



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN  
NICOLÁS DE HIDALGO**



**FACULTAD DE QUÍMICO- FARMACOBIOLOGÍA  
LABORATORIO DE NEUROBIOLOGÍA**

**Efecto de la serotonina y buspirona en la actividad de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-  
ATPasa en corteza cerebral de ratas con DME y en papila  
caliciforme de ratas control.**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

**PRESENTA:**

**P.Q.F.B. ALEJANDRA ORTIZ MANJARREZ**

**ASESOR:**

**D.C. ROSALIO MERCADO CAMARGO**

Tesis Parcialmente apoyada por CIC-UMSNH 2016, CONACYT-ANUIES-  
ECOS NORD M12-S01, PRODEP-2016.

**Octubre del 2016**

**Morelia, Michoacán**

**Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Neurobiología de  
la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad  
Michoacana de San Nicolás de Hidalgo fue parcialmente  
apoyado por CIC-UMSNH 2016, CONACYT-ANUIES-ECOS NORD  
M12-S01, PRODEP-2016.**

# AGRADECIMIENTOS

## **D.C. Rosalio Mercado Camargo**

Por haberme aceptado como uno de sus alumnos, por su asesoría, apoyo, paciencia y confianza que deposito en mí para realizar este trabajo de investigación. Mi más sincero agradecimiento.

## **M.C. Claudia Susana Bautista y M.C. Roberto Esquivel García**

Por haberme enseñado como se trabaja en el laboratorio de Neurobiología, por ser paciente conmigo, por brindarme su ayuda y su amistad.

## **A mi familia**

Forman una parte importante en mi vida, por su apoyo incondicional que me brindaron, que sin ellos no podría cumplir mis metas. A mi abuelita Eloisa por siempre estar al pendiente de mí durante este proyecto y por decirme “*échale ganas para que acabes pronto*”.

## **A mi novio Alejandro**

Por tenerme una gran paciencia y comprensión cuando me ponía de malas porque no me salían las cosas, por darme numerosos consejos, gracias por hacer que cada día sea especial, estar a mi lado durante este presente trabajo. Gracias por tu amor y cariño.

## **A mis amigos**

Alexander, Oscar, Humberto por haberme demostrado su amistad, por apoyarme de cualquier forma durante el desarrollo de este trabajo y haberme brindado su compañía, gracias amigos por hacer que esta experiencia sea muy agradable.

## **Al comité tutorial**

Por su paciencia y su ayuda

## DEDICATORIA

### ***A mis padres Rodolfo y Alejandra***

*Porque siempre han estado conmigo apoyándome incondicionalmente en la toma de mis decisiones, de ellos aprendí que aun en los momentos complicados, uno puede salir adelante, mientras uno se lo proponga.*

### ***A mi hermana Verónica***

*A la que quiero mucho, por siempre escucharme cuando me sentía estresada y por apoyarme.*

### ***A mi hermano Daniel***

*A mi hermano pequeño, que siempre lo admire por su dedicación a sus estudios, gracias a él me motive mucho hacer bien las cosas, para que se sintiera orgulloso de mí, para que sea un buen ejemplo a seguir.*

### ***A mi novio Alejandro***

*Por haberme acompañado durante esta experiencia, por haber estado durante este tiempo a mi lado y más en los momentos difíciles, por ser un apoyo incondicional durante el desarrollo de esta tesis. Porque me ayudaste a salir adelante.*

# CONTENIDO

	<b>Página</b>
AGRADECIMIENTOS .....	I
DEDICATORIA.....	II
ÍNDICE DE FIGURAS .....	V
ÍNDICE DE TABLAS .....	VI
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VII
RESUMEN .....	X
ABSTRACT .....	XI
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. SISTEMA NERVIOSO.....	1
1.1.1. LA NEURONA .....	2
1.1.2. CÉLULAS GLIALES .....	3
1.1.3. CORTEZA CEREBRAL .....	5
1.2. SISTEMA GUSTATIVO.....	6
1.2.1. ORGANIZACIÓN NEURO-ANATÓMICA DEL SISTEMA GUSTATIVO ..	7
1.2.2. NEUROQUÍMICA DE SISTEMA GUSTATIVO .....	11
1.2.3. MECANISMO MOLECULARES DE DETECCIÓN DE SABORES .....	12
1.2.4. NEUROTRANSMISORES POSTULADOS.....	18
1.2.5. ALTERACIONES DEL SISTEMA GUSTATIVO.....	19
1.3. DIABETES .....	20
1.3.1. DIABETES MELLITUS TIPO 1(DM1) .....	22
1.3.2. DIABETES MELLITUS TIPO 2 (DM2) .....	23
1.3.3. DIABETES MELLITUS GESTACIONAL .....	24
1.3.4. DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL (DME).....	25

1.4.	SISTEMA SEROTONINÉRGICO .....	27
1.4.1.	BASES ANATÓMICAS DEL SISTEMA SEROTONINÉRGICO. ....	28
1.4.2.	BIOSÍNTESIS DE LA SEROTONINA .....	30
1.4.3.	RECEPTORES SEROTONINÉRGICOS .....	33
1.5.	AGONISTAS DE LOS RECEPTORES DE 5-HT.....	35
1.5.1.	AGONISTAS DE LOS RECEPTORES 5-HT <sub>1</sub> y 5-HT <sub>1A</sub> .....	36
1.6.	BOMBA DE SODIO Y POTASIO .....	38
1.6.1.	FUNCIÓN Y ESTRUCTURA.....	38
1.6.2.	ISOFORMAS DEL COMPLEJO ENZIMÁTICO DE LA Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> - ATPasa	42
1.6.3.	REGULACIÓN DE LA NA <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPasa.....	43
2.	JUSTIFICACIÓN.....	46
3.	HIPÓTESIS.....	48
4.	OBJETIVOS.....	49
4.1.	OBJETIVO GENERAL .....	49
4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	49
5.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	50
5.1.	MATERIAL BIOLÓGICO .....	50
5.2.	GRUPOS EXPERIMENTALES .....	50
5.3.	INDUCCIÓN DE DIABETES .....	50
5.4.	PESO Y CONSUMO DE ALIMENTO.....	51
5.5.	INGESTA DE LÍQUIDOS (AGUA Y SACAROSA).....	51
5.6.	OBTENCIÓN DE TEJIDO .....	51
5.7.	DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA POR EL MÉTODO DE LOWRY .....	52
5.8.	DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE LA NA <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> ATPASA	52

5.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	53
6. RESULTADOS .....	54
6.1. ANÁLISIS EN SANGRE .....	54
6.2. PESO CORPORAL .....	55
6.3. CONSUMO DE ALIMENTO .....	55
6.4. CONSUMO TOTAL DE LÍQUIDOS .....	56
6.5. CURVA DE DOSIS RESPUESTA CON BUSPIRONA .....	57
6.6. CURVA DE DOSIS RESPUESTA CON 5-HT .....	58
6.7. ACTIVIDAD DE Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPasa EN CORTEZA CEREBRAL EN RATAS, EN PRESENCIA DE AGONISTAS. ....	59
6.8. ACTIVIDAD DE LA Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPasa EN LA PAPILA CALICIFORME DE RATAS EN PRESENCIA DE AGONISTAS SEROTONINÉRGICOS.....	60
7. DISCUSIÓN.....	62
8. CONCLUSIÓN.....	64
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	65

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Representación esquemática de una neurona con diversas formas de sinapsis y sus relaciones con las células neuroglial.....	2
<b>Figura 2.</b> Los principales tipos de células neurogliales en el sistema nervioso. ....	4
<b>Figura 3.</b> Áreas funcionales de la corteza cerebral.....	5
<b>Figura 4.</b> Anatomía del gusto.....	8
<b>Figura 5.</b> El sentido del gusto de los mamíferos.....	10
<b>Figura 6.</b> Diagrama esquemático de una papila gustativa.....	11
<b>Figura 7.</b> Los mecanismos de transducción del gusto son diferentes para las distintas cualidades gustativas.....	13
<b>Figura 8.</b> Ubicación y distribución de los núcleos del rafe en el encéfalo.....	29

<b>Figura 9.</b> Metabolismo de la serotonina.....	31
<b>Figura 10.</b> La sinapsis serotoninérgica. ....	32
<b>Figura 11.</b> La Bupiriona agonista de los receptores 5-HT <sub>1A</sub> .....	37
<b>Figura 12.</b> Estructura esquemática de la Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPasa. ....	39
<b>Figura 13.</b> Modelo del mecanismo de acción de la Na <sup>+</sup> / K <sup>+</sup> -ATPasa en la membrana plasmática. ....	41
<b>Figura 14.</b> Peso corporal de los animales experimentales. ....	55
<b>Figura 15.</b> Consumo de alimento.....	56
<b>Figura 16.</b> Consumo total de líquidos. ....	57
<b>Figura 17.</b> Curva de dosis-respuesta del agonista bupiriona en homogenizado de corteza cerebral de ratas macho adultas control y con DME. ....	58
<b>Figura 18.</b> Curva de dosis-respuesta del agonista 5-HT en homogenizado de corteza cerebral de ratas macho adultas control y con DME. ....	59
<b>Figura 19.</b> Actividad de Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPasa en corteza cerebral en ratas, en presencia de agonistas. ....	60
<b>Figura 20.</b> Actividad de la Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPasa en la papila caliciforme en presencia de los agonistas. ....	61

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Página</b>
<b>Tabla 1.</b> Tipos y subtipos de receptores serotoninérgicos. ....	34
<b>Tabla 2.</b> Efectos Electrofisiológicos de los receptores de 5-HT. ....	35
<b>Tabla 3.</b> Parámetros bioquímicos de ratas control y diabéticas. ....	54

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>°C</b>	Grados centígrados
<b>5-HT</b>	5- hidroxitriptamina
<b>5-HT(n)</b>	Receptores serotoninérgicos
<b>5-HTP</b>	5-hidroxitriptófano
<b>8-OH-DPAT</b>	8-hidroxi-2- diprolaminotetralina
<b>AMPc</b>	AdenosínMonofosfato cíclico
<b>ATP</b>	AdenosínTrifosfato
<b>BHE</b>	Barrera hematoencefálica
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Ión de calcio
<b>DAG</b>	Diacilglicerol
<b>DE<sub>50</sub></b>	Dosis efectiva cincuenta
<b>DM</b>	Diabetes mellitus
<b>DM1</b>	Diabetes mellitus tipo 1
<b>DM2</b>	Diabetes mellitus tipo 2
<b>DME</b>	Diabetes mellitus experimental
<b>DMG</b>	Diabetes mellitus gestacional
<b>DMNID</b>	Diabetes mellitus no insulino dependiente
<b>E.E</b>	Error estándar
<b>FCF</b>	Fencanfamina
<b>g</b>	Gramos
<b>GABA</b>	Ácido gama amino butírico
<b>GMPc</b>	Guanosinmonofosfato cíclico

<b>GPCR's</b>	Receptores de membrana acoplados a proteínas G.
<b>H<sup>+</sup></b>	Ión hidruro
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Agua
<b>hrs.</b>	Horas
<b>IDO</b>	Dioxigenasaindolamina
<b>IP3</b>	Inositol 1, 4, 5- trifosfato o inositoltrifosfato
<b>K<sup>+</sup></b>	Ión de potasio
<b>Kg</b>	Kilogramo
<b>L-Trp</b>	L-triptófano
<b>MAO</b>	Monoamino oxidasa
<b>mg</b>	Miligramos
<b>mg/ml</b>	Miligramo por mililitro
<b>mg/dL</b>	Miligramos por decilitro
<b>mg/kg</b>	Miligramo por kilogramo
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	Ión de magnesio
<b>mGluR(n)</b>	Receptores metabotrópico del glutamato
<b>mM</b>	Milimolar
<b>NA</b>	Noradrenalina
<b>Na<sup>+</sup></b>	Ión de sodio
<b>Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa</b>	Bomba de sodio y potasio
<b>NaCl</b>	Cloruro de Sodio
<b>nm</b>	Nanomoles
<b>NTS</b>	Núcleo del tracto solitario
<b>PCA</b>	p-clorofenilalanina

<b>PDE</b>	Fosfodiesterasa
<b>pH</b>	Potencial de iones hidrógeno
<b>PKA</b>	Proteinquinasa A
<b>PLC <math>\beta_2</math></b>	Fosfolipasa C tipo $\beta_2$
<b>rpm</b>	Revolución por minuto
<b>SNA</b>	Sistema nervioso autónomo
<b>SNC</b>	Sistema nervioso central
<b>SNP</b>	Sistema nervioso periférico
<b>STZ</b>	Estreptozotocina
<b>TA</b>	Temperatura ambiente
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Factor de necrosis tumoral- $\alpha$
<b>TPH</b>	Triptófano 5-hidroxilasa
<b>TRC's</b>	Receptores gustativos de la membrana
<b>5-HIAA</b>	Ácido 5-hidroxiindolacético
<b><math>\mu</math>l</b>	Microlitros

## RESUMEN

La diabetes mellitus (DM) es uno de los problemas de salud más graves en nuestro país. Es un trastorno que se caracteriza por el metabolismo alterado de glucosa, lípidos y proteínas; y tiene asociación con alteraciones cerebrales y la pérdida de sensibilidad a los estímulos gustativos. Se ha reportado que en el sistema serotoninérgico disminuye la síntesis de serotonina (5-HT) y también existen reportes que la actividad de la bomba de sodio y potasio ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa) disminuye durante el estadio diabético. Resultados experimentales de nuestro laboratorio sugieren que existe activación de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa por 5-HT en tejido cerebral y que esta activación probablemente se produce a través de la activación de receptores serotoninérgicos, no se conoce si la bupiriona un agonista serotoninérgico del receptor  $5\text{-HT}_{1A}$  pueda activar a la enzima en corteza cerebral de ratas con diabetes mellitus experimental (DME) y si esta también tiene efecto sobre la actividad de la enzima en la papila caliciforme de la rata, por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la bupiriona sobre la actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa en corteza cerebral de ratas con DME y en la papila caliciforme de ratas control. En este trabajo se utilizaron dos grupos de ratas, uno control y otro con DME, en los cuáles se determinó la actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa en corteza cerebral y en la papila caliciforme de ratas en presencia de bupiriona y serotonina. Los resultados del presente estudio muestran que la actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa disminuyó en la corteza cerebral de ratas con DME, y en las curvas dosis-respuesta con bupiriona y 5-HT se observó un incremento de la actividad enzimática de la bomba de sodio y potasio. En la papila caliciforme se apreció que se incrementó la actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa en presencia de la bupiriona y de la 5-HT, sugiriendo la interacción entre estos dos sistemas en estructuras del sistema gustativo periférico. Con estos resultados concluimos que la papila caliciforme tiene una semejanza de transducción de señales a la de la corteza cerebral en cuanto a la participación de los receptores serotoninérgicos y la activación de la bomba de sodio y potasio a través de la participación del receptor  $5\text{-HT}_{1A}$ .

**Palabras clave:** Agonistas, receptores, sistema gustativo, diabetes, regulación.

## ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is one of the most serious health problems in our country. Diabetes mellitus it is a disorder characterized by altered metabolism of glucose, lipids and proteins; on the other hand, the DM has association with brain disorders and loss of sensitivity to gustatory stimuli. It has been reported that in the serotonergic system decreases the synthesis of serotonin (5-HT), also there are reports that the activity of the sodium and potassium pump ( $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{-ATPase}$ ) during diabetic stage. Results from our laboratory suggest that there is activation of  $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{-ATPase}$  by 5-HT in brain tissue, possibly through activation of serotonin receptors, actually is not known if buspirone a 5-HT agonist of the  $5\text{-HT}_{1A}$  receptor can activate the sodium and potassium pump in cerebral cortex of rats with experimental diabetes mellitus (EDM) and if this also has an effect on the enzyme activity in caliciform papillae of rats, so the aim of the present work was to determine the effect of buspirone on the activity of the  $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{-ATPase}$  in cerebral cortex of rats with EDM and in the caliciform papillae of control rats. In this study, two groups of rats, one control and other with EDM were used to determine the activity of the  $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{-ATPase}$  in the caliciform papillae of rats in the presence of buspirone and serotonin. The results of this study showed that the activity of the  $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{-ATPase}$  decreased in the cerebral cortex of rats with EDM, and the dose-response curves with buspirone and 5-HT increased the enzyme activity of the sodium pump in cerebral cortex of rats with EDM. In the caliciform papillae of control rats there was an increased of the  $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{-ATPase}$  activity with buspirone and 5-HT, suggesting us that there is interaction between these two systems in structures of the peripheral taste system. With the results of the present work we can conclude that in the caliciform papillae there are transduction systems of signals similar to the reported in cerebral cortex in the interaction between both systems trough the activation of the  $5\text{-HT}_{1A}$  receptor.

**Keywords:** agonists, receptors, gustatory system, diabetes, regulation.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. SISTEMA NERVIOSO

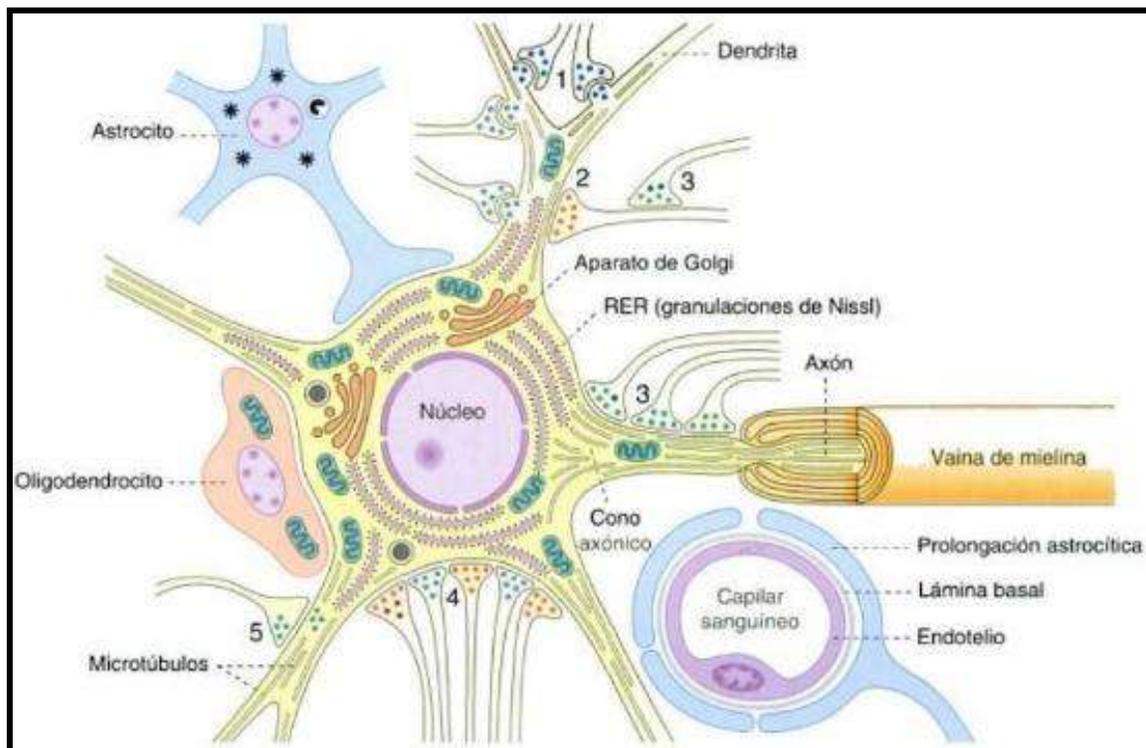
El sistema nervioso está constituido principalmente por: células gliales y redes neuronales, y a través una comunicación activa mantiene la regulación de otras estructuras del organismo, se comunican entre sí y con los efectores (músculo esquelético, músculo liso y glándulas) (Escobar y Pimienta, 2006). Las células nerviosas cumplen 3 funciones principales: 1) recibir los estímulos provenientes de los medios extremos e interno, 2) mandar impulsos a los órganos efectores del organismo y 3) relacionarse entre sí. Sobre la base de las acciones que cumplen se pueden dividir en 3 tipos de células: en células sensoriales que reciben los estímulos directamente o los captan por la medición de otras células llamadas receptoras; las células motoras controlan el músculo estriado, el músculo liso y los músculos cardíacos; las células de asociación relacionan células sensoriales con las motoras (Alcaráz-Romero, 2001).

El sistema nervioso anatómicamente se divide en: 1) sistema nervioso central (SNC), compuesto por el cerebro y la médula que se integran por una acumulación compacta de células nerviosas y gliales, aquí se reciben los mensajes procedentes de los receptores y se almacenan las informaciones elaboradas o se les dirige a las células efectoras (Lorenzo y col., 2008; Estrada y Uribe, 2002); 2) sistema nervioso periférico (SNP), donde en una vía eferente las neuronas del SNC comunican señales hasta las células efectoras de los tejidos periféricos, y otra vía aferente, cuyas neuronas recogen la información de la periferia y la lleva al SNC. La porción eferente del sistema nervioso periférico se subdivide funcionalmente en sistema nervioso somático (que están implicada en las funciones controladas voluntariamente) y sistema nervioso autónomo (que regula funciones corporales de forma involuntarias) (Lorenzo y col., 2008). El sistema nervioso autónomo consta de dos ramas: las divisiones simpática (prepara al organismo para un acción rápida en casos de

emergencia) y divisiones parasimpática (tranquiliza y relaja al cuerpo) (Morris y Maisto, 2001).

### 1.1.1.LA NEURONA

Las neuronas son unidades morfofuncionales del tejido nervioso, reciben, transmiten y almacenan información (Escobar y Pimienta, 2006). Están constituidas por cuatro regiones bien definidas: el cuerpo celular, las dendritas, el axón y el terminal presináptico (Figura 1); cada una de estas regiones tienen un papel distinto en la generación de las señales de comunicación con otras neuronas. El cuerpo celular es el centro metabólico de la célula, contiene núcleo, el cual representa la maquinaria genética; las dendritas, que son la principal puerta de entrada de los estímulos procedentes de otras neuronas; el axón, por donde se conduce el potencial de acción hasta la región presináptica para estimular o inhibir otras neuronas por intermedio de un neurotransmisor (Bustamante, 2007).



**Figura 1.** Representación esquemática de una neurona con diversas formas de sinapsis y sus relaciones con las células neuroglial.

1) Sinapsis en las dendritas; 2) sinapsis axodendrítica; 3) sinapsis axoaxonica; 4) sinapsis axosomaticas; 5) sinapsis recíprocas (transmisión de los impulsos en ambas direcciones). (Tomada de Welsch, 2010).

El SNC está formado por más de cien mil millones de neuronas, las cuales están conectadas entre sí, fenómeno al cual se le ha denominado sinapsis. La superficie del soma y de las dendritas de una neurona motora cuentan con entre 10,000 y 200,000 terminales presinápticas, y está separado de la neurona postsináptica por un espacio llamado hendidura sináptica cuya anchura oscila entre  $2 \times 10^{-8}$  y  $3 \times 10^{-8}$  metros (Montalvo y col., 2011).

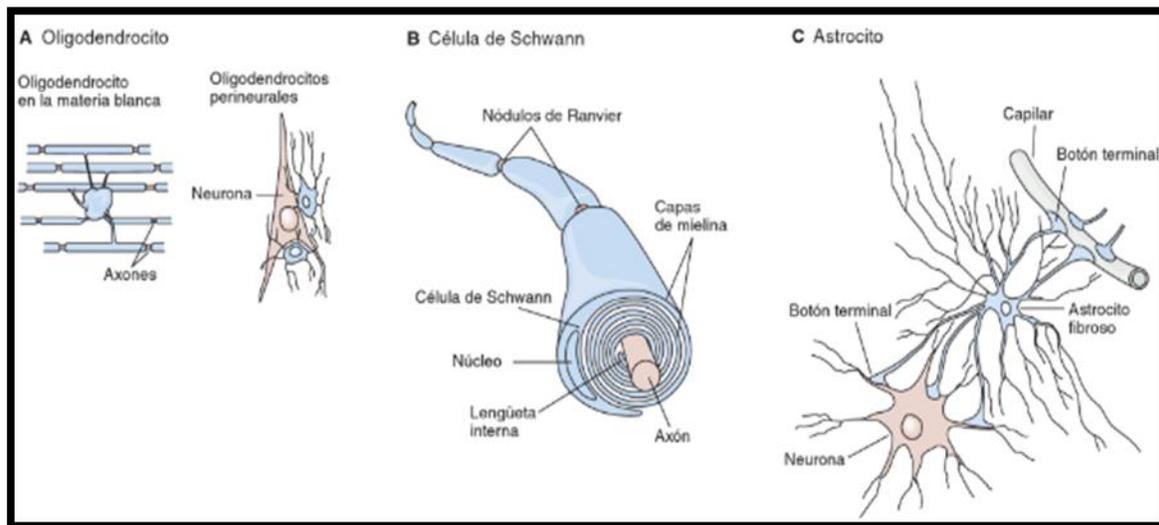
Las neuronas se clasifican de acuerdo con los rasgos estructurales similares que presentan. De esta manera, se encuentran las neuronas unipolares se hallan en las raíces de los ganglios dorsales de la medula, tiene un axón que se bifurca en forma de T; las neuronas bipolares compuestas por un soma , un arbol dendrítico y un axon, son sensoriales; las neuronas multipolares con funciones asociativas y un arbol dendrítico sumamente ramificado (Alcaraz Romero, 2001). También se pueden clasificar de acuerdo a la función que lleva a cabo en: sensoriales, motoras e interneuronas.

- Las neuronas sensoriales conducen los impulsos desde los receptores al encéfalo y la médula espinal, incluyendo información visual, auditiva, táctil.
- Las neuronas motoras conducen pulsos desde el encéfalo y médula espinal a los efectores (músculos y glándulas), produciendo la contracción de la fibras musculares.
- Las fibras interneuronas son neuronas que no mantienen un contacto directo con estructuras periféricas y son responsables de la modificación, coordinación, integración, facilitación e inhibición que debe tener lugar entre la entrada sensorial y salida motora (Diamond y col., 2014).

### **1.1.2. CÉLULAS GLIALES**

Algunas funciones de las células gliales (o neurogliales) son: la de soporte; la provisión de vainas de mielina; una función buffer espacial  $K^+$  y de captación de neurotransmisores; una función nutricional neuronal (Cardinali, 1991).

Las células gliales son las más numerosas del tejido nervioso (Figura 2). Contrario a las neuronas, preservan su capacidad proliferativa una vez diferenciadas poseen procesos de un solo tipo y no establece contactos sinápticos. Se clasifican como macroglia (astroncitos fibrosos y los protoplasmáticos, oligodendroglías, Schwann) y microglia (Escobar y Pimienta, 2006). La función esencial de las células microgliales es la fagocitaria, comparable a la de los macrófagos de la sangre (Tamorri, 2004). Las células macrogliales tienen una función nutricional, de soporte y de aislamiento eléctrico (Tamorri, 2004). Los oligodendrocitos en el SNC y las células Schwann en el SNP, constituyen las cubiertas de mielina influyen en la velocidad de conducción del impulso nervioso a través de los axones (Escobar y Pimienta, 2006).



**Figura 2.** Los principales tipos de células neurogliales en el sistema nervioso.

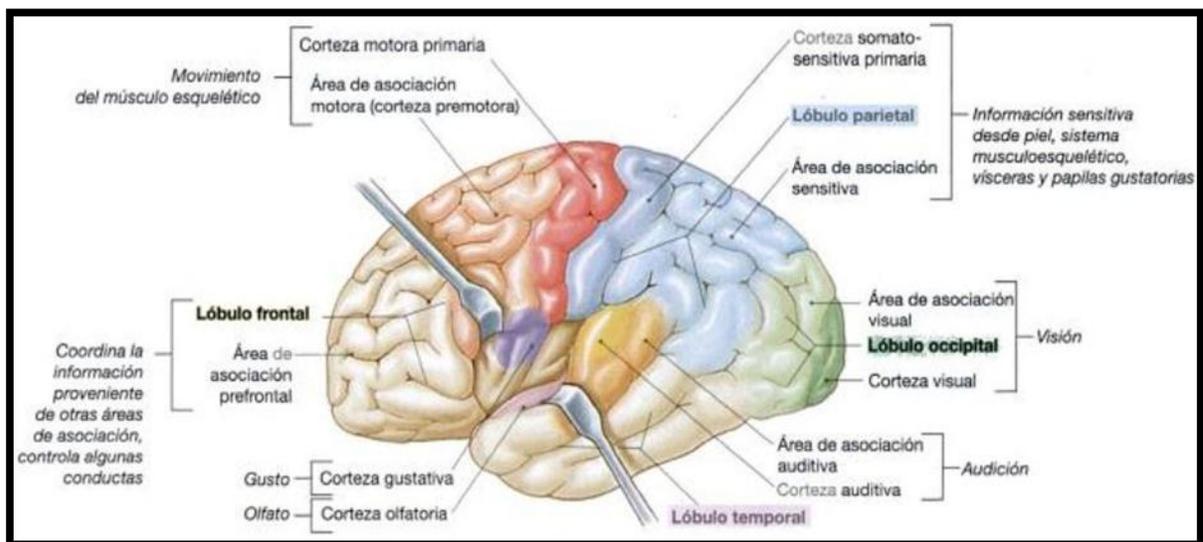
A) los oligodendrocitos son pequeños, con relativamente pocas prolongaciones. Los que están en la materia blanca proporcionan mielina, los que están en la materia gris sostienen a las neuronas. B) las células de Schwann aportan la mielina al sistema nervioso periférico. Los intervalos entre los segmentos de mielina son los nodulos de Ranvier. C) los astroncitos son las células neurogliales más abundantes en el SNC, se caracterizan por su forma estrellada. Establecen contacto con los capilares y las neuronas y se cree que tiene función nutricia. También participan en la formación de la barrera hematoencefálica (Tomada de Barrett y col., 2012).

La célula glial también contribuye a la eliminación sináptica, un proceso que ocurre durante el desarrollo normal del sistema nervioso en el que algunas conexiones sinápticas son eliminadas para simplificar los circuitos neuronales. Estudios recientes sugieren que la glía participa en este proceso, con la ayuda del sistema inmunológico. Es posible que la eliminación desequilibrada de contactos sinápticos

entre neuronas, sea un factor involucrado en enfermedades neurodegenerativas. Además de participar en la formación y la destrucción de sinapsis, es posible que la glía esté involucrada en el aprendizaje (Rodríguez, 2011).

### 1.1.3. CORTEZA CEREBRAL

La corteza cerebral es el manto de tejido nervioso que cubre la superficie de los hemisferios cerebrales y su estructura superficial presenta numerosos pliegues (Figura 3) (Escarabajal y col., 2006). Está compuesta por sustancia gris y se ha estimado que contiene aproximada 10,000 millones de neuronas. El espesor cortical varía de 1.5 a 1.4 mm (Snell, 2001). Los principales tipos de neuronas que se localizan en la corteza cerebral son: células piramidales, células estrelladas, células fusiformes, células horizontales de Ramón y Cajal, y células invertidas de Martinotti (López y col., 2006).



**Figura 3.** Áreas funcionales de la corteza cerebral.

La corteza está especializada en las áreas sensitivas, somáticas y sensoriales visuales, auditiva, olfatoria y gustatoria para la percepción, las áreas motoras que dirigen el movimiento y las áreas de asociación que integran la información (Tomada de Silverthorn y col., 2008).

La corteza cerebral se divide a su vez en 4 grandes regiones denominadas lóbulos que son: lóbulo frontal, lóbulo parietal, lóbulo occipital y lóbulo temporal (Santoscoy,

2008). Es una estructura extremadamente compleja en la que los distintos órganos sensoriales aparecen representados en determinadas zonas conocidas como áreas sensoriales primarias.

Diversos estudios demuestran que la síntesis de serotonina en el SNC se lleva a cabo en los núcleos del rafe, los cuales tienen inervación hacia la corteza cerebral y el cerebelo, de tal manera que en estas dos regiones del sistema nervioso se incrementan las concentraciones de la serotonina (Hernández J., 1979; Manjarrez y col., 1988).

Resultados de otros laboratorios muestran que en la corteza cerebral de la rata diabética existe una disminución del contenido de L-Triptófano y de la 5-HT (Manjarrez y col., 2000; Castillo Q. y col., 2010) y con un aumento paralelo de los receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>2</sub> en la corteza cerebral (Castillo Q. y col., 2010).

## **1.2. SISTEMA GUSTATIVO**

El sabor corresponde al ensamblaje de las sensaciones percibidas durante la ingesta de alimentos y engloban la percepción de olores y estímulos gustativos (salado, amargo, dulce, ácido y umami) producidos durante la masticación además de las sensaciones producidas por la textura, la temperatura y astringencia (picante) de los alimentos. A nivel neurofisiológico, la percepción del sabor resulta de la estimulación combinada de tres sistemas sensoriales: el olfato, gusto, el tacto, que nos permite tener una representación del alimento al ingerir (Mattes y Cowart, 1994). El olfato y la gustación al parecer juegan un papel fisiopatológico más vasto que el asociado a la digestión.

La pérdida de la sensibilidad gustativa (ageusia) y/o olfativa (anosmia), se asocia con disminución de peso, desnutrición, desordenes inmunitarios y la degradación del estado de salud general de personas mayores (Mattes y Cowart, 1994; Winkler y col.,

1999). Por otro lado, las personas que sufren de hipertensión arterial muestran un umbral elevado para sustancias saladas, de esta manera, se presenta un sobreconsumo de sal en estos individuos (Sahagún F. y col., 2000). De la misma manera, la elevación del umbral gustativo es frecuente en los pacientes con diabetes tipo I y II (Stolbova y col., 1999; Le Floch y col., 1990).

En el área nutricional, una correlación negativa se observa entre la severidad de la pérdida de la sensibilidad gustativa (disgeusia) y aportes calóricos (Kettaneh y col., 2002). Por otro lado, ciertas formas de obesidad, debido estas a un consumo anárquico de alimentos con alto contenido energético, al parecer se asocian a una disfunción de la percepción gustativa (Stolbova y col., 1999).

### **1.2.1. ORGANIZACIÓN NEURO-ANATÓMICA DEL SISTEMA GUSTATIVO**

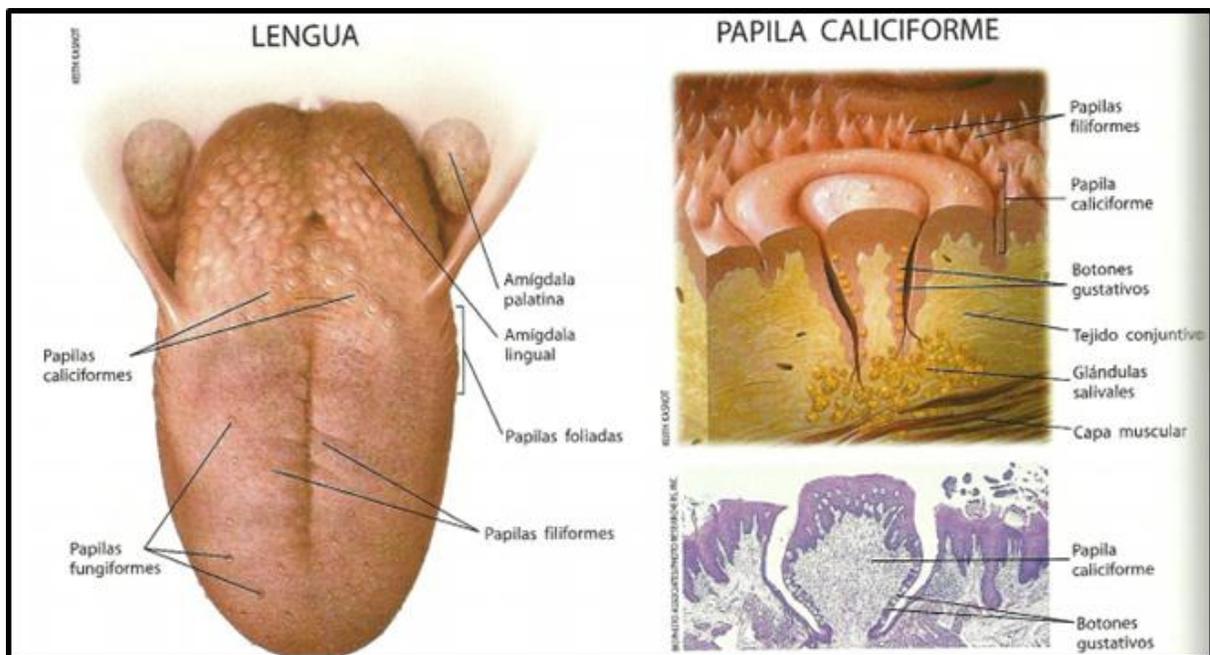
En el sistema gustativo, la detección de moléculas sápidas (moléculas que son responsables de los sabores en los alimentos) se lleva a cabo gracias a células gustativas donde la estimulación de estas pone en juego una red neuronal que se extiende desde la lengua, paladar y faringe hasta las zonas específicas de la corteza (Purves, 2001).

Las células receptoras del gusto en los vertebrados se agrupan en papilas gustativas. Las papilas gustativas pueden ser reconocidas por tres características principales:

1. Las papilas gustativas son un agregado de células gustativas alargadas de múltiples tipos morfológicos y funcionales.
2. Las células del gusto se extienden desde la lámina basal de un poro apical u otra abertura en el epitelio.

3. Por último, las papilas gustativas están inervadas de la placoda epibranchial: es decir, el tratamiento facial, glosofaríngeo o nervios vagos (Masato y Parnes, 2013).

Estas células gustativas, se agrupan en corpúsculos gustativos, que a su vez forman papilas gustativas. Las papilas gustativas, de acuerdo a su morfología se dividen en tres clases diferentes: fungiforme (forma de hongo), caliciforme (forma de botón) y foliada (forma de cresta), cada una de ellas está constituida de un número distinto y variable de corpúsculos gustativos (Figura 4). Las papilas fungiformes se localizan en las dos terceras partes posterior de la lengua, tienen solo 18% del total de corpúsculos gustativos. Las papilas caliciformes se encuentran en la tercera parte posterior de la lengua, el número de este tipo de papilas es de 7-9 en humanos y solo una en organismos de las especies de murinos. Por otro lado, las papilas foliadas se localizan en los lados de la tercera parte posterior de la lengua (Buck y Schwartz, 2000).

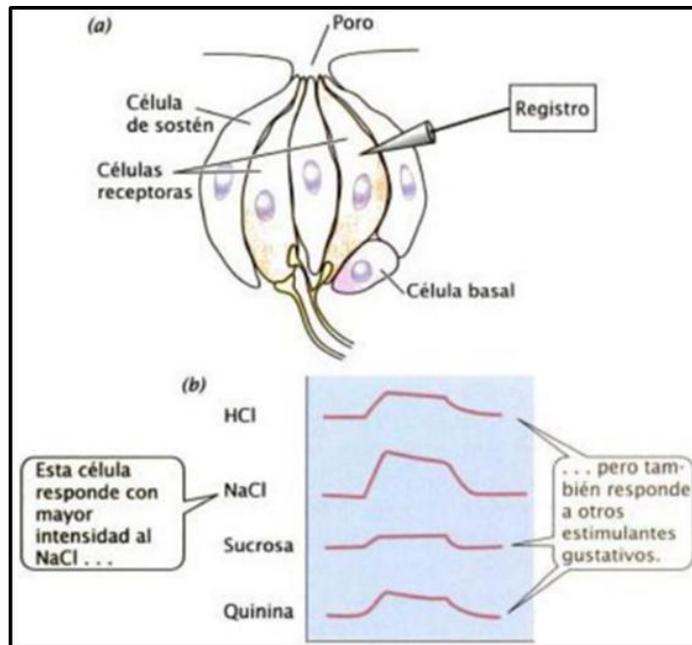


**Figura 4.** Anatomía del gusto.

Distinguimos en la lengua hasta cuatro tipos de estructuras prominentes denominadas papilas gustativas. En el centro, a la izquierda, se pueden observar la estructura de una papila caliciforme y detalles de los botones gustativos humanos. Únicamente en las papilas caliciformes, foliadas o fungiformes hay botones gustativos. Durante la masticación, las sustancias químicas de la comida entran en los poros de los botones gustativos. (Tomada de Smith y Margolskee, 2001).

Las papilas gustativas son inervadas por los siguientes nervios craneanos: facial (VII), glosofaríngeo (IX) y vago (X). Las fibras sensoriales del nervio facial, a través de la cuerda del tímpano, transporta la información gustativa a la corteza cerebral proveniente de las papilas fungiformes, mientras que la información proviene de las papilas caliciformes y foliadas es transporta al cerebro vía nervio glosofaríngeo. Finalmente, el nervio vago es el encargado de trasladar al cerebro la información sináptica con las células gustativas convergen a nivel de la región rostral del núcleo del tracto solitario (NTS) localizado en tronco cerebral (Buck y Schwartz, 2000; Guyton, 1996).

Las células basales son pequeñas células esféricas localizadas en la base del corpúsculo a partir de las cuales son diferenciadas las tipo I, II y III (Buck y Schwartz, 2000), son células progenitoras durante el curso normal de renovación celular (Roper, 2006). Las células gustativas tipo I sirven de sostén al corpúsculo gustativo y regulan la concentración extracelular de iones en el corpúsculo (Bigiani, 2001). Las células gustativas tipo II contiene la maquinaria necesaria para la detección y traducción de las señales gustativas (Bougther J. G., 1998; Adler E. y col., 2000; Yee y col., 2001). Las células gustativas tipo III parecen ser las que se comunican sinápticamente con las ramas sensoriales de los nervios facial, glosofaríngeo y vago (Figura 5) (Fanjul y Hiriart, 2008).



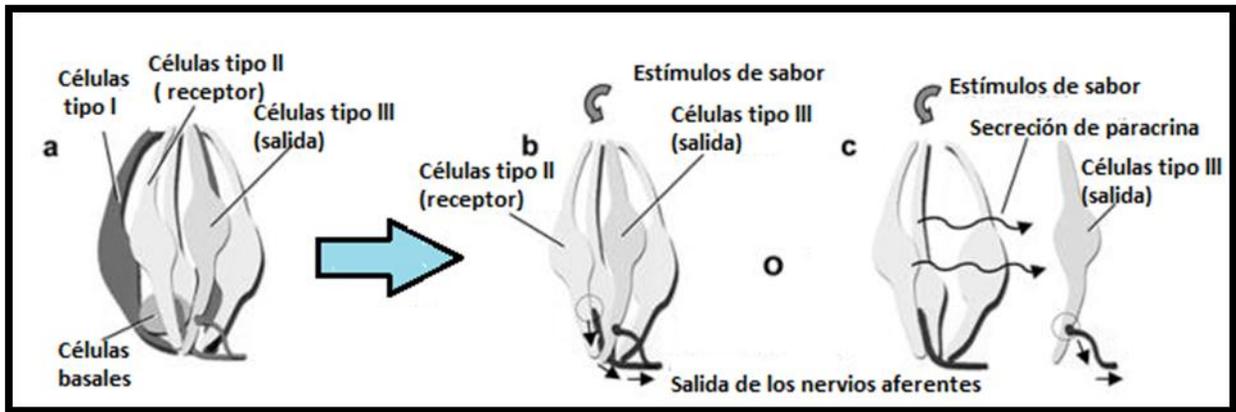
**Figura 5.** El sentido del gusto de los mamíferos.

(a) Estructura de una papila gustativa de un mamífero, donde se observan las células fotorreceptoras, las células de sostén y una célula basal. (b) registros intracelulares de una sola célula receptora. (Tomada de W. Hill y col., 2006).

La elucidación del neurotransmisor entre las células del gusto y las fibras nerviosas se complica por varios factores. Cada papila gustativa contiene una variedad de tipos de células, es probable que se comuniquen entre sí, así como con las fibras del nervio gustativo. Por lo tanto, la presencia de una potencial sustancia transmisora en la papila gustativa no implica que una determinada sustancia se utilice para activar las fibras nerviosas gustativas (Finger y col., 2005).

Hallazgos anteriores dan lugar a un modelo heurístico para el procesamiento de señales papila gustativa. Una papila gustativa con las células tipo I, II, III y células basales se muestra en la (Figura 6 a). Las fibras nerviosas entran en estrecha aposición las células tipo II y III, pero sólo forman sinapsis convencionales con este último. Grupos de células del tipo II y III pueden formar una "unidad de proceso" gusto (Figura. 6 b). De acuerdo con el modelo, estimulantes del gusto actúan sobre las células de tipo II (receptor), que excitan directamente las fibras aferentes primarias a través de los contactos sinápticos no convencionales de una manera que aún no se conocen (Figura 6 b, círculo), o secretan el transmisor paracrino que

estimulan las células de tipo III y por lo tanto conduce indirectamente a la salida del nervio aferente (Figura 6 c), o alguna combinación de estas dos posibilidades (Roper, 2006).



**Figura 6.**Diagrama esquemático de una papila gustativa.

a) Tipos de células en los mamíferos, (b, c) las unidades de procesamiento de señales hipotéticas (Imagen modificada de Roper, 2006).

## 1.2.2.NEUROQUÍMICA DE SISTEMA GUSTATIVO

La neuroquímica del sistema gustativo no ha sido bien definida, se sabe que en el núcleo del tracto solitario coexiste una gran cantidad de neurotransmisores y neuromoduladores cuyas funciones no han podido determinarse. Hay una vía noradrenérgica que surge del complejo de *nucleus coeruleus* y va al núcleo del tracto solitario. Parece que esta vía se halla relacionada con las respuestas de atención, pues se ha visto que en el *nucleus coeruleus* del mono, se encuentran células que responden en forma muy vigorosa a la presentación de los alimentos preferidos, esta vía debe estar presente en el comportamiento, descubierto originalmente en las ratas y después en otros organismos, en los que se ha confirmado que responden de modo diferencial a diversos estímulos en el proceso del condicionamiento. Así, las luces y los sonidos se asocian más fácilmente con las respuestas de evitación a los choques eléctricos, mientras que los sabores resultan ser un mejor estímulo condicionado para las respuestas de evitación a la comida, cuando esta llega a producir perturbaciones gástricas.

Además, por una vía, también de tipo noradrenérgico, el núcleo solitario se conecta con diversos centros vasomotores y de control de la respiración, lo cual explica muchos de los componentes de las náuseas y sirve de base para entender porque fácilmente se establecen respuestas condicionadas de aversión a la comida al activarse un circuito que está presente en los reflejos de orientación y de activación inespecífica. Otros neurotransmisor que sea ha descubierto en el núcleo solitario es la adrenalina, que podría componer un sistema relacionado con la comida a través de sus relaciones con el hipotálamo.

Por último, hay en el sistema gustativo una gran concentración de neuromoduladores entre los que resaltan: la sustancia P, el polipéptido intestinal vasoactivo que conforma varios microcircuitos locales en el núcleo solitario, la colicistocinina y un opiáceo endógeno, la dinorfina, que tal vez se relacione con los aspectos placenteros de la comida (Alcaraz Romero, 2001).

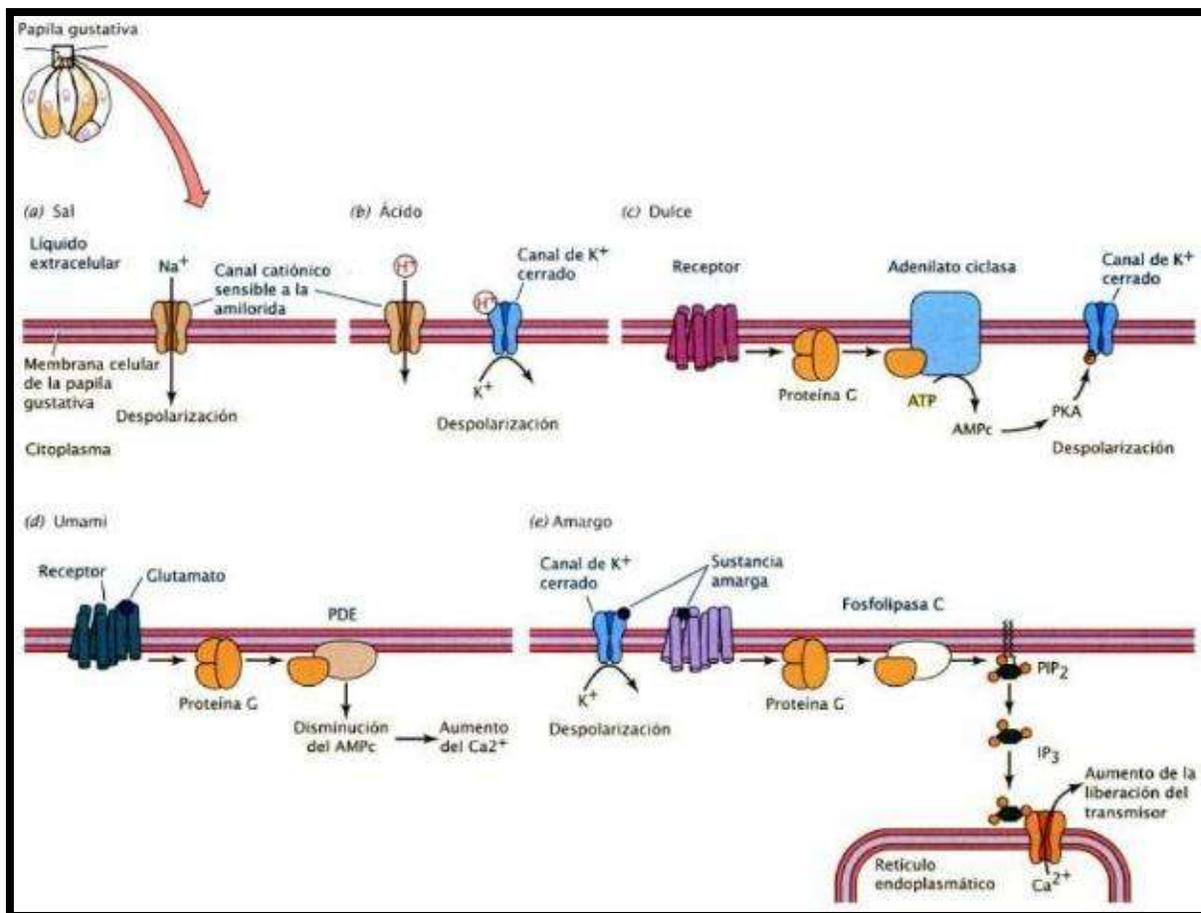
### **1.2.3.MECANISMO MOLECULARES DE DETECCIÓN DE SABORES**

Como se mencionó anteriormente la detección de los sabores inicia cuando las moléculas sápidas interactúan con los diferentes receptores gustativos de membrana que se encuentran en las microvellosidades del corpúsculo gustativo, en función de la naturaleza del sabor el receptor pertenecerá ya sea a la familia de receptores tipo canal, en los sitios de unión para el ligando y un canal iónico forman un solo complejo macromolecular, o bien a la familia de receptores acoplados a proteínas G.

Esta detección de los diferentes sabores se efectúa cuando las moléculas sápidas interactúan con los distintos receptores que están presentes en las membranas de las células gustativas, a estos receptores se les denomina receptores gustativos de membrana (TRC's). Los corpúsculos gustativos se encuentran en el interior de las papilas gustativas, el número es variable y van de 50 a 100 corpúsculos dependiendo del tipo de papila y la especie de que se trate, los receptores se proyectan como

microvellosidades en la parte apical del corpúsculo gustativo, formando el poro gustativo (Ortiz y col., 2006; Nelson G. , 2001).

Los estímulos interpretados por el cerebro como modalidades básicas del gusto (salado, ácido, dulce, amargo y posiblemente umami) desencadenan una serie de reacciones químicas en las células gustativas de los botones gustativos (Smith y Margolskee, 2001). Las cinco vías bioquímicas asociadas cada modalidad se muestran en la figura 7.



**Figura 7.** Los mecanismos de transducción del gusto son diferentes para las distintas cualidades gustativas.

Todos los mecanismos de transducción excepto la acción del  $\text{IP}_3$  en sabor amargo produce despolarización, que se disemina hacia el extremo basal de la célula y abre canales de  $\text{Ca}^{2+}$ , con control de puertas por voltaje para permitir el ingreso de  $\text{Ca}^{2+}$  y la liberación de transmisores. (Tomada de W. Hill y col., 2006).

### **1.2.3.1. DETECCIÓN DEL SABOR SALADO**

El sabor salado de la comida se debe a la presencia de iones de sodio ( $\text{Na}^+$ ), o algunos otros cationes, que activan células receptoras específicas para el sabor salado (Fox y College, 2013). La detección de los estímulos salados se efectúa a través de la interacción de los iones sodio a canales iónicos sensibles a la amilorida (un guanidinio heterocíclico que bloquea reversiblemente los canales epiteliales de  $\text{Na}^+$ ) (Boughther, 1997). La acumulación de los iones ( $\text{Na}^+$ ) provoca un cambio electroquímico, una despolarización, que resulta en la entrada de iones de calcio ( $\text{Ca}^{++}$ ) en la célula. El calcio, a su vez incita a la célula a liberar neurotransmisores, mensajeros, químicos almacenados en vesículas. Las células gustativas vuelven a su estado, se repolarizan, mediante una serie de reacciones, la apertura de canales iónicos de potasio para facilitar la salida de los iones de potasio ( $\text{K}^+$ ) (Smith y Margolskee, 2001).

A pesar de que varias sales sódicas son saladas la intensidad de su percepción depende de la talla del anión unido, por ejemplo, el cloruro de sodio es más salado que el acetato de sodio a la misma concentración. Estas diferencias de salinidad se presentan posiblemente a las diferentes capacidades de los aniones de penetrar a las uniones fuertes, presentes en las células gustativas e interactuar con los canales basolaterales a través de la ruta paracelular (Ye y col., 1991; Elliott y Simon, 1990).

### **1.2.3.2. DETECCIÓN DEL SABOR ÁCIDO**

El sabor ácido, al igual que el sabor salado, se produce por movimientos de iones a través de canales de membrana. No obstante, el sabor ácido se debe a la presencia de iones hidrogeno ( $\text{H}^+$ ); todos los ácidos, por ende, saben ácidos, y el grado de acidez corresponde a la disminución del pH dentro de las células gustativas (Fox y College, 2013). Estos iones actúan de tres maneras en la célula gustativa: entran directamente en las células gustativas, bloquean los canales de potasio ( $\text{K}^+$ ) de las microvellosidades produciendo su apertura para permitir la entrada de otros iones

con carga positiva y la acumulación de cargas positivas despolarizan la célula y desencadena la liberación de neurotransmisores (Smith y Margolskee, 2001). En la lengua intacta de hámster, se ha demostrado el disparo de potenciales de acción en respuesta al ácido cítrico aplicado en el poro gustativo. La actividad eléctrica es inhibida por la amilorida.

La idea de que el mismo tipo de canales sensibles a la amilorida es responsable de la respuesta al  $\text{Na}^+$  y a los  $\text{H}^+$  es apoyada por el hecho de que la actividad eléctrica, evocada por ambos estímulos, es bloqueada por concentraciones similares de amilorida, y porque hay una interacción cuando ambos estímulos son aplicados simultáneamente. Esta hipótesis ha sido confirmada experimentalmente en células gustativas aisladas. Las corrientes de protones están restringidas a aquellas células gustativas que expresan canales de  $\text{Na}^+$  sensibles a la amilorida (Aguilar y col., 1995).

### **1.2.3.3. DETECCIÓN DEL SABOR DULCE**

A diferencia de las moléculas del sabor salado y ácido que son percibidos directamente en los canales iónicos, el azúcar o los edulcorantes sintéticos, no entran en las células gustativas, pero desencadenan cambios en el interior de las mismas (Smith y Margolskee, 2001).

La detección de los sabores dulce y umami es medida por una pequeña familia de receptores acoplados a proteínas G (GPCR's), los cuales se subdividen en T1R1, T1R2 y T1R3, los tres receptores anteriores se caracterizan por tener un dominio animo-terminal extracelular de gran tamaño (de 400 a 600 residuos), el cual constituyen un sitio de unión del ligando dulce, los receptores T1R están mayoritariamente presentes en las papilas fungiformes (Hoon y col., 1999), así mismo, las papilas fungiformes son particularmente sensibles a los sabores dulces. A nivel intracelular, todas vías de transducción de los receptores de los sabores

amargo y dulce conducen a un aumento del calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) intracelular seguido de la liberación de un neurotransmisor.

En el caso particular de los edulcorantes artificiales y azúcares, el aumento  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular es consecuencia de la activación de la enzima fosfolipasa C de tipo  $\beta_2$  ( $\text{PLC}_{\beta 2}$ ). Como parte de su activación enzimática, esta enzima cataliza la formación de diacilglicerol (DAG) y de inositoltrifosfato (IP3) a partir de fosfatidil inositol difosfato (PIP2) (Krizhanovsky y col., 2000). El gusto dulce está mediado con mayor frecuencia por la unión de azúcares con un receptor asociado con proteína G que actúan a través de una proteína G para activar a la adenilato ciclasa y producir AMP cíclico. Luego el AMP cíclico activa a la proteincinasa A (PKA) para cerrar un canal de  $\text{K}^+$  (mediante su fosforilación), lo que produce una despolarización (W.Hill y col., 2006). En papilas caliciformes de ratas, se ha demostrado recientemente que la sacarosa induce el aumento de la concentración intracelular de guanosin monofosfato cíclico (CGMP, por sus siglas en inglés) sugiriendo la existencia de una tercera vía de transducción intracelular de señales dulces (Krizhanovsky y col., 2000).

#### **1.2.3.4. DETECCIÓN DE SABOR UMAMI**

El término japonés “umami” es utilizado para designar una sensación gustativa diferente de la salada, ácida, amarga y dulce. El umami es un sabor distintivo de los espárragos, los tomates, el queso, el consomé de pollo y el extracto de carne (Damak y col., 2003).

El aminoácido glutamato (glutamato monosódico, GMS) estimula la percepción del sabor umami (una cualidad gustativa parecida a la carne). El glutamato se une a un receptor asociado con proteína G (relacionado con los receptores sinápticos metabotrópicos de glutamato) para activar una (PDE) y reducir la concentración de AMPc. La disminución de AMPc conduce a un aumento de la concentración intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  (W.Hill y col., 2006).

No se conoce aún con certeza las reacciones en cuya virtud los segundos mensajeros conducen a la liberación de los paquetes de neurotransmisores (Smith y Margolskee, 2001). Se sugirió la participación de una forma truncada en la parte N-terminal del receptor metabotrópico del glutamato del tipo 4(mGluR4t), en la percepción gustativa del L-glutamato (Chaudhari y col., 1996; Toyono y col., 2002). Recientemente, Toyono y col. (2003) estudio la expresión en las papilas gustativas de los otros dos miembros del grupo III de los receptores metabotrópicos de glutamato (mGluR): mGluR1y mGluR5. Si mGluR5 no se expresa, mGluR1 es intensamente expresado, particularmente a nivel de las microvellosidades de las células gustativas que emergen del poro del corpúsculo gustativo. La participación de mGluR1 en la percepción del umami es, por tanto, posible (Nelson y col., 2002; Li y col., 2002).

Las células que expresan la combinación de las subunidades T1R1+T1R3 responden a la estimulación con L-glutamato y la doble inactivación de la expresión de esos receptores in vivo, inhibe completamente las respuestas celulares al umami. Estos resultados sugieren fuertemente que la percepción gustativa del umami recae únicamente en la combinación de las subunidades T1R1+T1R3. La activación del receptor por el glutamato monosódico es seguida de una disminución de la concentración de AMPc intracelular conduciendo a una elevación de la concentración  $Ca^{2+}$ , que genera un impulso nervioso transmitido al sistema nervioso aferente (Zhang y col., 2003).

#### **1.2.3.5. DETECCIÓN DE SABOR AMARGO**

Al igual que el dulce y el umami, el sabor amargo como es la quinina también actúan a través de los receptores de acoplamiento de la proteína G y de segundos mensaje (Hill y col., 2004). Estos receptores pertenecen a la familia T2R compuesta por 40-80 miembros diferentes en el humano. Los receptores T2R se expresan preferencialmente en células gustativas de las papilas caliciformes y foliadas, raramente en células de papilas fungiformes (Adler y col., 2000; Meyerhof, 2005 ). Esta familia al igual que los receptores implicados en la detección del sabor dulce,

están acopladas a proteínas G, pero difieren en cuanto a su estructura molecular y a su modo de activación, los receptores T2R presentan una región amino-terminal extracelular más corta que los receptores de tipo T1R y el sitio de unión para las moléculas sápidas se encuentran en el dominio transmembranal del receptor (Matsunami y col., 2000).

En este caso, sin embargo, los mensajeros secundarios instan la liberación de iones de calcio del retículo endoplasmático. La acumulación de calcio resultante en las células conduce a la despolarización y subsiguiente liberación de neurotransmisores (Smith y Margolskee, 2001). Otras sustancias amargas se unen a los canales de K<sup>+</sup> y los cierran para despolarizar la célula.

#### **1.2.4. NEUROTRANSMISORES POSTULADOS EN LAS CÉLULAS GUSTATIVAS.**

La identidad de los transmisores de las células gustativas no se conoce. De lo poco que se ha estudiado, recientemente se encontró que las células basales tipo Merkel de los vertebrados inferiores y la tipo III de los mamíferos contienen serotonina. Las fibras aferentes parecen contener aminoácidos y péptidos y también se han encontrado catecolaminas en las papilas gustativas pero su localización precisa es incierta. Las evidencias que existen son las siguientes:

Aminoácidos. Tanto el glutamato como el GABA parecen ocurrir a altas concentraciones en los axones que inervan las papilas gustativas de necturus.

Acetilcolina. La evidencia más fuerte que existe en favor de este candidato es la demostración histoquímica de acetilcolinesterasa en las papilas gustativas de una variedad muy grande de especies. Sin embargo, dado que esta enzima también se asocia con estructuras colinérgicas, serían necesarias otras pruebas complementarias. Otra evidencia en favor de la teoría colinérgica fue el hallazgo de que las papilas gustativas de la rata el recambio del fosfatidilinositol se incrementó en

presencia de carbacol. Estos datos, sin embargo, no señalan si la acetilcolina se encuentra en las células gustativas o en las fibras aferentes.

Neuropéptidos. Se ha encontrado un buen número de péptidos neuroactivos tanto en las fibras que inervan a los receptores gustativos como en la cercanía de ellos. Así, en los axones se encontrado la sustancia P, polipéptido intestinal vasoactivo(VIP), péptido relacionado con el gen de la colecistocinina (CGRP), el péptido liberador de la gastrina. Sin embargo, estudios de microscopia electrónica en la rata indica que las fibras que contiene sustancia P, no hacen sinapsis con las células gustativas, sino que solamente pasan cerca. Esto sugiere que tanto la sustancia P como otros péptidos podrían actuar como neuromoduladores de la función gustatoria (Aguilar y col., 1995).

### **1.2.5.ALTERACIONES DEL SISTEMA GUSTATIVO**

La duración de la vida de las células gustativas es de 10 días; transcurridos estos, son sustituidas por células nuevas procedentes de la división de células epiteliales vecinas. Este proceso de renovación puede trastornarse por efecto de alteraciones nutricionales y hormonales, radiaciones, fármacos y procesos de envejecimiento. Las alteraciones del gusto dependen de la lesión de los centros, trayecto de los nervios o de la lengua misma, alteraciones de la saliva, trastornos psíquicos y por ultimo trastornos del olfato, pues en la práctica las sensaciones gustativas están muy asociadas a las olfativas (Jinich y col., 2013).

Los trastornos del gusto se diferencian según su manifestación en: ageusia, ausencia de la percepción de uno o más de los cuatros sabores básicos (dulce, salado, acido, amargo); hipogeusia, disminución en la percepción de los sabores; disgeusia, distorsión/ perversión del sabor de los alimentos al comer, descrito generalmente como sabor metálico, salado, dulzón, amargo, o agrio: parageusia, percepción de mal sabor de los alimentos, en vez de un sabor normal. Entre los agentes cardiovasculares es frecuente la manifestación de alteraciones del gusto,

principalmente entre los antidepresivos, hipolipemiantes y determinados antiarrítmicos (Calvo y Planas Vilá, 2008).

Así mismo en personas diabéticas tipo I y II, se ha reportado un elevado umbral en la detección de alimentos dulces (Le Floch y col., 1989). Por otro lado, ciertos tipos de obesidad en la cual se consume de indiscriminada alimentos ricos en grasas, se ha asociado a una disfunción de la percepción gustativa (Stolbova y col., 1999). La esquizofrenia, la enfermedad de Alzheimer y anorexia, son padecimientos que se acompañan de ageusia y anosmia debida a una carencia de zinc que afecta al sentido del gusto (Casper y col., 1980).

### **1.3. DIABETES**

La diabetes mellitus es uno de los problemas más graves de salud en nuestro país y de mayor demanda de atención en la consulta a los médicos (Gutiérrez y col., 2012). La diabetes es una enfermedad que con el tiempo se complica con otras afecciones como son la hipertensión arterial, la disminución de la visión (retinopatía diabética), la dificultad para cicatrizar las heridas, las alteraciones del sistema nervioso como perdida de la sensibilidad en los pies y manos (neuropatía), entre otras (Rivera Arce, 2000).

La diabetes mellitus es un trastorno generado por la deficiencia de la insulina, la cual es una hormona producida por el páncreas y necesaria para que el organismo pueda utilizar los hidratos de carbono que están presentes en nuestra alimentación. Debido a los cambios metabólicos que se presentan en la diabetes por insuficiencia en las concentraciones de insulina existen cambios en la degradación de carbohidratos.

Los síntomas y alteraciones más comunes en el diabético son: aumento de la sensación de sed (polidipsia), aumento del apetito (polifagia), orinar con mucha frecuencia (poliuria), cansancio, mal humor, contraer frecuentemente padecimientos

infecciosos, aumentar de peso (en la diabetes tipo II) o disminuir de peso (en la diabetes tipo I) (Rivera Arce, 2000).

La diabetes se puede clasificar en las siguientes categorías generales:

- La diabetes tipo 1 (debido a la destrucción de las células  $\beta$ , por lo general lleva a la deficiencia absoluta de insulina)
- La diabetes de tipo 2 (debido a un defecto de secreción de insulina progresiva en el fondo de resistencia a la insulina)
- La diabetes mellitus gestacional (DMG) (diabetes diagnosticada en el segundo o tercer trimestre de embarazo que no es claramente la diabetes manifiesta)
- Los tipos específicos de diabetes debido a otras causas, como los síndromes de la diabetes monogénicas (como la diabetes diabetes neonatal y de madurez de aparición de los jóvenes [MODY]), enfermedades del páncreas exocrino (como la fibrosis quística), y por fármacos o químico- diabetes inducida (como en el tratamiento del VIH / SIDA o después de trasplante de órganos) (Asociación Americana de Diabetes, 2015).

Los tipos de diabetes más comunes son el tipo 1 y 2 (Rivera Arce, 2000). El tipo de diabetes de un individuo depende a menudo en las circunstancias actuales en el momento del diagnóstico, y muchos individuos diabéticos no encajan fácilmente en una sola clase. Por ejemplo, una persona diagnosticada con diabetes mellitus gestacional (GDM), podría seguir siendo hiperglucémico después del parto y puede ser determinado que tienen, de hecho, diabetes tipo 2. Alternativamente, una persona que adquiere la diabetes debido a la gran dosis de esteroides exógenos puede convertirse en normoglucémica una vez que los glucocorticoides se suspenden, pero luego se puede desarrollar diabetes muchos años más tarde después de episodios recurrentes de pancreatitis. Otro ejemplo sería una persona tratada con tiazidas que desarrolla la diabetes en los últimos años. Porque las tiazidas en sí mismas rara vez causan hiperglucemia grave, tales individuos probablemente tienen diabetes tipo 2 que se ve agravada por tipo la droga (Asociación Americana de Diabetes, 2013).

### **1.3.1. DIABETES MELLITUS TIPO 1 (DM1)**

La hiperglucemia causada por la falta absoluta de insulina se conoce como diabetes mellitus tipo 1. Antes, este tipo se denominaba diabetes mellitus dependiente de insulina, ya que estos pacientes deben recibir remplazo de la hormona (Browder Lazendy, 2012).

La DM1 usualmente afecta a niños y adolescentes, presenta varias características que la hacen diferente a la diabetes mellitus tipo 2, que afecta generalmente a las personas adultas (Morla y Báez, 2004). Aparece debido a un defecto de las células del páncreas que les impide la adecuada producción de insulina; por lo tanto, las personas que padecen este tipo de diabetes necesitan inyecciones diarias de insulina (Rivera Arce, 2000).

Hay múltiples posibles factores de riesgo de DM1. El más destacable es la historia familiar de primer grado con esta enfermedad es diferente dependiendo del tipo de parentesco. En cuanto factores ambientales, se ha detectado un mayor de riesgo de DM1 asociado a factores como bajo peso al nacer, corta duración o ausencia de lactancia materna, introducción precoz de alimentación con albúmina bovina, tratamiento con suplementos de vitamina D, diversos tipos de vacunaciones, el estrés psicológico, la dieta con alto contenido en nitritos (Tebar y Escobar , 2009).

Esta forma de diabetes, representa sólo el 5-10% de las personas con diabetes, los resultados de un mediado celular es la destrucción autoinmune de las células  $\beta$  del páncreas. Los marcadores de la destrucción inmune de las células  $\beta$  incluyen autoanticuerpos células de los islotes, autoanticuerpos frente a la insulina, autoanticuerpos para GAD (GAD65), y autoanticuerpos a las tirosina fosfatasas IA-2 y IA-2b (Asociación Americana de Diabetes, 2013).

### 1.3.2. DIABETES MELLITUS TIPO 2 (DM2)

La resistencia corporal a las acciones de la insulina conlleva a la hiperproducción de esta hormona en el páncreas, lo que se denomina síndrome de resistencia a la insulina. A este síndrome clásicamente se le denominaba diabetes mellitus no insulino dependiente (DMNID) (Gil, 2010). La fisiopatología de la DM tipo 2 es compleja e implica la interacción de factores ambientales (consumo calórico excesivo y la sedentaria) y genéricos, aunque existen 3 alteraciones constantes:

- Resistencia a la acción de la insulina en los tejidos periféricos: músculos, grasa y especialmente el hígado.
- Secreción alterada de la insulina en respuesta al estímulo con glucosa.
- Producción aumentada de glucosa por el hígado.

Si exceptuamos las formas monogénicas específicas de enfermedad que pueden ser el resultado de defectos que están confinados a las vías de regulación de la acción de la insulina en el músculo, el hígado o la grasa o de los defectos de la secreción de la insulina en las células  $\beta$  del páncreas, no se conoce la forma de interacción de los factores genéticos, medioambientales y fisiopatológicos para desencadenar el inicio de la DM tipo 2 (Arce y Col., 2006).

La DM2 es la forma más frecuente de diabetes; aparece en la edad adulta. Frecuentemente se le relaciona con la obesidad y los antecedentes hereditarios, es decir, si una persona padece obesidad y tiene algún familiar diabético, lo más probable es que esa persona (incluyendo a su descendencia) tenga predisposición a padecer diabetes. Sin embargo, este riesgo se puede disminuir tomando las medidas dietéticas necesarias para reducir de peso corporal (Rivera Arce, 2000).

Datos recientes atribuyen a los elevados niveles de expresión del factor alfa de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) y una nueva proteína denominada “resistina” en los adipocitos como la causa de la resistencia. Cuanto mayor es la masa del tejido adiposo, mayor es la producción de TNF- $\alpha$  y resistina las cuales actúan

desequilibrando la función del receptor de la insulina. Se ha establecido una relación inversa entre los niveles de insulina y el número de los receptores de la insulina. Cuando más elevado es el nivel basal de insulina, menor es número de receptores en las membranas plasmáticas (Devlin, 2004).

Esta forma de la diabetes con frecuencia no se diagnostica durante muchos años debido a que la hiperglucemia se desarrolla gradualmente y en etapas anteriores es a menudo no lo suficientemente grave como para que el paciente note alguno de los síntomas clásicos de diabetes. Sin embargo, estos pacientes son en mayor riesgo de desarrollar complicaciones macrovascular y microvasculares(American Diabetes Association, 2013).

### **1.3.3.DIABETES MELLITUS GESTACIONAL**

La diabetes durante el embarazo es un factor de riesgo para el desarrollo de complicaciones en la madre y en la descendencia:

- Sobre la propia gestación: infecciones urinarias, candidiasis vaginal, estados hipertensivos del embarazo y prematuridad.
- Sobre el feto y el neonato: la diabetes pregestacional (DPG) se relaciona con mayor incidencia de malformaciones y/o abortos (periodo de organogénesis) y de crecimiento intrauterino retardado en situaciones de vasculopatía (Figuerola y col., 2011).

La diabetes gestacional aparece durante el séptimo mes de embarazo y termina con el parto. El 2% de la mujeres embarazadas la presenta de manera temporal y un poco menos de esta cantidad tiene la posibilidad de desarrollo DM de manera permanente. Existe condiciones de riesgo como obesidad (un sobrepeso mayor de 12 kg), abortos espontáneos, antecedentes de diabetes gestacional y glucemia mayor de 105mg/ 100ml. En la actualidad se recomienda que toda mujer embarazada se someta a pruebas diagnósticas entre las semanas 24 a 28 de gestación para descartar la posibilidad de padecer diabetes (Rivera Arce, 2000).

En la mayoría de las pacientes con DMG, los niveles de glucosa se pueden controlar con terapia dietética sola; la insulina se administra cuando el nivel de glucosa excede las recomendaciones estándar (glucosa en plasma, en ayunas, por debajo de 105 mg/ dl o valor postprandial a las 2 horas por debajo 120 mg/ dl) (Avery y Col., 2001).

#### **1.3.4. DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL (DME)**

Los modelos animales han sido ampliamente utilizados en la investigación de la DM, desde 1922 se han usado una variedad de animales para la implementación de DME. Los modelos animales de DME han sido la clave para el desarrollo de los agentes terapéuticos orales, tratamiento láser para la retinopatía diabética, trasplante de tejido pancreático y la utilización de la bomba de insulina para liberar gradualmente la misma. Estos modelos han contribuido de gran manera al estudio de la DM y han dado la oportunidad de estudiar los factores genéticos y ambientales que pueden influir en el desarrollo de esta enfermedad, en el establecimiento de sus complicaciones y también nos han dado información de cómo manejar y tratar la DM en humanos. La mayoría de los experimentos se llevan a cabo en ratas; sin embargo, otras especies son utilizadas, incluyendo conejos, ratas, vacas, perros y ovejas. Los modelos animales de diabetes pueden ser espontáneos o usando sustancias químicas, cirugías o manipulación genética, cada uno de los modelos tiene ventajas y desventajas, pero todos son usados de una manera distintas para apoyar la investigación acerca de la DM (Chatzigeorgiou, 2009).

El uso de animales con fines experimentales siempre se ha encontrado con una respuesta negativa del público, especialmente sobre la base de razones éticas y religiosas. Estos esfuerzos se han dirigidos a la formación gradual de la legislación para la protección de los animales utilizados para propósitos de experimentación. Sin embargo, estos experimentos han contribuido significativamente a incrementar el conocimiento científico de la biología humana, la fisiología, endocrinología y farmacología. Los resultados de estos experimentos a menudo no se extrapolaron a

los seres humanos, además de que también se han realizado esfuerzos para reducirlos, incrementando la normativa y el control sobre ellos. La ciencia derivada de los estudios en animales de laboratorio se pueden definir como un campo profesional que se centró en cuestiones de uso científico, ético y legal de los animales para la investigación biomédica, es decir, es una ciencia interdisciplinaria que involucra datos biológicos y pato biológicos para un óptimouso científico de animales como modelos para los seres humanos u otras especies .La condición básica para el uso de animales con fines experimentales es una formación competente del investigador, que incluya un sólido conocimiento sobre las necesidades biológicas, cuidado y manejo de animales (Lukacinova y col., 2013).

Una diferencia muy importante entre los animales de experimentación y las poblaciones humanas es su variabilidad genética. Los animales experimentales son genéticamente casi idénticos, en contraste con el hombre con el cual exhiben una gran variabilidad. Por tanto, es posible establecer normas precisas para la extrapolación de los resultados de una especie a otra especie, aunque en la literatura se han hecho para ciertos procedimientos (Calabrese, 1991).

El uso de agentes químicos para producir diabetes, permite realizar estudios detallados de los eventos bioquímicos y morfológicos que ocurren durante y después de la inducción de un estado diabético (Rerup, 1970). Existen varias clases de agentes químicos. Los primeros son sustancias con citotoxicidad específica que destruyen a las células  $\beta$  del páncreas y causa un estado de deficiencia primaria de insulina. El segundo grupo lo constituyen agentes que actúan sobre las células  $\beta$  pero no las destruye. Una tercera clase incrementa los requerimientos endógenos de insulina, debilitan al páncreas y como consecuencia se produce diabetes. Este último grupo incluye a las hormonas antagonistas de la insulina, anticuerpos anti-insulina y algunos agentes quelantes, en particular del zinc (Kadotal, 1950; Epan y col., 1985).

Estudios en modelos animales han demostrado que existe una reducción en la síntesis de 5-HT en ratas con diabetes inducida con STZ y en ratas diabéticas tipo 1

BB (una cepa que desarrolla espontáneamente DM1 debido a una destrucción inmunitaria de las células  $\beta$ -pancreáticas). En estos modelos se han comunicado concentraciones alteradas de triptófano, 5-HT y ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) en el estriado, y una reducción del metabolismo de 5-HT en el sistema mesolímbico. Otros autores han notificado que, a pesar de tener niveles bajos de triptófano, el contenido de 5-HT y 5-HIAA en las ratas diabéticas es normal, aunque se ha sugerido que los defectos son funcionales y que la anormalidad se halla en una disminución de la sensibilidad a los agonistas de la 5-HT en los efectos conductuales (Castillo y col., 2010).

## **1.4. SISTEMA SEROTONINÉRGICO**

El sistema serotoninérgico es un sensor antiguo que determina la señalización de los estímulos y molecular en eucariotas unicelulares, plantas y animales. Es muy importante para la expresión regulada del material genético en cada célula y una "lección de regulación" aprendida a lo largo de los años, de que los pequeños metabolitos son señales reguladoras a menudo en la expresión del gen de control. Para la biosíntesis de "cara", como el requerido para el triptófano precursor de la serotonina, es una vía común que se encuentra en organismos que se aprovechan de las estructuras aromáticas; el triptófano sirve como el precursor no solamente de la serotonina, sino que también de compuestos muy importantes como la niacina en eucariotas, del ácido indolacético en plantas y el indol en bacterias. Las estrategias regulatorias podrían ser compatible con otros objetivos metabólicos como organismos evolucionados capaz de obtener triptófano por la alimentación, con específica transportadores de membrana de plasma (Berumen y col., 2012).

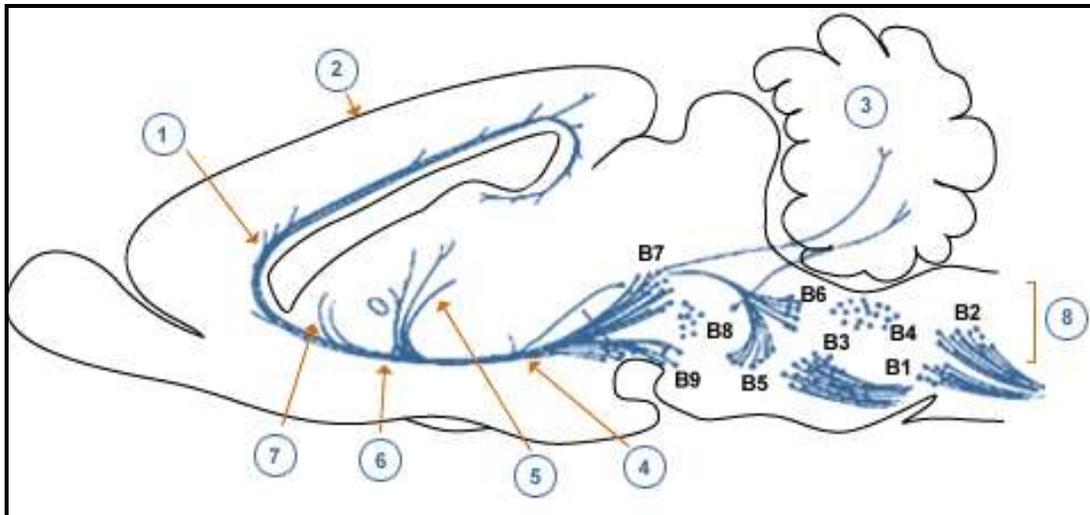
El neurotransmisor específico para este sistema serotoninérgico es la serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT). La 5-HT se ha reconocido por más de 50 años como efectores en diversos tipos de músculos lisos, se encuentra en grandes concentraciones en las células enterocromafines de todo el tubo digestivo, las plaquetas y regiones específicas del SNC (Hardman y col, 2005).

### **1.4.1.BASES ANATÓMICAS DEL SISTEMA SEROTONINÉRGICO.**

En el SNC, las neuronas que contienen 5-HT están agrupadas en la línea media a nivel del tallo cerebral, en los llamados núcleos de rafe (Hernández, 2002).

La presencia de serotonina en el encéfalo ha sido demostrada por métodos biológicos y químicos. Las técnicas de inmunohistofluorescencia han permitido a Dahlström y Fuxe la localización de los cuerpos neuronales y las vías ascendentes y descendentes de este sistema, que se describen a continuación:

- a) Vías serotoninérgicas descendentes: los cuerpos neuronales que las originan se localizan en los denominados núcleos caudales del rafe ubicados en el bulbo raquídeo y protuberancia. En ellos se destacan los grupos celulares B1, B2, B3 y B5 que constituyen, respectivamente, los siguientes núcleos: el núcleo del rafe pallidus, el núcleo del rafe oscurus, el núcleo del rafe magnus y el núcleo del rafe pontino.
- b) Vías serotoninérgicas ascendentes: las neuronas de las que se originan este sistema se localizan en los llamados núcleos rostrales del rafe. Se pueden describir tres vías ascendentes principales: una dorsal, otra medial y otra ventral. La primera, parte del núcleo del rafe dorsalis (B7) y sus fibras se proyectan hacia el complejo caudado-putamen alcanzando algunas fibras, el núcleo acumbens y el globuspallidus. La vía ascendente medial también se origina en el área B7 y se proyecta en la sustancia nigra. Finalmente, la vía ascendente ventral se proyecta del núcleo mes encefálico del rafe (B8) y sus fibras se dirigen por el haz prosencefálico medial al hipotálamo (Elias Nahmod, 1985) (Figura 8).



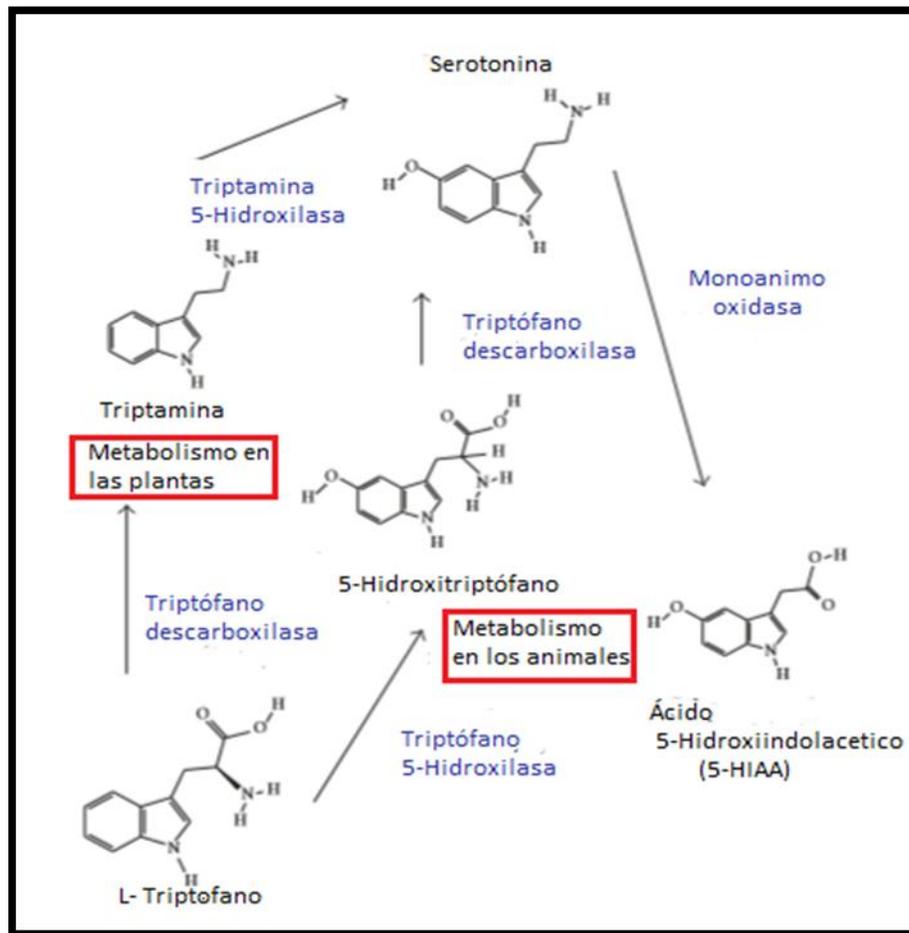
**Figura 8.**Ubicación y distribución de los núcleos del rafe en el encéfalo.

(1) Cingulum (2) Corteza cerebral (3) Cerebelo (4) Haz medial del cerebro anterior (5) Estría terminal (6) Fornix (7) Núcleo caudado (8) Hay definidos 9 núcleos rafe (palidus(B1), obscuro (B2), paragigantuscelularis (B3), magnus (B4), pontis (B5), dorsalis (B6,B7), centralis superior (B8), tegmental reticular del puente (B9)).(Tomada de Belmar y col. , 2007).

La amplia distribución de las vías serotoninérgicas y su multiplicidad de receptores (alrededor de 15 subtipos) indican su participación en diversas funciones. Así, animales tratados con PCA (p-clorofenilalanina, inhibidor de la síntesis de 5-HT) presentan alteraciones severas del sueño. Por otra parte, la lesión de las neuronas serotoninérgicas con 5,7- dihidroxitriptamina causa además activación motora y un marcado aumento de la irritabilidad y agresividad. Mediante fármacos específicos para los distintos subtipos de receptores serotoninérgico se ha podido demostrar que la 5-HT participa en el control de la temperatura (aumento a través de receptores 5-HT<sub>2</sub>, reducción a través de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>), actividad sexual (inhibida al aumentar el tono serotoninérgico), secreción hormonal (estimula la producción de prolactina, hormona del crecimiento, cortisol, factor liberador de corticotropina) (Artigas, 1997).

## 1.4.2. BIOSÍNTESIS DE LA SEROTONINA

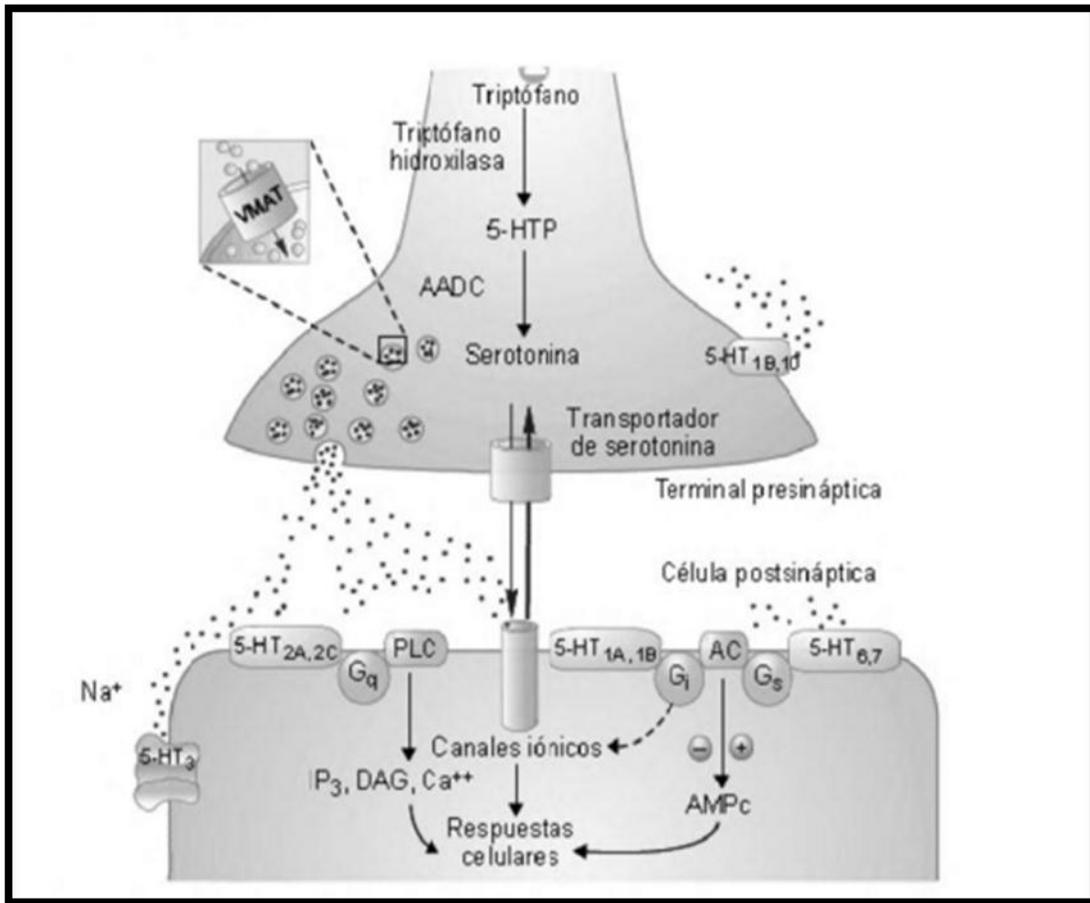
La síntesis de 5-HT comienza con la ingestión dietética de L-triptófano, un aminoácido esencial. Los alimentos ricos en L-triptófano incluyen claras de huevo, bacalao, chocolate, productos lácteos (yogur, quesos, leche), varias carnes y nueces. El destino de triptófano se encuentra en las actividades comparativas de las enzimas dioxigenasaindolamina (IDO)/dioxigenasa triptófano y triptófano hidroxilasa (TPH). La gran mayoría del triptófano es manejado por IDO/TPH, un estimado de 5 a 10% de triptófano se transportó a través de la vía 5-HT/TPH (Stone y Darlington, 2002). Durante la última década, en el campo de la investigación se ha reconocido dos formas independientes de TPH, el TPH<sub>1</sub> y el TPH<sub>2</sub>. El TPH<sub>1</sub> se expresa principalmente en los tejidos periféricos, mientras que TPH<sub>2</sub> se expresa principalmente en el sistema nervioso central. Esta enzima, dependiente del importante cofactor tetrahidrobiopterina, compromete triptófano para la síntesis de 5-HT mediante la conversión de triptófano en 5-hidroxitriptófano. A continuación, una multitud de descarboxilasas de aminoácidos aromáticos, puede convertir 5-HTP en 5-HT. La 5-HT se convierte rápidamente por la monoamino oxidasa y aldehído deshidrogenasa de 5-hidroxiindol ácido acético, un metabolito estable (Figura 9). En sí el 5-HT también se puede convertir en melatonina (Stone y Darlington, 2002).



**Figura 9.**Metabolismo de la serotonina.

El triptófano es el precursor para la síntesis de serotonina, con diferentes reacciones enzimáticas en planta y animales; hidroxilación es el paso limitante de la velocidad mediada (enzima por triptófano hidroxilasa en animales o triptaminahidroxilasa en las plantas), mientras que la descarboxilación es una conversión rápida por la descarboxilasa de aminoácidos aromáticos (descarboxilasa triptófano). El metabolito de la serotonina es catabólico ácido 5-hidroxiindolacético, a través de 5-hidroxiindolacetaldehído enzimáticamente es convertido por la unión a la membrana mitocondrial flavoproteína de la monoamino oxidasa.(Imagen modificada de Berumen y col., 2012).

La serotonina recién formada se acumula con rapidez en las vesículas sinápticas, sitio que la protegen de la monoamino oxidasa (MAO). Los neurotransmisores, en este caso la serotonina se descarga o libera en la hendidura sináptica por el flujo de los impulsos nerviosos, y parte de esta se vuelve a acumular en la terminación presináptica gracias a la acción de un portador dependiente de  $\text{Na}^+$ , el transportador de 5-HT, localizado en la membrana exterior de las terminaciones axonianas serotoninérgicas y en las plaquetas por donde esta lo captan ya que no cuenta con enzimas requeridas para su síntesis (Mercado y Kilic, 2010)(Figura 10).



**Figura 10.** La sinapsis serotoninérgica.

El neurotransmisor es sintetizado a partir del triptófano en un proceso de dos pasos que involucra a las enzimas triptófano hidroxilasa y el aminoácido aromaticodescarboxilasa (AADC). En el espacio sináptico puede ser monoaminas (VMAT). Se muestran también los receptores metabotrópicos postsinápticos 5-HT tipo 1A, 1B, 2C, 4, 6 y 7, y los receptores presinápticos tipo 1D y también el receptor inotrópico tipo 3. En el terminal presináptico, la 5-HT puede ser degradada por la enzima monoaminoxidasa (MAO) (no indicado), produciéndose el ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA). Otras abreviaturas: AC-adenilciclasa; AMPc- adenosinamonofosfato cíclico; PLC-fosfolipasa C; IP<sub>3</sub>-inositoltrifosfato; DAG- diacilglicerol; G<sub>s</sub> y G<sub>i</sub>-proteína G estimuladoras e inhibidoras de la adenilciclasa (AC); G<sub>q</sub>-proteína G estimuladora de la fosfolipasa. (Tomada de Balada y col., 2012).

El L-Trp, aminoácido esencial en el organismo, se encuentra en fracciones del plasma, el 90% unido a la albumina y el otro 10% se encuentra en forma libre. La relación que guarda estas dos fracciones es la que determina que la fracción libre ingrese al cerebro a través de la BHE, para estimular o disminuir la síntesis de serotonina. Por ejemplo, la administración de precursores metabólicos, L-Trp y 5-HTP, y la desnutrición en ratas, incrementan los niveles de serotonina cerebral, así como la actividad de la bomba de sodio y potasio (Hernández, 1979).

Hasta la fecha, la serotonina es el neurotransmisor más estudiado dentro de la papila gustativa con los existentes datos anatómicos, fisiológicos y farmacológicos. La serotonina se expresa en un subconjunto de tipo III de las papilas gustativas de TRC en las papilas caliciformes y foliadas de ratón, rata, conejo y el mono. Teniendo en cuenta su posible papel como transmisor con la fibra aferente, informa que las TRC responden a la estimulación serotoninérgica de manera inesperada, así como a la inhibición de una corriente de potasio activado por calcio y de la corriente de sodio dependiente de voltaje. Ambos fueron imitados por los agonistas de la 5-HT<sub>1A</sub> subtipo de receptor. Estos datos implican que la serotonina también puede jugar un papel paracrina en el procesamiento de información dentro de la papila gustativa (Kaya y col., 2004).

En los mamíferos, muchas de las células gustativas que hacen sinapsis con las fibras nerviosas son serotoninérgico: ocupan el precursor de la serotonina 5-hidroxitriptófano (5-HTP) y son inmunopositivos de 5-HT. Datos de PCR con transcripción inversa indican que 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>3</sub> receptores se expresan en el tejido gustativo, con la 5-HT<sub>1A</sub> receptores con las que se encuentran en las células gustativas y 5-HT<sub>3</sub> receptores que se encuentran en las fibras aferentes primarias sensoriales (Huang y col.,2005).

### **1.4.3.RECEPTORES SEROTONINÉRGICOS**

Los receptores serotoninérgicos representan productos génicos separados y diferentes. Pueden dividirse en, al menos, siete clases, las cuales se designan de 5-HT<sub>1</sub> a 5-HT<sub>7</sub> (Tabla 1). Las clases 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub> y 5-HT<sub>5</sub> comprenden, a su vez, cinco (5-HT<sub>1A</sub> a 5-HT<sub>1F</sub>), tres (5-HT<sub>2A</sub> a 5-HT<sub>2C</sub>) y dos (5-HT<sub>5A</sub> a 5-HT<sub>5B</sub>) subtipos, respectivamente, mientras que las clases 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>6</sub> y 5-HT<sub>7</sub> constan, hasta el momento, de un subtipo cada una. Excepto el receptor 5-HT<sub>3</sub>, todos los demás están relacionados estructuralmente con la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G. los receptores 5-HT<sub>5</sub> no están aun completamente caracterizados (Lorenzo y col. , 2008).

**Tabla 1.** Tipos y subtipos de receptores serotoninérgicos.

Tipo	Localización	Respuesta	Agonistas	Antagonistas
5-HT <sub>1A</sub>	Cerebro: sistema límbico, corteza y núcleos del rafe	Ansiólisis Aumento de secreción (ACTH) hipotermia	Buspirona 8-OH-DPAT Gepirona	WAY 100,635
5-HT <sub>1B</sub>	Cerebro: ganglios basales, estriado, corteza frontal, musculo liso vascular	Analgesia, hipofagia hipotermia y vasoconstricción	Sumatriptan, zolmitriptan	SB 216641 SB 272183
5-HT <sub>1D</sub>	Cerebro: núcleo dorsal del rafe, corazón,	Analgesia, disminución extravasación de proteínas plásticas y disminución de liberación de neuropéptidos	Sumatriptan, zolmitriptan	BRL-15572
5-HT <sub>1E</sub>	Cerebro: corteza frontal	Desconocido	Desconocido	Desconocido
5-HT <sub>1F</sub>	Cerebro: núcleo dorsal del rafe, hipocampo, corteza, tálamo e hipotálamo	Analgesia	LY334370	Desconocido
5-HT <sub>2A</sub>	Cerebro: corteza, ganglios basales, musculo liso vascular, uterino y bronquial, plaquetas	Aumento de secreción hormonal: ACTH, corticoesterona, oxitosina.	DOI	MDL100,907 Ketanserina
5-HT <sub>2B</sub>	Fundus gástricos, musculo liso vascular y no vascular, medula espinal, cerebelo	Aumento de motilidad intestinal, ansiólisis, hiperfagia	$\alpha$ -melit-5HT metoxitriptamina	SB 200646 SB 204741
5-HT <sub>2C</sub>	Cerebro y medula espinal	Hipofagia, hipoactividad, ansiedad	Ro600175	Mesulergina
5-HT <sub>3</sub>	Neuronas entéricas, neuronas sensitivas nociceptivas	Emesis, náuseas, regulación de motilidad y secreción intestinal	SR57227m-clorofenil	Granisentron, Ondancentron
5-HT <sub>4</sub>	Tubo digestivo, corazón, cerebro	Aumento de motilidad y secreción efecto intestinal inotrópico y cronotrópico positivos	Cisaprida, Tegaserod	GR 113808
5-HT <sub>6</sub>	Cerebro: estriado, amígdalas, núcleo accumbens	Aumento de neurotransmisión colinérgica central	Desconocido	RO 630563 SB 271046
5-HT <sub>7</sub>	Musculo liso vascular y no vascular Cerebro: sistema límbico, tálamo y corteza	Relajación musculo liso vascular	Desconocido	SB 258719 SB 269970

Las consecuencias fisiológicas de la liberación de 5-HT varían con la región del encéfalo y el elemento neuronal participante, lo mismo que con la población de subtipos de receptores de la 5-HT expresados. La 5-HT tiene acciones excitadoras e

inhibidoras directas (Tabla 2), que pueden ocurrir en la misma preparación, pero con esquemas temporales diferentes (Brunton y Laurence , 2012).

**Tabla 2.** Efectos Electrofisiológicos de los receptores de 5-HT

SUBTIPO	REACCIÓN
5-HT <sub>1A, B</sub>	Incremento de la conductancia de K <sup>+</sup> , hiperpolarización.
5-HT <sub>2A/ 5-HT<sub>2C</sub></sub>	Disminución de la conductancia de K <sup>+</sup> , despolarización lenta.
5-HT <sub>3</sub>	Compuerta de Na <sup>+</sup> y K <sup>+</sup> , despolarización rápida.
5-HT <sub>4</sub>	Disminución de la conductancia de K <sup>+</sup> , despolarización lenta.

## 1.5. AGONISTAS DE LOS RECEPTORES DE 5-HT

Químicamente, los agonistas serotoninérgicos comprenden un grupo heterogéneo de compuestos con distintos grados de selectividad. Así, los derivados de la propia serotonina resultantes del cambio del grupo hidroxilo por otros grupos, suelen presentar actividad agonista en distintos grados de potencia y de selectividad.

Los agonistas directos de los receptores de 5-HT poseen estructura química distintas y diversas propiedades farmacológicas, tal y como podemos pronosticar a partir de los múltiples subtipos de receptores de 5-HT. Los agonistas selectivos de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> han ayudado a conocer las funciones de este receptor en el cerebro y el resultado ha sido la creación de una clase de fármacos contra la ansiedad de comprenden a la *buspirona* y otros medicamentos en investigación, como *gepirona* e *ipsapirona*. Los agonistas selectivos de los receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> como el *sumatriptan*, poseen propiedades singulares que tienen como resultado la contracción de los vasos sanguíneos intracraneales y son efectivas en el tratamiento de la jaqueca aguda. Actualmente se están fabricando diversos agonistas selectivos de los receptores de 5-HT<sub>4</sub> para el tratamiento de los trastornos digestivos (Brunton y Laurence, 2012).

Estudios farmacológicos con agonistas serotoninérgicos que activan a la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa y antagonistas que neutralizan dicho efecto, ha permitido inferir que la

actividad de la enzima cerebral es regulada a través de un receptor específico de la serotonina (Fillion y col., 1982).

### **1.5.1. AGONISTAS DE LOS RECEPTORES 5-HT<sub>1</sub> Y 5-HT<sub>1A</sub>**

Los agonistas selectivos del receptor 5-HT<sub>1</sub> (Los triptanos) son mejores que los alcaloides del *ergot* para eliminar el ataque agudo de migraña. Los triptanos son moléculas químicamente parecidas a la 5-HT y por tanto son agonistas serotoninérgicos (Sanchez Sendra, 2014).

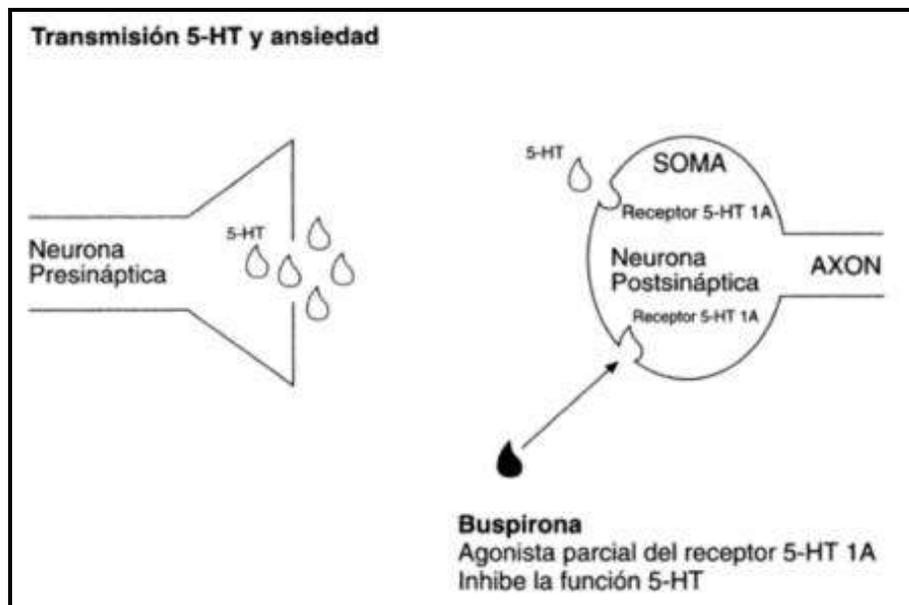
Los efectos farmacológicos selectivos de los triptanos en los receptores 5-HT<sub>1</sub> han permitido comprender gran parte de la fisiopatología de la jaqueca. Los compuestos existentes son almotriptán, eletriptán, frovatriptán, sumatriptán y Zolmitriptán (Brunton y Laurence, 2012).

La serotonina (5-HT) es un poderoso agonista vasoconstrictor en la mayoría de las arterias de distintos lechos vasculares. Este efecto es mediado principalmente por receptores actualmente denominados 5-HT<sub>2A</sub> y 5-HT<sub>1</sub>. En diferentes arterias se ha observado que concentraciones efectivas mínimas de 5-HT se caracterizan por producir un aumento de la respuesta contráctil a un segundo agonista. Entre ellos, de la Lande y col, describieron por primera vez el incremento de las respuestas contráctil a noradrenalina (NA) por administración previa de 5-HT en la arteria perfundida de la oreja de conejo (Rothlin y col., 1995).

Otros compuestos presentan selectividad por alguno de los receptores del tipo 5-HT<sub>1</sub>. Es la 8-hidroxi-2-dipropilaminotetralina (8-OH-DPAT) es selectiva a los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, mientras que la 3-clorofenilpiperazina (m-CPP) y la mesulergina son selectivas de los receptores 5-HT<sub>1C</sub>. Estos compuestos no se emplean como fármacos, sino como herramientas farmacológicas para la identificación de esos receptores (Delgado y col., 2003).

*8-hidroxi- (2-N, N-diprolamino)-tetralina (8-OH-DPAT)*. La 8-OH-DPAT no interactúa con otros miembros de la subfamilia de receptores 5-HT<sub>1</sub>, ni con los receptores 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub> o 5-HT<sub>4</sub> aunque se ha descrito la activación del receptor 5-HT<sub>7</sub>. La 8-OH-DPAT, reduce la velocidad de la descarga de las células del rafe al activar a los autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub> e inhibe la descarga neuronal en los campos terminales (Brunton y Laurence , 2012).

*Buspirona*. Una serie de arilpiperazinas de cadena larga, como la buspirona, gepirona e ipsapirona, son agonistas parciales selectivos de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> (Figura 11). La buspirona tiene propiedad ansiolíticas de las benzodiazepinas pero no interactúan con los receptores GABA ni presenta propiedades sedantes y anticonvulsivas de las benzodiazepinas (Brunton y Laurence , 2012).



**Figura 11.** La Buspirona agonista de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>.

Un exceso de funcionalismo serotoninérgico se ha asociado a incrementos de la ansiedad. La buspirona, agonista parcial de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, estimula dichos receptores con menor potencia que la serotonina (5-HT), lo que hace que el resultado neto sea el de una menor estimulación de la neurona postsináptica, o sea, una disminución de la función serotoninérgica y disminución de la ansiedad. (Tomada de Fernández Teruel, 2008).

## 1.6. BOMBA DE SODIO Y POTASIO

### 1.6.1.FUNCIÓN Y ESTRUCTURA

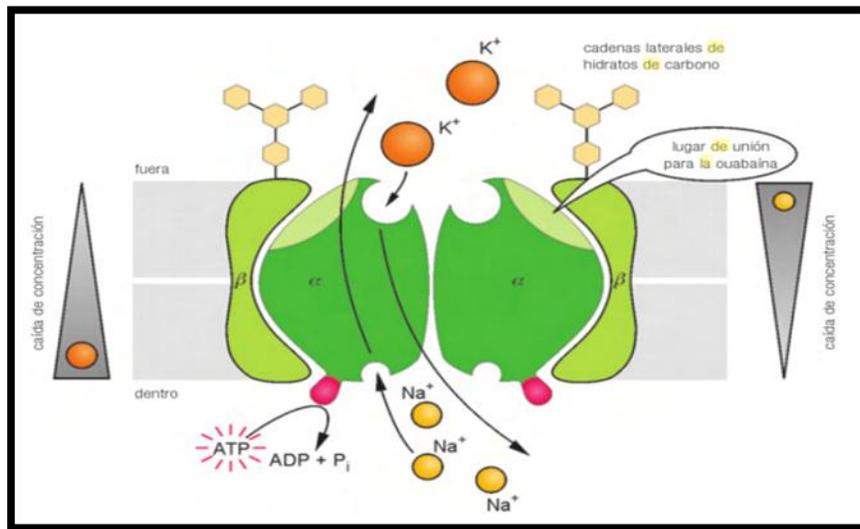
La bomba de sodio y potasio ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa, sodio-potasio adenosintrifosfatasa, EC 3.6.1.37) es uno de los sistemas de transporte activo que se estudian más ampliamente de las membranas celulares. Esta proteína se aisló por primera vez en 1957 por Jens Skou, a partir de lo cual la investigación ha determinado muchos de los aspectos estructurales y funcionales de la enzima (Skou, 1992). La típica baja relación  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  del espacio intracelular depende de la actividad de la bomba de sodio y potasio, una enzima asociada a la membrana que utiliza la energía de la hidrólisis del AdenosinTrifosfato (ATP) para el transporte de 3  $\text{Na}^+$  del interior de la célula a cambio de 2 $\text{K}^+$  del espacio extracelular (Blanco, 1992; Blanco, 2005).

La  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa localizada en células nerviosas pueden llegar a acaparar dos tercios del total de la energía celular en forma de ATP para realizar su función, con lo que restablece el potencial eléctrico de membrana, mantiene los gradientes de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  a través de la bicapa lipídica, controla el pH y el volumen celular, además proporciona la fuerza impulsora para el transporte de otros solutos con ayuda de  $\text{Na}^+$ , como iones de glucosa y agua (Esquivel y col. 2012). Se trata de un heterotetrámero de dos grandes subunidades  $\alpha$  catalítica y dos  $\beta$  cadenas adicionales (Muller S., 2008) (Figura 12) y una proteína accesoria la subunidad  $\gamma$  (Therien y Blostein, 2000).

La subunidad  $\alpha$  es la subunidad catalítica que promueve la hidrólisis de ATP mientras se fosforila, así mismo esta subunidad tiene los sitio de unión para  $\text{Na}^+$  y para el ATP en la superficie intracelular, en la porción extracelular de la enzima se encuentra el dominio de unión para  $\text{K}^+$  y algunos esteroides cardiotónicos como la ouabaina. La subunidad  $\beta$  una glicoproteína auxiliar, posee una única hélice transmembranal y un gran dominio extracelular, tiene la función de estabilizar la subunidad  $\alpha$ , facilitar su encaminamiento y la inserción en la membrana celular (Jorgensen y col., 2003). Hallazgos recientes señalan que las subunidades beta tienen un papel crucial en la

maduración estructural y funcional de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa y modulan sus propiedades de transporte. La función de chaperón de la subunidad  $\beta$  es esencial, por ejemplo, en la formación de uniones estrechas y la polaridad celular. Estudios recientes sugieren que las subunidades beta también tienen funciones inherentes, que son independientes de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa actividad y que puede estar implicado en la adherencia célula-célula y en la supresión de la motilidad celular (Geering y Kathi, 2008).

Otra subunidad asociada a la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa es una proteína de la familia FXYP, documentada como subunidad  $\gamma$ , se ha observado que esta tiene una interacción de forma no covalente con la enzima aumentado la afinidad por el  $\text{Na}^+$ , se ha documentado que modifica el voltaje dependiente  $\text{K}^+$ , esta subunidad es una proteína accesoria pero no forma parte de la estructura del heterodímero (Feschenko y Col., 2003), es una proteína de la membrana de un solo tramo de tipo I con el amino terminal expuesta fuera de la célula. Sobre la base de la homología de la secuencia, de la subunidad- $\gamma$  pertenece a una familia de pequeñas (de 7,5 a 19-kDa) proteínas de la membrana de un solo tramo, la familia FXYP (Arystarkhova y col., 2002).

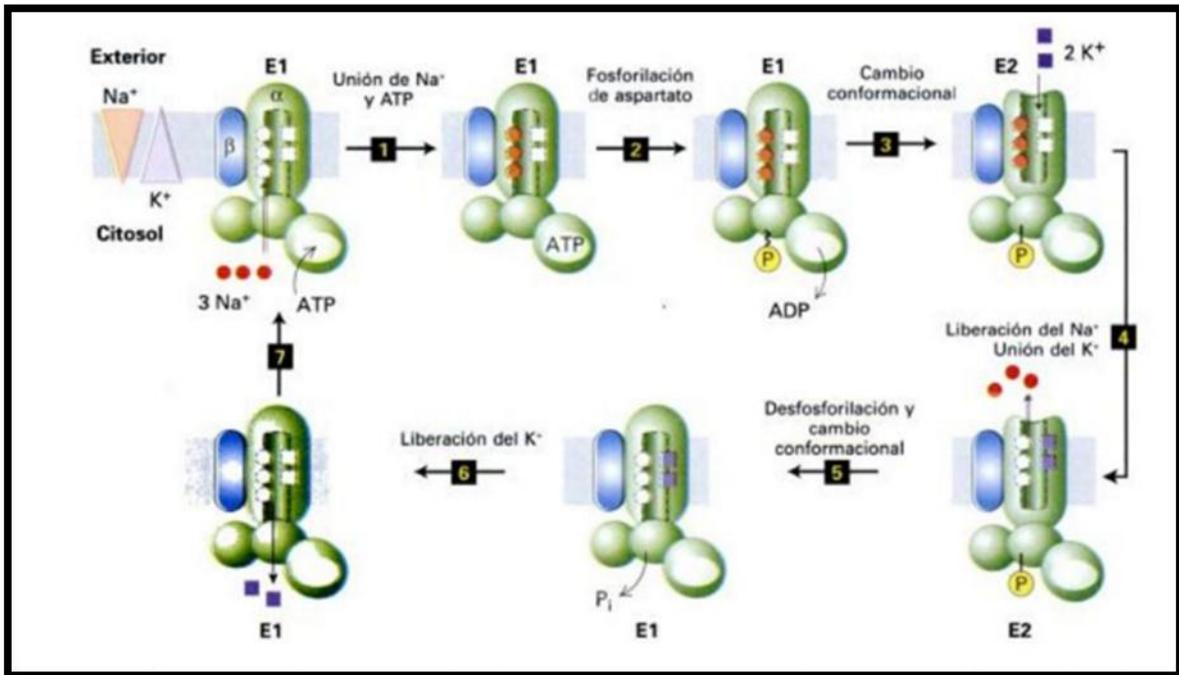


**Figura 12.** Estructura esquemática de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa.

Las subunidades alfa contienen cada una diez hélices transmembranales; tienen lugares de unión de ATP y de  $\text{Na}^+$  en el lado del citoplasma, y lugares de unión para  $\text{K}^+$  y ouabaina en el lado extracelular. No está claro si el transporte de iones transcurre de modo igual a través de una o de las dos subunidades alfa. Las enormes subunidades beta equipadas con cadenas de oligosacáridos aseguran el transporte de las cadenas alfa desde el retículo endoplasmático a la membrana plasmática, pero no toma parte directamente en el transporte de iones (Tomada de Muller S., 2008).

Las subunidades FXYP regulan diferencialmente la estabilidad de la subunidad  $\alpha$ , la actividad catalítica máxima, y la afinidad aparente para  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y ATP en una manera específica de tejido. Proteínas de la subunidad FXYP y  $\alpha$  colocalizan, y la estructura cristalina de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa demuestra que las subunidades  $\alpha$  y FXYP interactúan físicamente. FXYP1, también llamado fosfolema, disminuye la aparente afinidad  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$  de la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa (Chang y col., 2012), es altamente expresado en corazón y músculo, donde se asocia con  $\alpha$  y  $\beta$  subunidades de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa (García y col., 2009). En ratas, FXYP1 se enriquece en el cerebro adulto, específicamente en el cerebelo, el plexo coroideo, y epéndimo revestimiento de los ventrículos (Chang y col., 2012). FXYP7, otro miembro de la familia que se expresa exclusivamente en el cerebro, también modula la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa, pero lo hace por la disminución de la afinidad  $\text{K}^+$  de la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa (García y col. 2009).

El mecanismo de reacción depende de dos estados conformacionales dependientes de la fosforilación. El estado E2 que es un estado conformacional de la forma fosforilada con alta afinidad por  $\text{K}^+$  y baja afinidad por  $\text{Na}^+$  y el estado conformacional E1 de forma defosforilado con alta afinidad por  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  de baja afinidad. Inicialmente, el  $\text{K}^+$  se libera en el espacio intracelular acompañado por un cambio conformacional  $\text{E2} \rightarrow \text{E1}$ . Es la conexión de tres iones  $\text{Na}^+$  en un sitio de alta afinidad para el  $\text{Na}^+$  en la parte citoplasmática de la enzima. En este momento, la conexión se produce en el sitio de unión ATP y su cambio de conformación de la fosforilación posterior junto enzimática. La fosforilación facilita la oclusión de tres iones  $\text{Na}^+$  en la molécula de la enzima en su transporte para su medio extracelular. Después de la liberación de iones de  $\text{Na}^+$  en el cambio conformacional estado  $\text{E1} \rightarrow \text{E2}$ . El ion  $\text{K}^+$  se une en un sitio en la parte extracelular de este enlace transfiere el grupo fosfato liberado para el agua (que forma el fosfato inorgánico). La enzima defosforilada, libera el ion  $\text{K}^+$  en la parte intracelular dando reinicio al ciclo (Caren Sierra, 2004). El mecanismo de acción de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa se muestra en la Figura 13.



**Figura 13.** Modelo del mecanismo de acción de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa en la membrana plasmática. Solo una de las dos subunidades catalíticas de esta bomba de clase P está representada. No se sabe si solo una o ambas subunidades en una única molécula de ATPasa transporta iones. El bombeo de iones por la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa involucran fosforilación, defosforilación y cambios conformacionales. En este caso, la hidrólisis del intermediario E2-P impulsa el cambio conformacional de E2→E1, el transporte concomitante de dos iones  $\text{K}^+$  hacia el interior. Los iones  $\text{Na}^+$  están indicados por círculos rojos: los iones  $\text{K}^+$  por cuadrados púrpura: los enlaces acilfosfato, por -P, los enlaces fosfoester de baja energía por -P (Tomada de Lodish y col., 2005).

La actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa está disminuida en la membrana celular de muchos tejidos obtenidos de animales con diabetes mellitus experimental (DME) a nivel periférico, entre los que se incluye riñón, corazón, intestino y nervios periféricos; este efecto tiene un papel importante en el desarrollo de las complicaciones de la DM. Para establecer los cambios producidos por la DM sobre la actividad de la enzima observados a nivel periférico y que pueden ocurrir en el sistema nervioso central (Esquivel y col., 2012).

Varios estudios han demostrado que el  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa se altera en diversos trastornos que afectan al cerebro, tales como las enfermedades neurodegenerativas, trastornos neuropsiquiátricos y modelos animales de depresión y manía (Rezin y col., 2014).

## 1.6.2.ISOFORMAS DEL COMPLEJO ENZIMÁTICO DE LA Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa

Las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  tienen múltiples isoformas y son codificadas por varios genes, las isoformas de la  $\alpha$  muestran diferentes afinidades por los glucósidos cardiacos y su distribución se ha estudiado de acuerdo a las características de unión y movilidad electroforética (Sweadner, 1989).Existen cuatro isoformas de lasubunidad  $\alpha$  ( $\alpha$ 1, $\alpha$ 2, $\alpha$ 3 y  $\alpha$  4) y tres isoformas de la subunidad  $\beta$  ( $\beta$ 1,  $\beta$ 2 y  $\beta$ ) (Tokhtaeva y col., 2009), las isoformas  $\alpha$ 1 y  $\beta$ 1 predominan en riñón; la isoforma  $\alpha$ 2 se han detectado en la corteza renal, médula, corazón y la papila; la isoforma  $\alpha$ 3 en neuronas; la isoforma  $\beta$ 2 se encuentra en el músculo esquelético , la glándula pineal , y los tejidos nerviosos y mientras que  $\beta$ 3 está presente en el testículo, la retina, el hígado y el pulmón (Blanco y Mercer, 1998).La isoforma  $\alpha$ 4 se requiere para la motilidad de espermatozoides y la fertilidad (Tokhtaeva y col., 2012).

La expresión de la isoforma cardiaca  $\alpha$  varía dependiendo de la especie.  $\alpha$ 1 y  $\alpha$ 2 se expresan en rata, conejillo de Indias y corazón de ratón, mientras que lastres isoformas ( $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2 y  $\alpha$ 3) están presentes en corazón humano. Experimentalmente, NKA  $\alpha$ 1 y  $\alpha$ 2 actividad se pueden distinguir sobre la base de su diferente sensibilidad a los glucósidos cardiacos (Berry y col., 2007).

Además de las propiedades bioquímicas específicas, una distribución subcelular específica de las isoformas de Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasapuede influir en su papel fisiológico y fisiopatológico específico. Así, en cardiomiocitos de rata la isoforma  $\alpha$ 1 se concentra en los túbulos transversales y la  $\alpha$ 2 se distribuye uniformemente por todo el sarcolema (Schwinger y col., 2003).

La Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa con mayor afinidad a la ouabaina la contiene la subunidad  $\alpha$ 3, la afinidad intermedia contiene la subunidad  $\alpha$ 2 y la de muy baja afinidad, es la que tiene la subunidad  $\alpha$ 1 (Sweadner, 1989).

Se han identificado 2 isoformas para la subunidad  $\beta$  en mamíferos y una tercera en anfibios (Jimenez y Merchant, 2003), ratón, la rata y humano (Blanco y Mercer, 1998). Además, tanto las subunidades  $\beta 1$  y  $\beta 2$  tienen importantes papeles no enzimáticos tales como la formación y el mantenimiento de las uniones y la regulación de la migración celular (Tokhtaeva y Col., 2009). En la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPasa la subunidad  $\beta 2$  tiene múltiples N sitios -glicosilación (hasta nueve sitios), mientras que el  $\beta 1$  o  $\beta 3$  isoformas tiene sólo dos o tres N sitios -glicosilación. El alto grado de glicosilación de la  $\beta 2$  subunidad podría implicar un papel en la clasificación apical de los complejos  $\alpha/\beta$  correspondientes (Padilla y col., 2010).

La asociación promiscua entre isoformas alfa y beta se confirmó en células de insecto que expresan diferentes combinaciones de la rata polipéptidos  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa. En este sistema de expresión, cada una  $\alpha$ -isoforma podría montar correctamente, ya sea con la  $\beta 1$ - o la  $\beta 2$ -subunidad en complejos catalíticamente activos. De esta manera, múltiples isoenzimas  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa ( $\beta 1$  a,  $\beta 2$  a1, a2  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  a2,  $\beta 1$   $\alpha 3$ , y  $\beta 2$   $\alpha 3$ ) pueden ser el resultado de la vinculación de los diversos polipéptidos beta y alfa (Blanco y Mercer, 1998).

Las isoenzimas de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasase expresan de una manera específica en tejido y células. La cuestión central en la fisiología global de transporte activo de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  es la naturaleza de la compleja regulación de la expresión de estas isoenzimas y la variedad de sistemas para la modificación postraducciona y la regulación a corto plazo. Los datos bioquímicos y espectroscópicos muestran que a largo plazo E1-E2 transiciones conformacionales en la  $\alpha$ -subunidad median las interacciones entre los dominios citoplasmáticos y los sitios de cationes en el dominio intramembranal (Jorgensen y col., 2003).

### **1.6.3. REGULACIÓN DE LA $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa**

La regulación de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa es compleja, su actividad puede ser regulada por diferentes factores intrínsecos y extrínsecos (Therien y Blostein, 2000). Los

factores de regulación intrínsecos de la bomba de sodio son: ATP, ouabaina, concentraciones de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{K}^+$  extracelular (Polvani y Blostein, 1989).

La regulación extrínseca en diversos tejidos está bajo el control de una serie de hormonas circulantes, proteínas y neurotransmisores, como la 5-HT, que participan en el control a corto y largo plazo sobre su actividad (Hernandez, 1992; Ewart y Klip, 1995). La regulación a corto plazo involucra generalmente efectos directos en el comportamiento cinético de la enzima o la translocación de las bombas de sodio entre los depósitos intracelulares y la membrana plasmática, mientras el control a largo plazo induce la síntesis de la bomba o su degradación. La relación funcional entre la 5-HT y la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa se ha demostrado mediante el empleo de precursores serotoninérgicos y condiciones de desnutrición en los que incrementa la síntesis del neurotransmisor, además del empleo de fármacos específicos para receptores serotoninérgicos, con lo que se ha apreciado que la serotonina aumenta la actividad de la enzima particularmente en células gliales (Peña y col., 1999).

Se reportó un incremento en la actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa, comparado con ratas controles normales, al administrar precursores de la serotonina (L-Trp y 5-HT), o al someter a animales a un esquema de desnutrición, lo que se induce un aumento en la concentración de 5-HT cerebral, obteniéndose como primera conclusión que la serotonina está implicada directa o indirectamente en la actividad de la enzima (Hernández, 1979).

Posteriormente se ha demostrado que uno de los posibles papeles de la serotonina en la regulación de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa, puede ser por la modificación cinética de la enzima por un incremento en la velocidad de reacción, donde el efecto de la 5-HT fue selectivo para la bomba de sodio en la células gliales, tanto en fracciones aisladas de cerebro como en cultivo celular, observando dos condiciones distintas para la modulación por serotonina de la bomba de sodio, ya que en membranas neuronales por 5-HT mostro inhibición enzimática (Mercado y Hernández, 1992).

Por otro lado, estudios han demostrado que la administración de fenproporex disminuye la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa en el cuerpo estriado. Las ratas Wistar que reciben una dosis aguda de fencanfamina (FCF), un estimulante del SNC, que tiene el mismo perfil farmacológico como la anfetamina y la cocaína, exhiben una fuerte reducción de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa en el cuerpo estriado y núcleo. FCF tiene tanta acción inhibitoria sobre la captación de dopamina y la acción de facilitar en la liberación de dopamina en el sistema dopaminérgico. Esta observación corrobora evidencia de que la acción inhibitoria de la dopamina sobre  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa actividad está mediada por el monofosfato de adenosina cíclico (AMPC) y la proteína quinasa A (PKA) en el estriado. Estudios previos informó que la dopamina es un neuromodulador importante en el cuerpo estriado e inhibe la actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa (Rezin y col., 2014).

Como se mencionó anteriormente, la serotonina regula la actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa, se han hecho estudios sobre la base de la posición de las células serotoninérgicos en la papila gustativa y en recientes estudios fisiológicos sobre las acciones de la serotonina en el paladar, se postularon las funciones de la serotonina como un neuromodulador o neurotransmisor en las papilas gustativas de vertebrados (Kim y Roper, 1995), y desde finales del siglo pasado la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa fue localizada en papila canina por métodos inmunocitoquímicos e histoquímicos (Simon y col., 1991).

## 2. JUSTIFICACIÓN

El Sistema Nacional de Salud enfrenta desafíos similares a los que afrontan los países avanzados, como los padecimientos crónico degenerativos, de los cuales sobresale la diabetes mellitus (DM) como un problema de mayor relevancia para los mexicanos. Según las estadísticas, existen en el mundo 170 millones de personas afectadas por DM, cifra que, de acuerdo con estimaciones, se duplicará para el año 2030. Para México se calcula que los 6.8 millones de afectados aumentarán a 11.9 millones. Los casos nuevos de DM incluyen a niños y adolescentes mexicanos que son afectados como consecuencia de un estilo de vida sedentario y poco saludable, lo que ha condicionado sobrepeso y obesidad y se ha convertido en un problema de salud pública (Gil V. y col.,2013).

La diabetes es una enfermedad que con el tiempo se complica con otras afecciones como son la hipertensión arterial, la disminución de la visión (retinopatía diabética), la dificultad para cicatrizar las heridas, las alteraciones del sistema nervioso como pérdida de la sensibilidad en los pies y manos (neuropatía), entre otras(Rivera Arce, 2000). Dentro de las manifestaciones clínicas de la DM se ha reportado que existe pérdida de sensibilidad a los estímulos gustativos (Buck y Schwartz, 2000). En DM existe un aumento en la ingesta de moléculas sápidas ricas en sabor dulce o carbohidratos. En estudios de sensibilidad gustativa se ha demostrado que los pacientes diabéticos insulino dependientes tenían alteraciones en la percepción de los sabores, por una complicación tardía (neuropatía), también se ha observado que de un 26 a 50% de los pacientes con DM tienen dificultad para identificar el sabor dulce en comparación con individuos sanos (Hardy y col., 1981; Fukagawa, 1982).

Dentro de los botones gustativos las células tipo III contienen concentraciones de serotonina y tiene los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>3</sub>se expresan en el tejido gustativo, lo cual los receptores 5-HT<sub>1A</sub>que se encuentran en las células gustativas y los receptores 5-HT<sub>3</sub> que se encuentran en las fibras aferentes primarias sensoriales (Huang y col., 2005). Se tomo como control la corteza cerebral debido a que

se expresa algunos receptores para la 5-HT en alta densidad, principalmente los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>2A</sub> ( Puig y col., 2004).

Recientemente Huang y col. Utilizaron células CHO que expresan el receptor serotoninérgico 5-HT<sub>2c</sub> como un biodetector, con el fin de analizar el proceso de liberación de la serotonina a partir de células gustativas, de esta manera los investigadores demostraron que la estimulación de los corpúsculos gustativos de ratón por compuestos dulces, amargos o ácidos involucran la liberación de serotonina (Huang y col. , 2005a; Huang y col., 2005b). Por lo que resulta interesante conocer si la serotonina (5-HT) y la buspirona ejercen un incremento en la actividad de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>- ATPasa, como se ha reportado que lo hace la 5-HT en corteza cerebral de ratas (Mercado y Hernández, 1992), por lo que nos planteamos la siguiente:

### 3. HIPÓTESIS

La activación de la bomba de sodio y potasio se incrementa por agonistas del receptor 5-HT<sub>1A</sub> en corteza cerebral de ratas con DME y en papila caliciforme de ratas control.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto de buspirona y serotonina (5-HT) sobre la actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPasa}$  en corteza cerebral de ratas con DME y papila caliciforme de ratas control.

### **4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Implementar el modelo de DME en ratas.
- Determinar el efecto de serotonina y buspirona sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral de ratas con DME.
- Determinar el efecto de serotonina y buspirona sobre la actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPasa}$  en papila caliciforme de ratas.

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1. MATERIAL BIOLÓGICO**

Se utilizaron ratas de la cepa Wistar, con peso de  $450 \pm 10$  g, los cuales se mantuvieron en el bioterio del laboratorio de Neurobiología de la Facultad de Químico Farmacobiología de la U.MS.N.H., siguiendo los protocolos vigentes para el uso de animales de investigación, con alimento y agua ad-libitum, ciclo de luz y oscuridad de 12 hrs. (7-9H), temperatura de  $20 \pm 5$  °C y humedad relativa de  $60 \pm 5\%$ .

### **5.2. GRUPOS EXPERIMENTALES**

Para inducción de la diabetes mellitus experimental, los animales se dividieron en 2 grupos, con un total de 10 ratas en cada grupo (20 en total) y el desarrollo del esquema tuvo una duración de 6 semanas. Los grupos se dividieron de la siguiente manera:

- 1) Control
- 2) DME

Se monitorio el peso, el consumo de alimento y el consumo de agua de las ratas de los diferentes grupos cada semana.

### **5.3. INDUCCIÓN DE DIABETES**

Para inducir la diabetes, al grupo experimental se le administro STZ (estreptozotocina, sigma) vía IP, en dosis única de 55 mg/kg de peso, disuelta en agua inyectable, al grupo control se le administró simultáneamente un volumen equivalente de vehículo como control de estrés. Los niveles de glucosa en sangre de cada rata fueron medidos utilizando el aparato OneTouch Ultra, antes y después de la inducción con STZ con 12 horas de ayuno previo. Para esta medición se realizó

punción en la vena caudal con una lanceta, la muestra sanguínea se colocó en la tira reactiva para One Touch Ultra y se registró la lectura de la glucosa en mg/dL. Los valores normales de glucosa sanguínea en ratas fueron 73-110mg/dL. Las ratas con concentraciones mayores a 200 mg/dL de glucosa en sangre se consideraron con DME.

#### **5.4. PESO Y CONSUMO DE ALIMENTO**

El peso corporal y consumo de alimento se midió una semana posterior a la inducción de la DME. Para medir el consumo de alimento se colocó la cantidad de 100 g y se dejó por 24 hrs., después se pesó el alimento sobrante y por diferencia se obtuvo la cantidad de alimento consumido por las ratas. Esta medición se realizó una vez por semana en las 6 semanas de duración, al igual que la medida del peso corporal.

#### **5.5. INGESTA DE LÍQUIDOS (AGUA Y SACAROSA)**

Las ratas se colocaron en jaulas individuales, previo a la medición de la ingesta de líquidos se colocaron dos bebederos sobre la jaula con agua para que los animales se adaptaran a tomar indistintamente de las botellas. Posteriormente a la adaptación de los animales y para determinación de la percepción del sabor dulce se midió la ingesta de solución de sacarosa 10% y agua, suministrando 1 bebedero con cada líquido, dejando que los animales consumieran solución de sacarosa o agua, según prefirieran. Cada semana se determinó el consumo de agua y solución de sacarosa, durante 24 hrs., hasta las 6 semanas en que fueron sacrificadas.

#### **5.6. OBTENCIÓN DE TEJIDO**

Una vez completado el esquema de diabetes mellitus se procedió al sacrificio de los animales mediante dislocación cervical y se le practicó una incisión media torácica,

exponiendo el corazón para la perfusión con 20 ml de solución salina isotónica fría que se inyectó en el ventrículo izquierdo, posteriormente se extrajo la lengua para realizar incisiones para obtener la papila caliciforme y se homogenizó en Tris-HCl 50 mM para ser congelado y posteriormente determinar la actividad enzimática de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa.

## **5.7. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA POR EL MÉTODO DE LOWRY**

Para la determinación de proteína por el método modificado de (Lowry y col., 1951) se realiza una curva patrón con albumina bovina granulada al 0.1%.

## **5.8. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE LA NA<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPASA**

La actividad de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa se midió con el método utilizado por Mercado y Hernández (Peña y Col., 1999): Se preincubó el tejido durante 5 minutos a 150 CPM a 37°C en agitación constante en un incubador metabólico con el amortiguador Tris-HCl 50 mM, pH 7.4 con MgCl<sub>2</sub> 6 mM, KCl 20 mM, NaCl 100 mM sin ouabaina para medir la actividad total o con ouabaina 0.6 mM para medir la actividad específica. Se incluyeron otras series de tubos, con los agonistas Buspirona y 5-HT (se les añadieron después de los 5 minutos). En los tubos en los que se utilizó los agonistas, se añadió pargilina 1x10<sup>-4</sup> M, un inhibidor de la monoaminoxidasas para evitar la degradación del neurotransmisor. Se incubó el tejido 20 minutos a 37°C en presencia y ausencia de los agonistas.

Se adicionó 50 µl de ATP 12 mM durante 10 minutos en agitación constante y la reacción se detuvo añadiendo 20 µl de ácido tricloroacético, se pusieron en baño de hielo durante 10 minutos.

Las muestras se centrifugaron a 3500 rpm durante 10 minutos y se tomaron 100  $\mu$ l del sobrenadante en donde se llevó a cabo la determinación de Pi, producto de la hidrólisis, con el reactivo a base de ácido sulfúrico, molibdato de amonio y sulfato ferroso. El Pi se determinó espectrofotométricamente a 800 nm a los 10 minutos de iniciada la reacción, de acuerdo al método de Fiske y Subbarrow ( 1925).

La actividad específica de la enzima se obtuvo a partir de la diferencia entre la actividad total y la actividad medida en presencia de ouabaina.

## **5.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

A partir de los resultados se obtuvo la media aritmética y el error estándar de los datos experimentales, se empleó la “t” de Student para comparar el efecto de los agonistas. Se empleó el programa GradPadPrism versión 5.01 para hacer las gráficas de los datos.

## 6. RESULTADOS

### 6.1. ANÁLISIS EN SANGRE

En la tabla 3 se muestran los análisis que se realizaron al esquema de ratas control y con DME. Los animales con DME presentaron glicemias por arriba de los parámetros marcados como normales, mientras que los animales del grupo control, el 100 % de las ocasiones se mantuvieron por debajo del límite máximo considerado como normal (110 mg/dL). La concentración promedio de glucosa en el grupo control fue de 102.33 mg/dL, mientras que los animales inducidos a DME tuvieron concentraciones promedio de 713 mg/dL, La concentración promedio de colesterol del grupo control fue de 101.66 mg/dL, los animales inducidos a diabetes incrementaron el 10.4% de la concentración de colesterol. También se observó que los animales con DME presentaron un incremento del 48 % de la concentración de triglicéridos con respecto al grupo control, estos parámetros característicos de la DM tipo 2, por lo que se muestra que las ratas inducidas con STZ presentan el cuadro deseado de hiperglicemia para los posteriores experimentos.

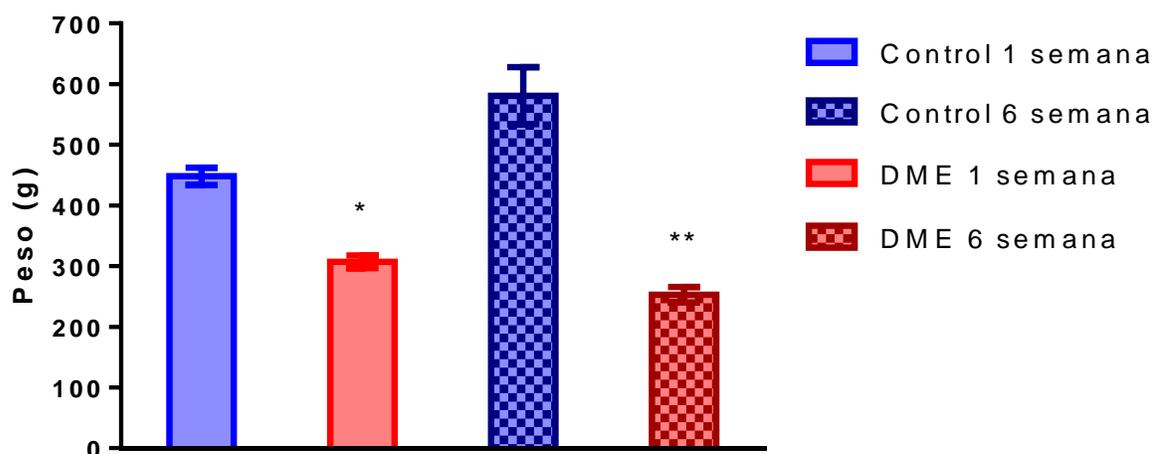
**Tabla 3.** Parámetros bioquímicos de ratas control y diabéticas.

Grupo	Glucosa (mg/dL)	Colesterol Total (mg/dL)	Triglicéridos (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	Albúmina (g/dL)
Control	102.3±2.7	101.6±3.5	151.6±2.3	35.0±0.6	36.0±2.6	30.3±0.3	3.0±1.4
Diabética	713.0±2.0	112.2±1.4	224.2±7.4	40.7±1.1	26.7±1.8	44.7±1.6	2.3± 1.8

Los datos representan la media  $\pm$  E.E. con n=4 del grupo control y n=4 del grupo con DME. Lipoproteína de alta densidad (HDL), lipoproteína de baja densidad (LDL), lipoproteína de muy baja densidad (VLDL).

## 6.2. PESO CORPORAL

En los animales con DME una característica importante es la pérdida de peso, se debe a la excreción de glucosa por orina implica pérdida de calorías, en la figura 14 se muestra el peso corporal de grupos control y diabéticos. Se observó que a los 7 días posteriores a la administración de STZ las ratas tuvieron una disminución de 31.5% de peso corporal de los grupos con DME ( $X= 307g$ ) con respecto al grupo control ( $\bar{X}=448 g$ ,  $p<0.05$ ). Después de 6 semanas la disminución en el peso corporal del grupo DME fue del 56.5% con respecto al control que gana peso de manera a su desarrollo normal ( $X=581 g$ ,  $p<0.001$ ).



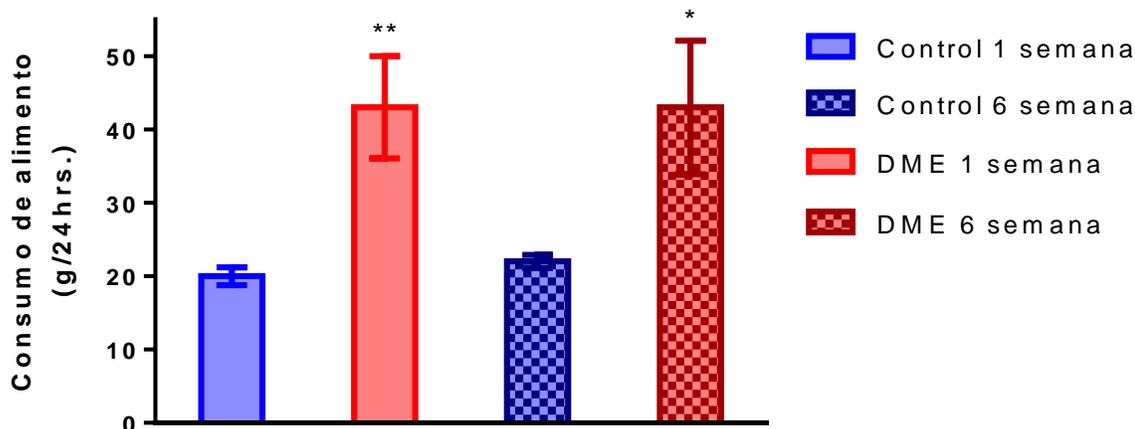
**Figura 14.** Peso corporal de los animales experimentales.

Los datos representan la media  $\pm$  E.E. con  $n=12$  para grupo control,  $n=12$  para el grupo con DME, \* $P<0.05$  comparando el peso corporal del grupo control de la 1 semana y la 6 semana; \*\* $P<0.001$  comparando el peso corporal del grupo con DME de la 1 semana y la 6 semana.

## 6.3. CONSUMO DE ALIMENTO

Una de las características de los animales con DME es la polifagia que se caracteriza por una ingesta mayor de alimentos que los individuos sanos, en la figura 15 se muestra el consumo de alimento de las ratas de los grupos control y con DME. El consumo de alimento a la primera semana después de la administración de la STZ se observa que el grupo diabético consumió mayor cantidad de alimento ( $X= 43g$ ) y

que el grupo control ( $X= 20g$ ), este incremento en el consumo representa un 95.3% y se mantuvo hasta la sexta semana del tiempo experimental.

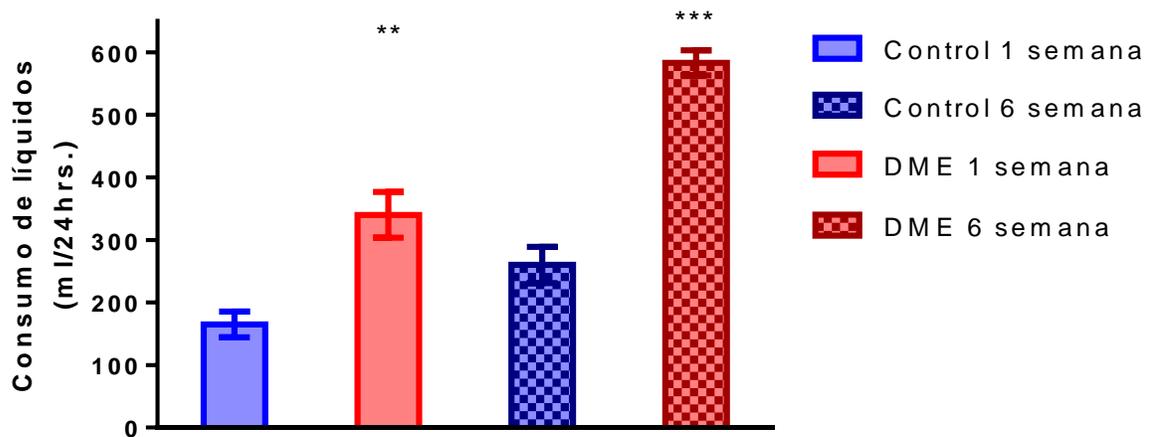


**Figura 15.**Consumo de alimento.

El consumo de alimento (g en 24 h) de las ratas del grupo control y con DME que ingirieron una solución de sacarosa 10%. Se muestran las mediciones obtenidas primera y sexta semanas posteriores a la inducción de la DME. Los datos representan la media  $\pm$  E.E. \*\*  $p<0.01$ , \* $p<0.05$ .

## 6.4. CONSUMO TOTAL DE LÍQUIDOS

Una de las características de los animales con DME es la polidipsia que se caracteriza por una ingesta mayor de líquidos que los individuos sanos, en la figura 16 se muestra el consumo total de líquidos que representa el consumo de la botella que contenía agua más el consumo de la botella que contenía la solución de sacarosa al 10%. El consumo total de líquidos de los animales por las ratas del grupo diabético fue mayor que en el grupo control durante las 6 semanas del tiempo experimental ( $p<0.01$ ).

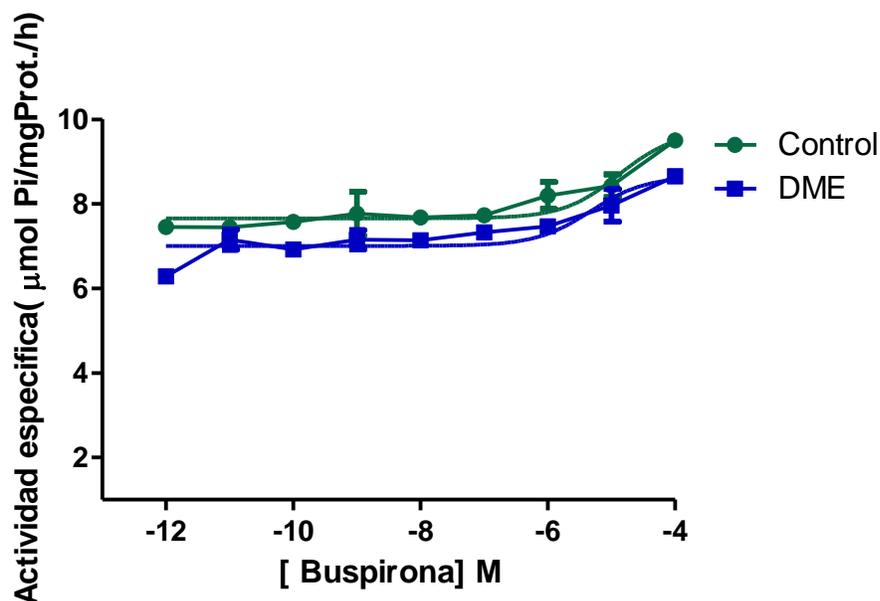


**Figura 16.** Consumo total de líquidos.

Consumo total de líquidos (botella con agua + botella con solución de sacarosa) en 24 h del grupo control y con DME que ingirieron una solución de sacarosa al 10%. En la primera semana y sexta semana posteriores a la inducción de la DME. Los datos representan la media  $\pm$  E.E. \*\*  $p < 0.01$  \*\*\*  $p < 0.001$  comparando grupo control con el grupo con DME de la primera y sexta semana respectivamente.

## 6.5. CURVA DE DOSIS RESPUESTA CON BUSPIRONA

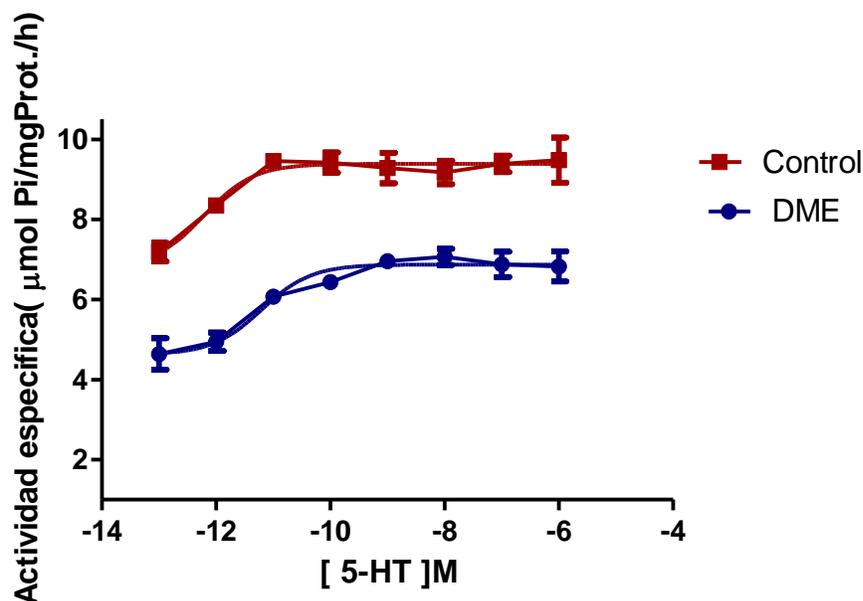
La Figura 17 muestra el efecto de las diferentes concentraciones molares del agonista buspirona sobre la actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa en preparación de homogenizado de corteza cerebral control y con DME. Se observa el incremento de la actividad de la enzima, obteniendo una curva de dosis respuesta para calcular la  $\text{DE}_{50}$ ; obteniendo así la dosis  $1.3 \times 10^{-5}$  M y  $4.77 \times 10^{-6}$  M para los homogenizado de corteza cerebral ratas control y con DME respectivamente. Lo que representa que fue el mismo comportamiento agonista en ambos grupos, sin embargo la actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa fue menor en el grupo con DME.



**Figura 17.** Curva de dosis-respuesta del agonista buspirona en homogenizado de corteza cerebral de ratas macho adultas control y con DME. Los datos representan la media  $\pm$  E.E. con  $n=3$  de cada una de las diluciones en corteza cerebral de ratas control y  $n=3$  de cada una de las diluciones en corteza cerebral de ratas con DME.

## 6.6. CURVA DE DOSIS RESPUESTA CON 5-HT

La figura 18 muestra el efecto de las diferentes concentraciones molares de la serotonina en la actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa en preparación de homogenizado de corteza cerebral de ratas control y con DME. Se observa el incremento de la actividad de la enzima, obteniendo una curva de dosis respuesta para calcular la  $\text{DE}_{50}$ ; obteniendo así la dosis  $6.2 \times 10^{-13}$  M y  $6.3 \times 10^{-12}$  M para los homogenizados corteza cerebral de ratas control y con DME respectivamente.

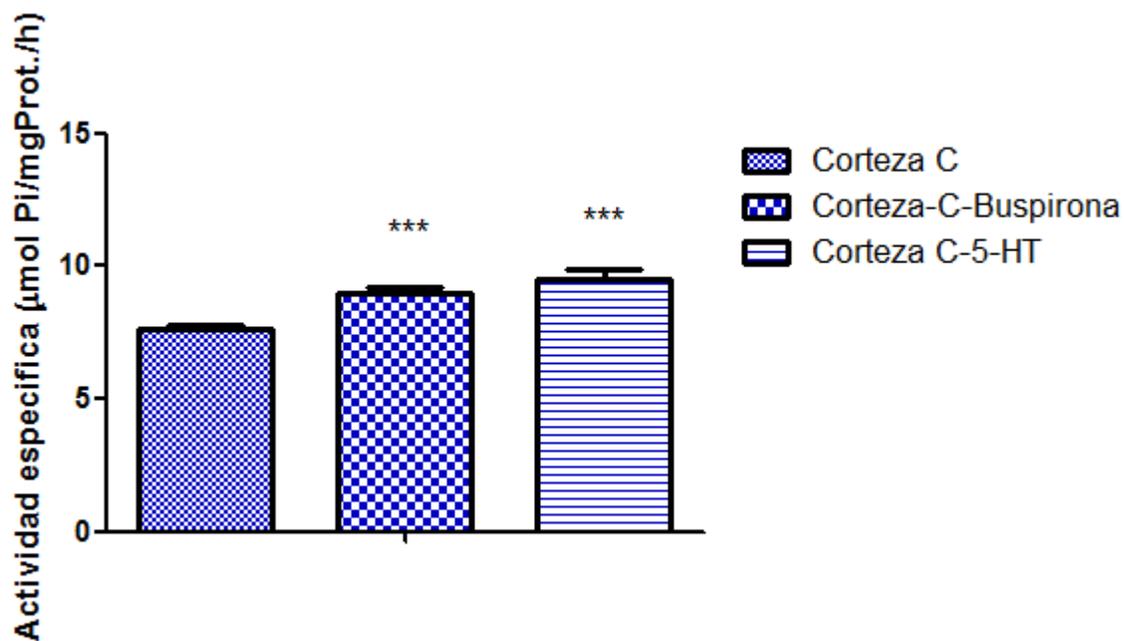


**Figura 18.** Curva de dosis-respuesta del agonista 5-HT en homogenizado de corteza cerebral de ratas macho adultas control y con DME.

Los datos representan la media  $\pm$  E.E. con  $n=3$  de cada una de las diluciones en corteza cerebral de ratas control y  $n=3$  de cada una de las diluciones en corteza cerebral de ratas con DME.

## 6.7. ACTIVIDAD DE Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa EN CORTEZA CEREBRAL EN RATAS, EN PRESENCIA DE AGONISTAS.

La Figura 19 muestra el efecto de las concentraciones obtenidas de las curvas dosis respuesta de los agonistas,  $1 \times 10^{-5}$  M para bupiriona y  $1 \times 10^{-6}$  M para serotonina (5-HT) en la actividad de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa, observándose un incremento en la actividad de la enzima de un 17.6% con bupiriona, y un 24.6% con 5-HT en el homogenizado de corteza cerebral de ratas control.



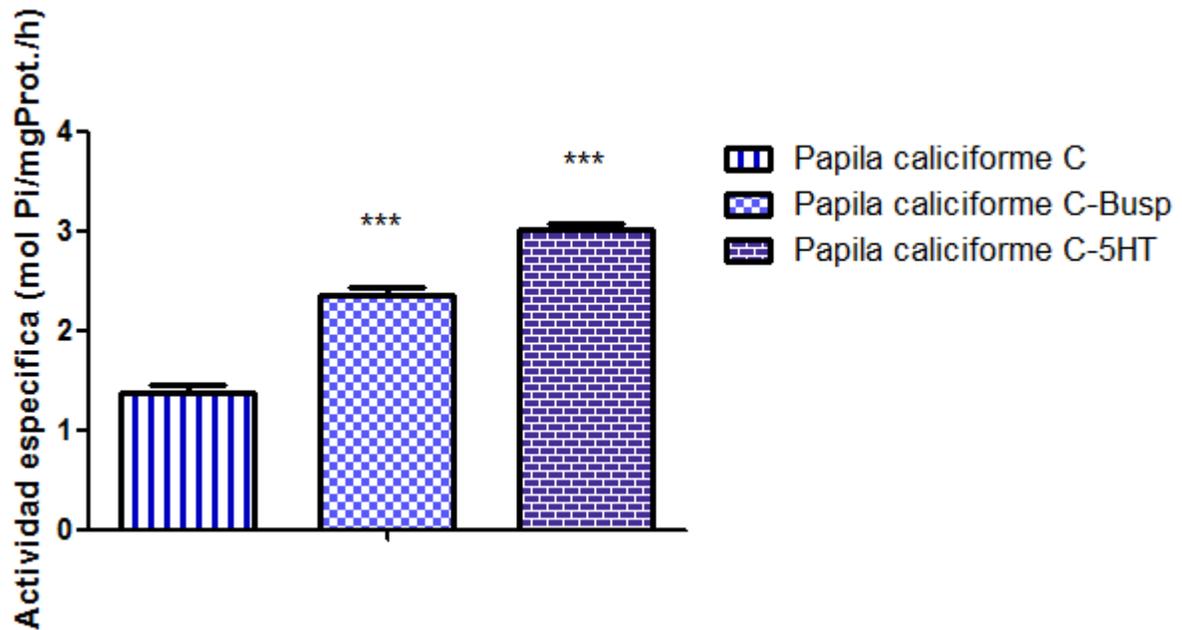
**Figura 19.** Actividad de Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa en corteza cerebral en ratas, en presencia de agonistas. Actividad de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa en el homogenizado de corteza control en presencia de los agonistas en grupo de ratas control. Los datos representan la media ± E.E. con n= 9 para el homogenizado en ausencia del agonista, n=7 para el homogenizado en presencia del agonista buspirona y n=8 para el homogenizado en presencia de 5-HT. \*\*\* (P<0.0001).

## 6.8. ACTIVIDAD DE LA Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa EN LA PAPILA CALICIFORME DE RATAS EN PRESENCIA DE AGONISTAS SEROTONINÉRGICOS.

En la figura 20 se muestra el efecto de buspirona y 5-HT sobre la actividad de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa en la papila caliciforme de ratas control. Se observa un incremento en la actividad de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa en presencia de buspirona comparado con la actividad de la papila caliciforme en ausencia de este agonista, mostrando una diferencia estadísticamente significativa (p<0.001).

Así mismo se observa el mismo comportamiento con el 5-HT, el cual incremento la actividad de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa comparado con la actividad de la papila caliciforme en ausencia de este agonista (p<0.001).

Se realizó una comparación sobre el efecto que producía los agonista en la actividad en la papila caliciforme obteniendo que el incremento de la actividad es mayor en presencia del agonista 5-HT, mostrando una diferencia significativa ( $p < 0.01$ ).



**Figura 20.** Actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa en la papila caliciforme en presencia de los agonistas. Los datos representan la media  $\pm$  E.E. con  $n=4$  para la papila caliciforme en ausencia del agonista,  $n=3$  para la papila caliciforme en presencia de bupropiona y  $n=3$  para la papila caliciforme en presencia de 5-HT. \*\*\*  $P < 0.001$  comparando con el grupo control respectivo. \*\*  $P < 0.01$  comparando la actividad de la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa en la papila caliciforme con el 5-HT y con bupropiona.

## 7. DISCUSIÓN

Las ratas expuestas a STZ disminuyeron de peso corporal, también mostraron un mayor consumo de alimento, incremento de consumo de líquidos totales, incremento de glucosa en sangre, polidipsia y polifagia, todo esto concordante con los modelos experimentales de diabetes mellitus (Chatzigeorgiou, 2009; Rees y Alcolado, 2005). La STZ es un fármaco que promueve la muerte selectiva de las células  $\beta$  pancreáticas y con ello anula la liberación de insulina al torrente sanguíneo produciéndose hiperglucemia (Szkudski, 2001; Lenzen, 2008). Los resultados obtenidos, que se muestran en las Figuras 14-16 y en la Tabla 3, coinciden con los reportados en por otros autores donde la STZ fue utilizada en ratas como modelo de DME (Yang y Wright, 2002; Usuki, y col., 2007).

En el grupo DME también se observaron cambios en parámetros bioquímicos. Se incluye un aumento significativo en el contenido plasmático de triglicéridos, colesterol y lipoproteínas VLDL. Esto coincide con lo observado en seres humanos, donde los médicos indican que es importante realizar entre las pruebas de diagnóstico y seguimiento de la DM un perfil de lípidos; ya que en los pacientes con DM2 pueden presentar un padecimiento conocido como dislipidemia diabética involucrada con riesgo de enfermedad cardiovascular elevado (Longo y col, 2012).

La actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa también se observó afectada por la DME, lo que bien puede deberse a una alteración de la biosíntesis de 5-HT o a cambios significativos en la fluidez e integridad de las membranas plasmáticas (Manjarrez Guitiérrez y col, 2014). Estudios farmacológicos con agonistas serotoninérgicos que activan a la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa y antagonistas que neutralizan dicho efecto, ha permitido evidenciar que la actividad de la enzima cerebral es regulada a través de receptores específicos de la 5-HT (Fillion y col., 1982); y además, de que la DME afecta la homeostasis que la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa regula en otras estructuras cerebrales (Esquivel-García y col., 2012).

Para observar si la actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa es incrementada por 5-HT y buspirona, un agonista selectivo de receptores  $5\text{-HT}_{1A}$ , se realizaron curvas dosis-respuesta en las cuales se observó al probar en corteza cerebral del grupo DME que la buspirona aumentó la actividad de la enzima hasta alcanzar valores basales del grupo control, favoreciendo la hipótesis de que un fármaco serotoninérgico puede ayudar a corregir las alteraciones producidas por la DME en la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa. Esto bien podría tener lugar en la corteza cerebral, o en algún otro tejido como las papilas gustativas donde se ha demostrado que la neuropatía diabética periférica produce pérdida en la sensibilidad a los estímulos gustativos debido al aumento en la degeneración de las fibras gustativas y por consecuencia la disminución en la expresión de los receptores serotoninérgicos y de la percepción del sabor dulce (Rosales-García y col., 2014; Mercado C. y col, 2012).

Para dar inicio a la investigación de que la 5-HT regula la actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa en la papila caliciforme como lo hace en el tejido cerebral, en este trabajo se determinó la actividad de la enzima frente a 5-HT en una concentración de  $1 \times 10^{-6}$  y esta incremento significativamente en un 118.1% comparado con control sin 5-HT en papilas caliciformes de ratas sanas. Debido a que la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa es responsable del transporte activo de cationes monovalentes hacia ambos lados de la membrana celular para mantener el gradiente iónico necesario para la excitabilidad neuronal (Calderón y col., 2008), se estima que en los tejidos gustativos esta enzima ejerce un papel similar favoreciendo los impulsos nerviosos para la detección de sabores y que receptores serotoninérgicos  $5\text{-HT}_{1A}$  y  $5\text{-HT}_3$  que se expresan en las células gustativas pueden estar involucrados (Huang y col., 2005). Al realizar pruebas con buspirona en la papila caliciforme, la actividad específica de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa aumenta como ocurrió con 5-HT, esto se debe a que este agonista puede unirse a los receptores  $5\text{-HT}_{1A}$ . El hecho de que un agonista sintético arroje resultados como este es de gran importancia, por ejemplo, en la actualidad se están fabricando diversos agonistas selectivos de los receptores de  $5\text{-HT}_4$  para el tratamiento de los trastornos digestivos (Brunton y Laurence, 2012); con lo que se puede inferir sobre un fármaco para el

tratamiento de desordenes en papila gustativa como los que ocurren como consecuencia de la DME.

## **8. CONCLUSIÓN**

La papila caliciforme tiene una semejanza de traducción de señales iguales a la de la corteza cerebral en la interacción entre el sistema serotoninérgico y el sistema enzimático de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa.

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adler, E., Hoon, M. A., Mueller, K. L., Chandrashekar, J., Ryba, N. J. y Zuker, C. S. (2000). A novel family of mammalian taste receptors. *cell*, 100: 693-702.
- Aguilar, A., Giza, B. K., Cintra, L., Guevara Guzman, R. y Distel, H. (1995). *Neurobiología de los sistemas sensoriales*. México, D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Alcaraz Romero, V. (2001). *Estructura y función del sistema nervioso: percepción sensorial y estados del organismo*. México: Manual moderno.
- Arce, V. M., Catalina, P. F. y Mallo, F. (2006). *Endocrinología*. Santiago de Compostela: Servicio de publicaciones e intercambio científico.
- Artigas, F. (1997). El transportador de serotonina como diana terapéutica. *PSICOFARMACOLOGÍA*, 2:13-19.
- Arystarkhova, E., Wetzel, R. y Sweadner, K. (2002). Distribution and oligomeric association of splice forms of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase regulatory  $\gamma$ -subunit in rat kidney. *American Journal of Physiology*, 282 (3):F393-F407.
- Asociación Americana de Diabetes (2013). *Diagnosis and Classification of Diabetes*. DIABETES CARE.
- Asociación Americana de Diabetes (2015). *Classification and Diagnosis of Diabetes*. *Diabetes Care*; 38(Supplement 1): S8-S16.
- Avery, G. B., Fletcher, M. A. y MacDonald, M. G. (2001). *Neonatología: fisiopatología y manejo del recién nacido*. Argentina: Editorial medica panamericana.
- Balada, F., Marqués, C., Nadal, R. y Redolar, D. (2012). *Farmacología y endocrinología del comotamiento*. Barcelona: UOC.
- Barrett, K., Berman, S. y Boitano, S. (2012). *Fisiología médica*. México: Mc Graw Hill.
- Belmar, J., Matte, M. y Inostroza, M. (23 de Noviembre de 2007). Recuperado el 26 de enero de 2016, de FOROS vi.cl: <http://www.vi.cl/foro/topic/7692-sistema->

nervioso-profesor-jorge-belmar-puc-mnica-matte-maricel-inostroza-secico/page-2.

- Berry, R., Despa, S., Fuller, W. y Bers, D. (2007). Differential distribution and regulation of mouse cardiac Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase alfa1 and alfa2 subunits. in T-tubule and surface sarcolemmal membrana. *Elsevier. Cardiovascular Research*, 73:92-100.
- Berumen, L. G., Rodriguez, A., Miledi, R. y García, G. (2012). Serotonin receptors in Hippocampus. *The scientific world Journal*.
- Bigiani, A. (2001). Mouse taste cells with glia-like membrane properties. *J.Neurophysiol*, 85:1552-1560.
- Blanco, G. (1992). Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase subunit heterogeneity as a mechanism for tissue-specific ion regulation. *Seminars in nephrology*, 292:303.
- Blanco, G. (2005). Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase subunit heterogeneity as a mecanismo for tissue-specific in regulation. *Seminars in nephrology*, 25:292-303.
- Blanco, G. y Mercer, R. (1998). Isozymes of the Na-K-ATPase: heterogeneity in structure, diversity in function. *Journal of Physiology*, 275 (5): F633-F650.
- Boughter, J. G. (1997). Amiloride suppresses the responses to acids in NaCl best Neurons of the hamster solitary nucleus. *Chem. Senses*, 22,648.
- Boughter, J. G. (1998). Amiloride blocks acid responses in NaCl- best gustatory neurons of the hamster solitary nucleus. *J.Neurophysiol*, 80:1362-1372.
- Browder Lazendy, R. (2012). *Fisiopatología*. México: Manual Moderno, S.A. de C.V.
- Brunton, y Laurence , L. (2012). *Goodman y Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica*.Mexico: McGraw Hill.
- Buck, L. B. y Schwartz, J. H. (2000). *Principles of Neural Science*.New York: McGraw Hill.
- Bustamante, Z. (2007). Sistema Nervioso. Desde las neuronas hasta el cerebro. Colombia: Editorial Universidad de antioquia.
- Calabrese, E. J. (1991). Principios de extrapolación de los animales: Predecir Respuestas Humanos de Los estudios en animale. *Lewis Publishers, Inc., ISBN, 0-87371-410-5*.

- Calderón Guzmán D., Hernández García E. y Barragán Mejía G. (2008). La actividad de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPasa en cerebro puede ser un marcador de estrés oxidativo. *Arch Neurocién (Mex)*. Vol.13, No. 1:31-34.
- Calvo, M. V. y Planas Vilá, M. (2008). *Interrelacion entre farmacos y nutrientes en situaciones fisiopatológicas determinadas*. España: Glosa, S.L.
- Cardinali, D. (1991). *Manual de Neurofisiología*. España: Díaz de Santos S.A.
- Caren Sierra, B. (2004). Efeito in vitro das substâncias acumuladas na doença de Lesch-Nyhan sobre a atividade da Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase em estriado de ratos. 18:49-51.
- Casper, R. C., Kirschner, B., Sandstead, H. y Jacob, R. A. (1980). An evaluation of trace metals, vitamins, and taste function in anorexia nervosa. *An Clin Nutr*, 33: 1801-8.
- Castillo Q., J. I., Álvarez C., F. J., Pérez O., J. M. y Barrera B., D. J. (2010). Depresión y diabetes: de la epidemiología a la neurobiología. *Rev Neurol*, 51 (6): 347-359.
- Chang, J. T., Lowery, L. A. y Sive, H. (2012). Multiple roles for the Na,K-ATPase subunits, Atp1a1 and Fxyd1, during brain ventricle development. *Dev.Biol.*, 368(2): 312–322.
- Chatzigeorgiou, A. (2009). The use of animal models in the study of diabetes mellitus. *In vivo*, 23:245-258.
- Chatzigeorgiou, A. (2009). The use of animal models in the study of diabetes mellitus. *In Vivo*, 23:245-258.
- Chaudhari, N., Yang, H. y Lamp, C. (1996). The taste of monosodium glutamate: membrane receptors in taste buds. *J.Neurosci*, 16, 3817-3826.
- Damak, S., Rong, M., Yasumatsu, K., Kokrashvili, Z., Varadarajan, V., y Zou, S. (2003). Detection of sweet and umami taste in absence of taste receptor T1r3. *Science*, 301: 850-853.
- Delgado, A., Minguillon, C. y Joglar, J. (2003). *Introducción a la química terapéutica*. Madrid: DIAZ DE SANTOS.
- Devlin, T. M. (2006). *Bioquímica: libro de texto con aplicación clínica*. España: REVERTÉ, S.A.

- Diamond, M., Scheibel, A. y Elson, L. (2014). *Cerebro humano*. España: Planta S.A.
- Elias Nahmod, V. (1985). Regulación de la presión arterial por la interacción del sistema serotoninérgico central con otros neurotransmisores. *MEDICINA*, 45: 442-446.
- Elliott, E. J. y Simon, S. A. (1990). The anion in salt taste: a possible role for paracellular pathways. *Brain . Res*, 535: 9-17.
- Epand, R. M., Stafford, A. R. y Tyres, M. (1985). Mechanism of action of diabetogenic zinc-chelating agents. *Mol.Pharmacol*, 27:366-371.
- Escarabajal, M., Vargas, J., López, J. y Portavella, M. (2006). *Fundamentos de psicología*. España: Delta publicaciones.
- Escobar, M. y Pimienta, H. (2006). *Sistema Nervioso*. Colombia: Editorial Universidad del valle.
- Esquivel-García, R., Lara-Ramírez, L., Bautista-García, C. S. y Mercado-Camargo, R. (2012). Actividad de la bomba de sodio y potasio en cerebelo de ratas con diabetes mellitus experimental. *Biológicas*, 14(2): 90-96.
- Estrada, E. y Uribe, M. (2002). *Atlas de histología de vertebrados*. México: Universidad Nacional Autónoma México.
- Ewart , H. S. y Klip , A. (1995). Hormonal regulation of the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase: mechanisms underlying rapid and sustained changes in. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 269(2): C295-C311.
- Fanjul, M. L. y Hiriart, M. (2008). *Biología funcional de los animales II*. Mexico, Argentina , España.: Siglo veintiuno editores, S.A. de C.V.
- Fernandez Teruel, A. (2008). *Farmacología de la conducta: de los psicofármacos a las terapias psicológicas*. Barcelona: Servei.
- Feschenko, S., Donnet, C., Wetcel, K., Asinovski, K., Jones, R. y Sweadner, J. (2003). Phospholemman a single span membrane protein, is an accessory protein of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase in cerebellum and choroid plexus. *J.Neuro*, 23(6):2161-2169.
- Figuerola G., M.C; Pérez H., Ismael y Mejía Z., Ricardo (2013). Caracterización de un modelo de diabetes tipo 2 en ratas wistar hembra. *Rev. MVZ. Córdoba*. 18:3699-3707.

- Figuerola, D., Bosch, M., Cabasés, T. y Cabré, J. J. (2011). *Manual de educación terapéutica en diabetes*. Madrid: DIAZ DE SANTOS.
- Fillion, P., Hernández, J., Bauguen, C. y Fillion, G. (1982). Postnatal development of high affinity neuronal recognition sites for 5-HT in rat brain. *Neurosci*, 5:484-491.
- Finger, T. E., Danilova, V. y Barrows, J. (2005). ATP signaling is crucial for communication from taste buds to gustatory nerves. *Science*, 310(5753):1495-1499.
- Fiske, C. y Subbarow, Y. (1925). The colorimetric determination of phosphorous. *J.Biol.Chem*, 66:375-400.
- Fox, S. I. y College, P. (2013). *Fisiología humana*. México , D.F.: Mc Graw Hill.
- Fukagawa Naomi K. (1982). Taste changes in Diabetes Mellitus .*Nutrition Reviews*. 40(8): 236-237
- Garcia-Rudaz, C., Deng, V., Matagne, V., Ronnekleiv, O., Bosch, M. y Han, V. (2009). FXD1, a modulator of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase activity, facilitates female sexual development by maintaining GnRH neuronal excitability. *Neuroendocrinol*, 21(2): 108–122.
- Geering, y Kathi. (2008). Functional roles of Na,K-ATPase subunits. *Current Opinion in Nephrology e Hypertension*, 17(5):526-532.
- Gil Velázquez L.E., Sil A. M.J., Aguilar Sánchez L. y Echevarria Zuno S (2013). Perspectiva de la diabetes mellitus tipo 2 en el instituto Mexicano del seguro social. *Rev.Med. Inst. Seguro.Soc.* 51(1):58-67.
- Gil, A. (2010). *Tratado de nutrición: nutrición humana en el estado de salud*. Madrid: Editorial medica panamericana.
- Gutiérrez, J., Rivera, J., Shamah, T., Villalpando, S., Franco, A., Cuevas, L. y Hernández, M. (2012). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012: resultados nacionales (1a ed.). México: Instituto Nacional de Salud Pública. Recuperado a partir de <http://ensanut.insp.mx/informes/ENSANUT2012ResultadosNacionales.pdf>
- Guyton, A. C. (1996). *Précis de Physiologie Médical*. Italie: Picci Nuova Libreria.

- Hardman, J. G., Limbird, L. E. y Gilman, A. G. (2005). Las bases farmacológicas de la terapéutica. En F. E. Bloom, *Neurotransmisión y sistema nervioso central* (págs. pp 317-340). McGraw-Hill.
- Hardy S.L., Brennand .CP. y Wyse B.W.(1981). Taste thresholds of individuals with diabetes mellitus and of control sujetos. *Journal of the American Dietetic Association*. Vol. 79: 286-89.
- Hernandez Gonzales, M. (2002). *Motivación animal y humana*. México: Manual Moderno S.A. de C.V.
- Hernandez, J. (1979). Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase activity in the brain cortex of rats ontogenetically malnourished, and treated with serotonin precursors. *Brain Res*, 62(2): 348-52.
- Hernández, J. (1982). A serotonin agonist- antagonist reversible effects on Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase activity in the developing rat brain. *Rev. Neurosci*, 5:326-331.
- Hernandez, J. (1992). Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase regulation by neurotransmitters. *Neurochem Int.*, 20(1): 1-10.
- Hill, R. W., Wyse, G. A. y Anderson, M. (2004). *Fisiología animal*. España: Editorial Medica Panamericana.
- Hoon, M. A., Adler, E., Lindemeier, J., Battey, J. F., Ryba, N. J. y Zuker, C. S. (1999). Putative mammalian taste receptors: a class of taste- specific GPCRs with distinct topographic selectivity. *Cell*, 96: 541-551.
- Huang , Y.-J., Maruyama , Y., Lu, K.-S., Pereira , E. y Plonsky , I. (2005 a). Mouse taste buds use serotonin as a neurotransmitter. *J Neurosci.*, 25(4):843-7.
- Huang, Y., Maruyama, Y., Lu, K., Pereira, E., Plosky, I., Baur, J. y col. (2005b). Using biosensors to detect the release of serotonin from taste buds during taste stimulation. *Arch. Ita. Biol.*, 143,87-96.
- Jimenez G., L. F. y Merchant L., H. (2003). *Biología celular y Molecular*. Mexico: Pearson educacion de Mexico S.A. de C.V.
- Jinich, H., Lifsnitz, A., García, J. A. y Ramiro, M. (2013). *Síntomas y signos cardinales de las enfermedades*. México, D.F.: Manual Moderno, S.A. de C.V.

- Jorgensen, P. L., Hakansson, K. O. y Karlsh, S. J. (2003). structure and mechanism of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase : Functional sites and their interactions. *Annual Review of Physiology*, 65:817-849.
- Kadotal, I. (1950). Studies of experimental diabetes mellitus, as produced by organier eagents. *Clin.Med.*, 35:568-591.
- Kadowaki, T., Yamauchi, Kubota,N., Hara, K., Ueki, K. y Tobe , K.(2006). Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes and the metabolic síndrome. *J.Clin Invest.* 116(7): 1784-1792.
- Kaya, N., Shen, T., Lu, S., Zhao, F. y Herness, S. (2004). A paracrine signaling role for serotonin in rat taste buds: expression and localization of serotonin receptor subtypes. *American Journal of Physiology*, 286(4):R649-58.
- Kettaneh, A., Fain, O., Stirnemann, J. y Thomas, M. (2002). Taste disorders. *La Revue de ,Medecine Interne*, 23: 622-631.
- Kim D.J. y Roper S.D. (1995). Localization of serotonin in taste buds: a comparative study in four vertebrates. *Am.J.Physiol Regul. Integr. Comp. Physiol.* 286: R649-R658.
- Krizhanovsky, V., Agamy, O. y Naim, M. (2000). Sucrose-stimulated subsecond transient increase in cGMP level in rat intact circumvallate taste bud cell. *Cell Phys*, 279, C120-125.
- Le Floch, J. P., Le Lievre , G., Sadoun, J., Perlemuter, L., Peynegre, R. y Hazard, J. (1989). Alteration du gout et des facteurs associés dans le diabéte de type I. *Ann Otolaryngol Chir Cervicofac*, 106: 455-61.
- Le Floch, J. P., Le Lievre, G. y Verroust, J. (1990). Factors related to the electric taste threshold in type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med*, 7: 526-531.
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan and streptozotocin inducen diabetes. *Diabetología*, 51:216-226.
- Li, X., Staszemski, L., Xu, H., Durick, K. y Zoller, M. (2002). Humzn receptors for sweet and umami taste. *Proc.Natl.Acad.Sci*, 99, 4692-4696.
- Lodish, H., Berk, A., Matsudaira, P., Kaiser, C. A., Krieger, M. y Scott, M. (2005). *Biología celular y Molecular*. Buenos Aires: Medica Panamericana.

- Longo D., Fauci A., Kasper D., Hauser S. y Jameson J. (2012). Harrison. Principios de medicina interna . Mc Graw Hill. Volumen 1. Pág. 1989.
- López, A., Palacio, M., Muñoz, C., Larrán, J. y García, N. (2006). *Histología especial humana: Manual de prácticas*. Cordoba: UCA.
- Lorenzo, P., Moreno, A., Lizasoain, J., Leza, J., Moro, M. y Portolés, A. (2008). *Velazquez. Farmacología básica y clínica*. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. y Randall R.J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193(1):265-75.
- Lukacinova, A., Hubkava, B., Racz, O. y Nistias, F. (2013). Animal Models for study of Diabetes Mellitus. *INTECH*.
- Manjarrez- Gutiérrez G., Mondragón- Herrera J.A., Neri- Aguirre T., Boyzo- Montes A. y Hernández- Rodríguez J.A. (2014). Alteraciones serotoninérgicas cerebrales causadas por la diabetes. LVII Congreso Nacional Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. Oaxaca, Oaxaca.
- Manjarrez, G., Chagolla, G. y Hernández, R. (1988). Desnutrición intrauterina II. L-triptófano, triptófano-5-hidroxilasa y serotoniniana en el cerebro rata. *Boletín médico del hospital infantil de México*, 12:808-816.
- Manjarrez, G., Herrera, J., Bueno, S., González, M. y Hernández, J. (2000). Cambios en la biosíntesis de serotonina cerebral en ratas con diabetes mellitus inducida por estreptozotocina: con diabetes mellitus inducida por estreptozotocina. *Res. Invest. Clin.*, 52(5):509-516.
- Masato, K. y Parnes, J. (2013). Evolutionary origins of taste buds: phylogenetic analysis of purinergic neurotransmission in epithelial chemosensors. *Open Biol*, 3:130.
- Matsunami, H., Montmayeur, J. P. y Buck, L. B. (2000). A family of candidate taste receptors in human and mouse. *Nature*, 381: 796-800.
- Mattes, R. D. y Cowart, B. J. (1994). Dietary assessment of patients with chemosensory disorders. *J. Am. Diet. Assoc.*, 94:50-56.
- Mercado, R. y Hernández, J. (1992). Regulatory role of a neurotransmitter (5-HT) of gial Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase in the rat brain. *Neurochem In.*, 21(1): 231-241.

- Mercado, R., y Kilic, F. (2010). Molecular Mechanisms of SERT in Platelets: Regulation of plasma serotonin levels. *mol. Interv*, 10:231-241.
- Mercado-Camargo R., Salgado-Chávez M.A. y Acosta-Chávez J. (2012). Expresión de receptores 5-HT en ratas con diabetes mellitus. Alemania. Editorial Académica Española. Pp. 1-46. ISBN: 978-3-8484-5115-9.
- Meyerhof, W. (2005 ). Elucidation of mammalian bitter taste. *Rev.Physiol, Biochem.Pharmacol*, 154:37-72.
- Montalvo, A., Pasos, N. y Hernández, T. (2011). Tejido y Sistema nervioso. *Departamento de Biología celular y Tisular. Biología celular e Histología medica*, 10-20.
- Morla Báez, E. (2004). *Manual para el niño y adolescente con diabetes mellitus*. Santo Domingo, Republica Dominicana.
- Morris, C. y Maisto, A. (2001). Introducción a la psicología. México: Prentice Hall.
- Muller S., W. (2008). *Bioquímica: Fundamentos para medicina y ciencia de la vida*. Barcelona: Reverte S.A.
- Nelson, G. (2001). mammalian sweet taste receptors. *Cell*, 106: 381-390.
- Nelson, G., Hoon, M. K., Chandrashekar, J. y Feng, L. (2002). An amino-acid taste receptor. *Nature*, 416, 199-202.
- Ortiz, A. R., Guzman, Q. O., Mercado C., R., Heartle, T., Vignes, C. y Bolaños, J. F. (2006). Expression of triptophan Hidroxilase in developing in mouse taste papillae. *FEBS*, 5371-5376.
- Padilla-Benavides, T., Roldán, M., Larre, I., Flores-Benitez, D. y Villegas-Sepúlveda N. (2010). The Polarized Distribution of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase: Role of the Interaction between  $\beta$  Subunits. *Mol Biol Cell*, 21(13): 2217–2225.
- Peña , M. T., Mercado , R. y Hernández , J. (1999). Regulation of Glial by Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase Serotonin: Identification of Participating. *Neurochemical Research* ., 24(5): 643-649.
- Polvani, C. y Blostein, R. (1989). Effects of cytoplasmic sodium concentration on the electrogenicity of the sodium pump. *J. Biol Chem*, 264(6): 15182-15185.
- Puig, M., Celada, P. y Artigas, F. (2004). Control serotoninérgico de la corteza prefrontal. *Revisones en neurociencia.*, 39 (6): 539-547.

- Purves, D. (2001). *Invitación a la neurociencia*. Editorial Medica Panamericana.
- Rees, D. y Alcolado, J. (2005). Animal models of diabetes mellitus. *Diabetic Medicine*, 22:359-370.
- Rerup, C. C. (1970). Drugs producing Diabetes through damage of the insuline secreting cells. *Pharmacol. Rev*, 22(4):485-518.
- Rezin, G. T., Scaini, G., Gonçalves, C., Ferreira, G., Cardoso, M., Schmitz, F. y col. (2014). Evaluation of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity in the brain of young rats after acute administration of fenproporex. *Rev. Bras. Psiquiatr*, vol.36 no.2.
- Rivera Arce, E. (2000). *Diabetes mellitus: programa completo para su tratamiento dietético*. México: Pax México.
- Rodríguez, A. (2011). Las células gliales ayudan a la función cerebral. *Rev. Digital Universitaria*, vol.12 no.3.
- Roper, S. (2006). Cell communication in taste buds. *Cell Mol Life Sci*, 63(13): 1494–1500.
- Rosales-García Pedro, Prieto-Sierra Judith, Esquivel-García Roberto , Bautista-García Claudia Susana, López-Vázquez Miguel Angel y Mercado-Camargo Rosalio (2014). Efecto del L-Triptófano sobre la Percepción Gustativa Dulce y Expresión de Receptores T1R2/T1R3 en papila caliciforme de ratas con DME. LVII Congreso Nacional Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. Oaxaca, Oaxaca
- Rothlin, R. P., Sardi, S., Torres, J. A. y Rosso, D. (1995). Amplificación de la respuesta contractil a noradrenalins por serotoninins en la arteria umbilical humana. *Medicina*, 55:652-658.
- Sahagún-Flores, J. E., Bravo-Cuellar, A. Celis, A., Hernández- Flores, G., y Orbach-Arbouys, S. (2000). Elevated salt taste detection threshold in subjetscs with essential arterial hipertencion. *Presse Médical*, 29: 1458.
- Sanchez Sendra, A. P. (2014). *Farmacología clinica*. Manuales de Enfermeria
- Santoscoy, E. (2008). *Ortopedia, neurología y rehabilitación en pequeñas especies*. México: Manual Moderno.
- Schwinger, R. H., Bundgaard, H., Muller- Ehmsen, J. y Kjeldsen, K. (2003). The Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase in failing human heart. *Cardiovasc. Res.*, 57(4):913-20.

- Silverthorn, D., Ober, W., Garrison, C. y Silverthorn, A. (2008). *Fisiología humana. Un enfoque integrado*. Argentina: Editorial médica panamericana.
- Simon S.A., Holland V.F. y Zampighi G. (1991). Localization of Na, K-ATPase in lingual epithelia. *Rev. Chemical Senses*. 16(3): 283-293
- Skou, J. C. (1992). The Na<sup>+</sup>/ K<sup>+</sup> pump. *Physiology*, 7(3): 95-100.
- Smith, D. V. y Margolskee, R. F. (2001). El sentido del gusto. *Investigación y ciencia No. 296*.
- Snell, R. (2001). *Neuro Anatomía*. México: Editorial médica panamericana.
- Stolbova, K., Hahn, A., Benes, B., Andel, M. y Treslova, L. (1999). Gustometry of Diabetes Mellitus Patients. *Int Tinnitus J*, 5: 135-40.
- Stone, T. W., y Darlington, T. C. (2002). Review Endogenous Kynurenine as targets for drug discovery and development. *Nat Rev Drug Discov*, 8:609-20.
- Sweadner, K. (1989). Isozymes of the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase. *Biochem. Biophys*, 185-220.
- Szkudski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells. of the rat pancreas. *Physiol*, 50:536-546.
- Tamorri, S. (2004). *Neurociencias y deporte. Psicología deportiva. Procesos mentales del atleta*. España: Editorial Paidotribo.
- Tebar Massó, F. J. y Escobar Jiménez, F. (2009). *La diabetes en la práctica clínica*. España: Editorial medica panamericana..
- Therien, G. y Blostein, R. (2000). Mechanisms of sodium pump regulation. *Am. J. Cell physiol Rev.*, 279: C541-566.
- Tokhtaeva, E., J. Clifford, R., Kaplan, J., Sachs, G. y Vagin, O. (2012). Subunit Isoform Selectivity in Assembly of Na,K-ATPase  $\alpha$ - $\beta$  Heterodimers. *J BiolChem*, 287(31): 26115–26125
- Tokhtaeva, E., Sachs, G. y Vagin, O. (2009). Assembly with the Na,K-ATPase  $\alpha$ 1 Subunit Is Required for Export of  $\beta$ 1 and  $\beta$ 2 Subunits from the Endoplasmic Reticulum. *Biochemistry.*, 48(48): 11421–11431.
- Toyono, T., Seta, Y. y Kataoka, S. (2002). Expression of the metabotropic glutamate receptor, mGlu4a, in the taste hairs of taste buds in rat gustatory papillae. *Arch Histol Cytol*, 65. 91-96.

- Toyono, T., Seta, Y. y Kataoka, S. (2003). Expression of metabotropic glutamate receptor group I in rat gustatory papillae. *Cell Tissue Res.* 313(1):29-35
- Usuki, S., Ito, Y., Morikawa, K., Kise, M., Ariga, T., Rivner, M., y col. (2007). Effect of pre-greminated brown rice intake on diabetic neuropathy in streptozotocin induce diabetic rats. *Nutrición y Metabolismo*, 4:1-11.
- W.Hill, R., A. Wyse, G. y Anderson, M. (2006). *fisiología animal*. Madrid España: Editorial Medica Panamericana S.A.
- Welsh, U. (2010). *Histología*. España: Editorial medica panamericana.
- Winkler, S., Garg, A. K., Mekayarajjanonth, T., Bakaeen, L. G. y Khan, E. (1999). Expression of the metabotropic glutamate receptor, mGluRa4, in the taste hairs of taste buds in rat gustatory papillae. *J. Am. Den. Asso*, 130: 515-530.
- Yang, H. y Wright, J. (2002). Human B cells are exceedingly resistant to streptozotocin. *In Vivo. Endocrinology*, 143: 2491-2495.
- Ye, Q., Heck, Q. L. y Desimone, J. A. (1991). The anion paradox in sodium taste reception: resolution by voltage- clamp studies. *Science*, 254: 724-726.
- Yee, C. L., Yang, R., Bottger, B., Finger, T. E. y Kinnamon, J. C. (2001). " Type III" cells of rat taste buds: immunohistochemical and ultrastructural studies of neuron-specific enolase, protein gene product 9.5, and serotonin. *J. Comput Neurol*, 440:97-108.
- Zhang, Y., Hoon, M. A., Chandrashekar, J., Mueller, K. L., Cook, B., Wu, D., y col. (2003). Coding of sweet, bitter, and umami taste: different receptor cell sharing similar signaling pathways. *cell*, 112:293-301.