

## Desnervación sinoaórtica: su efecto sobre las vías colinérgicas centrales.

CARLOS A. TAIRA, AGUSTIN J. RAMIREZ, MARIA A. ENERO

Cátedra de Farmacología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. Instituto de Investigaciones Farmacológicas, CONICET

Dirección para separatas: Junín 956, 5º piso, (1113) Buenos Aires, Argentina

*La administración intracerebroventricular de neostigmina produce un incremento dosis-dependiente de la presión arterial. En el presente estudio se observó que esta acción fue significativamente mayor en los animales con desnervación sinoaórtica que en las ratas controles con operación simulada. La frecuencia cardíaca fue reducida por el anticolinesterásico sólo en los animales controles sin ser afectada en los animales desnervados. Este efecto bradicardizante sería de origen central y estaría mediado por el nervio vago. La administración directa en el sistema nervioso central del antagonista colinérgico metilatropina previno los efectos cardiovasculares tanto en los animales controles como en los desnervados. En conclusión, la desnervación sinoaórtica comprometería las vías colinérgicas centrales, aumentando su capacidad de respuesta ante la estimulación muscarínica. La bradicardia observada en los animales con operación simulada parecería ser de origen reflejo, no pudiéndose, sin embargo, descartar la posibilidad de una acción directa, debido al incremento de acetilcolina inducido por el anticolinesterásico.*

Numerosos estudios han demostrado el papel de las vías centrales catecolaminérgicas y serotoninérgicas en el control de la presión arterial, así como su participación en diferentes modelos experimentales de hipertensión arterial (para revisión ver: Chalmer y West, 1983; Brody y colaboradores, 1984).

Con respecto al sistema colinérgico central, éste también participaría en el control de la presión arterial (Brezenoff y Giuliano, 1982), así como en la patogénesis de la hipertensión obtenida en diferentes modelos experimentales, por ejemplo en las ratas espontáneamente hipertensas (Kubo y Tsumi, 1979; Buccafusco y Spector, 1980; Caputi y colaboradores, 1980a; Helke y colaboradores, 1980; Brezenoff, 1984) o DOCA-Sal (Brezenoff, 1984).

En el presente trabajo se encaró, a través de la administración directa a nivel del sistema nervioso central de fármacos colinérgicos, el estudio de esa alteración colinérgica inducida por la desnervación sinoaórtica.

### MATERIAL Y METODO

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar (200-250 g). La desnervación sinoaórtica (DSA) se efectuó en los animales según la técnica descrita por Krieger (1964), anestesiando a las ratas con hidrato cloral (250 mg/kg/l, ip), e infiltrando la zona cervical en su parte ventral con lidocaína al 0,1% (Chalmers y colaboradores, 1979) para efectuar la operación. La eficacia de la desnervación fue confirmada por la ausencia de bradicardia luego de la administración iv de 4 µg/kg/l de fenilefrina (Chalmers y colaboradores, 1979; Norman Jr y colaboradores, 1981) (Tabla 1).

Como animales controles se utilizaron ratas con operación simulada (sham). Los animales fueron utilizados para los experimentos a los 7 días de la operación correspondiente.

Cinco días después de la DSA o de la operación sham, y 48 horas antes del estudio experimental, siguiendo la técnica descrita por Packard y colaboradores (1984), se les implantó a las ratas una cánula guía para la administración icv de drogas.

Tabla 1  
Valoración de la desnervación sinoaórtica

	N	PAM	FC	$\Delta FC/\Delta PAM$
SHAM	7	47,0 ± 2,7	-95 ± 13	2,06 ± 0,32
SAD	9	49,1 ± 4,3	-12 ± 7*	0,23 ± 0,14*

Bradicardia obtenida en respuesta al incremento de PAM inducido por la administración de fenilefrina (4 µg/kg iv), y la relación entre ambos parámetros en ratas controles (sham) y desnervadas (DSA).  
\* = p < 0,02 con respecto a su control.

La cánula guía fue implantada estereotáxicamente en el techo del ventrículo lateral izquierdo: anterior: 5,8 mm; lateral: 1,5 mm; vertical: 3,5 mm (De Groot, 1959). Para la administración icv de drogas se utilizó una aguja inyectora que introducida dentro de la cánula guía sobresalía 1 mm por debajo de ésta, permitiendo la inyección de las drogas dentro del ventrículo lateral: anterior: 5,8 mm; lateral: 1,5 mm; vertical, 2,5 mm (De Groot, 1959).

Una hora antes de la implantación de la cánula guía, las ratas recibieron 100.000 U de penicilina G benzatínica.

Al finalizar cada experimento se administró por la vía icv 1  $\mu$ l de tinta china para verificar la correcta administración de las drogas. Cinco minutos después de la inyección se sacrificó a los animales, se les extrajo la masa encefálica y se verificó la presencia del colorante en los ventrículos cerebrales y acueducto de Silvio. Los datos experimentales de los animales cuyos cortes cerebrales mostraron una tinción deficiente o incorrecta no fueron incluidos en el estudio.

Luego de la colocación de la cánula guía se canuló la arteria femoral, para el registro de la presión arterial, y la vena femoral, para la administración iv de las drogas. Las cánulas fueron pasadas subcutáneamente y externalizadas por el dorso del animal, entre los dos homóplatos.

En el día del experimento el catéter arterial fue conectado a un transductor de presión arterial Statham P23 ID, acoplado a un polígrafo Grass 7C para el registro de la presión arterial.

Se calculó la presión arterial media (PAM) según la siguiente fórmula:  $PAM = (\text{presión sistólica} - \text{presión diastólica})/3 + \text{presión diastólica}$ .

La frecuencia cardíaca (FC) se calculó a partir del conteo por unidad de tiempo de los ciclos pulsátiles de la presión arterial.

La variabilidad se calculó como la desviación estándar promedio de las desviaciones estándar de cada período de lectura (1 hora como mínimo) de la presión arterial o frecuencia cardíaca (Cowley y colaboradores, 1973; Norman Jr y colaboradores, 1980-1981; Ramírez y colaboradores, 1985).

Las drogas utilizadas fueron: bromuro de neostigmina (Sigma), bromuro de metilatropina (Merck) y clorhidrato de fenilefrina (Sigma).

Cada una de ellas fue disuelta en solución fisiológica.

En la administración icv, el volumen de inyección fue de 0,5  $\mu$ l con una velocidad de inyección de 1  $\mu$ l por minuto, mientras que por la vía iv el volumen de inyección fue de 0,1 ml por cada 100 g de peso corporal.

Las dosis de las drogas están expresadas en función de la base libre.

Los resultados están indicados como la media con su respectivo error estándar. Las significancias estadísticas fueron calculadas mediante el test de "t" de Student (Snedecor y Cochran, 1980).

## RESULTADOS

A los siete días de la operación correspondiente, como muestra la Tabla 2, la presión arterial media (PAM) de las ratas con desnervación sinoaórtica fue similar a la de los animales con operación simulada (sham), así como lo fueron los valores de frecuencia cardíaca (FC) para ambas situaciones.

Sin embargo, se registró un incremento de la variabilidad de la presión arterial media en los animales con DSA (Tabla 2).

Por otra parte, la DSA no produjo cambios en los valores de FC, pero sí la ausencia de la respuesta bradicardizante refleja al aumento de la presión arterial inducido por fenilefrina (Tabla 1). Esto verificó la eficiencia de la DSA.

La administración icv de la neostigmina (Neo) produjo un incremento de la PAM tanto en las ratas controles sham como en las desnervadas.

Los máximos aumentos de la PAM se alcanzaron aproximadamente a los 15 minutos de la inyección del anticolinesterásico. Sin embargo, los efectos presores a ese tiempo fueron mayores en las ratas con DSA que en las sham (Fig. 1). Los efectos presores de la Neo se mantuvieron durante toda la hora de registro.

Con respecto a la FC, la Neo indujo un decremento de la misma solamente en los animales sham (Fig. 1). El efecto bradicardizante del anticolinesterásico alcanzó el máximo aproximadamente a los 30 minutos de la inyección icv, manteniéndose hasta el final de la hora de registro.

Las ratas con la DSA no mostraron cambios significativos de la FC con las dosis de Neo utilizadas (Fig. 1).

Con el objeto de caracterizar la bradicardia producida por la administración icv de la Neo y su

**Tabla 2**  
Efecto de la DSA sobre los valores de PAM, FC y sus variabilidades

	N	PAM	Variab.	FC	Variab.
SHAM	10	107,8 $\pm$ 2,5	4,9 $\pm$ 0,7	379 $\pm$ 10	15,7 $\pm$ 1,5
SAD	7	107,9 $\pm$ 4,0	12,1 $\pm$ 1*	362 $\pm$ 18	16,6 $\pm$ 2,9

Efectos de la desnervación sinoaórtica sobre los valores de PAM, FC y sus respectivas variabilidades en relación a los animales con operación simulada (sham). \* = p < 0,005 con respecto al control.

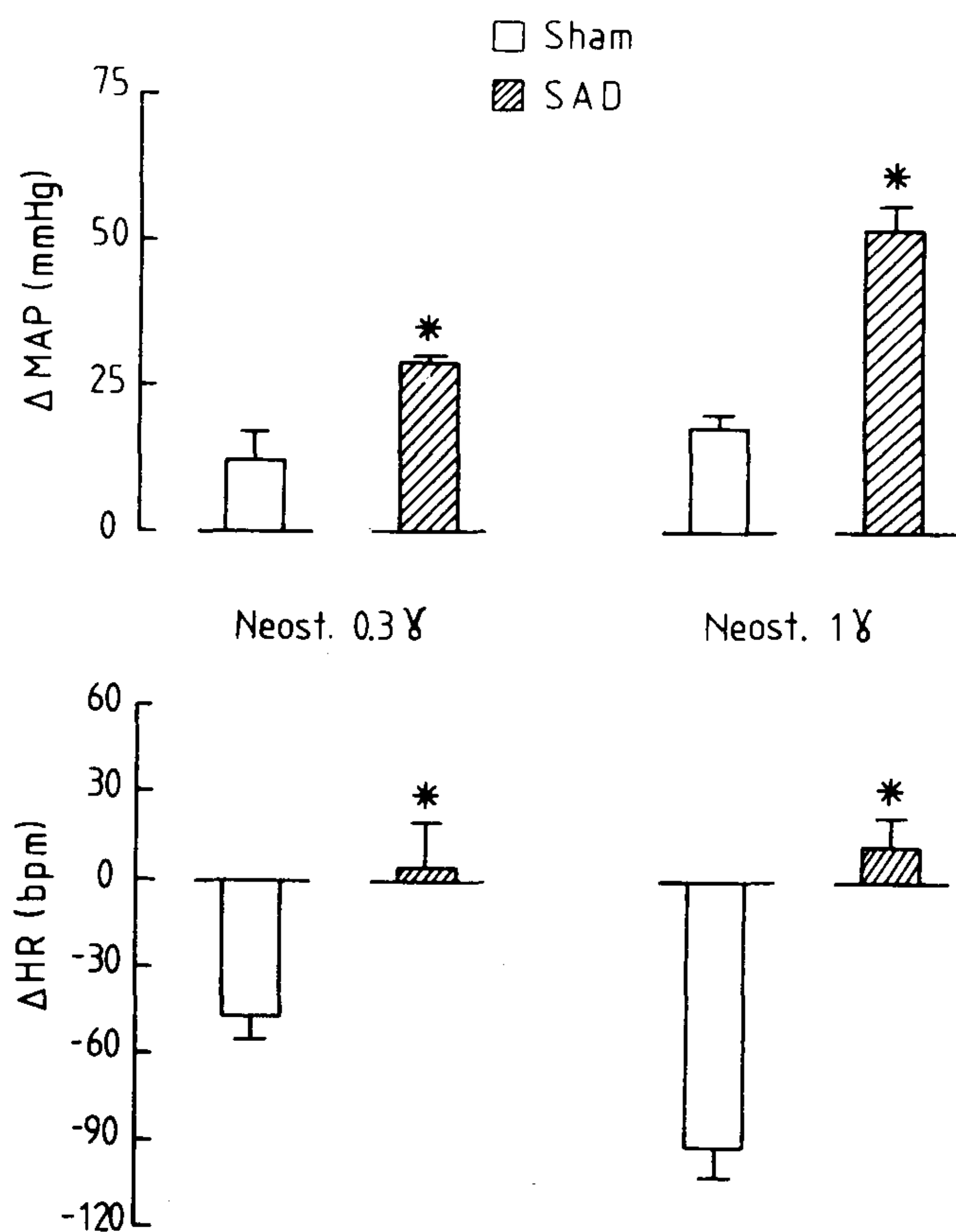


Fig. 1. Efectos de la administración icv de neostigmina. Cambios de PAM y de FC producidos por la administración icv de 0,3 y de 1 µg de neostigmina. Cada columna representa el promedio de 4 a 10 animales. \* =  $p < 0,025$  con respecto a los animales con la operación simulada.

influencia sobre la respuesta presora de esta droga, se administró a las ratas sham por la vía iv 0,3 mg/kg de metilatropina (MeA), 5 minutos antes de la inyección icv de 1 µg de Neo.

A los cinco minutos de inyectada la MeA se observó un incremento significativo de la FC ( $+ 99 \pm 8$  lpm;  $n = 4$ ;  $p < 0,005$ ) sobre el valor basal ( $338 \pm 18$  lpm) sin cambios significativos de la PAM (basal:  $102,5 \pm 4,9$  mmHg). El bloqueo muscarínico periférico previno totalmente la bradicardia pero no alteró la respuesta presora producida por la estimulación colinérgica central (Fig. 2).

Con el objeto de dilucidar si el bloqueo muscarínico central puede modificar las acciones cardiovasculares de la Neo, se decidió pretratar a los animales con la administración icv de 5 µg del antagonista muscarínico cuaternario metilatropina. La administración de la MeA fue realizada 15 minutos antes de la inyección icv de la Neo. Los valores basales de la PAM y de la FC de las ratas utilizadas no se modificaron con el bloqueante muscarínico.

El bloqueo muscarínico central previno el efecto presor de la neo (1 µg) en las ratas sham y en las

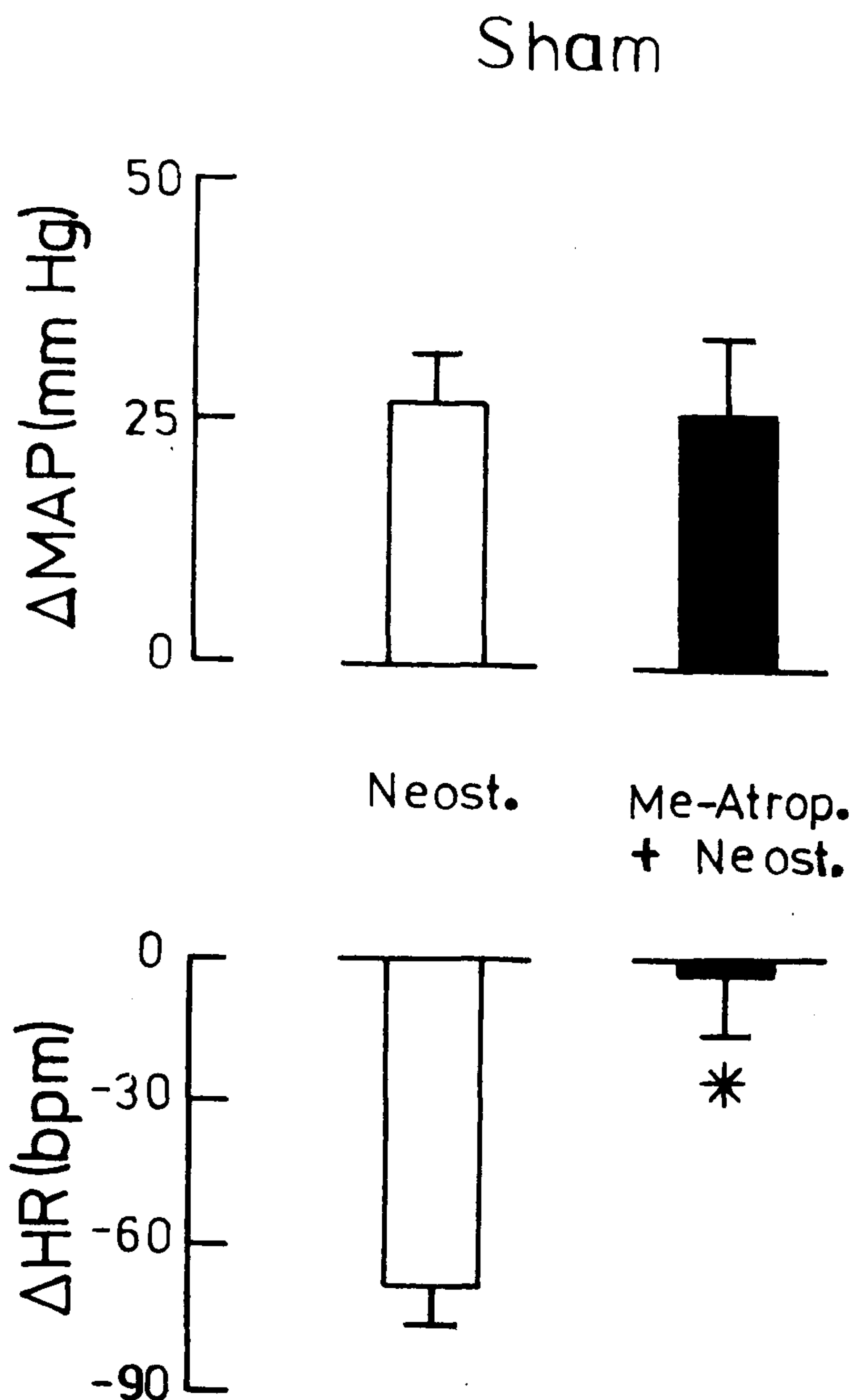


Fig. 2. Caracterización de la bradicardia inducida por la neostigmina en las ratas sham. Cambios de la PAM y de la FC producidos por la administración icv de 1 µg de neostigmina en las ratas con la operación simulada, antes y después de un pretratamiento con 0,3 mg/kg de metilatropina.  $N = 3$  animales. \* =  $p < 0,05$  con respecto al valor control.

desnervadas. De igual forma se previno la bradicardia inducida en los animales sham. No se observó ningún efecto sobre la FC de las ratas con DSA (Fig. 3).

## DISCUSION

Desde su descripción por Hering en 1921, el sistema de control reflejo de la presión arterial fue intensamente estudiado en relación a su funcionamiento en condiciones normales, así como también en relación con la hipertensión arterial, no sólo en los animales de experimentación sino también en humanos (Takeshita y colaboradores, 1975; Sleight, 1979; Ogawa y colaboradores, 1982; Toal

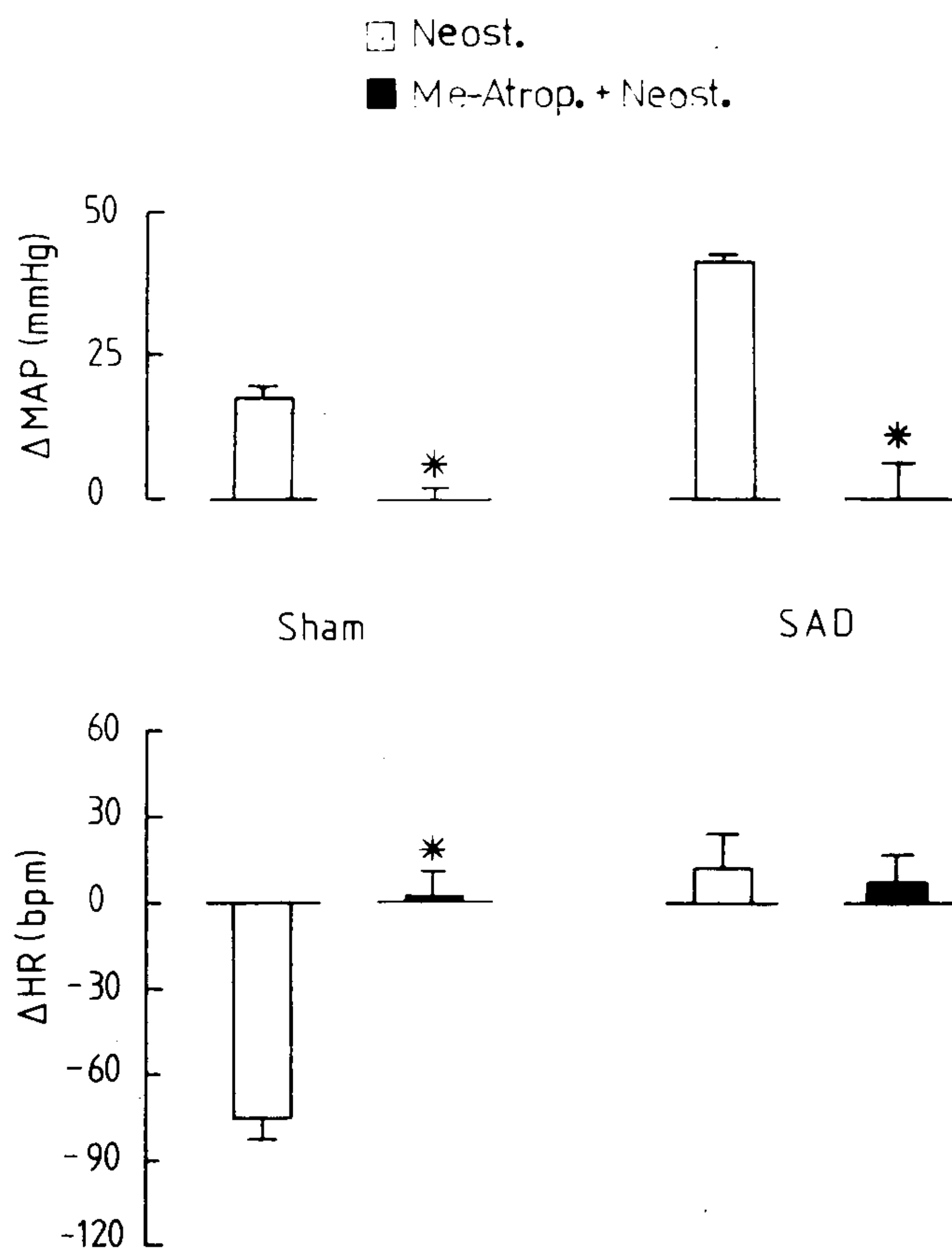


Fig. 3. Efecto del bloqueo muscarínico central sobre las acciones cardiovasculares de la neostigmina icv. Efectos cardiovasculares de 1  $\mu$ g de neostigmina administrada por la vía icv en los animales con la operación simulada (N=5) y con la denervación sinoaórtica (N=3), antes y después de un tratamiento mediante la inyección icv de 5  $\mu$ g de metilatropina. \* =  $p < 0,01$  con respecto al valor control.

y Sunahara, 1982; Machado y colaboradores, 1983; Mancia y Mark, 1983; Liesenberg y colaboradores, 1985).

En los animales con desnervación sinoaórtica (Krieger, 1964), los valores de la presión arterial no fueron significativamente diferentes de aquellos obtenidos en los animales con la operación simulada (sham), observándose sólo un incremento significativo de la variabilidad de la presión arterial. Estos resultados son coincidentes con aquellos previamente referidos en diferentes especies animales (Cowley y colaboradores, 1973; Normar Jr y colaboradores, 1980, 1981; Ramírez y colaboradores, 1985), así como en los individuos hipertensos (Mancia y colaboradores, 1985).

Luego de caracterizar el modelo experimental, analizaremos a continuación los resultados obtenidos al estudiar la participación del sistema colinérgico central en este modelo experimental de hipertensión arterial. En relación a ello, es sabido desde hace tiempo que, en animales intactos, la estimulación central del sistema colinérgico produce una

respuesta presora (Varagic, 1955; Philippu, 1981; Brezenoff y Giuliano, 1982). Los resultados publicados previamente por este grupo de trabajo (Taira y Enero, 1985) han demostrado que esta activación colinérgica central produce, en las ratas con desnervación sinoaórtica, una respuesta significativamente mayor que la obtenida en los animales con la operación simulada.

Los resultados que presentamos en este trabajo administrando neostigmina por la vía intracerebroventricular, ratifican el origen central del efecto presor en ambos grupos de estudio, descartando asimismo un componente de origen periférico en esta respuesta. Esto se basa en el hecho de que la neostigmina posee, a diferencia de la fisostigmina, un amonio cuaternario en su estructura química, lo cual limita su pasaje a través de la barrera hematoencefálica (Goodman y Gilman, 1957; Koelle, 1970).

En otros modelos experimentales de hipertensión arterial, como son las ratas espontáneamente hipertensas o aquellas de la cepa denominada Dahl sensible al sodio, la activación del sistema colinérgico a nivel del sistema nervioso central también produce una mayor respuesta presora al comparárselas con los animales controles normotensos (Kubo y Tatsumi, 1979; Buccafusco y Spector, 1980; McCaughan Jr y colaboradores, 1983).

Con ello queda evidenciado que, al igual que en otros modelos de hipertensión experimental, en el animal con la desnervación sinoaórtica el sistema colinérgico central estaría de alguna forma facilitado en su respuesta, sugiriendo su participación en el mantenimiento de este estado hipertensivo. Además, existen otras evidencias que apoyan este concepto:

1) La administración intracerebroventricular de hemicolinium-3, inhibidor de la captación neuronal de colina, produce un decremento de la presión arterial significativamente mayor en los animales espontáneamente hipertensos y en aquellos del modelo DOCA/sal que el obtenido en los animales normotensos (Brezenoff y Caputi, 1980; Buccafusco y Spector, 1980; Brezenorr, 1984).

2) En los animales de la cepa Dahl, sensibles al sodio, se observó que el número de receptores muscarínicos en el sistema nervioso central estaba aumentado (Edwards y colaboradores, 1983).

3) La actividad de la enzima de síntesis colinaacetiltransferasa en la corteza cerebral e hipotálamo era mayor que en los animales controles (Edwards y colaboradores, 1983).

Un punto interesante para la discusión es aquel relacionado con el efecto bradicardizante observado en nuestro grupo de animales con la operación

simulada y su ausencia en los animales con la desnervación sinoaórtica. Al respecto, es sabido que la administración icv de fármacos anticolinesterásicos produciría un decremento dosis-dependiente de la frecuencia cardíaca (Caputi y colaboradores, 1980b). Sin embargo, al efectuarse un repaso de la literatura podría concluirse que la estimulación colinérgica a nivel del sistema nervioso central produce efectos dispares sobre la frecuencia cardíaca. Esto se basa en el hecho de que la acción de los diversos fármacos colinomiméticos dependería del sitio de administración, de la dosis empleada e incluso, para algunos de ellos, del pretratamiento o no de los animales con anticolinesterásicos, obteniéndose como respuesta: a veces taquicardia, otras bradicardia o ningún efecto (Krstic, 1978; Hoffman y colaboradores, 1978; Buccafusco y Brezenoff, 1979; Criscione y colaboradores, 1983; Wu y Wei, 1983; Willette y colaboradores, 1984).

Nuestros resultados mostraron un decremento significativo de la frecuencia cardíaca en los animales intactos, lo cual coincide con los datos presentados por otros autores (Buccafusco y Brezenoff, 1979; Caputi y colaboradores, 1980b; Criscione y colaboradores, 1983). Sin embargo, su ausencia en los animales desnervados nos indujo a pensar en la posibilidad de que este efecto bradicardizante sea de origen reflejo. Según Brezenoff y Giuliano (1982) la bradicardia obtenida por la estimulación colinérgica central no sería una compensación refleja desencadenada por el aumento de la presión arterial, mientras que Caputi y colaboradores (1980b) sugieren que el efecto se iniciaría por una acción directa, estimulante colinérgica, y otra refleja, por el aumento de la presión arterial.

En nuestro caso, a través del bloqueo muscarínico periférico, el cual bloquea la respuesta bradicardizante, se intentó analogar en el animal con la operación simulada el efecto presor obtenido en el animal con la desnervación sinoaórtica. Las respuestas presoras obtenidas no difirieron significativamente de aquellas obtenidas en la condición control (sin metilatropina). Este dato, similar al obtenido por Nicoletta y colaboradores (1983), administrando por la vía icv angiotensina, o Hiwatari y Johnson (1985), con metoxamina administrada por la misma vía, muestran que no siempre la bradicardia evita un mayor incremento de la presión arterial. Por lo tanto consideramos que, de acuerdo a los datos previamente presentados (Brezenoff y Giuliano, 1982) y aquellos obtenidos por nosotros, el efecto bradicardizante estaría mediado por un aumento de la actividad vagal. Por otro lado, pensamos que su ausencia en los animales con la des-

nervación sinoaórtica, en los cuales el nervio no ha sido alterado, apoya el concepto de que esta respuesta sería de origen reflejo más que una acción directa, pues si no de alguna forma debería visualizarse. Es más, si tenemos en cuenta que el bloqueo muscarínico central previene no sólo el efecto presor, sino que aparentemente también el efecto bradicardizante, esto nos permite concluir que el efecto muscarínico central sería el hipertensor. Con respecto al efecto bradicardizante, se mantiene la posibilidad de que, una vez eliminado el aumento de la presión arterial, se prevendría el estímulo barorreflejo responsable de la respuesta bradicardizante en el animal intacto, mientras que en las ratas desnervadas, al no tener éstas el reflejo, la respuesta bradicardizante no se descargaría.

Por último, dado que la administración dentro del sistema nervioso central del bloqueante muscarínico metilatropina no alteró los valores basales de la presión arterial o de la frecuencia cardíaca, podemos concluir que aparentemente no habría un tono muscular central responsable de los valores de estos parámetros cardiovasculares. Sin embargo, no se puede ignorar las evidencias que muestran que el hemicolinio-3, así como el N-(4-diethylamino-2-butynyl)-succinimida (DKJ 24), bloqueante muscarínico, inyectados en el sistema nervioso central producen un decremento en los valores basales de la presión arterial y de la frecuencia cardíaca (Brezenoff y Caputi, 1980; Coram y Brezenoff, 1983).

En conclusión podemos decir que:

— La desnervación sinoaórtica comprometería las vías colinérgicas del sistema nervioso central, aumentando su capacidad de respuesta a su estimulación, al igual que lo observado en otros modelos de hipertensión arterial.

— A la luz de estos resultados no se puede inferir el sitio de acción o el/los núcleos involucrados en estos efectos cardiovasculares. Algunos autores sugieren al hipotálamo posterior (Buccafusco y Brezenoff, 1979; Brezenoff y colaboradores, 1982). También el área ventrolateral bulbar en su porción rostral parecería estar involucrada (Willette y colaboradores, 1984).

— La bradicardia observada parecería ser de origen reflejo, aunque no se puede descartar con nuestros resultados la posibilidad de una acción directa, como fuera propuesta por otros autores.

#### SUMMARY

*Different studies have supported the idea that the central cholinergic system is involved in the regulatory control of blood pressure. In accordance with these reports, previous results obtained*

*in our laboratory have shown that in the sinoaortic denervated rats (SAD) the central cholinergic system could be altered. This concept is supported by the fact that, when eserine was peripherally given, a higher pressor response was obtained in comparison with the hypertension induced in sham rats. Regarding cardiac activity a decreased vagal tone seems to be present in the SAD rats. In this way, the present study is carried-out to evaluate the cardiovascular effects on centrally given cholinergic drugs to conscious sham or SAD rats. Neostigmine intracerebroventricularly (icv) injected induced a dose-dependent increase in mean blood pressure. This effect was significantly greater in sinoaortic denervated animals, when compared with the increase induced in sham animals. On the contrary, while heart rate was only altered by neostigmine centrally injected in the sham operated rats (bradycardia), no effect was observed in the SAD animals. The muscarinic antagonist methylatropine icv injected 5 minutes before neostigmine prevented the cardiovascular effects above described. In conclusion, the results herein reported support the idea that in the SAD rats the cholinergic system is involved in a way that the central muscarinic hypertensive response is greater than the obtained in control animals. Regarding heart rate effects, the bradycardia observed is central in origin and vagally mediated. However, it is not clear if this decrease in heart rate is reflexly triggered by the increase in blood pressure or due to the acetylcholine increase induced in the sham animals by neostigmine.*

## BIBLIOGRAFIA

- Brezenoff HE: Cardiovascular regulation by brain acetylcholine. *Federation Proc* 43: 17-20, 1984.
- Brezenoff HE, Caputi AP: Intracerebroventricular injection of hemicholinium-3 lowers blood pressure in conscious spontaneously hypertensive rats but not in normotensive rats. *Life Sci* 26: 1037-1045, 1980.
- Brezenoff HE, Giuliano R: Cardiovascular control by cholinergic mechanisms in the central nervous system. *Ann Rev Pharm Tox* 22: 341-381, 1982.
- Brezenoff HE, Carner K, Buccafusco J: Potentiation of the carotid artery occlusion reflex by a cholinergic system in the posterior hypothalamic nucleus. *Life Sci* 30: 391-400, 1982.
- Brody MJ, O'Neilly TP, Porter JP: Role of central catecholaminergic systems in pathogenesis and treatment of hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 6: (Suppl 5): s727-s741, 1984.
- Buccafusco JJ, Spector S: Role of central cholinergic neurons in experimental hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 2: 347-355, 1980.
- Caputi AP, Camilleri BH, Brezenoff HE: Age-related hypotensive effect of atropine in unaesthetized spontaneously hypertensive rats. *European J Pharmacol* 66: 103-109, 1980a.
- Caputi AP, Rossi P, Carney K, Brezenoff HE: Modulatory effect of brain acetylcholine on reflex-induced bradycardia and tachycardia in conscious rats. *J Pharmacol Exp Ther* 215: 309-316, 1980b.
- Coram WM, Brezenoff HE: The antihypertensive effect of a selective central muscarinic cholinergic antagonist N-(4-diethylamino-2-butynyl)-succinimide. *Drug Dev Res* 3: 503-516, 1983.
- Cowley AW, Liard JP, Guyton AC: Role of the baroreceptor reflex in daily control of arterial blood pressure and other variables in the dog. *Circ Res* 32: 564-576, 1973.
- Crisciones L, Reis DJ, Talman WT: Cholinergic mechanisms in the nucleus tractus solitarius and cardiovascular regulation in the rat. *European J Pharmacol* 88: 47-55, 1983.
- Chalmers JP, West MJ: The nervous system in the pathogenesis of essential hypertension. In: Robertson JIS (ed): *Handbook of Hypertension*, Vol I, pp 64-96. Elsevier Science Publishers BV, 1983.
- Chalmers JP, Petty MA, Reid JL: Participation of adrenergic and noradrenergic neurons in central connections of arterial baroreceptor reflexes in the rat. *Circ Res* 45: 516-522, 1979.
- De Groot J: The rat forebrain in stereotaxic coordinates. NV Noor-Hollandsche Uitgevers Maatschappij, Amsterdam, 1959.
- Edwards E, McCaughan Jr JA, Friedman R, McNally W, Schechter N: Cholinergic receptor site binding, choline acetyltransferase and acetylcholinesterase activity in the forebrain and brainstem of the Dahl rat model of essential hypertension. *Clin and Exper Hyper. Theory and Practice* A5: 1683-1702, 1983.
- Goodman LS, Gilman A: *Bases Farmacológicas de la Terapéutica* (2ª ed, trad cast). Unión Tipográfica Editorial Hispano Americana, México, 1957.
- Hiwatari M, Johnston CI: Involvement of vasopressin in the cardiovascular effects of intracerebroventricularly administered alpha<sub>1</sub>-adrenoceptor agonists in the conscious rat. *J Hypertens* 3: 613-620, 1985.
- Helke CJ, Muth EA, Jacobowitz DM: Changes in central cholinergic neurons in the spontaneously hypertensive rat. *Brain Res* 188: 425-436, 1980.
- Hering HE: Der Karotidruckversuch. *Mün Med Wschr* 70: 1287-1290, 1923.
- Hoffman WE, Schmid PG, Phillips MI: Central cholinergic and noradrenergic stimulation in spontaneously hypertensive rats. *J Pharmacol Exp Ther* 206: 644-651, 1978.
- Krieger EM: Neurogenic hypertension in the rat. *Circ Res* 15: 511-527, 1964.
- Krstic MK: Cardiovascular response to intracerebroventricular administration of acetylcholine in rats treated with physostigmine. *Neuropharmacology* 17: 1003-1008, 1978.
- Krstic MK: A further study of the cardiovascular responses to central administration of acetylcholine in rats. *Neuropharmacology* 21: 1151-1162, 1982.
- Koelle GB: Anticholinesterase agents. In: Goodman LS, Gilman A (eds): *The Pharmacological Basis of Therapeutics* (4th ed), pp 442-465. MacMillan Co, New York, 1970.
- Kubo T, Tatsumi M: Increased pressor responses to physostigmine in spontaneously hypertensive rats. *Naunyn-Schmiedeb Arch Pharmacol* 306: 81-83, 1979.
- Liesenberg E, Klaus D, Lederle RM, Leuke R, Pallapics V: Baroreflex sensitivity in borderline and chronic arterial hypertension. *J Hypertens* 3: 415, 1985 (abs).
- McCaughan Jr JA, Muphy D, Schechter N, Friedman R: Participation of the central cholinergic system in blood pressure regulation in the Dahl rat model of essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 5: 1005-1009, 1983.
- Machado B, Salgado MC, Krieger EM: Tachycardic responses during the development of renal hypertension. *Hypertension* 5 (Suppl V): 122-127, 1983.
- Mancia G, Mark A: Arterial baroreflexes in humans. In: Shepherd JT, Abboud NM (eds): *Handbook of Physiology*, Section 2, The Cardiovascular Systems IV, pp 755-793. American Physiological Society, Bethesda, 1983.
- Mancia G, Bertinieri B, Cavallazzi A, Di Rienzo M, Paratti G, Pomidossi G, Ramírez AJ, Zanchetti A: Mechanisms of blood pressure variability in man. *Clin and Exper. Theory and Practice* A7: 167-168, 1985.
- Nicoletta P, Pochiero M, Lost E, Caputi AP: Interaction between renin-angiotensin system and cholinergic system in brain. *Neuropharmacology* 22: 1269-1275, 1983.

- Norman Jr RA, Coleman TG, Dent AG: Continuous monitoring of arterial pressure indicates sinoaortic denervated rats are not hypertensive. *Hypertension* 3: 119-125, 1981.
- Philippu A: Involvement of cholinergic system of the brain in the central regulation of cardiovascular functions. *J Auton Pharmacol* 1: 321-330.
- Ogawa J, Takata S, Nomura G, Arai S, Ikeda T, Takabatake T, Hattori N: Effects of aging on the variability of arterial pressure in essential hypertensive patients. *Clin Sci* 63: 411s-414s, 1982.
- Packard K, Pohorecky LA, Brick J: A simple cannula for intraventricular drug administration in rodents. *J Neurosci Meth* 10: 139-143, 1984.
- Ramírez AJ, Bertinieri G, Belli L, Cavallazzi A, Di Rienzo M, Pedotti A, Mancia G: Reflex control of blood pressure and heart rate by arterial baroreceptors and cardiopulmonary receptors in the unanaesthetized cat. *J Hypertens* 3: 327-335.
- Sleight P: Reflex control of the heart. *Am J Cardiol* 44: 889-894, 1979.
- Snedecor GW, Cochran WG: *Statistical Methods* (7th ed). The Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Taira CA, Enero MA: Participation of cholinergic pathways in sinoaortic denervated rats. *Gen Pharmacol* 16: 145-148, 1985.
- Takeshita A, Tanaka S, Kuroiwa A, Nakamura M: Reduced baroreceptor sensitivity in borderline hypertension. *Circulation* 51: 738-742, 1975.
- Toal GB, Sunahara FA: Effects of central stimulation on reflex bradycardia in the spontaneously hypertensive rat. *Clin and Exper. Theory and Practice* 44: 393-410, 1982.
- Varagic V: The action of eserine on the blood pressure of the rat. *Br J Pharmacol* 10: 349-353, 1955.
- Willette RN, Punnen S, Krieger AJ, Sapru HN: Cardiovascular control by cholinergic mechanisms in the rostral ventrolateral medulla. *J Pharmacol Exp Ther* 231: 457-463, 1984.
- Wu YY, Wei ET: Mechanisms underlying the pressor responses to acute and chronic intracerebroventricular administration of carbachol in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 228: 354-363, 1983.