

Una aproximación cinética y dinámica de metildopa en ratas con coartación aórtica mediante microdiálisis

CHRISTIAN HOCHT, JAVIER A. W. OPEZZO, SUSANA B. GORZALCZANY, GUILLERMO F. BRAMUGLIA, CARLOS A. TAIRA*

RESUMEN

Se realizó un estudio cinético-dinámico del antihípertensivo metildopa (MD) en ratas hipertensas por coartación aórtica (CoA) mediante una sonda *shunt* para **microdiálisis en arteria y registro simultáneo de la presión sanguínea**. Se utilizaron ratas Wistar con CoA o con operación simulada (OS), anestesiadas con cloralosa-uretano. La sonda de microdiálisis se insertó en la arteria carótida y se perfundió con solución salina. Cada 15 minutos se recolectaron dializados de 30 μ l. La detección de MD se realizó mediante HPLC-EC. Se valoraron la presión arterial media (PAM) y la frecuencia cardíaca (FC). En las ratas conscientes con operación simulada (n = 20), los basales de PAM y de FC fueron de 102 ± 3 mm Hg y de 357 ± 61 pm y en las ratas con CoA (n = 20) fueron de 162 ± 5 mm Hg ($p < 0,05$) y de 384 ± 23 lpm. En las ratas anestesiadas, los basales de PAM y de FC fueron de 57 ± 1 mm Hg y de 342 ± 12 lpm (n = 16) en las ratas con OS y de 81 ± 4 mm Hg ($p < 0,05$) y de 365 ± 121 pm (n = 16) en los animales con CoA. La MD (50 mg/kg ip) indujo taquicardia en las ratas con operación simulada (AFC: 108 ± 22 lpm, n = 6) y en las ratas con CoA (AFC: 55 ± 101 pm, n = 6, $p < 0,05$). La MD indujo mayor hipotensión en las ratas con CoA (APAM: OS -10 ± 4 mm Hg, n = 6; CoA -51 ± 9 mm Hg, n = 6, $p < 0,05$). Los dializados de las ratas con operación simulada mostraron una concentración máxima de $8,8 \pm 1,5$ gg/ml y un $t_{1/2}$ de $3,7 \pm 1,0$ horas (n = 6) mientras que en los de las ratas con CoA fue de $4,3 \pm 1,7$ jig/ml ($p < 0,05$) y el $t_{1/2}$ de $1,5 \pm 0,3$ horas ($p < 0,05$). En conclusión, la coartación aórtica alteraría la farmacocinética de la metildopa y sus efectos cardiovasculares. REV ARGENT CARDIOL 1999; 67: 769-773.

Palabras clave Coartación aórtica - Farmacocinética - Farmacodinamia - Frecuencia cardíaca - Metildopa - Microdiálisis - Presión arterial - Sonda *shunt*

INTRODUCCION

Como es conocido, la coartación de la aorta abdominal en ratas es un modelo experimental interesante para el estudio de la hipertensión arterial. El cuadro hipertensivo se atribuye principalmente a la activación del sistema renina-angiotensina, a los efectos de la vasopresina y a la homeostasis del sodio. (1-4) Habría también un compromiso de los mecanismos regulatorios centrales, como el barorreflejo cardiovas-

cular. (5, 6) Otras alteraciones observadas son el incremento de los niveles de renina plasmática, los cambios estructurales de diferentes vasos con una respuesta alterada a la acción de agentes relajantes y contráctiles (7-9) y las modificaciones en el flujo sanguíneo regional. (10) Como en otros modelos animales de hipertensión, se ha encontrado una concentración disminuida de la noradrenalina cardíaca. (11)

La coartación aórtica produce cambios farmaco-

Cátedra de Farmacología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires

Este trabajo fue financiado mediante subsidios de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad de Buenos Aires y del Fondo Nacional de Ciencia y Técnica (FONCYT) de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, Ministerio de Cultura y Educación, Argentina

* Miembro de la Carrera de Investigador Científico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina Trabajo recibido para su publicación: 10/99 Aceptado: 11/99

Dirección para separatas: Christian HOCHT, Cátedra de Farmacología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956, (1113) Buenos Aires, Argentina. Tel. +(54-11)-4964-8265 - Fax: +(54-11)-4508-3645 - e-mail: chocht@huernul.ffyb.uba.ar

cinéticos. Griffeth y colaboradores, (12) utilizando hexobarbital y zoxazolamina como modelos de drogas oxidadas por el citocromo P-450, hallaron una disminución de los niveles de citocromo P-450.

La metildopa (MD), un agente antihipertensivo de acción central, se convierte rápidamente en metilnoradrenalina, un agonista adrenérgico α_2 , en las neuronas catecolaminérgicas. La MD ejercería su efecto antihipertensivo a través de las acciones de la metilnoradrenalina en el sistema nervioso central. (13) La MD se excreta por la orina como el conjugado sulfato (50% a 70%) y como droga sin modificar (25%). La fracción remanente se excreta como otros productos de metabolismo (metildopamina, metilnoradrenalina y metabolitos O-metilados). (14)

Se observó que, luego de una sola dosis de MD, el curso temporal de la acumulación cerebral de metilnoradrenalina no se correlacionaría bien con la velocidad de desarrollo de la caída de la presión arterial, aunque la acumulación tendría correlación con la concentración de metildopamina. (15)

Por otra parte, los pacientes con falla renal son más sensibles al efecto antihipertensivo de la metildopa, pero no se sabe si esto se debe a una alteración en la excreción de la droga o a un incremento del transporte al sistema nervioso central. (14)

El propósito de este trabajo fue el de realizar un estudio cinético-dinámico de una droga antihipertensiva de acción central como la metildopa en ratas con coartación aórtica (CoA) o con una operación simulada (OS) anestesiadas con cloralosa-uretano y utilizando la técnica de microdiálisis.

MATERIAL Y METODOS

Procedimiento experimental y técnica analítica

Se utilizaron ratas Wistar macho (250-350 g). La coartación aórtica se realizó según el método descrito por Rojo-Ortega y Genest (16) en ratas anestesiadas con hidrato de cloral (250 mg/kg, ip). La técnica consiste en la ligadura de la arteria aorta entre las dos arterias renales. A las ratas control se les practicó una operación simulada (OS). A los siete días de la operación correspondiente se realizaron los experimentos bajo anestesia con una mezcla de cloralosa (50 mg/kg, ip) y uretano (500 mg/kg, ip).

En nuestro laboratorio diseñamos una sonda de microdiálisis vascular de tipo *shunt* con una entrada y dos salidas vasculares. La entrada y una salida vascular de la sonda heparinizada (50 U/ml) se insertaron en la arteria carótida izquierda mientras que la salida remanente se conectó a un transductor de presión Statham Gould P231D acoplado a un polígrafo Grass 79D. La presión arterial media (PAM) se calculó según la fórmula: presión diastólica + (presión sistólica - presión diastólica)/3. La frecuencia

cardíaca (FC) se calculó por conteo de las ondas pulsátiles de la presión arterial.

La sonda *shunt* de microdiálisis vascular se perfundió con una solución compuesta de 147 mM NaCl, 2,4 mM CaCl_2 , 4 mM KCl, pH 7,3, mediante una bomba de perfusión a un flujo de 2 $\mu\text{l}/\text{min}$. Se recolectaron muestras con intervalos de 15 minutos en 10 μl HCl 0,01 N. Los niveles de metildopa se determinaron por cromatografía de alta presión acoplada a detección electroquímica (HPLC-EC) utilizando una columna SepStik ODS (BAS) 5- μm , C18, 100x1 mm y un detector electroquímico de carbón-vidrio. El electrodo de trabajo se fijó a 0,65 V respecto del electrodo de referencia Ag/AgCl. La composición de la fase móvil utilizada fue: 0,76 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0,5 mM EDTA, 1,2 mM ácido 1-octano sulfónico y 1% metanol; pH = 3,4.

Análisis farmacocinético

El análisis farmacocinético se realizó mediante la utilización del método de regresión no lineal. Se estudió el curso temporal de los niveles de metildopa en el dializado de sangre arterial (C_d) en función del tiempo luego de la administración de metildopa.

Para la estimación del parámetro farmacocinético tiempo de vida media ($t_{1/2}$), previamente se calculó la constante de velocidad de eliminación k_e ajustando los datos a un modelo monocompartimental acorde con la siguiente ecuación general:

$$C_d = \sum_{i=1}^n a_i e^{b_i \cdot t}$$

en la cual C_d es la concentración del fármaco en el dializado a tiempo "t", "n" es el número de términos exponenciales y a_i y b_i son los coeficientes y exponentes que se han de determinar. (17) Para cada animal se calculó un valor de k_e . El $t_{1/2}$ se calculó según la siguiente fórmula: (17)

$$t_{1/2} = 1n2/k_e$$

Estadística

Los datos se expresaron como media \pm error estándar de la media. Las comparaciones entre medias se realizaron con la prueba de la t de Student. (18) En el caso de comparaciones múltiples se utilizó la prueba de Bonferroni previa aplicación del análisis de la varianza de medidas repetidas. (18)

RESULTADOS

En las ratas conscientes con OS (n = 20) los basales de presión arterial media (PAM) y de frecuencia cardíaca (FC) fueron de $101,6 \pm 3,3$ mm Hg y de 357 ± 61 pm y en las ratas con CoA (n = 20) fueron de 162

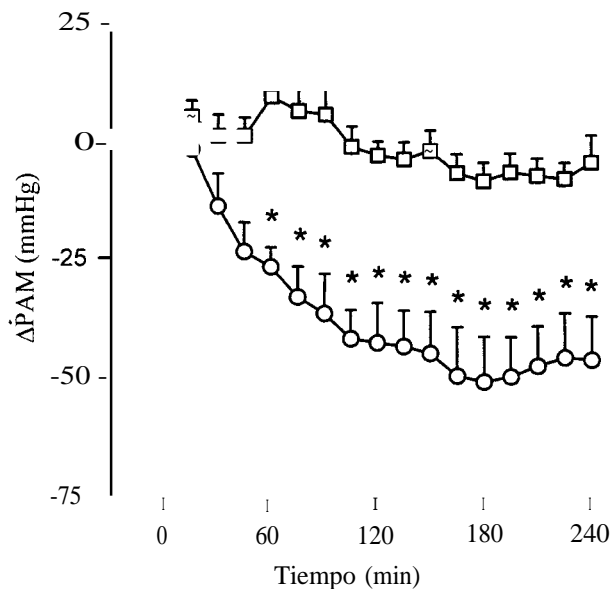


Fig. 1. Curso temporal de los cambios de la presión arterial media (APAM) luego de la administración ip de metildopa (50 mg/kg¹) en ratas con operación simulada (cuadrados) y en animales con coartación aórtica (círculos). Cada punto representa la media ± EEM de seis animales. * p < 0,05 versus ratas OS (prueba de Bonferroni).

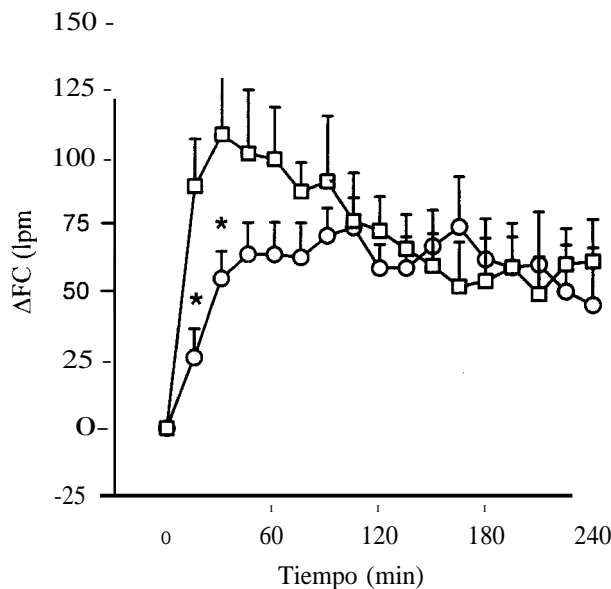


Fig. 2. Curso temporal de los cambios de la frecuencia cardíaca (AFC) luego de la administración ip de metildopa (50 mg/kg¹) en ratas con operación simulada (cuadrados) y en animales con coartación aórtica (círculos). Cada punto representa la media ± EEM de seis animales. * p < 0,05 versus ratas OS (prueba de Bonferroni).

± 5 mm Hg (p < 0,05) y de 384 ± 231 lpm. En las ratas anestesiadas, los basales de PAM y de FC fueron de 57 ± 1 mm Hg y de 342 ± 121 lpm (n = 16) en las ratas con OS y de 81 ± 4 mm Hg (p < 0,05) y de 365 ± 12 lpm (n = 16) en las ratas con CoA.

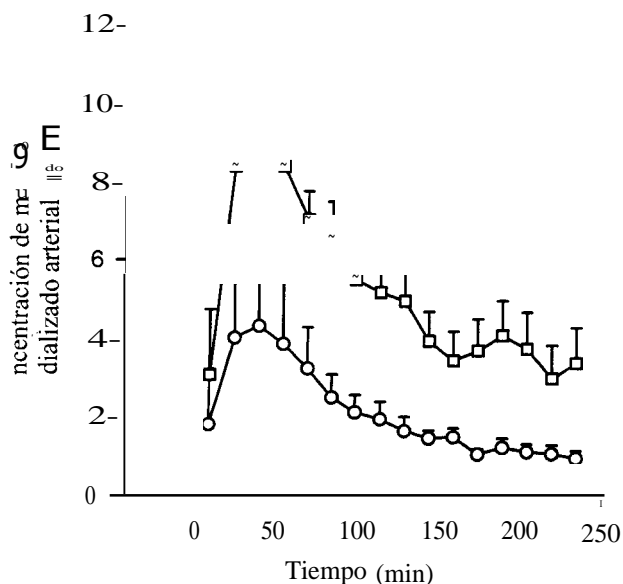


Fig. 3. Concentración de metildopa en los dializados arteriales obtenidos de ratas con operación simulada (cuadrados) y en animales con coartación aórtica (círculos). Cada curva muestra los valores promedio de la concentración de metildopa luego de la administración ip (50 mg/kg¹). Cada punto representa la media ± EEM de seis animales.

La Figura 1 muestra el curso temporal de los cambios de la PAM luego de la administración de una dosis única de metildopa (MD, 50 mg/kg⁻¹, ip) en las ratas con operación simulada (OS) y en los animales con coartación aórtica (CoA). La MD redujo la PAM de ambos grupos experimentales de animales. En las ratas con OS anestesiadas (n = 6), a los 180 minutos de administrada la droga, la caída de la PAM fue de -10 ± 4 mm Hg pero, en cambio, en las ratas con CoA (n = 6) fue de -51 ± 9 mm Hg (p < 0,05 versus ratas con OS).

La droga también produjo cambios de la FC (Figura 2). A los 30 minutos de la administración de la MD en las ratas con OS se observó la taquicardia máxima (iFC: 108 ± 22 lpm, n = 6). Por otra parte, en las ratas con CoA también se observó el efecto taquicardizante aunque en menor grado (OFC: 55 ± 101 lpm, n = 6, p < 0,05 versus ratas con OS).

Tabla 1
Parámetros farmacocinéticos de metildopa: C_m, (concentración máxima en el dializado), t_{mf}, (tiempo en que se alcanza C_{m3h}) y t_{1/2} (tiempo de semivida en los dializados) en ratas con operación simulada (OS) y animales con coartación aórtica (CoA)

	Ratas OS	Ratas CoA
C _m , (μg/ml)	8,8 ± 1,5	4,3 ± 1,7*
t.á. (min)	26 ± 5	24 ± 6
t _{1/2} (h)	3,7 ± 1,0	1,5 ± 0,3*

Los datos se expresan como media ± EEM de seis animales.
* p < 0,05 versus ratas OS (prueba de la t de Student).

La Figura 3 muestra los valores promedio de los grupos de ratas con OS y CoA de las concentraciones de MD en los dializados obtenidos por microdialisis arterial. Por otra parte, se hallaron diferencias en parámetros cinéticos (Tabla 1) como la concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$) y el tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de la MD. Sin embargo, el tiempo al que se alcanza la $C_{m\acute{a}x}$ o tiempo máximo ($t_{m\acute{a}x}$) fue igual para ambos grupos.

DISCUSION

En las ratas con coartación aórtica anestesiadas, la metildopa (50 mg/kg^{-1} , ip) indujo una disminución de la presión arterial media, acción ésta estadísticamente significativa. En un trabajo previo (19) se comunicó que esa misma dosis de metildopa indujo una acción depresora efectiva en las ratas con deservación sinoaórtica. La hipertensión arterial por coartación de la aorta abdominal se atribuye principalmente a la activación del sistema renina-angiotensina, a la vasopresina y a la homeostasis del sodio. (1-4) También participaría en este cuadro hipotensivo un compromiso del mecanismo barorreflejo cardiovascular de regulación central. (5, 6) En el presente trabajo, la hipertensión se observó en las ratas coartadas en estado consciente, pero en los animales anestesiados se obtuvieron valores normales de presión arterial media. Es sabido que la anestesia tiene influencia sobre los valores basales e incluso puede modificar los efectos de las drogas. (20) Por otra parte, es interesante señalar que las ratas con operación simulada anestesiadas mostraron valores de presión arterial por debajo de los que exhibieron los animales coartados.

Los resultados muestran una sensibilidad aumentada a la acción depresora de la metildopa luego de la coartación aórtica. La metildopa, un agente antihipertensivo de acción central, ejercería su efecto antihipertensivo a través de las acciones de la metilnoradrenalina en el sistema nervioso central, participando el barorreflejo cardiovascular en el mecanismo de acción de este agente. Por lo tanto, se podría sugerir un compromiso de los mecanismos centrales en el desarrollo de la hipertensión arterial en este modelo experimental y una supersensibilidad de adrenoceptores α .

La metildopa también mostró una acción taquicardizante en ambos grupos de ratas. Sin embargo, con esta dosis se observó una respuesta cardíaca menor en el grupo con CoA. Es probable que la taquicardia se deba a la transformación periférica de la droga en metilnoradrenalina, la cual ejerce un efecto cronotrópico positivo sobre los adrenoceptores β cardíacos similar al de la noradrenalina. (21) La diferencia en la respuesta cardíaca del grupo de las ratas con coartación aórtica podría deberse a una

sensibilidad menor de los adrenoceptores β cardíacos. Además, es bien conocido que la coartación aórtica también induce a la falla cardíaca.

Se observó que, luego de una sola dosis de metildopa, el curso temporal de la acumulación cerebral de metilnoradrenalina no se correlacionaría con la velocidad de desarrollo de la hipotensión, aunque la acumulación tendría correlación con la concentración de metildopamina. (15) Nuestros resultados indicarían una correlación entre los cambios de frecuencia cardíaca y el curso temporal de la concentración de la metildopa en los dializados arteriales del grupo de ratas con operación simulada.

La coartación aórtica produce cambios farmacocinéticos. Griffeth y colaboradores, (12) utilizando hexobarbital y zoxazolamina como modelos de drogas oxidadas por el citocromo P-450, hallaron una disminución de los niveles de citocromo P-450. Por otra parte, los pacientes con falla renal son más sensibles al efecto antihipertensivo de la metildopa, pero no se sabe si esto se debe a una alteración en la excreción de la droga o a un incremento del transporte al sistema nervioso central. (14)

En el presente trabajo, las muestras de dializado de sangre arterial de ratas con coartación aórtica mostraron una concentración máxima menor pero el $t_{m\acute{a}x}$ fue similar en los dos grupos experimentales. El $t_{1/2}$ calculado también fue menor en las ratas coartadas. De esta manera, los perfiles de eliminación de la metildopa para ambos grupos de animales serían diferentes y las ratas con coartación aórtica mostrarían una eliminación de la droga más rápida que el grupo con operación simulada. Este resultado podría sugerir que la coartación aórtica alteraría la biotransformación y/o la excreción de la metildopa.

Además, la metildopa alcanza distintas estructuras del sistema nervioso central con actividades neuronales diferentes. (22) Es bien sabido que en el modelo experimental de labilidad de presión arterial por deservación sinoaórtica estaría modificada la actividad catecolaminérgica en varias estructuras cerebrales y en la médula espinal (23-25) y es posible que en estructuras centrales la biotransformación de la metildopa estuviera acelerada. El comportamiento diferente de la metildopa visto en las ratas con coartación aórtica podría deberse entonces a una actividad aminérgica alterada.

En conclusión, se realizó una aproximación farmacocinética y farmacodinámica de la metildopa utilizando la técnica de microdialisis en ratas anestesiadas con coartación aórtica. Los estudios muestran que la coartación aórtica modifica el perfil de eliminación de la droga en la sangre arterial así como su perfil farmacodinámico. Por otra parte, se sugiere un posible compromiso adrenérgico del sistema nervioso central de estas ratas.

SUMMARY

KINETIC AND DYNAMIC APPROACHES TO METHYLDOPA ACTION IN RATAS WITH AORTIC COARCTATION

Methylodopa (MD) is an antihypertensive drug of central action. The aim of this work was to perform a kinetic-dynamic approach of MD in aortic coarctated (ACo) and sham operated (SO) rats employing the microdialysis technique. Animals were anesthetized with chlorates-urethane. A vascular shunt probe was inserted in the carotid artery. Thirty μ dialysates were collected every 15 minutes, and levels of MD were measured by HPLC-EC. Mean blood pressure (MBP) and heart rate (HR) were calculated from blood pressure recordings. In conscious SO rats ($n = 20$) basal MBP and HR were 102 ± 3 mm Hg and 357 ± 6 bpm respectively and in ACo animals ($n = 20$) basal values were 162 ± 5 mm Hg ($p < 0.05$) and 384 ± 23 bpm. In anesthetized rats, basal PAM and HR of SO animals ($n = 16$) were 57 ± 1 mm Hg and 342 ± 12 bpm respectively, and basal PAM and HR of ACo rats ($n = 16$) were 81 ± 4 mm Hg ($p < 0.05$) and 365 ± 12 bpm respectively. MD (50 mg/kg IP) induced a peak increase of HR in SO (AHR: 108 ± 22 bpm, $n = 6$) and in ACo rats (55 ± 10 bpm, $n = 6$, $p < 0.05$ versus SO rats). Moreover, MD also reduced the MBP of SO rats (-10 ± 4 mm Hg) and ACo animals (-51 ± 9 mm Hg, $p < 0.05$). The $t_{1/2}$ of MD in SO rats was 3.7 ± 1.0 hours with a maximum blood concentration, 8.8 ± 1.5 μ g/ml, at 26 minutes after the drug administration. In ACo rats, the $t_{1/2}$ of MD was 1.5 ± 0.3 hours ($p < 0.05$) and maximum blood concentration was 4.3 ± 1.7 μ g/ml ($p < 0.05$). In conclusion, the aortic coarctated rats were more sensitive to the cardiovascular action of methylodopa than control animals and showed altered drug kinetic parameters.

Key words: Aortic coarctation - Blood pressure - Heart rate - Methylodopa - Microdialysis - Pharmacodynamics - Pharmacokinetics - Shunt probe

Agradecimiento

Al Laboratorio Phoenix Argentina por la donación de la metildopa.

BIBLIOGRAFIA

- Bailie MD, Donoso VS, González NC. Role of the renin-angiotensin system in hypertension after coarctation of the aorta. *J Lab Clin Med* 1984; 4: 553-562.
- Salgado HC, Salgado MC. Acute aortic coarctation hypertension: Role of vasopressin and angiotensin II. *Am J Physiol* 1989; 7 (Pt 2): H1480-1484.
- Salgado HC, Fazan R Jr, Machado BH, Salgado MC. Mechanical and neuro-humoral factors in acute aortic coarctation hypertension. *Agents Actions Suppl* 1992; 36: 152-163.
- Salgado HC, Skelton MM, Salgado MC, Cowley AW Jr. Physiopathogenesis of acute aortic coarctation hypertension in conscious rats. *Hypertension* 1994; 1 (Suppl I): 78-81.
- Fazan R Jr, Machado BH, Salgado HC. Hemodynamic responses to acute aortic coarctation in conscious sinoaortic denervated rats. *Braz J Med Biol Res* 1997; 10: 1249-1255.
- Micheline LC, de Oliveira M, dos Santos M. Baroreceptor reflex control of heart rate during development of coarctation hypertension. *Hypertension* 1992; 2 (Suppl II): 159-163.
- Lipke DW, McCarthy KJ, Elton TS, Arcot SS, Oparil S, Couchman JR. Coarctation induces alterations in basement membranes in the cardiovascular system. *Hypertension* 1993; 5: 743-753.
- Lai FM, Tanikella T, Thibault L, Chan PS, Cervoni P. Effects of different stages of aortic coarctation hypertension on aortic contraction and relaxation in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1980; 214: 388-394.
- Bell DR. Vascular smooth muscle responses to endothelial autacoids in rats with chronic coarctation hypertension. *J Hypertens* 1993; 1: 65-74.
- Stanek KA, Coleman TG, Murphy WR. Overall hemodynamic pattern in coarctation of the abdominal aorta in conscious rats. *Hypertension* 1987; 6: 611-618.
- Goldstein BM, Lai FM, Herzlinger H, Cervoni P. Disposition of catecholamines in cardiovascular tissues of aorta coarcted hypertensive rats. *Life Sci* 1982; 31: 1633-1638.
- Griffith LK, Rosen GM, Rauckman EJ. Effects of model traumatic injury on hepatic drug metabolism in the rat. II. In vivo metabolism of hexobarbital and zoxazolamine. *Drug Metab Dispos* 1984; 12: 582-587.
- Niwa M, Kawano T, Fujita Y, Maemura S, Ozaki M. Hypotensive mechanism of a-methylodopa. *En: Yarnori Y y col (eds). Prophylactic approach to hypertensive disease.* New York, USA, Raven Press 1979; pp 337-345.
- Oates JA. Antihypertensive agents and the drug therapy of hypertension. *En: Hardman JG y col (eds). Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics (9a ed).* New York, USA, McGraw-Hill 1996; pp 781-808.
- Robertson D, Tung CH, Goldberg M, Hollister A, Gerkens J, Oates J. Antihypertensive metabolites of a-methylodopa. *Hypertension* 1984; 6 (Suppl II): 45-50.
- Rojo-Ortega JM, Genest J. A method for production of experimental hypertension in rats. *Can J Physiol Pharmacol* 1968; 46: 883-885.
- Gibaldi M, Perrier D. *Pharmacokinetics (2a ed).* New York, USA, Marcel Dekker Inc 1982.
- Brunning JL, Kintz BL. *Computational handbook of statistics (2a ed).* Glenview, Illinois, USA, Scott, Foresman and Company 1977.
- Taira CA, Celuch SM, Enero MA. Effects of acute and short-term treatment with antihypertensive drugs in sinoaortic denervated rats. *Gen Pharmacol* 1983; 14: 657-661.
- Claassen V. Anaesthesia. *En: Neglected factors in pharmacology and neuroscience research.* Amsterdam, Elsevier 1994; chapter 16, pp 382-421.
- Doxey f, Scutt A. Effect of a-methylodopa on sympathetic nerve function in the pithed rat. *Eur J Pharmacol* 1974; 29: 320-326.
- Hayashi T, Nakamura K. Cerebral acting maps of hydralazine, clonidine, and a-methylodopa in spontaneously hypertensive rats as demonstrated by the 14 C-deoxy-D-glucose method. *Japan J Pharmacol* 1982; 32: 855-865.
- Chalmers J, Petty M, Reid J. Participation of adrenergic and noradrenergic neurones in central connections of arterial baroreceptor reflexes in the rat. *Circ Res* 1979; 45: 516-522.
- Nakamura K, Nakamura K. Influence of sino-aortic baroreceptor denervation on catecholamines, catecholamine-synthesizing enzymes and choline acetyltransferase activity in the brainstem nuclei of the rat. *Japan J Pharmacol* 1981; 31: 95-105.
- Alexander N, Nakahara D, Ozaki N y col. Striatal dopamine release and metabolism in sinoaortic-denervated rats by in vivo microdialysis. *Am J Physiol* 1988; 254: R396-R399.