AND BLANDINA, P. (2000). Central histaminergic system and cognition. Neurosc. Biobehav. Rev., **24**: 107-113.
- REINER, P., SEMBA, K., WATANABE, T AND WADA, H. (1987). En bloc immunohistochemistry reveals extensive distribution of histidine decarboxylase-immunoreactive neurons on the ventral surface of the rat hypothalamus. Neuroscien. Lett., **77** : 137-142.
- RENAUD, L & BOURQUE, C. (1990). Neurophysiology and neuropharmacology of hypothalamic magnocellular neurons secreting vasopressin and oxytocin. Prog. Neurobiol., **36**: 131-169.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- RHODES, C. H., MORREL, J AND PFAFF, D. (1981). Immunohistochemical analysis of magnocellular elements in rat hypothalamus: distribution and numbers of cells containing neurophysin, oxytocin and vasopressin. J. Comp. Neurol., 198: 45-64.
- 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.
- RINAMAN, L ET AL. (1995). Vasopressin and oxytocin in the central nervous system. In: Bloom, F & Kupfer, D. Psychopharmacology : The Fourth generation of Progress. Raven Press.
- ROBERTS, F & CALCUTT, C. (1983). Histamine and the hypothalamus. Neuroscience., 9: 721-739.
- ROBERTS, M., ROBINSON, A., FITZSIMMONS, M., GRANT, F., LEE, W AND HOFFMAN, G. (1993). C-Fos expression in vasopressin and oxytocin neurons reveals functional heterogeneity within magnocellular neurons. Neuroendocrinology., 57: 388-400.
- ROBERTSON, G. L & ATHAR, S. (1976). The interaction of blood osmolality and blood volume in regulating plasma vasopressin in men. J. Clin. Endocrinol. Metab., 42: 613-620.
- ROBERTSON, G. L. (1983). Thirst and vasopressin function in normal and disordered states of water balance. J. Lab. Clin. Med., 101: 351-371.
- ROBERTSON, G. L. (1987). Dipsogenic diabetes insipidus : a newly recognized syndrome caused by selective defect in the osmoregulation of thirst. Trans. Assoc. Am. Physic., C: 241-249.
- 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, A & AMICO, J. (1991). "Non-sweet" diabetes of pregnancy. New Engl. J. Med.
- ROBINSON, A & FITZSIMONS, M. (1993). Vasopressin homeostasis: coordination of synthesis, storage and release. Regul. Pept., 45: 225-230.
- ROLLS, B. (1970). Drinking by rats after irritative lesions in the hypothalamus. Physiol. Behav., 5: 1385-1393.
- ROLLS, B., WOOD, R., ROLLS, E., LIND, H., LIND, W & LEDINGHAM, J. (1980). Thirst following water deprivation in humans. Am. J. Physiol., 239: R476-R482.
- ROSE, B. (1986). New approach to disturbances in the plasma sodium concentration. Am. J. Med., 81: 1033-1040.
- ROSE, B. D. (1984). Clinical physiology of acid-base and electrolyte disorders. 2nd. Edition. Mgraw-Hill.
- ROSENBLOOM, J & PRICE, H. (1916). Am. J. Dis. Child., 12: 53.
- 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.
- ROWLAND, N & FREGLY, M. (1998). Characteristics of thirst and sodium appetite in mice. Behav. Neurosc., 102: 969-974.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ROWLAND, N. (1998). Brain mechanism of mammalian fluid homeostasis: insights from use of immediate early gene mapping. Neurosc.Biobehav. Rev., 23: 49-63.
- RUNDGREN, M., MCKINLEY, M. T., LEKSELL, L. G & ANDERSON, B. (1979). Inhibition of thirst and apparent ADH release by intracerebroventricular ethacrynic acid. Act. Physiol. Scand., 105: 123-125.
- SABORIO, P., TIPTON, AND CHAN, J. (2000). Diabetes insipidus. Ped. Rev., 21: 122-129.
- SAGAR, S., SHARP, F AND CURRAN, T. (1988). Expression of c-fos protein in brain: metabolic mapping at the cellular level. Science., 240: 1328-1331.
- SAKATA, T ET AL. (1994). Hypothalamic neuronal histamine regulates feeding circadian rhythm in rats. Brain Res., 641: 311-318.
- SAKATA, T., KUROKAWA, M., OOHARA, A AND YOSHIMATSU, H. (1994). A physiological role of brain histamine during energy deficiency. Brain Res. Bull., 35: 135-139.
- SAKATA, T., OOKUMA, AK., FUJIMOTO, K., FUKAGAWA, K., AND YOSHIMATSU, H. (1991). Histaminergic control of energy balance in rats. Brain Res. Bull., 27: 371-375.
- SAKATA, T., OOKUMA, K., FUKAGAWA, K., FUJIMOTO, K., YOSHIMATSU, H., SHIRAISHI, T AND WADA, H. (1988). Blockade of the histamine H1 receptor in the rat ventromedial hypothalamus and feeding elicitation. Brain Res., 441: 403-407.
- SAKATA, T., TAMARI, Y., KANG, M AND YOSHIMATSU, H. (1994). 2-Deoxy-D- glucose suppresses food intake through activation of hypothalamic histamine in rats. Am. J. Physiol., 267: R616-R618.
- SAKURAI, T. (1999). Orexins and orexin receptors: implication in feeding behavior. Regul. Pept., 85: 25-30.
- SAKURAI, T., AMEMIYA, A., ISHII, M., MATSUZAKI, I., CHEMELLI, R et al., (1998). Orexins and orexin receptors : a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. Cell. 92: 573-585.
- SALTMARSH, 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, W. (1999). Adrenomedullin and the control of fluid and electrolyte homeostasis. Ann. Rev. Physiol., 61 : 363-389.
- SAMSON, W., AGUILA, M., MARTINOVIC, J., ANTUNES-RODRIGUES, J AND NORRIS, M. (1987). Hypothalamic actino of atrial natriuretic factor to inhibit vasopressin secretion. Peptides., 8: 449-454.
- 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.
- SAPER, C., CHOU, T & SCAMMELL, T. (2001). The sleep switch : hypothalamic control of sleep and wakefulness. Trend. Neurosc., 24: 726-731.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- SAPER, C., HURLEY, K., MOGA, M., HOLMES, R., ADAMS, S., LEAHY, K AND NEEDLEMAN, P. (1989). Brain natriuretic peptides: differential localization of a new family of neuropeptides. Neuroscience Letters., 96 : 29-34.
- SAPER, C., SWANSON, L AND COWAN, W. (1976). The efferent connections of the ventromedial nucleus of the hypothalamus of the rat. J. Comp. Neurol., 169: 409-442.
- 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, M., SUGAWARA, A., MENANI, J AND DE LUCA, L. (1997). Idazoxan and the effect intracerebroventricular oxytocin or vasopressin on sodium intake of sodium-depleted rats. Regul. Pept., 69: 137-142.
- SATOH, F., TAKAHASHI, K., MURAKAMI, O., TOTSUNE, K., SONE, M., OHNEDA, M., SASANO, H AND MOURI, T. (1996). Immunocytochemical localization of adrenomedullin-like immunoreactivity in the human hypothalamus and the adrenal gland. Neurosc. Lett., 203: 207-210.
- SAWCHENKO, P. (1998). Toward a new neurobiology of energy balance, appetite, and obesity: the anatomists weigh in. J. Comp. Neurol., 402: 435-441.
- SAWYER, W. (1952). Posterior pituitary extracts and excretion of electrolytes by the rat. Am. J. Physiol., 169: 583-587.
- 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.
- SCHERBAUM, W & BOTTAZZO, G. (1983). Autoantibodies to vasopressin cells in idiopathic diabetes insipidus: evidence for an autoimmune variant. Lancet., 1: 897-901.
- SCHILTZ, J., HOFFMAN, G., STRICKER, E AND SVED, A. (1997). Decreases in arterial pressure activate oxytocin neurons in conscious rats. Am. J. Physiol., 273: R1474-R1483.
- SCHLOORLEMMER, 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.
- 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
- SCHWARTZ, J-C., GARBARG, M AND POLLARD, H. (1994). Histaminergic transmission in the brain. Handbook Physiology-The nervous system IV., pp. 257-316.
- SCHWARTZ, M., SEELEY, R., CAMPFIELD, L., BURN, P AND BASKIN, D. (1996). Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. J. Clin. Invest., 98: 1101-1106.
- SCHWARTZ, M., SEELEY, R., WOODS, S., WEIGLE, D., CAMPFIELD, L., BURN, P AND BASKIN, D. (1997). Leptin increases hypothalamic pro.piomelanocortin mRNA expression in the rostral arcuate nucleus. Diabetes., 46: 2119-2123.
- SCLAFANI, A & GROSSMAN, S. (1969). Hyperphagia produced by knife cuts between the medial and lateral hypothalamus in the rat. Physiol. Behav., 4: 533-538.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- SCLAFANI, A. (1971). Neural pathways involved in the ventromedial hypothalamic lesion syndrome in the rat. J. Comp. Physiol., Psychol., 77 : 70-96.
- SECKL, J & DUNGER, D. (1992). Diabetes insipidus. Drugs., 44: 216-224.
- SECKL, J., DUNGER, D AND LIGHTMAN, S. (1987). Neurohypophyseal peptide function during early postoperative diabetes insipidus. Brain., 110: 737-746.
- SEGURA-TORRES, P., WAGNER, U., MASSANES-ROTGER, E., ALDAVERT-VERA, L., MARTI-NICOLOVIUS, M AND MORGADO-BERNAL, I. (1996). Tuberomammillary nucleus lesion facilitates two-way active avoidance retention in rats. Behav. Brain Res., 82: 113-117.
- SERGEEVA, O., ERIKSSON, K AND HAAS, H. (2001). Glycine receptor mediated responses in rat histaminergic neurons. Neurosc. Lett., 300: 5-8.
- SERINO, R., UETA, Y., HARA, Y., NOMURA, M., YAMAMOTO, Y., SHIBUYA, I., et al. (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.
- SHANNON, J. (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 neuroendocrinology of fluid balance. In Conn, P. M. Neuroendocrinology in Physiology and Medicine. Humana Press Inc.
- SHELAT, S., FLUHARTY, S AND FLANAGAN-CATO, L. (1998). Adrenal steroid regulation of central angiotensin II receptor subtypes and oxytocin receptors in rat brain. Brain Res., 807: 135-146.
- SHELAT, S., KING, J., FLANAGAN-CATO, L AND FLUHARTY, S. (1999). Mineralocorticoids and glucocorticoids cooperatively increase salt intake and angiotensin II receptor binding in rat brain. Neuroendocrinology., 69: 339-351.
- SHEREENI, J., VAHID-ANSARI, F AND LEENEN, F. (2000). Neuronal fos-like immunoreactivity in ouabain-induced hypertension. Brain Res., 876: 17-21.
- SHERIN, J., ELMQUIST, J., TORREALBA, F AND SAPER, C. (1998). Innervation of histaminergic tuberomammillary neurons by gabaergic and galaninergic neurons in the ventrolateral preoptic nucleus of the rat. J. Neurosc., 18: 4705-4721.
- SHOJO, H & KANEKO, Y. (2000). Characterization and expression of oxytocin and the oxytocin receptor. Mol. Gen. Metab., 71: 552-558.
- SHUTTER, J., GRAHAN, M., KINSEY, A., SCULLY, S., LUTHY, R AND STARK, K. (1997). Hypothalamic expression of Art, a novel gene related to agouti, is up-regulated in obese and diabetic mutant mice. Genes Dev., 11: 593-602.
- SIBBALD, J. R., HUBBARD, J & SIRRET, N. E. (1988). Responses from osmosensitive neurons of the rat subfornical organ in vitro. Brain Res., 461: 205-214. Endocrinology., 140: 2814-2818.

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.
- SIMMONS, S. (2002). Diabetes insipidus. Dimens. Crit. Care Nurs., 21: 94-97.
- SIMPSON, J. (1981). The circumventricular organs and the central actions of angiotensin. Neuroendocrinology., 32: 248-256.
- SIMPSON, J., EPSTEIN, A AND CAMARDO, J. (1978). Localization of receptors for the dipsogenic action of angiotensin II in the subfornical organ of rat. J. Comp. Physiol. Psychol., 92: 581-608.
- 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, E AND SVED, A. (1999). Sodium excretion and renin secretion after continuous versus pulsatile infusion of oxytocin in rats. Endocrinology., 140: 2814-2818.
- SLADEK, C & JOHNSON, A. (1983). Effect of anteroventral third ventricle lesions on vasopressin release by organ-cultured hypothalamo-neurohypophyseal explants. Neuroendocrinology., 37: 78-84.
- 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.
- SLADEK, C. D & ARMSTRONG, W. E.(1985). Osmotic control of vasopressin release. Trends Neurosc. April.
- SLEEPER, F & JELLINEK, E. (1936). A comparative physiologic psychologic and psychiatric study of poliuric and no polyuric schizophrenic patients. J. Nerv. Ment. Dis., 83: 557-563.
- SMEETS, D., HARNEL, B., NELEN, M., SMEETS, H., BOLLEN, J., SMITHS, A et al. (1992). Prader-Willi syndrome in cousins from a family with a translocation between chromosomes 6 and 15. New Engl. J. Med., 326: 807-811.
- SMITH, B & ARMSTRONG, W. (1996). The ionic dependence of the histamine-induced depolarisation of vasopressin neurones in the rat supraoptic nucleus. J. Physiol., 495: 465-478.
- SMITH, D & DAY, T. (1995). Hypovolaemic and osmotic stimuli induce distinct patterns of c-fos expression in the rat subfornical organ. Brain Res., 698: 232-236.
- SMITH, G. (2000). The controls of eating: a shift from nutritional homeostasis to behavioural neuroscience. Nutrition. 16: 814-820.
- SMITH, R & McCANN, S. (1964). Increased and decreased water intake in the rat with hypothalamic lesion. In: Thirst, edited by Wayner, M. New York. McMillan Co., pp: 381-392.
- SMITH, R. W & McCANN, S. M. (1962). Alterations in food and water intake after hypothalamic lesions in the rat. Am. J. Physiol., 203: 366-370.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- SOARES, J., COIMBRA, T., MARTINS, A., PEREIRA, G., CARNIO, E et al., (1999). Atrial natriuretic peptide and oxytocin induce natriuresis by release of cGMP. Proc. Natl. Acad. Sci., 96: 278-283.
- SOBOCINSKA, J. (1969). Abolition of the effect of hypovolemia on the thirst threshold after cervical vagosympathectomy in dogs. Bull. Acad. Pol. Sci., 17: 341-346.
- SONG, J., ESKRIDGE, J., NIAKAN, C AND WINN, R. (1999). Diabetes insipidus arising from hypothalamic diffuse axonal injury. J. Neurosurgery., 90: 1141-1142.
- SPIEGELMAN, B & FLIER, J. (1996). Adipogenesis and obesity: rounding out the big picture. Cell., 87: 377-389.
- STAINES, W., YAMAMOTO, T., DADDONA, P & NAGY, J. (1987). The hypothalamus receives major projections from the tuberomammillary nucleus in rat. Neurosc. Lett., 76: 258-262.
- STELLAR, E. (1954). The physiology of motivation. Reprinted in 1994, Psychol. Rev., 101: 301-311.
- STEPHENS, T., BASINSKI, M., BRISTOW, P., BUE-VALLESKEY, J., BURGETT, S., CRAFT, L ET AL. (1995). The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. Nature., 377: 530-532.
- STEVENS, D., ERIKSSON, K., BROWN, R & HAAS, H. (2001). The mechanism of spontaneous firing in histamine neurons. Behav. Brain Res., 124: 105-112.
- STOECKEL, M., FREUND-MERCIER, M., PALACIOS, J., RICHARD, P AND PORTE, A. (1987). Autoradiographic localization of binding sites for oxytocin and vasopressin in the rat kidney. J. Endocrinol., 113: 179-182.
- STRICKER, E & VERBALIS, J. (1987). Central inhibitory control of sodium appetite in rats: correlation with pituitary oxytocin secretion. Behav. Neurosc., 101 : 560-567.
- STRICKER, E. (1981). Thirst and sodium appetite after colloid treatment in rats. J. Comp. Physiol. Psychol., 95: 1-25.
- STRICKER, E. M & VERBALIS, J. G. (1986). Interaction of osmotic and volume stimuli in regulation of neurohypophysial secretion in rats. Am. J. Physiol., 250: R267-R275.
- STRICKER, E. M. (1968). Some physiological and motivational properties of the hypovolemic stimulus for thirst. Physiol. Behav., 3: 379-385.
- STRICKER, E., & SVED, A. (2000). Thirst. Nutrition. 16: 821-826.
- SUMMY-LONG, J & KADEKARO, M. (2001). Role of circumventricular organs (CVO) in neuroendocrine responses: interactions of cvo and the magnocellular neuroendocrine system in different reproductive states. Clin. Exp. Pharm. Physiol., 28 : 590-601.
- SWAAB, D. F., POOL, C AND NIJVELDT, F. (1975). Immunofluorescence of vasopressin and oxytocin in the rat hypothalamo-neurohypophysial system. Neural Transmiss., 36: 195-215.
- SWAAB, D., HOFMAN, M., LUCASSEN, P., PURBA, J., RAADSHEER, F AND VAN DE NES, J. (1993). Functional neuroanatomy and neuropathology of the human hypothalamus. Anat. Embryol., 187: 317-330.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- SWAAB, D., PURBA, J AND HOFMAN, M. (1995). Alterations in the hypothalamic paraventricular nucleus and its oxytocin neurons (Putative satiety cells) in prader-willi syndrome: a study of five cases. J. Clin. Endocrinol. Metab., 80: 573-579.
- SWANN, H. (1939). Sodium chloride and diabetes insipidus. Am. J. Physiol., 341-346.
- 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.
- TARTAGLIA, L., DEMBSKI, M., WENG, X., DENG, N., CULPEPPER, J., DEVOS, R ET AL. (1995). Identification and expression cloning of a leptin receptor ob-r. Cell., 83: 1263-1271.
- TAYLOR, K., GFELLER, E AND SNYDER, S. (1972). Regional localization of histamine and histidine in the brain of the rhesus monkey. Brain Res., 41 : 171-179.
- 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.
- THORNTON, J., CHEUNG, C., CLIFTON, D AND STEINER, R. (1997). Regulation of hypothalamic pro-piomelanocortin mRNA by leptin in ob/ob mice. Endocrinology., 138: 5063-5066.
- THRASHER, T. N. (1989). Role of forebrain circumventricular organs in body fluid balance. Acta Physiol. Scand., 136. Suppl., 583: 141-150
- 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., KEIL, L & RAMSAY, D. J. (1983). Altered responses to dehydration in dogs with lesions of the organum vasculosum laminae terminalis (OVLT). Proc. Of the 29 Intern. Congr. Physiol. Scienc., pp. 49.
- 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.
- THUNHORST, R., MORRIS, M AND JOHNSON, A. (1994). Endocrine changes associated with a rapidly developing sodium appetite in rats. Am. J. Physiol., 267: R1168-R1173.
- THUNHORST, R., XU, Z., CICHA, M., ZARDETTO-SMITH, A AND JOHNSON, A. (1998). Fos expression in rat brain during depletion-induced thirst and salt appetite. Am. J. Physiol., 274: R1807-R1814.
- TILLET, Y., BATAILLER, M AND PANULA, P. (1998). Histaminergic neurons in the sheep diencephalons. J. Comp. Neurol., 400: 317-333.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- TONDAT, L. M & ALMLI, C. R. (1976). Evidence for independent osmosensitivity of lateral preoptic and lateral hypothalamic neurons. Brain Res. Bull., 1 : 241-249.
- TSUJIMOTO, T., OGAWA, M., TSUKADA, H., KAKIUCHI, T AND SASAKI, K. (1999). Activation of the insular and opercular regions of the monkey by drinking as revealed by positron emission tomography. Neurosc. Lett., 261: 135-138.
- TUOMILETHO, J., JOUSILAHTI, P., RASTENYTE, D., MOLTCHANOV, V., TANSKANEN, A., PIETINEN, P AND NISSINEN, A. (2001). Urinary sodium excretion and cardiovascular mortality in Finland: a prospective study. Lancet., 357: 848-851.
- TUOMISTO, L & ERIKSSON, L. (1979). Antidiuresis induced by infusions of histamine into the brain ventricles of conscious hydrated goats. Eur. J. Pharm., 54 : 191-201.
- TUOMISTO, L., LOZEVA, V., VALJAKKA, A & LECKLIN, A. (2001). Modifying effects of histamine on circadian rhythms and neuronal excitability. Behav. Brain Res., 129-135.
- TUOMISTO, L., YAMATODANI, A., JOLKKONEN, J., SAINIO, E AND AIRAKSINEN, M. (1994). Inhibition of brain histamine síntesis increases food intake and attenuates vasopressin response to SALT loading in rats. Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol., 16: 355-359.
- TUPPY, H. (1968). The influence of enzymes on neurohypophyseal hormones and similar peptides. In: Berde, B, ed. Handbook of experimental pharmacology, Vol. 23. Springer-Verlag: 67-129.
- UETA, Y., SERINO, R., SHIBUYA, L., KITAMURA, K., KANGAWA, K., RUSSELL, J AND YAMASHITA, H. (2000). A physiological role for adrenomedullin in rats; a potent hypotensive peptide in the hypothalamoneurohypophysial system. Exp. Physiol., 85: 163S-169S.
- VACCARI, C., LOLAIT, S AND OSTROWSKI, N. (1998). Comparative distribution of vasopressin V1b and oxytocin receptor messenger ribonucleic acids in brain. Endocrinology., 139: 5015-5033.
- VALTIN, H & SCHROEDER, H. (1964). Familial hypothalamic diabetes insipidus in rats. Am. J. Physiol., 206: 425-430.
- VAN DER POST, J., VAN BUUL, B., HART, A., HEERIKHUIZE, J., PESMAN, G., LEGROS, J et al. (1997). Vasopressin and oxytocin levels during normal pregnancy: effects of chronic dietary sodium restriction. J. Endocrinol., 152: 345-354.
- 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.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- VAN REE, J & DE WIED, D. (1977). Modulation of heroin selfadministration by neurohypophysial principles. Eur. J. Pharmacol., 43 : 199-202.
- 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.
- VASQUEZ, E., MEYRELLES, S., CHAPLEAU, M & JOHNSON, A. (2001). Approaches for gene delivery to the subfornical organ and magnocellular neurons. Clin. Exp. Pharm. Physiol., 28: 602-609.
- VELUCCI, S & PARROTT, R. (1998). Expression of mRNAs for vasopressin, oxytocin and corticotrophin releasing hormone in the hypothalamus, and of cyclooxygenases-1 and 2 in the cerebral vasculature, of endotoxin-challenged pigs. Neuropeptides. 32: 439-446.
- VERBALIS, D., MANGIONE, M AND STRICKER, E. (1991). Oxytocin produces natriuresis in rats at physiological plasma concentrations. Endocrinology. 128: 1317-1322.
- VERBALIS, J & STRICKER, E. (2000). Neuroendocrine regulation of fluid intake and homeostasis. In: Conn, P. M. Neuroendocrinology in Physiology and Medicine. Humana Press Inc.
- VERBALIS, J. (1999). The brain oxytocin receptor (s?). Front. Neuroendocrinol., 20: 146-156.
- VERGHESE, C., DE LEON, J AND SIMPSON, G. (1993). Neuroendocrine factors influencing polydipsia in psychiatric patients: an hypothesis. Neuropsychopharmacology. 9: 157-166.
- VERNEY, E. B. (1947). The antidiuretic hormone and the factors which determine its release. Proc. R. Soc. B., 135 : 25-106.
- VIEWEG, W., DAVID, J., ROWE, W., WAMPLER, G., URNS, W AND SPRADLIN, W. (1985). Death from self-induced water intoxication among patients with schizophrenics. Biol. Psychiatr., 1149-1155.
- 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.
- VIZUETE, M., DIMITRIADOU, V., TRAFFORT, E., GRIFFON, N., HERON, A AND SCHWARTZ, J-C. (1995). Endogenous histamine induces c-fos expression within paraventricular and supraoptic nuclei. Neuroreport., 6: 1041-1044.
- VOISIN, D & BOURQUE, C. (2002). Integration of sodium and osmosensory signals in vasopressin neurons. Trends Neurosc., 25: 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, C. (1975). Penetration of angiotensin II into the brain. Neuropharmacologia. 10: 631-636.
- VONDEREN, K., KOOISTRA, H., SPRANG, E AND RIJNBEEK, A. (1999). Disturbed vasopressin release in 4 dogs with so-called primary polydipsia. J. Vet. Intern. Med., 13 : 419-425.
- WADA, H., INAGAKI, N., ITOWI, N AND YAMATODANI, A. (1991). Histaminergic neuron system in the brain: distribution and possible functions. Brain Res. Bull., 27 : 367-370.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- WADA, H., INAGAKI, N., YAMATODANI, A AND WATANABE, T. (1991). Is the histaminergic neuron system a regulatory center for whole-brain activity?. Trends Neurosc., 14 :1991.
- WADE, C., BIE, P., KEIL, L AND RAMSAY, D. (1982). Osmotic control of plasma vasopressin in the dog. Am. J. Physiol., 243: E287-E292.
- WAGNER, V., SEGURA-TORRES, P., WEILER, T AND HUSTON, J. (1993). The tuberomammillary nucleus region as a reinforcement inhibiting substrate: facilitation of ipsihypothalamic self-stimulation by unilateral ibotenic acid lesions. Brain Res., 613: 269-274.
- WAKERLEY, J. (1987). In Vasopressin: Principles and properties. Plenum Press.11-256.es (Gash, D and(Boer, G., eds), pp: 276).
- WAKERLEY, J., CLARKE, G AND SUMMERLEE, A. (1988). Milk ejection and its control. In: Knobil, E., Neill, J (eds). The Physiology of reproduction. Raven Press., pp: 2283-2321.
- WALLACE, F & HARRELL, E. (1983). Nucleus circularis and lateral preoptic regulation of osmotic thirst. Physiol. Psychol., 11: 195-200.
- WALSH, L & GROSSMAN, S. (1973). Zona incerta lesions: disruption of regulatory water intake. Physiol. Behav., 11: 885-887.
- WALSH, L. L & GROSSMAN, S. P. (1973). Dissociation of responses to extracellular thirst stimuli following zone incerta lesions. Pharmacol. Biochem. Behav., 8: 409-415.
- WALTER, M., FORSLING, M & SHIRLEY, D. (2000). Contribution of endogenous oxytocin to sodium excretion in anaesthetized, surgically operated rats. J. Endocrinology., 165: 19-24.
- WALTERS, J. K & HATTON, G. I. (1974). Supraoptic neuronal activity in rats during five days of water deprivation. Physiol. Behav., 13: 661-667.
- 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.
- WATTS, A., KELLY, A & SANCHEZ-WATTS, G. (1995). Neuropeptides and thirst: the temporal of corticotropin-releasing hormone and neurotensin/neuromedin N gene expression in rat limbic forebrain neurons to drinking hypertonic saline. Behav. Neurosc., 109: 1146-1157.
- WEILER, H., WAGNER, U AND HUSTON, J. (1992). Unilateral lesion in the tuberomammillary nucleus region: behavioural asymmetries and effects of histamine precursor. Behav. Brain Res., 49: 167-173.
- WEISINGER, R., BLAIR-WEST, J., BURNS, P., DENTON, D AND TARJAN, E. (1997). Role of brain angiotensin in thirst and sodium appetite of rats. Peptides., 18: 977-984.
- 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.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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., 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.
- WIJEDICKS, E., ROPPER, A AND HUNNICUTT, E. (1991). Atrial natriuretic factor and salt wasting after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Stroke, 22: 1519-1524.
- WILCOX, B & SEYBOLD, V. (1982). Localization of neuronal histamine in rat brain. Neuroscienc. Lett., 29: 105-110.
- WOLF, A. (1950). The urinary function of the kidney. New York. Grune.
- WOLF, G. (1997). Neuropeptides responding to leptin. Nutr. Rev., 55: 85-88.
- WOLF, G. (1998). Orexins: A newly discovered family of hypothalamic regulators of food intake. Nutrit. Rev., 56: 172-189.
- WONG, P., HART, S., ZASPEL, A et al. (1990). Functional studies of the nonpeptide angiotensin II receptor subtype-specific ligands: Dup 753 (A II-1) and PD 123177 (A II-2). J. Pharmacolol. Exp. Ther., 255: 584-592.
- WONG, R. (1976). Motivation. A biobehavioral analysis of consumatory activities. McMillan.
- WOOD, R., ROLLS, E & ROLLS, B. (1982). Physiological mechanism for thirst in the nonhuman primate. Am. J. Physiol., 242: R423-R428.
- WOODS, S & STOCK, M. (1996). Leptin activation in hypothalamus. Nature, 381: 745.
- WOODS, S., SEELEY, J & SCHWARTZ, M. (1998). Signals that regulate food intake and energy homeostasis. Science, 280: 1378-1383.
- WOUTERLOOD, F & GAYKEMA. (1988). Innervation of histaminergic neurons in the posterior hypothalamic region by medial preoptic nucleus: anterograde tracing with Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin combined with immunocytochemistry of histidine decarboxylase. Brain Res., 455: 170-176.
- XIN, X., STORLIEN, L AND HUANG, X. (2000). Hypothalamic c-fos-like immunoreactivity in high-fat diet-induced obese and resistant mice. Brain Res. Bull., 52 : 235-242.
- XIONG, J & HATTON, G. (1996). Differential responses of oxytocin and vasopressin neurons to the osmotic and stressful components of hypertonic saline injections: a fos protein double labelling study. Brain Res., 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.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- YAMAGUCHI, T., BABA, K., DOI, Y., YANO, K., KITAMURA, K AND ETO, T. (1996). Inhibition of aldosterone production by adrenomedullin, a hypotensive peptide, in the rat. Hypertension., 28: 308-314.
- YAMAMOTO, J., MORIMOTO, I., KAI, K., ARAO, T., FUJIHIRA, T., MORITA, E., KANNAN, H AND ETO, S. (1999). Centrally administered murine leptin stimulates plasma arginine-vasopressin secretion and increases the level of mRNA expression in the supraoptic nucleus of conscious rats. Neuroendocrinology., 70: 207-212.
- 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.
- YARNELL, D., KNIGHT, D., HAMILTON, K., TULP, O AND TSO, P. (1998). Localization of leptin receptor immunoreactivity in the lean and obese zucker rat brain. Brain Res., 785: 80-90.
- YUAN, X-Q & WADE, C. (1991). Neuroendocrine abnormalities in patients with traumatic brain injury. Front. Neuroendocrinol., 12: 209-230.
- ZAFONTE, R., WATANABE, T., MANN, N AND KO, D. (1997). Psychogenic polydipsia after traumatic brain injury. Am. J. Phys. Med. Rehabil., 76: 246-248.
- ZAIDA-DÍAZ., NARVÁEZ, J., GARCIA-CORONEL, M & FUXE, K. (2000). Galanin/alfa2 adrenoceptor interactions in telencephalic and diencephalic regions of the rat. Brain Res., 12: 151- 155.
- ZHANG, Y., PROENCA, R., MAFFEI, M., BARONE, M., LEOPOLD, L AND FRIEDMAN, J. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature., 372: 425-432.
- ZHEN-DONG, Y., JIANG-HONG, L., CHAO-YOU, S., CHENG-HAI, W AND CHANG-LIN, L. (2000). Chronic morphine treatment inhibits oxytocin synthesis in rats. Neuroreport., 11 : 3113-3116.
- ZIMMERMAN, E., NILAVER, G., HOU-YU, A AND SILVERMAN, A. (1984). Vasopressinergic and oxytocinergic pathways in the central nervous system. Fed. Proc., 43 : 91-96.