



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

FACULTAD DE MEDICINA

**Denervación Aórtica Crónica más Dieta Alta en Sal.
Un modelo de Normotensión Sensible a sal**

TESIS QUE PRESENTA

Q.F.B. ADRIANA SARAI RODRIGUEZ PEREZ

Para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

**Posgrado en Ciencias Biomédicas Básicas
U.A.S.L.P.**

DIRECTOR DE TESIS

DR. MANUEL RODRÍGUEZ- MARTÍNEZ

ASESORES

DR. RAFAEL RUBIO GARCIA

DR. SERGIO SÁNCHEZ ARMÁS ACUÑA



Julio 2007

Este trabajo se llevó a cabo haciendo uso de las infraestructuras técnica y humana del Laboratorio de Fisiología Integrativa del Departamento de Fisiología y Farmacología de la Facultad de Medicina de la UASLP a cargo del Dr. Manuel Rodríguez-Martínez. Los recursos financieros para su realización provinieron del Fondo de Apoyo a la Investigación (UASLP) a través del convenio CO4-FAI-10-2.45, del Proyecto PFPN-2002-24-26-02 y de recursos propios del laboratorio. La QFB Adriana Sarai Rodríguez Pérez fue becaria (191894) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

COMITÉ TUTELAR

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Manuel Rodríguez-Martínez

ASESORES

Dr. Rabel Rubio García

Dr. Sergio Sánchez Armásss-Acuña

JURADO

Dr. Manuel Rodríguez-Martínez

Dr. Rabel Rubio García

Dr. Sergio Sánchez Armásss-Acuña



JULIO 2007

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme culminar una etapa muy importante de mi formación profesional.

A mi familia por darme todo su apoyo incondicional y comprensión durante este periodo.

Al Dr. Manuel Rodríguez-Martínez por creer en mí, por su tiempo, dedicación y por compartir sus conocimientos durante mi estancia en su laboratorio, por su paciencia y por ser para mí un ejemplo en no desistir en alcanzar mis objetivos así como en la búsqueda de perfeccionar mis habilidades.

Al Dr. Sánchez-Armás y al Dr. Rafael Rubio por sus aportaciones y consejos a este trabajo.

A Lolita por su tiempo y su ayuda al enseñarme sus conocimientos técnicos.

A Juan Francisco por su apoyo en el cuidado de mis modelos experimentales.

A Silvia por todo el ánimo y consejos dados en los momentos difíciles, por su gran amistad y compañerismo.

A mis amigos y compañeros de maestría que me apoyaron y me brindaron su amistad durante esta etapa.

A B R E V I A T U R A S

AIC= Criterio de Akaike

ANCOVA= Análisis de Covarianza

ANDEVA= Análisis de Varianza

ANSER= Actividad Nerviosa Simpática Eferente Renal

DA= Denervación Aórtica

DahISS = Rata Dahl Sensible a Sal

DahIRS = Rata Dahl Resistente a Sal

DANa = Dieta Alta en Sodio

DBNa= Dieta Baja en Sodio

DE= Desviación Estandar

DEN= Denervación

DEPAM1= Desviación Estándar los primeros 30 min de registro

DEPAM2= Desviación Estándar los segundos 30 min de registro

DSA= Denervación Sino-aórtica

EE= Error Estándar

FBG= Fenilbiguanida

FC= Frecuencia Cardíaca

Gmáx= Ganancia máxima del baroreflejo

HTRS= Hipertensión Resistente a Sal

HTSS= Hipertensión Sensible a Sal

INT= Denervación Fingida

Na= Sodio

NTRS= Normotensión Resistente a Sal

NTSS= Normotensión Sensible a Sal

PAD= Presión Arterial Diastólica

PAM= Presión Arterial Media

PAS= Presión Arterial Sistólica

PP= Presión Pulsátil

PVC= Presión Venosa Central

RS= Resistente a Sal

SS= Sensible a Sal

RESUMEN

Introducción: El concepto de sensibilidad a sal (SS) eslabona el incremento de presión arterial con la administración de una carga de sodio elevada y se traduce en una disminución en la pendiente de la relación presión-natriuresis crónica. Desde un punto de vista clínico y epidemiológico, se ha encontrado que la SS se presenta en ~ 25 % de los normotensos y en ~ 50% de los hipertensos esenciales (en donde es un epifenómeno), considerándose un predictor de hipertensión arterial asociado con la edad y un predictor de muerte independiente de presión arterial. Por tanto, conocer la etiopatogenia y la fisiopatología de la SS resulta relevante. Experimentalmente, la SS se ha estudiado tanto en modelos genéticos (cepa Dahl) como en el modelo inducido (quirúrgicamente) de denervación sino-aórtica crónica (DSA) más dieta alta en sal (DANa). En ambos modelos se ha sugerido que factores extrarenales (independientes del genotipo renal), como lo es el aumento en la actividad nerviosa simpática (ANS) inducido por la sal, juegan un papel crítico en la SS. Aunque el modelo Dahl ha sido ampliamente usado para estudiar el fenómeno de la SS, el hecho de combinar factores renales y extrarenales, así como el presentar múltiples anomalías heredables (algunas conocidas y otras no) en diversos sistemas ha hecho imposible explorar de manera específica cuál o cuáles de ellas participan en la etiopatogenia de la SS. Las ratas Dahl SS muestran ya desde las etapas pre-hipertensivas trastornos de la función barorefleja. El hecho de que la DSA induzca SS sólo cuando se administra una DANa indica que la desfuncionalización barorefleja arterial es condición necesaria pero no suficiente para inducir SS. Hasta la fecha se ha considerado que sólo una DSA radical es capaz de inducir SS.

Hipótesis: 1) La denervación baroreceptora arterial parcial y crónica (denervación aórtica crónica = DA) más DANa es capaz de inducir SS. 2) El grado de SS se asocia a desfuncionalización progresiva del sistema baroreflejo arterial. **Objetivos:** 1) Definir si existe interacción entre denervación baroreceptora y dieta en el determinismo de la presión arterial; 2) Evaluar la actividad barorefleja arterial y cardiopulmonar remanente en deafferentación crónica arterial progresiva (intacto → DSA) en DANa y en dieta baja en sal (DBNa); 3) Intentar establecer una asociación continua entre el grado de desfuncionalización barorefleja y el grado de SS. **Diseño:** Unidad experimental = rata. Estructura de diseño = completamente al azar. Estructura de Tratamientos: factorial 3 x 2 (DA y DSA real o fingida, Dieta Alta o Baja en sodio). Se midió Presión Arterial Pulsátil (PP), Presión Arterial Media (PAM), Frecuencia Cardíaca (FC), Presión Venosa Central (PVC) y Actividad Nerviosa Simpática Eferente Renal (ANSER). **Métodos:** Animales con curva ponderal normal y normotensas. DA y DSA real o fingida por el método de Krieger. Régimen dietético (DANa = 8% Na, DBNa 0.04% Na) por 21 días. Experimento agudo: En estado alerta, medición de PAM, FC y PP por 60 min pre y post denervación. En estado anestesiado se hizo evaluación funcional de los baroreflexos arteriales (rampas de presión) y cardiopulmonares remanentes antes y después de vagotomía cervical bilateral por evaluar el $\Delta\%$ ANSER/PAM ajustado por regresión logística de 4 parámetros. **Análisis:** Exploratorio y luego confirmatorio paramétrico usando modelos de efectos fijos de 2 vías para evaluar interacción Denervación*Dieta o no paramétrico según el caso. Nivel de $\alpha = 0.05$. **Resultados:** Se realizaron 59 experimentos de 36 proyectados. El análisis indicó: 1) que no existe interacción entre denervación baroreceptora y dieta, pero si hay influencia de ambos factores en el determinismo de la PAM cuando se corrige por la covariable PAM Pre-denervación; 2) La DA más DANa es un modelo de normotensión sensible sal; 3) La función barorefleja arterial remanente se ve afectada por el grado de denervación baroreceptora pero no por la dieta, de manera que mientras la DA no afecta la función barorefleja, la DSA la atenúa; 4) La actividad barorefleja cardiopulmonar no compensa la pérdida progresiva del baroreflejo arterial; 5) La pendiente de la relación $\Delta\%$ ANSER/PAM muestra interacción denervación*dieta, la cual desaparece con la vagotomía; 6) El grado de SS no se asoció a la desfuncionalización progresiva del sistema baroreflejo arterial, ya que no se observó un aumento progresivo en el Δ PAM conforme aumentó la radicalidad de la denervación (DA → DSA) en los animales bajo una DANa. **Conclusión:** La denervación aórtica más dieta alta en sal constituye un modelo experimental inédito de normotensión sensible a sal.

INTRODUCCIÓN

El espectro de la Sensibilidad a Sal (SS)

La administración crónica de una dieta alta en sodio (**DANa**) a mamíferos produce efectos que no están relacionados a la presión arterial. Ejemplo de ello son: la hiperreactividad del músculo liso bronquial (Burney PGJ 1987), la resistencia a la insulina (Donovan y col 1993) y la fibrosis cardiaca y renal (Yu HCM 1998). Entonces, estrictamente hablando, estas respuestas constituyen una forma de sensibilidad a sal (aunque no ampliamente reconocida) que es independiente del valor absoluto de presión arterial.

En 1961, Lewis K Dahl y col observaron que la administración crónica excesiva de sal sólo inducía hipertensión arterial en una sub-población de ratas Sprague-Dawley que mostraban normotensión cuando se les administraba una dieta control "baja en sodio". Suponiendo la heredabilidad del fenómeno, estos autores generaron por cruzamiento selectivo las subcepas sensibles a sal (**DahISS**) que desarrollaban HT cuando se les sometía a una DANa (8% Na), y las resistentes a sal (**DahIRS**) que permanecían normotensas cuando se les sometía a la misma DANa. Así surgió un primer concepto de sensibilidad a sal (**SS**), el cual eslabonaba el desarrollo de hipertensión (**HT**) con la administración de una carga de sodio elevada, por lo que también se le denominó hipertensión arterial sensible a sal (**HTSS**).

Esta idea fue trasladada de manera modificada al terreno clínico por Kawasaki y col (1978), Campese y col (1982), Weinberger y col (1986). En sujetos hipertensos esenciales, evaluaron el cambio de presión arterial media (**PAM**) luego de administrar crónica o agudamente dos tipos de cargas de sal: una alta y otra baja en sal. En principio, identificaron dentro de los hipertensos esenciales a tres subgrupos: los hipertensos sensibles a sal (**HTSS** = cambio en PAM > 10 mmHg), los hipertensos resistentes a sal (**HTRS** = no cambio o un cambio < 5 mmHg) y los hipertensos indeterminados (diferencia entre 6 y 10 mmHg). La traducción fenomenológica de lo anterior fue que las curvas presión-natriuresis crónicas tanto del HTSS como del HTRS estuvieran desplazadas a la derecha, pero además que la del HTSS mostraran menor pendiente. Weinberger y col (1986, 1996 y 2001) además documentaron que este cambio en PAM, el cual mostraba distribución normal, también podía observarse en algunos sujetos normotensos, a los cuales denominaron normotensos sensibles a sal (**NTSS**), pero no en otros, a los cuales denominaron normotensos resistentes a sal (**NTRS**). Fenomenológicamente, ello se tradujo en que las curvas presión-natriuresis crónicas tanto del NTSS como del NTRS no mostraran desplazamiento a la derecha, pero además que la del NTSS mostrara una menor pendiente. Así, este grupo reportó que ~ el 25% de los normotensos y el 50% de los hipertensos eran SS y dio lugar a un segundo concepto de SS (concepto

clínico), el cual eslabonaba el cambio en PAM (aunque no necesariamente en los rangos hipertensivos) a la administración de una carga de sodio elevada primero (repleción) y baja después (depleción) e hizo claro que en el hipertenso esencial, la SS así definida, constituía un epifenómeno (Strazzullo, 2003).

Ahora se sabe que en el sujeto normotenso, la SS así definida, es un predictor de hipertensión arterial asociado con la edad; que tanto en el normotenso como en el hipertenso esencial, la SS es un predictor de muerte independiente de presión arterial (Weinberger, 2001) y que en el hipertenso esencial, la SS constituye un factor de riesgo 3 veces mayor para la ocurrencia de eventos cardiovasculares (Morimoto y col, 1997) y un factor de riesgo para el desarrollo de hipertrofia ventricular izquierda así como de proteinuria (Bigazzi y col, 1994).

Recapitulando, aunque no existe una definición universal de SS, se puede proponer que la SS es aquella condición en donde una ingesta crónica elevada de sal hace que los individuos susceptibles aumenten sus valores de presión arterial media de manera sostenida. A la fecha es claro que mientras la presión arterial media en la población como un todo sólo responde modesta e inconsistentemente a las incrementos en la ingesta de sodio (Franco & Oparil 2006), algunos individuos manifiestan aumentos relativamente grandes y sostenidos en presión arterial media. Estos individuos también manifiestan cambios relativamente grandes en respuesta a la repleción-depleción aguda o crónica de sal (Franco & Oparil, 2006) y son los así llamados sensibles a sal (SS), que pueden ser normotensos (NTSS) o hipertensos (HTSS) (Weinberger, 2001). Bajo esta perspectiva, no es descabellado proponer que existe un continuo de sensibilidad a sal en el individuo **susceptible** en donde en un extremo está la condición de NTSS y en el otro extremo está la condición de HTSS.

Relevancia de la SS

La raza humana está programada genéticamente para consumir <1 g de sal/día (17 mEq/día) pero la mayoría de las poblaciones humanas consumen entre 6 y 12 g de sal/día (entre 100 y 200 mEq/día), es decir, el humano consume habitualmente una cantidad de sal por arriba de su requerimiento genético (de Wardener HE y col 2002) y cercano a los límites que se usan para evidenciar clínicamente la SS en el sujeto **susceptible** (250 mEq/día), de manera que se puede proponer que es este consumo crónico el que induce la SS en el humano susceptible, ya sea normotenso o hipertenso. La Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas (ENEC, 1993) y la Encuesta Nacional de Salud (ENSA, 2000), indican que dentro de los factores de riesgo cardiovascular en adultos mayores de 20 años de edad en México el más prevalente

(75%) de ellos es el consumo excesivo de sal (>de 6 g/día), por arriba de todos los demás factores de riesgo (HT = 30%, DM = 10.9%, Obesidad = 46.3%, Hipercolesterolemia = 9.%)

La SS en el humano ha ganado importancia clínica y epidemiológica en los últimos 20 años y los estudios INTERSALT y Dash-Na son un reflejo de ello. Si se extrapolan las prevalencias tanto de NTSS como de HTSS reportadas por Weinberger y col (1986,1996 y 2001) en población norteamericana a nuestro escenario nacional de salud, podemos decir que para el 2005 y dada la prevalencia de HT en adultos mayores de 20 años (30% , ENSA 2000), en México había 18.3 millones de HT de los cuales la mitad podrían ser HTSS y más importante aún, habría 10.7 millones de NTSS (25% de 42.8 millones de NT). De poderse detectar a tiempo estos últimos y de poderse adoptar medidas preventivas adecuadas podría retrasarse o evitar la aparición de hipertensión arterial esencial en estos individuos. Así y entonces, el conocer la etiopatogenia y la fisiopatología de SS es en extremo relevante.

ETIOPATOGENIA ¿Qué se ha aprendido de los modelos experimentales de SS?

1) Modelo Genético de SS (Modelo Dahl)

La SS se ha estudiado experimentalmente de manera preponderante en la cepa de ratas Dahl. Los estudios de trasplante renal cruzado entre ratas sensibles a sal (ratas DahlSS) y resistentes a sal (DahlIRS), usando dietas tanto normales (0.3% Na) como altas (8% Na) en sodio (Dahl LK y col 1974; Morgan DA y col 1990), pusieron de relieve dos hechos: por un lado, que la hipertensión sigue al riñón y por tanto que la disminución en la capacidad innata de este órgano para excretar sodio juega un papel central en el desarrollo de hipertensión, y por otro, que factores extrarenales, independientes del genotipo renal (pero no forzosamente independientes del riñón) juegan un papel crítico en el desarrollo de la SS. El corolario de todos estos experimentos fue, entonces, que en la rata DahlSS bajo DANA existen dos componentes genotípicos que determinan el nivel de presión arterial, uno renal, que desplaza la relación presión-natriuresis a la derecha (a rangos hipertensivos), y otro extrarenal, que determina la caída en la pendiente de la relación (Grisk y col 2001) y que acentúa la hipertensión.

El efecto que ambos componentes (renal y extrarenal) en conjunto tienen sobre el balance de sodio fue elegantemente estudiado por Greene y col en 1990, quienes mostraron que un cambio en el ingreso de sodio de 20 veces (por vía i.v.) produjo un cambio en el peso corporal y en el gasto cardíaco que fue semejante entre las ratas DahlIRS y DahlSS, pero sólo estas últimas fueron incapaces de disminuir su

resistencia periférica total y por tanto desarrollaron hipertensión. Cuando el mismo experimento fue llevado a cabo pero impidiendo que el peso aumentara y por ende que el volumen extracelular se expandiera (por servocontrolar el ingreso de agua), la $[Na^+]_p$ aumentó pero la hipertensión no ocurrió. Estos hallazgos ponen de relieve tres aspectos: a) que la respuesta hipertensiva en la rata DahlSS bajo DANA no necesariamente es provocada por una mayor retención de sodio y agua sino por una incapacidad para poder reducir la resistencia periférica total; b) que el aumento de volumen es condición necesaria pero no suficiente para que se manifieste la hipertensión y c) que el aumento en la $[Na^+]_p$ per-se, no induce hipertensión.

El hecho de que la simpatectomía química inducida (por 6-hydroxidopamina) en ratas DahlSS, previo a que se instaurara la DANA, evitara el desarrollo de hipertensión sugirió (Takeishi y col 1979) que un sistema nervioso simpático intacto juega un papel esencial en el desarrollo de la HTSS y lo hizo fuerte candidato a ser el componente genotípico **extrarenal primario en la SS**. A partir de estos experimentos se ha venido acumulando evidencia (Lennen y col 2002) de que en la rata DahlSS (vs la rata DahlRS) bajo DANA el aumento en la actividad nerviosa simpática basal puede constituir uno de los factores extrarenales en la SS y que un deterioro en el control baroreflejo se asocia al mismo. Este deterioro, también conocido como desfuncionalización barorefleja, aparentemente tiene un componente periférico así como otro central. La desfuncionalización barorefleja periférica se refleja en el hecho de que ya desde la fase prehipertensiva (bajo dieta baja en sodio = **DBNa**) la rata DahlSS muestra un deterioro del control baroreflejo arterial (Gordon y col. 1981) y/o cardiopulmonar (Ferrari A y col 1984) sobre la descarga nerviosa simpática. Esto último hizo proponer que la desfuncionalización barorefleja periférica podría jugar un papel patogénico en la SS (Gordon y col, 1984). Por otro lado, la desfuncionalización barorefleja central se refleja en que bajo DANA existe: a) aumento en la descarga nerviosa simpática basal (ANSb), b) aumento en la respuesta simpatoexcitatoria al estrés del chorro de aire, c) atenuación de la respuesta simpatoinhibitoria al aumento de presión arterial media y/o presión venosa central (Huang & Leenen, 1998). Finalmente, Osborn y col (1988) reportaron que la denervación renal crónica era incapaz de atenuar o retrasar la aparición de la hipertensión en las ratas DahlSS que consumen una DANA, indicando que el desarrollo de la hipertensión en este modelo es independiente de una inervación renal intacta.

Aunque el modelo genético DahlSS ha sido ampliamente usado para estudiar el fenómeno de la SS, el hecho de combinar componentes renales y extrarenales, así como el de presentar múltiples anomalías heredables (algunas conocidas y otras no) en los ámbitos renal, vascular, neurohumoral, baroreflejo y de

permeabilidad en la barrera hematoencefálica (Osborn JW y col, 2005) ha hecho difícil explorar de manera específica cuál o cuáles de ellas participan en la etiopatogenia de la SS.

2) Modelos Inducidos de SS

2a) Modelo de Denervación Sino-Aórtica Crónica (DSA) + Dieta alta en sal

Bajo el escenario del modelo genético DahlSS se hizo necesario desarrollar otros modelos que permitieran explorar de manera selectiva potenciales factores que explicaran la SS. Con el objeto de explorar el papel de los baroreflejos arteriales se desarrolló el modelo, experimentalmente inducido, de denervación sino-aórtica (**DSA**) + DANA (Barres y col, 1992; Osborn y England, 1990; Irigoyen y col, 1995), el cual tiene dos fases claramente distinguibles.

La DSA inicialmente induce un aumento agudo en la presión arterial media, en la variabilidad de la presión arterial media, en la frecuencia cardíaca y en la actividad nerviosa simpática, producto de la desfuncionalización barorefleja. Sin embargo, a las 72 hs post-DSA, la presión arterial media, la frecuencia cardíaca y la actividad nerviosa simpática han retornado, por mecanismos todavía no bien esclarecidos, a sus niveles pre-denervación (Osborn y England, 1990; Barres y col 1992, Irigoyen y col, 1995), de manera que en su fase tardía no existe aumento de ninguna de estas tres variables aunque la variabilidad de la presión arterial permanece aumentada (Barres y col 1992, Schreihofner y Sved, 1994; Osborn y Hornfeldt, 1998).

Si a ratas con DSA en su fase tardía y alimentadas con una DNa (0.4% de Na) se les somete a una DANA (4% u 8%) por un periodo de 3 semanas gradualmente aumentan su PAM, es decir, muestran SS (Howe y col, 1985; Osborn JW y Provo, 1992). Si luego de 3 semanas en DANA los animales con DSA son regresados a la DNa su presión arterial se normaliza en ~24 hs. Ello sugiere que al menos en este lapso y en este modelo, la DANA y el consecuente aumento en PAM, no han producido un deterioro permanente en cuanto a la capacidad renal para excretar sodio. Por lo que respecta a la SS inducida en este modelo, se han invocado múltiples mecanismos para explicarla, a saber: a) que la DSA real de alguna manera reduzca transitoriamente la capacidad renal para excretar sal, de manera que ante una DANA ello daría lugar a una expansión de volumen plasmática preferencialmente mayor (y por tanto a un mayor aumento de presión arterial) en los animales con DSA real que con DSA fingida (Osborn y Provo, 1992); b) que la ingesta de una DANA resulte en un grado de expansión de volumen extracelular similar en animales con DSA real y DSA fingida (con aumento de gasto cardíaco similar), pero que la respuesta presora al aumento

de volumen plasmático es aumentada en los animales con DSA real a consecuencia de una incapacidad para reducir su resistencia periférica total (Osborn y Provo, 1992); c) que la ingesta de una DANa en animales con DSA real y DSA fingida produzca un aumento en las concentraciones plasmáticas de Hormona Antidiurética (HAD), por activación de osmoreceptores espláncnicos, la cual aumentará la presión arterial sólo en los animales con DSA real pero no en aquellos con DSA fingida, ya que la DSA real evitaría el efecto simpatoinhibitorio de la HAD mediado por los baroreceptores (Osborn y Provo, 1992); d) que la ingesta de una DANa en animales con DSA crónica induce directa o indirectamente un aumento crónico en el nivel de referencia central de la actividad nerviosa simpática eferente basal, que además no podrá suprimir crónicamente ante el aumento de PAM dada la deaferentación sino-aórtica (Osborn y Hornfeldt, 1998). En apoyo de este mecanismo, está la evidencia aportada por Huang y col (1999a) en el sentido de que, de manera semejante a lo que sucede en las ratas DalhSS + DANa, las ratas con DSA real + DANa exhiben un aumento en la respuesta presora y simpatoexcitatoria al estrés del chorro de aire respecto a aquella observada en las ratas con DSA fingida + DANa; e) que la DSA crónica imposibilita al animal a suprimir crónica-mente la actividad nerviosa simpática cuando ingiere una DANa, (independientemente del nivel de actividad nerviosa simpática basal) así como también a suprimir crónicamente los niveles de hormonas ligadas a la homeostasis de agua y sodio (Osborn y Hornfeldt, 1998).

El aumento en la variabilidad de la presión arterial media (juzgada por la desviación estándar de la presión arterial media en un periodo de tiempo determinado) luego de la DSA parece ser el producto, por un lado, del aumento (~ 8 veces) en la variabilidad espontánea y azarosa de baja frecuencia (0.005 - 0.27Hz) dada por las conductancias vasculares regionales, las cuales no están siendo amortiguadas por el baroreflejo arterial y que explican el 70% de la variación, y por otro, del mantenimiento de la variabilidad de la actividad nerviosa simpática basal central (independiente del baroreflejo) que explica el otro 30% (Zhang y col 1995). Adicionalmente se sabe que la DSA atenúa importantemente (pero no absolutamente) la potencia espectral (y por ende la variabilidad) tanto de la presión arterial media como de la actividad nerviosa simpática en el rango de frecuencia intermedia - 0.27 a 0.74 Hz- (Julien y col 2003). El cálculo de las funciones de coherencias en este rango de frecuencia intermedia, indica que los ritmos de presión arterial media y actividad nerviosa simpática están linealmente relacionadas tanto en el animal intacto como en aquel con DSA y ello es consistente con la propuesta de que las fluctuaciones de presión arterial media dentro de este rango son principalmente, sino no es que exclusivamente, mediadas por el sistema nervioso simpático central. Por otro lado, Osborn y Hornfeldt (1998) reportaron en este modelo (DSA) que la DANa o la DBNa no modifican la variabilidad circadiana de la presión arterial media (0.00001Hz = ultra baja frecuencia), sin

embargo la DANa, exagera el aumento de presión arterial media que se dá en la fase nocturna activa de la rata así como el valor nadir de presión arterial media cuando se compara con ratas con DSA fingida bajo la misma dieta. Aunque no se conoce si en este modelo la DANa modifica la variabilidad de la presión arterial media en los rangos de frecuencia baja o intermedia, la pregunta de cómo la DANa aumenta la presión arterial permanece incontestada. Como ya se mencionó, se ha sugerido que los baroreceptores arteriales juegan un papel crítico en la regulación a largo plazo de la PAM y por otra que su eliminación deja al descubierto y sin contrapeso el mecanismo central que define el nivel de referencia de la actividad nerviosa simpática y de la presión arterial media a largo plazo y que aparentemente es activado por DANa (Osborn JW y col 2005).

En la rata no existen quimiorreceptores aórticos (Franchini y col 1994, Van Vliet y col.1999) y el procedimiento quirúrgico de DSA como es llevado a cabo en la mayoría de los laboratorios del mundo, incluye la eliminación de los cuerpos carotídeos (quimiorreceptores periféricos), de manera que la DSA elimina, además, la influencia excitatoria que éstos ejercen sobre el centro ventromedular rostral del bulbo. Ha sido demostrado por Franchini y cols (1992,1994) que tal eliminación en el animal con DSA bajo DNa y respirando aire ambiental induce hipoventilación alveolar con el consecuente desarrollo de hipoxemia e hipercapnia, y que cuando se resuelve por oxigenoterapia propicia que la presión arterial media aumente entre 10 y 15 mmHg. Torres-Rodríguez (2004) mostró que esta condición de hipoxemia e hipercapnia persiste en animales con DSA y DANa, de manera que dicha deaferentación quimiorreceptora puede ser una de las razones por las que la actividad nerviosa simpática retorne a su nivel basal luego de la DSA aguda, así como también el que no se manifieste un mayor incremento de presión arterial media cuando el animal se somete a DANa, Cabe mencionar que se ha demostrado que la deaferentación quimiorreceptora selectiva no aumenta la variabilidad de la presión arterial en animales con denervación aórtica aislada o en animales en los que sus senos carotídeos y su arco aórtico están intactos (Franchini & Krieger, 1992). Hasta donde nos fue posible indagar, no se ha reportado en la literatura el efecto de la denervación renal crónica sobre la evolución de la presión arterial en los animales con DSA real (vs DSA fingida) bajo DANa,

2b) El modelo de Denervación Aórtica (DA) más dieta alta en sal

A la fecha se considera que la única manera de inducir experimentalmente SS es a través del producir una DSA real lo más radical posible seguida de una DANa (Schreihof AM & Sved AF 1994). Dado que en las etapas prehipertensivas del modelo de ratas DahlISS existe una desfuncionalización parcial de los baroreceptores arteriales ello nos indujo a plantear la hipótesis general de que una denervación

baroreceptora arterial menos extensa como podría ser la denervación aórtica (DA) más una DANa pudiera ser capaz de inducir SS. El modelo de DA no tiene el inconveniente que tiene el modelo de DSA de inducir hipoxemia e hipercapnia y la sobrevivencia posquirúrgica, por otro lado, es mucho mayor.

La denervación aórtica crónica bilateral (DA real) ha sido clásicamente considerada como un modelo de hipertensión neurogénica que en etapas agudas (primeras 24 hs) muestra un pico hipertensivo (30 mmHg) que dura 72 hs y que se asocia a un aumento en la actividad nerviosa simpática. Posteriormente la presión arterial tiende a regresar a sus valores control pero aparentemente no los alcanza (quedando ~ 5 mmHg por arriba del valor pre-denervación) (Fink y col 1980,1981; Patel y col 1981; Werber y col 1981; Kline y col 1983.) Además, en este modelo: a) la variabilidad de la PAM es mucho menor que en el caso de DSA real, de manera que este parámetro se ha usado como criterio de denervación baroreceptora arterial progresiva (Osborn & England, 1990); b) no se han detectado diferencias conmensurables en volumen extracelular entre los animales con DA real o fingida crónica y c) el bloqueo autonómico total (atropina, propanolol y fentolamina) reduce la PAM a valores similares a los observados en animales con DA fingida (Fink GD y col 1980). Finalmente, se ha reportado que la denervación renal crónica previene (si se realiza antes de la DA) o revierte (si se realiza después de la DA) el incremento de PAM observado luego de la DA real (Kline y col 1983).

Desfuncionalización barorefleja y SS

El sistema baroreflejo juega un papel muy importante en el control de la función cardiovascular. Dicho sistema es de tipo inhibitorio y en los mamíferos, el hombre incluido, poseen dos grandes divisiones: uno arterial y otro venoso. Del subsistema arterial forman parte tanto los baroreceptores de los senos carotídeos, cuyas aferentes viajan por los nervios del seno carotídeo e ingresan al SNC a través de los nervios glosofaríngeos, como los baroreceptores aórticos cuyas aferentes viajan por sendos nervios depresores aórticos e ingresan al SNC a través de los nervios vagos. Del subsistema venoso forman parte los baroreceptores hepáticos y los cardiopulmonares con la mayoría de sus aferentes viajando por los nervios vagos.

Previamente se ha hecho mención de que en el modelo genético DahlSS se ha documentado tanto desfuncionalización barorefleja periférica, que es aparente desde la fase prehipertensiva, así como también desfuncionalización barorefleja central inducida por la DANa. La deaferentación del sistema baroreceptor arterial induce desfuncionalización del baroreflejo arterial, la magnitud de la cual es función del grado de deaferentación. Ya se ha mencionado que tanto la DSA aguda como la DA aguda aumentan inicialmente

la actividad nerviosa simpática basal y que luego de 72 hs dicha actividad desciende a sus valores basales (DSA) o muy cercanos a ellos (DA). El poner a prueba la hipótesis de que una denervación baroreceptora arterial parcial, como podría ser la denervación aórtica (DA), más una DANA pueda ser capaz de inducir SS, a parte de ser una idea no previamente sugerida y ni documentada en la literatura (cero citas en Pub-Med como: aortic barodenervation and salt sensitivity), constituiría un pieza de evidencia para proponer que un posible mecanismo de SS en individuos normotensos podría ser la desfuncionalización barorefleja parcial, heredada o programada fetalmente (Alexander B, 2006) o adquirida postnatalmente.

La capacidad de amortiguamiento baroreflejo puede ser juzgado al conocer los parámetros de la función de transferencia sigmodial del baroreflejo global descrito por la relación $\% \Delta$ Actividad Nerviosa Simpática Eferente Renal y la PAM ($\% \Delta$ ANSER / PAM). Clásicamente, el conocer las magnitudes de las mesetas superior e inferior, del rango, del valor de PAM al 50% del rango y de la ganancia máxima de esta función antes (baroreflejo arterial y cardiopulmonar operativo) y después de vagotomía cervical bilateral (baroreflejo arterial operativo aislado) permiten comparar la capacidad de amortiguamiento de los baroreflejos asociados a los baroreceptores remanentes operativos bajo condiciones de integridad baroreceptora, de DA y de DSA y evaluar si dicha capacidad es modificada por la ingesta dietética de sal (DANA o DBNa). En adición, la substracción de la ganancia máxima antes y después de la vagotomía permite obtener una idea de la participación del baroreflejo cardiopulmonar en la respuesta simpatoinhibitoria remanente en las diversas condiciones de barodenervación e ingesta de sal. En este último caso, sólo hay que asegurar que las magnitudes basales y los cambios de PVC sean semejantes en las diversas condiciones de barodenervación y de dieta.

Con base en estos antecedentes nos planteamos las siguientes hipótesis:

HIPÓTESIS

- 1) La denervación aórtica crónica más DANA es capaz de inducir SS.
- 2) El grado de SS se asocia a desfuncionalización progresiva del sistema baroreflejo arterial.

OBJETIVO GENERAL

Definir si la denervación baroreceptora arterial progresiva en la rata es capaz de inducir sensibilidad a sal cuando ésta se expone a una dieta alta en sodio por tres semanas y evaluar el comportamiento funcional del baroreflejo arterial y cardiopulmonar remanente bajo deaferentación crónica arterial progresiva (intacto \rightarrow DSA) en dieta alta y baja en sodio, así como intentar establecer una asociación entre el grado de desfuncionalización barorefleja y el grado de SS.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.- Definir si existe interacción entre denervación baroreceptora y dieta en el determinismo de la presión arterial en el animal con denervación aórtica crónica.
- 2.- Evaluar la actividad barorefleja arterial y cardiopulmonar remanente en deaferentación crónica arterial progresiva (intacto→DSA) en dieta alta y dieta baja en sal.
- 3.- Intentar establecer una asociación continua entre el grado de desfuncionalización barorefleja y el grado de SS.

MATERIAL Y METODOS

MANEJO PRE-DENERVACIÓN:

Ratas Wistar macho recién destetadas y con peso entre 70 y 100 g , fueron colocadas en jaulas de acrílico individuales dentro de la Unidad Metabólica del laboratorio 3.2 localizada en el Bioterio General de la Facultad de Medicina de la UASLP. Esta unidad cuenta con ciclos de luz y oscuridad de 12 hr y control de humedad y temperatura. A partir de entonces los animales fueron pesados diariamente y expuestos ad libitum a una dieta normal en sodio ($\text{Na} = 0.1709 \text{ mEq /g} = 1.0\%$, LabDiet 5P14, PMI Nutrition International, Inc., Brentwood, MO, EUA) y a solución salina isotónica (0.9%) como liquido de bebida hasta alcanzar un peso cercano entre los 270 y los 340g. A todos los animales que mostraron curvas ponderales normales se les registró la presión arterial intrararterial en estado alerta. Obtenido lo anterior, los animales fueron asignados aleatoriamente (usando el programa R V 2.1) a seis grupos experimentales conformados en función del tipo de denervación realizada: fingida (INT), denervación aórtica (DA), denervación sino-aórtica (DSA) y del tipo de dieta: alta en sodio (DANa) o dieta baja en sodio (DBNa): 1) DSA + DANa; 2) DSA + DBNa; 3) DA + DANa; 4) DA + DBNa; 5) INT + DANa y 6) INT + DBNa.

MONTAJE DE LOS MODELOS

Procedimiento Quirúrgico:

A las 7:00 a.m. y bajo anestesia inhalatoria con éter (J. T. Baker, 9240-03) se realizó de manera aséptica una incisión inguinal derecha, disecándose la arterial femoral derecha e insertándose un catéter PE50 con punta de PE10 (DI = 0.28mm, DE = 0.61mm, Intramedic, Clay Adams, Sparks, MD, EUA) purgado con heparina sódica (125 UI/ml disuelto en G5%) para el registro de la presión arterial, procediéndose a suturar la herida. Una vez que despertó el animal, se le dió un periodo de recuperación de 30 min para proceder a registrar la presión arterial (PA) y la frecuencia cardíaca (FC) por un lapso de 30 min. Acto seguido y bajo anestesia inhalatoria con éter se reabrió la herida inguinal, se removió el catéter arterial femoral obturando

la arteria y suturando la herida con seda negra 4-0. Posteriormente se procedió a la denervación correspondiente.

Denervación Sino-Aórtica Crónica Real (DSA). La denervación sino-aórtica se llevó a cabo por el método de Krieger (1964). Ratas Wistar macho de ~ 270-340 g de peso fueron anestesiadas i.p. con una mezcla de Ketamina (33.3 mg/kg, PiSA, México) + Xilazina (6.7 mg/kg, Bayer, Alemania) y atropinizadas i.p. (0.05mg/kg, PiSA, México). Bajo condiciones asépticas se incidió ventralmente la línea media cervical, separando el músculo esternohioideo y exponiendo la tráquea. Bilateralmente y bajo microscopio estereoscópico (25X) se disecó la arteria carótida común y el tronco simpático, extirpando tanto el ganglio cervical superior como la porción distal del tronco simpático (~ 2mm). Acto seguido se disecó el nervio laríngeo superior y se cortó en su unión con el nervio vago. A continuación se disecó y se desnudó la bifurcación carotídea incluyendo al quimiorreceptor carotídeo y el nervio vago se liberó de los pequeños vasos sanguíneos que están adheridos a él, dejándolo completamente desnudo pero sin lesionar el perineuro. Finalmente, la bifurcación carotídea fue pincelada con una mezcla de fenol-alcohol al 10% adicionado con colorante verde intenso para visualizar la correcta aplicación, teniendo cuidado de no tocar el vago con la mezcla. Luego de verificar bilateralmente la hemostasia, se suturó por planos con seda negra 4-0.

Denervación Aórtica Crónica Real (DA). Para la denervación aórtica se procedió de la misma manera descrita arriba, sólo que ahora se disecó bilateralmente la arteria carótida común y el tronco simpático, extirpando la mitad del ganglio cervical superior y la porción distal del tronco simpático (~ 2mm). También se disecó bilateralmente el nervio laríngeo superior y se cortó en su unión con el nervio vago. La bifurcación carotídea bilateral incluyendo al quimiorreceptor carotídeo no fue tocada y no se pinceló con la mezcla de Fenol-Alcohol al 10% ninguna estructura. El nervio vago se liberó de cualquier resto de pequeños vasos sanguíneos adheridos a él dejando íntegro el perineuro. Luego de verificar bilateralmente la hemostasia, se suturó por planos con seda negra 4-0.

Denervaciones Sino-Aórtica y Aórtica Fingidas (INT). Se llevó a cabo el mismo y procedimiento descrito arriba excepto que no se disecó ninguna estructura y no se cortó ningún nervio y la duración de las mismas fue en promedio de 45 min.

Manejo Post-denervación

En el post-operatorio inmediato a todos los animales se les administró: 126,000 U/Kg de peso de penicilina G benzatínica (Pendiben L-A, PiSA, México) i.m., 400 mg/kg de peso metamizol sódico (PiSA, México) s.c. y calor. Recuperadas de la anestesia, las ratas fueron devueltas a la unidad metabólica para su recuperación post-operatoria, con acceso ad libitum a dieta normal en sodio (1% de Na) y a agua filtrada hasta que alcanzaron su peso pre-denervación. Logrado lo anterior y en función del grupo al cual fueron

asignadas, se les dio acceso ad libitum a una dieta alta en sal (8% o TD92012, Harlan Teklad, Madison WN, EUA) + agua filtrada o a una dieta baja en sodio (0.04% o TD90228, Madison WN, EUA) + agua destilada, donde se les mantuvo por 21 días. A partir del día 17 post-recuperación del peso pre-denervación, los animales fueron introducidos en jaulas metabólicas por espacio de tres días (días 18, 19 y 20) continuando con su misma dieta (solo que pulverizada) con objeto de registrar el balance externo diario de sodio. En el día 20, los animales fueron regresados a sus jaulas individuales.

EVALUACION DE LOS MODELOS

Procedimiento Quirúrgico:

El día del experimento (día 21) y bajo anestesia inhalatoria con éter (J.T. Baker, 9240-03) a los animales se les cateterizó de manera séptica la arterial femoral izquierda con un catéter PE50 con punta de PE10 (DI = 0.28mm, DE = 0.61mm, Intramedic, Clay Adams, Sparks, MD, EUA) para el registro de la presión arterial (PA). Acto seguido, se disecó la vena femoral izquierda y se insertó un catéter PE50 (DI = 0.58 mm, DE = 0.965mm, Intramedic, Clay Adams, Sparks, MD, EUA) que se avanzó aproximadamente 10 cm con el objeto de alcanzar la aurícula derecha y administrar centralmente fenilefrina o nitroprusiato de sodio o fenilbiguanida (agonista tipo 3 de serotonina). También se incidió la región inguinal derecha para exponer, disecar y cateterizar (2 cm) la vena femoral derecha con un catéter PE50 (Intramedic, Clay Adams, Sparks, MD) de doble luz para la administración de pentobarbital sódico y bromuro de pancuronio. Todas las heridas fueron suturadas.

Protocolo para Registro de PA y FC. Una vez despierta, la rata fue introducida en una jaula de restricción que le permitió el movimiento hacia atrás y hacia delante. Luego de 30 min de estabilización, se registró en línea y durante una hora la PA, la FC y la presión pulsátil (PP). Como criterio de denervación fingida o denervación aórtica o sino-aórtica real se usó la Desviación Estándar de la Presión Arterial Media (Osborn & England, 1990) durante los primeros 30 min de registro en estado alerta, ya que además se ha demostrado, que no se ve influido por el contenido de sal en la dieta (Osborn & Hornfeldt, 1998).

Evaluación de la Función Barorefleja Arterial y Cardiopulmonar

Procedimiento Quirúrgico

Luego registrar la PA en estado alerta se anestesió endovenosamente a la rata (Pentobarbital sódico, 50mg/Kg, Pentovet NRV, NORVET, México). Alcanzado el plano anestésico se incidió la línea media cervical y se separó el músculo esternohioideo para exponer la tráquea. Bajo microscopio estereoscópico (25X) se colocó un tubo endotraqueal PE200 (DI = 1.40 mm, DE = 1.90 mm, Intramedic, Clay Adams, Sparks, MD, EUA) que posteriormente fue conectado a un ventilador mecánico de volumen para roedores (Modelo E683, Harvard Apparatus, Holliston, MA, EUA) calibrado de acuerdo al peso corporal del animal

(según monograma de Kleiman & Radford) y agregándole 0.6 ml de espacio muerto. A continuación se localizaron ambos nervios vagos disecándolos cuidadosamente y refiriéndolos con una seda 4-0. Acto seguido, se le insertó un catéter PE50 (Intramedic, Clay Adams, Sparks, MD, EUA) en la vena yugular derecha que se avanzó hasta la aurícula derecha, introduciéndolo aproximadamente 2 cm, para el registro de la presión venosa central (PVC). Finalmente se expuso el riñón izquierdo a través de un abordaje retroperitoneal por el flanco izquierdo. Una rama del nervio renal proveniente del ganglio aorticorenal fue cuidadosamente aislado con el uso de un microscopio estereoscópico de disección (25x). Con el objeto de eliminar la actividad nerviosa aferente renal de la actividad nerviosa simpática eferente renal que se estaba registrando se ligó el nervio renal distalmente, luego de lo cual, fue colocado en un electrodo bipolar de platino. El electrodo de registro se fijó a la preparación nerviosa con Sil-Gel 604, (Wacker-Chemie, Munich, Alemania) para obtener un registro óptimo de ANSER y se esperó a que endureciera.

Protocolo para la Evaluación de la Función Barorefleja Arterial y Cardiopulmonar

Después de finalizada la cirugía y una vez que el animal se ventiló a una frecuencia de 60/min con aire ambiental suplementado con O₂ al 100% (a un flujo de 0.3 L/min a través del puerto de ingreso), se administró, por uno de los puertos del catéter de doble luz insertado en la vena femoral derecha, un prime de 0.75mg/Kg de Bromuro de Panucronio (Bromurex, Pisa, México) seguido de un mantenimiento a 1.2 mg/Kg/hr (Bomba de infusión continua Palmer, England, Modelo F133, velocidad 2.5 cm/ 320min con jeringa de 3ml). Al mismo tiempo, por el otro puerto se inició un mantenimiento de Pentobarbital Sódico a razón de 6.5 mg/Kg/hr a través de una bomba de infusión continua (Harvard Apparatus, Modelo 975, 0.0069ml/min, jeringa 5 ml, posición 22). Bajo estas condiciones se dio un periodo de estabilización de 15 min.

Sub-protocolo para Rampa de Presión: Bajo registro continuo de PAM, de FC, de PVC, y de ANSER cruda e integrada se generó un periodo control de un minuto, luego del cual y siguiendo con el registro continuo de las mismas variables (4 min) se construyó una rampa de presión disminuyendo, primero, la presión arterial media 50 mmHg por debajo de la presión arterial media control a través de la infusión de un bolo de 50 µl de Nitroprusiato de Sodio (486.1µg/ml) dispuesto en el catéter venoso femoral, el cual fue inyectado a través del empuje ejercido por la infusión continua de fenilefrina (243µg/ml) a una velocidad 0.204 ml/min (posición No.7) (Bomba de infusión continua Harvard Apparatus con jeringa de 5 ml, Modelo 904, Millis MA, EUA) lo que permitió elevar la presión arterial media 50 mmHg por arriba de la presión arterial media control (Huang & Leenen,1999). Finalizada la rampa se le dió al animal un periodo de recuperación de 20 min para que todas la variables regresaran a sus valores basales.

Sub-protocolo de Fenilbiguanida. Para evaluar la integridad de los nervios vagos se procedió a registrar de manera continua durante un min la PAM, la FC, la PVC, y la ANSER cruda e integrada, luego del cual

y siguiendo con el registro continuo de las mismas variables (4 min) se administró un bolo de 75µl de fenilbiguanida (40µg/ml) equivalente a 3 µg de fenilbiguanida (Sigma-Aldrich, 164216, Alemania). Finalizado este reto, se dio un periodo de recuperación de 5 min.

Sub-protocolo de Fenilefrina y Nitroprusiato de sodio. A continuación y bajo registro continuo de PAM, de FC, de PVC, y de ANSER cruda e integrada se generó otro periodo control de un minuto, luego del cual y siguiendo con el registro continuo de las mismas variables (4 min) se administró un bolo de 100 µl de fenilefrina (10 µg/kg, Sigma, P-6126, Alemania). Este sub-protocolo se repitió 3 veces dejando un tiempo de recuperación entre ellos de 6 min. A continuación el mismo protocolo de registro se repitió tres veces pero ahora administrando un bolo de 100 µl de nitroprusiato 5 µg/ kg (Sigma, S-0501, Alemania) y dejando un tiempo de recuperación entre ellos de 2 min.

Vagotomía cervical bilateral. A continuación se procedió a cortar ambos nervios vagos a nivel cervical, dando un periodo de estabilización de 10 min, luego de los cuales se repitieron los sub-protocolos rampa de presión y de fenilbiguanida. Se considero que la vagotomía cervical bilateral fue completa cuando la respuesta simpatoinhibitoria fue suprimida como mínimo un 35% de su valor basal.

Fin del experimento. A continuación se sacrificó a la rata con una sobredosis de pentobarbital sódico y se le dió un periodo de 30 min para registrar la señal postmortem, la cual fue considerada como el nivel de ruido de fondo (Rodríguez-Martínez y col. 1995)

REGISTRO DE VARIABLES

Registro de la Presión Arterial y Frecuencia Cardíaca en el estado alerta

El registro de la presión arterial pulsátil se hizo a través del catéter femoral derecho o izquierdo conectado a un transductor de presión Gould P23-XL (Oxnard, CA, EUA). Esta señal fue pre-amplificada (Pre-amplificador 7P1, Grass) y atenuada electrónicamente (en posición 0.1 del control ½ de Amp High Freq del Amplificador Maestro 7DA, Grass) para obtener el valor de presión arterial media (PAM). Simultáneamente, la señal sin filtraje proveniente del 7P1, fue alimentada a través del 7DA a un tacógrafo (Pre-amplificador 7P4, Grass) para obtener la frecuencia cardíaca instantánea (FC). Las señales de presión pulsátil, PAM, FC fueron registradas en papel en un polígrafo Grass modelo 79D y digitalizadas a una frecuencia de muestreo de 8, 2 y 2 Hz respectivamente a través de una tarjeta A/D (DT2801 Data Translation, Marlboro MA., EUA) y el programa HP VEE (V 2.1). El promedio de dos periodos de 30 min de muestreo se tomó como valor de la primera y segunda media hora respectivamente de PAM, FC para cada animal y su desviación estándar (DE) como el índice de variabilidad en tiempo de dichas variables. Los valores de presión sistólica y diastólica se obtuvieron del procesamiento digital de la señal de presión pulsátil.

Registro de Presión Arterial , FC, PVC y ANSER en el estado anestesiado

El registro de la presión arterial y la frecuencia cardíaca se realizó enteramente igual a como se hizo en el estado alerta excepto porque la frecuencia de muestreo fue de 5 Hz. La presión venosa central (PVC) se registró a través del catéter en vena yugular externa derecha el cual se conectó a un transductor de presión Gould P23-XL (Oxnard, CA, EUA). La señal fue preamplificada (Pre-amplificador 7P1, Grass) y atenuada electrónicamente (posición 0.1 del control ½ Amp-High Freq. del Amplificador Maestro, 7DA, Grass) para obtener el valor medio de PVC, el cual fue registrado en un polígrafo Grass modelo 79D y digitalizado a una frecuencia de 5 Hz. La actividad nerviosa simpática eferente renal (ANSER) se registró como ha sido descrito anteriormente por nosotros (Rodríguez Martínez M y col 1995,1999). La señal cruda se amplificó (20,000X) y se filtró (30 Hz-1-3 kHz) con amplificador de paso de banda Grass modelo P511. La señal amplificada y filtrada fue conducida a un osciloscopio Tektronix 5113, a un polígrafo Grass modelo 7DA para su evaluación visual, a un audiomonitor (GRASS AM8) para evaluación auditiva y a un integrador de voltaje (GRASS 7P3). La calidad de las señales de ANSER fueron evaluadas por su descarga típicamente sincrónica con el pulso y por su ritmicidad. La señal fue digitalizada a 5Hz usando una tarjeta A/D (DT2801 Data Translation, Marlboro MA, EUA.) y el programa HP VEE. Al final del experimento, el animal fue sacrificado por una sobredosis i.v. de pentobarbital sódico y luego de 30 min, la señal post-mortem de ANSER fue obtenida como ruido y sustraída de todos los valores experimentales. Acto seguido, se obtuvo la calibración final del integrador de ANSER (7P3 Grass). Dadas las diferencias entre animales en actividad nerviosa relacionada a diferencias en diámetro, número de fibras activas y el contacto con el electrodo, la ANSER fue expresada como %ΔANSER (%Δ de ANSER = [(ANSER durante la rampa de presión X 100) /ANSER en min control] -100). Una ecuación logística de cuatro parámetros: $Y_0 + a / (1 + e^{b(x - X_0)})$ fue ajustada a los datos de PAM y %ΔANSER obtenidos a través de un programa de regresión no lineal que usa el algoritmo de Marquardt-Levenberg (Sigma Plot , 2001) donde x = PAM, a = rango de %ΔANSER, b = pendiente independiente del rango, X_0 = PAM al 50% del rango de %ΔANSER y Y_0 = Plateau Inferior (Kent y col, 1972). El modelo fue ajustado a convergencia con un máximo de 100 iteraciones y su bondad de ajuste evaluada por la r^2 y la función norm. A partir de los parámetros logísticos se determinó la ganancia máxima (Gmax) del baroreflejo = $a * b / 4$ así como el plateau superior [(rango – plateau inferior)* -1.

Balance Externo de Sodio.

Al completar el día 17 del régimen dietético (DBNa ó DANa) todas las ratas ingresaron a jaula metabólica (Nalgene) donde permanecieron por espacio de 72 hs. con el objeto de documentar el balance de Sodio. Cada día se expuso a 40 g de dieta molida (DBNa o DANa) y 100 mL de agua a las 7 y 15 hrs. de cada día en la jaula. La cantidad ingerida de alimento (g) y agua (mL), el peso corporal, así como también el

volumen urinario fueron registrados cada 24 hrs. La concentración de sodio en la dieta fue medida por absorción atómica y en la orina fue medida por fotometría de flama (IL943, Italia), usando como estándar interno CsCl. El balance externo diario de sodio se calculó como: Na ingerido / 24hrs - Na excretado por orina/24 hrs.

Diseño de Estudio:

Estudio experimental transversal con sub-protocolos longitudinales y cuya unidad experimental fue la rata Wistar macho. El diseño general del estudio tuvo una estructura de tratamiento factorial 3X2 desbalanceado y una estructura de diseño completamente al azar, donde los factores fueron el tipo de denervación (DSA, DA o INT) y la dieta (DANa o DBNa). Las variables dependientes (continuas) fueron: a) la desviación estándar (DE) de la PAM basal de la primera y segunda medias horas (mmHg); b) la PAM basal de la primera y segunda medias horas y como covariable: PAM basal pre-denervación (mmHg); c) la delta de PAM = PAM basal post-denervación – PAM basal pre-denervación de la primera y segunda medias horas (mmHg) y como covariable: PAM basal pre-denervación; d) la delta de PAS = PAS basal post-denervación – PAS basal pre-denervación de la primera y segunda medias horas (mmHg) y como covariable: PAS basal pre-denervación; e) la delta de PAD = PAD basal post-denervación – PAD basal pre-denervación de la primera y segunda medias horas (mmHg) y como covariable: PAD basal pre-denervación d) los cuatro parámetros derivados de la regresión logística así como el plateau superior y la ganancia máxima calculada a partir de dichos parámetros. La forma de análisis de los datos fue secuencial empezando en la Etapa A (n = 59), siguiendo con las Etapas B (n = 48) y Ba (n = 42) y terminando con la etapa C (n = 37). La etapa A tuvo por objeto sistematizar la Desviación Estándar de la Presión Arterial Media (DEPAM1) como un criterio para identificar con qué tipo de denervación (fingida, aórtica o sino-aórtica) cursa un animal (n = 59). La etapa B tuvo por objeto cubrir el objetivo No.1, en tanto que las etapas Ba y C tuvieron por objeto cubrir los objetivos No.2 y 3.

Como criterios de inclusión de experimentos se adoptaron los siguientes: a) PAM basal pre-denervación menor de 130 mmHg en el estado alerta, b) Curva ponderal normal pre-denervación, c) recuperación del peso post-denervación al peso pre-denervación, d) Curva ponderal normal durante los 21 días de DANa o DBNa. Como criterios de eliminación para el análisis se adoptaron los siguientes: a) Accidente hemorrágico trans-operatorio, pre y trans-experimento agudo, b) No satisfacer los criterios de denervación aórtica o sino-aórtica real o fingida, c) imposibilidad técnica de registrar ANSER

Análisis Estadístico:

Preliminarmente, los datos fueron sometidos a un análisis exploratorio y descriptivo. Para el análisis confirmatorio (Box, Hunter y Hunter, 2005) y en el contexto de los modelos fijos, se procedió primero a modelar las distintas variables dependientes o de respuesta (Peso, Delta de Peso, Desviación Estándar de PAM, PAM, Delta de PAM, Delta de PAS, Delta de PAD, ANSER basal, Parámetros funcionales – logísticos y no logísticos -- del baroreflejo arterial remanente) por ANDEVA, ANCOVA o Regresión Múltiple usando como variables independientes, explicatorias el factor "Denervación o DEN" con tres niveles (INT, DA y DSA), el factor "Dieta o DIETA" con dos niveles (DANa y DBNa), la interacción DEN*DIETA, la variable Delta de Peso (Peso Experimental – Peso Pre-denervación) como un índice continuo de DIETA (\approx DIETA) y la covariable PAM, PAS, PAD o Peso pre-denervación. El mejor modelo fue seleccionado con base en la r^2 más alta, el AIC más bajo y el principio de parsimonia. En función de los resultados del modelaje se procedió a realizar un análisis bivariado: a) Efecto de dos factores ("DEN" y "DIETA") = análisis bivariado por grupo y prueba de Tuckey, luego estratificando por "DEN" (prueba de t) y por "DIETA" (prueba de Tukey); b) Efecto de un factor ("DEN") = análisis bivariado por factor "DEN" (prueba de Tukey), c) Efecto de un factor ("DIETA") = análisis bivariado por factor "DIETA" (prueba de t), d) Efecto de uno o dos factores y una covariable = se substrajo la covariable a la variable dependiente primaria (vg.: Delta de Peso, Delta de PAM, Delta de PAS y Delta de PAD) y se remodeló y e) Efecto de interacción entre dos factores = Prueba de Tukey asociada a la interacción. Con el objeto de calcular el peso específico relativo de cada factor ($\eta^2 = \text{eta cuadrada}$) en el determinismo de la variación explicada (r^2 ajustada = coeficiente de determinación por 100) los modelos se corrieron por la vía de las etapas en dos sentidos (mixed stepwise). El efecto de la vagotomía cervical bilateral sobre la operación del baroreflejo arterial remanente fue analizado a través de una prueba de t - pareada y a una cola. En absolutamente todos los casos, se evaluó si los residuales de los modelos satisfacían los criterios de normalidad (Shapiro-Wilk y Gráfica Normal-Quantil) y homocedasticidad (Brown-Forsythe). De no ser así, se procedió a realizar transformación Box-Cox. Si después de ello no se satisfacían los criterios se procedió a usar estadística no paramétrica (U-Mann-Whitney, Prueba de Behrens-Fisher, ANDEVA por rangos. Heiberger y Holland, 2004). El nivel de alfa impuesto fue de 0.05. Todo el análisis se llevó a cabo con el programa JMP V5.1 (2006) y Sigma Stat (1992).

RESULTADOS

Etapa A. Un total de 59 animales logró sobrevivir a la denervación (real o fingida) y recuperar su peso pre-denervación para luego ser sometido a cualquiera de las dos dietas (DANa y DBNa). La Tabla 1 muestra que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre grupos en el peso corporal pre-denervación, ni en la presión arterial media (PAM) pre-denervación como tampoco en la desviación estándar de la PAM pre-denervación. Inmediatamente después de la denervación, el procedimiento fingido (INT) indujo una reducción de peso en el orden de ~20 g, la cual se acentuó con la denervación aórtica (DA, ~ 40 g, $p < 0.0001$ vs INT) y aún más con la denervación sino-aórtica (DSA, ~ 53 g, $p < 0.000001$ vs INT, $p < 0.001$ vs DA). De manera similar, el tiempo que los animales tardaron en recuperar su peso pre-denervación luego de la denervación, fue progresiva y significativamente mayor en los grupos con DA (~ 8.7 vs ~ 5.4 días en INT, $p < 0.00001$) y DSA (~ 11.4 días, $p < 0.000001$ vs INT, $p < 0.001$ vs DA). Aunque el peso corporal absoluto alcanzado el día del experimento no mostró diferencias estadísticamente significativas entre grupos, dicho parámetro mostró una tendencia a ser menor en los grupos con DBNa que en aquellos con DANa. Así, los animales que luego de recuperar su peso pre-denervación ingirieron una dieta alta en sodio (DANa) mostraron un incremento de peso (Delta de Peso = ~25-30 g y no relacionado con el tipo de denervación) significativamente mayor ($p < 0.00001$) que aquellos que ingirieron una dieta baja en sodio (DBNa). Similarmente, el consumo de alimento fue significativamente mayor en los grupos que consumieron una DANa ($p < 0.0001$), en contraste con los que consumieron una DBNa, aunque dentro de los primeros el grupo INT consumió dos veces más que los grupos DA y DSA (Tabla A).

Dado que la Desviación Estándar de la Presión Arterial Media (DEPAM1) en estado alerta se usa como criterio para identificar con qué tipo de denervación (fingida, aórtica o sino-aórtica) cursa un animal (Osborn & England, 1990; Franchini & Krieger, 1992; Schreihof & Sved, 1994), esta variable fue graficada para cada grupo (Fig. 1). El análisis preliminar mostró, y ello es aparente en la Fig. 1, que existía heterogeneidad de varianza entre los grupos (Prueba de Brown-Forsythe = 0.0009) por lo que se procedió a modelar esta variable de respuesta (DEPAM1) usando como variables explicatorias a "Denervación" (DEN), a "Dieta" (DIETA) y a la "interacción DEN*DIETA" y sometiendo a la variable de respuesta a una transformación de Box-Cox (DEPAM1 X). Este modelo explicó ($r^2_{ajus.} = 0.7632$, ANDEVA $p < 0.0001$, denervación $p < 0.0001$) el 76% de la variación de la variable DEPAM1 transformada (DPAM1 X), sus residuales ajustándose a una distribución normal y mostrando homocedasticidad (Fig. 2). Cuando la variable DEPAM1 X se regraficó ahora como función, sólo, de la variable explicatoria "DEN" el escenario se simplificó (Fig. 3 y 4), y no

obstante que hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tres niveles de "DEN" (INT, DA y DSA, prueba de Tukey), también fue aparente la existencia de una importante superposición de valores de DEPAM1 X entre los mismos. Con el objeto de hacer más estrecho el rango de aceptabilidad de un experimento dado en cualquiera de los tres grupos y de no tener superposición alguna entre los mismos, se procedió a eliminar experimentos con base en: a) que la magnitud de procedimiento quirúrgico (no así el tiempo) es radicalmente distinto si se lleva a cabo una denervación fingida, una denervación aórtica o una denervación sino-aórtica, b) que es más probable efectuar denervaciones aórticas o sino-aórticas incompletas que denervar involuntariamente a un animal fingido y c) que de manera innata o adquirida un animal intacto puede tener cierto grado de desfuncionalización barorefleja. Así, se eliminó 1 experimento en el extremo superior del grupo DA, 4 experimentos del extremo superior del grupo INT y 6 experimentos en el extremo inferior del grupo DSA, es decir un total de 11 experimentos (Fig. 5). Con los 48 experimentos restantes (59 - 11= 48) se volvió a modelar la variable DEPAM1 para las 3 variables potencialmente explicatorias ya mencionadas (Fig.6 y 7). El mejor modelo una vez que se hizo la transformación de Box-Cox de la variable DEPAM1 ($DEPAM1 X = [((DEPAM1^{0.4}) - 1) / - 0.03800]$) fue aquel que, de nueva cuenta, sólo incluyó la variable explicatoria "DEN" ($r^2_{ajus.} = 0.9216$, ANOVA $p < 0.0001$, factor denervación $p < 0.0001$), los residuales del modelo ajustándose a una distribución normal y mostrando homocedasticidad. Al aplicar la prueba de Tukey para detectar diferencias entre los tres niveles del factor "DEN" se encontró que había diferencias estadísticamente significativas entre ellos (INT = 8.7 ± 0.2 , DA = 12.8 ± 0.3 y DSA = 16.2 ± 0.2) a un nivel de alfa = 0.000001. De haberse usado los límites de confianza al 95 o al 99% de la variable DEPAM1X (Fig.7) como criterio alternativo, al de superposición cero, para estrechar el rango de aceptabilidad a alguno de los grupos, ello habría reducido de manera muy importante el tamaño de la muestra, de manera que se habrían tenido que eliminar 46% de los experimentos con LC al 95% y 42% con LC al 99%.

Con el objeto de convalidar el uso de la transformada de DEPAM1 ($DEPAM1 X = ((DEPAM1^{0.4}) - 1) / - 0.03800$) como criterio al menos de denervación aórtica real o fingida, se procedió a aplicar dicha transformación a las desviaciones estándar de la presión arterial media (DEPAM1) de una serie de experimentos de denervación aórtica real (n = 20) y fingida (n = 20), previamente realizados en el laboratorio por otro colaborador (MDB) con un protocolo similar al ya descrito, excepto porque luego de alcanzar el peso de 250 g post-destete las ratas fueron alimentadas hasta la denervación con dieta alta en sodio + agua filtrada en lugar de dieta normal y solución salina. La Fig.8 muestra la DEPAM1 X para cada grupo y puede observarse nuevamente que hubo superposición. Para superar esta última, fue necesario eliminar 4 experimentos (1 en el extremo superior en INT y 3 en el extremo inferior en DA) que representaron el 10 %

del total de la serie. El análisis bivariado con los 36 experimentos restantes se muestra en la Fig.9. y hay que destacar el hecho de que los valores promedio \pm E.E. de la DEPAM1 X del Análisis A (INT= 8.7 ± 0.2 , DA= 12.8 ± 0.3) coincidieron enteramente con los de esta serie (INT= 8.4 ± 0.3 y DA= 12.5 ± 0.3), además de que hubo una diferencia estadísticamente significativa entre grupos (prueba de t) a un nivel de alfa igual a 0.000001. Desafortunadamente no contamos con otra serie previa de animales con denervación sino-aórtica real y fingida, cuyo protocolo haya sido semejante al descrito en el presente trabajo, que nos permita completar esta convalidación del criterio de denervación usado.

Etapa B. En una segunda etapa se evaluó el efecto de "DEN" ya sea fingida (INT) o real (DA y DSA) y el efecto de "DIETA" (Alta y Baja en sal) sobre la presión arterial. Para ello se analizaron los 48 experimentos que en la Etapa A se consideró cursaban con denervación baroreceptora (aórtica o sino-aórtica) real o fingida. El contraste de las Tablas 1 y 2 hace claro que desde el punto de vista de la evolución ponderal pre y post-denervación, de los días de recuperación, de los valores de presión arterial media (PAM) y de desviación estándar de PAM pre-denervación, esta sub-muestra de 48 animales pertenece a la muestra primaria de 59 animales.

Las Tablas 3 y 4 presentan los resultados del modelaje y del análisis bivariado (entre las variables descritas en la primera columna y la variable "Grupo") respectivamente. Como se mencionó en la Etapa A, el modelaje de DE de PAM en los primeros (DEPAM1) y en los segundos 30 min (DEPAM2) de registro en estado alerta arrojó que sólo había efecto de "DEN" pero no de "DIETA" (Tabla 3).

Por otro lado, el modelaje de PAM por ANCOVA (Tabla 3) indicó efecto de "DEN" y de "DIETA" (pero no la interacción DEN*DIETA) cuando se ajustaba por la covariable "PAM Pre-denervación" (r^2 aju = 0.5879, ANOVA \rightarrow $p < 0.0001$, DEN \rightarrow $p = 0.0002$, DIETA \rightarrow $p = 0.0103$, PAM Pre-denervación \rightarrow $p < 0.0001$). Con el objeto de aumentar la precisión en el diagnóstico y dado que, por un lado, la variable discreta "Dieta" es función de la ingestión de sodio, y por otro, que existió colinealidad entre las variables continuas "Ingesta de sodio" y "Delta de Peso" ($R = 0.8000$, $p < 0.00001$), se considero pertinente remodelar por ANCOVA la variable PAM usando la variable explicatoria continua "Delta de Peso" en lugar de la variable discreta "DIETA". Este remodelaje corroboró el diagnóstico hecho inicialmente. Por otro lado, el análisis bivariado de PAM vs "Grupo" en los primeros 30 y en los segundos 30 min de registro en estado alerta se muestra en la Tabla 4 y está graficado en la Fig. B1. Dicho análisis arrojó evidencia de una diferencia estadísticamente significativa sólo entre los grupos INTDBNa vs DSADBNa en los 1os. y en los 2os. 30 min de registro en estado alerta.

Como consecuencia del efecto de la covariable "PAM Pre-Denervación", se decidió entonces modelar por ANCOVA la Delta de PAM (PAM experimental - PAM Pre-denervación). Este modelaje indicó efecto de la variable "DEN" y de la variable continua "Delta de Peso" (\approx "DIETA") durante los primeros 30 min de registro en estado alerta (Tabla 3). Estas dos variables explicatorias sustentaron el 48% de la variación explicada, el factor "DEN" explicando el 60% y el factor "Delta de Peso" (\approx "DIETA") el restante 40% de dicha variación. En los segundos 30 min de registro en estado alerta, el modelaje de "Delta de PAM" indicó efecto significativo sólo de "Delta de Peso" (\approx "DIETA"). El análisis bivariado (Tabla 4) de la Delta de PAM vs "Grupo" logró detectar diferencias significativas entre el grupo INTDANa y los grupos DADANa y DSADANa durante los primeros 30 minutos de registro, pero no durante los segundos 30 minutos de registro. El mismo resultado se obtuvo cuando análisis bivariado se estratificó ("se separó") por "DIETA" (Fig.B2 paneles A y B). En los segundos 30 minutos de registro, cuando el análisis bivariado se estratificó por "DEN" se observó una diferencia estadísticamente significativa (prueba de t, $p=0.04$) entre los grupos DADANa vs DADBNa (Fig.B2 panel B). Más aún, la Delta de PAM en el grupo DSADANa disminuyó significativamente (t pareada, $p<0.0162$) entre los primeros 30 y los segundos 30 min de registro en estado alerta (Fig.B2 paneles A y B).

Una manera alterna de presentar los datos de la Fig.B2 es el graficar las relaciones Delta de PAM vs Excreción de Sodio (Relaciones Presión-Natriuresis \rightarrow P-N) las cuales son mostradas en la Fig.B3. En el panel A de esta figura, se observa que los grupos DA y DSA no muestran una disminución en la pendiente de la relación P-N (con respecto al grupo INT) ni desplazamiento a la derecha. En contraste, en el panel B, se observa que sólo el grupo DA muestra una disminución significativa en la pendiente de la relación P-N (con respecto al grupo INT), pero de nuevo, sin desplazamiento a la derecha.

Dado que fisiológicamente la PAM es el resultado de la interacción de la Presión Arterial Sistólica (PAS) y de la Presión Arterial Diastólica (PAD) se decidió modelar por ANCOVA el delta de cada una ellas (Delta de PAS y Delta de PAD) en los primeros y en los segundos 30 min de registro en estado alerta. Como se puede observar en la Tabla 3, en los primeros 30 min, el modelaje arrojó efecto de "DEN" y de "Delta de Peso" (\approx "DIETA") en ambas variables dependientes. El análisis bivariado (Tabla 4) de estas últimas vs "Grupo" constató el efecto de "DEN", pero no lo hizo para el efecto "DIETA". El mismo resultado se obtuvo cuando se estratificó por "DIETA" (Fig.B2 paneles C y E). Ahora bien, cuando el análisis bivariado se estratificó por "DEN", hubo diferencias estadísticamente significativas entre dietas (DANA vs DBNa,

prueba de t) en los grupos INT ($p= 0.05$, 1er. contraste.), DA ($p<0.02$, 2º contraste) y DSA ($p<0.02$, 3º contraste) en el Delta de PAS pero no en el Delta de PAD (Fig.B2 paneles C y E).

En contraste, durante los segundos 30 min de registro (Tabla 3), el modelaje arrojó un franco efecto de "DEN" y de "Delta de Peso" (\approx "DIETA") en la variable Delta de PAS, pero un efecto marginal de "DEN" ($p=0.0537$) y un franco efecto de "Delta de Peso" (\approx "DIETA") en la variable Delta de PAD. El análisis bivariado (Tabla 4) de cada una de estas variables de respuesta (Delta de PAS y Delta de PAD) vs "Grupo" no constató el efecto de "DEN" ni de "DIETA", sin embargo, al estratificar por "DIETA", hubo diferencia estadísticamente significativas entre los grupos INTDANa y DADANa en el Delta de PAS ($p=0.02$, prueba de Tuckey, Fig.B2 panel D) como también hubo diferencia entre los grupos DADANa y DSADANa en el Delta de PAD ($p=0.05$, prueba de Tuckey, Fig.B2 Panel F). Más aún, cuando en el análisis bivariado se estratificó por "DEN" se detectaron diferencias entre dietas (DANa vs DBNa) en los grupos INT ($p=0.05$, 1er.contraste) y DA ($p<0.02$, 2º contraste) en el Delta de PAS (FigB2 panel D) y en el grupo de DA ($p=0.03$) en el Delta de PAD (Fig.B2 panel F).

Por razones técnicas inherentes a la construcción de las jaulas metabólicas empleadas no fue posible obtener información confiable en relación al balance externo de sodio en este estudio. Se consideró que una manera alterna de evaluar el grado de retención de sodio y agua era considerar el cociente adimensional - Delta de Peso/ Alimento Ingerido- , es decir, cuantos gramos de peso gana un animal (lo cual implica la ganancia neta de agua) por gramo de alimento ingerido. Los valores de este cociente para los tres niveles de denervación en DBNa fueron (INT = 2.1 ± 0.1 ; DA = 2.2 ± 0.2 ; DSA = 1.8 ± 0.2) y en DANa fueron (INT = 2.7 ± 0.2 ; DA = 3.0 ± 0.3 ; DSA 3.0 ± 0.1). El modelaje de esta variable indicó efecto sólo del factor "DIETA" (r^2 aju = 0.4006, ANDEVA = $p < 0.0001$, DIETA $\rightarrow p < 0.0001$, potencia $\rightarrow 0.9998$) y en el análisis bivariado de esta variable vs "Grupo" arrojó evidencia de no diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de denervación (INT, DA y DSA) en ninguna de las dos dietas, sin embargo, al estratificar por "DEN" hubo diferencias estadísticamente significativas entre las dos dietas a cada nivel de denervación (INT $\rightarrow p= 0.05$; AD $\rightarrow p=0.05$; DSA $\rightarrow p=0.001$).

Etapas Ba. En una tercera etapa se evaluó el efecto de "DEN" ya sea fingida (INT) o real (DA y DSA) y el efecto de "DIETA" (Alta y Baja en sal) sobre la operación del baroreflejo remanente tanto arterial como cardiopulmonar. De 48 experimentos evaluados en la Etapa A y B, sólo en 42 fue posible obtener un registro adecuado de Actividad Nerviosa Simpática Eferente Renal (ANSER) en el estado anestesiado. Al contrastar las Tablas 2, 3 y 4 de la Etapa B con las Tablas 5, 6 y 7 de la presente etapa es claro que tan-

to desde el punto de vista de la evolución pre y post-denervación del peso y la PAM, como desde el punto de vista del modelaje y del análisis bivariado de la PAM y la Delta de PAM esta sub-muestra de 42 animales en estado alerta, fue esencialmente similar a la muestra primaria de 48 animales del cual provino. De hecho, el modelaje por ANCOVA de PAM y Delta de PAM durante los segundos 30 min de registro en estado alerta, arrojó un efecto de "DEN" estadísticamente significativo (PAM \rightarrow $p=0.0496$; Delta de PAM \rightarrow $p=0.0476$) el cual había resultado marginal en la etapa B. En el mismo lapso, cuando el análisis bivariado de Delta de PAM se estratificó por "DEN" se observó una diferencia estadísticamente significativa (prueba de t, $p=0.04$) entre los grupos DADANa vs DADBNa.

La Tabla 8 presenta los resultados del modelaje por ANDEVA de los parámetros logísticos y no logísticos descritos en la primera columna. Puede observarse, que con excepción de la pendiente, el análisis del resto de las variables arrojó que hubo efecto aislado del factor "DEN", el factor "DIETA" no participando en absoluto. Se puede observar que el factor "DEN" soporta el 100% de la variación explicada, que en el caso de la ganancia máxima del baroreflejo remanente (G_{max}) fue del $\sim 63\%$ ($r^2_{aju.}$), en el caso del rango de operación del baroreflejo fue de $\sim 58\%$ ($r^2_{aju.}$) y que en el caso del plateau superior de la función de transferencia que describe al baroreflejo fue de $\sim 51\%$ ($r^2_{aju.}$). Como consecuencia de ello, se procedió a realizar el análisis bivariado de cada una de estas variables por factor "DEN" y sin estratificación alguna. En la Tabla 9 se presentan los resultados promedio de los parámetros que describen operación del sistema baroreflejo remanente en cada uno de los 3 niveles de denervación. En dicha tabla es evidente que la ANSER basal fue significativamente mayor ($\sim 25\%$) en el nivel de DSA que en los otros dos niveles de denervación (Fig. Ba1 panel A).

Por otro lado, el efecto simpatoinhibitorio de un bolo i.v. de fenilbiguanida fue semejante en los tres niveles de denervación, indicando la integridad de los nervios vagos y por lo tanto, la operación cabal del baroreflejo cardiopulmonar. Los coeficientes de determinación ($r^2_{aju.}$) del ajuste de la regresión logística de cuatro parámetros fue significativamente menor en el nivel de DSA con respecto a los niveles INT y DA, aunque el Norm, el cual es un índice de bondad de ajuste, fue semejante en todos los niveles de denervación. La Tabla 9 y la Fig. Ba2 panel A, muestran que desde el punto de vista de la función barorefleja remanente no hubo diferencias estadísticamente significativas en los parámetros logísticos y no logísticos entre los niveles de denervación INT y DA, pero sí entre estos dos niveles y el nivel de DSA, en donde se detectó una disminución del plateau superior en $\sim 110\%$ (Fig. Ba 1 panel B), del rango en $\sim 50\%$ (Fig. Ba 1 panel C), del plateau inferior en $\sim 25\%$ (Fig. Ba 1 panel D), con un aumento de la PAM al 50% del rango en $\sim 20\%$ (Fig. Ba 1 panel E). Con relación a la pendiente de la relación logística, la cual es

una medida de la ganancia independiente de rango (Fig. Ba1 panel F), su modelaje por ANDEVA indicó que fue función de la interacción "DEN*DIET" ($r^2 \rightarrow 0.3153$, ANDEVA $\rightarrow p=0.0019$, DEN $\rightarrow p=0.0027$, DIETA $\rightarrow p=0.3665$, DEN*DIETA $\rightarrow p=0.0134$, Potencia= 0.7812) y la prueba de Tukey asociada a esta interacción arrojó que hubo diferencias entre niveles de denervación en DBNa (INT vs DA $\rightarrow p=0.01$; INT vs DSA $p=0.001$) pero no en DANa. Finalmente, la Tabla 9 y la Fig. Ba2 panel B, muestran que hubo disminución estadísticamente significativa (~ 45%) en la Ganancia Máxima (Gmax) entre el nivel de DSA y el nivel INT y entre el nivel de DSA y el nivel DA. Cabe hacer mención, que una evaluación robusta de la función barorefleja arterial presupone que la función barorefleja cardiopulmonar está estimulada a un mismo nivel. La Tabla 9 muestra que durante la realización de la rampa de presión, el valor de Presión Venosa Central (PVC) cuando la PAM alcanzó su valor pre-rampa fue semejante en los tres niveles de denervación.

En esta misma etapa (Ba) fue de interés evaluar si existía una asociación entre el criterio de denervación usado, que como se recordará está fincado en la transformada de la DEPAM1 (DEPAM1X) y la Gmax del baroreflejo. El modelaje por Regresión Múltiple de Gmax arrojó que tanto la DEPAM1X como la variable ANSER basal soportaban un 64% de la variación explicada de Gmax ($r^2_{aju.} = 0.6201$, ANDEVA $\rightarrow p < 0.0001$, DEPAM1X $\rightarrow p < 0.0001$ con $\beta_1 = 0.1549$ y potencia de 0.9997; ANSER basal $\rightarrow p = 0.0095$ con $\beta_2 = 0.016$ y potencia de 0.7580) el peso relativo de cada una de ellas en la variación explicada siendo del 89% y el 11% respectivamente. La Fig. Ba2 panel C muestra la relación lineal entre DEPAM1 X y Gmax con una $r^2_{aju.}$ de 0.5590 (ANDEVA $\rightarrow 0.0001$), valor que corresponde aproximadamente al 89% de la $r^2_{aju.}$ para el modelo completo ($r^2_{aju.} = 0.6210$).

Etapa C. En una cuarta y última etapa, fue de interés definir tanto la participación relativa tanto de los baroreceptores cardiopulmonares como de los baroreceptores arteriales en sostener la operación del baroreflejo remanente en los distintos niveles de denervación baroreceptora arterial. De 42 experimentos evaluados en la Etapa Ba, sólo en 37 fue posible realizar una dos rampas de presión, una antes y otra después de vagotomía cervical bilateral. Al contrastar las Tablas 5 - 7 de la Etapa Ba con las Tablas 10 - 12 de la presente etapa fue claro que tanto desde el punto de vista de la evolución pre y post-denervación del peso y la PAM, como desde el punto de vista del modelaje y del análisis bivariado de la PAM y el Delta de PAM esta sub-muestra de 37 animales, en estado alerta, fue esencialmente similar a la muestra primaria de 42 animales de la cual provino. Aunque el modelaje por ANCOVA de PAM durante los segundos 30 min de registro en estado alerta, arrojó un efecto de "DEN" marginal ($p=0.0624$) el modelaje de Delta de PAM, en este mismo periodo, arrojó un efecto de "DEN" y de "Delta de Peso" (\approx "DIETA")

estadísticamente significativo ($p=0.05$) para ambos. Más aún, cuando el análisis bivariado de Delta de PAM se estratificó por "DEN" se observó una diferencia estadísticamente significativa (prueba de t, $p=0.03$) entre los grupos DADANa vs DADBNa.

El contraste de la Tabla 8 de la Etapa Ba con la Tabla 13 de la presente etapa muestra que desde el punto de vista del modelaje por ANDEVA de los parámetros logísticos y no logísticos en la fase pre-vagotomía, esta sub-muestra de 37 animales en estado anestesiado fue también esencialmente similar a la muestra primaria de 42 animales de la cual provino y que con excepción de la pendiente, el análisis del resto de las variables arrojó que hubo efecto aislado del factor "DEN", el factor "DIETA" no participando en absoluto. La misma Tabla 13 muestra que en la fase de post-vagotomía la variación explicada (r^2 ajustadas) por el factor "DEN" cayó al 22% (vs 53% pre-vagotomía) en cuanto a la variable plateau superior, al 20% (vs 57% pre-vagotomía) en cuanto a la variable rango de operación y a 48% (vs 65% pre-vagotomía) en la variable G_{max} . Con relación a la pendiente de la relación logística su modelaje por ANDEVA en la fase pre-vagotomía indicó que fue función de la interacción "DEN*DIETA", al igual que en la Etapa Ba. Interesantemente, en la fase post-vagotomía el modelaje por ANDEVA tanto de la pendiente como del plateau inferior no pudo ser adjudicado ni a "DEN" ni a "DIETA".

La Tabla 14 presenta el análisis bivariado por factor "DEN" de cada una de estas variables en ambas fases pre y post-vagotomía. En dicha tabla y en la Fig. C1 se puede observar que la vagotomía cervical bilateral disminuyó significativamente el plateau superior (~ 63%) en los niveles de denervación INT y DA. También disminuyó significativamente el rango (~ 30%), el plateau inferior (~ 23%) y la G_{max} (~ 36%, Fig.C2 panel A), en los 3 niveles de denervación pero no modificó en absoluto los valores de pendiente ni la PAM al 50% del rango. Por otro lado, la simpatoinhibición inducida por fenilbiguanida fue reducida por la vagotomía cervical bilateral en ~ 40% en los niveles de denervación INT y DA y en ~ 90% en el nivel de DSA (Fig.C2 panel B). En la Fig. C2 panel C se grafica la diferencia de G_{max} entre las fases pre y post vagotomía cervical bilateral (participación del baroreflejo cardiopulmonar). Dado que no se detectó diferencia significativa entre los tres niveles de denervación ello indica que la participación del baroreflejo cardiopulmonar fue semejante en ellos.

DISCUSION

Efectos de la Denervación y la Dieta sobre el Peso Corporal de los Animales

El proceso de denervación baroreceptora real o fingida produjo una reducción de peso corporal cuya magnitud y duración fue función directa del grado de denervación (Tabla A). Este escenario parece depender de una disminución transitoria en la ingesta de agua y alimento (Werber & Fink, 1981; Alexander & Morris, 1986) ya que todos los animales alcanzaron su peso pre-denervación, aunque a tiempos variables según el grupo, antes de iniciar la DANA o DBNa. Aun cuando el peso corporal absoluto el día del experimento (Peso Experimental, Tabla A) no fue diferente entre grupos desde el punto de vista estadístico (comparación múltiple de Tukey por grupo en el análisis bivariado) el modelaje de dicha variable indicó efecto del factor "DIETA" y del factor "Peso-Predenervación", razón por la cual, se decidió manejar la variable Delta de Peso (Peso Experimental – Peso-Predenervación), la cual, clara y consistentemente mostró (Tabla A) que los grupos alimentados con DANA (vs aquellos con DBNa) desarrollaron mayor incremento de peso. Este evento, no ha sido reportado en la literatura del campo, no obstante que las dietas de importación que usamos en el presente experimento (TD902-28 o 0.04% y TD92012 o 8% Na, Harlan Teklad, Madison, WN, EUA) son aquellas cuyo uso ha sido reportado en este tipo de estudios (Leenen y col 1994; Huang y col 1999b). Dado que la calidad y cantidad de proteínas en estas dos dietas es similar, ya que la primera dieta (0.04% Na) es la base para elaborar la segunda (8% Na) según información del fabricante, una posibilidad para explicar este mayor aumento de peso, es que a los animales les haya resultado más apetitosa la DANA que la DBNa. En efecto, nuestros resultados apoyan esta conclusión y corroboran la bien conocida preferencia que las ratas tienen por la sal.

Criterio de Integridad, Parcialidad y Radicalidad Barorefleja.

Clásicamente la evaluación de la integridad del sistema baroreflejo arterial se lleva a cabo con el animal en estado alerta, observando respectivamente la respuesta bradicárdica o taquicárdica al aumento o a la disminución de presión arterial media inducidas por la administración intravenosa de bolos de fenilefrina o nitroprusiato de sodio y descrita técnicamente por el cociente $\Delta FC/\Delta PAM$ (latidos $\times \text{min}^{-1} \times \text{mmHg}^{-1}$ = sensibilidad barorefleja). La respuesta bradicárdica (cociente $\Delta FC/\Delta PAM$ negativo) aparentemente es mediada a través de activación vagal, mientras que la respuesta taquicárdica (cociente $\Delta FC/\Delta PAM$ positivo) ocurre principalmente por aumento en la actividad nerviosa simpática cardíaca (Stornetta RL, 1987). Con este escenario, la evaluación de la radicalidad absoluta de una denervación sino-aórtica (DSA) se sustenta en el NO cambio de frecuencia cardíaca en respuesta tanto a los estímulos hipertensivos como

a los hipotensivos (cociente $\Delta FC/\Delta PAM = 0$ en ambos casos). La implicación de ello es que la presencia de actividad baroreceptora arterial residual progresiva (por denervación sino-aórtica incompleta o denervación parcial como la denervación aórtica) es capaz de manifestarse por respuestas bradicardizantes o taquicardizantes progresivamente menos atenuadas hasta llegar al extremo del animal intacto en donde dichas respuestas se observan floridamente. Hasta donde nos fue posible indagar, no existe reportado en la literatura un criterio cuantitativo y sistematizado que, sustentado en el principio anterior, permita definir el grado de denervación baroreceptora que posee cada animal individualmente, así como tampoco existe información de si dicho criterio se ve influido por la ingesta de una dieta alta o baja en sal. Intención inicial en este trabajo fue el poder registrar directamente y en estado alerta la actividad nerviosa simpática eferente renal (ANSER) con el objeto de contrastar los cocientes $\Delta FC/\Delta PAM$ y $\% \Delta ANSER/\Delta PAM$ como criterios de denervación baroreceptora, sin embargo, por razones técnicas y temporales fue imposible lograr el registro de ANSER en estado alerta, de manera que se procedió a realizarlo en estado anestesiado.

Bajo este escenario, el uso de la Desviación Estándar de la presión arterial media en estado alerta como criterio de denervación baroreceptora está sustentado en lo descrito en la literatura (Osborn & England, 1990; Franchini & Krieger, 1992; Schreihofner & Sved, 1994). Específicamente, Osborn & England en 1990 reportaron la DE de la PAM registrada 30 min/día durante 7 días consecutivos posterior a la denervación real o fingida y encontraron que hubo diferencias estadísticamente significativas entre tres grupos de animales: los intactos (INT= 5.1 ± 0.3 mmHg), aquellos con denervación aórtica (DA = 8.7 ± 0.5 mmHg) y aquellos con denervación sino-aórtica (DSA = 12.1 ± 1.0 mmHg), sin embargo este criterio no fue sistematizado. Como se puede observar en la Tabla 4 del presente trabajo, las DE de la PAM durante los primeros y segundos 30 min de registro en estado alerta y luego de 30 días de denervación en los tres grupos, aunque numéricamente más bajas, conservaron los intervalos de separación entre grupos reportados por estos autores. También fue importante documentar que este criterio de denervación baroreceptora (transformada de $DEPAM1 = DEPAM1 \times X$) no se ve influenciado por el factor "DIETA", corroborando lo descrito por Osborn & Hornfeldt (1998) e indicando que es un criterio selectivo para denervación baroreceptora.

Efecto de la Denervación y la Ingesta de Sodio sobre la Presión Arterial

El hallazgo fundamental del presente trabajo es que la rata con DA real fue capaz de aumentar en mayor grado (~ 10-15 mmHg por arriba de la rata con DA fingida) y de manera sostenida (60 min) sus niveles de presión arterial media cuando se expuso a una DANA por tres semanas, que lo que fue capaz de hacer la

rata con DA real en DBNa, cuando no hubo diferencias en el valor absoluto de la presión arterial media entre ellas ni en la pre-denervación (todas fueron normotensas) ni en la post-denervación, es decir, se está documentando de manera inédita el desarrollo de un modelo en rata, experimentalmente inducido por deaferentación baroreceptora arterial parcial, de normotensión sensible a sal (NTSS). Dicho aumento de presión arterial media se vio soportado por un aumento tanto de presión arterial sistólica (~ 15-20 mmHg) como de presión arterial diastólica (~ 10-15 mmHg).

En contraste, la rata con DSA real fue capaz de aumentar en mayor grado (~10-15 mmHg por arriba de la rata con DSA fingida) y de manera transitoria (30 min) sus niveles de presión arterial media cuando se expuso a una DANA por tres semanas, que lo que fue capaz de hacer la rata con DSA real en DBNa, cuando no hubo diferencias en el valor absoluto de la presión arterial media entre ellas ni en la pre-denervación (todas fueron normotensas) ni en la post-denervación. Este carácter transitorio, el cual fue inesperado para nosotros en función de la evolución a largo plazo de la PAM (medida por cateterismo crónico o telemetría) que ha sido reportada para la rata con DSA más DANA (Osborn & Provo, 1992; Osborn & Hornfeldt, 1998), puede explicarse como el resultado conjunto de: (a) el ingreso de los animales a una fase del ciclo circadiano de menor actividad matutina, luego de la fase de actividad post-despertar anestésico y (b) de la reinstauración en dichos animales del consabido proceso hipóxico e hipercápnicico inherente a la DSA (por deaferentación quimiorreceptora simultánea) que tiene marcados efectos vasodilatadores periféricos (Franchini & Krieger, 1992). Desafortunadamente, nuestro estudio no contempló registrar a más largo plazo la PAM con el objeto de confirmar si este fenómeno fue realmente breve y transitorio. En apoyo al argumento (a) y al argumento (b) mencionados líneas arriba están respectivamente los siguientes hechos: 1) que todas las presiones arteriales tendieron a ser menores durante los primeros 30 min de registro en estado alerta que durante los primeros 30 min, y 2) que nuestro laboratorio ha documentado (Torres-Rodríguez L, 2004) que la DANA en animales con DSA no modifica su condición hipóxica e hipercápnicica. En conjunto nuestros resultados rechazan la hipótesis de que el sensibilización a sal (SS) se asocia a la desfuncionalización progresiva del sistema baroreflejo arterial, ya que no se observó un aumento progresivo en el Delta de PAM conforme se aumentaba la radicalidad de la denervación baroreceptora en los animales que consumieron una DANA, sin embargo, antes de confirmar dicho diagnóstico habría que evaluar el efecto que sobre la sensibilidad a sal tendría una secuencia de denervación baroreceptora que iniciara con la condición intacta, siguiera con una denervación aórtica unilateral, luego con una denervación aórtica bilateral y terminara con una denervación aórtica bilateral más un denervación unilateral del seno carotídeo, de manera que por lo menos un cuerpo carotídeo operara continuamente.

Aunque la regraficación de los datos de la Figura B2 en términos de la curva presión natriuresis debe tomarse con reserva, ya que el valor de Δ PAM representa la diferencia de valores de PAM registrados durante una hora en estado alerta (antes de la denervación y aproximadamente un mes después) versus las 24 horas en las que se colectó la orina, el aspecto que debe destacarse es que la DA logró mostrar una menor pendiente durante los segundos 30 min (versus INT), satisfaciendo así la definición fenomenológica de SS y apoyando nuestra conclusión de que éste es un modelo de normotensión SS. Con esta evidencia, queda en entredicho la idea de que la única manera de inducir experimentalmente SS, es a través de una DSA real lo más radical posible seguida de una DANA (Schreihofner & Sved AF 1994).

Podría argumentarse que la razón por la que los animales con DA o DSA más DANA fueron capaces de aumentar (consistentemente o transitoriamente) su PAM fue porque retuvieron más sodio y agua que los animales intactos. El cociente adimensional - Delta de Peso/ Alimento Ingerido- propuesto, nos permite decir que por cada gramo de alimento ingerido por día los animales ganaron ~ 2 gramos de peso cuando consumieron una DBNa y ganaron ~ 3 gramos de peso cuando consumieron una DANA. Es de resaltar el hecho que el grupo INT en DANA ingirió ~ 7 g/día más de alimento que el INT en DBNa (Tabla 2) y sin embargo su incremento de peso fue semejante al de los grupo DA y DSA en DANA, sugiriendo, por un lado, que este grupo fue capaz de eliminar un tanto más (~ 3.5 g) de sal y agua que aquellos que mostraron algún grado de desfuncionalización barorefleja (DA y DSA), y por otro, que los tres niveles de denervación en DANA estuvieron expandidos de manera semejante y por tanto que las diferencias de PAM no fueron consecutivas a diferencias en la retención de sodio y agua (o gasto cardíaco). Esta conclusión es consonante con la evidencia aportada por Greene y col en 1990, quienes mostraron que un cambio en el ingreso de sodio de 20 veces (por vía i.v.) produce un cambio en el peso corporal y en el gasto cardíaco que fue semejante entre las ratas DahlRS y DahlSS, pero que sólo estas últimas fueron incapaces de disminuir su resistencia periférica total y por tanto aumentaron su presión arterial.

Operación del Baroreflejo Arterial y Cardiopulmonar remanente en la normotensión SS

El análisis de los resultados de las Etapas Ba y C en conjunto hacen evidentes varios hechos:

- 1) Que independientemente de la dieta consumida y bajo las condiciones experimentales del presente estudio la actividad nerviosa simpática eferente renal basal (ANSER basal) estuvo aumentada en los animales a quienes se les realizó DSA aproximadamente 30 días antes. Consideramos que este hallazgo debe tomarse con reserva por dos razones: 1) los valores absolutos de ANSER no son del todo compara-

bles entre animales, dado que existen diferencias inter-animal en la actividad del nervio renal relacionadas con diferencias en su diámetro y/o en el número de fibras activas así como del contacto del nervio con el electrodo y 2) que fue el resultado de obtener el promedio de tan sólo un minuto de registro control de ANSER antes de iniciar la primera rampa de fenilefrina-nitroprusiato con el animal anestesiado, muscularmente relajado y mecánicamente ventilado y bien podría ser consecuencia de la interacción entre un efecto estimulante simpático inducido por la administración de pancuronio i.v. (Taylor, 1996) y la carencia de baroreflejos en estos animales. En este sentido, toda la evidencia publicada indica que en ratas en estado alerta la ANSER basal luego de 72 horas post-DSA retorna a sus valores pre-denervación (Barres y col, 1992; Irigoyen y col 1995). Comunicaciones personales de John W Osborn (FASEB 2007 y generador de una buena parte de información en este campo desde hace 17 años) indica además que en las ratas con DSA la DANa (vs la DBNa) no aumenta la ANSER basal, lo cual es coincidente con lo obtenido en el presente estudio.

2) El tipo de dieta consumida (DANa o DBNa) no tuvo influencia alguna en la operación del baroreflejo arterial y cardiopulmonar remanente, excepto porque la pendiente de la función de transferencia decayó en DBNa y se mantuvo en DANa (a nivel del grupo INT), conforme la denervación progresó. Esto último sugiere una acción de la DANa sobre la operación del baroreflejo arterial, mediada por sensibilización de aferencias vagales ya que la vagotomía cervical bilateral hizo desaparecer dicho efecto. Aún cuando el efecto observado de la DANa sobre la pendiente resultó en la dirección contraria a la que ha sido propuesta, es decir, que la DANa reduce la pendiente (Huang y col 1999), la operación global del baroreflejo arterial y cardiopulmonar remanente sólo se vio influenciada por el grado mayor de denervación (vg.DSA) pero no por la dieta.

3) La DA no obstante que no afectó en absoluto la capacidad del sistema baroreflejo arterial (senos carotídeos) y cardiopulmonar remanente para amortiguar cambios fásicos en presión arterial inducidos por drogas vasodilatadores o vasoconstrictoras, no logró amortiguar el discreto aumento de variabilidad de PAM inducida por la misma. Aunque a la fecha no se han descrito las interacciones dinámicas (potencia espectral) entre presión arterial y actividad nerviosa simpática en animales con DA, como si se ha hecho en animales intactos y con DSA (Julien y col, 2003), el escenario anterior sugiere que la mayor variabilidad en PAM en DA se está dando en el rango de las frecuencias intermedias (0.27 a 0.74 Hz) y que su origen sea el sistema nervioso simpático basal, que como se sabe esta fuera del control baroreflejo y que induce eventos presores.

4) No obstante que la DA no afecta la capacidad barorefleja de amortiguación fásica inducida por drogas y aumenta la variabilidad de la PAM, la operación del baroreflejo remanente se dió 20 mmHg por arriba de la condición de pre-denervación y de 10 a 15 mmHg por arriba de la condición intacta. Este escenario indica que en términos netos (aunque no absolutos) existe un desplazamiento hacia a la derecha de la función de transferencia de la relación ($\% \Delta \text{ANSER} / \text{PAM}$) que no necesariamente implica que deba existir un aumento en la ANSER basal. Una alternativa a ello, es que el aumento en la potencia espectral en el rango de frecuencias inter-medias (0.27 a 0.74HZ) se vea compensado por una disminución en la potencia espectral en el rango de la frecuencias bajas (0.005- 0.27 Hz) y que en conjunto o no de lugar a un aumento neto o de lugar a un aumento muy pequeño en la ANSER basal. Esto explicaría por qué en la DA crónica bajo dieta normal en sodio, la PAM permenece unos 5 mmHg por arriba de su valor pre-denervación (Fink y col 1980,1981; Patel y col 1981; Werber y col 1981; Kline y col 1983,)

Esta ampliamente reconocido que la DANa en un individuo o animal no susceptible (intacto) no tiene mayores efectos sobre la presión arterial. Como se ha documentado en el presente estudio, sólo es cuestión de que se pierda, aunque sólo sea parcialmente, información aferente baroreceptora arterial para que la DANa induzca Sensibilidad a Sal, en este caso, en el rango normotensivo. Como variable hemodinámica regulada, la presión arterial media es el producto del gasto cardíaco multiplicado por la resistencia periférica. Dado que el primer determinante de la presión arterial es el volumen y éste es a su vez está determinado por el balance entre el ingreso y el egreso corporal de sodio y agua, la máxima fisiológica de que un cambio crónico en la resistencia periférica total no induce un aumento perdurable en la presión arterial media en tanto no exista una incapacidad renal para excretar sodio (Guyton y col 1972) consideramos nosotros subyace en el fondo de la SS. Se propone que en el individuo o animal normotenso y susceptible, la SS se sucede porque de manera transitoria (mientras que se consume DANa) existe una incapacidad para reducir la resistencia periférica total y para excretar sodio por vía renal con la consecuente disminución en la pendiente de la relación presión-natriuresis. En el control a largo plazo de la presión arterial, el control de la circulación medular renal juega un papel crucial ya que es el substrato hemodinámico medular renal en el cual se dá el mecanismo presión-natriuresis. En la rata y en el perro reducciones crónicas en flujo sanguíneo medular renal inducidas por una variedad de estímulos mecanísticamente diferentes resulta en aumento en la presión arterial (Cowley y col, 2003). Con este escenario en mente, se propone que en el modelo de DA + DANa (modelo de normotensión SS) debe existir una incapacidad para reducir tanto la resistencia periférica total como la resistencia vascular medular renal ya que se reduce la disponibilidad periférica y medular renal de ON como resultado de interacción de dos elementos: a) un aumento en la potencia espectral en el rango de frecuencias intermedias de la ANSE

(incluyendo la renal) con aumento en la liberación de NE a nivel periférico y medular renal (la cual a través de receptores $\alpha 1$ induciría vasoconstricción directa y a través de receptores $\alpha 2$ induciría aumento contraregulatorio en la producción de ON) y b) un aumento exagerado en el contenido periférico y medular renal de ión superóxido, tanto por aumento en su producción (por aumento de actividad de la NADPH oxidasa por la DANA como demostrado en riñón por Kitiyakara y col (2003), como por disminución en su depuración (por disminución de SOD por la DANA como demostrado en riñón por Kitiyakara y col (2003)) e inducida por la DANA. Todo ello daría lugar a mayor formación de peroxinitrito a nivel periférico y medular renal, reduciendo la disponibilidad de ON a nivel periférico y medular renal, con la consecuente menor caída de resistencia vascular periférica y medular renal y aumento de la presión arterial.

5) La DSA afectó de manera importante la capacidad del sistema baroreflejo arterial y cardiopulmonar remanente para amortiguar cambios fásicos en presión arterial inducidos por drogas y como consecuencia aumentó también, en forma muy importante, la variabilidad de la PAM. Esta bien establecido que la DSA crónica modifica el perfil de las curvas de potencia espectral tanto de la PAM y como de la ANSER (Julien y col, 2003), atenuando ambas en el rango de frecuencias intermedias y exagerando la de PAM y no modificando la de ANSER en el rango de frecuencias bajas, de manera que la magnitud de ANSER en estado crónico es igual o menor a la observada en la fase de pre-denervación (Barres y col, 1992; Irigoyen y col 1995). Aún más, como se mencionó en el primer apartado de esta sección, tenemos información por parte del Dr. JW Osborn (comunicación personal) de que la DANA no aumenta la ANSER en animales en estado alerta con DSA crónica. Bajo este escenario se vuelve muy difícil plantear un mecanismo que explique el por qué en el presente estudio, como en muchos otros, el consumo de la DANA induce aumento de PAM. Un hecho a nuestro juicio significativo, es que para que la DSA crónica más DANA induzca un aumento de PAM se requieren cuando menos de 2 semanas de DANA lo que invita a sugerir que el aumento de presión arterial puede resultar de la interacción a largo plazo entre la remodelación vascular y fisiológica inducida por el gran aumento en la variabilidad de la PAM (Miao y col, 2001) y los efectos oxidativos ya mencionadas de la DANA. Finalmente, ya hemos intentado explicar el por qué en el presente estudio el cambio de PAM se atenuó durante la segunda media hora de registro en estado alerta.

6) La amortiguación de los cambios fásicos en presión arterial tanto en animales INT, como con DA y DSA se llevó a cabo en parte por la participación del baroreflejo cardiopulmonar, la ganancia máxima del cual (Gmax) fue semejante en los tres niveles de denervación y no se vió influenciado por la dieta, indicando que el baroreflejo cardiopulmonar no compensa la falta de campos baroreceptivos arteriales. Por otro lado, la respuesta simpatoinhibitoria a fenilbiguanida en la rata parece ser mediada por aferencias de

quimiorreceptores que viajan no sólo por vía vagal sino también a través de los nervios del seno carotideo, pero no de los nervios depresores aórticos. Gracias a ello, esta respuesta es útil para evaluar la integridad vagal bajo condiciones de denervación fingida, aórtica y sino-aórtica así como para evaluar la efectividad de la vagotomía cervical bilateral.

7) Finalmente, el hecho de que la Gmax mostrara una relación lineal con la transformada de la desviación estándar de la PAM1 (DEPAM1 X) con una r^2 aju. de 0.5590 y un ANDEVA $\rightarrow <0.0001$, no obstante que ambos parámetros fueron adquiridos en condiciones de estado de consciencia distintos (DEPAM1 X = estado alerta y Gmax = estado anestesiado), sugiere fuertemente que DEPAM1 X es un índice válido de denervación baroreceptora arterial, más si se toma en cuenta que la DA aumentó la DEPAM1 X sin modificar significativamente la Gmax. De hecho, cuando la misma relación se establece tomando en cuenta sólo los datos de los animales INT y con DSA (es decir, excluyendo los de DA), la r^2 aju. aumentó a 0.7336.

Conclusiones

El análisis de los resultados del presente estudio permiten concluir por un lado que el modelo de denervación aórtica bilateral más dieta alta en sal en la rata, es un modelo experimentalmente inducido por deafferentación baroreceptora arterial parcial de normotensión sensible a sal, y por otro, que bajo las presentes condiciones de denervación baroreceptora progresiva el grado de sensibilidad a sal no se asocia a desfuncionalización progresiva del sistema baroreflejo arterial probablemente porque se está afectando la función refleja quimiorreceptora. Con relación a los mecanismos que sustentan la normotensión sensible a sal en denervación aórtica, el análisis de los datos no apoya la idea de que la dieta alta en sodio aumenta la actividad nerviosa simpática renal basal ni que deteriore la operación del baroreflejo arterial o cardiopulmonar remanente, aunque estas últimas conclusiones tienen que verse a luz de que esta parte del experimento se hizo bajo anestesia.

REFERENCIAS

Alexander B. Fetal Programming of hypertension. Am J Physiol 290:R1-R10-2006.

Alexander N, Morris M.: Increased plasma vasopressin in sinoaortic denervated rats. Neuroendocrinology 42: 361-367:1986.

Barba G, Cappuccio FP, Russo L, Stinga F, Iacone R, Strazzullo P, Renal function and blood pressure response to dietary salt restriction in normotensive men. Hypertension 27:1160-1164:1996.

Barres C, Lewis SJ, Jacob HJ, Brody MJ. Arterial pressure lability and renal sympathetic nerve activity are dissociated in SAD rats. *Am J Physiol.* 263:R639-R646:1992

Bigazzi R, Bianchi S, Baldari D, Sgherri G, Baldari G, Campese VM. Microalbuminuria in salt-sensitive patients: a marker for renal cardiovascular risk factors. *Hypertension* 23:195-199:1994

Box GRP, Hunter JS, Hunter WG.: *Statistics for experimenters. Design, Innovation, Discovery.* Wiley Interscience, John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, Chapter 5, 2005

Burney PGJ. A diet rich in sodium may potentiate asthma: edpidemiological evidence for a new hypothesis. *Chest* 91 (6 suppl): 143S-148S, 1987.

Campese VM, Romoff MS, Levitan D, Saglikes Y, Friedler RM, Massry SG.: Abnormal relationship between sodium intake and sympathetic nervous system activity in salt-sensitive patients with essential hypertension. *Kidney Int* 21:371-378:1982

Chapuis B, Vidal-Petiot E, Oréa V, Barrés C, Julien C. Linear modelling analysis of baroreflex control of arterial pressure variability in rats. *J Physiol* 559.2:639-649:2004

Cowley AW Jr, Mori T, Mattson D, Zou A-P. Role of renal NO production in the regulation of medullary blood flow. *Am J Physiol* 284:R1355-1369,2003

cular regulation. *AJP* 266:R1705-R1710:1994.

Dahl LK, Heine M, Thompson K.: Genetic influence of the kidneys on blood pressure. *Cir.Res* 34:94-101:1974.

Dahl LK.: Effects of chronic excess salt feeding. Induction of self sustaining hypertension in rats . *J Exp Med* 114:231 :1961

De Wardener HE, Mac Gregor GA.: Sodium and blood pressure. *Current Opinion in Cardiology* 14(4):360-367:2002.

DiBona GF, Kopp UC. Neural Control of Renal Function. *Physiological Rev* 77:75-197:1997

Donovan DS, Solomon CG, Seely EW, Williams GH, Simonson DC.: Effect of sodium intake on insulin sensitivity. *Am. J. Physiol.* 264 (Endocrinol. Metab. 27) : E730-E734, 1993.

Ferrari A, Gordon FJ, Mark AL.: Impairment of cardiopulmonary baroreflexes in Dahl SALT sensitive rats fed low SALT. *Am J Physiol* 247: H119-H123:1984.

Fink GD, Bryan WJ, Mann M, Osborn J, Werber A. Continuous blood pressure measurements in rats with aortic baroreceptor deafferentation. *AJP* 241: H268-H272:1981.

Fink GD, Kennedy F, Bryan WJ, Werber A. Pathogenesis of hypertension in rats with chronic aortic baroreceptor deafferentation. *Hypertension* 2(3):319-325:1980

Franchini KG, Cestari IA, Krieger EM.: Restoration of arterial oxygen tension increases arterial pressure in sinoaortic-denervated rats. *Am J Physiol* 35:H1055-H1061:1994

Franchini KG, Krieger EM. Carotid chemoreceptors influence arterial pressure in intact and aortic-denervated rats. *Am J Physiol* 262:R677-R683:1992.

Franco V, Oparil S. Salt Sensitivity, a determinant of blood pressure, cardiovascular disease and survival. *J Am Coll. Nutrition* 25:247S-255S:2006

Gordon FJ, Mark AL. Mechanism of impaired baroreflex control in prehypertensive Dahl salt-sensitive rats. *Circ Res* 54:378-387:1984

Gordon FJ, Matsuguchi H, Mark AL. Abnormal Baroreflex control of heart rate in prehypertensive and hypertensive Dahl genetically salt-sensitive rats. *Hypertension* 3(SI): I135-I145:1981

Greene AS, Yu ZY, Roman RJ, Cowley AW. Role of blood volume expansion in Dahl rat model of hypertension. *Am J Physiol.* 258:H508-H514:1990.

Grisk O, Rettig R. Renal transplantation studies in genetic hypertension. *NIPS* 16:262-265:2001

Guyton AC, Coleman TG, Cowley AW Jr, Scheel KW, Manning RD Jr, Norman RA Jr. Arterial pressure regulation: overriding dominance of the kidneys in long-term regulation and in hypertension. *Am J Med* 52:584-594:1972.

Heiberger RM, Holland B. *Statistical analysis and data display: An intermediate course with samples in S-plus, R and SAS.* Springer Text in Statistics. Springer Science+Business Media Inc., New York, NY, USA. 2004

Howe PR, Rogers PF, Minson JB.: Influence of dietary sodium on blood pressure in baroreceptor-denervated rats. *J.Hypertension* 3: 457- 460:1985

Huang BS, Leenen FHH.: Both angiotensin II and "ouabain" contribute to sympathoexcitation and hypertension in Dahl S rats on high sodium diet. *Hypertension* 32:1028-1033:1998

Huang BS, Kudlac M., Kumarathasan R, Leenen FHH.: Digoxin prevents ouabain and high salt intake-induced hypertension in rats with sino-aortic denervation. *Hypertension* 34:733-738:1999a

Huang BS, Leenen FHH.: Brain Renin-Angiotensin System and Ouabain-Induced Sympathetic hyperactivity and hypertension in Wistar rats. *Hypertension* 34:107-112:1999b

Irigoyen MC, Moreira ED, Ida F, Pires M, Cestari IA, Krieger EM. Changes of renal sympathetic activity in acute and chronic conscious sinoaortic denervated rats. *Hypertension* 26:1111-1116:1995

Jones DW.: Dietary Sodium and Blood Pressure. *Hypertension* 43: 932- 935: 2004

Julien C, Chapuis B, Cheng Y, Barrès C. : Dynamic interactions between arterial pressure and sympathetic nerve activity :role of arterial baroreceptors. *Am J Physiol* 285:R834-R841:2003.

Kawasaki T, Delea CS, Bartter FC, Smith H. The effect of high-sodium and low-sodium intakes on blood pressure and other related variables in human subjects with idiopathic hypertension. *Am J Med* 64:193-198:1978

Kent BB, Drane JW, Blumenstein B, Manning JW.: A mathematical model to assess changes in the baroreceptor reflex. *Cardiology* 57:295-310:1972

Kitiyakara CH, Chabrashvili T, Chen Y, Blau J, Karber A, Aslam S, Welch WJ, Wilcox CS. Salt intake, oxidative stress, and renal expression of NADPH oxidase and Superoxide dismutase. *J Am Soc Nephrol* 14:2775-2782:2003

Kline RL, Patel KP, Ciriello J, Mercer PF. Effect of renal denervation on arterial pressure in rats with aortic nerve transection. *Hypertension* 5(4) :468-475 :1983

Krieger, EM, Neurogenic Hypertension in the Rat. *Cir Research*. 15: 511-521:1964

Leenen FHH, Harmsen EEF, Yu H.: Dietary sodium and central vs peripheral ouabain-like activity in Dahl salt-sensitive vs salt-resistant rats. *Am J Physiol*. 267:H1916-H1920:1994

Leenen FHH, Ruzicka M, Huang BS.: The brain and salt-sensitive Hypertension. *Current Hypertension Reports* 4:129-135:2002

Miao CY, Tao X, Gong K, Zhang SH, Chu ZX, Su DF. Arterial remodeling in Chronic-Denervated rats. *J Cardiovasc. Pharmacol*. 37:6-15:2001

Morgan DA, DiBona GF, Mark AL.: Effects of interstrain renal transplantation on NaCl-induced hypertension in Dahl rats. *Hypertension* 15:436-442:1990

Morimoto A, Uzu T, Fujii T, Nishimura M, Kuroda S, Nakamura S, Isenaga T, Kimura G.: Sodium sensitivity and cardiovascular events in patients with essential hypertension. *Lancet* 350:1734-1737:1997

Osborn JL, Roman RJ, Ewens JD. Renal nerves and the development of Dahl salt-sensitive hypertension. *Hypertension* 11:523-528:1988.

Osborn JW, England SK. Normalization of arterial pressure after barodenervation: role of pressure natriuresis. *Am J Physiol* 259:R1172-R1180: 1990

Osborn JW, Hornfeldt BJ. Arterial baroreceptor denervation impairs long-term regulation of arterial pressure during dietary salt loading. *Am J Physiol* 275:H1558-H1566:1998

Osborn JW, Jacob F, Guzman P. A neural set point for the long-term control of arterial pressure: beyond the arterial baroreceptor reflex. *Am J Physiol* 288:R846-R855:2005

Osborn JW, Provo BJ.: Salt-dependent hypertension in the sinoaortic-denervated rat. *Hypertension* 19: 658 – 662:1992

Patel KP, Ciriello J, Kline RL. Noradrenergic mechanisms in brain and peripheral organs after aortic nerve transection. *AJP* 240:H481-H486:1981

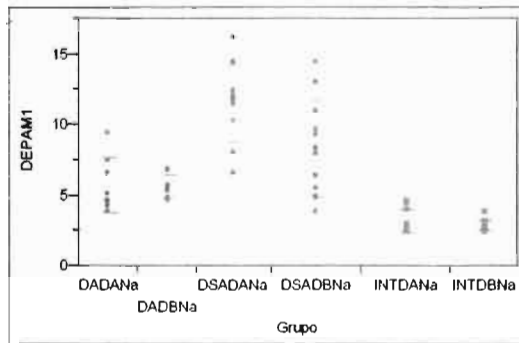
Razin M, Borosh M, Weinstock M. Rabbits with a genetic impairment in baroreceptor reflex sensitivity show abnormal renal haemodynamics and proximal tubular sodium reabsorption in response to a saline infusion. *J Hypertens*. 11:799-804: 1993.

- Rodríguez-Martínez M**, Sawin L, DiBona GF. Arterial and Cardiopulmonary Baroreflex Control of renal nerve activity in cirrhosis. *Am J Physiol* 268:R117-R129:1995
- Rodríguez-Martínez M**, y Brito-Orta D.: Supranormal Natriuretic response to volume expansion in vagotomized and renal denervated rats. *CEPP* 26:970-976:1999.
- Schreihöfer AM**, Sved AF.: Use of sinoaortic denervation to study the role of baroreceptors in cardiovascular
- Stornella RL**, Guyenet PG, McCarty RC.: Autonomic nervous system control of heart rate during baroreceptor activation in conscious and anesthetized rats. *J Auton Nerv Syst* 20:121-127:1987
- Strazzullo P**, Galletti F, Barba G.: Altered Renal Handling of sodium in human hypertension. *Hypertension* 41:1000-1005:2003.
- Takeshita A**, Mark A, Brody M. Prevention of salt-induced hypertension in the Dahl strain by 6-hydroxydopamine. *Am J Physiol* 236:H48-H52:197
- Taylor P.:** Agents acting at the neuromuscular junction and autonomic ganglia. In: Hardman JG & Limbird LE eds. Goodman & Gilman's The Pharmacological basis of therapeutics. New York: McGraw-Hill; 1996: Chap. 9, p.187.
- Torres-Rodríguez L.** Sensibilización del Sistema Nervioso Central a la sal en ratas con denervación sino-aórtica crónica que consumen una dieta normal en sal (1%). Tesis de Maestría. Postgrado en Ciencias Biomédicas Básicas, UASLP, Agosto 2004.
- Van Vliet BN**, Chafe LL, Montani JP. Contribution of baroreceptors and chemoreceptors to ventricular hypertrophy produced by sino-aortic denervation in rats. *J Physiol* 516.3:885-895:1999.
- Weinberger MH** Salt sensitivity of blood pressure in humans. *Hypertension* 27:481- 490:1996.
- Weinberger MH**, Fineberg NS, Fineberg SE, Weinberger M.: Salt sensitivity, pulse pressure and death in normal and hypertensive humans. *Hypertension*: 37:429-432:2001.
- Weinberger MH**, Miller JZ, Luft FC.: Definitions and characteristics of sodium sensitivity and blood pressure resistance. *Hypertension* 8(SII): II 127 –II 134: 1986.
- Werber AH**, Fink GD. Cardiovascular and body fluid changes after aortic baroreceptor deafferentation. *AJP* 240:H685-H690:1981.
- Yu H**, Burell LM, Black J, Wu LL, Dilley RJ, Cooper ME, Johnston CI. Salt induces myocardial and renal fibrosis in normotensive and hypertensive rats. *Circulation* 98:2621-2628, 1998.
- Zhang ZQ**, Barrs C, Julien C.: Involvement of vasodilator mechanisms in arterial pressure lability after sino-aortic baroreceptor denervation in rat. *J Physiol* 482:435-448:1995

Tabla 1 . Etapa A: Evolución ponderal pre y post denervación, días de recuperación y valores pre-denervación de la presión arterial media (PAM) y de la desviación estándar de PAM en estado alerta, en 59 animales asignados al azar a los 6 grupos de estudio.

	INTDANa	INTDBNa	DADANa	DADBNa	DSADANa	DSADBNa
n	12	9	8	8	10	12
Peso Pre-Denervación (g)	299±3	305±4	307±8	307±5	301±4	307±5
PAM Pre-Denervación (mmHg)	112±2	108±2	108±1	111±3	111±2	112±2
DE de PAM Pre-Denervación (mmHg)	3.8±0.3	3.6±0.4	4.0±0.5	3.8±0.3	3.9±0.2	3.5±0.2
Reducción de Peso (g)	-19.5±2.0	-23.7±1.8	-39.3±3.9*	-40.5±4.0 ⁺	-53.0±2.7 [£]	-54.0±4.3 ^{***}
Días de Recuperación	5.2±0.3	5.6±0.5	8.8±0.8 ^{**}	8.7±0.5 ⁺	11.4±0.6 [£]	11.5±0.6 ^{£*}
Peso Experimental (g)	378±6	347±5	378±12	351±6	366±7	349±8
Delta de Peso (g)	78.3±4.1	41.8±1.9 ^{***}	70.7±6.2	43.9±4.0 [*]	64.7±6.0	41.2±4.1 [*]
Alimento ingerido (g/día)	26.7±1.3	20.4±1.0 ^{**}	23.3±0.8	20.0±0.6	23.8±0.9	21.2±0.5

Valores son promedio ± E.E.; INT = denervación fingida; DA = denervación aórtica; DSA = denervación sino-aórtica; DANa = dieta alta en sal; DBNa = dieta baja en sal; n = número de unidades experimentales por grupo; PAM = presión arterial media; DE = desviación estándar; Reducción de peso = Peso Pre-Denervación – Peso mínimo post-denervación; Días de Recuperación = Lapso para recuperar el Peso Pre-Denervación luego de la denervación; Peso Experimental = Peso del día del experimento después de 21 días de DANa o DBNa; Delta de Peso = Peso Experimental – Peso Pre-Denervación; Alimento Ingerido = Promedio de alimento ingerido en días 18 y 19. Análisis bivariado por grupo seguido de comparación múltiple por prueba de Tukey: ⁺p= 0.05, ^{*}p= 0.01, ^{**}p=0.001, ^{***}p=0.0001, [£]p=0.000001 vs. INT en su correspondiente dieta; ^{*}p=0.01 vs DA en su correspondiente dieta; ^{*}p=0.01, ^{**}p=0.001, ^{***}p=0.0001 vs dieta con misma denervación.



$$\text{DEPAM1X} = \text{DEN} + \text{DIETA} + \text{DEN} \times \text{DIETA}$$

Fig.1

Summary of Fit

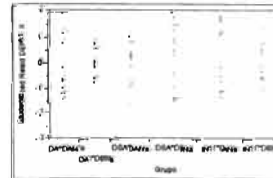
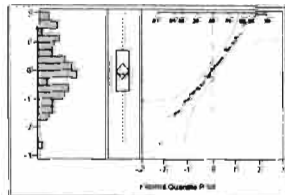
RSquare	0.783822
RSquare Adj	0.783209
Root Mean Square Error	1.451376
Mean of Response	12.34375
Observations (or Sum Wgts)	59

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	5	404.32287	80.8646	38.3862
Error	53	111.64412	2.1065	Prob > F
C. Total	58	515.96699		<.0001

Effect Tests

Source	Nparm	DF	Sum of Squares	F Ratio	Prob > F
Den	2	2	395.08831	93.7787	<.0001
Diet	1	1	8.78274	3.2104	0.0789
Den * Diet	2	2	9.12058	2.1849	0.1248

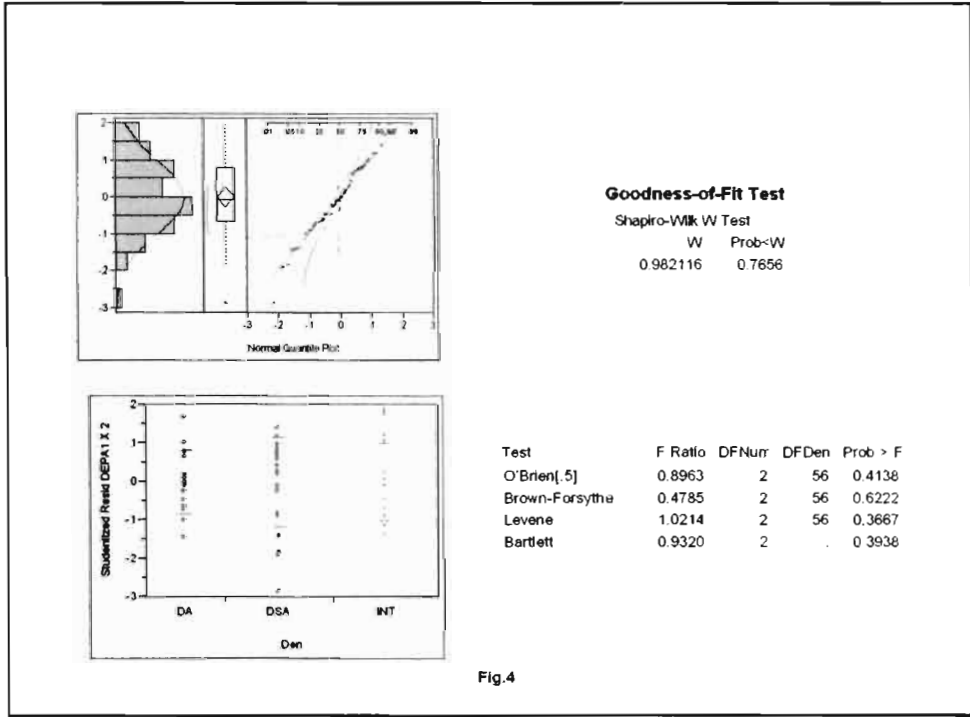
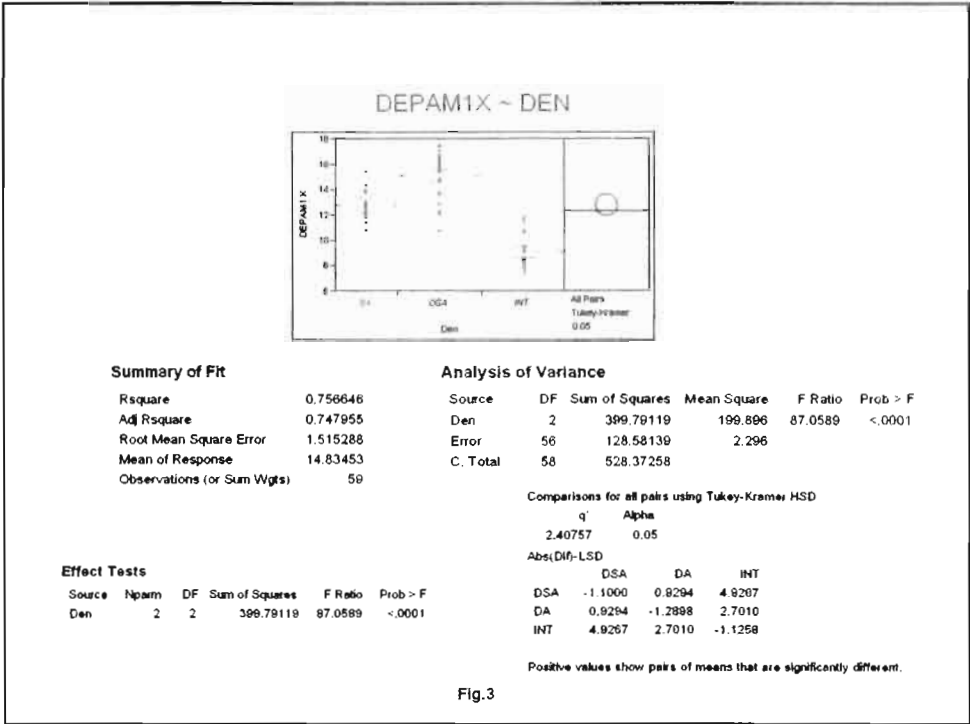


Goodness-of-Fit Test

Shapiro-Wilk W Test	
W	Prob > W
0.979673	0.8683

Test	F Ratio	DFNum	DFDen	Prob > F
O'Brien (5)	2.4104	5	53	0.0483
Brown-Forsythe	1.8713	5	53	0.1150
Levene	3.4183	5	53	0.0095
Bartlett	1.9263	5		0.0864

Fig.2



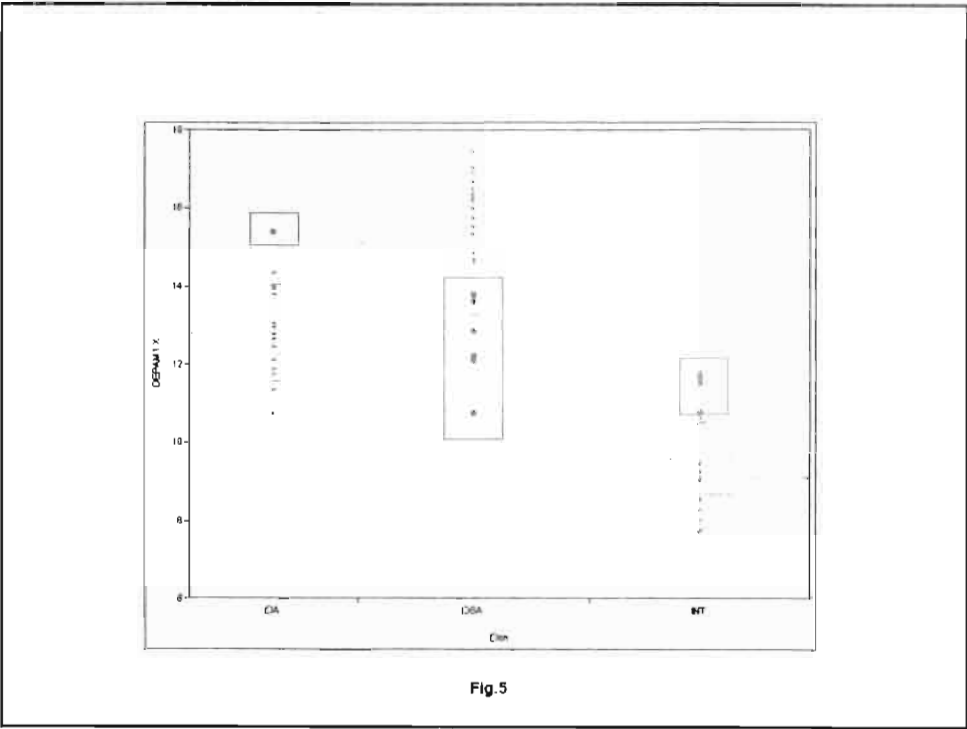


Fig.5

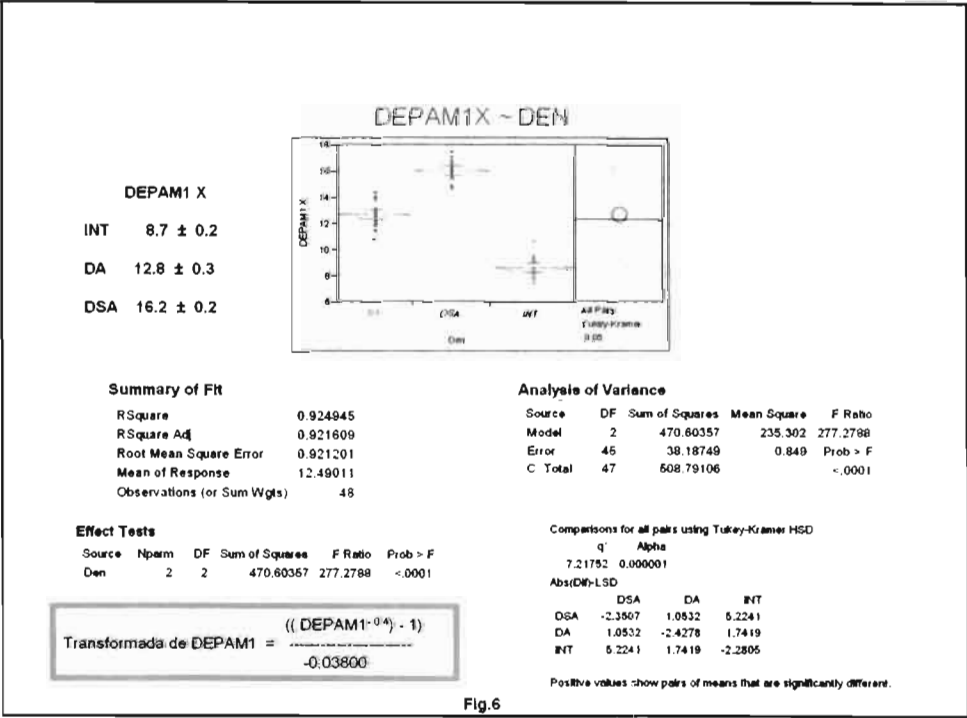
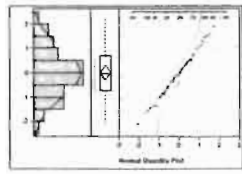
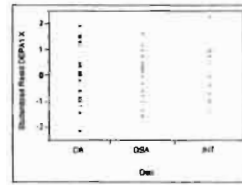


Fig.6



Goodness-of-Fit Test

Shapiro-Wilk W Test
 W Prob < W
 0.983779 0.8620



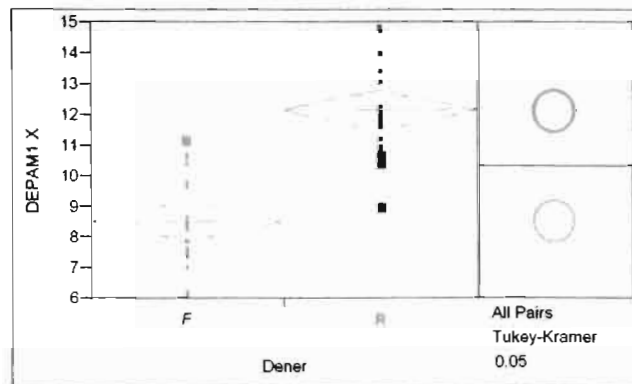
Test	F Ratio	DFNum	DFDen	Prob > F
O'Brien[5]	0.7224	2	45	0.4911
Brown-Forsythe	0.8405	2	45	0.4382
Levene	0.7358	2	45	0.4848
Bartlett	0.4937	2	.	0.6104

Limites de Confianza para DEPA1 X

	INT	DA	DSA
95%	8.3 - 9.1	12.2 - 13.4	15.7-16.7 → 46% descartados
99%	8.1 - 9.3	11.9 - 13.6	15.6-16.9 → 42% descartados

Fig.7

N = 40 → DA Fingida y DA Real

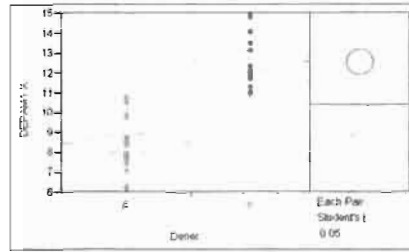


Descarte por criterio de Fen/NP = 14 = 35%

Descarte por criterio de DEPA1 x = 4 = 10%

Fig.8

Brto-Orta Maria Dolores, 2005



Summary of Fit

R-Square	0.719678
R-Square Adj	0.711433
Root Mean Square Error	1.326502
Mean of Response	10.36222
Observations (or Sum Wgts)	36

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	1	153.59469	153.595	87.2892
Error	34	59.82665	1.760	Prob > F
C. Total	35	213.42134		<.0001

Effect Tests

Source	Nparm	DF	Sum of Squares	F Ratio	Prob > F
Dener	1	1	153.59469	87.2892	<.0001

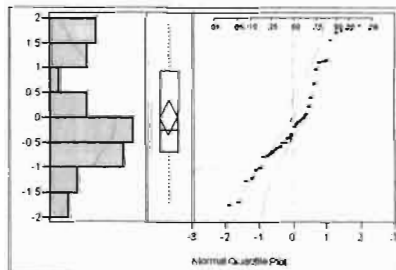
Comparisons for all pairs using Tukey-Kramer HSD

	q'	Alpha
	7.10828	0.000001
Abs(Diff)-LSD		
	R	F
R	-3.2342	0.9896
F	0.9896	-3.0592

	INT	DA
DEPA1 X	8.4 ± 0.3	12.5 ± 0.3

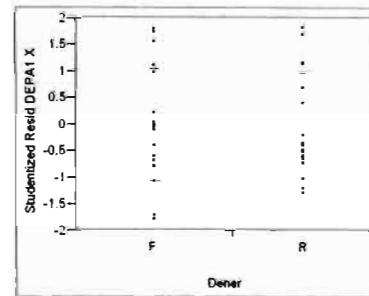
Positive values show pairs of means that are significantly different

Fig.9



Goodness-of-Fit Test

Shapiro-Wilk W Test	
W	Prob > W
0.931575	0.0351



Test	F Ratio	DFNum	DFDen	Prob > F
O'Brien[5]	0.1173	1	34	0.7341
Brown-Forsythe	0.0405	1	34	0.8417
Levene	0.0159	1	34	0.9004
Bartlett	0.0740	1		0.7856

Fig.10

Tabla 2 . Etapa B: Evolución ponderal pre y post denervación, días de recuperación y valores pre-denervación de presión arterial media (PAM) y de desviación estándar de PAM en estado alerta, en 48 experimentos (distribuidos en los 6 grupos de estudio) que satisficieron los criterios de denervación real (DA y DSA) o fingida (INT).

	INT DANa	INT DBNa	DA DANa	DA DBNa	DSA DANa	DSA DBNa
n	8	9	7	8	9	7
Peso Pre-Denervación (g)	297±4	305±4	305±9	307±5	300±4	310±8
PAM Pre-Denervación (mmHg)	111±3	108±2	109±1	111±3	112±2	116±3
DE de PAM Pre-Denervación (mmHg)	3.8±0.4	3.6±0.4	4.0±0.6	3.8±0.3	3.9±0.3	4.0±0.3
Reducción de Peso (g)	-19.1±2.3	-23.8±1.8	-37.9±4.2*	-40.0±4.0*	-53.0±3.1**	-55.0±6.8**
Días de Recuperación	5.5±0.3	5.7±0.5	9.0±1.0**	8.8±0.5**	11.6±0.7**	11.6±0.7**
Peso Experimental (g)	370±7	347±5	374±13	351±6	369±7	350±13
Delta de Peso (g)	73.2±4.1	41.8±1.9**	69.3±7.0	43.9±4.1*	69.1±4.5	39.6±6.0**
Alimento ingerido(g/día)	27.5±2.0	20.4±1.0**	22.7±0.7	20.7±0.6	23.2±0.7	21.3±0.7

Valores son promedio ± E.E.; INT = denervación fingida; DA = denervación aórtica; DSA = denervación sino-aórtica; DANa = dieta alta en sal; DBNa = dieta baja en sal; n = número de unidades experimentales por grupo; PAM = presión arterial media; D.E. = desviación estándar; Reducción de peso = Peso Pre-Denervación – Peso Mínimo post-denervación; Días de Recuperación = Lapso para recuperar el Peso Pre-Denervación luego de la denervación; Peso Experimental = Peso del día del experimento después de 21 días de DANa o DBNa; Delta de Peso = Peso Experimental – Peso Pre-Denervación; Alimento ingerido = Promedio de alimento ingerido en días 18 y 19. Análisis bivariado por grupo seguido de comparación múltiple por prueba de Tukey: †p= 0.05, **p= 0.01, * p=0.001,**p=0.0001 vs. INT en su correspondiente dieta; * p=0.05 vs DA en su correspondiente dieta; † p=0.01, ** p =0.001 vs dieta con misma denervación.

Tabla 3. Etapa B: Análisis de covarianza (ANCOVA) con una covariable de la Desviación Estándar de la Presión Arterial Media (PAM) , PAM, Delta de PAM , Delta de PAS y Delta de PAD en 48 experimentos (distribuidos en los 6 grupos de estudio) que satisficieron los criterios de denervación real (DA y DSA) o fingida (INT).

Variable	r ² ajustada	p (modelo)	Factor Denervación	V.E. (ΔPeso)	Covariable PAM Pre-denervación
D.E. de PAM primeros 30 min (mmHg)	0.9198	p<0.0001	p<0.0001	ns	ns
D.E. de PAM segundos 30 min (mmHg)	0.8087	p<0.0001	p<0.0001	ns	ns
PAM primeros 30 min (mmHg)	0.6405	p<0.0001	p<0.0001	p=0.0004	p<0.0001
PAM segundos 30 min (mmHg)	0.3724	p<0.0001	p=0.0809	p=0.0266	p<0.0001
Delta de PAM primeros 30 min (mmHg)	0.4492	p<0.0001	p<0.0001	p=0.0003	ns
Delta de PAM segundos 30 min (mmHg)	0.1435	p=0.0201	p=0.0878	p<0.0191	ns
Delta de PAS primeros 30 min (mmHg)	0.5111	p<0.0001	p<0.0001	p<0.0001	ns
Delta de PAS segundos 30 min (mmHg)	0.3570	p<0.0001	p=0.0018	p=0.0004	ns
Delta de PAD primeros 30 min (mmHg)	0.4235	p<0.0001	p=0.0001	p=0.0004	ns
Delta de PAD segundos 30 min (mmHg)	0.1524	p=0.01	p=0.0537	p=0.0248	ns

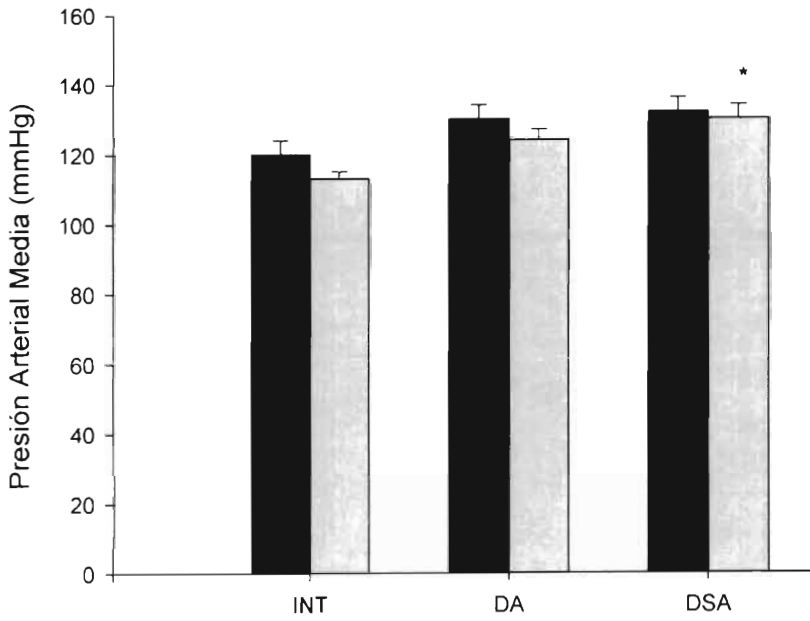
r² ajustada = coeficiente de determinación; p (modelo) = probabilidad de ajuste del modelo; Factor Denervación ("DEN" con tres niveles); V.E. = variable explicatoria; Covariable = PAM Pre-denervación; D.E. = desviación estándar; PAM = presión arterial media; Delta de PAM = PAM de primeros ó segundos 30 min – PAM Pre-Denervación; PAS = Presión Arterial Sistólica; PAD = Presión Arterial Diastólica; Delta de PAS = PAS de primeros ó segundos 30 min – PAS Pre-Denervación; Delta de PAD = PAD de primeros ó segundos 30 min – PAD Pre-Denervación; ns= no significativo

Tabla 4. Etapa B: Desviación Estándar de la presión arterial media (PAM), PAM y Delta de PAM, PAS y PAD en los primeros y segundos 30 minutos de registro en estado alerta en 48 experimentos (distribuidos en los 6 grupos de estudio) que satisficieron los criterios de denervación real (DA y DSA) o fingida (INT).

	INT DANA	INT DBNa	DA DANA	DA DBNa	DSA DANA	DSA DBNa
n	8	9	7	8	9	7
D.E. de PAM primeros 30 min (mmHg)	2.6±0.1	2.9±0.1	5.2±0.5 [£]	5.6±0.3 [£]	12.0±0.8 ^{£ €}	10.5±0.9 ^{£ ††}
D.E. de PAM segundos 30 min (mmHg)	3.4±0.2	3.1±0.3	6.3±0.6*	6.7±0.4***	14.2±1.8 ^{£ §}	11.1±1.3 ^{£ ¶}
PAM primeros 30 min (mmHg)	120±4	113±2	130±4	124±3	132±4	130±4 ⁺
PAM segundos 30 min (mmHg)	120±4	112±2	128±4	120±3	121±4	128±3 ⁺
Delta de PAM primeros 30 min (mmHg)	8.7±1.6	5.2±1.7	21.1±3.4 ⁺	13.1±2.5	20.6±2.2 ⁺	14.1±4.3
Delta de PAM segundos 30 min (mmHg)	9.0±1.7	4.7±1.9	19.2±3.6	8.5±2.8	9.2±4.2	11.2±3.4
Delta de PAS primeros 30 min (mmHg)	15.6±2.0	8.0±2.2	34.5±4.1*	19.7±3.5 ⁺	31.6±2.0 ⁺⁺	18.5±4.5
Delta de PAS segundos 30 min (mmHg)	14.6±2.5	6.3±2.3	30.9±4.4	14.9±4.1	22.5±4.1	14.2±3.8
Delta de PAD primeros 30 min (mmHg)	8.6±1.4	3.6±1.8	22.5±3.6 ⁺⁺⁺	12.9±2.9	18.8±2.5	12.5±4.2
Delta de PAD segundos 30 min (mmHg)	8.9±1.6	3.3±2.0	20.6±3.9	8.2±3.0	7.0±4.4	9.8±3.4

Valores son promedio ± E.E.; INT = denervación fingida; DA = denervación aórtica; DSA = denervación sino-aórtica; DANA = dieta alta en sal; DBNa = dieta baja en sal; n = número de unidades experimentales por grupo; D.E. = desviación estándar; PAM = presión arterial media; Delta de PAM = PAM de primeros ó segundos 30 min – PAM Pre-Denervación; PAS = Presión Arterial Sistólica; PAD = Presión Arterial Diastólica; Delta de PAS = PAS de primeros ó segundos 30 min – PAS Pre-Denervación; Delta de PAD = PAD de primeros ó segundos 30 min – PAD Pre-Denervación. Análisis bivariado por grupo seguido de comparación múltiple por prueba de Tukey: ⁺ p = 0.05, ⁺⁺ p = 0.03, ⁺⁺⁺ p = 0.02, * p = 0.01, ** p = 0.001, *** p = 0.0001 y [£] p = 0.000001 vs INT en su correspondiente dieta. [§] p = 0.01, [€] p = 0.05, ^{††} p = 0.0001, [¶] p = 0.000001, vs DA en su correspondiente dieta.

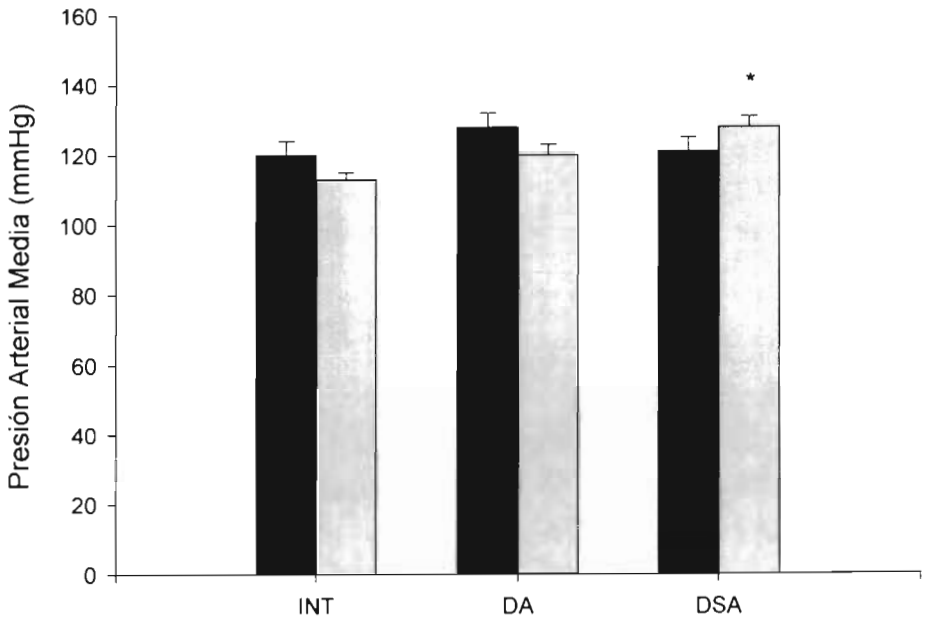
primeros 30 min.



PAM

segundos 30 min.

■ DANA
□ DBNa



p= 0.05 vs. INTDBNa

Fig. B1

Δ PAM, Δ PAS y Δ PAD

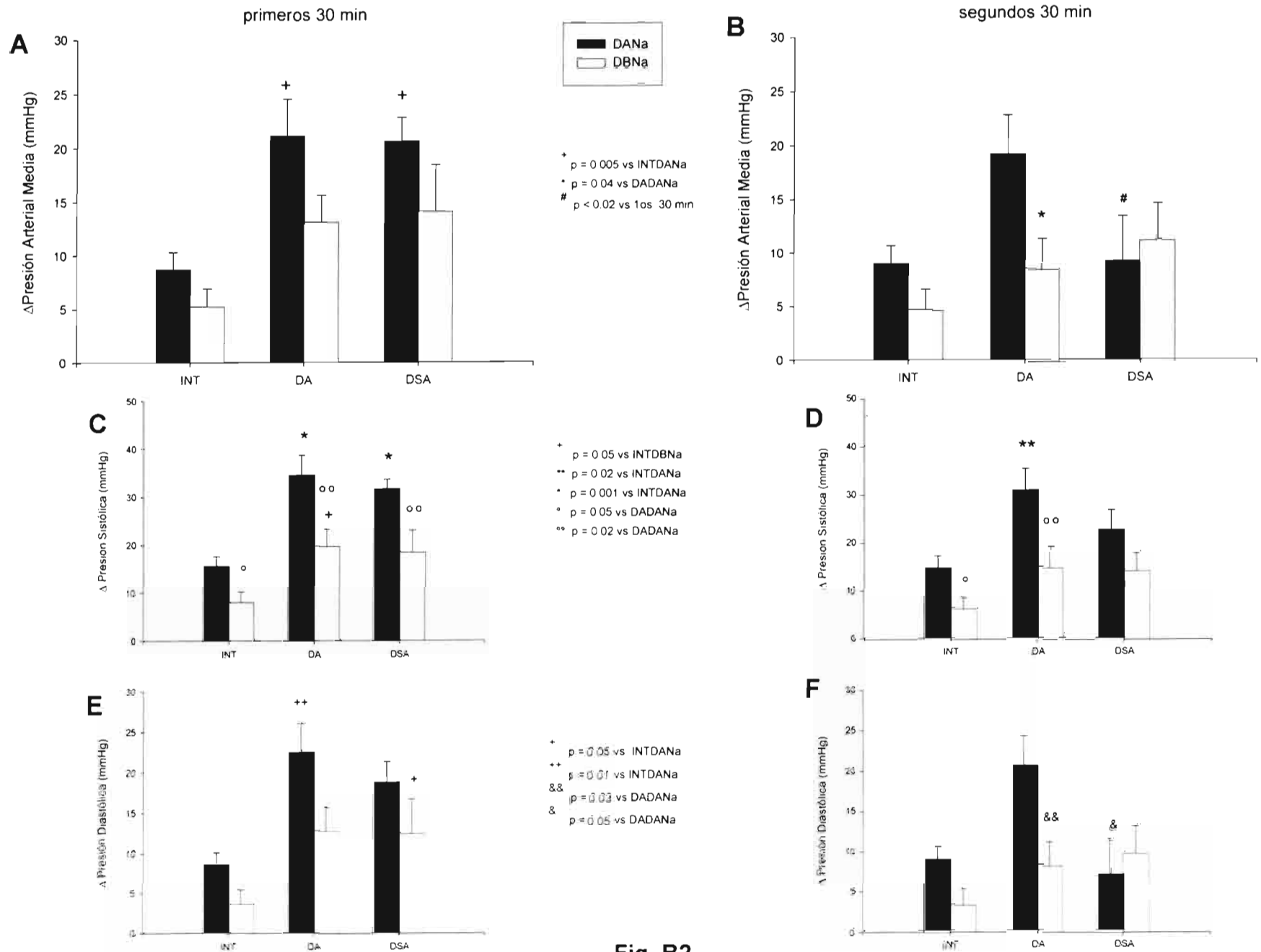


Fig. B2

PRESIÓN - NATRIURESIS

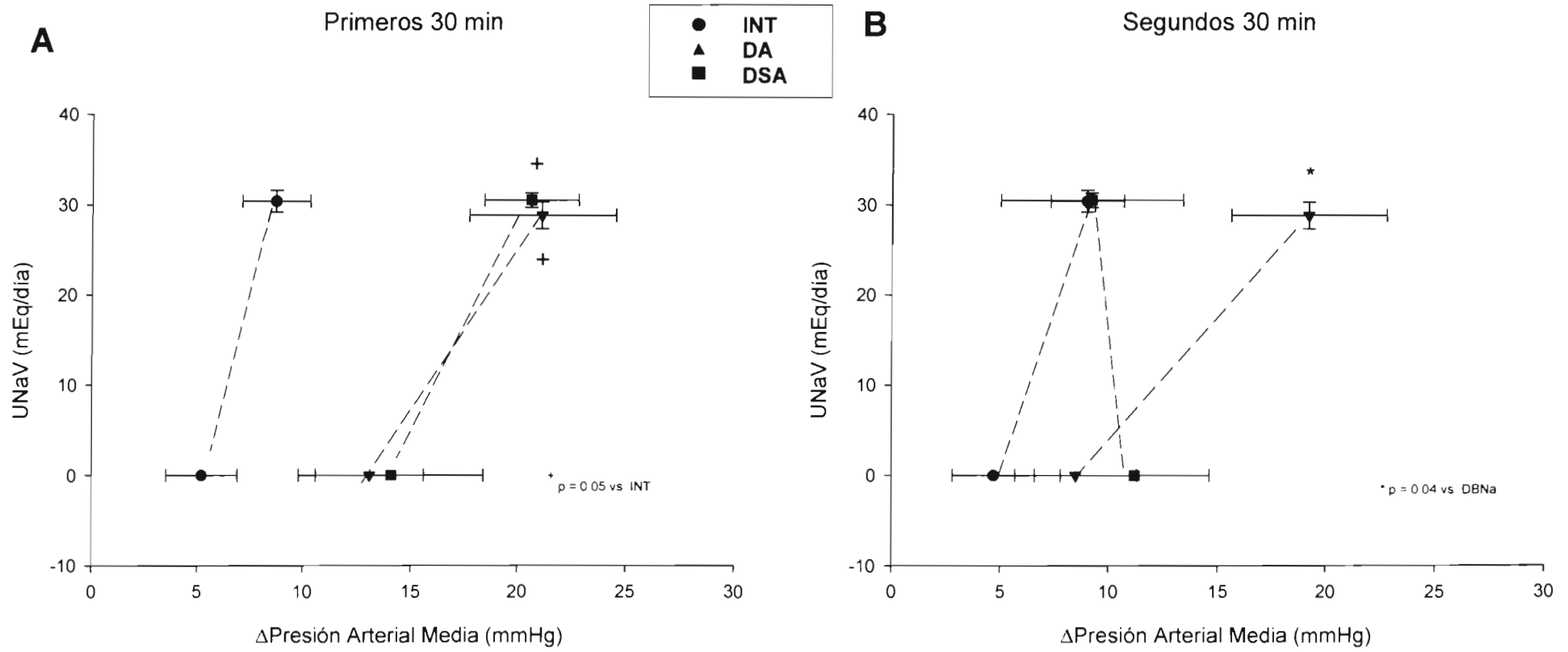


Fig B3

Tabla 5. Etapa Ba: Evolución ponderal pre y post denervación, días de recuperación y valores pre-denervación de presión arterial media (PAM) y de desviación estándar de PAM en estado alerta, en 42 experimentos (distribuidos en los 6 grupos de estudio) que satisficieron los criterios de denervación real (DA y DSA) o fingida (INT).

	INT DANa	INT DBNa	DA DANa	DA DBNa	DSA DANa	DSA DBNa
n	6	8	7	8	8	5
Peso Pre-Denervación (g)	293±4	306±4	305±9	307±5	300±5	308±11
PAM Pre-Denervación (mmHg)	111±4	107±2	109±1	111±3	112±3	120±2 ^a
D.E. de PAM Pre-Denervación (mmHg)	3.8±0.5	3.3±0.3	4.0±0.6	3.8±0.3	3.7±0.2	3.7±0.3
Reducción de Peso (g)	-18.2±2.7	-22.9±1.8	-37.9±4.2 [*]	-40.5±4.0 [*]	-51.5±3.1 ^{***}	-56.0±6.1 ^{***}
Días de Recuperación	5.2±0.2	5.6±0.5	9.0±1.0 [*]	8.7±0.5 [*]	11.1±0.6 ^{***}	12.1±1.0 ^{***}
Peso Experimental (g)	364±7	347±5	374±13	351±6	368±7	343±16
Delta de Peso (g)	70.8±4.6	41.2±2.0 [§]	69.3±7.0	43.9±4.1 [§]	67.9±4.9	34.1±5.6 [°]
Alimento ingerido (g/día)	26.5±2.1	20.6±1.1 [§]	22.7±0.4	20.1±0.6	23.04±0.8	220.8±0.7

Valores son promedio ± E.E.; INT = denervación fingida; DA = denervación aórtica; DSA = denervación sino-aórtica; DANa = dieta alta en sal; DBNa = dieta baja en sal; n = número de unidades experimentales por grupo; PAM = presión arterial media; D.E. = desviación estándar; Reducción de peso = Peso Pre-Denervación – Peso Mínimo post-denervación; Días de Recuperación = Lapso para recuperar el Peso Pre-Denervación luego de la denervación; Peso Experimental = Peso del día del experimento después de 21 días de DANa o DBNa; Delta de Peso = Peso Experimental – Peso Pre-Denervación. Alimento Ingerido = Promedio de alimento ingerido en días 18 y 19. Análisis bivariado por grupo seguido de comparación múltiple por prueba de Tukey: * p=0.01, *** p=0.0001 vs INT; [°] p=0.01, [§] p=0.001 vs dieta con misma denervación.

Tabla 6. Etapa Ba: Análisis de covarianza (ANCOVA) con una covariable de la Desviación Estándar de la Presión Arterial Media (PAM) , PAM y Delta de PAM en 42 experimentos (distribuidos en los 6 grupos de estudio) que satisficieron los criterios de denervación real (DA y DSA) o fingida (INT).

Variable	r ² ajustada	p (modelo)	Factor Denervación	V.E. (ΔPeso)	Covariable PAM Pre-denervación
D.E. de PAM 1os. 30 min (mmHg)	0.9122	p<0.0001	p<0.0001	ns	ns
D.E. de PAM 2os. 30 min (mmHg)	0.7960	p<0.0001	p<0.0001	ns	ns
PAM 1os. 30 min (mmHg)	0.6912	p<0.0001	p=0.0001	p=0.0003	p< 0.0001
PAM 2os. 30 min (mmHg)	0.4176	p<0.0001	p= 0.0496	p=0.04	p<0.0001
Delta de PAM 1os. 30 min (mmHg)	0.5102	p<0.0001	p<0.0001	p=0.0002	ns
Delta de PAM 2os. 30 min (mmHg)	0.1851	p=0.01	p=0.0476	p=0.0280	ns

r² ajustada = coeficiente de determinación; p (modelo) = probabilidad de ajuste del modelo; Factor Denervación ("DEN" con tres niveles); V.E. = variable explicatoria; Delta de Peso = Peso Experimental – Peso Pre-Denervación; Covariable = PAM Pre-denervación; D.E. = desviación estándar; PAM = presión arterial media; Delta de PAM = PAM de primeros ó segundos 30 min – PAM Pre-Denervación; ns= no significativo

Tabla 7. Etapa Ba: Desviación Estándar de la presión arterial media (PAM), PAM y Delta de PAM, en los primeros y segundos 30 minutos de registro en estado alerta en 42 experimentos (distribuidos en los 6 grupos de estudio) que satisficieron los criterios de denervación real (DA y DSA) o fingida (INT).

	INT DANa	INT DBNa	DA DANa	DA DBNa	DSA DANa	DSA DBNa
n	6	8	7	8	8	5
D.E. de PAM 1os.30 min (mmHg)	2.6±0.1	2.9±0.2	5.2±0.5 £	5.6±0.3 £	12.1±0.9 €	10.6±1.3▣
D.E. de PAM 2os.30 min (mmHg)	3.5±0.3	2.9±0.3	6.3±0.6*	6.7±0.4***	13.7±1.9† †	11.8±1.7† †
PAM 1os. 30 min (mmHg)	118±5	112±2	130±4	124±3	132±4	131±5+
PAM 2os. 30 min (mmHg)	119±6	111±2	128±4	120±3	119±4	129±4+
Delta de PAM 1os. 30 min (mmHg)	6.8±1.3	4.3±1.7	21.1±3.4+	13.1±2.6	20.0±2.5+	11.3±4.9
Delta de PAM 2os. 30 min (mmHg)	7.9±2.0	3.4±1.5	19.2±3.6	8.5±2.8	7.2±4.2	8.9±4.2

Valores son promedio ± E.E. INT = denervación fingida; DA = denervación aórtica; DSA = denervación sino-aórtica; DANa = dieta alta en sal; DBNa = dieta baja en sal; n = número de unidades experimentales por grupo; D.E. desviación estándar; PAM = presión arterial media; Delta de PAM = PAM de 1os. ó 2os. 30 min – PAM Pre-Denervación; Análisis bivariado por grupo seguido de comparación múltiple por prueba de Tukey: + p = 0.05 , * p = 0.01 , *** p = 0.0001, † p = 0.00001 y £p= 0.000001 vs INT en su correspondiente dieta; †p=0.001, ▣ p=0.0001 € p= 0.000001 vs DA en su correspondiente dieta.

Tabla 8 . Etapa Ba. Análisis de Varianza (ANDEVA) de los parámetros (logísticos y no logísticos) de evaluación del baroreflejo remanente en 42 experimentos (distribuidos en los 6 grupos de estudio) que satisficieron los criterios de denervación real (DA y DSA) o fingida (INT).

Variable	r ² ajustada	p (modelo)	Factor Denervación	Factor Dieta	Interacción Den*Dieta
ANSER basal (μV)	0.1860	0.0068	0.0068	ns	ns
Plateau Superior (%Δ ANSER)	0.5096	<0.0001	<0.0001	ns	ns
Rango de %Δ ANSER	0.5799	<0.0001	<0.0001	ns	ns
Pendiente (%ΔANSER /mmHg)	0.3153	<0.0019	0.0027	0.3665	0.0134
PAM al 50% del rango (mmHg)	0.2291	0.0024	0.0024	ns	ns
Plateau Inferior (%Δ ANSER)	0.1190	0.0318	0.0318	ns	ns
Gmáx (%Δ ANSER) ² /mmHg	0.6281	<0.0001	<0.0001	ns	ns

r² ajustada = coeficiente de determinación; p (modelo) = probabilidad de ajuste del modelo; Factor Denervación ("DEN" con tres niveles); Factor Dieta ("DIETA" con dos niveles); Interacción DEN*DIETA. ANSER = Actividad Nerviosa Simpática Eferente Renal; ANSER basal = Promedio de ANSER durante 1 min control; Rango de % Δ ANSER = Porcentaje de cambio de ANSER; Gmax = Ganancia Máxima del baroreflejo remanente. PVC = Presión Venosa Central; PVC en rampa = PVC obtenida cuando la PAM en la rampa alcanzó el valor de PAM Pre-rampa. ns = no significativo.

Tabla 9. Etapa Ba. Parámetros (logísticos y no logísticos) de evaluación del barorreflejo remanente en 42 experimentos (distribuidos en los 6 grupos de estudio) que satisficieron los criterios de denervación real (DA y DSA) o fingida (INT) antes de la vagotomía cervical bilateral

	INT	DA	DSA
n	14	15	13
ANSER basal	41.7±3.3	46.5±3.4	58.9±4.2*
%ΔANSER por FBG	-73.3±4.4	-70.9±3.6	-78.7±3.5
r ²	0.9953±0.001	0.9926±0.001	0.9652±0.008 ** †
Norm	35.3±2.8	34.9±3.1	32.2±2.9
Plateau Superior	37.6±7.0	39.0±7.4	-4.2±3.9** ††
Rango de %Δ ANSER	121±6	124±7	61±6 *** †††
Pendiente	-0.082±0.004	-0.066±0.004	-0.059±0.005
PAM al 50% del rango	126±5	128±3	153±7*‡
Plateau Inferior	-83.5±6.4	-85.2±4.3	-65.6±5.6 [§]
Gmáx	-2.5±0.1	-2.0±0.1	-0.9±0.1 & ††
PVC en rampa (mmHg)	3.5±0.3	3.7±0.3	4.3±0.4

Valores son promedio ± E.E. INT = denervación fingida; DA = denervación aórtica; DSA = denervación sino-aórtica; n = número de unidades experimentales por nivel. ANSER = Actividad Nerviosa Simpática Eferente Renal; ANSER basal = Promedio de ANSER durante 1 min control en mV; Rango de % Δ ANSER = Porcentaje de cambio de ANSER; Gmax = Ganancia Máxima del barorreflejo remanente. PVC = Presión Venosa Central; PVC en rampa = PVC obtenida cuando la PAM en la rampa alcanzó el valor de PAM Pre-rampa. Analisis bivariado por factor denervación seguido de comparación múltiple por prueba de Tukey : *p = 0.05, * p = 0.01, †p = 0.005, ** p = 0.001, *** p = 0.0001, &p = 0.000001 vs INT. †p=0.001, †† p = 0.0001, †††p = 0.00001, ‡p=0.01, §p=0.05 vs DA.

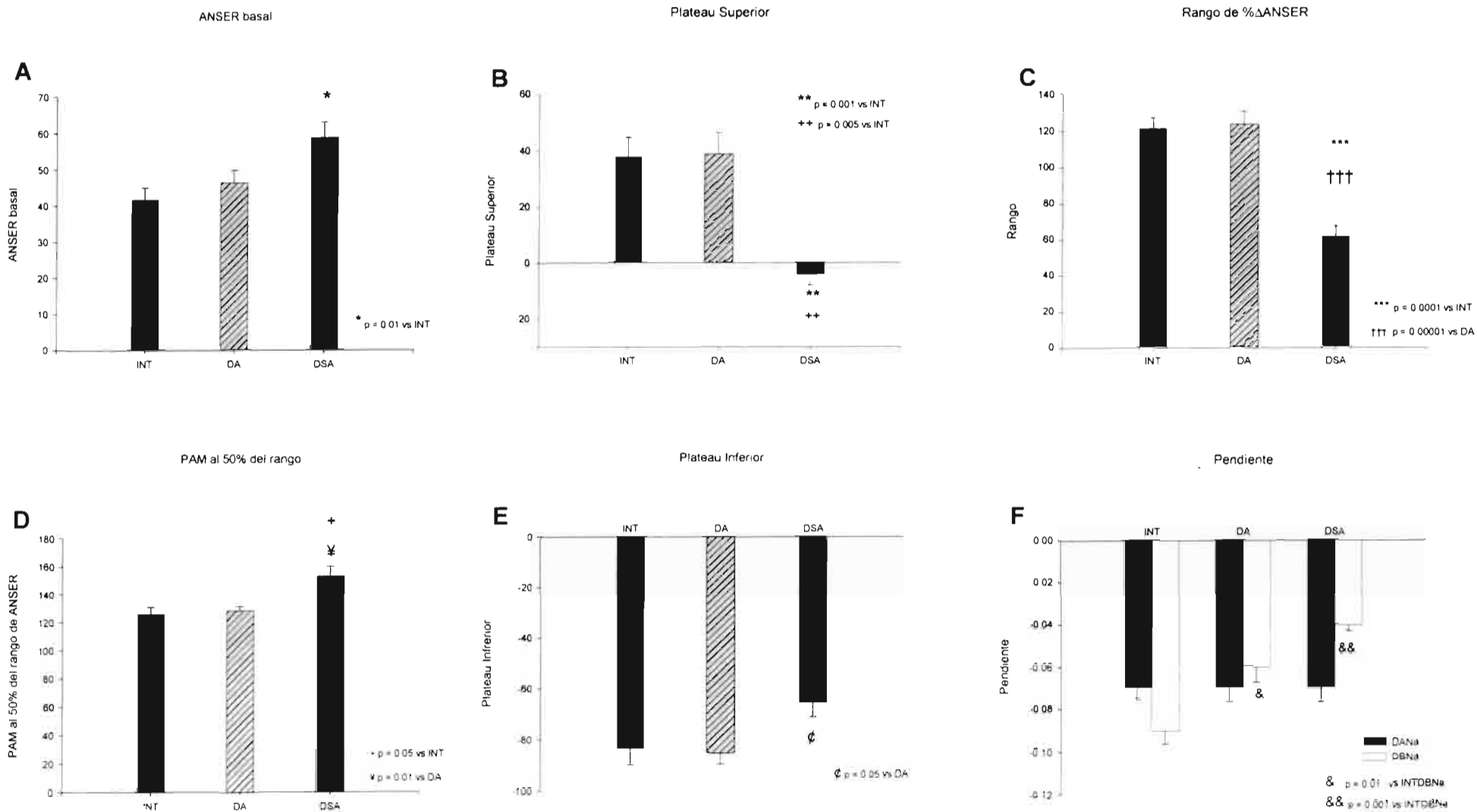
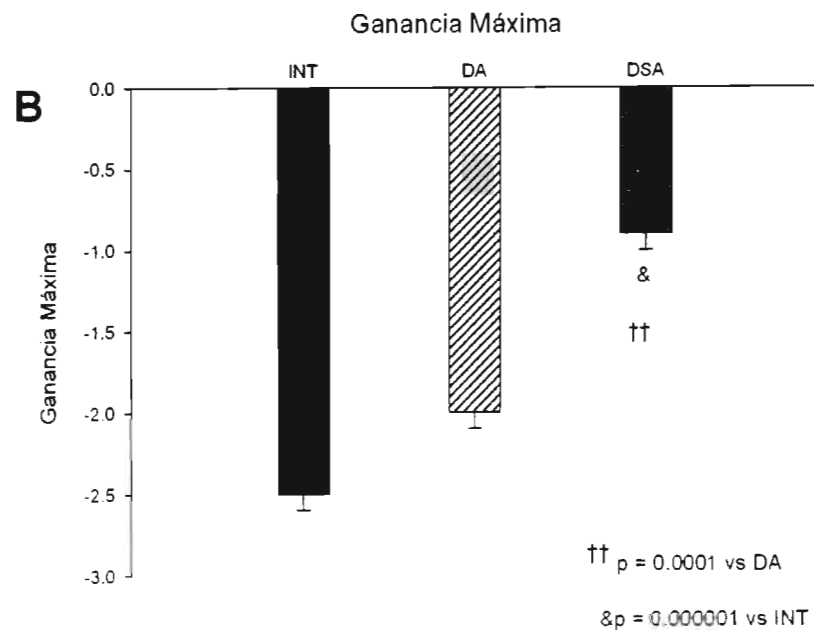
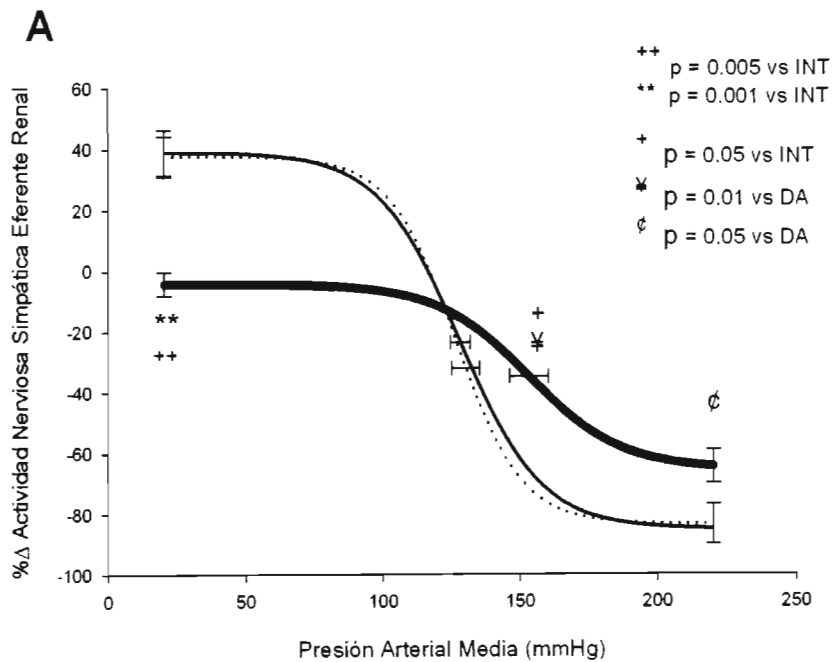
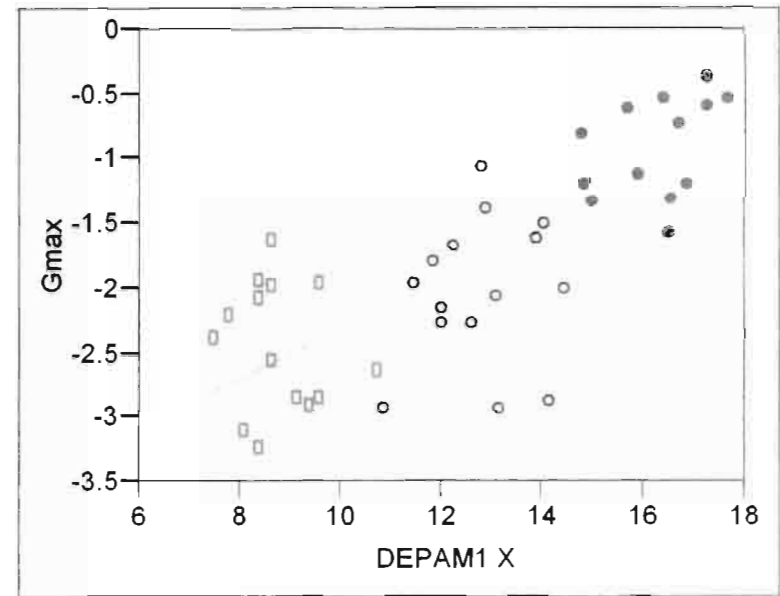


Fig. Ba1

Baroreflejo Sino-aórtico y Cardiopulmonar



C



Summary of Fit

RSquare	0.569789
RSquare Adj	0.559034
Root Mean Square Error	0.541232
Mean of Response	-1.82229
Observations (or Sum Wgts)	42

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	1	15.518871	15.5189	52.9777
Error	40	11.717281	0.2929	Prob > F
C. Total	41	27.236153		<.0001

Fig. Ba2

Tabla 10. Etapa C: Evolución ponderal pre y post denervación, días de recuperación y valores pre-denervación de presión arterial media (PAM) y de desviación estándar de PAM en estado alerta, en 37 experimentos (distribuidos en los 6 grupos de estudio) que satisficieron los criterios de denervación real (DA y DSA) o fingida (INT).

	INT DANa	INT DBNa	DA DANa	DA DBNa	DSA DANa	DSA DBNa
n	6	6	5	7	8	5
Peso Pre-Denervación (g)	293.3±4.4	309.0±4.8	311.0±11.0*	307.1±6.2	299.9±4.9‡	308.4±11.3***
PAM Pre-Denervación (mmHg)	111±4	109±2	109±1	112±3	111±3	120±2
D.E. de PAM Pre-Denervación (mmHg)	3.8±0.5	3.6±0.4	3.2±0.5	3.7±0.3	3.7±0.2	3.7±0.3
Reducción de Peso (g)	-18.2±2.7	-25.0±1.2	-41.8±4.1**	-40.1±4.6+	-51.5±3.1‡	-56.0±6.1**
Días de Recuperación	5.2±0.2	6.2±0.5	9.6±1.3**	8.6±0.5+	11.1±0.6‡	11.6±1.0**
Peso Experimental (g)	364±7	350±7	386±15	351±6	368±7	343±16
Delta de Peso (g)	70.8±4.1	41.4±2.7*	75.3±8.4	43.8±4.7*	67.9±4.9	34.1±5.6§
Alimento ingerido (g/día)	26.5±2.1	21.3±1.0§	23.0±0.8	20.2±0.7	23.0±0.8	20.8±0.7

Valores son promedio ± E.E.; INT = denervación fingida; DA = denervación aórtica; DSA = denervación sino-aórtica; DANa = dieta alta en sal; DBNa = dieta baja en sal; n = número de unidades experimentales por grupo; PAM = presión arterial media; D.E. = desviación estándar; Reducción de peso = Peso Pre-Denervación – Peso Mínimo post-denervación; Días de Recuperación = Lapso para recuperar el Peso Pre-Denervación luego de la denervación; Peso Experimental = Peso del día del experimento después de 21 días de DANa o DBNa; Delta de Peso = Peso Experimental – Peso Pre-Denervación; Alimento Ingerido = Promedio de alimento ingerido en días 18 y 19. Análisis bivariado por grupo seguido de comparación múltiple por prueba de Tukey: *p=0.01, **p=0.001, ***p=0.0001, ‡ p = 0.00001; + p= 0.05, * p=0.01, §p=0.001, vs dieta con misma denervación.

Tabla 11. Etapa C: Análisis de covarianza (ANCOVA) con una covariable de la Desviación Estándar de la Presión Arterial Media (PAM) , PAM, Delta de PAM , Delta de PAS y Delta de PAD en 37 experimentos (distribuidos en los 6 grupos de estudio) que satisficieron los criterios de denervación real (DA y DSA) o fingida (INT).

Variable	r ² ajustada	p (modelo)	Factor Denervación	V.E. (ΔPeso)	Covariable PAM Pre-denervación
DE de PAM primeros 30 min (mmHg)	0.9193	p<0.0001	p<0.0001	ns	ns
DE de PAM segundos 30 min (mmHg)	0.8055	p<0.0001	p<0.0001	ns	ns
PAM primeros 30 min (mmHg)	0.6513	p<0.0001	p<0.0002	p=0.001	p< 0.0001
PAM segundos 30 min (mmHg)	0.3456	p<0.0013	p=0.0624	p=0.0873	p=0.0005
Delta de PAM primeros 30 min (mmHg)	0.4487	p<0.0001	p=0.0001	p=0.0004	ns
Delta de PAM segundos 30 min (mmHg)	0.1737	p<0.0255	p=0.05	p=0.05	ns

r² ajustada = coeficiente de determinación; p (modelo) = probabilidad de ajuste del modelo; Factor Denervación ("DEN" con tres niveles); V.E. = variable explicatoria; Covariable = PAM Pre-denervación; D.E. = desviación estándar; PAM = presión arterial media; Delta de PAM = PAM de primeros ó segundos 30 min – PAM Pre-Denervación; ns= no significativo

Tabla 12. Etapa C. Desviación Estándar de la presión arterial media (PAM), PAM y Delta de PAM, en los primeros y segundos 30 minutos de registro en estado alerta en 42 experimentos (distribuidos en los 6 grupos de estudio) que satisficieron los criterios de denervación real (DA y DSA) o fingida (INT).

	INT DANa	INT DBNa	DA DANa	DA DBNa	DSA DANa	DSA DBNa
n	6	6	5	7	8	5
D.E. de PAM 1os.30 min (mmHg)	2.6±0.1	3.0±0.2	5.6±0.6 [£]	5.7±0.3 [£]	12.1±0.9 [£]	10.6±1.3 ^{£†}
D.E. de PAM 2os.30 min (mmHg)	3.5±0.3	2.7±0.3	6.6±0.8 [*]	6.6±0.4 [‡]	13.7±1.9 ^{‡£}	11.8±1.7 [£]
PAM 1os. 30 min (mmHg)	118±5	113±2	132±5	126±3	132±4	131±5
PAM 2os. 30 min (mmHg)	119±6	113±1	132±5	121±3	119±4	129±4
Delta de PAM 1os. 30 min (mmHg)	6.8±1.3	4.0±2.3	23.3±4.3 ⁺	13.3±2.9	20.4±2.5 ⁺	11.3±4.9
Delta de PAM 2os. 30 min (mmHg)	7.9±2.0	3.4±2.0	22.6±4.1	8.8±3.2	7.2±4.2	8.9±4.2

Valores son promedio ± E.E. INT = denervación fingida; DA = denervación aórtica; DSA = denervación sino-aórtica; DANa = dieta alta en sal; DBNa = dieta baja en sal; n = número de unidades experimentales por grupo; D.E. desviación estándar; PAM = presión arterial media; Delta de PAM = PAM de 1os. ó 2os. 30 min – PAM Pre-Denervación; Análisis bivariado por grupo seguido de comparación múltiple por prueba de Tukey: . ⁺ p=0.05, ^{*} p = 0.01 , [‡] p = 0.00001, [£] p= 0.000001 vs INT en su correspondiente dieta; [£] p=0.05; [†] p= 0.001 vs DA en su correspondiente dieta.

Tabla 13. Etapa C. Análisis de Varianza (ANDEVA) de los parámetros (logísticos y no logísticos) de evaluación del baroreflejo remanente en 37 experimentos (distribuidos en los 6 grupos de estudio) que satisficieron los criterios de denervación real (DA y DSA) o fingida (INT) antes (Pre-VGT) y después de la vagotomía cervical bilateral (Post-VGT).

		r ²	p	Factor	Factor	Interacción
			(modelo)	Denervación	Dieta	Den*Dieta
Plateau Superior	Pre-VGT	0.5286	<0.0001	<0.0001	ns	ns
	Post-VGT	0.2251	<0.0054	0.0054	ns	ns
Rango	Pre-VGT	0.5693	<0.0001	<0.0001	ns	ns
	Post-VGT	0.2001	0.0085	0.0085	ns	ns
Pendiente	Pre-VGT	0.4728	<0.0001	0.0002	0.07453	0.0010
	Post-VGT	0.0366	ns	ns	ns	ns
PAM al 50% del Rango	Pre-VGT	0.1929	0.0099	0.0099	ns	ns
Rango	Post-VGT	0.1684	0.0165	0.0165	ns	ns
Plateau Inferior	Pre-VGT	0.1358	0.0317	0.0317	ns	ns
	Post-VGT	0.0916	ns	ns	ns	ns
Gmáx	Pre-VGT	0.6558	<0.0001	<0.0001	ns	ns
	Post-VGT	0.4809	<0.0001	<0.0001	ns	ns

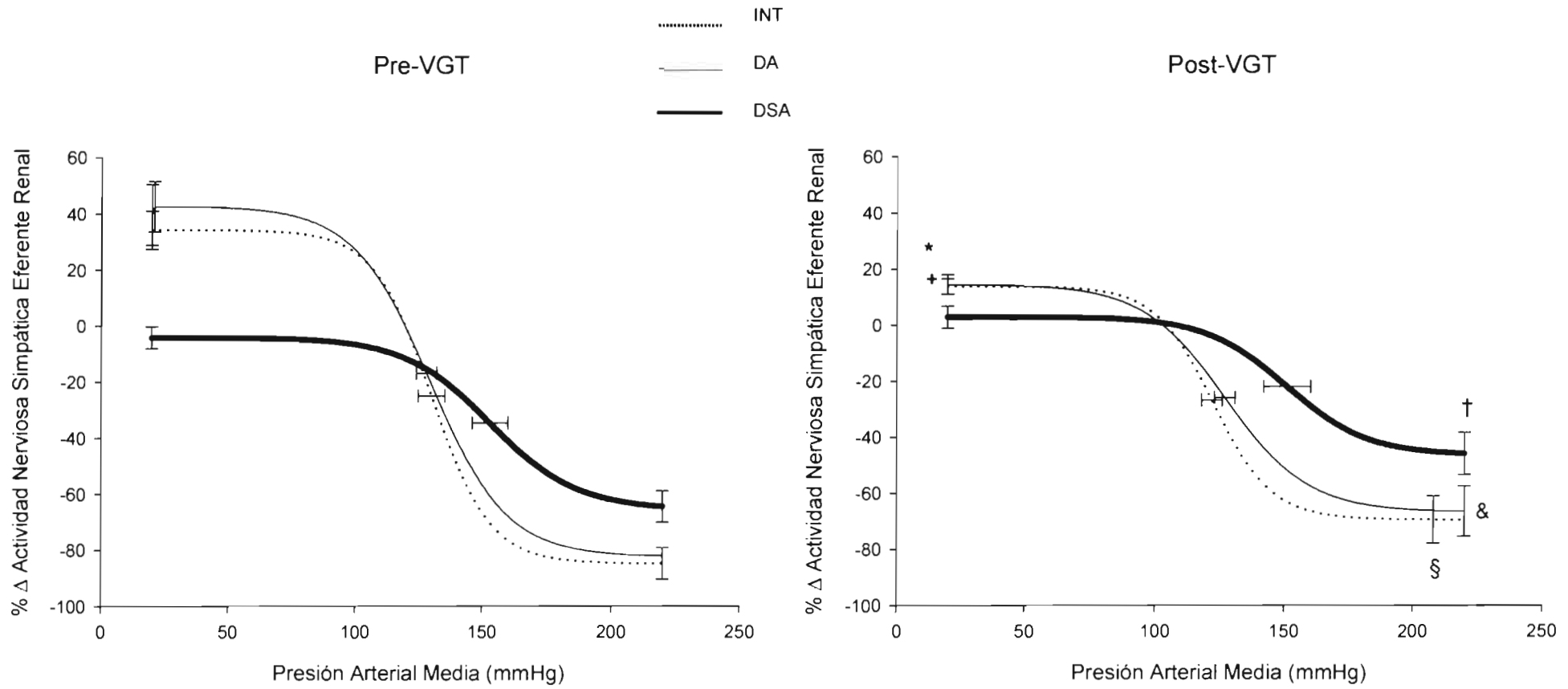
r² ajustada = coeficiente de determinación; p (modelo) = probabilidad de ajuste del modelo; Factor Denervación ("DEN" con tres niveles); Factor Dieta ("DIETA" con dos niveles); Interacción DEN*DIETA. ANSER = Actividad Nerviosa Simpática Eferente Renal; ANSER basal = Promedio de ANSER durante 1 min control; Rango de % Δ ANSER = Porcentaje de cambio de ANSER; Gmax = Ganancia Máxima del baroreflejo remanente. PVC = Presión Venosa Central; PVC en rampa = PVC obtenida cuando la PAM en la rampa alcanzó el valor de PAM Pre-rampa. ns = no significativo.

Tabla 14. Etapa C. Parámetros (logísticos y no logísticos) de evaluación del baroreflejo remanente en 37 experimentos (distribuidos en los 6 grupos de estudio) que satisficieron los criterios de denervación real (DA y DSA) o fingida (INT) antes (Pre VGT) y después de la vagotomía cervical bilateral (Post-VGT).

		INT	DA	DSA
%ΔANSER por FBG	Pre-VGT	-72.7±4.8 0.0005	-70.2±4.1 <0.0001	78.8±3.5*** + <0.0001
	Post-VGT	-44.2±4.3	-38.9±4.0	-8.8±2.5 †† °
Plateau Superior	Pre-VGT	34.3±7.0 0.0042	42.8±9.0 0.0093	-4.2±3.8*** †† ns
	Post-VGT	13.9±2.7	14.2±3.6	0.2±3.4 †
Rango	Pre-VGT	119±7 0.0041	125±9 0.0091	61.5±5.9 *** †† 0.0138
	Post-VGT	83.2±8.5	81.2±11.5	44.8±7.7 †
Pendiente	Pre-VGT	-0.085±0.005 ns	-0.065±0.005 ns	-0.059±0.005 ns
	Post-VGT	-0.086±0.007	-0.061±0.008	-0.065±0.014
PAM al 50% del Rango	Pre-VGT	130±5 ns	128±4 ns	153±7 † ns
	Post-VGT	122±4	127±4	151±9 ⁺
Plateau Inferior	Pre-VGT	-84.8±5.6 0.01	-82.4±4.9 0.0472	-65.6±5.6 ⁺ 0.0089
	Post-VGT	-69.3±8.4	-67.0±8.7	-44.6±7.6 ⁺
Gmáx	Pre-VGT	-2.5±0.1 0.002	-2.0±0.2 0.0002	-0.9±0.1 ^{‡††} 0.0222
	Post-VGT	-1.7±0.2 [*]	-1.1±0.1	-0.6±0.1 †°
PVC en rampa (mmHg)	Pre-VGT	3.6±0.3 ns	4.1±0.3 ns	4.3±0.4 ns
	Post-VGT	3.9±0.5	4.3±0.5	4.7±0.3

Valores son promedio ± E.E. INT = denervación fingida; DA = denervación aórtica; DSA = denervación sino-aórtica; n = número de unidades experimentales por grupo; ANSER = Actividad Nerviosa Simpática Eferente Renal; FBG= Fenilbiguanida; Gmáx = Ganancia Máxima del baroreflejo remanente; PVC en rampa = PVC obtenida cuando la PAM en la rampa alcanzó el valor de PAM Pre-rampa. Análisis bivariado por factor denervación seguido de comparación múltiple por prueba de Tuckey : + p = 0.05, †† p = 0.03, * p = 0.01, *** p = 0.0001, ° p = 0.00001, ‡ p = 0.000001 vs INT. † p=0.05, # p = 0.03, * p=0.01, †† p = 0.0001 vs DA.

Ganancia del Baroreceptor

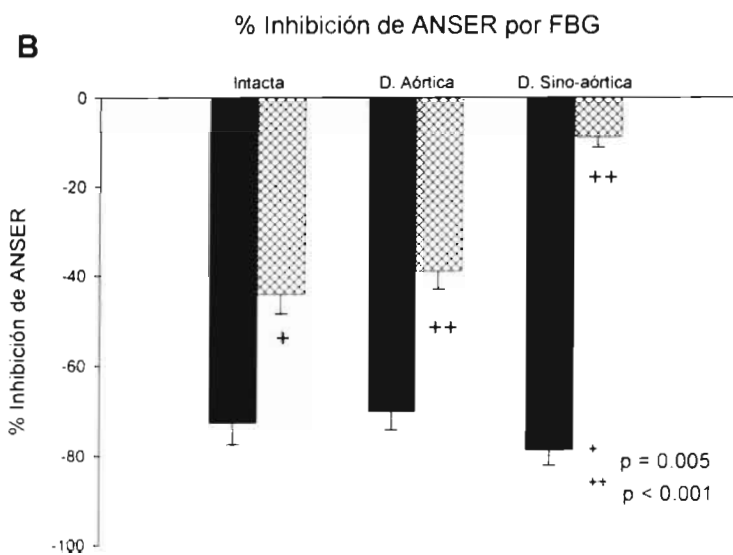
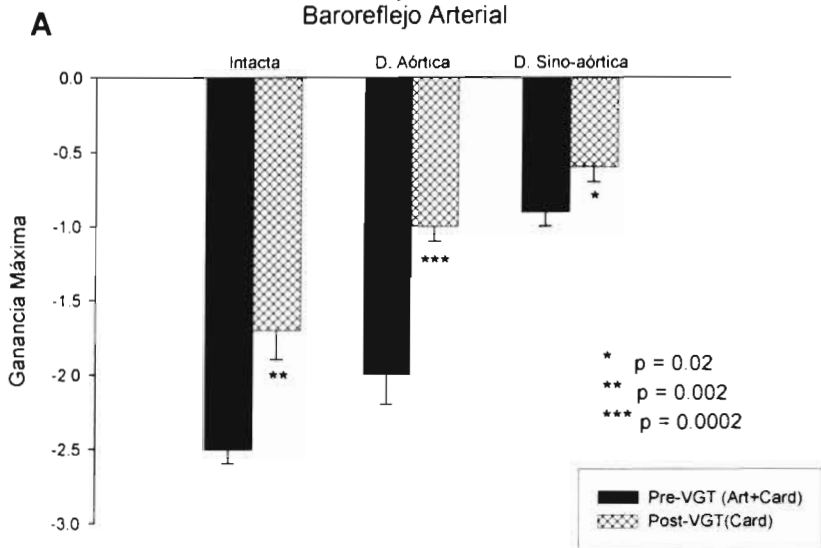


* p = 0.0042
 + p = 0.0093
 & p = 0.01
 § p = 0.0472
 † p = 0.0089

vs. Pre- VGT

Fig. C1

Baroreflejo Carotideo + Cariopulmonar
y
Baroreflejo Arterial



Baroreflejo Cardiopulmonar

C

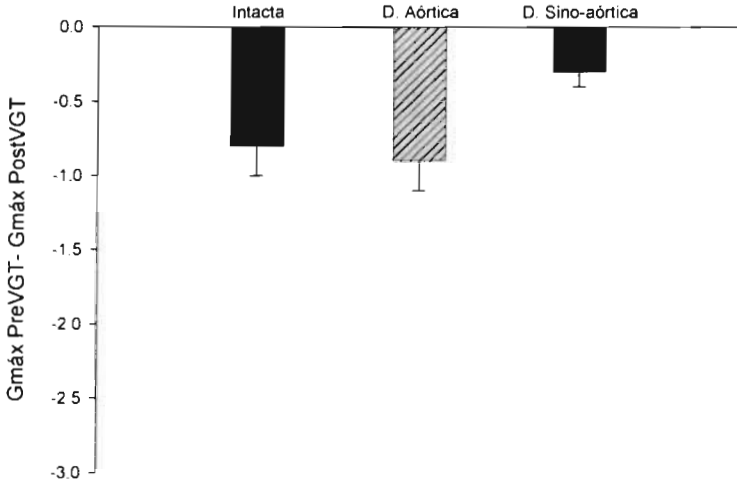


Fig. C2

