



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

**“EFECTO DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL SOBRE LOS CORPÚSCULOS
GUSTATIVOS DE LA PAPILA CALICIFORME DE LA RATA”**

TESIS

QUE PRESENTA:

DULCE MARÍA ORTÍZ ÁVILA

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

DIRECTORES DE TESIS:

D.C. ROSALIO MERCADO CAMARGO

D.C. DANIEL GODÍNEZ HERNÁNDEZ

MORELIA, MICHOACÁN, FEBRERO 2010



ÍNDICE GENERAL

Índice general	2
Abreviaturas	5
Resumen	6

I. Introducción7

1. Hipertensión arterial	7
2. La importancia del endotelio vascular	8
3. Inhibición de la síntesis de NO	10
4. Inhibición de la síntesis de angiotensina II	10
5. Sistema gustativo.....	11
6. Las papilas gustativas.....	12
7. El corpúsculo gustativo	13
8. Neuroanatomía del sistema gustativo	15
9. Percepción molecular del gusto	17
10. Estímulos gustativos	18
11. Mecanismos moleculares para la detección del sabor amargo.....	18
12. Mecanismo molecular del sabor dulce	19
13. Mecanismos moleculares para la detección de sabor umami.....	21
14. Mecanismo moleculares para la detención del sabor salado.....	22
15. Mecanismo moleculares para la detección del sabor ácido.....	23
16. Alteraciones quimiosensoriales.	23
17. Deficiencia del NOS en la Hipertensión Arterial.....	24

II. Justificación	25
III. Hipótesis	26
IV. Objetivo general	26
V. Objetivos específicos	26
VI. Materiales y métodos	27
1. Inducción de la hipertensión arterial y el tratamiento antihipertensivo	27
2. Ingesta de líquidos	28
3. Recolección de muestras	28
4. preparación de tejidos	28
5. Tinción de hematoxilina-eosina	29
6. Análisis de las papilas	29
7. Análisis estadístico	29
VII. Resultados	30
1. Peso de las ratas	30
2. Consumo de alimento	31
3. Determinación de electrolitos	32

4. Consumo de líquidos	35
5. Efecto de la hipertensión y del tratamiento antihipertensivo sobre la papila gustativa	38
 VIII. Discusión.....	42
 IX. Conclusiones	47
 X. Referencias	48

ABREVIATURAS

AC	Adenilato Ciclasa
Ang II	Angiotensina II
Ca	Calcio
cGMP	Guanosin Monofosfato ciclico
cAMP	Adenosín Monofosfato cíclico
ECA	Enzima Convertidora de Angiotensina
EDRF	Factor de Relajación Derivado del Endotelio
L-NAME	N (G) -nitro-L- arginina metil ester
MLV	Crecimiento del Músculo Liso Vascular
NaCl	Cloruro de Sodio
NTS	Núcleo del Tracto Solitario
NOS	Óxido Nítrico Sintetasa
NO	Óxido Nítrico
g	gramo
GTP	Guanosin trifosfato
HA	Hipertensión Arterial
h	hora
Kg	Kilogramo
mg	miligramos
mmHg	milímetros de mercurio
°C	grados Celsius
PAF	Paraformaldehido
PBS	Solución buffer de fosfatos
sGC	Guanil Ciclasa soluble
s	segundo
SRA	Sistema Renina-Angiotensina
SNC	Sistema Nervioso Central
TA	temperatura ambiente
µm	micrómetro

RESUMEN

Las enfermedades cardiovasculares son el problema de salud pública más importante en las naciones industrializadas, y en México, ocupan el primer lugar de las causas de morbilidad y mortalidad. Se estima que existen 600 millones de personas que padecen hipertensión arterial (HA) en el mundo, de estas, 470 millones corresponden a los países en vías de desarrollo y se estima que 15 millones de mexicanos padecen HA y más de la mitad lo ignora. Se ha sugerido que durante la hipertensión se producen cambios en la percepción del sabor salado, una de las modalidades del sistema gustativo. El sistema gustativo, a nivel periférico, se localiza en la cavidad oral, el intestino, el esófago y la lengua, en esta última están presentes las papilas gustativas conformadas por los corpúsculos gustativos, que a su vez, están formados por 4 tipos de células. Es en estas últimas donde se encuentran los receptores para las diferentes modalidades gustativas. En ratas adultas, la administración a largo plazo de derivados de la L-arginina como el N ω -Nitro-L-arginina metil éster (L-NAME; un inhibidor de la óxido nítrico sintasa) produce disfunción endotelial e hipertensión. El sistema renina angiotensina y el sistema nervioso simpático parecen estar involucrados en la hipertensión inducida por L-NAME. Por lo anterior, un modelo de hipertensión útil es la administración de L-NAME. No se conoce si existen cambios en la percepción de las soluciones salinas, en este modelo de hipertensión, y si se presentan cambios en el número de corpúsculos gustativos. Tomando en cuenta lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar si existen cambios en la plasticidad de los corpúsculos gustativos de la papila caliciforme, en el modelo de hipertensión por restricción de óxido nítrico en la rata. Se emplearon ratas de 200 g y se dividieron en 4 grupos: control; L-NAME (50 mg/kg/8 semanas, en el agua de bebida); captopril (un antihipertensivo inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ECA; 50 mg/kg/8 semanas, en el agua de bebida); y L-NAME/captopril. Se determinó la ingesta de agua, de solución salina al 1%, de consumo de alimento, el peso de las ratas, y el número de corpúsculos gustativos. Los resultados mostraron un incremento en la ingesta de solución salina en los grupos que recibieron captopril. Por otro lado, se observó una disminución en el número de corpúsculos gustativos de la papila caliciforme en los grupos L-NAME y captopril. Estos resultados sugieren que el captopril promueve una ingesta mayor de sodio debido a una detección menor de éste, a nivel gustativo, o por favorecer la eliminación renal del mismo. Además, el óxido nítrico y la angiotensina II parecen participar en el recambio de los corpúsculos gustativos, hecho que cobra relevancia en la hipertensión donde estos mediadores están involucrados.

I. INTRODUCCION

1. HIPERTENSIÓN ARTERIAL

Se considera Hipertensión Arterial cuando hay un incremento en las cifras de la presión arterial, con valores de presión arterial diastólica superiores a 90 mm Hg y la sistólica mayor a 140 mm Hg, como promedio de dos o más mediciones de la presión arterial en cada una de dos o más visitas de hospital. Este padecimiento es un factor de riesgo, y probablemente el principal, para padecer otras enfermedades cardiovasculares y renales. A partir de 115/75 mm Hg, el riesgo de sufrir enfermedad cardiovascular se duplica con cada incremento de 20/10 mm Hg (Chobanian *et al.*, 2003).

Las enfermedades cardiovasculares, en México, ocupan el primer lugar de las causas de morbilidad y de mortalidad, ya que también actualmente son el problema de salud pública más importante en las naciones industrializadas (Williams and Braunwald, 1994). Se estima que en el mundo existen 600 millones de personas que padecen hipertensión arterial (HA), de estas, 470 millones corresponden a los países en vías de desarrollo (Rosas, 2003), 15 millones de mexicanos padecen HA y más de la mitad de los pacientes lo ignora (Velázquez *et al.*, 2002; López, 2008).

Las causas más importantes de la hipertensión arterial son las enfermedades renales y cardiovasculares. Sin embargo, la causa principal de la hipertensión arterial (HA) aún no se define de manera completa, pero se sabe que presenta una etiología poligénica y multifactorial. En su génesis y progresión intervienen diversos sistemas y mediadores neurohormonales que determinan, en una primera fase, un incremento del gasto cardiaco y posteriormente cambios estructurales y funcionales en las arterias de resistencia, responsables del establecimiento del proceso hipertensivo (González y González, 2002).

La hipertensión arterial sistémica se caracteriza por un incremento variable de la carga mecánica (hemodinámica) y neurohumoral sobre el sistema cardiovascular, es responsable de diversos procesos degenerativos, agudos y crónicos, que afectan al corazón y a las arterias (González y González, 2002). En este sentido, el Sistema Renina-Angiotensina (SRA) es un sistema de regulación de la presión arterial, ya que la Angiotensina II (Ang II) es un mediador que está implicado de manera directa en el control de la presión arterial y un cambios en la producción de esta hormona pueden implicar ya sea un aumento o una disminución de la presión arterial.

2. La importancia del endotelio vascular

El endotelio es una película diáfana, de una sola capa de células, que recubre la superficie luminal de los vasos sanguíneos. Este tejido tapiza todos los vasos del organismo y es la estructura más importante para la comunicación entre el flujo sanguíneo y la pared vascular. Pero el endotelio no es sólo una simple capa o barrera interna, interpuesta entre el flujo sanguíneo y la pared vascular, sino que es un órgano, un sensor y un transductor, que además de sus obvias funciones de barrera y transporte, afecta su entorno a través de una serie de mediadores biológicamente activos, que regulan el tono vascular, la interacción con células (plaquetas, monocitos y otros leucocitos), la coagulación y el crecimiento del músculo liso vascular (MLV). Este regulador adapta el flujo sanguíneo a las necesidades metabólicas locales (Dvorkin y Cardinali, 2005).

Dentro de las moléculas que libera el endotelio, se sabe que el principal mediador de la función endotelial, en condiciones normales, es el óxido nítrico (NO), conocido también como factor de relajante derivado del endotelio (EDRF) (Dvorkin y Cardinali, 2005). El NO es generado por el endotelio vascular a partir de la L-arginina, donde el óxido nítrico sintetasa es activado para producir NO que a su

vez activa guanil ciclasa soluble (sGC) para producir monofosfato de guanina cíclico (cGMP), dentro de la misma célula (Murata, 2004). El NO es un radical libre de vida corta, que se considera mediador en una gran diversidad de funciones biológicas incluyendo las cardiovasculares, nerviosas, reproductivas, respiratorias, gastrointestinales y del sistema inmune. Entre las principales funciones del endotelio en el sistema cardiovascular se incluyen las siguientes:

- Barrera con permeabilidad selectiva
- Regula el tono vascular
- Evita la adhesión de células
- Controla el crecimiento del MLV
- Regula en la conversión de Angiotensina I en All

Por lo anterior, no es sorprendente visualizar que la disfunción endotelial es un factor causa/consecuencia determinante en todas las enfermedades cardiovasculares. De hecho, la disfunción endotelial consiste en la pérdida de la integridad funcional del endotelio y aparece precozmente en los pacientes hipercolesterolémicos, diabéticos, fumadores e hipertensos (Dvorkin y Cardinali, 2005).

La disfunción del endotelio en los vasos sanguíneos se manifiesta por los siguientes mecanismos:

- Aumento del tono vascular
- Hipercoagulabilidad
- Interacción endotelio-célula
- Proliferación del músculo liso vascular

3. Inhibición de la síntesis de NO

La disfunción en la formación del NO y/o un incremento en el metabolismo del mismo desempeñan una participación en la patogénesis de la hipertensión y de otros desordenes cardiovasculares. La administración en ratas adultas, a largo plazo, de los derivados de la L-arginina, principalmente el L-NAME, produce disfunción endotelial incrementando la respuesta vascular, la estimulación adrenérgica y la inflamación perivascular. En este sentido, el N (G) -nitro-L-arginina metil ester (L-NAME) provoca una deficiencia crónica de la producción de NO en ratas, es un agente vasoconstrictor endotelial (López, 2008). Datos de nuestro laboratorio han mostrado que la administración de L-NAME a la dosis de 50 mg/kg/día aumenta la presión arterial en las ratas hasta cifras hipertensivas, desde la primera semana de administración (Rivera-Jardón *et al.*, 2009; Figueroa-Guillén *et al.*, 2009).

4. Inhibición de la síntesis de angiotensina II

El captopril es un inhibidor del enzima convertidora de la angiotensina (ECA), fue uno de los primeros fármacos que se comercializó, tiene un potente efecto vasodilatador. Por otro lado, se conoce que el captopril produce aumento de la concentración de renina y una disminución de la síntesis de aldosterona. Además, el captopril inhibe la liberación presináptica de norepinefrina y la actividad de los receptores adrenérgicos postsinápticos disminuyendo la sensibilidad vascular a la actividad vasopresora, siendo estos efectos indirectos, es decir, se deben a la inhibición en la síntesis de Ang II. El captopril presenta una constante de inhibición de la ECA (K_i) 1.7 nM. Las concentraciones plasmáticas máximas del captopril ocurren en el transcurso de 1 hora y el fármaco se elimina con rapidez ($t_{1/2}$ de 2 h, aproximadamente).

5. Sistema gustativo

Los principales sistemas sensoriales en el ser humano son: la vista, el oído, el tacto, el gusto y el olfato. Los sistemas sensoriales son conjuntos de órganos altamente especializados que permiten al organismo captar una amplia gama de señales. Todos los sentidos son importantes porque gracias a que trabajan en conjunto podemos tener una percepción del entorno lo más exacta posible, tanto de la parte física (temperatura, movimiento, acciones mecánicas) como de la parte química (gusto y olfato), estas sensaciones involucran procesos químicos y físicos (Jayaram, 2006; Acosta, 2008).

El sistema gustativo de los mamíferos está formado por células epiteliales especializadas que se localizan en la lengua, el paladar blando, la epiglotis, la faringe, la laringe y el tercio superior del esófago, ya que también componentes del sistema periférico y sistema nervioso central que descodifican y transmiten los impulsos eléctricos que se generan en las células gustativas (Mattes, 2002).

La función del gusto permite identificar los sabores por medio de la percepción de sus cualidades químicas, una vez que interactúan los componentes químicos de los alimentos con los receptores en las células epiteliales, llamadas papilas gustativas. El sabor traduce estímulos a estas células y proporciona información acerca de la concentración, consistencia (agradable o desagradable) y el grado de disolución. También influyen en la percepción del sabor y la calidad de las sustancias.

El sabor engloba la percepción de los olores y de los estímulos gustativos: dulce, salado, ácido, amargo y umami. Al ser detectado el sabor dulce permite una valoración cualitativa de los carbohidratos presentes en los alimentos ingeridos. El sabor salado permite detectar los electrolitos presentes en los líquidos y en los alimentos. El sabor umami, que se presenta por el glutamato monosódico, es el sabor característico de los extractos de carne y permite identificar a ciertos aminoácidos. Finalmente los sabores ácido y amargo, son modalidades que

identifican sustancias potencialmente tóxicas para el organismo. Los sabores presentan información al sistema gastrointestinal durante el consumo de los alimentos que causan la salivación y la deglución o náusea si la sustancia es nociva (Dale, *et al.*, 2001). De igual manera, el gusto y el olfato contribuyen a la digestión favoreciendo el inicio de las secreciones a nivel gastrointestinal (Mattes, 1997) y están asociados con la selección y el rechazo de los alimentos dañinos y potencialmente tóxicos.

6. Las papilas gustativas

En el sentido de gusto, el primer circuito de transmisión, es un tipo de células epiteliales denominadas células gustativas que se agrupan en corpúsculos formando las papilas gustativas (Buck, 2000).

Las papilas gustativas (del latín papilla = eminencia) son grupos de células conectadas con fibras nerviosas. De acuerdo a la función morfológica, las papilas gustativas se dividen en tres clases: caliciforme, fungiforme y foliadas, las cuales están constituidas de un número variable de corpúsculos gustativos.

Las papilas **caliciformes** o **circunvaladas** se encuentran en el tercio posterior de la lengua formando una línea en V, en **forma de botón**, cada una de ellas rodeada de un surco y en los humanos el número de papilas es de 8-12 y en los roedores solo una; cada papila contiene de 100 a 250 corpúsculos gustativos, es decir, conforman un número reducido y constituyen el 48% del total de corpúsculos gustativos.

Las papilas **fungiformes** se localizan sobre los dos tercios anteriores de la lengua y el paladar, en **forma de hongo** y contienen de 1 a 5 corpúsculos.

Las papilas **foliadas** son de 2 a 9 pliegues en los lados de la tercera parte posterior de la lengua, estas papilas contienen el 34% de los corpúsculos gustativos presentes en la lengua (**Figura 1**; Salgado, 2008).

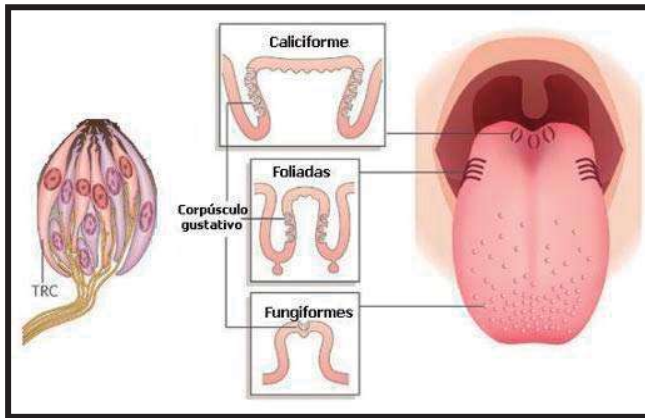


Figura 1. Las células gustativas se agrupan en corpúsculos para formar las papilas gustativas. Existen tres tipos diferentes de papilas gustativas, fungiformes, caliciformes y foliadas, las cuales tienen una localización específica en la lengua. Además, las papilas caliciformes y foliadas están constituidas por un número superior de corpúsculos gustativos. Fuente: www.nature.com

7. El corpúsculo gustativo

Dentro de un corpúsculo gustativo se alcanzan a distinguir células gustativas morfológicamente diferentes: las células basales, las oscuras (tipo I), las claras (tipo II) y las intermedias (tipo III), tal y como se pueden apreciar en la figura 2. Estas células son de poca dimensión, con una forma redonda y son las precursoras de otro tipo de células que cuentan con una característica de vida breve y una regeneración continua de 10 a 12 días (Buck, 2000). Las células oscuras, las claras y las intermedias tienen una forma bipolar que se extiende desde la apertura epitelial del corpúsculo gustativo hasta la base. El corpúsculo gustativo tiene una apertura pequeña en la célula epitelial conocida como poro gustativo. Dentro de cada corpúsculo gustativo existen aproximadamente 100 células que extienden sus microvellosidades hasta la cavidad bucal donde se encuentran las moléculas sápidas contenidas en los alimentos y hasta la base del corpúsculo gustativo (**Figura 2**), donde establecen contactos sinápticos con las

fibras que las inervan (Buck, 2000; **Figura 1 y 2**). Las células gustativas de tipo I sirven de sostén al corpúsculo gustativo y regulan las concentraciones extracelulares de iones al interior del corpúsculo de forma similar a la células gliales (Bigiani, 2001). En cuanto a las células tipo II sirven como detectoras de traducción de las señales gustativas pero estas no forman sinapsis (Defazio *et al.*, 2006).

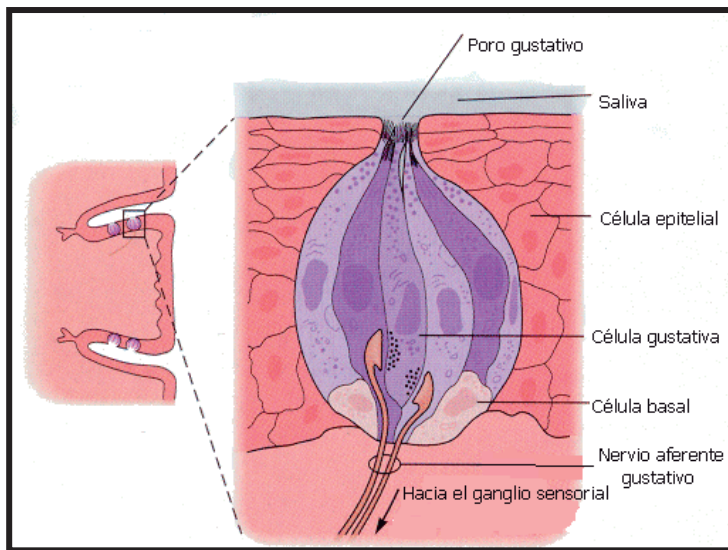


Figura 2. Corpúsculo gustativo, este contiene de 50 a 150 células gustativas, que se extienden desde la base del corpúsculo al poro gustativo. En cada corpúsculo existen tres tipos de células (claras, intermedias y oscuras). Fuente: Kandel, Schwartz & Jessell, Principios de Neurociencias, 4th Ed.

La detección de los distintos sabores también se presenta en diversas zonas de la lengua, es importante mencionar que en toda la lengua existe la capacidad para distinguir los diferentes sabores, pero existen zonas preferenciales de detección (Adler *et al.*, 2000). El sabor dulce se detecta en la parte anterior de la lengua, el sabor salado se detecta tanto en la parte anterior como en la parte media de la lengua, el sabor umami es detectado tanto en la parte media, anterior y en la parte postero-lateral de la lengua (**Figura 3**).

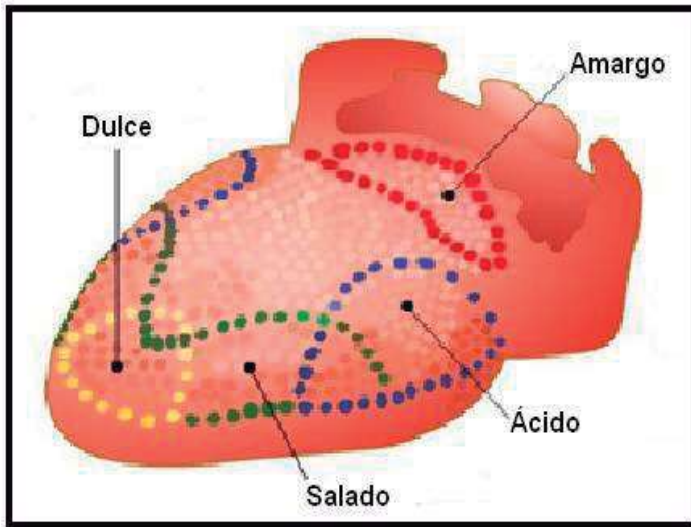


Figura 3. Detección de los sabores dulce, salado, amargo y ácido en diferentes zonas de la lengua.

8. Neuroanatomía del sistema gustativo

Las células gustativas responden a estímulos diferentes. Sin embargo, no se sabe si cada célula responde a una sola sustancia gustativa o a una combinación de ellas. Cada célula gustativa está inervada en su base por las ramas periféricas de las fibras gustativas primarias (**Figura 4**), cada fibra sensitiva se ramifica muchas veces e inerva numerosos corpúsculos gustativos y dentro de cada corpúsculo, varias células gustativas. La liberación de un neurotransmisor por las células gustativas sobre las fibras sensitivas induce la aparición de potenciales de acción en esas fibras y la transmisión de señales hacia el encéfalo (Buck, 2000; Salgado, 2008).

Las papilas gustativas son inervadas por los nervios craneanos: facial (VII), glosofaríngeo (IX) y vago (X) (**Figura 4**). Las fibras sensoriales del nervio facial, a través de las células del tímpano, transportan la información gustativa a la corteza cerebral proveniente de la papilas fungiformes, mientras que la información que proviene de las papilas caliciformes y foliadas es transportada al cerebro vía

nervio glossofaríngeo. Finalmente, el nervio vago es el encargado de trasladar al cerebro la información proveniente de la faringe (Salgado, 2008).

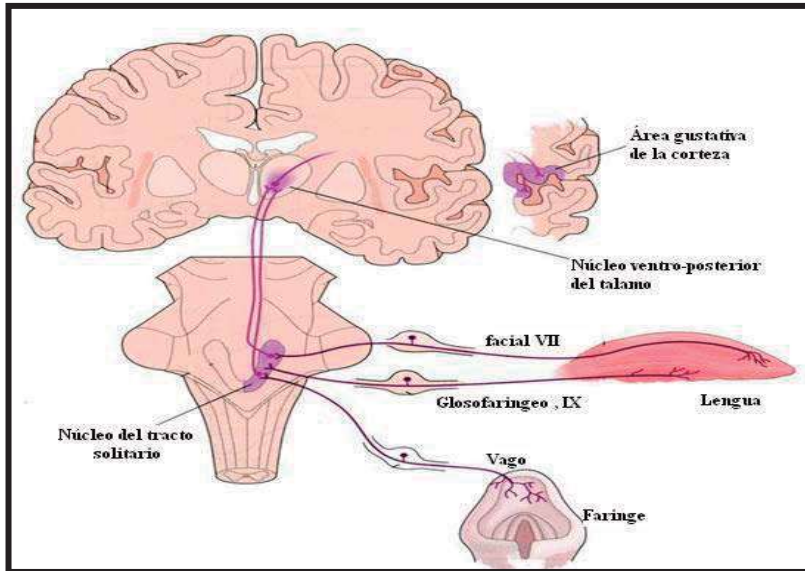


Figura 4. Neuroanatomía del sistema gustativo. La información gustativa se transmite desde los corpúsculos gustativos a la corteza cerebral a través de la sinapsis en el tronco encefálico y en el tálamo. Fuente: Kandel, Schwartz & Jessell, Principios de neurociencias, 4th Ed.

Todos los nervios que establecen contacto sináptico con las células gustativas convergen a nivel de la región rostral del núcleo del tracto solitario (NTS) localizado en el tracto cerebral (Buck, 2000). Las proyecciones de segundo orden son conectadas con el núcleo medial posterior ventral del tálamo. Las neuronas del núcleo medial posterior ventral se proyectan hacia la parte anterior de la corteza en el lóbulo cortical temporal (**Figura 4**) y hacia el opérculo en el lóbulo cortical frontal. Estas regiones son consideradas como las áreas cerebrales gustativas donde toma lugar la percepción conciente del gusto. Ciertos nervios implicados en la transmisión de señales gustativas contienen igualmente fibras somato-sensoriales que establecen contacto simpático con el epitelio lingual y el tejido muscular que rodea a los corpúsculos gustativos (Buck, 2000). Estas fibras, denominadas fibras perigemales en oposición a las fibras intragemales que inervan las células gustativas, se proyectan también al área gustativa del NTS. Sin

embargo, también existe un área cortical al nivel de la corteza orbito-frontal donde las neuronas responden a diferentes combinaciones de estímulos gustativos/visuales y olfativos/somato-sensoriales. Esta región podría representar el centro cerebral del sabor.

9. Percepción molecular del gusto

El sistema gustativo distingue cuatro estímulos básicos: dulce, salado, ácido y amargo. El monoglutamato sódico representa una quinta categoría de estímulo denominado umami. Se ha comprobado que cada tipo de estímulo gustativo se transduce mediante un grupo distinto de células. Los mecanismos moleculares utilizados por las distintas especies de vertebrados para percibir el mismo sabor podrían ser distintos (Buck, 2000). A nivel molecular, la detención y transducción de los sabores es efectuada por receptores localizados en la superficie de las microvellosidades de la membrana apical de las células gustativas.

En función de la naturaleza del sabor, el receptor activado pertenecerá, ya sea, a la familia de receptores de tipo canal, en los cuales el sitio de unión para el ligando y un canal iónico forman parte del mismo complejo macromolecular o bien al tipo de receptores acoplados a proteínas G. En el último caso, la estimulación del receptor activa una proteínas que tiene la particularidad de fijar el GTP (Guanosin trifosfato), de allí su nombre de proteína G. Esta proteína está constituida por tres subunidades (α , β y γ) capaces de activar diversos sistemas de señalización intracelular. La detección y la transducción de los sabores salados y ácidos es efectuada por receptores de tipo canal mientras que los receptores acoplados a proteínas G intervienen en la detección de los sabores dulce, amargo y umami (**Figura 5**; Salgado, 2008).

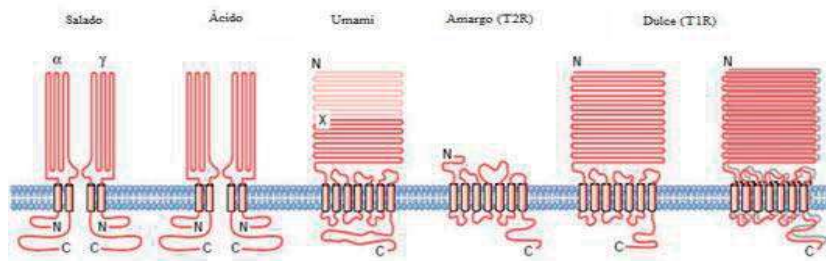


Figura 5. Receptores moleculares que participan en la integración de las señales gustativas.

10. Estímulos gustativos

Los estímulos gustativos son moléculas solubles en la saliva, el gusto y el olfato que conducen la intensidad y la calidad de la información de un estímulo adecuado. El sabor codifica información acerca de la cantidad, así como la identidad de los estímulos (Dale *et al.*, 2001). La medida más racional de la función es el umbral de la sensibilidad que puede definirse como umbral de detección o reconocimiento. El umbral de detección es la concentración mínima de un estímulo que puede detectarse en un medio determinado y el umbral de reconocimiento es la concentración mínima que puede reconocerse con respecto a sus características cualitativas (Mattes, 2002). Cuando más alta es la concentración del estímulo, mayor es la percepción de la intensidad de sabor.

11. Mecanismos moleculares para la detección del sabor amargo

El sabor amargo suele asociarse con productos tóxicos para prevenir la ingesta de estas moléculas. En el sabor amargo se incluyen moléculas de plantas como los alcaloides, (como la atropina, quinina y estricnina ya que pueden ser venenosas) (Dale *et al.*, 2001), algunos aminoácidos y cationes divalentes (Salgado, 2008).

La detección y traducción de las señales gustativas de sabor de tipo amargo se efectúa por receptores acoplados a proteínas G. Estos receptores pertenecen a la familia T2R compuesta por 40-80 miembros diferentes en el humano (Adler *et al.*, 2000; Meyerhof, 2005). Los receptores T2R se expresan preferencialmente en células gustativas de las papilas caliciformes y foliadas, raramente en células de las papilas fungiformes (Adler *et al.*, 2000; Meyerhof, 2005; Behrens y Meyerhof 2006). Los receptores TR2 tienen una región amino-terminal extracelular mucho más corta y un sitio de unión que se localiza en un dominio transmembranal del receptor. Además, los receptores del sabor amargo funcionan como proteínas alostéricas monoméricas, en las cuales la fijación del ligando induce un cambio de conformación capaz de activar las proteínas G. Mientras que el receptor del sabor dulce funcionan como un heterodímero donde las interacciones entre sus unidades son esenciales para su actividad (Nelson *et al.*, 2001,2002; Li *et al.*, 2002).

A nivel intracelular, todas las vías de traducción de los receptores de los sabores amargo y dulce conducen a un aumento de calcio (Ca^{2+}) intracelular seguido de la liberación de un neurotransmisor. La transducción de las señales amargas, implica la activación de una fosfodiesterasa (PDE) y de la fosfolipasa CB_2 ($PLC\beta_2$; Yan *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2003; Scott, 2004). La activación de la PDE involucra una disminución de la concentración de nucleótidos cíclicos, cAMP y cGMP en la célula. Esto lleva a la apertura de canales de Na^+ /Ca^{2+} generando una despolarización celular. La activación de la $PLC\beta_2$ involucra la síntesis de IP_3 que induce la liberación del calcio intracelular.

12. Mecanismo molecular del sabor dulce

El sabor dulce capta sustancias dulces por receptores específicos acoplados a proteínas G existentes en la membrana apical de las células gustativas (Buck, 2000). Los receptores del sabor dulce pertenecen a la familia T1R que comprende

tres miembros: T1R1, T1R2, T1R3 (Hoon *et al.*, 1999; Max *et al.*, 2001 Montmayeur *et al.*, 2001). Los tres subtipos de receptores T1R identificados a la fecha se caracterizan por tener un dominio amino-terminal extracelular de talla grande (400-600 residuos), que constituyen el sitio de unión para el ligando. Los receptores T1R están presentes principalmente en células de las papilas fungiformes (Hoon *et al.*, 1999). Estas papilas son particularmente sensibles al sabor dulce, mientras que las papilas caliciformes son más sensibles al sabor amargo.

El receptor del sabor dulce funciona como heterodímero donde las interacciones entre sus unidades son esenciales para su actividad. Así, la asociación de T1R2 T1R3 forma un complejo macromolecular capaz de reconocer los compuestos dulces como sacarina, sacarosa, aminoácidos y algunas proteínas dulces (Nelson *et al.*, 2001, 2002; Li *et al.*, 2002).

A nivel intracelular, todas las vías de transducción de los receptores de los sabores dulces conducen a un aumento de calcio (Ca^{2+}) intracelular seguido de la liberación de un neurotransmisor. En el caso particular de los edulcorantes artificiales y azúcares, el aumento de Ca^{2+} intracelular es consecuencia de la activación de la enzima $\text{PLC}\beta_2$. Como parte de su actividad enzimática, esta enzima cataliza la formación de diacilglicerol (DGA) y de inositol trifosfato (IP_3) a partir de fosfatidilinositol difosfato (PIP_2). El aumento de la concentración de IP_3 provoca la liberación de iones Ca^{2+} del retículo endoplasmico generando despolarización de la célula y la liberación del neurotransmisor. Una segunda vía, activada por algunos azúcares, involucra el sistema enzimático de la adenilato ciclasa (AC), quien cataliza la formación de pirofosfato y adenosín monofosfato cíclico (cAMP). Este último, bloquea los canales basolaterales de K^+ , vía la activación de una cinasa de pendiente de cAMP provocando la despolarización de la célula. En papilas caliciformes de rata, se ha demostrado recientemente que la sacarosa induce un aumento de la concentración intracelular de guanosin

monofosfato de cíclico (cGMP), sugiriendo la existencia de una tercera vía de traducción intracelular de señales dulces (Krizhanovsky *et al.*, 2000; Salgado, 2008).

13. Mecanismos moleculares para la detección de sabor umami

El sabor del glutamato monosódico representa una quinta categoría de estímulo gustativo el umami. Fue en 1908 que el profesor de química japonés, Kikunae Ikeda, identifica este novedoso sabor, al degustar un caldo de alga marina denominada “kombu”. Él no reconoció ninguno de los cuatro sabores descritos: dulce, ácido, salado y amargo. Kikunae Ikeda llamó “umami” (sabor delicioso) a este novedoso sabor, dicho sabor es utilizado para distinguir una sensación gustativa diferente de la salada, ácida, amarga y dulce. Después de los años 80’s, los defensores de la teoría de los cuatro sabores añadieron este quinto sabor a los ya existentes, conservando el nombre de umami. El sabor umami es distintivo de los espárragos, los tomates, el queso, el consomé de pollo y el extracto de carne. Este sabor es generado por las sales glutámicas, principalmente por el L-glutamato monosódico que se encuentra naturalmente en muchos alimentos, además de otros aminoácidos y péptidos (Dale, *et al* 2001; Salgado, 2008).

El sabor umami podría transformarse a través de un tipo específico de receptor metabotrópico del glutamato que también se expresa en determinadas regiones del encéfalo. Este receptor es una forma truncada en la parte N-terminal del receptor metabotrópico del glutamato del tipo 4 (mGluR4t), en la percepción gustativa del L-glutamato. Se mostró que este receptor está presente en las células gustativas (Chaudhari *et al.*, 1996; Toyono *et al.*, 2002) y que cuando se expresa en células ovario de hámster chino éstas responden al L-glutamato en una gama de concentraciones correspondientes a las observadas en los estudios de la percepción gustativa in vivo (Chaudhari *et al.*, 2000).

Sin embargo, al utilizar un sistema de expresión *in vitro*, se mostró que las células que se expresan la combinación de los receptores T1R1+T1R3 responden a la estimulación con L-glutamato (Nelson *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2002) y que la inactivación doble de la expresión de estos receptores *in vivo* abate completamente las respuestas celulares y de comportamiento al umami (Zhao *et al.*, 2005). Estos resultados sugieren que la percepción gustativa del umami recae únicamente en la combinación de los receptores TR+TR3. La activación del receptor TR+TR3 por el glutamato monosódico conduce a un aumento en la concentración intracelular de calcio y a la liberación del neurotransmisor hacia las fibras sensoriales. La activación del receptor metabotrópico del tipo glutamato, conlleva a una disminución de concentración de cAMP intracelular involucrado en la elevación de la concentración de Ca^{2+} , conduciendo ésta, a la generación de un impulso nervioso transmitido al sistema nervioso aferente. Por otro lado, un mecanismo adicional de transducción intracelular del sabor umami depende de la apertura o bloqueo de canales iónicos. Los receptores ionotrópicos al L-glutamato (iGluR) se expresan en el tejido gustativo. Datos electrofisiológicos, utilizando un inhibidor de los iGluR, confirman que los receptores N-metil D-aspartato (NMDA) están igualmente implicados en la percepción del sabor umami (Lin y Kinnamon, 1999). Estos receptores son similares a los de canales catiónicos que, cuando son abiertos, permiten la entrada de iones Na^+ y Ca^{2+} a las células. Este influjo induce una despolarización de las células gustativas conduciendo a la transmisión de una señal eléctrica al nervio aferente primario.

14. Mecanismo moleculares para la detección del sabor salado

La transformación de los estímulos salados, como el NaCl, se hace al menos en parte, por difusión de los iones de Na^+ según un gradiente electroquímico hacia los canales de Na^+ apicales sensibles a la amilorida, un guanidinio heterocíclico que bloquea reversiblemente los canales epiteliales al Na^+ (Boughter, 1997). Esta

entrada de Na^+ altera directamente el potencial de la membrana de las células gustativas y esto origina cambios en la detección del sabor de las sales de Na^+ . La transformación del estímulo provocado por las sales de K^+ también consiste en la entrada de iones de K^+ a través de los canales apicales para dicho ion. Las diferencias percibidas en la calidad de las distintas sales de Na^+ podrían deberse a la distinta capacidad de los iones de estas sales, para penetrar a través de las uniones intracelulares herméticas existentes entre las células gustativas y afectar a los canales iónicos de sus membranas basolaterales (Buck, 2000).

15. Mecanismos moleculares para la detección del sabor ácido

En la transformación de los estímulos creados por las sustancias ácidas interviene la penetración o el bloqueo de los canales iónicos apicales por los protones. Se ha reportado que el iones hidrógeno (H^+) son los responsables de la percepción del estímulo ácido, la intensidad del sabor ácido de un alimento es proporcional a la concentración de protones H^+ , los protones H^+ son capaces de bloquear los canales de K^+ (Cummings y Kinnamon, 1992), impidiendo la salida de este protón lo cual provoca una despolarización de la membrana y la generación de potenciales de acción por la activación de canales Ca^{2+} sensibles a voltaje, produciendo la liberación de un neurotransmisor sobre las fibras gustativas aferentes.

16. Alteraciones quimiosensoriales

Las alteraciones quimiosensoriales pueden manifestarse como pérdida, disminución, distorsión o rara vez incremento de la sensibilidad. La pérdida se denomina ageusia (gusto) o anosmia (olfato) y puede ser completa o específica para algún tipo de sabor u olor (Mattes, 2002). La hipogeusia y la hiposmia consisten en disminución de la sensibilidad que puede ser generalizada o específica. La disgeusia y la disosmia son alteraciones del gusto y del olfato en las que los individuos perciben de manera distorsionada los estímulos habituales.

La hiperosmia y la hipergeusia indican un aumento en la sensibilidad y se observa en muy pocos casos. Estos trastornos pueden presentarse aislados o en combinación. Los trastornos quimiosensoriales tienen múltiples causas. Más de la mitad de los pacientes que solicitan atención por problemas del gusto o del olfato presentan trastornos que se deben a una de las tres causas siguientes: el hallazgo más frecuente es la relación con una infección de las vías respiratorias superiores, es probable que esto conduzca a una invasión viral de los nervios periféricos, aunque también es factible la lesión de estructuras centrales.

La pérdida de la sensibilidad gustativa (ageusia) y/o olfativa (anosmia), se asocian con disminución de peso, desnutrición, desórdenes inmunitarios y a la degradación del estado de salud general de personas mayores (Mattes y Coward, 1994; Winkler *et al.*, 1999). Existe una asociación entre los desórdenes del gusto y la depresión, los pacientes depresivos señalan frecuentemente sensaciones gustativas desagradables (Miller *et al.*, 1989) y un estado depresivo es frecuente en los pacientes disgeúsicos (Deems *et al.*, 1991). Además, ciertas patologías son acompañadas de ageusia y de anosmia en particular la esquizofrenia, la enfermedad de Alzheimer y la anorexia, donde la disgeusia se vincula a una carencia de zinc que afecta el gusto (Casper *et al.*, 1980).

17. Deficiencia del NOS en la Hipertensión Arterial

La disfunción en la formación del NO y/o un incremento en el metabolismo del mismo desempeñan una participación en la patogénesis de la hipertensión y de otros desórdenes cardiovasculares. La administración en ratas adultas, a largo plazo, de los derivados de la L-arginina, principalmente el L-NAME, produce disfunción endotelial incrementando la respuesta vascular, la estimulación adrenérgica y la inflamación perivascular. En este sentido, el N (G) -nitro-L-arginina metil éster (L-NAME) provoca una deficiencia crónica de la producción de NO en ratas, es un agente vasoconstrictor endotelial y así mismo produciendo hipertensión arterial. (Figueroa-Guillén *et al.*, 2009; Rivera-Jardón *et al.*, 2009).

II. JUSTIFICACIÓN

El sistema renina angiotensina (SRA) parece estar involucrado en la gran mayoría de los tipos de hipertensión arterial incluso en la hipertensión inducida por deficiencia de óxido nítrico. En este sentido, la disfunción en la formación y/o un incremento en el metabolismo del óxido nítrico participan en la patogénesis de la hipertensión y otras enfermedades cardiovasculares. Se conoce que la administración a largo plazo de inhibidores de la síntesis de óxido nítrico (como en L-NAME) produce hipertensión.

Por otro lado, se ha sugerido que durante la hipertensión arterial se producen cambios en la percepción del sabor salado, una de las modalidades del sistema gustativo, pero no se conoce si existen cambios en la percepción de la soluciones salinas y/o si se presentan cambios en el número de de corpúsculos gustativos.

Por lo anterior, en el presente trabajo se estudió el sistema gustativo y su relación con la hipertensión arterial.

III. HIPÓTESIS

Existen cambios en el número de corpúsculos gustativos y en la morfología de la papila caliciforme en ratas con hipertensión arterial.

IV. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la hipertensión arterial sobre la plasticidad de corpúsculos gustativos y sobre la morfología de la papila caliciforme.

V. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el efecto de la hipertensión arterial sobre la morfología y el número de corpúsculos gustativos de la papila caliciforme.
2. Determinar el efecto de la hipertensión arterial sobre la percepción del sabor salado.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas macho adultas de la cepa Wistar de 9 semanas de edad, con un peso de 300 ± 10 g. Los animales se mantuvieron en condiciones ambientales estándar: ciclo de luz/oscuridad de 12 h cada uno, humedad relativa de 80% y temperatura de 20–25 °C, con alimentación y agua *ad libitum*.

1.- INDUCCIÓN DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL Y EL TRATAMIENTO ANTIHIPERTENSIVO

Para la inducción de la hipertensión y el tratamiento antihipertensivo, los animales se dividieron en 4 grupos, con un total de 3 ratas en cada grupo y el tratamiento tuvo una duración de 8 semanas. Los grupos se dividieron de la siguiente manera:

- 1) CONTROL
- 2) L-NAME (a la dosis de 50 mg/Kg)
- 3) CAPTOPRIL (a la dosis de 50 mg/Kg)
- 4) L-NAME + CAPTOPRIL

Se monitorizó el peso y el consumo de agua de las ratas de los diferentes grupos cada semana para ajustar la dosis y los fármacos utilizados se administraron por vía oral. También se midió cada semana el consumo de alimento.

2.- INGESTA DE LÍQUIDOS

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 dos botellas. Posteriormente a la adaptación de los animales y para la determinación de la percepción del sabor salado se midió la ingesta de solución de cloruro de sodio (NaCl) al 1% y de agua, suministrando 1 bebedero con cada líquido, dejando que los animales consumieran solución salina o agua, según prefirieran. Dicha medición se aplicó a los animales de los diferentes grupos después de haber iniciado el tratamiento y a la par con el mismo (L-NAME, L-NAME/CAPTOPRIL y CAPTOPRIL).

3.- RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Una vez completados los tratamientos se procedió al sacrificio de los animales mediante dislocación cervical y se les practicó una incisión media torácica, exponiendo el corazón para tomar una muestra de sangre por punción en el ventrículo izquierdo y posteriormente se obtuvo el suero sanguíneo para la determinación de electrolitos. Posteriormente se extrajo la lengua para las preparaciones histológicas.

4.-PREPARACIÓN DE TEJIDOS

Después, la lengua se fijó con paraformaldehído al 4% (PAF) en solución amortiguadora de fosfatos (PBS) durante 24 h a 4°C, posteriormente, el tejido se trató con PBS que contenía sacarosa al 10, 20 y 30%, de manera secuencial, para su crioprotección durante un periodo de 24 h a 4°C. Una vez fijado el tejido la papila caliciforme se preparó para micro-disección y fue extraída para su posterior orientación en resina (OCT) a -20°C., posteriormente se realizaron cortes de 16 micrómetros de espesor en un criostato y se colocaron en laminillas con gelatina. Los cortes histológicos se tiñeron con hematoxilina-eosina.

5.-TINCIÓN DE HEMATOXILINA-EOSINA

Para realizar el conteo de los corpúsculos gustativos de la papila caliciforme la técnica utilizada fue la tinción de hematoxilina-eosina, para esto se obtuvieron cortes de 16µm en laminillas con gelatina, los cuales fueron fijados con etanol al 96% por 5 minutos a temperatura ambiente (TA). Los cortes se lavaron con agua corriente por 10 segundos y se sumergieron en una solución de colorante hematoxilina por 1 minuto a TA. Después, los cortes se lavaron con agua corriente por 10 s y se sumergieron a una solución de etanol ácido (0.5% de HCl en etanol). Posteriormente, los tejidos se lavan con agua corriente por 10 s y se expusieron en una solución de colorante eosina por 1 minuto a TA. Los cortes se lavaron y se deshidrataron en etanol a concentraciones crecientes (96% y absoluto). Las muestras fueron montadas en resina para su digitalización, en un microscopio óptico (Carl Zeiss®).

6.- ANÁLISIS DE LAS PAPILAS

El número de corpúsculos gustativos en cada papila caliciforme fue contado utilizando el método modificado de Bradler (1980), revisándose cada corte en forma secuencial y se contaron por duplicado, es decir, a cada laminilla se le realizó el conteo en forma independiente por dos personas.

7.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de los resultados se utilizó el programa Excel (Microsoft Office®) con el cual se calculó el promedio y la error estándar de los datos experimentales posteriormente se utilizó el programa Sigma Plot® versión 11 para realización de las graficas y la estadística, en la cual se empleo un análisis de varianza de dos vías seguido de la prueba de Tukey para determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los grupos estudiados.

VII. RESULTADOS

1.- PESOS DE LAS RATAS

El registro de los pesos de los animales mostró un incremento de conforme va aumentando la edad de las ratas, a lo largo de las 8 semanas de tratamiento, en todos los grupos. Además, se observó que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes grupos control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril, es decir, ningún tratamiento modificó el patrón de crecimiento de los animales (figura 6).

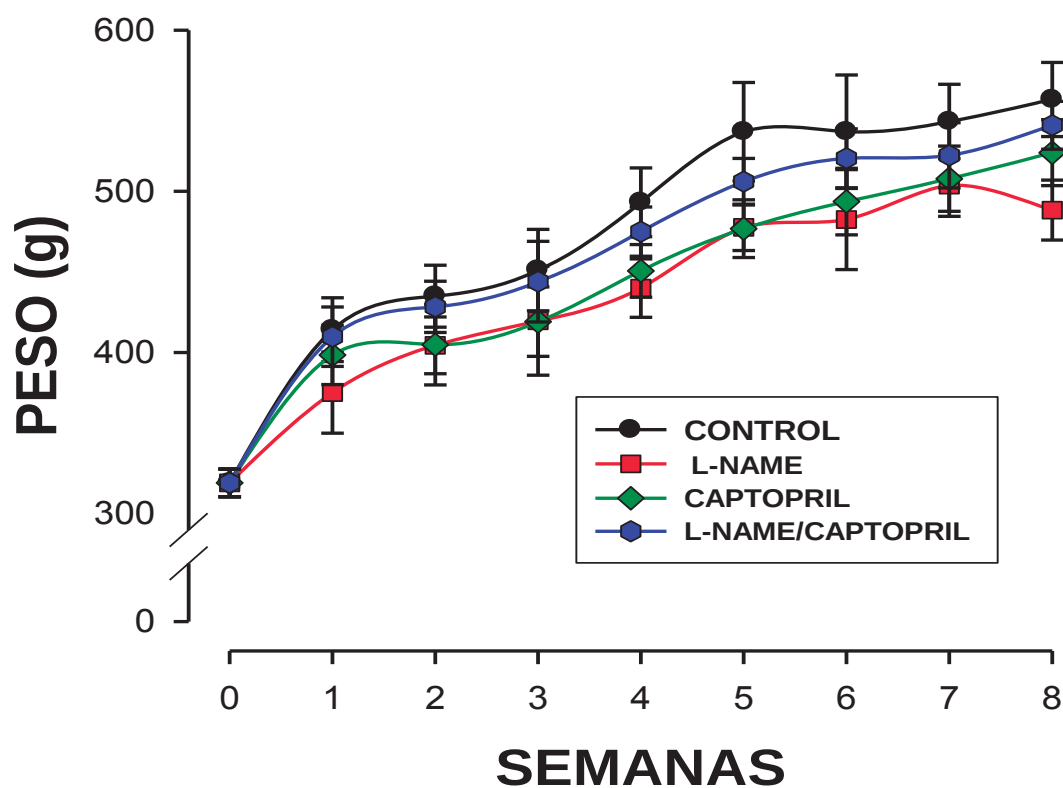


FIGURA 6. Curso temporal de la ganancia de peso (g) de animales de los grupos control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril, durante 8 semanas.

2.- CONSUMO DE ALIMENTO

En la figura 7 se observa el consumo de alimento (en gramos) de los animales de los diferentes grupos control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril y se puede apreciar que, al cumplir las 8 semanas de tratamiento, los animales aumentaron en un 20%, aproximadamente, el consumo de alimento. Por otro lado, hay una tendencia a consumir más alimento en los animales del grupo control y del grupo con la combinación L-NAME/captopril y sólo en la quinta semana se observa una disminución significativa en el consumo en el grupo L-NAME respecto al control.

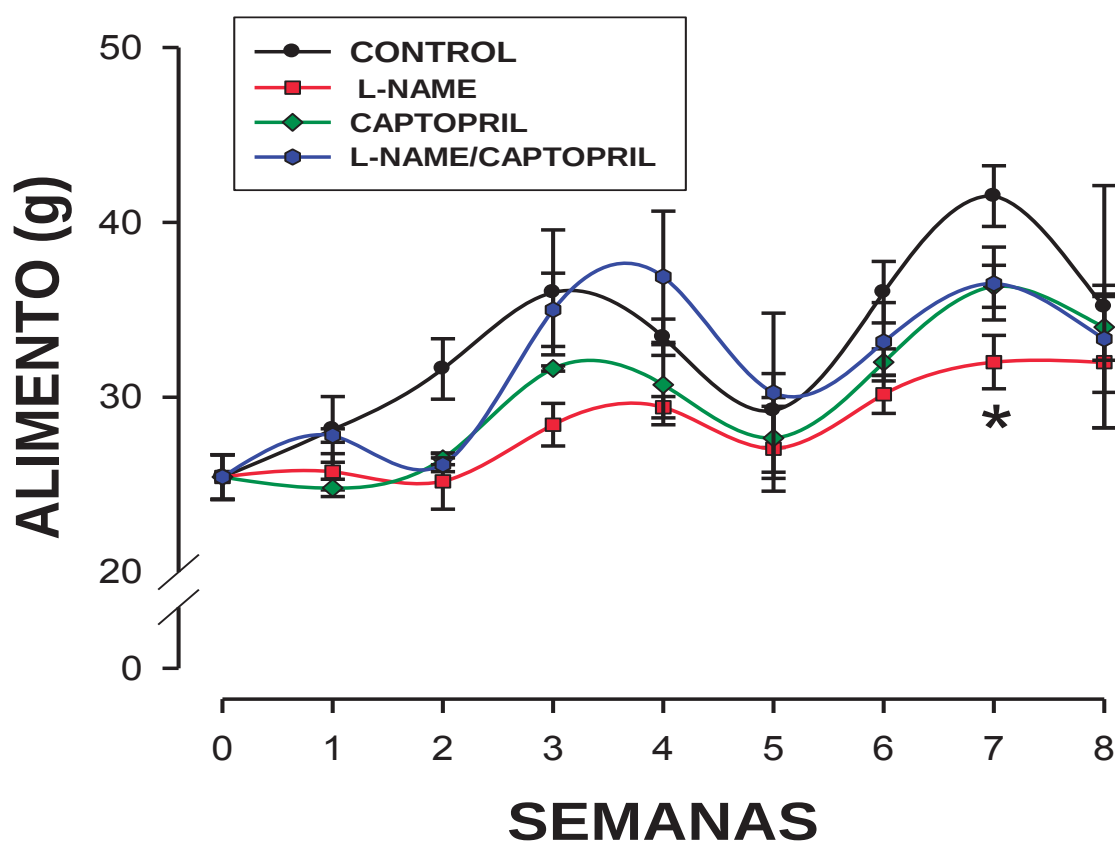


FIGURA 7. Curso temporal del consumo de alimento de los grupos control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril, durante 8 semanas. Cada punto representa el promedio $\pm$ e.e de 3 animales.
* $p < 0.05$ vs. Control, prueba de Tukey.

3.- DETERMINACION DE ELECTROLITOS

En la figura 8 se observa la determinación de cloro plasmático de los diferentes grupos: control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril, no se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos y los niveles de cloro plasmático de los animales de todos los grupos estuvieron dentro de los valores de referencia 96–110mg/dl.

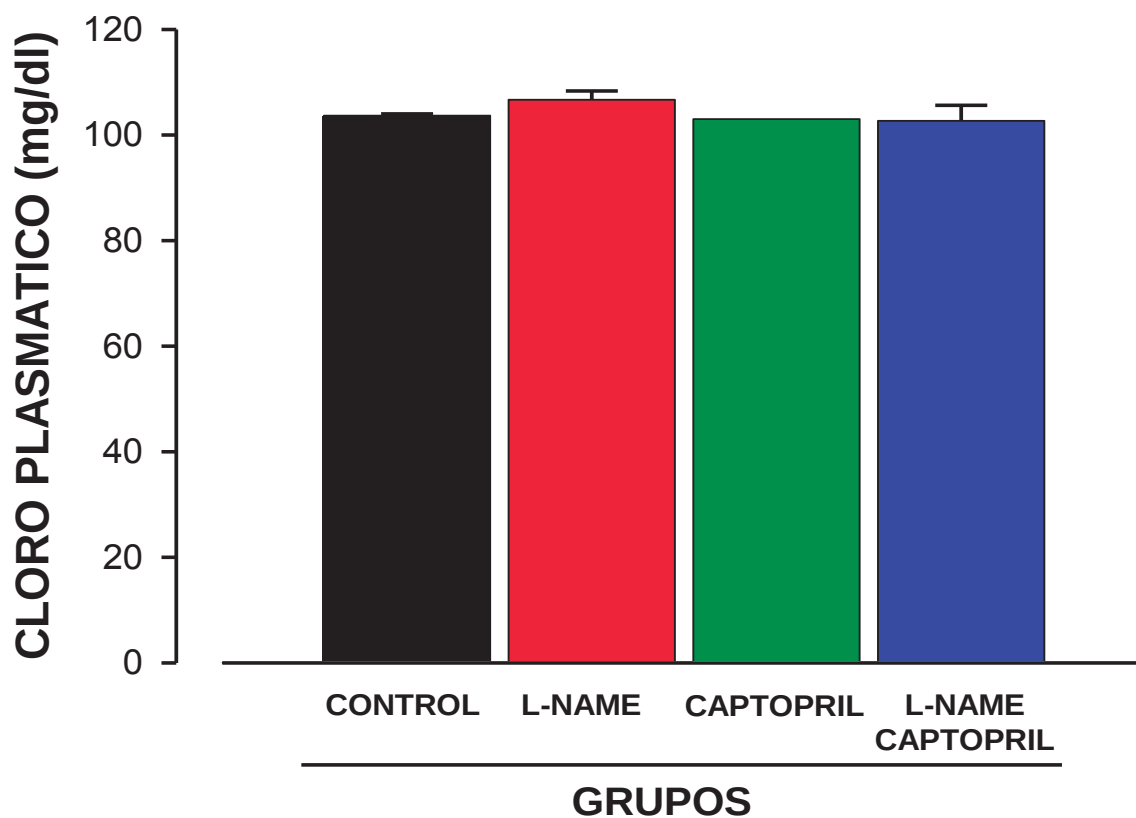


FIGURA 8. Niveles de cloro plasmático (valores de referencia 96-110 mg/dl) de animales de los grupos control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril.

En la figura 9 se observa la determinación de potasio plasmático de los diferentes grupos, control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril, no se observó una diferencia estadísticamente significativa de los diferentes grupos, sin embargo, los niveles plasmáticos de este electrolito son más altos que los valores de referencia reportados para humanos (3.4-5.3 mg/dl) y al realizar un búsqueda en la literatura de los valores de referencia en roedores encontramos que no existen reportes al respecto.

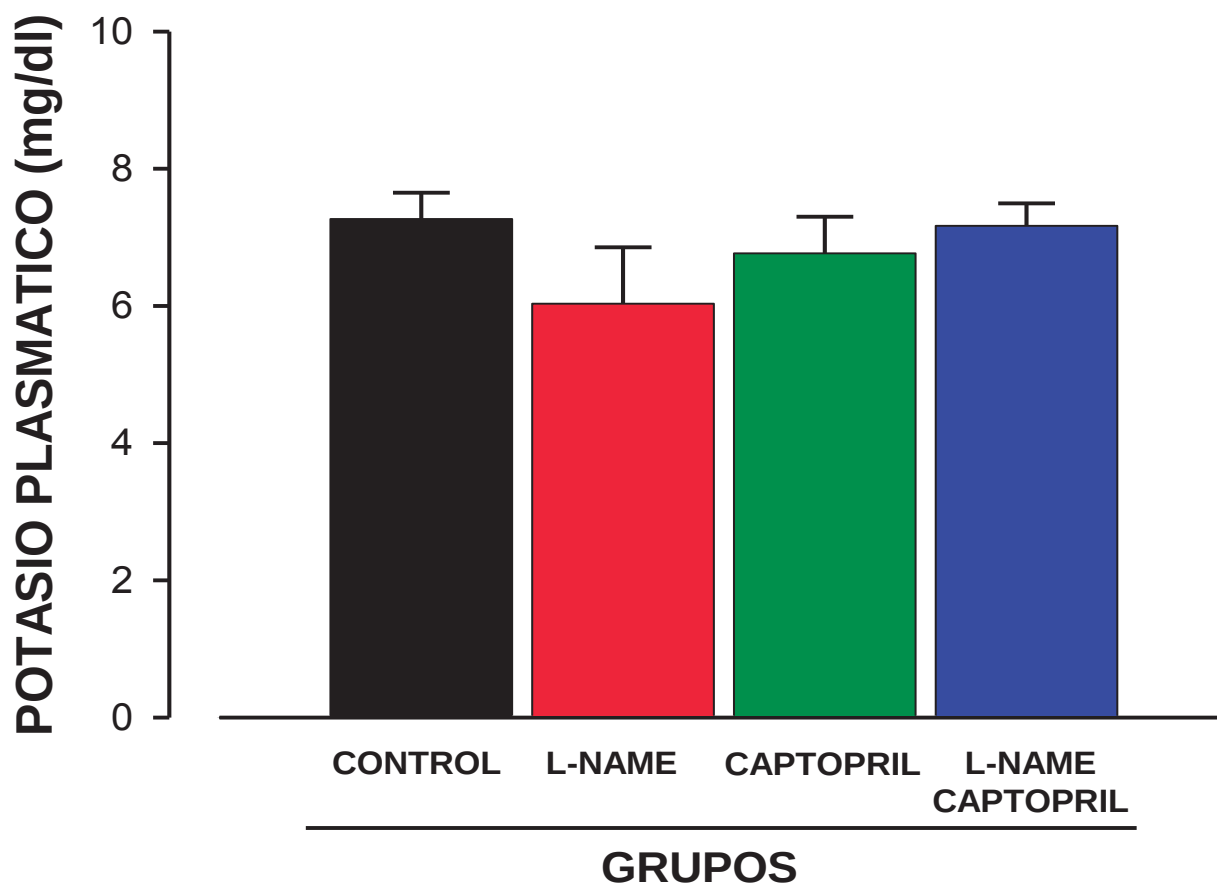


FIGURA 9. Niveles de potasio plasmático (valores de referencia en humanos 3.4-5.3 mg/dl) de animales de los grupos control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril.

En la figura 10 se observa la determinación de sodio plasmático en los animales de los diferentes grupos, control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril, no se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos y los niveles de sodio plasmático de los animales de todos los grupos estuvieron dentro de los valores de referencia 135–155mg/dl.

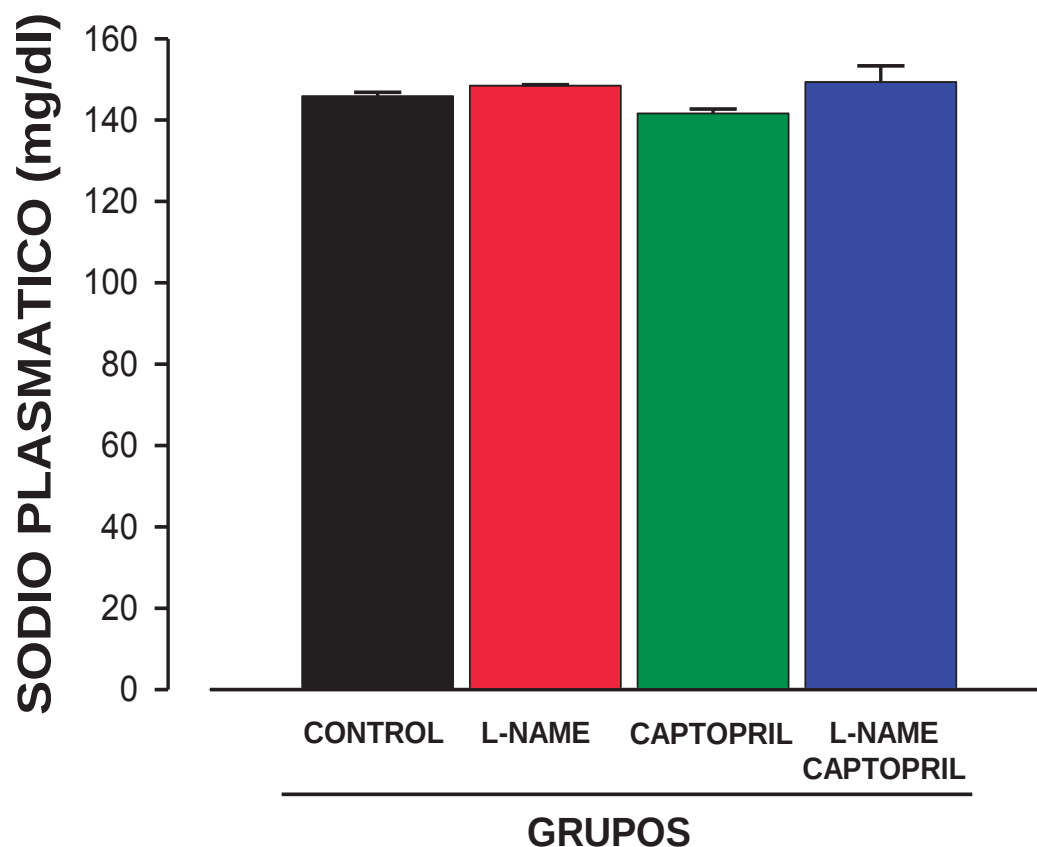


FIGURA 10. Niveles de sodio plasmático (valores de referencia 135-155 mg/dl) de animales de los grupos control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril.

4.- CONSUMO DE LIQUIDOS

En la figura 11 se observa el consumo de agua (ml) durante las 8 semanas de tratamiento de los animales de los diferentes grupos control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril, se puede apreciar que grupo control y L-NAME ingieren la misma cantidad de agua, con fluctuaciones no significativas a lo largo del tratamiento. Por otro lado, los grupos tratados con captopril (captopril y L-NAME/captopril) desde el inicio del tratamiento disminuyen el consumo de agua, sin embargo, a partir de la quinta semana los animales dejaron de consumir agua ($p < 0.05$).

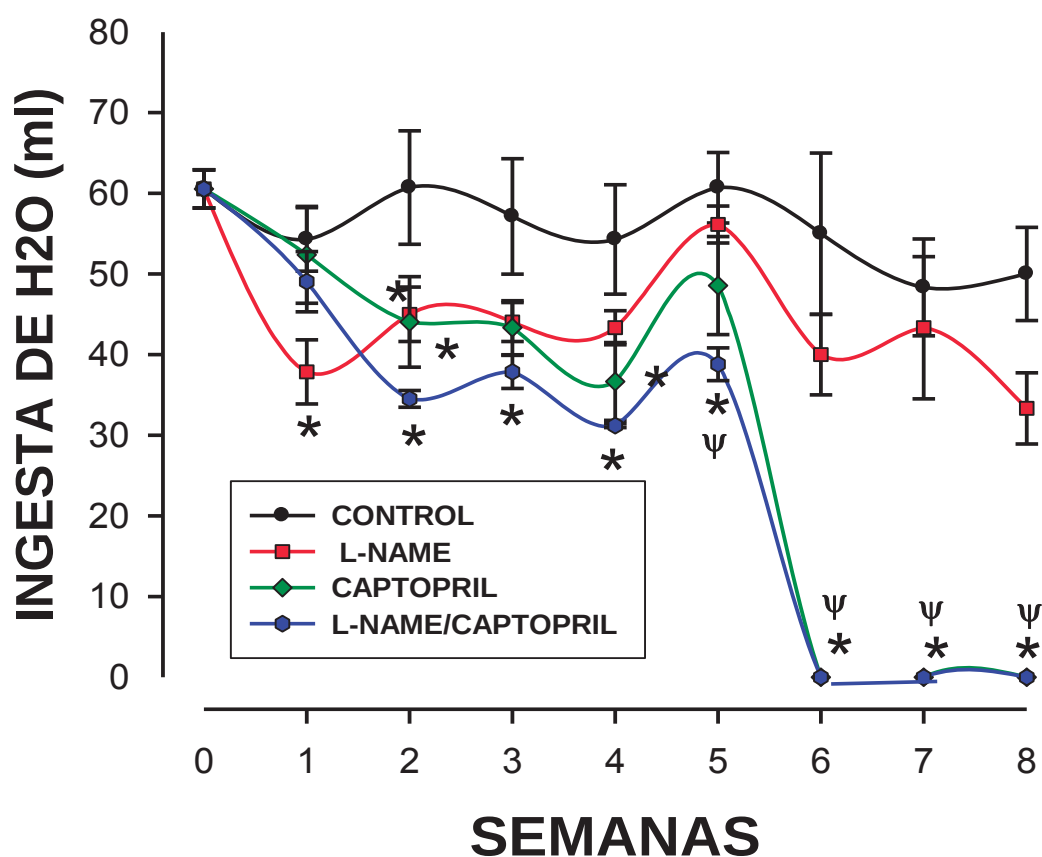


FIGURA 11. Curso temporal de la ingesta de agua (ml) de los animales de los grupos control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril, durante 8 semanas. Cada punto representa el promedio $\pm$ e.e. de 3 animales. * $p < 0.05$ vs. control; ψ $p < 0.05$ vs. L-NAME, prueba de Tukey.

En la figura 12 se observa la ingesta de solución salina al 1% (ml) durante las 8 semanas de tratamiento de los animales de los diferentes grupos control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril, se puede apreciar que grupo control y L-NAME ingieren una cantidad mínima de solución salina a lo largo del tratamiento. Por otro lado, los grupos tratados con captopril (captopril y L-NAME/captopril) desde el inicio del tratamiento aumentan el consumo de solución salina, de manera gradual, alcanzando una ingesta máxima al final del tratamiento ($p < 0.05$).

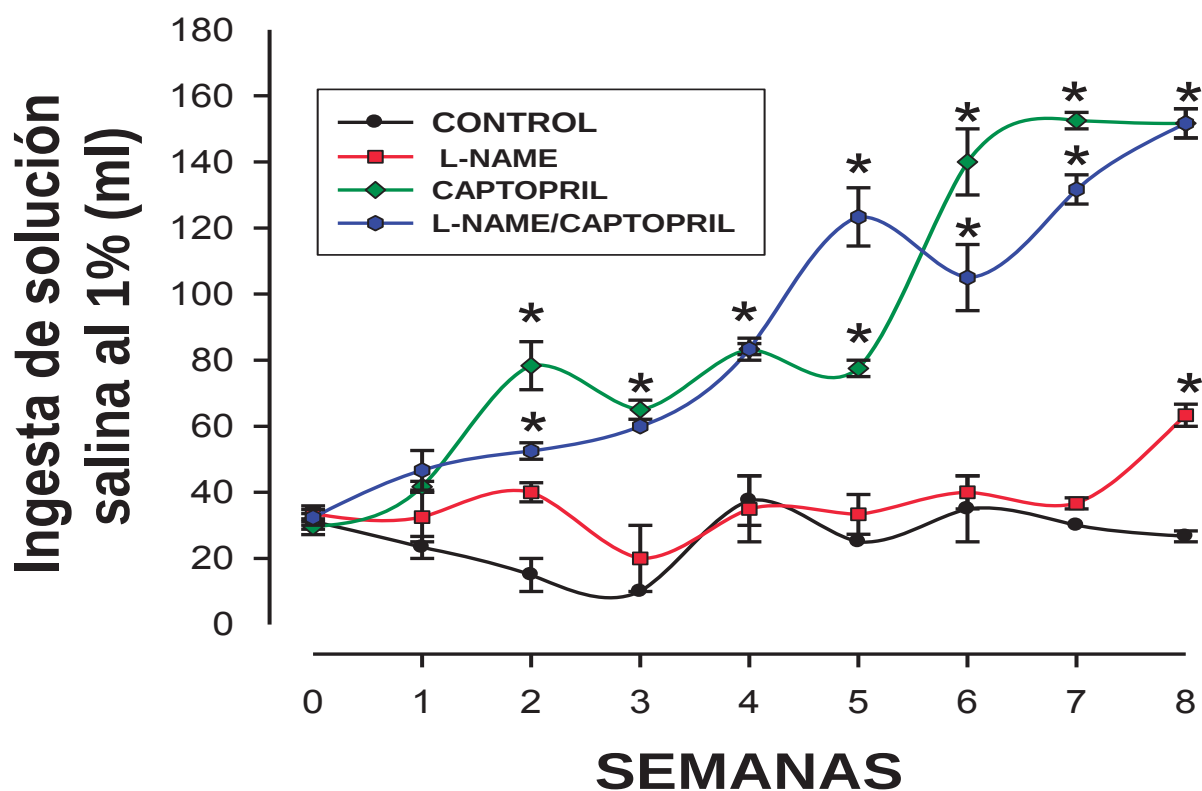


FIGURA 12. Curso temporal de la ingesta de solución salina al 1% (ml) de los animales de los grupos control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril, durante 8 semanas. Cada punto representa el promedio $\pm$ e.e del consumo de 3 animales. * $p < 0.05$ vs. control, prueba de Tukey.

En la figura 13 se observa el consumo de ingesta de líquidos totales (ml) de los diferentes grupos control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril, donde se aprecia que el grupo de captopril y L-NAME/captopril presentaron una tendencia a ingerir una mayor cantidad de líquido, sin embargo, debido a la variabilidad esta diferencia no se soporta estadísticamente.

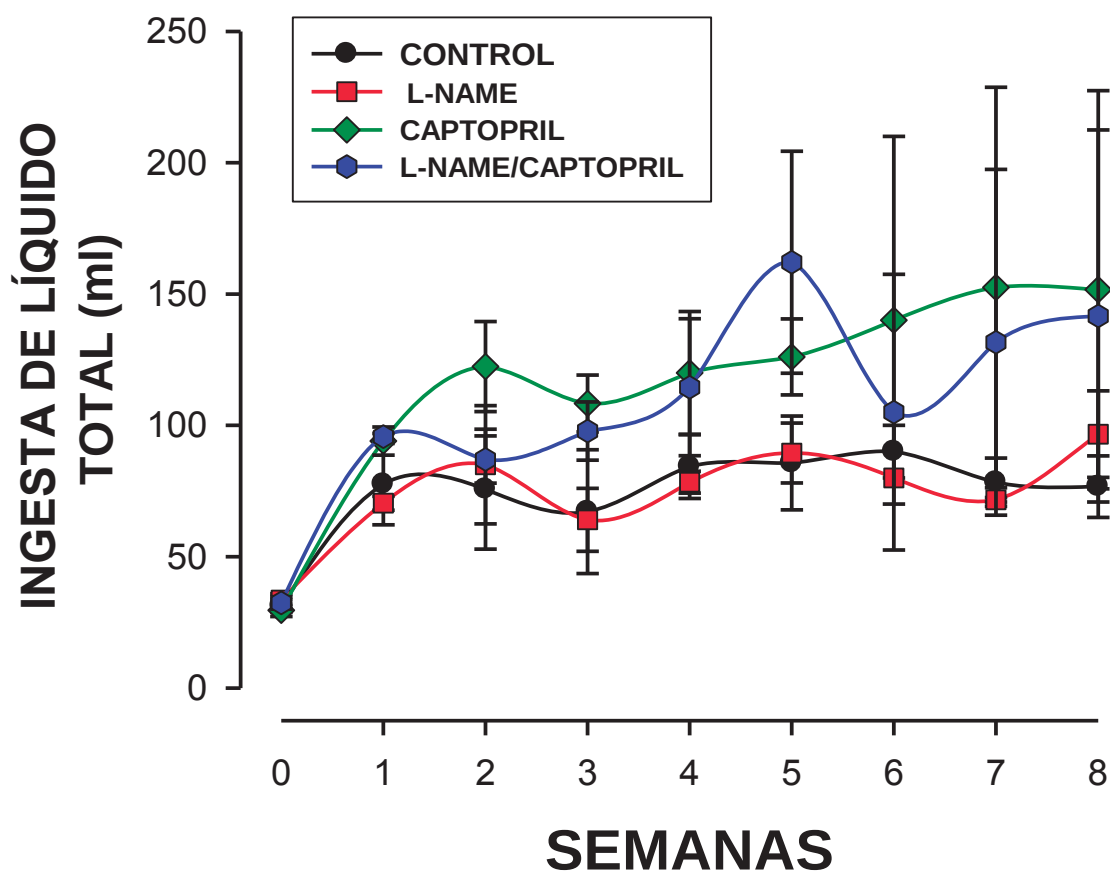


FIGURA 13. Curso temporal de la ingesta de líquido total (ml) de los animales de los grupos control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril, durante 8 semanas. Cada punto representa el promedio $\pm$ e.e del consumo de 3 animales.

5.- EFECTO DE LA HIPERTENSIÓN Y DEL TRATAMIENTO ANTIHIPERTENSIVO SOBRE LA PAPILA GUSTATIVA

En la figura 14 se observa el número de corpúsculos gustativos de la papila caliciforme de animales con los diferentes grupos control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril y se observa que el grupo L-NAME y captopril tienen un menor número de corpúsculos gustativos y presentan una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) con respecto al control. Por otro lado, la combinación del tratamiento con L-NAME y captopril revirtió, de manera parcial, la disminución presentada con los tratamientos individuales.

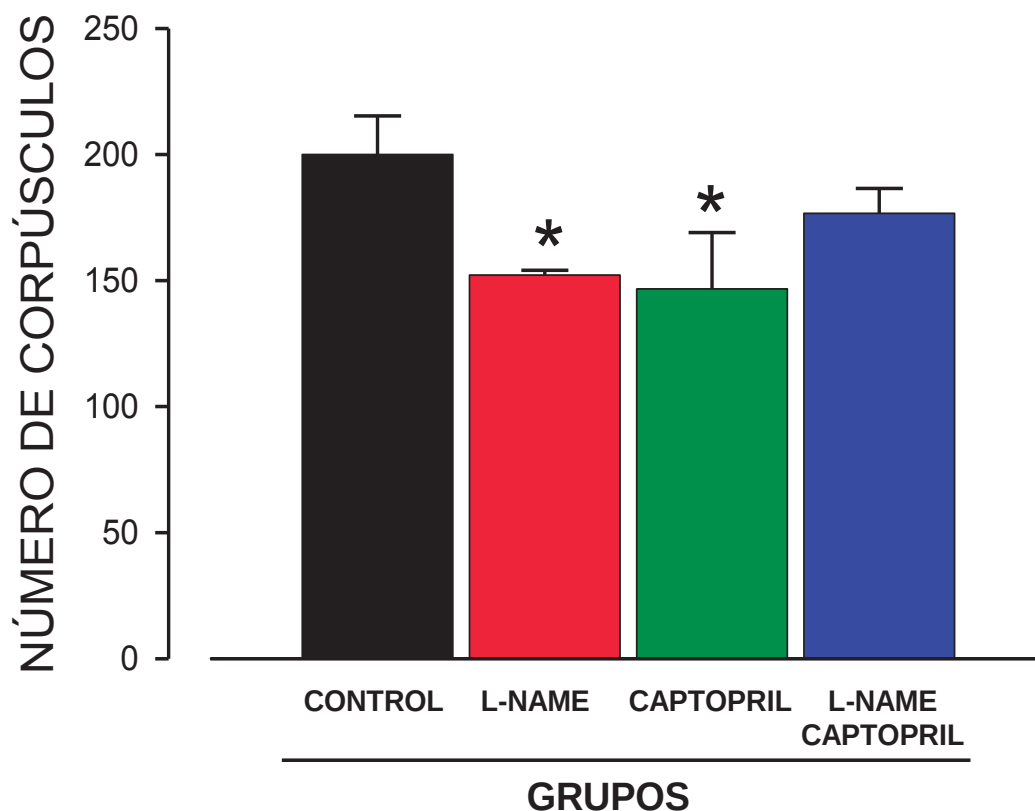


FIGURA 14. Número de corpúsculos gustativos en la papila caliciforme de animales de los grupos control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril. Cada punto representa el promedio $\pm$ e.e de 3 animales. * $p < 0.05$ vs control, prueba de Tukey.

Para poder apreciar mejor las diferencias mostradas en la figura 14, en la figura 15 se graficó el porcentaje de reducción de los corpúsculos gustativos de la papila caliciforme de animales de los diferentes grupos control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril, donde el número de corpúsculos que mostró el grupo control representó el 100%, en el grupo L-NAME el número de corpúsculos se redujo un 24%, en el grupo captopril se redujo un 27% y en el grupo L-NAME/captopril se redujo un 12%.

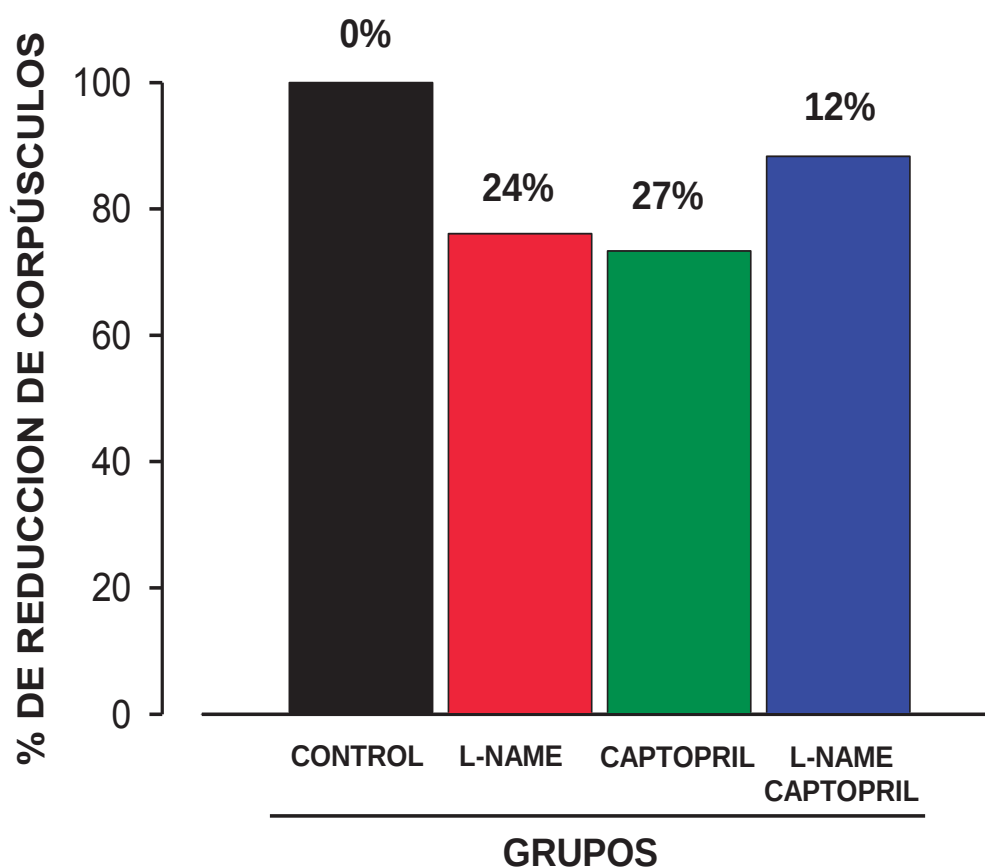


FIGURA 15. Porcentaje de reducción de corpúsculos gustativos en la papila caliciforme de los animales de los grupos control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril. * $p < 0.05$ vs. control, prueba de Tukey.

En la figura 16 se muestra macrofotografías de la papila caliciforme y de los corpúsculos gustativos de las ratas de 8 semanas de inducción con los diferentes tratamientos y pueden apreciarse cambios morfológicos en la papila caliciforme del grupo de L-NAME con respecto a su control, en el grupo de ratas tratadas con captopril se observa un mayor daño en los corpúsculos gustativas como en las células gustativas con respecto al control, en el grupo L-NAME/captopril se observa un menor daño en la morfología de la papila caliciforme con respecto a su control.

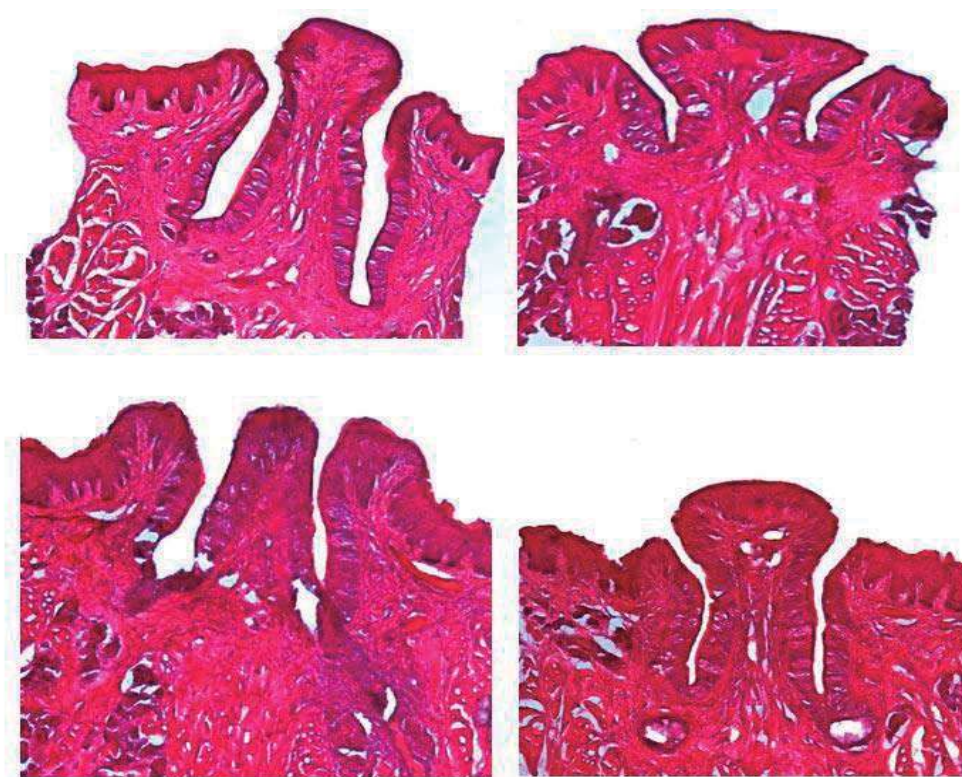


FIGURA 16. Morfología de cortes histológicos de la papila caliciforme de los animales de los diferentes grupos control, L-NAME, captopril y L-NAME/captopril.

	CONTOL	L-NAME	CAPTOPRIL	L-NAME / CAPTOPRIL
Amplitud	1.6 cm	3.0 cm	1.0 cm	2.1 cm
Longitud	3.5 cm	1.7 cm	2.9 cm	3.0 cm

DISCUSION

La hipertensión arterial es un grave problema de salud y una de las enfermedades cardiovasculares más importantes en México, por lo que se requiere modelos experimentales de hipertensión arterial para estudiar y entender los mecanismos y complicaciones de dicha enfermedad. La administración de N (G) -nitro-L- arginina metil ester (L-NAME; un inhibidor de oxido nítrico sintasa), para inducir hipertensión arterial en forma experimental se ha reportado como un método adecuado para obtener un modelo experimental de HA (Paulis et al., 2008). El modelo experimental de HA en ratas se ha implementado en nuestro laboratorio, la administración es por vía oral en una dosis de 50 mg/Kg, dado que el NO es el principal mediador del endotelio capaz de producir vasorelajación, al utilizar un fármaco que inhibe el NOS (L-NAME) ocasiona un estrechamiento de las arterias provocando una disfunción endotelial y así aumentando la presión arterial. En general la HA por sí misma no produce ningún síntoma. En nuestros resultados se observa el consumo de alimento de los animales donde el grupo hipertenso (L-NAME) consume menos alimento que los otros grupos (control, captopril y L-NMAE/captopril), sin embargo en la séptima semana se observa una diferencia estadísticamente significativa $p < 0.005$ del grupo hipertenso comparado con el control, se puede decir que durante el tratamiento no presentan polifagia (aumento del apetito), también en nuestros resultados el grupo hipertenso presenta pérdida de peso ya que se encuentra por debajo de los diferentes grupos (control, captopril y L-NMAE/captopril) en estos grupos solo se observa un incremento de los pesos de las ratas conforme va aumentando su edad.

Algunos autores han reportado que los efectos circulatorios de hipovolemia (daño causado por el aumento del apetito del sodio y la sed) al momento en que aumenta el apetito de sodio y la sed; también hay una marcada caída en el flujo de la orina y la excreción de electrolitos, en sus estudios los animales ganaban peso

debido a la retención de líquido (Fitzsimons, 1998). En nuestros resultados anteriormente mencionados, se puede observar que no hay cambios en los niveles plasmáticos de los electrolitos, ya que durante el tratamiento de los diferentes grupos (control, L-NAME, captopril y L-NMAE/captopril) no presentaron poliuria (aumento de excreción urinaria), pero si presentaron polidipsia (necesidad de tomar agua), ya que podemos pensar que pudieron a ver retenido líquido los animales, pero no, ya que en la grafica de peso no se observa un incremento excesivo de dicho peso, por otro lado pudo deberse a un desequilibrio electrolítico, ya que no se observan cambios en los niveles plasmáticos, en las primeras semanas de tratamiento los animales de los diferentes grupos L-NAME, captopril y L-NAME/captopril presentaron una ligera diarrea.

Con respecto al efecto de la hipertensión arterial sobre la ingesta de solución de cloruro de sodio al 1%, se observo un aumento de ingesta de cloruro de sodio en el grupo que se le administro captopril en una dosis de 50 mg/Kg y en el grupo que se administro L-NAME/captopril en una dosis de 50 mg/Kg, ya que estos resultados sugieren que el captopril promueve una ingesta mayor de sodio ya que puede estar participando la ANG II, en estudios recientes indicaron que la ANG II derivada de la renina renal desempeña un papel importante en el aumento de la sed y el apetito del sodio, que a mayor concentración de ANG II mayor es el a petito al sodio y la sed, esto se lleva a cabo en el SNC puede interactuar con otras sustancias en neuroactivación o llegar al cerebro, todo esto es en humanos, pero en las ratas aumenta más el a petito del sodio que la sed (Fitzsimons, 1998). La hipovolemia y la deshidratación celular, son las dos causas de deficiencia inducidas por la bebida. La hipovolemia es detectada por los receptores vasculares y los vasos provocan un aumento en el apetito de sodio, así como la sed. En la conducta de beber inducida por hipovolemia los sistemas más afectados por esta deficiencia es el sistema renina-angiotensina.

Algunos autores sugieren que el óxido nítrico (NO) puede funcionar como receptor para la transducción de señal en las células del gusto (Kretz et al. 1998; Zaccone et al. 2002). El NO desempeña un papel crucial en los sentidos químicos, que puede tener efectos muy concretos en el nivel de las neuronas sensoriales, y que puede actuar a través de diferentes cascadas de señalización (Philip et al. 2008). Los estudios sobre la mosca azul, *Regina Phormia* han demostrado la participación de NO en la modulación de la respuesta de las células del receptor de la sacarosa (Murata et al. 2004; Nakamura et al. 2005). Aunque Nakamura et al. (2005) sugieren que no se actúa a través de un SGC / cGMP vía de señalización que modulan el receptor del gusto respuesta a la estimulación de sacarosa. Sin embargo Philip et al. (2008), sus resultados muestran, por primera vez, que las respuestas a la estimulación de sacarosa en los insectos están claramente moduladas por un NO / cGMP de señalización vía y en el caso de las langostas, por lo menos, a través de la acción de la PKG. También muestran que distintas modalidades de gusto pueden ser moduladas a través de NO a lograr el mismo efecto, lo que implica independencia considerable en las respuestas a NaCl y sacarosa. En el sabor de las células caliciformes de ratas, un aumento rápido y transitorio de los niveles intracelulares de cGMP se observa en la respuesta a la estimulación de sacarosa (Krizhanovsky et al. 2000). Schuppe et al. (2007) mostró que en el quimiosensorial nivel de la neurona NO modula el diferencial sensorial las respuestas a NaCl y sacarosa. Wilson et al. (2007) demostró que NO también desempeña un papel en moldear las respuestas de olfato interneuronas de la polilla.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), ha explicado que la NaCl juega un papel determinante en la hipertensión arterial, los resultados de nuestro estudio nos hacen pensar que hay una pérdida de sensibilidad a los estímulos gustativos, o en el umbral de percepción gustativa por las soluciones saladas. El aumento de la percepción gustativa por la solución salina 1% en las ratas puede

ser explicado por una reducción en la intensidad de las respuestas eléctricas de los nervios craneanos que transmiten las señales gustativas de la lengua al cerebro. Por otro lado en las ratas hipertensas (L-NAME), y en las ratas con captopril se observó una reducción en el número de corpúsculos gustativos y un daño en la plasticidad de las papilas caliciformes, no se encontró reportes que nos puedan aclarar sobre este fenómeno ya que podemos explicar que puede a ver un recambio en las células tipo II de corpúsculo gustativo ya que estas sirven como detentoras de traducción de las señales gustativas, ya que también puede deberse al óxido nítrico y a la ANGII que puedan estar participando en la neurotransmisión de señales gustativas, ya que este estudio genera perspectivas para continuar estudiando los efectos de la hipertensión arterial y la administración del captopril sobre el sistema gustativo.

Las personas que sufren de hipertensión arterial muestran un umbral elevado para las sustancias saladas pudiendo explicar, de esta manera, un sobreconsumo de sal en estos individuos (Sahagún *et al.*, 2000).

CONCLUSIÓN

El L-NAME produjo una disminución en el número de corpúsculos gustativos, lo cual sugiere que el óxido nítrico participa en el sistema gustativo.

El captopril promueve una ingesta mayor de cloruro de sodio y una disminución en el número de corpúsculos gustativos.

Por tanto el óxido nítrico y la angiotensina II parecen participar en el recambio de los corpúsculos gustativos y en la percepción del sabor salado.

REFERENCIAS

Acosta, Ch., 2008. Estandarización de la técnica de PCR para la detección de receptores serotoninérgicos en papilas gustativas. Para obtener el título de Químico Farmacobiólogo, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Adler, E., Hoon, M.A., Mueller, K.L., Chandrashekar, J. Ryba, N.J. and Zuker, C.S. 2000. A novel family of mammalian taste receptors. *Cell*, 100: 693-702.

Behrens, M. and Meyerhof, W. 2006. Bitter taste receptors and human bitter taste perception. *Cell Mol. Life Sci.* 63: 1501-1509.

Bigiani, A. 2001. Mouse taste cells with glialike membrane properties. *J. Neurophysiol.* 85:1552-1560.

Boughner, J.G. 1997. Amiloride suppresses the responses to acids in NaCl best neurons of the hamster solitary nucleus. *Chem. Senses* 22: 648-660.

Buck, B.L. 2000. Olfato y gusto: los sentidos químicos en principios de neurociencias. Kandel E. R., Schwartz J. H., Jessell T.M (Eds.), Mc Graw Hill, Cap. 32, Pág. 635-645.

Casper, R.C., Kirschner, B., Sandstead, H.H., Jacob, R.A. and Davis, J.M. 1980. An evaluation of trace metals, vitamins, and taste function in anorexia nervosa. *Am. J. Clin. Nutr.* 33, 1801-1808.

Chaudhari, N., Landin, A.M. and Roper, S.D. 2000. A metabotropic glutamate receptor variant functions as a taste receptor. *Nat. neurosci.* 3:113-119.

Chaudhari, N., Yang, H., Lamp, C., Delay, E., Cartford, C., Than, T. and Roper, S. 1996. The taste of monosodium glutamate: membrane receptors in taste buds. *J. Neurosci.* 16:3817-3826.

Chobanian AV, Bakris, GL, Black, HR, Cushman, WC, Green LA, Izzo, JL, Jones DW, Materson, BJ, Oparil S, Wright JT, Roccella EJ y the National High Blood Pressure Educational Program Coordinating Committee. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. The JNC 7 Report. JAMA, 289 (19): 2534-2573, 2003.

Cummings, S.T. and Kinnamon, S.C. 1992. apical K Channels in Necturus taste cells. Modulation by Intracellular Factors and Taste Stimuli. J. Physiol. 99: 591-613.

Deems, D.A., Doty, R.L., Settle, R.G., Moore-Gillon, V., Shaman, P., Mester, A.F., Kimmelman, C.P., Brightman, V.J. and Snow, J.B Jr. 1991. Smell and taste disorders, a study of 750 patients from the University of Pennsylvania Smell and Taste center. Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. 117, 519-528.

Dale, P. Lawrence, C. Fitzpatrick, D. Lamantia, A. S. Williams, M. George. J.A. Mcnamara, J. O. A.C. 2001. Neuroscience. The Organization of the Taste System. Second Edition. U.S.A. Pp. 433- 857.

Defacio, R.A., Dvoryanchikov, G., Maruyama, Y., Kim, J.W., Pereira, E., Roper, S.D. and Chaudhari, N. 2006. Separate populations of receptor cells and presynaptic cell in mouse taste. J. Neurosci. 26, 3971-3980.

Dvorkin and Cardinali. 2005. Bases Fisiológicas de la Práctica Médica. Cap 4 el Organismo endotelial. 13 edición en español. Editorial Medica Panamericana. Pp 53- 57.

Fitzsimons, J.T. 1998. Angiotensin, Thirst, and Sodium Appetite. Physiological Reviews Vol. 78.

González, J. R. y Gonzáles C. A. 2002. Actividades de sistemas y mediadores neurohormonales como causa de hipertensión arterial. *Rev Lat Cardiol.* 23(5):163 - 71.

Hoon, M.A., Adler, E., Lindemeier, J., Battey, J.F., Ryba, N.J. and Zuker, C.S. 1999. Putative mammalian taste receptors: a class of taste-specific GPCR_s with distinct topographic selectivity. *Cell*, 96: 541-551.

Iveta B., Ol'ga P., and Fedor S 1999. Effect of Captopril in L-NAME-Induced hypertension on the rat Myocardium, Aorta, Brain and Kidney. *Experimental Physiology*, 84, 1095-1105

Jayaram C., Marck A.H., Nicholas J. P., Charles S. Z. 2006. The receptors and cells for mammalian taste. *Nature* vol 16 288-293.

Krizhanovsky, V., Agamy, O., and Naim, M. 2000. Sucrose-stimulated subsecond transient increase in cGMP level in rat intact circumvallate taste bud cell. *Am. J. phys. Cell Phys*, 279: C120-C125.

Kretz O, Bock R, Lindemann B. 1998. Occurrence of nitric oxide synthase in taste buds of the rat vallate papilla. *Histochem J.* 30:293–299.

Krizhanovsky V, Agamy O, Naim M. 2000. Sucrose stimulated subsecond transient increase in cGMP level in rat intact circumvallate taste bud cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* 279:C120–C125.

Li, X., Staszewski, L., Xu, H., Durick, K., Zoller, M. and Adler, E. 2000. Human receptors for sweet and umami taste. *Proc. Natl. acad. Sci.* 99: 4692-4696.

Lin, W., and Kinnamon, S.C. 1999. physiological evidence for ionotropic and metabotropic glutamate receptors in rat taste cells. *J. Neurophysiol.* 82:2061-2069.

López, C. 2008. "participación de los receptores a la angiotensina II renales en la hipertensión arterial en la rata", para obtener el título de Químico Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. pp. 3 - 14.

Mattes, R.D. and Cowart, B.J. 1994. Dietary assessment of patients with chemosensory disorders. J. Am. Diet. Assoc. 94, 50-56.

Mattes, R.D. 1997. Physiologic responses to sensory stimulation by food: nutritional implications. J. Am. Diet. Assoc. 97: 406-413.

Mattes, R.D. 2002. Nutrición y sentidos químicos, en Nutrición en salud y enfermedad. Shils Maurice E., Olson James A., Shike Moshe, Ross A. C. (Eds). Mc Graw Hill. Cap. 42 Pp. 765-776.

Miller, S.M. and Naylor, G.J. 1989. Unpleasant taste--an neglected symptom in depression. J. Affect. Disord. 17, 291-293.

Max, M., Shanker, Y.G., Huang, L., Rong, M., Liu, Z., Campagne, F., Weinstein, H., Damak, S. and Margolskee, R.F. 2001. Tas1r3, encoding a new candidate taste receptor, is allelic to the sweet responsiveness locus Sac. Nat. Genet, 28: 58-63.

Meyerhof, W. 2005. Elucidation of mammalian bitter taste. Rev. Physiol, Biochem. Pharmacol. 154: 37-72.

Montmayeur, J.P., Liberles, S.D., Matsunami, H. and Buck, L.B. 2001. A candidate taste receptor near a sweet taste locus. Nat. Neurosci. 4, 492-498.

Murata Y, Mashiko M, Ozaki M, Amakawa T, Nakamura T. 2004. Intrinsic nitric oxide regulates the taste response of the sugar receptor cell in the blowfly, *Phormia regina*. *Chem Senses*. 29:75–81.

Nakamura T, Murata Y, Mashiko M, Okano K, Satoh H, Ozaki M, Amakawa T. 2005. The nitric oxide-cyclic GMP cascade in sugar receptor cells of the blowfly, *Phormia regina*. *Chem Senses*. 30(Suppl):281–282.

Nelson, G., Chandrashekar, J., Hoon, M.K., Feng, L., Ryba, N.J. and Zuker, C.S. 2002. An amino-acid taste receptor. *Nature* 416, 199-202.

Nelson, G., Hoon, M.K., Chandrashekar, J., Zhang, Y., Ryba, N.J.P. and Zuker, C.S. 2001. Mammalian sweet taste receptor. *Cell*. 106, 381-390.

Rosas P. M. 2003. LA hipertensión arterial en México y su relación con otros factores de riesgo. *Archivos de Cardiología de México*. 73 (suppl 1):S137-S140.

Pauli, L., Zicha, J., Kunes, J., Hojna, S., Behuliak, M., Celec, P., Kojsova, S., Pechanova, O., and Simko, F. 2008. Regresión of L-NAME- Induced hypertension: the role of nitric oxide and endothelium- Derived constricting factor. *Hypertens Res* Vol. 31.

Philip L. Newland. Paul Y. 2008. Nitric Oxide Modulates Salt and Sugar Responses via Different Signaling Pathways. *Chem. Senses* 33: 347–356.

Salgado, Ch 2008. Plasticidad de los corpúsculos gustativos en un modelo de diabetes mellitus experimental, para obtener el título de Químico Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. pp. 12-13.

Sahagún-Flores, J.E., Bravo-Cuellar, A., Celis, A., Hernández-Flores, G. and Orbach-Arbouys, S. 2000. Elevated salt taste detection threshold in subjects with essential arterial hypertension. *Presse médicale* 29, 1458.

Schuppe H, Cuttle M, Newland PL. 2007. Nitric oxide modulates sodium taste via a cGMP-independent pathway. *J Neurobiol.* 67:212–232.

Scott, Kristin. 2004. The sweet and bitter of mammalian taste. *Curr. Opin. Neurobiol.* 14, 423-427.

Toyono, T., Seta, Y., Kataoka, S., Shigemoto, R. and Toyoshima, K. 2002. Expression of the metabotropic glutamate receptor, mGluR4a, in the taste hairs of taste buds in rat gustatory papillae. *Arch. Histol. Cytol.* 65, 91-96.

Williams G. H. and Braunwald E. *Harrison's Internal Medicine*. 1994. McGrawhill, pp.1024-1037.

Winkler, S., Garg, A.K., Mekayarajjananonth, T., Bakaeen, L.G. and Khan, E. 1999. Expression of the metabotropic glutamate receptor, mGluR4a, in the taste hairs of taste buds in rat gustatory papillae. *J. Am. Dent. Assoc.* 130, 1759-1765.

Wilson CH, Christensen TA, Nighorn AJ. 2007. Inhibition of nitric oxide and soluble guanylyl cyclase signalling affects olfactory neuron activity in the moth *Manduca sexta*. *J Comp Physiol A*. 198:715–328.

Yan, W., sunavala, S., Rosenzweig, S., dasso, M., Brand, J.G. and Spielman, A.I. 2001. Bitter taste transduced by PLC β_2 dependent rise in IP $_3$ and alpha-gustducin-dependent fall in cyclic nucleotides. *Am. Physiol, Cell physiol*, 280: C742-C745.

Yoshihiro M., Masashi M., Mamiko O., Taisaku A., Tadashi N. 2004, Intrinsic Nitric Oxide Regulates the Taste Response of the Sugar Receptor Cell in the Blowfly, *Phormia regina*. *Chem. Senses* 29: 75-81.

Velázquez M. O., Rosas P. M., Lara E.A. and Pastelín. 2002. Grupo ENSA 2000, JL, Attie, F y Tapia, CR. Hipertensión arterial en México: resultados de la Encuesta Nacional de salud (ENSA) 2000. *Archivos de cardiología de México*, 72: 71-84.

Zaccone, G., Crescimanno, C., Lo Cascio, P., Mauceri, A., Fasulo, S. and Sbarbati, A. 2002. Immunohistochemical investigation of the nitrergic system in the taste organ of the frog, *Rana esculenta*. *Chem. Senses*, 27, 825–830.

Zhang Y, Hoon MA, Chandrashekar J, Mueller KL, Cook B, Wu D, Zuker CS, Ryba NJ. 2003. Coding of sweet, bitter, and umami tastes: different receptor cells sharing similar signaling pathways. *Cell*, 112:293-301.

Zhao, F.L., Shen, T., Kaya, N., Lu, .G., Cao, Y. and Herness S. 2005. Expression, physiological actions, and coexpression patterns of neuropeptide Y in rat taste-bud cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102, 11100-11105.