Life Sciences 85 (2009) 408-411

Life Sciences

Página inicial de la publicación: www.elsevier.com/locate/lifescie

El efecto relajante del microtitanio mediante la regulación de la actividad nerviosa autónoma en ratones

Wataru Aoi [a,b,*], Yoshikazu Takanami [c], Yukari Kawai [c], Takeshi Otsuki [d], Toshiyuki Kawake [e], Yuji Naito [b], Toshikazu Yoshikawa [b,c]

a Laboratorio de Ciencias de la Salud, Escuela de Posgrado de Ciencias Ambientales y de la Vida, Kyoto Prefectural University, Shimogamo Hangi-cho 1-5, Sakyo-ku, Kyoto 606-8522, Japón
b Departamento de Gastroenterología y Hepatología, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kajii-cho 465, Kamigyo-ku, Kyoto 602-8566, Japón
c Departamento de Medicina Preventiva para las Ciencias de la Vida, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japón
d Facultad de Salud y Servicios para el Bienestar, Saint Catherine University, Matsuyama, Ehime 799-2496, Japón
e Phiten Co., Ltd., Tearaimizu-Cho 678, Nakagyo-ku, Kyoto 604-8152, Japón

Información acerca del artículo
Historia del artículo:
Recibido el 21 de enero de 2009
Aceptado el 17 de julio de 2009

Palabras clave:
Actividad espontánea
Nervios simpáticos
Nervios parasimpáticos
Noradrenalina
Variabilidad de la frecuencia cardíaca

Resumen

Objetivos: se ha demostrado que el microtitanio puede tener efectos sobre el sistema nervioso. En el presente estudio, examinamos el efecto del microtitanio en la actividad espontánea durante el período de sueño y al darse actividad nerviosa autónoma en ratones.
Métodos principales: se (utilizaron)cogieron ratones del Instituto de Investigación del Cáncer (ICR, por sus siglas en inglés) y se dividieron en dos grupos (grupo placebo y grupo con microtitanio) que se encontraban en unos habitáculos con láminas de goma impregnadas de microtitanio o láminas placebo. En ambos grupos se midió el movimiento activo espontáneo, los parámetros metabólicos y la variabilidad de la frecuencia cardíaca (HRV, por sus siglas en inglés).
Conclusiones clave: la actividad espontánea durante el período de luz disminuyó en los ratones que se encontraban rodeados de láminas con microtitanio en relación con los ratones rodeados de láminas placebo. Asimismo, el microtitanio redujo el nivel de noradrenalina urinaria. Se evaluó la variabilidad de la frecuencia cardíaca utilizando un sistema telemétrico y se calculó la actividad nerviosa autónoma. El análisis espectral de potencia de los datos del intervalo R–R reveló que la banda de alta frecuencia, que muestra la actividad parasimpática, aumentó considerablemente por el microtitanio, mientras que el ratio espectral de potencia entre la baja y la alta frecuencia disminuyó en aquellos ratones que se encontraban rodeados de láminas con microtitanio, en comparación con los ratones rodeados de láminas placebo.
Importancia: el microtitanio favoreció el descanso después del período de sueño regulando la actividad nerviosa autónoma, lo cual indica que el microtitanio tiene un efecto relajante.

© 2009 Elsevier Inc. Todos los derechos reservados.

Introducción

El titanio es uno de los elementos de transición y se utiliza como componente de varios materiales, como en las aleaciones de metales y en pinturas. En el campo médico, se utiliza para la fabricación de dispositivos implantables, debido a su alta biocompatibilidad. Además, el titanio cuenta con algunos efectos beneficiosos, como la actividad antiinflamatoria y antioxidante y el favorecimiento del aumento de las células nerviosas (Carballo-Vila et al. 2008; Overgaard et al. 1998; Sahlin et al. 2006; Suzuki et al. 2003). Asimismo, se ha sugerido que hay algún tipo de titanio procesado que puede influir en el sistema nervioso de los mamíferos, ya que se reduce el potencial de acción compuesto y la transducción de señales en el nervio ciático (Cehreli et al. 2003; Onur et al. 2004). En un estudio previo reciente (Korte 2008), se demostró que, aunque haya un espacio entre el metal y las neuronas, el tratamiento con microtitanio (partículas de titanio cuyo diámetro es de solo unas micras) reducía el potencial de la membrana en reposo y la tasa de disparo del potencial de acción de neuronas piramidales en rodajas del hipocampo del ratón. Dichos efectos del microtitanio en las neuronas piramidales podrían aliviar la sensación de dolor. Estas observaciones nos llevaron a la hipótesis de que el titanio procesado podría eliminar la excitabilidad neuronal, así como también podría regular el potencial de la membrana de otras neuronas, como las que se hallan en los nervios autónomos. El sistema nervioso autónomo es uno de los encargados principales de controlar el sistema cardiovascular (Julius y Johnson 1985; Kawashima 2005; Schultz et al. 2007), las funciones de los órganos internos (Kiba 2002; Tougas 1999) y la inmunidad (Bellinger et al. 2008; Nance and Sanders 2007). Por consiguiente, el trastorno prolongado del equilibrio entre la actividad simpática y parasimpática lleva a distintos desórdenes. El sistema nervioso autónomo está asimismo muy asociado a las emociones, la excitación y el estrés, y su actividad refleja el estado mental. El estrés mental induce a la elevación de la actividad de los nervios simpáticos (SNA, por sus siglas en inglés) y provoca excitación (Ziegler et al. 1993). Si el microtitanio pudiera eliminar la actividad de los nervios simpáticos, podría regular respuestas anormales, como las anormalidades cardiovasculares causadas por el estrés psicológico. Es decir, si el microtitanio induce la predominancia de la actividad parasimpática (PSNA, por sus siglas en inglés) en la actividad simpática, podría ejercer un efecto relajante. Para investigar esta hipótesis, estudiamos el efecto del microtitanio en el sistema nervioso autónomo y el estado emocional de los ratones. Al cambiarles el habitáculo, los ratones se alteran y se mueven activamente en sus jaulas, con lo que su tiempo de sueño se ve fuertemente reducido. Si tener a los ratones en una jaula con microtitanio redujera la actividad simpática, se podría reducir su alteración y se contribuiría a la prolongación del tiempo de sueño. Por ello, examinamos el efecto del titanio en un modelo de estrés psicológico múrido.

* Enviar o remitir la correspondencia al autor. Laboratorio de Ciencias de la Salud, Escuela de Posgrado de Ciencias Ambientales y de la Vida, Kyoto Prefectural University, Shimogamo Hangi-cho 1-5,
Sakyo-ku, Kyoto 606-8522, Japón. Tel.: +81 75 703 5417; fax: +81 75 703 5417.
Dirección de correo electrónico: waoi@koto.kpu-m.ac.jp (W. Aoi).

Life Sciences 85 (2009) 408–411
0024-3205/$ – Ver páginas previas © 2009 Elsevier Inc. Todos los derechos reservados.
doi:10.1016/j.lfs.2009.07.007

Materiales y métodos

Preparación de la lámina de goma con microtitanio

El microtitanio se produjo rompiendo titanio hasta alcanzar un diámetro medio de 26,7 µm (Phiten Co., Ltd. Kyoto, Japón). Posteriormente, se preparó una lámina de goma que contenía microtitanio en una concentración del 0,94% p/p, así como una lámina de goma sin microtitanio a modo de placebo, y éstas se engancharon a las paredes de las jaulas, por dentro y por fuera.

Los animales y el diseño experimental

Este estudio cumplió con todos los principios y normas del Japanese Council on Animal Care[1] y fue asimismo aprobado por el Committee for Animal Research[2] de la Kyoto Prefectural University (permiso N.º M19-42). Los ratones (de diez semanas de vida) del Institute of Cancer Research[3] (ICR) se obtuvieron de Shimizu Laboratory Supplies Co., Ltd. (Kyoto, Japón) y se aclimataron durante seis semanas en una sala con aire acondicionado (22 ± 2 °C) con un ciclo de luz/oscuridad de doce horas (las luces estuvieron encendidas de 07:30 a 19:30 horas). Utilizamos únicamente ratones macho, puesto que la actividad espontánea de las hembras se ve afectada por el ciclo menstrual. Los ratones se dividieron en dos grupos: un grupo de control y un grupo con microtitanio. En ambos grupos se midió el movimiento activo espontáneo, los parámetros metabólicos y la variabilidad de la frecuencia cardíaca (HRV, por sus siglas en inglés). Se evaluó a los ratones del grupo con microtitanio en jaulas con láminas de goma que contenían microtitanio, mientras que la evaluación de los ratones del grupo de control se realizó en jaulas con láminas de goma placebo. Además, para examinar el efecto del microtitanio, se expuso a los ratones a una lámina con microtitanio envuelta en aluminio. A las 7:30, se dispuso a los ratones en jaulas individualmente; se les permitió moverse libremente y tuvieron acceso a su comida habitual y a agua potable. Se comenzaron todas las evaluaciones a partir de las 19:30.

Determinación de la actividad espontánea y de la tasa metabólica

Se examinó la actividad espontánea de cada ratón tal y como se ha descrito (Shibakura et al. 2006) con múltiples lentes (Kyohritsu Electronic Industry Co.,Ltd., Osaka, Japón) que detectan la radiación infrarroja que emitieron los animales durante doce horas a partir de las 19:30. El movimiento activo se evaluó según un recuento unitario cuando el animal se movía de una zona del área de medición, que a nivel óptico estaba dividida por las lentes múltiples, a otra zona vecina. Los ratones eran sedentarios y no estuvieron sujetos a ningún tipo de ejercicio antes de realizar las mediciones. Los cómputos totales se calcularon mediante la suma de todos los recuentos durante un período de doce horas.

A su vez, se efectuó un análisis calorimétrico indirecto para evaluar la actividad metabólica en reposo. Se han descrito anteriormente (Aoi et al. 2008) los detalles de la medición calorimétrica indirecta de los ratones. Resumidamente, se midió el consumo

[1] Comité Japonés para el Cuidado de los Animales.
[2] Comité para la Investigación en Animales.
[3] Instituto para la Investigación del Cáncer.

de oxígeno y la producción de dióxido de carbono cada tres minutos durante doce horas mediante un analizador metabólico para animales pequeños (MK-5000R, Muromachi Kikai, Tokyo, Japón). A continuación, se calculó el cociente de intercambio respiratorio (RER, por sus siglas en inglés) a partir del nivel de consumo de oxígeno (VO2) y la producción de dióxido de carbono (VCO2).

Análisis de la HRV

Con tal de evaluar la actividad autónoma, realizamos un análisis espectral de potencia de la variabilidad de la frecuencia cardíaca (Lanfranchi y Somers 2002; Stein y Kleiger 1999). Se obtuvieron electrocardiogramas mediante el uso de un sistema telemétrico para ratones (Daiya Medical Co., Ltd., Tokio, Japón). Se implantó subcutáneamente un pequeño transmisor en el lomo de cada ratón (bajo los efectos de la anestesia) y, a cinco días del registro, se les insertaron electrodos subcutáneamente en la parte superior del pecho y en el abdomen. Se registró la frecuencia cardíaca (HR, por sus siglas en inglés) en los ratones que estuvieron despiertos de las 19:30 hasta las 20:30 en el ECG. Los datos del ECG se analizaron utilizando una conversión A/D y el espectro de potencia del intervalo R–R se calculó mediante el método de entropía máximo con software MemCalc (Suwa Trust Co. Ltd., Sapporo, Japón). Las bandas de frecuencia adoptadas para el análisis en ratones fueron una banda de baja frecuencia (LF, por sus siglas en inglés) de 0–0,75 Hz y una banda de alta frecuencia (HF, por sus siglas en inglés) de 0,75–2,4 Hz.

Nivel de noradrenalina urinario

Los ratones se alojaron en jaulas metabólicas con láminas de goma (con microtitanio o placebo) y se tomaron muestras de orina durante 24 horas para poder analizar el contenido de noradrenalina.

Estadísticas

Todos los datos presentan las medias ± el error estándar. Las diferencias entre grupos se evaluaron mediante las funciones ANOVA unidireccional o test t de Student. Si por ANOVA se indicaba una diferencia importante, se efectuaba el test de Fisher's PLSD para determinar la importancia de las diferencias entre los valores medios. En todos los análisis, se consideró que $p<0,05$ indicaba la importancia estadística.

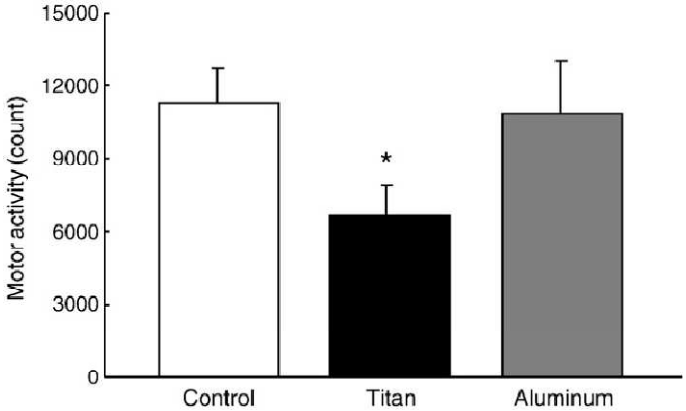
Resultados

La actividad espontánea y la calorimetría indirecta

Se midió la actividad espontánea y se realizó un análisis calorimétrico durante doce horas en el período de luz. La actividad espontánea pasadas doce horas se vio considerablemente reducida en el grupo con microtitanio comparado con el grupo de control (p=0,031) (Fig. 1). Sin embargo, no se encontró tal reducción cuando la lámina de titanio estaba envuelta en aluminio. El consumo de oxígeno medio no varió entre ambos grupos y el RER tampoco se vio alterado por el microtitanio (Tabla 1).

Análisis de la HRV

Se realizó el análisis de la HRV, que se midió a partir de intervalos R–R de latidos del corazón, durante la primera hora inicial después del movimiento



Línea vertical: Actividad motora (recuento)
Línea horizontal: Control Titanio Aluminio

Fig. 1. El movimiento activo espontáneo se evaluó durante el período de luz. El recuento motor se midió con múltiples lentes que detectaban la radiación infrarroja que emitían los animales. Asimismo se calculó el valor integrado durante doce horas para cada ratón. Los valores expresan la media ± el error estándar de ocho ratones. *Diferencias estadísticamente importantes a partir del control en el nivel de p<0,05.

Tabla 1
Rendimiento metabólico respiratorio.

	Control	Titanio
Consumo de oxígeno (ml/kg BW/min)	36,4±0,8	36,4±0,6
Cociente de intercambio respiratorio	0,88±0,04	0,91±0,03

La calorimetría indirecta se examinó durante el período de luz. El cociente de intercambio respiratorio se midió según el consumo de oxígeno y el agotamiento de dióxido de carbono. Se calculó el valor medio durante doce horas por cada ratón y los valores expresan la media ± el error estándar de ocho ratones.

para evitar el efecto del sueño en la actividad autónoma. Los valores por hora medios de HR, LF, HF y el ratio de potencia (LF/HF) se calcularon para cada ratón después de la implantación del transmisor y de los electrodos. La LF era más baja en el grupo con microtitanio que en el grupo placebo (Tabla 2). A pesar de que la potencia de LF no se vio modificada por el microtitanio, la potencia de HF aumentó considerablemente en los ratones expuestos al microtitanio (p=0,001) (Tabla 2). En los ratones que se encontraban con las láminas de microtitanio, la relación LF/HF también disminuyó en relación con la de los ratones con láminas placebo (p=0,017) (Tabla 2).

Noradrenalina urinaria

Para evaluar la actividad de los nervios simpáticos, el nivel de noradrenalina se midió en la orina recogida durante 24 horas. La noradrenalina urinaria era considerablemente más baja en el grupo con microtitanio comparado con el grupo placebo (p=0,035) (Fig. 2). No obstante, dicha disminución no se encontró cuando el titanio estaba envuelto en aluminio.

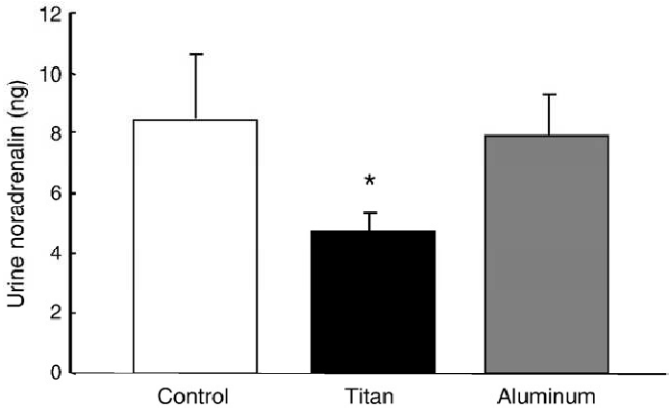
Discusión

Hemos examinado el efecto relajante en un modelo de estrés psicológico para ratones. Los ratones duermen durante las horas de luz del día, así que la actividad espontánea siempre se reduce durante este período. Por consiguiente, el incremento en la reducción del movimiento espontáneo percibido en el grupo con microtitanio durante este estudio debería darse a causa de la prolongación del período de sueño en el período de sueño y podría indicar un efecto relajante del microtitanio. Además, hemos evaluado el efecto del microtitanio en la actividad autónoma mediante el análisis espectral de la potencia de la HRV que, desde hace tiempo, se ha utilizado como un marcador no invasivo de la actividad autónoma (Ohnuki et al. 2001; Stein y Kleiger 1999). En este estudio se definió 0–0,75 Hz como el espectro de potencia de LF y 0,75– 2,4 Hz como el espectro de potencia de HF, de acuerdo con estudios anteriores en animales pequeños (Marusato et al. 1998; Waki et al. 2003). La actividad autónoma se ha evaluado a partir de una variabilidad R–R en estas frecuencias bajo distintas condiciones estresantes, tales como cambios en la inclinación, estrés mental y actividad física (Lanfranchi y Somers 2002; Terkelsen et al. 2005). La relación LF/HF, que refleja la actividad de los nervios simpáticos, se redujo en los ratones que se encontraban rodeados de láminas con microtitanio, en comparación con el nivel que presentaban los ratones con láminas placebo, junto con una elevación de la potencia de HF que refleja la PSNA. Asimismo, el nivel de noradrenalina se segrega principalmente gracias a los nervios simpáticos, con lo que una disminución de la noradrenalina urinaria corrobora que el microtitanio elimina la actividad simpática.

Tabla 2
Variabilidad de la frecuencia cardíaca.

	Control	Titanio
Frecuencia cardíaca (latidos/min)	652±7	634±6
LF (ms2)	1,74±0,14	1,65±0,15
HF (ms2)	2,83±0,16	3,77±0,18*
LF/HF	0,60±0,05	0,45±0,03*

La actividad nerviosa autónoma se determina por el análisis espectral de potencia. La frecuencia cardíaca se registró desde el electrocardiograma y se obtuvo por sistema telemétrico de las 19:30 a las 20:30 en ratones que estaban despiertos. Las bandas de frecuencia se adaptaron para el análisis en ratones: una banda de baja frecuencia (LF) de 0–0,75 Hz y una banda de alta frecuencia (HF) de 0,75–2,4 Hz. Se calculó el valor medio para una hora para cada ratón. Los valores expresan la media ± el error estándar de siete u ocho ratones. *Diferencias relevantes estadísticamente respecto al control en el nivel de p=<0,05.



Línea vertical: Noradrenalina urinaria (ng)
Línea horizontal: Control Titanio Aluminio

Fig. 2. Se midió el contenido de noradrenalina en la orina recogida durante 24 horas. Los valores expresan la media ± el error estándar de ocho ratones. *Diferencias relevantes estadísticamente respecto al control en el nivel de p<0,05.

Estas observaciones sugieren que el microtitanio podría eliminar la activación simpática generada en los ratones por un cambio de entorno y, consecuentemente, facilitar la relajación y la prolongación de las horas de sueño.

El mecanismo de acción del microtitanio no está claro, aunque uno de los factores importantes puede ser la influencia en el umbral de despolarización neuronal. Korte (2008) anunció que una cinta con titanio podría influenciar la plasticidad sináptica y que ésta reducía considerablemente la tasa de disparo de las neuronas piramidales individuales comparado con cinta de tipo placebo. En consecuencia, la regulación del potencial de la membrana gracias al microtitanio también puede darse en la actividad de los nervios simpáticos, tal y como se halló en el estudio anterior. Por otro lado, el potencial de HF (que indica la actividad parasimpática) era superior en los ratones que se encontraban rodeados de microtitanio respecto a los que tenían placebo a su alrededor. Los sistemas simpático y parasimpático pueden interactuar directamente el uno con el otro (Benthem et al. 2001; Berthoud y Neuhuber 2000; Smith et al. 2002; Vanhoutte y Levy 1980), de modo que el aumento aparente de la PANS puede haberse

dado en parte por una inhibición de la actividad de los nervios simpáticos. A pesar de la necesidad de realizar más estudios para determinar el mecanismo mediante el cual el microtitanio influencia el sistema nervioso autónomo en detalle, se considera posible que el efecto de modificación en el potencial de la membrana del nervio simpático alterase el equilibrio autónomo y favoreciera la prevalencia de la PANS por encima de la actividad de los nervios simpáticos en una situación de estrés emocional.

Hemos descubierto que no se daba una disminución de la actividad de los nervios simpáticos ni de noradrenalina cuando los ratones estaban expuestos a las láminas de microtitanio envueltas en aluminio. Asimismo, en un estudio anterior (Korte 2008) se demostró que se bloqueaba el efecto de la cinta que contenía microtitanio en las neuronas piramidales colocando una lámina de plomo de 0,5 cm de diámetro entre las neuronas y la fuente de titanio. Así, la influencia del microtitanio en las neuronas parece estar mediado por algún factor que puede cruzar un espacio abierto pero que no penetra el metal, como una onda electromagnética, o que afecta directamente al cuerpo a través de la piel en contacto con la lámina de microtitanio. En ese estudio, el titanio ejercía el efecto aún y cuando la cinta de microtitanio no estaba en contacto con las neuronas, lo cual indica que el microtitanio puede afectar a las neuronas aunque haya un espacio entre el metal y el objetivo. En este estudio, únicamente examinamos una concentración de microtitanio del 0,94% en láminas de goma, que es la mayor concentración que se puede añadir a dicha lámina sin alterar sus propiedades. Asimismo, cabría considerar estudiar el efecto dosis-respuesta del microtitanio en estudios posteriores, ya que el efecto del microtitanio en las neuronas puede depender de su concentración, tal y como se muestra en el estudio anterior (Korte 2008).

En conclusión, el microtitanio redujo la actividad espontánea en los ratones expuestos a estrés mental. Asimismo, la actividad de los nervios simpáticos disminuyó en los ratones expuestos a microtitanio, según el análisis espectral de potencia de la HRV, junto con una reducción del nivel de noradrenalina urinaria. Estas observaciones sugieren que el microtitanio propició un período de sueño más largo mediante la regulación de la actividad nerviosa autónoma e indican que el microtitanio tiene un efecto relajante.

Referencias

Aoi W, Naito Y, Takanami Y, Ishii T, Kawai Y, Akagiri S, Kato Y, Osawa T, Yoshikawa T. Astaxanthin improves muscle lipid metabolism in exercise via inhibitory effect of oxidative CPT I modification. Biochemical and Biophysical Research Communications 366 (4), 892–897, 2008.

Bellinger DL, Millar BA, Perez S, Carter J, Wood C, ThyagaRajan S, Molinaro C, Lubahn C, Lorton D. Sympathetic modulation of immunity: relevance to disease. Cellular Immunology 252 (1–2), 27–56, 2008.

Benthem L, Mundinger TO, Taborsky Jr GJ. Parasympathetic inhibition of sympathetic neural activity to the pancreas. American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism 280 (2), E378–E381, 2001.

Berthoud HR, Neuhuber WL. Functional and chemical anatomy of the afferent vagal system. Autonomic Neuroscience 85 (1–3), 1–17, 2000.

Cehreli MC, Onur MA, Sahin S. Effects of hydroxyapatite-coated and commercially pure titanium oral implant surfaces on compound nerve action potentials. Clinical Oral Implants Research 14 (3), 269–272, 2003.
Carballo-Vila M, Moreno-Burriel B, Chinarro E, Jurado JR, Casañ-Pastor N, Collazos-Castro JE. Titanium oxide as substrate for neural cell growth. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2008.
Julius S, Johnson EH. Stress, autonomic hyperactivity and essential hypertension: an enigma. Journal of Hypertension 3 (4), S11–S17, 1985.
Kawashima T. The autonomic nervous system of the human heart with special reference to its origin, course, and peripheral distribution. Anatomy and Embryology 209 (6), 425–438, 2005.
Kiba T. The role of the autonomic nervous system in liver regeneration and apoptosis—recent developments. Digestion 66 (2), 79–88, 2002.
Korte M. Influence of Aquatitan Tape on nerve cells of the central nervous system. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition 43, 1–4, 2008.
Lanfranchi PA, Somers VK. Arterial baroreflex function and cardiovascular variability: interactions and implications. American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology 283 (4), R815–R826, 2002.
Marusato Y, Hirakawa H, Harada Y, Nakamura T, Hayashida Y. Effects of systemic hypoxia on R–R interval and blood pressure variabilities in conscious rats. American Journal of Physiology (3), H797–H804, 1998.
Nance DM, Sanders VM. Autonomic innervation and regulation of the immune system (1987–2007). Brain, Behavior, and Immunity 21 (6), 736–745, 2007.
Ohnuki K, Moritani T, Ishihara K, Fushiki T. Capsaicin increases modulation of sympathetic nerve activity in rats: measurement using power spectral analysis of heart rate fluctuations. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 65 (3), 638–643, 2001.
Onur MA, Taş Z, Gürpinar A, Sahin S, Cehreli MC. Morphologic, functional and behavioral effects of titanium dioxide exposure on nerves. Clinical Oral Implants Research 15 (5), 513–519, 2004.
Overgaard L, Danielsen N, Bjursten LM. Anti-inflammatory properties of titanium in the joint environment. An experimental study in rats. The Journal of Bone and Joint Surgery British 80 (5), 888–893, 1998.
Sahlin H, Contreras R, Gaskill DF, Bjursten LM, Frangos JA. Anti-inflammatory properties of micropatterned titanium coatings. Journal of Biomedical Materials Research Part
A 77 (1), 43–49, 2006.
Schultz HD, Li YL, Ding Y. Arterial chemoreceptors and sympathetic nerve activity: implications for hypertension and heart failure. Hypertension 50 (1), 6–13, 2007.
Shibakura T, Iwai Y, Mizunoya W, Matsumura S, Nishizawa Y, Inoue K, Fushiki T. The physiological and behavioral effects of subchronic intracisternal administration of TGFb in rats: comparison with the effects of CRF. Biomedical Research 27 (6), 297–305, 2006.
Smith PG, Warn JD, Steinle JJ, Krizsan-Agbas D, Hasan W. Modulation of parasympathetic neuron phenotype and function by sympathetic innervations. Autonomic Neuroscience 96 (1), 33–42, 2002.
Stein PK, Kleiger RE. Insights from the study of heart rate variability. Annual Review of Medicine 50, 249–261, 1999.
Suzuki R, Muyco J, McKittrick J, Frangos JA. Reactive oxygen species inhibited by titanium oxide coatings. Journal of Biomedical Materials Research Part A 66 (2),

396–402, 2003.
Terkelsen AJ, Mølgaard H, Hansen J, Andersen OK, Jensen TS. Acute pain increases heart
rate: differential mechanisms during rest and mental stress. Autonomic Neuroscience
121 (1–2), 101–109, 2005.
Tougas G. The autonomic nervous system in functional bowel disorders. Canadian
Journal of Gastroenterology 13, 15A–17A, 1999.
Vanhoutte PM, Levy MN. Prejunctional cholinergic modulation of adrenergic neurotransmission
in the cardiovascular system. American Journal of Physiology Heart
and Circulatory Physiology 238 (3), H275–H281, 1980.
Waki H, Kasparov S, Wong LF, Murphy D, Shimizu T, Paton J. Chronic inhibition of
endothelial nitric oxide synthase activity in nucleus tractus solitarii enhances
baroreceptor reflex in conscious rats. Journal of Physiology 546 (1), 233–242, 2003.
Ziegler MG, Ruiz-Ramon P, Shapiro MH. Abnormal stress responses in patients with
diseases affecting the sympathetic nervous system. Psychosomatic Medicine 55
(4), 339–346, 1993.