

El efecto de la adrenalina sobre el consumo de alimento y la expresión de C-fos en el sistema nervioso central

Ilie S Racotta,* Denis Richard,** Manuel Jesús Piñón-López* y Naceur Naimi**

Resumen

La administración intraportal o intraperitoneal (IP) de adrenalina (A) produce hipofagia en la rata, mientras que la inyección intravenosa o intramuscular (IM) no lo hace. Se ha sugerido que la A actúa a nivel hepático para controlar la ingesta de alimento por medio de aferencias vagales hacia el cerebro. En el presente trabajo se utilizó la expresión del gene C-fos como índice de actividad neuronal y se compararon los efectos respectivos de la A IP e IM sobre la ingesta y la activación de áreas del cerebro que reciben información vagal aferente. Ratas Wistar machos fueron inyectadas con solución salina o A (100 µg/Kg) por vía IP o IM. En un primer experimento, se determinó el consumo de alimento. En un segundo experimento, se analizó inmunohistoquímicamente la expresión de c-fos en diversas áreas del cerebro. La A IP redujo el consumo de alimento en un 75% ($p < 0.01$) mientras que la A IM no tuvo efecto alguno. Los resultados de la expresión de c-fos indican que aquellas regiones del núcleo del tracto solitario/área postrema que reciben aferencias gastrointestinales y hepáticas son activadas de manera específica por la administración IP de A. Esto concuerda con la posibilidad de que su efecto hipofágico implique aferencias vagales, posiblemente de origen hepático. Sin embargo, algunos niveles superiores de integración, como los núcleos parabraquial y paraventricular no parecen estar involucrados, o lo están de manera inespecífica.

Palabras clave: adrenalina, aferencias vagales, C-fos sistema nervioso central.

Summary

Intraperitoneal (IP) or intraportal epinephrine (E) administration produces strong hypophagia in rats whereas intravenous or intramuscular (IM) injection does not. These results suggest that E acts on liver to control food intake through vagal afferents to the brain. In the present work, immediate-early gene c-fos expression was used as an index of neuronal activity, comparing the respective effects of IP and IM E on food intake and on activation of brain areas that receive vagal information. Male Wistar rats were IP or IM injected with saline or E (100 µg/kg). In a first experiment, food intake was measured. In a second experiment, c-fos expression in different brain areas was assessed immunohistochemically. IP E administration reduced food intake by 75% ($p < 0.01$) whereas IM E had no effect. C-fos expression results showed that those solitary tract nucleus/area postrema regions receiving gastrointestinal and hepatic vagal afferents were specifically activated by IP E administration. These results support the possibility that E decreases food intake through a hepatic action involving vagal sensory neurons. However, higher integration levels of vagal information, such as lateral parabrachial nucleus or paraventricular nucleus, do not seem to be implicated in IP E effect on food intake.

Key words: epinephrine, vagal afferents, C-fos, central nervous system.

* Depto. de Fisiología, Esc. Nat. Cienc. Biol., IPN, México

** Dept. Physiologie, Fac. Médecine, Université Laval, Canada

I. S. Racotta es becario de COFAA-IPN y M. J. Piñón-López es becario de Conacyt y de PIFI-IPN. El presente trabajo fue realizado en el Dept. de Physiologie de la Universidad Laval, Quebec, Canada y en el Depto. de Fisiología de la ENCB, IPN.

Introducción

Para la localización de las vías nerviosas específicas involucradas en diversas respuestas, se han utilizado métodos basados en el registro de la actividad eléctrica y/o metabólica de las neuronas.¹ En años recientes, mediante la inmunolocalización de las proteínas expresadas por ciertos proto-oncogenes, en particular el C-fos, se ha podido confirmar o corregir los hallazgos previos, permitiendo realizar un mapeo funcional con bases morfológicas.²

El proto-oncogene C-fos pertenece a una familia de genes que se conocen como genes de expresión temprana, ya que se activan rápida y transitoriamente con la estimulación extracelular. Se ha propuesto que estos genes forman parte de una cascada de sucesos que acoplan las señales extracelulares con la regulación de la expresión genética.³

El proto-oncogene C-fos es un componente normal del genoma celular, que usualmente se expresa a tasas muy bajas, pero su expresión es aumentada por una variedad de estímulos, dependiendo del tipo celular.⁴ La transcripción se inicia durante los primeros 5-10 min después de aplicado el estímulo y la proteína Fos es detectable después de 30-45 min, alcanza un máximo a los 60-90 min y persiste por 2-5 horas.¹

En particular, en las células nerviosas el gene C-fos se expresa cuando ocurre despolarización, por lo que su expresión constituye un buen índice de la actividad de las neuronas en el sistema nervioso central (SNC). Mediante técnicas de localización inmunoenzimática de la proteína Fos, es posible analizar cualitativa, e inclusive cuantitativamente, la actividad neural dentro del SNC en respuesta a estímulos específicos.

Entre otros, la expresión de C-fos ha sido empleada para investigar los mecanismos neuroendócrinos implicados en el comportamiento alimentario. Muchos estudios han analizado la manifestación de C-fos en respuesta a tratamientos que modifican la ingesta a través de un efecto central⁵⁻⁷ o periférico.⁷⁻¹¹ Está demostrado que las sustancias que modifican la ingesta actuando a nivel periférico, tienen sus efectos en el tracto gastrointestinal o en el hígado, de donde la información es transmitida al SNC por fibras aferentes

del nervio vago.^{9, 12-15} Se tiene bien caracterizado que la información vagal aferente llega, en primera instancia, a nivel del núcleo del tracto solitario (NTS)/área postrema (AP), regiones que constituyen el primer nivel de procesamiento o integración de esa información.¹⁵⁻¹⁷ De esta manera, hay expresión de C-fos en estas áreas en respuesta a la ingestión de alimento,¹⁸⁻²⁰ así como a la administración de sustancias que modifican la ingesta de alimento y cuyo efecto es atribuido a la activación de mecanismos normales de hambre/saciadad.^{7-11, 18} La administración intraportal o intraperitoneal (IP) de adrenalina (A) produce una marcada hipofagia en animales ayunados, mientras que la inyección intramuscular (IM) o intravenosa de A, en las mismas condiciones experimentales, no afecta el consumo de alimento.^{12, 21} A partir de estos resultados, se ha sugerido que la A actúa a nivel del metabolismo hepático y genera una señal de saciedad que es transmitida al SNC mediante aferencias vagales.^{12, 22} Sin embargo, hasta la fecha no se han estudiado los efectos de la A IP o IM sobre la actividad de las áreas del SNC que participan en el control de la ingestión de alimento (hambre y saciedad) y que reciben la información vagal aferente.

En el presente trabajo se compararon los efectos respectivos de la A IP e IM sobre la ingestión de alimento y la expresión de C-fos en el SNC, particularmente en áreas que, de manera general, se sabe que reciben y/o integran la información vagal aferente, como son el NTS/AP y el núcleo motor dorsal del vago (DMN) a nivel bulbar, el núcleo parabraquial (PBN) en mesencéfalo y el núcleo paraventricular (PVN) en hipotálamo.

Material y métodos

Experimento 1

Se trabajó con 40 ratas Wistar macho de 200 a 250 g de peso corporal, alojadas en jaulas individuales, en cámaras con control de luz-oscuridad (luz de 9:00-21:00) y temperatura ($23 \pm 1^\circ\text{C}$), con agua y alimento *ad libitum*. El día de experimentación, los animales estaban en un ayuno previo de 16 horas y se dividieron en 4 grupos, de 10 ratas cada uno, que recibieron solución salina (S: NaCl

0.9%) o A (100 µg/kg) cada una de ellas por vía IP o IM. Después de la inyección, se ofreció comida normal (Purina para roedores) y se midió el consumo de alimento a los 30 minutos. Los resultados obtenidos se expresan como media y error estándar y fueron analizados estadísticamente por ANOVA bifactorial (vía de administración x sustancia inyectada) con posterior comparación de medias por la prueba de Newman Keuls.

Experimento 2

Animales

Se trabajó con 10 ratas Wistar macho de aproximadamente 200 g de peso corporal, separadas de 2 en 2, en cajas de plexiglas en cámaras con control de luz-oscuridad (luz de 6:00 a 18:00 hrs.) y temperatura ($23 \pm 1^\circ \text{C}$), con agua y alimento (purina) *ad libitum*.

Tratamientos y obtención de muestras

El día de experimentación se inyectó S o A (100 µg/kg), cada una de ellas por vía IP o IM dando un total de 4 tratamientos: S IP (n=2), S IM (n=2), A IP (n=3) y A IM (n=3). Al cabo de 60 minutos, los animales fueron sacrificados con sobredosis de ketamina y, después de ligar la aorta inferior, fueron perfundidos por vía intracardiaca con solución salina helada, seguida de una solución de paraformaldehído al 4%, en amortiguador de fosfatos 0.2 M, dando un pH final de 7.6. Después de 20 minutos de perfusión se extrajeron los cerebros y se colocaron en el mismo fijador durante 2 horas; luego se transfirieron a una solución de sacarosa al 20%, en amortiguador de fosfatos 0.01 M a pH 7.2, en la cual se dejaron hasta el día siguiente. Los cerebros fueron montados en un microtomo de congelación (Histoslide 2000, Reichert-Jung), con el cual se obtuvieron cortes de 40 µm de espesor que fueron colocados en una solución crioprotectora constituida por etilenglicol al 30% y glicerol al 20% en amortiguador de fosfatos 0.05 M. Los cortes se guardaron a -40°C por un período de dos meses hasta efectuar la técnica inmunohistoquímica.

Marcaje inmunohistoquímico de la proteína Fos

Los cortes fueron incubados durante 20 minutos en una solución de suero de cabra (4%), albúmina sérica de bovino (1%) [fracción V, Sigma Chemical Co., St Louis, MO] y triton X-100 (0.4%) en amortiguador de fosfatos 0.05 M, después de lo cual fueron transferidos por 48 horas a 4°C en una solución idéntica que contiene anticuerpos policlonales IgG de conejo contra varios tipos de proteínas Fos y complejos Fos/Jun (dilución 1: 1,500) [Oncogene Science, NY]. Posteriormente, los cortes fueron sometidos durante 60 minutos a la acción de un segundo anticuerpo de cabra biotinilado anti-IgG de conejo (dilución 1: 1,500) [Vector Laboratories, CA], después de lo cual fueron incubados por 60 minutos en presencia de un complejo avidina-biotina-peroxidasa [Vectastain ABC Elite Kit, Vector Labs, CA]. El conjugado resultante, anticuerpo anti-Fos/peroxidasa, fue revelado con tetrahidrocloreto de 3,3'-diaminobenzidina como sustrato, y la señal se intensificó con sulfato de níquel.²³

Los cortes así marcados fueron montados en portaobjetos y teñidos mediante la técnica de rojo neutro.

Observación y análisis

En las preparaciones histológicas obtenidas se analizó la inmunoreactividad al Fos (i-Fos) con el microscopio óptico. El análisis se enfocó de manera particular al complejo dorsal del vago que comprende el NTS, el AP y el DMN, así como a otras áreas más rostrales como el PBN y el PVN.

Resultados

Experimento 1

La A administrada por vía IP redujo el consumo de alimento en un 75 % ($p < 0.01$) con respecto al consumo del grupo tratado con SIP (Figura 1). Por otra parte, la A inyectada por vía IM no tuvo tal efecto, ya que la ingesta fue similar a la del grupo que recibió S IM (Figura 1).

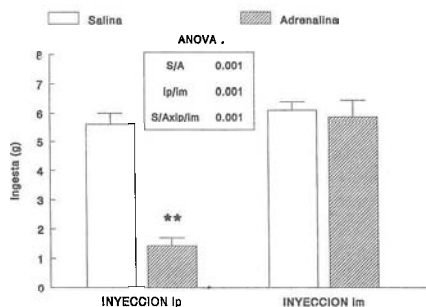


Figura 1. Consumo de alimento durante 30 minutos después de la administración IP o IM de 100 µg/kg de adrenalina o de solución salina. n = 10 para cada grupo. A partir del ANOVA bifactorial, se reportan los efectos globales de la solución inyectada (S/A), y de la vía de administración (IP/IM) así como de la interacción entre ambos factores (S/A x IP/IM). ** p < 0.01 vs Salina IP (prueba de Newman-Keuls).

Experimento 2

A nivel de NTS/AP, no hubo i-Fos en respuesta a la administración IP o IM de S (Figuras 2A y B) mientras que la inyección IP o IM de A sí produjo una marcada i-Fos en esa región (Figuras 2C, D, E y F). Sin embargo, la densidad (número de células marcadas/núcleo), fue mayor en caso de la A IP (Figuras 2C y D) que de la A IM (Figuras 2E y F).

En respuesta a la A IP, también se manifestó i-Fos en el NTS caudal al AP (Figura 3C); sin embargo, en las porciones rostrales al AP, la densidad de i-Fos en el NTS fue decreciendo hasta desaparecer (Figura 3A).

A nivel del DMN, cuya posición es adyacente a lo largo del NTS, la i-Fos fue inexistente en la mayoría de los casos (Figuras 2 y 3), con excepción del tratamiento con A IP en el cual se observó marcaje muy escaso (Figura 2D).

No hubo i-Fos, bajo ningún tratamiento, en el PBN localizado a nivel mesencefálico (resultados no mostrados).

En el PVN hipotalámico, la inyección de S produjo una ligera i-Fos únicamente cuando fue administrada por vía IP (Figura 4A) pero no por vía IM (Figura 4B). En contraste, se observó una elevada densidad de i-Fos en el PVN tanto en respuesta a la A IP (Figuras 5A, B y C) como IM

(Figura 5D). De manera general, la densidad fue mayor en la región parvocelular.

Los resultados anteriormente expuestos se resumen en el Cuadro I en el cual se indican las densidades relativas de la i-Fos en los distintos casos.

Cuadro I: Densidades (no. de células marcadas) relativas de la i-Fos en respuesta a los distintos tratamientos en las diferentes regiones analizadas.

Región	Tratamientos			
	Adrenalina		Salina	
	IP	IM	IP	IM
AP/NTS	+++	++	-	-
DMN	+	-	-	-
PBN	---	-	-	-
PVN	++++	++++	+	-

AP, área postrema; NTS, núcleo del tracto solitario; DMN, núcleo dorsa del vago; PBN, núcleo parabrachial; PVN, núcleo paraventricular.
Densidad de la i-Fos: - ausente, + leve, ++ moderada, +++ alta, ++++ muy alta.

Discusión

El efecto anorexizante de la A administrada por vía IP confirma una serie de trabajos previos en los cuales se ha sugerido que el efecto se produce a nivel hepático,^{12, 21} por medio de un cambio en el metabolismo que se traduce en una hiperpolarización del hepatocito y una subsecuente disminución de descargas vagales aferentes lo cual, a nivel de SNC, repercutiría en una inhibición de la ingesta.^{12, 22} Sin embargo, hasta la fecha no se ha establecido aún a qué nivel del SNC se integra el efecto periférico de la A para reducir el consumo de alimento. Gracias a la utilización de la expresión de C-fos como índice de actividad neuronal, el presente trabajo aporta los primeros resultados en este sentido.

Se tiene bien establecido que la región del NTS/AP recibe información relacionada con la ingestión de alimento a través de aferencias vagales de diversos orígenes (e.g. boca, faringe, esófago, estómago, intestino, hígado).^{16, 17} De esta manera, aquellos tratamientos o situaciones que producen i-Fos en esa región implican la participación de tales aferencias, hecho que se puede comprobar con la ausencia de i-Fos en respuesta a los mis-

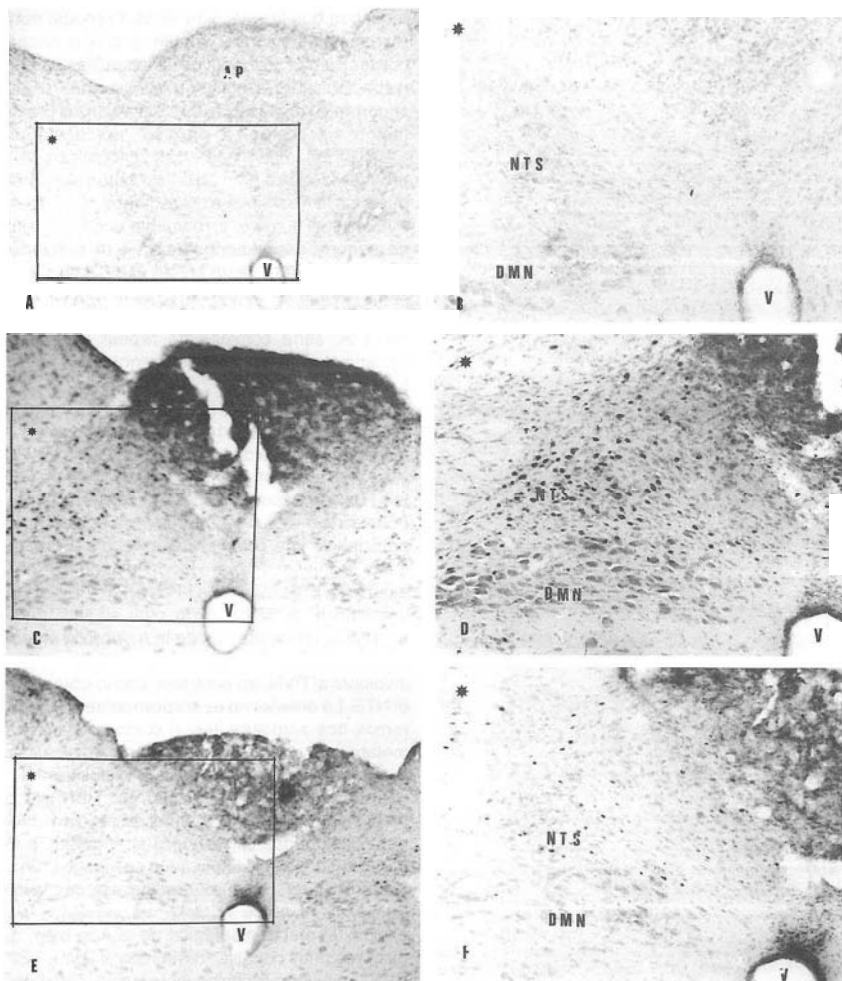


Figura 2. Fotomicrografías de la i-Fos de ratas tratadas con salina IM (páneles A y B), adrenalina IP (páneles C y D) y adrenalina IM (páneles E y F) a nivel de área postrema (AP), núcleo del tracto solitario (NTS) y núcleo dorsal de vago (DMN). Se muestran fotografías a un aumento de 12.5 X (parte izquierda), y 31.25 X (parte derecha). * no cae en las zonas amigdalas. V, parte terminal de V ventricular.

mos tratamientos en animales vagotomizados quirúrgica o químicamente.^{7,9-11} En este sentido, la

presencia de i-Fos en el NTS/AP en respuesta a la A IP concuerda con la hipótesis planteada acerca

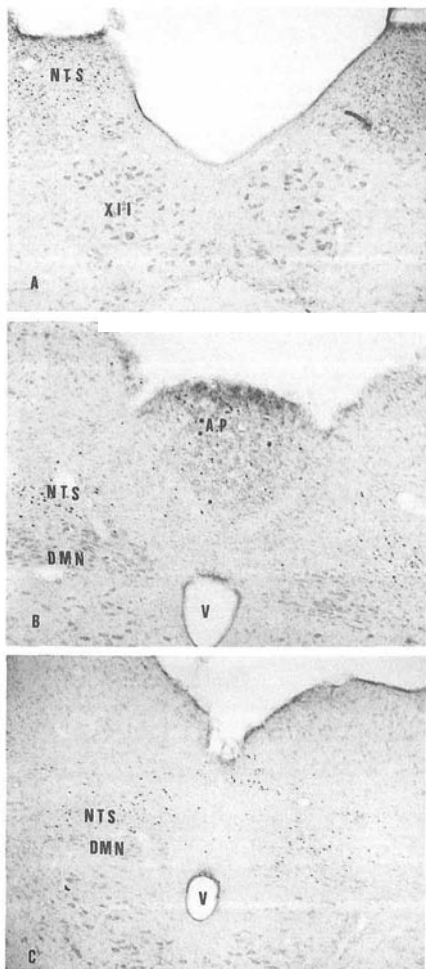


Figura 3. Fotomicrografías (12.5 X) de la i-Fos de ratas tratadas con adrenalina IP, en las cuales se muestra el NTS en las partes rostral (panel A) y caudal (panel C) al AP, así como al nivel del AP (panel B). XII: núcleo del nervio hipogloso, ver Figura 2 para las demás abreviaturas.

de un efecto visceral (probablemente hepático) de esta hormona a través del cual modificaría la ingesta.^{12, 22} Los resultados del presente trabajo

muestran que la inyección IP de A produjo mayor respuesta que la inyección IM, lo cual concuerda con los efectos respectivos de estas vías de administración sobre la ingestión de alimento.^{12, 21, 22} Es importante señalar que el NTS tiene una representación viscerotópica precisa: las aferencias gastrointestinales y hepáticas se localizan en los niveles caudales.^{16, 17} La i-Fos obtenida en respuesta a la A se limita a las regiones caudales del NTS, lo cual sugiere, en conjunto con la densidad de la marca dependiendo de la vía de administración, que se trata de un efecto específico y localizado. Con el fin de confirmar lo anterior y poder localizar de manera aún más específica el efecto de la A, sería conveniente repetir los mismos tratamientos en conjunto con vagotomías a distintos niveles.

A partir del NTS/AP, la información es integrada en distintos niveles del SNC, que implican de manera general la participación del DMN, del PBN y del PVN entre otros.²⁴ A nivel de DMN y de PBN, la i-Fos fue poco marcada o inexistente en respuesta a la A, lo cual indica que hay poca o ninguna participación de estas áreas en el efecto de la A sobre la ingesta. Por otro lado, no hubo diferencia alguna en la densidad de i-Fos en el PVN entre la inyección IP o IM de A, lo cual sugiere que la diferencia en los efectos de la A sobre la ingesta, dependiendo de la vía de administración, no involucra al PVN, en contraste con lo obtenido en el NTS. Lo anterior no es sorprendente si consideramos dos antecedentes: i) ciertos tratamientos metabólicos que modifican la ingestión de alimento parecen involucrar de manera exclusiva al NTS/AP, sin ninguna participación del PBN y/o del PVN,¹⁴ ii) el NTS/AP está especializado en funciones relacionadas con la ingesta, mientras que el PBN y el PVN están implicados en muchas funciones adicionales.²⁵ Lo anterior sugiere que la integración a nivel de NTS/AP es suficiente para explicar el efecto hipofágico de la A, o bien, que otras regiones del SNC, diferentes al DMN, PBN y PVN, participan en dicha integración. Sin embargo, no se descarta del todo la eventual participación del PVN, posibilidad apoyada por una mayor localización de la i-Fos en la región parvocelular del mismo, la cual tiene una reconocida participación en la ingestión de alimento, en contraste con la región magnocelular, cuyas neuronas se proyectan a la neurohipófisis.⁸ Al considerar que la S

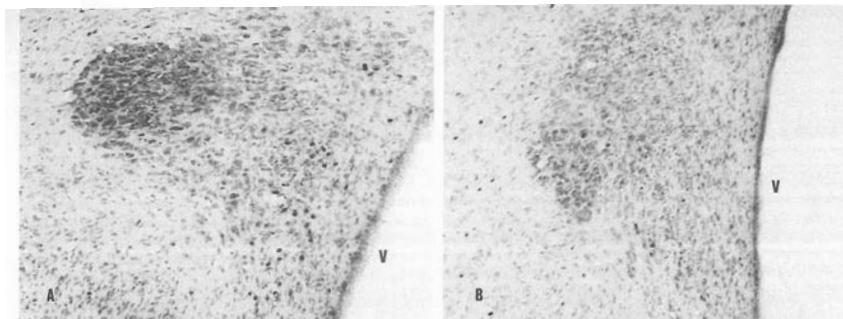


Figura 4. Fotomicrografías (31.25 X) de la I-Fos de ratas tratadas con salina IP (pánel A) o IM (pánel B), a nivel de núcleo paraventricular (PVN). V: tercer ventrículo.

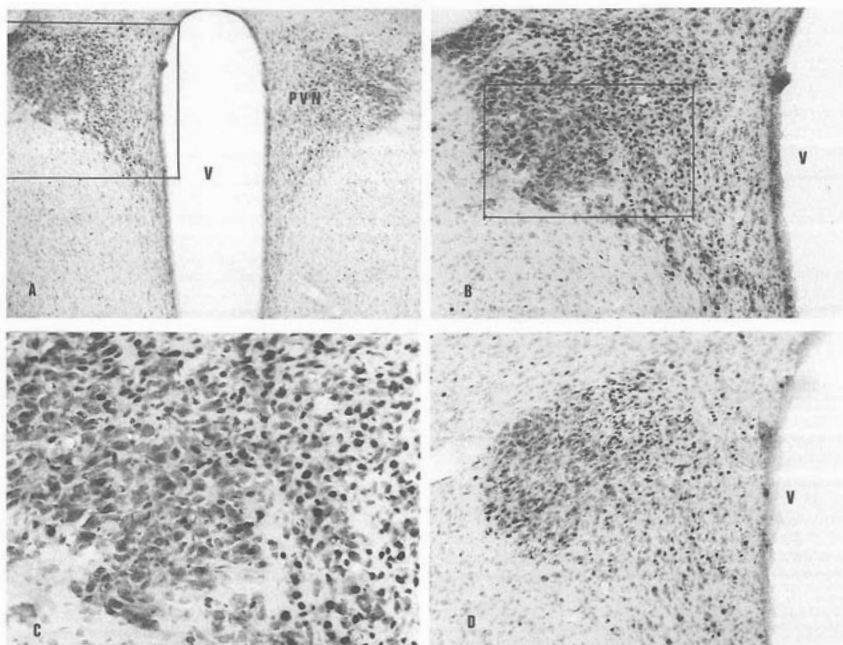


Figura 5. Fotomicrografías de la I-Fos de ratas tratadas con adrenalina IP (páneles A, B y C) o IM (pánel D), a nivel de PVN. Se muestran fotografías a un aumento de 12.5 X (A), 31.25 X (B y D) y 62.5 X (C). Ver Figura 4 para las abreviaturas

IP también produjo i-Fos en el PVN, se requeriría identificar el tipo de fibras que muestran i-Fos bajo cada tratamiento y establecer en qué medida participan éstas en la ingestión de alimento o en otras funciones que se integran en el PVN.

En resumen, los presentes resultados indican que el NTS/AP es activado de manera específica y localizada en respuesta a la administración IP de A. A su vez, esta observación concuerda con la posibilidad de que el efecto hipofágico de dicha hormona implique aferencias vagales, posiblemente de origen hepático. Sin embargo, algunos niveles superiores de integración de la información vagal, como el PBN y PVN, no parecen estar involucrados o lo están de manera inespecífica.

Agradecimientos

Con el apoyo económico otorgado por COFAA-IPN y el Banco de México, para realizar una estancia de investigación en la Universidad Laval, al doctor I. S. Racotta.

Al doctor Víctor Tsutsumi por todas las facilidades otorgadas para tomar las fotografías de los cortes histológicos y al doctor Guillermo Chambert por su cuidadosa revisión de este manuscrito.

Referencias

- Hoffman GE, Smith MS, Verbalis JG. C-fos and related immediate-early gene products as markers of activity in neuroendocrine systems. *Front Neuroendocrinol* 1993; 14:173.
- Sagar SM, Sharp FR, Curran T. Expression of c-fos protein in brain: metabolic mapping at the cellular level. *Science* 1988; 240:1328.
- Morgan JI, Curran T. Proto-oncogene transcription factors and epilepsy. *Trends Pharmacology* 1991; 12:343.
- Curran T. Fos and jun: oncogenic transcription factors. *Tohoku J Exp Med*. 1992; 168:169-174.
- Richard D, Rivest S, Rivier C. The 5-hydroxytryptamine agonist fenfluramine increases Fos-like immunoreactivity in the brain. *Brain Res* 1992; 594: 131.
- Olson BR, Freilino M, Hoffman GE, Stricker EM, Sved AF, Verbalis JG. C-fos expression in rat brain and brainstem nuclei in response to treatments that alter food intake and gastric motility. *Mol Cell Neurosci* 1993; 4: 93.
- Ritter S, Dinh TT. 2-mercaptoacetate and 2-deoxy-D-glucose induce Fos-like immunoreactivity in rat brain. *Brain Res* 1994; 641: 111.
- Olson BR, Hoffman GE, Sved AF, Stricker EM, Verbalis JG. Cholecystokinin induces c-fos expression in hypothalamic oxytocinergic neurons projecting to the dorsal vagal complex. *Brain Res* 1992; 569: 238.
- Ritter S, Dinh TT, Friedman M. Induction of Fos-like immunoreactivity (Fos-li) and stimulation of feeding by

anhydri-D-mannitol require the vagus nerve. *Brain Res* 1994; 646: 53.

- Fraser KA, Davison JS. Cholecystokinin-induced c-fos expression in the rat brainstem is influenced by vagal nerve integrity. *Exp Physiol* 1992; 77: 225.
- Bonaz B, DeGiorgio R, Taché Y. Peripheral bombesin induces C-fos protein in the rat brain. *Brain Res* 1993; 600: 353.
- Russek M. Current status of the hepatostatic theory of food intake control. *Appetite* 1981; 2: 137.
- Smith GP, Gibbs J. The satiety effect of cholecystokinin. Recent progress and current problems. *Ann NY Acad Sci* 1985; 448: 417.
- Ritter S, Calingasan NY, Hutton B, Dinh TT. Cooperation of vagal and central neural systems in monitoring metabolic events controlling feeding behavior. En: Ritter S, Ritter RC, Barnes CD, (eds). *Neuroanatomy and Physiology of Abdominal Vagal Afferents*. Boca Raton: CRC Press, 1992; 249.
- Chambert G, Kobashi M, Adachi A. Convergence of gastric and hepatic information in brain stem neurons of the rat. *Brain Res Bull* 1993; 32: 525.
- Altschuler SM, Rinaman L, Miselis RR. Viscerotopic representation of the alimentary tract in the dorsal and ventral vagal complex. En: Ritter S, Ritter RC, Barnes CD, (eds). *Neuroanatomy and Physiology of Abdominal Vagal Afferents*. Boca Raton: CRC Press, 1992; 21.
- Powley TL, Berthoud HR, Fox EA, Laughton W. The dorsal vagal complex forms a sensory-motor lattice: the circuitry of gastrointestinal reflexes. En: Ritter S, Ritter RC, Barnes CD, (eds). *Neuroanatomy and Physiology of Abdominal Vagal Afferents*. Boca Raton: CRC Press, 1992; 55.
- Fraser KA, Davison JS. Meal-induced c-fos expression in brain stem is not dependent on cholecystokinin release. *Am J Physiol* 1993; 265: R235.
- Fraser KA, Raizada E, Davison JS. Oral-pharyngeal-esophageal and gastric cues contribute to meal-induced c-fos expression. *Am J Physiol* 1995; 268: R223.
- Naimi N, Bovetto S, Rivest S, Richard D. Cephalic stimulation of the expression of the immediate-early gene C-fos within specific brain areas in the rat. *Soc Neurosci Abstr* 1994; 20:817.
- Rodríguez-Zendejas AM, Vega C, Soto-Mora LM, Russek M. Some effects of intraperitoneal glucose and of intraperitoneal glucose and adrenaline. *Physiol Behav* 1968; 3: 259.
- Russek M, Racotta R. Possible participation of oro-, gastro- and enteropathic reflexes in preabsorptive satiation. En: Kare MR, Brand JG, (eds). *Interaction of the Chemical Senses with Nutrition*. London: Academic Press, 1986; 374.
- Hancock MB. A serotonin-immunoreactive fiber system in the dorsal columns of the spinal cord. *Neurosci Lett* 1982; 31: 247.
- Leslie RA, Reynolds DJM, Lawes INC. Central connections of the nuclei of the vagus nerve. En: Ritter S, Ritter RC, Barnes CD, (eds). *Neuroanatomy and Physiology of Abdominal Vagal Afferents*. Boca Raton: CRC Press, 1992; 81.
- Swanson LW, Sawchenko PE. Paraventricular nucleus: a site for the integration of neuroendocrine and autonomic mechanisms. *Neuroendocrinol* 1980; 31:410.