



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**



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

**“Efecto de quipazina y metiotepina sobre la actividad de la Na^+/K^+ -
ATPasa en cerebelo de ratas con diabetes mellitus experimental.”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

+

PRESENTA:

P.Q.F.B. MARIO MENDOZA MURATALLA

ASESOR:

D.C. ROSALIO MERCADO CAMARGO

Tesis Parcialmente apoyada por CIC-UMSNH 2017, CONACYT-ANUIES-
ECOS NORD M12-S01, PRODEP-2016.

Morelia, Michoacán

Marzo, 2017

**Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Neurobiología de
la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad
Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.**

AGRADECIMIENTOS

Al doctor Rosalio por la oportunidad y la confianza para realizar este proyecto, por estar guiándome en el transcurso de él y por todos sus consejos y enseñanzas.

A Dios por darme la dicha de tener unos padres que me apoyaron en mi carrera profesional ya que gracias a ellos pude llegar a la meta de todos mis propósitos.

A toda mi familia que estuvieron apoyándome a lo largo de toda mi carrera a sus consejos y ánimos para seguir adelante en momentos difíciles.

Mis amigos de la sección Andrés, Elidee, Ivonne, Marcela, Oscar, Rubí, Paulina que me acompañaron a lo largo de toda mi carrera, por sus enseñanzas, consejos, y que siempre estuvieron apoyándome incondicionalmente.

A todos mis compañeros de laboratorio Alejandra, Alejandro, Betzayra, Humberto, Minoa, Oscar, por su amistad, por todos sus consejos y ayuda a lo largo del proyecto.

A mi comité tutorial: L.HE. Judith Prieto, D.C. Daniel Godinez, D.C. Rafael Ortiz, y en especial a M.C. Roberto Esquivel y M.C. Susana Bautista, que aprendí mucho de ellos, que admiro y que fueron de gran ayuda en este proyecto, por estar ahí siempre que ocupaba un consejo, por su amistad, los momentos de convivio mi más sincero agradecimiento.

DEDICATORIA

A mis padres Silvia y Miguel ya que todo lo que soy es el fruto de todo su esfuerzo y sacrificio, que fueron mi pilar para seguir siempre adelante y que gracias a ellos cumplí todos mis propósitos en la carrera.

CONTENIDO

	Página
AGRADECIMIENTOS	I
DEDICATORIA.....	II
ÍNDICE DE FIGURAS	V
ÍNDICE DE TABLAS	VI
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VI
RESUMEN	VII
ABSTRACT	IX
1.INTRODUCCIÓN	11
1.1.Sistema nervioso central.....	11
1.1.1.La neurona.....	11
1.1.2.Sinapsis	12
1.1.3.Células gliales.....	13
1.1.4.Cerebelo	14
1.2.Sistema serotoninérgico.....	14
1.2.1.Serotonina	15
1.2.2.Función y metabolismo	15
1.2.3.Receptores serotoninérgicos	16
1.2.4.Quipazina.....	17
1.2.5.Metiotepina	18
1.3.Diabetes mellitus.....	18

1.3.1. Clasificación de la diabetes mellitus	19
1.3.2. Diabetes mellitus experimental (DME)	20
1.3.3. Neuropatía diabética	21
1.4. Na^+/K^+ -ATPasa	21
1.4.1. Función y estructura	22
1.4.2. Regulación de la Na^+/K^+ -ATPasa	24
2. JUSTIFICACIÓN	25
3. HIPÓTESIS	26
4. OBJETIVOS	27
4.1. Objetivo general	27
4.2. Objetivos específicos	27
5. MATERIALES Y MÉTODOS	28
5.1. Animales de experimentación	28
5.2. Obtención de muestras biológicas	29
5.3. Actividad específica de la Na^+/K^+ -ATPasa	30
5.4. Análisis estadístico	30
6. RESULTADOS	31
6.1. Modelo de DME	31
6.2. Consumo de alimento	32
6.3. Peso corporal	33
6.4. Consumo total de líquidos	34
6.5. Bioquímica plasmática	34
6.6. Curva de dosis respuesta con quipazina en cerebelo	35
6.7. Curva de dosis respuesta con metiotepina en cerebelo	36

6.8.Porcentaje de actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa con quipazina	37
6.9.Porcentaje de inhibición enzimática con metiotepina.....	38
7.DISCUSIÓN	39
8.CONCLUSIÓN	42
9.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estructura anatómica de una neurona y sus diferentes tipos de sinapsis. .	12
Figura 2. Estructura tridimensional de la Na^+/K^+ -ATPasa.	23
Figura 3. Niveles de glucemia en sangre en ratas de los grupos control y DME.....	32
Figura 4. Consumo de alimento.	33
Figura 5. Peso corporal de los animales experimentales.	33
Figura 6. Consumo total de líquidos.....	34
Figura 7. Curva de dosis-respuesta del agonista quipazina en cerebelo de ratas control y con DME.	36
Figura 8. Curva de dosis-respuesta del antagonista metiotepina en cerebelo de ratas control y con DME.	37
Figura 9. Porcentaje de actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa en homogenizado de cerebelo de ratas macho adultas con quipazina en los grupos control y DME.	37
Figura 10. Porcentaje de Inhibición de la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa en homogenizado de cerebelo en presencia de metiotepina en el grupo control y con DME.	38

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Tipos y subtipos de receptores serotoninérgicos.	16
Tabla 2. Parámetros bioquímicos de ratas control y diabéticas.	35

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Grados centígrados
5-HT	5- hidroxitriptamina
5-HT_(n)	Receptores serotoninérgicos
5-HTP	5-hidroxitriptófano
8-OH-DPAT	8-hidroxi-2- diprolaminotetralina
AMPC	Monofosfato de adenosina cíclico
ATP	Trifosfato de adenosina
BHE	Barrera hematoencefálica
Ca²⁺	Ion de calcio
DAG	Diacilglicerol
DE₅₀	Dosis efectiva cincuenta
DM	Diabetes mellitus
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DME	Diabetes mellitus experimental
DMG	Diabetes mellitus gestacional
DMNID	Diabetes mellitus no insulino dependiente

E.E	Error estándar
FCF	Fencanfamina
g	Gramos
GABA	Ácido gama amino butírico

RESUMEN

Introducción: La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónico-degenerativa con una gran incidencia en México y a nivel mundial, se caracteriza por diversas y graves alteraciones en la fisiología del organismo. La hiperglucemia es característica principal de la DM y esta condición metabólica afecta el sistema nervioso central alterando la función de sistemas de neurotransmisores y de enzimas que mantienen la homeostasis iónica celular. Por otro lado sabemos que el adecuado funcionamiento de la Na^+/K^+ -ATPasa, enzima integral de membrana y la adecuada interacción de señales de neurotransmisores como la serotonina (5-HT) son necesarios para la adecuada comunicación de las células en el cerebro; por ejemplo, la Na^+/K^+ -ATPasa regula los potenciales de acción del espacio extracelular que produce la activación neuronal, la transmisión sináptica y la recaptación de neurotransmisores, en el cerebelo la 5-HT modula la transmisión sináptica para una velocidad óptima de flujo de la información a través de los diferentes tipos de receptores serotoninérgicos. Se ha propuesto que la actividad de la enzima y la síntesis de serotonina disminuye en la DM, no se conoce si la interacción entre estos dos sistemas se modifique y que receptor participa. Por lo que el objetivo de la presente tesis fue: determinar el efecto de quipazina y metiotepina, agonista y antagonista del receptor 5-HT_2 sobre la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa en homogeneizado de cerebelo de ratas con diabetes mellitus experimental (DME).

Metodología: Implementamos un modelo de DME en ratas macho adultas, utilizando Estreptozotocina a dosis única de 55 mg/kg de peso corporal. Realizamos curvas

dosis-respuesta de la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa con quipazina y metiotepina en el homogenizado de cerebelo de las ratas control y con DME.

Resultados: La quipazina, un agonista serotoninérgico del receptor 5-HT_2 , incrementó la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa hasta valores basales del grupo control ($p < 0.05$); mientras que la metiotepina disminuyó la actividad enzimática de la bomba de sodio y potasio. Estos resultados corroboran en primer instancia el efecto de la DM sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio y segundo la participación del receptor 5-HT_2 sobre la regulación de la actividad de la enzima por serotonina. Con los presentes resultados podemos concluir que la DM modifica la interacción entre la Na^+/K^+ -ATPasa y el sistema serotoninérgico en cerebelo.

Palabras clave: Neurotransmisores, serotonina, regulación enzimática.

ABSTRACT

Introduction: Diabetes mellitus (DM) is a chronic-degenerative disease with a high incidence in Mexico and worldwide, is characterized by diverse and serious alterations in the physiology of the organism. Hyperglycemia is a major feature of DM and this metabolic condition affects the central nervous system by altering the function of neurotransmitter systems and enzymes that maintain cellular ionic homeostasis. On the other hand we know that the proper functioning of Na^+/K^+ -ATPase, integral membrane enzyme and the proper interaction of neurotransmitter signals such as serotonin (5-HT) are necessary for proper communication of cells in the brain; For example, Na^+/K^+ -ATPase regulates the action potentials of the extracellular space that produces neuronal activation, synaptic transmission and neurotransmitter reuptake, in the cerebellum 5-HT modulates the synaptic transmission for an optimal flow velocity of Information through the different types of serotonergic receptors. It has been proposed that enzyme activity and serotonin synthesis decrease in DM, it is not known whether the interaction between these two systems is modified and which receptor participates. The aim of the present thesis was: To determine the effect of Na^+/K^+ -ATPase on the activity of Na^+/K^+ -ATPase in rat cerebellar homogenate with experimental diabetes mellitus (SMD), and to determine the effect of 5-HT₂ receptor agonist and agonist quipazine and metiotepin.

Methodology: We implemented a model of DME in adult male rats using streptozotocin at a single dose of 55 mg / kg body weight. We performed dose-

response curves of Na^+/K^+ -ATPase activity with quipazine and metiotepin in the cerebellar homogenate of the control and DME rats.

Results: Quipazine, a serotonergic 5-HT_2 receptor agonist, increased Na^+/K^+ -ATPase activity to baseline values of the control group ($p < 0.05$); While metiotepin decreased the enzymatic activity of the sodium and potassium pump. These results corroborate, in the first instance, the effect of DM on the activity of the sodium and potassium pump and second the participation of the 5-HT_2 receptor on the regulation of the activity of the enzyme by serotonin. With the present results we can conclude that DM modifies the interaction between Na^+/K^+ -ATPase and the serotonergic system in cerebellum.

Keywords: Neurotransmitters, serotonin, enzymatic regulation.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Sistema nervioso central

El sistema nervioso central (SNC) está compuesto principalmente por neuronas y células de mantenimiento o también llamadas células gliales, éste representa una de las estructuras más complejas del organismo. Las funciones del SNC incluyen la recepción, la integración, la realización, y la respuesta a los estímulos ambientales, llevada a cabo por las redes de neuronas que existen en el cerebro (Meza-Sosa, Valle-García, Pedraza-Alva, & Pérez-Martínez, 2012).

Desde el punto de vista funcional existen tres elementos básicos importantes del SNC: neuronas, sinapsis y células gliales (Castillo & Jorge, 2015). Estos elementos son esenciales para la fisiología de estructuras cerebrales como el cerebelo.

1.1.1. La neurona

Las neuronas son células que constituyen uno de los elementos básicos del sistema nervioso. Utilizan potenciales de acción y neurotransmisores para comunicarse (Castillo & Jorge, 2015). Como se muestra en la Figura 1, la neurona tiene un cuerpo celular con un núcleo que contiene el ADN en sus cromosomas. Proyectándose de su cuerpo numerosas prolongaciones llamadas dendritas, y a su vez estas poseen en su extremo prolongaciones llamados axones, que llevan estímulos a otras células nerviosas (Zuleta, 2007).

El sistema nervioso está constituido por 100 mil millones de neuronas. Cada una de estas neuronas tiene la capacidad de transmitir impulsos eléctricos, los cuales pueden desencadenar la liberación de sustancias que generan respuestas eléctricas y metabólicas en las neuronas llamada sinapsis.

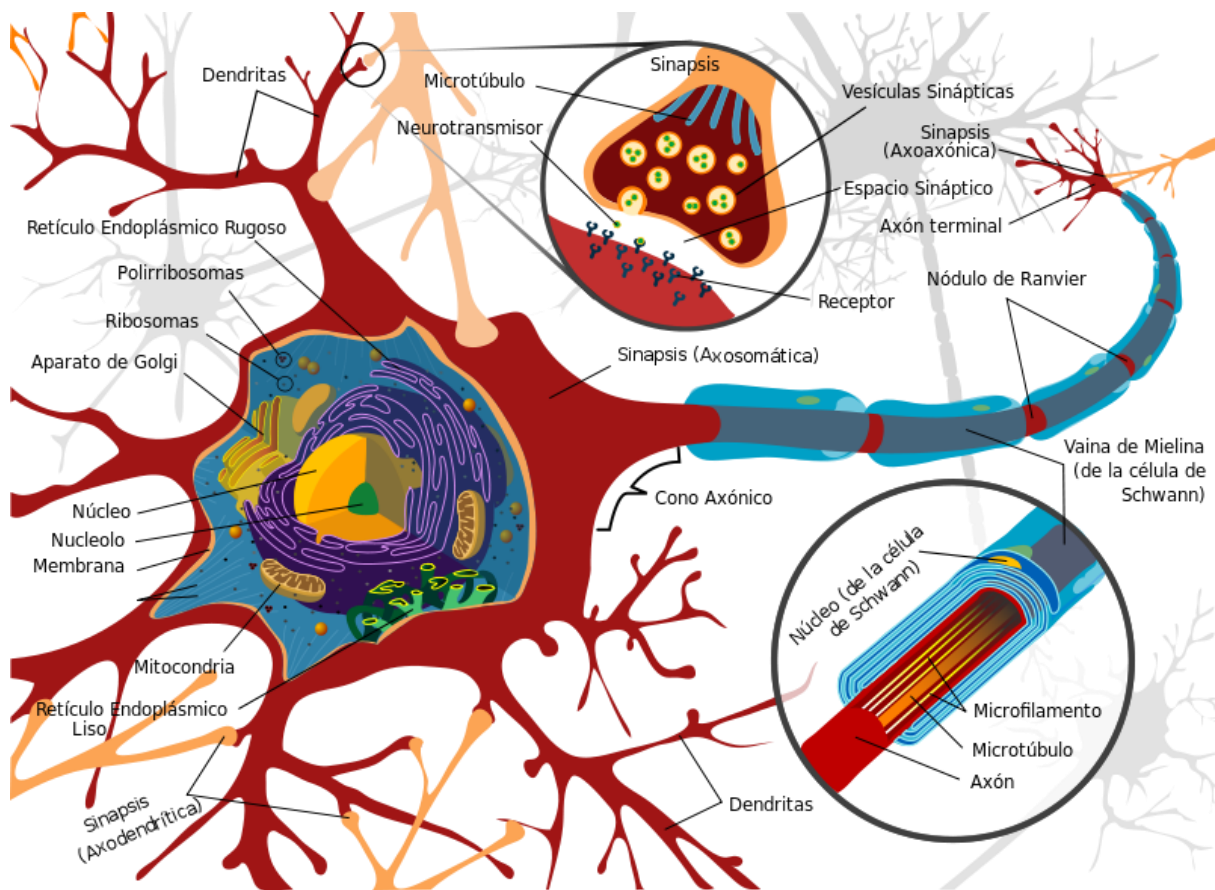


Figura 1. Estructura anatómica de una neurona y sus diferentes tipos de sinapsis.
("Neurona", 2016)

1.1.2. Sinapsis

La sinapsis es la unión de células nerviosas que se conectan entre sí mediante el axón, dendritas o cuerpo celular de cada neurona, transportan el impulso nervioso mediante una descarga química que origina una corriente eléctrica en la membrana de la neurona emisora. El mecanismo de la sinapsis se da cuando el potencial de acción llega a las últimas ramificaciones del axón produciendo una movilización de las vesículas sinápticas hacia la membrana del botón sináptico, a ésta altura, la zona activa de la membrana se disuelve con la membrana celular de las vesículas sinápticas.

Las sinapsis neuronales son de dos tipos:

- *Sinapsis eléctrica*. Se caracteriza por ser más rápida y ser originada por el paso de iones de una neurona, comunicándose directamente a través de pequeños canales formados por el acoplamiento de complejos proteicos.
- *Sinapsis química*. En ella, las células están distanciadas por un espacio de 20 a 30 nanómetros aproximadamente, presenta un botón pre-sináptico donde las terminaciones del axón liberan neurotransmisores a la hendidura sináptica (Coaquira Peláez, Condori Quispe, & Fuentes De la Barra, /).

Las células gliales juegan un papel importante en la formación de la sinapsis por lo que son de gran importancia para mantener la homeostasis cerebral (O. García & Massieu, 2004).

1.1.3. Células gliales

Todas las familias de células gliales tienen en común una gran capacidad de adaptación morfológica y funcional para cumplir con su función fisiológica de la manera más óptima. Pero, además, poseen una gran capacidad de reacción ante, agresiones o lesiones del tejido nervioso o a cambios del medio interno para contrarrestar los efectos nocivos sobre las neuronas a las que acompañan y protegen.

Al activarse en estas situaciones, las células gliales se transforman en lo que pudiéramos denominar “nuevos elementos con nuevas propiedades” (“células neurogliales activadas” o “reactivas”; células “glióticas”) ya que generalmente muestran cambios mucho mayores, morfológicos y funcionales, incluidos cambios notables en la expresión génica habitual y la expresión de nuevos genes. Este fenómeno de activación que se denominó “gliosis” o “neurogliosis”. Estos cambios tienen por objeto cumplir con su función de mantenimiento y cooperación con las neuronas, optimizando de esta manera la función del SNC, y pueden apreciarse en

diversas estructuras cerebrales como el cerebelo (Toledano, Álvarez, Toledano-Díaz, & Rodríguez-Arellano, 2016).

1.1.4. Cerebelo

El cerebelo es una estructura esencial del SNC ya que participa en procesos como: el control y la coordinación de los movimientos corporales. El cerebelo se localiza en la fosa posterior del cráneo y detrás del tronco encefálico. Deriva de la parte dorsal del metencéfalo y está situado dorsalmente al bulbo y al puente, contribuyendo a la formación del techo del IV ventrículo.

La conformación del cerebelo a nivel estructural se establece en láminas o folios plegados entre sí, formando 10 lóbulos en disposición transversal (Dorado, 2012). Además, posee una compleja conectividad con múltiples estructuras subcorticales, incluyendo núcleos vestibulares y los ganglios basales (Buckner, 2013).

En los seres humanos, la corteza cerebelosa es una única hoja continua con una superficie de 500 cm² (1000 mm de largo y 50 mm de ancho). Fundamentalmente el sistema cerebelar adquiere y pone en práctica "tácticas" sensorio-motoras que contextualizan las estrategias de motor. Estas tácticas se refieren a la ejecución de movimientos, el tiempo, compensatorios, y la coordinación de múltiples extremidades.

Algunas investigaciones han demostrado que la serotonina controla el desarrollo del cerebelo en tres fases: (1) la estimulación del crecimiento dendrítico y la formación de sinapsis, (2) el cableado de las conexiones neuronales con los límites del crecimiento dendrítico, pero asegurando la plasticidad sináptica, y (3) la estabilización de la sinapsis (Oostland & van Hooft, 2013).

1.2. Sistema serotoninérgico

El sistema serotoninérgico es el encargado de controlar diversas funciones fisiológicas y del comportamiento, incluyendo el control motor, el apetito, los ciclos de

sueño-vigilia, así como el comportamiento emocional y los estados emocionales (Hale, Shekhar, & Lowry, 2012). En 1964 Dahlstrom y Fuxe descubrieron por primera vez las neuronas serotoninérgicas en el tronco cerebral y la liberación de serotonina por todo el sistema nervioso central (Berumen et al., 2012)

1.2.1. Serotonina

La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), aislada y caracterizada en 1948 (Rapport, Green, & Page, 1948), es una monoamina derivada de la hidroxilación del L-triptófano mediante la acción de la triptófano-5-hidroxilasa que produce 5-hidroxitriptófano; éste es descarboxilado, dando lugar a la 5-HT (El-Merahbi, Löffler, Mayer, & Sumara, 2015).

1.2.2. Función y metabolismo

La 5-HT está implicada en muchas funciones del SNC como el estado de ánimo, la regulación del sueño, la ansiedad, la excitación e inhibición de las neuronas, la conducta sexual, la percepción, la ira, el apetito, la memoria. En los tejidos periféricos la 5-HT regula el tono vascular, la motilidad intestinal, la hemostasia primaria, la contracción de la musculatura lisa, dilatación vascular (Walther et al., 2003).

En la periferia la gran mayoría de la serotonina es producida por las células enterocromafines del intestino (El-Merahbi et al., 2015). La 5-HT es metabolizada por la monoamino oxidasa (MAO) es la vía catabólica primaria de la 5-HT, así como de muchas otras aminas biógenas. Existen dos isoformas de la MAO (MAO-A y MAO-B) localizadas en el interior celular, por lo que se ocupa de transportadores de serotonina (SERT) que introduzcan a la monoamina para su degradación. MAO-A es la principal inactivadora de la 5-HT, mientras que MAO-B lo hace en una porción muy pequeña, quizás por ello se localice en plaquetas (Sandler, Reveley, & Glover, 1981).

1.2.3. Receptores serotoninérgicos

Tomando como base criterios farmacológicos y bioquímicos, los receptores de serotonina se clasifican en 7 grupos principales (5-HT₁-5-HT₇) (Guzmán, 2010). Como se describe en la Tabla 1. Algunos de los receptores son acoplados a proteínas G que regulan las vías de transducción de señales, a excepción de los receptores 5-HT₃ ya que estos están acoplados a canales iónicos (Hoyer, Hannon, & Martin, 2002; Noda, Higashida, Aoki, & Wada, s/f). Asimismo, desde el punto de vista operacional, la mayor parte de estos receptores exhibe un perfil farmacológico bien definido, es decir, existen agonistas y antagonistas selectivos para cada tipo/subtipo de receptor (Sánchez-López et al., 2009).

Tabla 1. Tipos y subtipos de receptores serotoninérgicos.
(Sánchez-López et al., 2009)

Receptor	Localización	Efectos principales	Agonistas	Antagonistas
5-HT _{1A}	SNC	Inhibición neuronal Efectos en la conductuales Inhibición pre-sináptica	5-CT 8-OH-DPAT Buspirona	Espiperona Metiotepina Ergotamina(AP)
5-HT _{1B}	SNC	Inhibición pre-sináptica Efectos conductuales	5-CT	Metiotepina Ergotamina (AP)
5-HT _{1D}	SNC Vasos sanguíneos	Vasoconstricción cerebral Efectos conductuales: locomoción	5-CT Sumatriptan	Metiotepina Ergotamina (AP)
5-HT _{2A}	SNC SNP Musculo liso Plaquetas	Excitación neuronal Efectos conductuales Agregación plaquetaria Contracción del musculo liso	α-Me 5-HT LSD (CNS)	Ketanserina Ciproheptadina
5-HT _{2B}	Fondo gástrico	Contracción	α-Me 5-HT	Metisergida
5-HT _{2c}	SNC Plexo coroideo	Secreción de LCR	LSD α-Me 5-HT	Metisergida
5-HT ₃	SNP SNC	Excitación neuronal Efectos conductuales: ansiedad	2-Me 5-HT Cl-fenilbiguanida	Ondansetron Tropisetron Granisetron
5-HT ₄	SNP (tracto GI) SNC	Excitación neuronal Motilidad GI	5-metoxitriptamina Metoclopramida	GR113808 SB207266
5-HT ₅	SNC	Desconocido	Desconocido	Desconocido
5-HT ₆	SNC	Desconocido	Desconocido	Desconocido

5-HT₇	SNC Tracto GI Vasos sanguíneos	Desconocido	5-CT, LSD Agonistas no selectivos	Diversos antagonistas de 5-HT ₂
-------------------------	---	-------------	---	---

El receptor 5-HT_{1B} se expresa ampliamente en el cerebro y el sistema cardiovascular. En el SNC, el receptor 5-HT_{1B} funciona como un inhibidor pre-sináptico para modular la liberación de 5-HT y de otros neurotransmisores. El receptor 5-HT_{1B} es un eficaz agonista para actuar a nivel molecular en el tratamiento de la migraña (Wang et al., 2013).

A su vez, los receptores 5-HT_{1A} se implican en ansiedad y aprendizaje, y se ha descrito que antagonistas 5-HT_{1A} revierten déficit cognitivos inducidos por diversos fármacos (Celada, Puig, & Artigas, 2004).

Se ha demostrado que el receptor 5-HT_{2A} posee gran afinidad por los fármacos antipsicóticos atípicos que por los fármacos convencionales, por lo que podrían desempeñar un papel importante en la reversión de los síntomas positivos de la esquizofrenia (Celada et al., 2004).

1.2.4. Quipazina

La 5-HT es un poderoso agonista vasoconstrictor en la mayoría de las arterias de distintos lechos vasculares. Los agonistas de los receptores de la 5-HT aumentan la actividad de algunos de sus receptores, son componentes químicos todos con propiedades y estructuras diferentes y tienen una gran aplicación clínica farmacológica en el tratamiento de diversas patologías. Algunos de los más utilizados son: la buspirona, los triptanos, trazodona, la cisaprida y la quipazina, entre otros, cada agonista es específico a un determinado receptor y su función química que poseen (Guzmán, 2010).

La quipazina es un agonista serotoninérgico que actúa sobre los receptores 5-HT₂, 5-HT_{1C}, se han demostrado sus propiedades farmacológicas las cuales inducen la

contracción de los músculos lisos, la vasoconstricción y estimula el SNC (Conn & Sanders-Bush, 1987).

1.2.5. Metiotepina

Los antagonistas inhiben la unión a los receptores de la 5-HT, al igual que los agonistas son de estructuras y composición variable según el compuesto, así como su acción farmacológica. Algunos antagonistas usados son: la ketanserina, la clozapina, la agomelatina, el ondansetrón, y la metiotepina. La metiotepina es un antagonista serotoninérgico del receptor 5-HT₂, también causa efecto a través del receptor 5-HT₁, estudios realizados demuestran los efectos de la metiotepina a nivel del SNC para tratar trastornos neuronales en enfermedades crónico degenerativas como la diabetes mellitus (Amato, 2015; Navarrete & F, 2000).

1.3. Diabetes mellitus

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad de alta incidencia y con múltiples implicaciones, factores de riesgo y complicaciones. La DM es una patología metabólica, caracterizada por complicaciones crónicas entre las que destaca la hiperglucemia, manifestación debida a que las células no utilizan la glucosa de manera eficiente, por la inadecuada síntesis de insulina por las células β pancreática o la resistencia a la insulina por las células de diversos tejidos del organismo. Algunos de los síntomas característicos de esta enfermedad son: la poliuria (orinar frecuentemente), polidipsia (aumento en la sensación de sed), polifagia (aumento en el apetito), debilidad, rara vez cetoacidosis y susceptibilidad a ciertas infecciones (American Diabetes Association, 2016).

En México se estima que 6.4 millones de personas sufren de DM, mientras que en el mundo hay alrededor de 346 millones de enfermos, cifra que se ha duplicado en las últimas dos décadas y continuará con esta tendencia de incremento por el envejecimiento de la población, la creciente prevalencia de obesidad, sedentarismo y

cambios en la dieta (Gutiérrez et al., 2012; OMS, 2012). Las estrategias de prevención implementadas a escala poblacional en países con elevado riesgo que logren modificar estilos de vida en particular en la dieta, actividad física y tabaquismo pueden ser altamente efectivas al reducir la aparición de la DM y retrasar la progresión de la misma.

1.3.1. Clasificación de la diabetes mellitus

Para la adecuada clasificación de la DM a un individuo a menudo depende de las circunstancias presentes en el momento del diagnóstico, la historia clínica, factores hereditarios, entre otros parámetros para un adecuado tratamiento para una mejor calidad de vida. De acuerdo a investigaciones realizadas por el comité de expertos de la Asociación Americana de Diabetes (American Diabetes Association, 2016), propuso la clasificación de los diferentes tipos de DM en 4 grupos:

- DM tipo 1 (DM1), este tipo se caracteriza por la destrucción autoinmune de las células β de los islotes pancreáticos y por consecuente hay poca o nula producción de insulina. Este tipo de diabetes se presenta en la infancia y la adolescencia, tiene múltiples predisposiciones genéticas y también se relaciona con factores ambientales que aún no están muy bien definidos.
- DM tipo 2 (DM2), defecto a la resistencia a la insulina que va desde la predominante resistencia a la insulina con una relativa deficiencia de insulina. Esta forma de la diabetes con frecuencia no se diagnostica durante muchos años, porque la hiperglucemia se desarrolla gradualmente y en etapas más tempranas a menudo no es lo suficiente grave para que el paciente observe cualquiera de los síntomas clásicos de la diabetes.
- DM gestacional (DMG), se refiere a la aparición o reconocimiento inicial de intolerancia a la glucosa durante el embarazo, por lo general en el primer o segundo trimestre de gestación (alrededor del 4% de embarazadas la presenta).

- Otros tipos de DM, existen múltiples factores que desarrollan esta enfermedad que van desde factores ambientales, por fármacos, herencia, el tipo de vida de los individuos, en sí son muchos los factores implicados que conllevan a la DM, sin embargo el adecuado tratamiento y el seguimiento de un régimen de alimentación hacen que el individuo lleve una vida plena y eficaz (American Diabetes Association, 2016).

1.3.2. Diabetes mellitus experimental (DME)

Se sabe que los modelos animales utilizados en las investigaciones sobre la diabetes mellitus, ayudan al estudio de los mecanismos patogénicos que conducen a la presentación de esta enfermedad, acompañada de severa o moderada hiperglucemia, intolerancia a la glucosa y otras alteraciones metabólicas relacionadas con la misma, y dan la oportunidad de explorar nuevos tratamientos y formas de prevenir estos cuadros morbosos (Hugués Hernandorena et al., 2002).

Existen numerosos modelos biológicos en animales que reproducen varias de las manifestaciones clínicas de la diabetes humana mediante diversos métodos, entre los cuales se destaca la inducción química con estreptozotocina en roedores. Este fármaco provoca la destrucción selectiva de las células β de los islotes pancreáticos, única fuente de insulina en el organismo (Bequer et al., 2016).

La obesidad y la consecuente resistencia a la insulina es un precursor importante de la diabetes mellitus tipo 2 en los seres humanos. En consecuencia, la obesidad en los modelos animales se ha utilizado en un intento de hacerse una idea de la condición humana. Los avances científicos significativos se han hecho en el campo de la investigación de la obesidad utilizando estos modelos de roedores. Los pacientes se han beneficiado directamente de la utilización de animales en el descubrimiento de la insulina y la evaluación de otros tratamientos (Rees & Alcolado, 2005).

1.3.3. Neuropatía diabética

El cambio metabólico inducido por la hiperglucemia conduce a una desregulación de múltiples vías metabólicas en la diabetes mellitus, que se presentan después del diagnóstico o incluso años antes que se detecte esta enfermedad (Hussain, Rizvi, Singhal, Zubair, & Ahmad, 2013).

La neuropatía diabética se define como el daño nervioso periférico, somático o autonómico, atribuible a la diabetes mellitus. Aproximadamente el 60 % de los pacientes con diabetes mellitus presentan neuropatía diabética (Sytze Van Dam, Cotter, Bravenboer, & Cameron, 2013).

Los mecanismo y fisiopatología de la neuropatía diabética están asociados con la hiperglucemia a través de la lesión micro vascular o la lesión metabólica neuronal, la deficiencia de vitaminas entre otras, son algunos de los factores de riesgo para desarrollar esta patología (Hussain et al., 2013)

Los cambios metabólicos en la neuropatía diabética es multifuncional ya que puede afectar directamente al tejido neuronal, y provocar daños neuronales lo que conlleva a daños neurovasculares provocando una disfunción de los principales órganos y sistemas: incluyendo cardiaca, gastrointestinal y urogenital (Sytze Van Dam et al., 2013).

Se ha observado que la disfunción de la Na^+/K^+ -ATPasa está asociada al desarrollo de la neuropatía diabética (Senefeld & Hunter, 2016); en pacientes con DM la disminución en la actividad de esta enzima se asoció con los padecimientos de debilidad y fatiga (Krishnan, Lin, & Kiernan, 2008).

1.4. Na^+/K^+ -ATPasa

El sistema de transporte celular de la Na^+/K^+ -ATPasa fue descubierto en 1957 (Skou & Esmann, 1992), es un medio esencial e indispensable para el transporte de membrana de las células y está sujeta a múltiples mecanismos de regulación. Está

presente en todos los tejidos, y es un complejo macromolecular muy estudiado (Fuller et al., 2012).

Hay evidencia científica suficiente para establecer que esta enzima es la maquina molecular que utiliza la energía de la hidrólisis de ATP para los transportes activos acoplados de Na^+ y K^+ a través de las membranas plasmáticas, así como una bomba de iones de transducción de energía (Xie & Askari, 2002).

1.4.1. Función y estructura

La Na^+/K^+ -ATPasa es una familia de isoenzimas que cataliza el transporte activo de 3 Na^+ intracelular por el intercambio de 2 K^+ extracelular en la membrana plasmática de las células. También regula muchas funciones celulares esenciales, tales como el volumen celular, la producción de calor, y la regulación del pH intracelular en todas las células (Mobasheri et al., 2000). Posee una subunidad α con 4 isoformas y una subunidad β con 3 isoformas, tienen propiedades enzimáticas únicas y regulan la expresión celular dependiendo de su tipo, estado de desarrollo y la estimulación hormonal (Blanco, 2005a). Se ha descrito hace poco una subunidad γ , como una proteína transmembrana que se cree que existe aproximadamente en cantidades iguales a las subunidades α y β (Mobasheri et al., 2000).

La subunidad α contiene la actividad catalítica de la enzima, ya que cuenta con el sitio de unión del ATP y los sitios de unión de los cationes; la subunidad β tiene la función de estabilizar la subunidad α , facilitar su acoplamiento y la inserción en la membrana celular (Figura 2) (Reinhard, Tidow, Clausen, & Nissen, 2012).

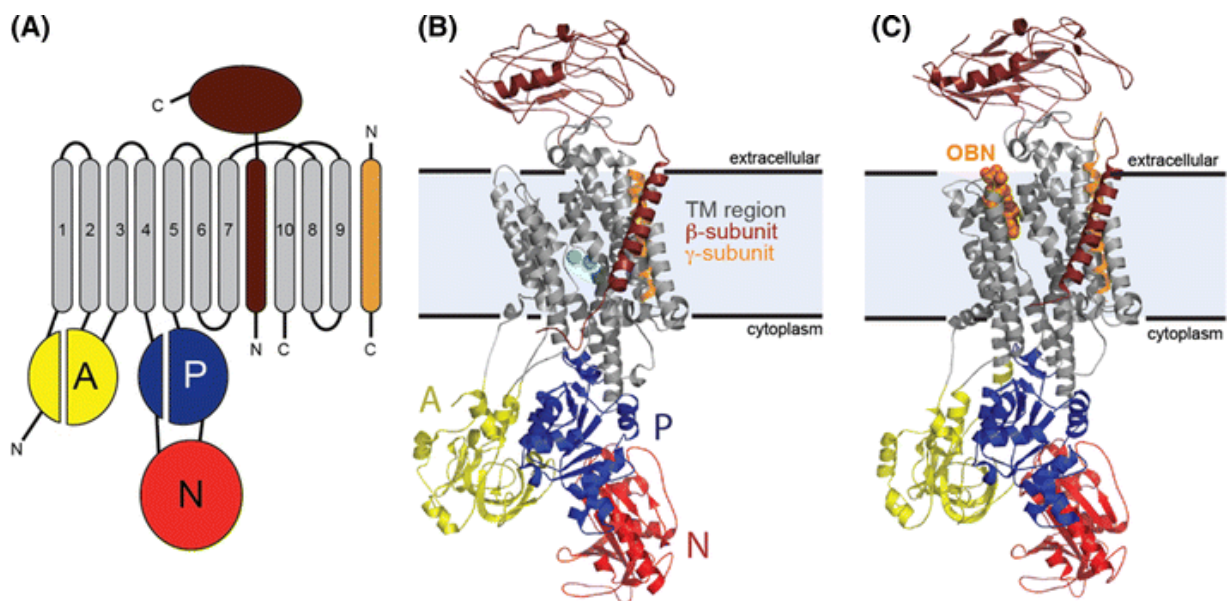


Figura 2. Estructura tridimensional de la Na^+/K^+ -ATPasa.

(A) se muestra la disposición estructural de la $\alpha\beta$ -complejo con la subunidad γ . Se muestra la unión de los dominios A (amarillo) dominio de acción, P (azul) dominio de fosforilación, N (rojo) dominio de unión de nucleótidos(Reinhard et al., 2012).

Se establece que la isoforma $\alpha 1$ sirve como la isoforma de “limpieza” por su abundancia y distribución celular. Las isoformas restantes exhiben un patrón específico de expresión; la isoforma $\alpha 2$ se expresa con mayor abundancia en el musculo cardiaco, musculo esquelético, tejido adiposo y las células gliales en el cerebro. La isoforma $\alpha 3$ se encuentra en mayor concentración en las neuronas del sistema nervioso central y el musculo cardiaco y también se ha encontrada en concentraciones menores en el ovario, cartílago y el hueso. La isoforma $\alpha 4$ parece ser que es específica de los testículos(Blanco, 2005b).

La isoforma $\beta 1$ se ve presente en todos los tejidos. La isoforma $\beta 2$ funciona como una molécula de adhesión de las células gliales que participan específicamente en la mediación de las interacciones entre las neuronas y la glía. La isoforma $\beta 3$ se expresa mayormente en los testículos peros también está presente en el cerebro, riñón, pulmón, bazo, hígado, e intestinos (Mobasher et al., 2000).

Pruebas experimentales sugieren que las subunidades β y proteínas FXYP contribuyen esencialmente a las necesidades fisiológicas variables de la maduración

y función estructural de la Na^+/K^+ -ATPasa y modulan sus propiedades de transporte. Entre otras funciones destacan: contribuyen a la polaridad celular, en la adhesión de célula-célula y en la supresión de la motilidad celular (Geering, 2008).

En cuanto a las proteínas FXYP, poseen un único dominio transmembrana y han sido consideradas como canales reguladores de iones. Modulan la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa, así las FXYP con la enzima, mantienen el buen funcionamiento de algunos procesos tales como: reabsorción renal, la contracción muscular y la excitabilidad neuronal (Crambert & Geering, 2003).

1.4.2. Regulación de la Na^+/K^+ -ATPasa

Existen numerosos mecanismos que están implicados en la regulación de la Na^+/K^+ -ATPasa para adaptar su capacidad a las cambiantes demandas fisiológicas, permitiendo su adecuada función.

Estos mecanismos son complejos ya que la regulación de la Na^+/K^+ -ATPasa es compleja, ya que su actividad puede ser modulada por diferentes factores intrínsecos y extrínsecos. Dentro de los factores intrínsecos se encuentra el ATP, ouabaina, las concentraciones de Na^+ y Mg^{2+} intracelulares y K^+ extracelular. Mientras que la regulación extrínseca de los diversos tejidos está bajo control por 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 (R. E. García, Ramírez, García, & Camargo, 2013).

En la regulación a corto plazo están involucrados efectos directos sobre el comportamiento cinético de la enzima o la translocación de las bombas entre la membrana plasmáticas. Los mecanismos de regulación a largo plazo inducen la síntesis de la Na^+/K^+ -ATPasa o su degradación (Therien & Blostein, 2000).

Se ha demostrado que la 5-HT modula la Na^+/K^+ -ATPasa en las células gliales del cerebro y que existen varios tipos de receptores de 5-HT para cada área distinta del cerebro (Peña-Rangel, Mercado, & Hernández-Rodríguez, 1999).

2. JUSTIFICACIÓN

La DM es una enfermedad metabólica crónica y compleja que afecta a una gran parte de la población y que cada día aumenta más su prevalencia por los malos hábitos de las personas como: la inactividad física, el sedentarismo y los malos hábitos alimenticios. Por lo que esta patología es un problema grave a nivel mundial por el número creciente de casos en la población. El descontrol de la DM, principalmente el estado de glucemia, conduce a varias complicaciones metabólicas multifuncionales que pueden conducir al desarrollo de la neuropatía diabética.

La actividad de la bomba de sodio y potasio disminuye por la DM, reduciéndose el transporte de membrana de las células y diferentes mecanismos de regulación. De igual manera, el sistema serotoninérgico se ve alterado por la DM, y dado que este regula a la Na^+/K^+ -ATPasa hay un desequilibrio en las células cerebrales en estructuras esenciales como el cerebelo. La DM puede generar así diferentes síntomas como: la vasoconstricción, desregulación de la presión arterial, cefaleas, cambios de conducta, trastornos emocionales, depresión entre otras. Reportes de nuestro laboratorio han mostrado que la serotonina incrementa la actividad de la

bomba de sodio y potasio en corteza cerebral y en esta relación participan receptores serotoninérgicos. No se conoce si en el cerebelo participa el receptor 5-HT₂ en la interacción entre estos dos sistemas y si la respuesta de la enzima cambia en la diabetes mellitus por lo que proponemos la siguiente:

3. HIPÓTESIS

El receptor 5-HT₂ participa en la regulación de la actividad de la bomba de sodio y potasio en cerebelo de ratas con DME.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Determinar el efecto de quipazina y metiotepina sobre la actividad Na^+/K^+ -ATPasa en el cerebelo de ratas con DME.

4.2. Objetivos específicos

- Implementar un modelo de DME en ratas.
- Determinar sí el agonista serotóninergico quipazina incrementa la actividad Na^+/K^+ -ATPasa en el cerebelo de ratas con DME.
- Evaluar en efecto de un antagonista serotoninérgico metiotepina sobre la actividad Na^+/K^+ -ATPasa en el cerebelo de ratas con DME.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Animales de experimentación

Se utilizaron ratas de la cepa Wistar, con pesos de 400 ± 20 g, los cuales se mantuvieron en el bioterio del Laboratorio de Neurobiología de la Facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH, bajo los protocolos vigentes para el uso de animales de investigación (SAGARPA, 2001), con alimento y agua *ad-libitum*, ciclo de luz y oscuridad de 12 hrs. (7-9H), temperatura de 20 ± 5 °C y humedad relativa de $60 \pm 5\%$.

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 en un grupo control y un grupo DME.

Para inducir la DME, al grupo experimental se le administro estreptozotocina (STZ, sigma) vía IP, en dosis única de 55 mg/kg de peso (Lenzen, 2008), al grupo control se le administró simultáneamente un volumen equivalente de vehículo. Los niveles de glucosa en sangre de cada rata fueron medidos utilizando el glucómetro

OneTouch Ultra, antes y después de la inducción con STZ con 12 horas de ayuno previo. Para esta medición se realizó punción en la cola de la rata con una lanceta, la muestra sanguínea se colocó en la tira reactiva para OneTouch Ultra y se registró la lectura de la glucosa en mg/dL. Los valores normales de glucosa sanguínea en ratas fueron 73-110 mg/dL. Las ratas con concentraciones mayores a 200 mg/dL de glucosa en sangre se consideraron con DME.

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 males 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.

El peso corporal y consumo de alimento se midieron una vez por semana posterior a la inducción de la DME durante 6 semanas. 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.

5.2. Obtención de muestras biológicas

Una vez completado el esquema de DME, con un periodo de ayuno de 12 hrs. se procedió a la eutancia de los animales por dislocación cervical; rápidamente se obtuvo de cada uno de ellos una muestra de sangre intracardiaca, además se diseccionó el cerebelo.

La sangre una vez coagulada se centrifugó a 2000 RCF y se recuperó el suero para realizar determinaciones enzimático-colorimétricas de glucosa, colesterol total, lipoproteínas de alta densidad (HDL), triglicéridos, proteínas totales, y albumina sérica. Se emplearon kits Spinreact® para la determinación de los diferentes parámetros bioquímicos, se siguieron los protocolos y recomendaciones del

fabricante, así como la ecuación de Friedewald para el cálculo de lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y lípidos totales (Friedewald, Levy, & Fredrickson, 1972).

El cerebelo en proporción 1:10 se colocó en solución 50 mM de Tri-s-HCl pH 7.4 y se homogeneizó con 10 pasos a 700 rpm en un homogeneizador Thomas con vástago de teflón de 0.25 mm de luz. Posteriormente se determinó la concentración de proteína del tejido cerebeloso por el método de Lowry (Lowry y Col. ,1951).

5.3. Actividad específica de la Na^+/K^+ -ATPasa

La actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa fue medida con el método usado por Mercado y Hernández (1994), en triplicado de alícuotas del homogeneizado equivalentes a 50 μg de proteína, donde la actividad de la enzima se determinó mediante la cantidad de fosfato inorgánico liberado de la reacción de hidrólisis del ATP. La actividad específica (A.E.) se expresó como mMolPi/mgProt/h . En las series de tubos con el agonista quipazina y con el antagonista metiotepina se incubó el tejido 20 minutos a 37°C .

5.4. Análisis estadístico

A partir de los resultados se obtuvo la media aritmética y la desviación estándar de los datos experimentales, se empleó la “t” de Student para comparar los valores entre grupos y el programa GradPad Prism para la representación gráfica.

6. RESULTADOS

6.1. Modelo de DME

Para realizar este trabajo primero se estableció el modelo de DME. En las ratas a las que se les administró STZ se observó un aumento significativo de la glucosa sanguínea en comparación con el grupo control, dicho incremento permaneció constante desde la primera hasta la sexta semana (Figura 3).

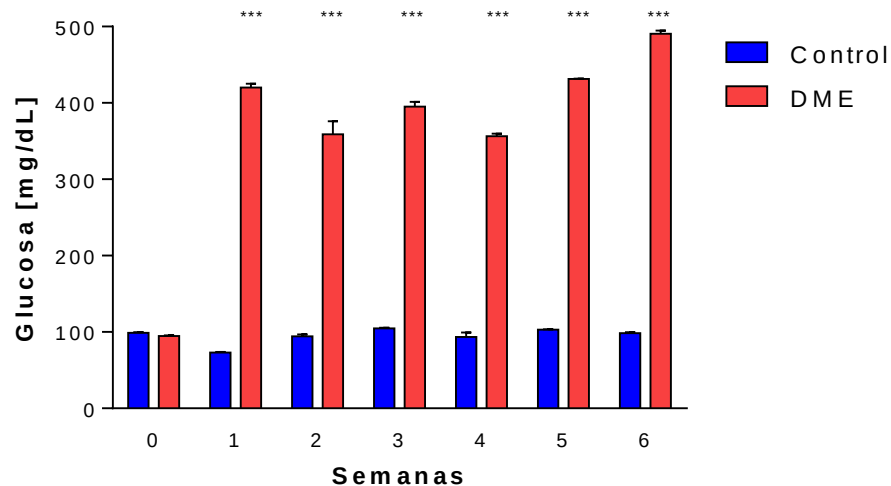


Figura 3. Niveles de glucemia en sangre en ratas de los grupos control y DME. Determinaciones realizadas con 12 horas de ayuno. $\bar{X} \pm D.E.$ de 10 ratas de cada grupo ***p<0.001.

6.2. Consumo de alimento

Está bien establecido que en ratas a las que se administra STZ para inducir DME, además de hiperglucemia, presentan polifagia (Lenzen, 2008). El registro del consumo de alimento mostró que la primera semana después de la administración de la STZ se observó que el grupo diabético consumió mayor cantidad de alimento (X= 43g) por lo que observamos que hubo polifagia 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 4).

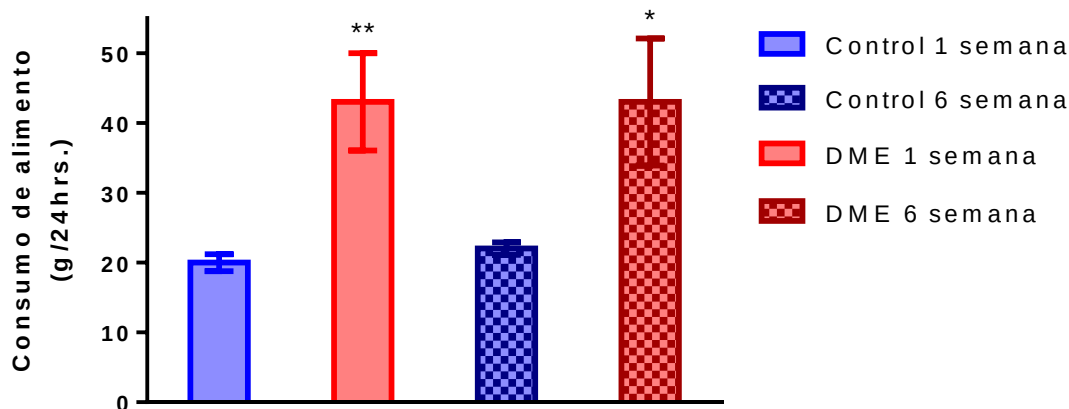


Figura 4. Consumo de alimento.

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

6.3. Peso corporal

En la Figura 5 se muestra como a partir de la primera semana experimental, en el grupo DME su peso corporal disminuyó 31.5% con respecto al grupo control; la pérdida de peso por en los animales del grupo DME fue hasta de un 56.5% con respecto al grupo control que gana peso de manera a su desarrollo normal ($X=581$ g, $p < 0.001$).

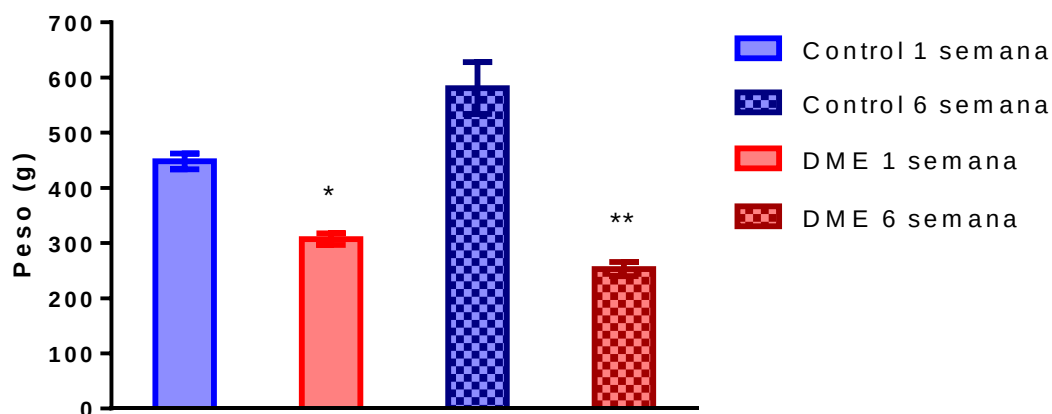


Figura 5. Peso corporal de los animales experimentales.

Los datos representan la media $\pm$ D.E. con $n=12$ para ambos grupos, * $P < 0.05$ comparando el peso corporal del grupo control de la 1 semana y la 6 semana; ** $P < 0.01$ comparando el peso corporal del grupo con DME de la 1 semana y la 6 semana.

6.4. Consumo total de líquidos

Con respecto a la ingesta de agua las ratas de los grupos DME presentaron polidipsia (Figura 6). En la mayoría de animales diabéticos, el consumo de total de líquidos fue hasta 3 veces más que el de los animales control durante las 6 semanas del tiempo experimental ($p < 0.01$).

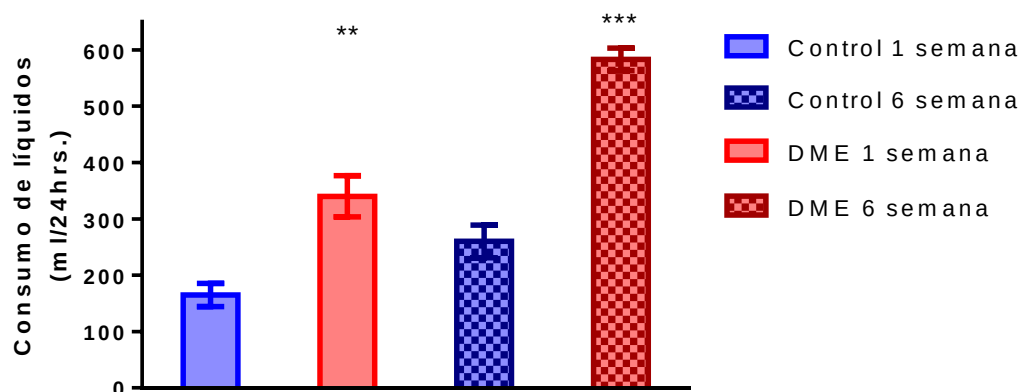


Figura 6. Consumo total de líquidos.

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 $\pm$ D.E. ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ comparando grupo control con el grupo con DME de la primera y sexta semana respectivamente.

6.5. Bioquímica plasmática

Finalizada la monitorización del modelo de DM, los animales experimentales fueron sacrificados y de ellos se obtuvo una muestra sanguínea intracardiaca para valorar diferentes parámetros bioquímicos que se enlistan en la Tabla 2. Con el análisis de las muestras sanguíneas podemos observar que las ratas con DME tuvieron glicemias superiores a los parámetros considerados como normales. El grupo DME presentó un incremento en los niveles de colesterol y de triglicéridos con respecto al grupo control. Las lipoproteínas en el grupo DME mostraron una relación distinta a las analizadas en el grupo control, el valor de las VLDL correspondió al incremento

de triglicéridos en el grupo DME. La concentración de albumina sérica se encuentra disminuida en nuestras ratas con DME, lo que nos indica alteraciones en el metabolismo del uso de los nutrientes en el organismo. El modelo de DME se implementó adecuadamente ya que los resultados obtenidos son similares a los reportados por otros autores (Esquivel-García, Prieto-Sierra, Bautista-García, Bolaños-Jiménez, & Mercado-Camargo, 2013; Manjarrez-Gutiérrez et al., 1999a).

Tabla 2. 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	490.8±7.9*	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 ± D.E. con n=4 del grupo control y n=4 del grupo con DME*P<0.05. Lipoproteína de alta densidad (HDL), lipoproteína de baja densidad (LDL), lipoproteína de muy baja densidad (VLDL).

6.6. Curva de dosis respuesta con quipazina en cerebelo

La figura 7 muestra el efecto de las diferentes concentraciones molares del agonista quipazina sobre la actividad de la Na⁺/K⁺-ATPasa en preparación de homogenizado de cerebelo en ratas control y con DME. Observándose un aumento de la actividad enzimática con unas DE₅₀ de 6.448x10⁻⁹ M y 1.538x10⁻⁹ M para el homogenizado de cerebelo en los grupos control y DME, respectivamente.

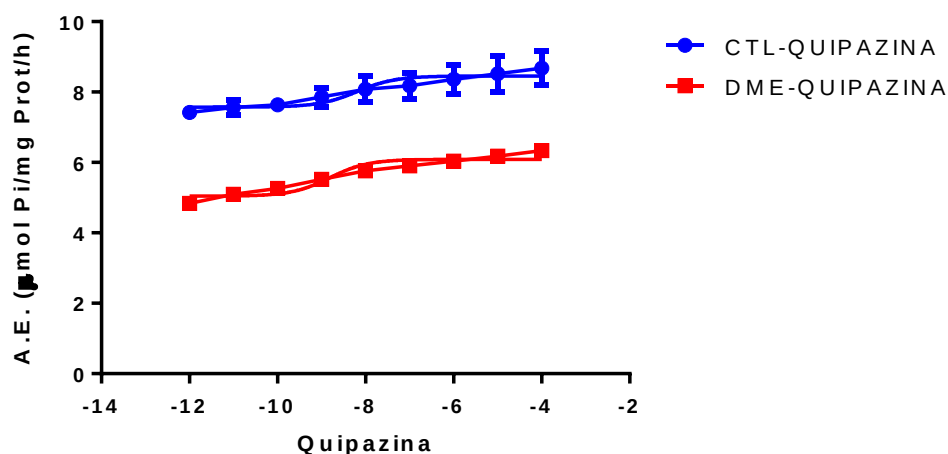


Figura 7. Curva de dosis-respuesta del agonista quipazina en cerebelo de ratas control y con DME. Los datos representan la media $\pm$ D.E. de 5 experimentos realizados por triplicado.

6.7. Curva de dosis respuesta con metiotepina en cerebelo

La figura 8 muestra el efecto de las diferentes concentraciones molares del antagonista metiotepina en la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa en preparación de homogenizado en cerebelo de ratas control y con DME. Se observa la disminución de la actividad de la enzima en el grupo DME con respecto al control, obteniendo una curva de dosis repuesta para calcular la DE_{50} . Obteniendo así la dosis 4.791×10^{-12} M y 1.133×10^{-8} M para los homogenizados en cerebelo de ratas control y DME respectivamente.

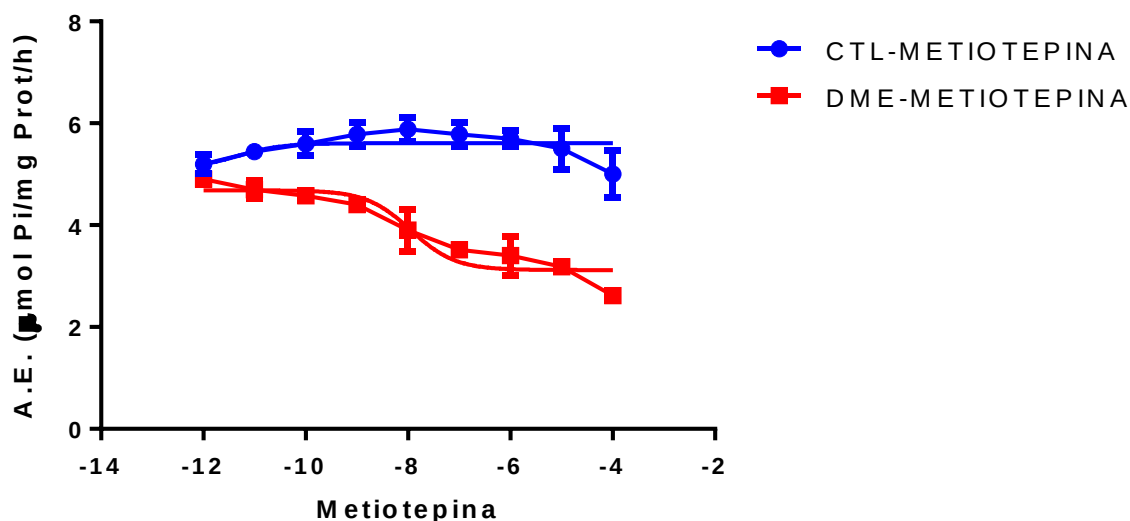


Figura 8. Curva de dosis-respuesta del antagonista metiotepina en cerebelo de ratas control y con DME.

Los datos representan la media $\pm$ D.E. de 5 experimentos realizados por triplicado.

6.8. Porcentaje de actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa con quipazina

La figura 9 muestra el efecto de las concentraciones obtenidas de la curva dosis respuesta del agonista quipazina, 1×10^{-9} para el grupo control y 1×10^{-9} para el grupo de DME en la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa, observándose un 62.30 % de actividad de la enzima y un 4.04 % en el homogenizado de cerebelo de ratas control.

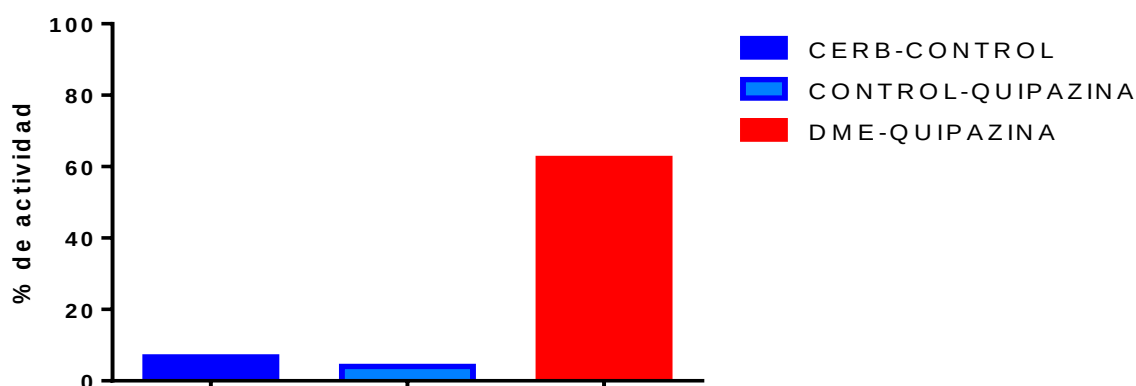


Figura 9. Porcentaje de actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa en homogenizado de cerebelo de ratas macho adultas con quipazina en los grupos control y DME.

Los datos representan la media $\pm$ D.E. de 5 experimentos realizados por triplicado.

6.9. Porcentaje de inhibición enzimática con metiotepina

La figura 10 muestra el efecto de las concentraciones obtenidas de la curva dosis respuesta del antagonista metiotepina, 1×10^{-12} para el grupo control y 1×10^{-8} para el grupo de DME en la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa, observándose un 72.23 % de actividad de la enzima y un 28.70 % en el homogenizado de cerebelo de ratas control.

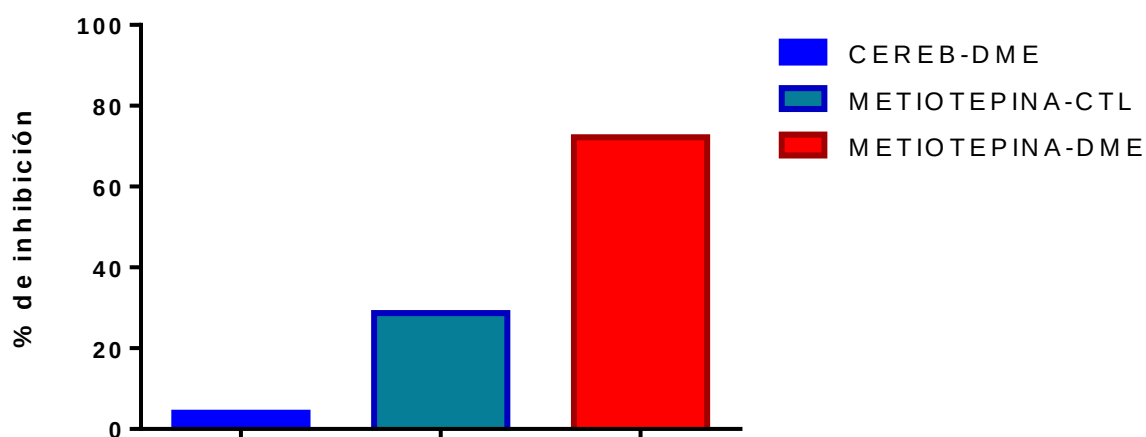


Figura 10. Porcentaje de Inhibición de la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa en homogenizado de cerebelo en presencia de metiotepina en el grupo control y con DME. Los datos representan la media $\pm$ D.E. de 5 experimentos realizados por triplicado.

7. DISCUSIÓN

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de quipazina y metiotepina sobre la actividad Na^+/K^+ -ATPasa en el cerebelo de ratas con DME. Para lo cual primeramente se implementó un modelo de DME en ratas las cuales exhibieron muchos de los síntomas comúnmente asociados con la diabetes entre los que se encontraron: polifagia, polidipsia y poliuria; además, se observó una disminución en el peso corporal de los animales en estadio diabético. Estas alteraciones se correlacionan con modificaciones metabólicas provocadas por la hiperglucemia crónica y concuerdan con resultados obtenidos anteriormente en el Laboratorio de Neurobiología y por otros investigadores, confirmando que la implementación fue correcta (Esquivel-García et al., 2013; Manjarrez-Gutiérrez et al., 1999a). En humanos, los médicos indican 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 que puede involucrar que el paciente esté en riesgo de padecer el síndrome metabólico, una condición donde el estado de salud del organismo se encuentra más comprometido (Longo y col, 2012). En el grupo DME se observó un aumento significativo en el contenido plasmático de triglicéridos, colesterol y lipoproteínas VLDL (Tabla 2), que demuestran que la falta de control del estado de glucemia acelera las alteraciones que la DM produce en el organismo.

Diversos reportes en la literatura científica han indicado que durante el estadio diabético ocurren alteraciones en la homeostasis iónica del organismo y que proteínas que transportan iones a través de las membranas plasmáticas tienen afecciones en su función (Ng, Tolerico, & Book, 1993), con lo que el desequilibrio en las concentraciones normales intra- y extracelular de iones como el Na^+ y K^+ puede modificar desde la función de una célula hasta aquella de órganos vitales como el cerebro (Parmar, Singh, & Singh, 2016). El cerebelo es una estructura que precisa, entre otros procesos, las ordenes de las vías motoras para lograr una buena

coordinación motriz (Hernández-Goñi, Tirapu-Ustárriz, Iglesias-Fernández, & Luna-Lario, 2010).; esto dependerá de la adecuada función de las células nerviosas (neuronas y células gliales), por lo que un desequilibrio iónico a este nivel puede propiciar que se pierda el control de los potenciales de acción y que las células nerviosas no logren funcionar adecuadamente.

La medición de la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa, una enzima esencial en la regulación de potenciales de acción en células nerviosas, estableció que durante el estadio diabético hay un descenso significativo en la actividad de la enzima en el cerebelo al compararse con el grupo control, lo que podría deberse entre otros factores al funcionamiento inadecuado de la enzima, disminución de su síntesis o un incremento de su degradación proteica (Ewart & Klip, 1995). También podría asociarse que la DME propicia una disminución en la síntesis de neurotransmisores como la 5-HT que regula la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa (Manjarrez-Gutiérrez et al., 1999b; Mercado-Camargo & Hernández-Rodríguez, 1992). En el cerebelo, una disminución en la actividad Na^+/K^+ -ATPasa podría modificar la cantidad de energía disponible para que esta estructura cerebral realice su función, además de generarse un retardo en la remoción de neurotransmisores e iones del fluido extracelular donde se podría propiciar que las células nerviosas permanecieran hiperpolarizadas o despolarizadas por tiempos mayores, lo que implica daños irreversibles relacionados al desarrollo de la neuropatía diabética.

Se ha evaluado el mecanismo de la acción farmacológica de agonistas y antagonistas, entre ellos algunos con actividad serotoninérgica, que pueden revertir afecciones producidas por diversas patologías en el sistema nervioso (Pallardo Fernández, 2016). En el presente estudio se probó la acción de quipazina y metiotepina (agonista y antagonista serotoninérgicos, respectivamente) sobre la actividad Na^+/K^+ -ATPasa en el cerebelo de ratas con DME. La actividad de la enzima en presencia del agonista quipazina incremento hasta 62.30 % en el homogenizado cerebeloso del grupo con DME, sin embargo este incremento no fue el suficiente para alcanzar los valores basales de actividad enzimática observados en el grupo control; y como era de esperarse de acuerdo a reportes donde se utilizaron

antagonistas serotoninérgicos (Mercado-Camargo & Hernández-Rodríguez, 1992), la metiotepina se inhibió en un 72.23 % la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa en el grupo con DME y un 28.70 % en el grupo control. Con estos resultados se hace evidente que la DME disminuye la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa del cerebelo de ratas, y que pese a que durante el estadio diabético la 5-HT continúa ejerciendo regulación sobre la actividad de la enzima, el uso de agonistas serotoninérgicos, como la quipazina que actúa sobre el receptor 5-HT₂, no logran incrementar hasta valores basales de un estado saludable la actividad de este importante transportador iónico, por lo que otros factores pudieran estar produciendo esta disfunción.

8. CONCLUSIÓN

La diabetes mellitus experimental afecta la interacción entre la bomba de sodio y potasio y la serotonina en el cerebelo de rata mediada por el receptor 5-HT₂.

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.
- Almaguer H., A., Miguel Sosa, P.E., Reynaldo S.,C. , Mariño S., Antonio L. y Oliveros G., R.(2012). Actualización sobre diabetes mellitus. *Correo científico médico*. 16(2).
- Amato, D. (2015). Serotonin in antipsychotic drugs action. *Behavioural Brain Research*, 277, 125–135. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.07.025>
- American Diabetes Association. (2016). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care*, 39(Supplement 1), S13–S22. <https://doi.org/10.2337/dc16-S005>
- Arce, V. M., Catalina, P. F., y Mallo, F. (2006). *Endocrinología*. Santiago de Compostela: Servizo 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⁺-K⁺-ATPase regulatory γ -subunit in rat kidney. *American Journal of Physiology*, 282 (3):F393-F407.

ASSOCIATION, A. D. (2013). Diagnosis and Classification of Diabetes. *DIABETES CARE*.

Avery, G. B., Fletcher, M. A., y MacDonald, M. G. (2001). *Neonatología: fisiopatología y manejo del recién nacido*. Argentina: Editorial medica panamericana.

Balada, F., Marquéz, C., Nadal, R., y Redolar, D. (2012). *Farmacología y endocrinología del comportamiento*. 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>.

Bequer, L., Gómez, T., Molina, J. L., Artiles, D., Bermúdez, R., & Clapés, S. (2016). Streptozotocin diabetogenic action in an experimental neonatal induction model. *Biomédica*, 36(2), 230–238. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i2.2686>

Berger, M., y Gray, J. A. (2009). The expanded biology of serotonin. *Ann Rev Med*, 60:355-366.

Berry, R., Despa, S., Fuller, W., y Bers, D. (2007). Differential distribution and regulation of mouse cardiac Na⁺/K⁺- ATPase α 1 and α 2 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*.
- Blanco, G. (2005a). Na,K-ATPase Subunit Heterogeneity as a Mechanism for Tissue-Specific Ion Regulation. *Seminars in Nephrology*, 25(5), 292–303.
<https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2005.03.004>
- Blanco, G. (2005b). Na,K-ATPase Subunit Heterogeneity as a Mechanism for Tissue-Specific Ion Regulation. *Seminars in Nephrology*, 25(5), 292–303.
<https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2005.03.004>
- 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.
- Buckner, R. L. (2013). The Cerebellum and Cognitive Function: 25 Years of Insight from Anatomy and Neuroimaging. *Neuron*, 80(3), 807–815.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.10.044>

- 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.
- 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⁺,K⁺-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.
- Castillo, G. D., & Jorge, J. L. V. de. (2015). *Anatomía y fisiología del sistema nervioso central*. Fundación Univ. San Pablo.
- Celada, P., Puig, M. V., & Artigas, F. (2004). Control serotoninérgico de la corteza prefrontal. *Rev Neurol*, 539–547.

- Chang, J. T., Lowery, L. A., 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.
- Cheng, S. J., Chen, K., y Gllaher, T. (1995). Molecular biology of serotonin receptors. En F. Bloom, y D. Kuper , *A basis for understanding and addressing brain function in : psychopharmacology the fourth generation progress* (págs. 415-429). New York: Raven press.
- Coaquira Peláez, S. A., Condori Quispe, A., & Fuentes De la Barra, P. Y. (/). NEUROFISIOLOGIA DE LA CONDUCCION NERVIOSA. *Revista de Actualización Clínica Investiga*, 1301.
- Conn, P. J., & Sanders-Bush, E. (1987). Relative efficacies of piperazines at the phosphoinositide hydrolysis-linked serotonergic (5-HT-2 and 5-HT-1c) receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 242(2), 552–557.

Contreras, R. (22 de enero de 2015). Recuperado el 26 de enero de 2016, de Biología la guía: <http://biologia.laguia2000.com/bioquimica/sintesis-de-serotonina>

Corty, M., y Freeman, M. (2013). Architects in neural circuit design: glial control neurons numbers and connectivity. *J. of cell biology*, 203 (3):395-405.

Crambert, G., & Geering, K. (2003). FXYD proteins: new tissue-specific regulators of the ubiquitous Na,K-ATPase. *Science's STKE: Signal Transduction Knowledge Environment*, 2003(166), RE1. <https://doi.org/10.1126/stke.2003.166.re1>

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

Dorado, C. (2012). Funciones cognitivas del cerebelo: implicación en las funciones ejecutivas. *Revista Chilena de Neuropsicología*, 7(2). Recuperado a partir de <http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=179324185002>

- El-Merahbi, R., Löffler, M., Mayer, A., & Sumara, G. (2015). The roles of peripheral serotonin in metabolic homeostasis. *FEBS Letters*, 589(15), 1728–1734. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2015.05.054>
- 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.
- Esquivel-García, R., Prieto-Sierra, J. E., Bautista-García, C. S., Bolaños-Jiménez, F., & Mercado-Camargo, R. (2013). Alteraciones metabólicas en ratas con diabetes mellitus experimental (Vol. 5, pp. 974–978). Presentado en Congreso Internacional de Investigación Academia Journals Celaya 2013, México: Celaya.AcademiaJournals. Recuperado a partir de <http://celaya.academiajournals.com/Memorias2013.html>

- 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⁺/K⁺-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.
- Felten, D., y Shetty, A. (2010). *Netter. Atlas de neurociencia*. España: Elsevier Masson.
- Fernandez Teruel, A. (2008). *Farmacología de la conducta: de los psicofármacos a las terapias psicológicas*. Barcelona: Servei.
- Feschenko, S., Donnet, C., Wetzel, K., Asinowski, K., Jones, R., y Sweadner, J. (2003). Phospholemman a single span membrane protein, is an accessory protein of Na⁺/K⁺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.
- Finlay, B., Innocenti, G., y Scheich, H. (1991). .The neocortex. Ontogeny and phylogeny. En H. Jerison, *Fossil brains and the evolution of neocortex*. (págs. 5-19). New York: Plenum Press.
- Fiske, C., y Subbarow, Y. (1925). The colorimetric determination of phosphorous. *J.Biol.Chem*, 66:375-400.
- Folsom A.R., Ma J, Eckfeldt J.H., Nieto F.J., Metcalf P.A. y Barnes R.W. (1995) Low serum albumin. Association with diabetes mellitus and other cardiovascular risk factors but not with prevalent cardiovascular disease or carotid artery intima-media thickness. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. *Ann Epidemiol*. 5(3):186-91.
- Fox, S. I., y College, P. (2013). *Fisiología humana*. México , D.F.: Mc Graw Hill
- Friedewald, W. T., Levy, R. I., & Fredrickson, D. S. (1972). Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, 18(6), 499–502.
- Fuller, W., Tulloch, L. B., Shattock, M. J., Calaghan, S. C., Howie, J., & Wypijewski, K. J. (2012). Regulation of the cardiac sodium pump. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 70(8), 1357–1380. <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1134-y>

García, O., & Massieu, L. (2004). INTERACCIÓN ENTRE LAS CÉLULAS GLIALES Y NEURONALES Y SU PAPEL EN LA MUERTE Y SOBREVIVENCIA NEURONAL. *Archivos de neurociencias (México, D.F.)*, 9(1), 39–46.

García, R. E., Ramírez, L. L., García, C. S. B., & Camargo, R. M. (2013). Actividad de la bomba de sodio y potasio en cerebelo de ratas con diabetes mellitus experimental. *Biológicas Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo*, 14(2), 90–96.

Garcia-Rudaz, C., Deng, V., Matagne, V., Ronnekleiv, O., Bosch, M., y Han, V. (2009). FXD1, a modulator of Na⁺,K⁺-ATPase activity, facilitates female sexual development by maintaining GnRH neuronal excitability. *Neuroendocrinol.*, 21(2): 108–122.

Geering, K. (2008). Functional roles of Na,K-ATPase subunits. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 17(5), 526–532.
<https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e3283036cbf>

Gil, A. (2010). *Tratado de nutrición: nutrición humana en el estado de salud*. Madrid: Editorial medica panamericana.

González, M.S., Márquez, A., Meléndez, C.E. y López Orterga, A.A. (2010). Efecto del extracto de hojas Nim (*Azadirachta indica* A.Juss) en la diabetes mellitus inducida por Estreptozotocina en ratones. *Gaceta de ciencias veterinarias*. 15(2):64-71.

Gutiérrez, J., Rivera, J., Shamah, T., Villalpando, S., Franco, A., Cuevas, L., ... 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.

Guzmán, D. F. (2010, julio 9). Serotonina: receptores, fármacos agonistas y

antagonistas. Recuperado a partir de

<http://institutedepsicofarmacologia.com/serotonina-receptores-agonistas-antagonistas>

Hale, M. W., Shekhar, A., & Lowry, C. A. (2012). Stress-related Serotonergic

Systems: Implications for Symptomatology of Anxiety and Affective Disorders.

Cellular and Molecular Neurobiology, 32(5), 695–708. <https://doi.org/10.1007/s10571-012-9827-1>

Hansen B.C., Tigno X.T., Benardeau A., Meyer M., Sebokova E. y Mizrahi J. (20 de Enero del 2011). Effects of aleglitazar, a balanced dual peroxisome proliferator-activated receptor alpha/gamma agonist on glycemic and lipid parameters in a primate model of the metabolic syndrome. Recuperado el 14 de junio del 2016. Cardiovasc Diabetol. Disponible en: <http://www.cardiab.com/content/10/1/7>

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.

- Hernandez, J. (1979). Na⁺/K⁺-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⁺/K⁺-ATPase activity in the developing rat brain. *Rev. Neurosci*, 5:326-331.
- Hernandez, J. (1992). Na⁺/K⁺-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.
- Hoyer, D., Hannon, J. P., & Martin, G. R. (2002). Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 71(4), 533–554. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(01\)00746-8](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(01)00746-8)
- Huang , Y.-J., Maruyama , Y., Lu, K.-S., Pereira , E., y Plonsky , I. (2005). Mouse taste buds use serotonin as a neurotransmitter. *J Neurosci.*, 25(4):843-7.
- Hugués Hernandorena, B., García, R., César, J., González, R., César, J., Rodríguez, M., & Teresa, M. (2002). Animales de experimentación como modelos de la diabetes mellitus tipo 2. *Revista Cubana de Endocrinología*, 13(2), 0–0.
- Hussain, G., Rizvi, S. A. A., Singhal, S., Zubair, M., & Ahmad, J. (2013). Serum levels of TNF- α in peripheral neuropathy patients and its correlation with nerve

- conduction velocity in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 7(4), 238–242.
<https://doi.org/10.1016/j.dsx.2013.02.005>
- Jayaram, C., Marck, A. H., Nicholas, J. P., y Charles, S. Z. (2006). The receptors and cells for mammalian taste. *Nature*, Vol 16 288-293.
- 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⁺/K⁺ ATPase : Functional sites and their interactions. *Annual Review of Physiology*, 65:815-849.
- Jorgensenet, P. L., Hakansson, K. O., y Karlsh, S. J. (2003). Structure and mechanism of Na⁺/K⁺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.
- 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.
- 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.

- Kettaneh, A., Fain, O., Stirnemann, J., y Thomas, M. (2002). Taste disorders. *La Revue de ,Medecine Interne*, 23: 622-631.
- Krishnan, A. V., Lin, C. S.-Y., & Kiernan, M. C. (2008). Activity-dependent excitability changes suggest Na⁺/K⁺ pump dysfunction in diabetic neuropathy. *Brain: A Journal of Neurology*, 131(Pt 5), 1209–1216.
<https://doi.org/10.1093/brain/awn052>
- Krizhanovsky, V., Agamy, O., & 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 diabète de type I. *Ann Otolaryngol Chir Cervicofac*, 106: 455-61.
- Lee, C., y Weavere, A. (2012). Capitulo 7. Cuidados del pacientes con transtornos endocrinos. En *Enfermería de cuidados intensivos* (pág. 341). México: Manual Moderno.
- 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.
- 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., y Leza, J. C. (2008). *Farmacobiología básica y clínica*. Buenos Aires, Madrig: Editorial medica 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*.
- Lullmann, H., Mohr, K., y Hein, L. (2010). *Farmacología: Texto y Atlas*. Madrid España: Editorial medica panamericana.
- Mai, J., y Paxinos, G. (2012). *The Human Nervous sistem*. USA: Elsevier.
- 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.
- Manjarrez, G., Chagolla, G., y Hernández, R. (1988). Desnutrición intrauterina II.L-triptófano, triptófano-5-hidroxilasa y serotoniana en el cerebro rata. *Boletín médico del hospital infantil de México*, 12:808-816.

- Manjarrez-Gutiérrez, G., Herrera, J. R., Molina, A., Bueno, S., González, M., & Hernández-Rodríguez, J. (1999a). Alteraciones en la síntesis de serotonina cerebral inducidas por diabetes mellitus insulino dependiente. *Revista de investigación clínica*, 51(5), 293–302.
- 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.
- Mendez, N., y Uribe, M. (2013). *Obesidad: conceptos clínicos y terapéuticos*. México: Mc Graw Hill.
- Mercado, R., y Hernández, J. (1992). Regulatory role of a neurotransmitter (5-HT) of glial Na⁺/K⁺-ATPase in the rat brain. *Neurochem In.*, 21(1): 231-241.
- Mercado-Camargo, R., & Hernández-Rodríguez, J. (1992). Regulatory role of a neurotransmitter (5-HT) on glial Na⁺/K⁺-ATPase in the rat brain. *Neurochemistry international*, 21(1), 119–127.
- Meyerhof, W. (2005). Elucidation of mammalian bitter taste. *Rev.Physiol, Biochem.Pharmacol*, 154:37-72.
- Meza-Sosa, K. F., Valle-García, D., Pedraza-Alva, G., & Pérez-Martínez, L. (2012). Role of microRNAs in central nervous system development and pathology.

- Middelton, J., Raymond, J., Whorton, A., y Dennis, V. (1990). Short-term regulation of Na⁺/K⁺ adenosine triphosphatase by recombinant human serotonin 5-HT_{1A} receptor expressed in Hela cells. *Journal clinical investigation*, 86:1799-1805.
- Mobasheri, A., Avila, J., Cózar-Castellano, I., Brownleader, M. D., Trevan, M., Francis, M. J. O., ... Martín-Vasallo, P. (2000). Na⁺, K⁺-ATPase Isozyme Diversity; Comparative Biochemistry and Physiological Implications of Novel Functional Interactions. *Bioscience Reports*, 20(2), 51–91. <https://doi.org/10.1023/A:1005580332144>
- 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.
- Navarrete, J., & F, M. (2000). Diabetes mellitus: actualización. *Acta Médica Costarricense*, 42(2), 53–65.
- 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.
- Neurona. (2016, diciembre 4). En *Wikipedia, la enciclopedia libre*. Recuperado a partir de <https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Neurona&oldid=95418009>
- Ng, Y. C., Tolerico, P. H., & Book, C. B. (1993). Alterations in levels of Na(+)-K(+)-ATPase isoforms in heart, skeletal muscle, and kidney of diabetic rats. *American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism*, 265(2), E243–E251.
- Noda, M., Higashida, H., Aoki, S., & Wada, K. (s/f). Multiple signal transduction pathways mediated by 5-HT receptors. *Molecular Neurobiology*, 29(1), 31–39. <https://doi.org/10.1385/MN:29:1:31>
- OMS. (2012, septiembre 1). Diabetes. Nota descriptiva No. 312. Recuperado el 22 de julio de 2013, a partir de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>
- Oostland, M., & van Hooft, J. A. (2013). The role of serotonin in cerebellar development. *Neuroscience*, 248, 201–212. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.05.029>
- 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.
- P. Cardpnali, D., y García, W. (2007). *Neurociencia aplicada y sus fundamentos*. Argentina: Editorial medica panamericana.

- Padilla-Benavides, T., Roldán, M., Larre, I., Flores-Benitez, D., y Villegas-Sepúlveda, N. (2010). The Polarized Distribution of Na⁺,K⁺-ATPase: Role of the Interaction between β Subunits. *Mol Biol Cell*, 21(13): 2217–2225.
- Pallardo Fernández, I. (2016). Agonistas parciales, moduladores bioquímicos con múltiples aplicaciones. *Psiquiatría Biológica*, 23(2), 60–66. <https://doi.org/10.1016/j.psiq.2015.12.001>
- Parmar, K., Singh, S., & Singh, G. (2016). Role of hyperglycemia in the pathogenesis of Na⁺/K⁺ disturbance. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 1167–1171. <https://doi.org/10.18203/2320-6012.ijrms20160803>
- Peña-Rangel, M. T., Mercado, R., & Hernández-Rodríguez, J. (1999). Regulation of glial Na⁺/K⁺-ATPase by serotonin: identification of participating receptors. *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
- Rapport, M., Green, A., & Page, I. (1948). Serum vasoconstrictor, serotonin; isolation and characterization. *The Journal of Biological Chemistry*, 176(3), 1243–1251.
- Rees, D. A., & Alcolado, J. C. (2005). Animal models of diabetes mellitus. *Diabetic Medicine*, 22(4), 359–370. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2005.01499.x>

- Reinhard, L., Tidow, H., Clausen, M. J., & Nissen, P. (2012). Na⁺,K⁺-ATPase as a docking station: protein–protein complexes of the Na⁺,K⁺-ATPase. *Cellular and*
- 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⁺, K⁺-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 *Molecular Life Sciences*, 70(2), 205–222.
<https://doi.org/10.1007/s00018-012-1039-9>
- 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.
- 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.
- SAGARPA. NOM-062-ZOO-1999 - Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio, Pub. L. No. NOM-062-ZOO-

- 1999, Diario Oficial de la Federación - México 1 (2001). Recuperado a partir de <http://www.senasica.gob.mx/?doc=743>
- Sahagún-Flores, J. E., Bravo-Cuellar, A., Celis, A., Hernández- Flores, G., y Orbach-Arbouys, S. (2000). Elevated salt taste detection threshold in subjects with essential arterial hypertension. *Presse Médical*, 29: 1458.
- Sanchez Sendra, A. P. (2014). *Farmacología clínica*. Manuales de Enfermería.
- Sánchez, J. (2002). Structure of the cerebral cortex.intrinsic organization and comparative analysis of the neocortex. *rev neurol* , 34: 758-80.
- Sánchez-López, A., Centurión, D., Lozano-Cuenca, J., Muñoz-Islas, E., Cobos-Puc, L. E., & Villalón, C. M. (2009). Receptores de la serotonina que inhiben el tono simpático vasopresor en la rata descerebrada y desmedulada. *Archivos de cardiología de México*, 79, 83–94.
- Sandler, M., Reveley, M. A., & Glover, V. (1981). Human platelet monoamine oxidase activity in health and disease: a review. *Journal of Clinical Pathology*, 34(3), 292–302.
- Senefeld, J., & Hunter, S. K. (2016). Molecular underpinnings of diabetic polyneuropathy. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 121(1), 360. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00380.2016>
- 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⁺/K⁺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.
- Skou, J. C. (1992). The Na⁺/K⁺ pump. *Physiology*, 7(3): 95-100.
- Skou, J. C., & Esmann, M. (1992). The Na, K-ATPase. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 24(3), 249–261.
- 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.
- Stephanie, W., y Watts. (2012). Serotonin and Blood Pressure Regulation. *Pharmacol Rev*, 64(2):359-388.
- 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⁺/K⁺-ATPase. *Biochem. Biophys*, 185-220.
- Sytze Van Dam, P., Cotter, M. A., Bravenboer, B., & Cameron, N. E. (2013). Pathogenesis of diabetic neuropathy: Focus on neurovascular mechanisms. *European Journal of Pharmacology*, 719(1–3), 180–186.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.07.017>
- 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, A. G., & Blostein, R. (2000). Mechanisms of sodium pump regulation. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 279(3), C541–C566.
- 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.
- Tokhtaeva, E., J. Clifford, R., Kaplan, J., Sachs, G., y Vagin, O. (2012). Subunit Isoform Selectivity in Assembly of Na,K-ATPase α - β Heterodimers. *J Biol Chem*, 287(31): 26115–26125.
- Toledano, A., Álvarez, M.-I., Toledano-Díaz, A., & Rodríguez-Arellano, J.-J. (2016). Nuevos conceptos sobre la funcionalidad del sistema nervioso: la revolución de las células gliales. II. Las respuestas neurogliales claves en la patogenia y el tratamiento de las enfermedades del SN. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*, 82(1). Recuperado a partir de <https://www.analesranf.com/index.php/aranf/article/view/1694>

- Torre, L., y Bonni, A. (2011). Transcriptional regulation of neuronal polarity and morphogenesis in the mammalian brain. *J.Neuron*, 72(1):22-40.
- Toyono, T., Seta, Y., y Kataoka, S. (2002). Expression of the metabotropic glutamate receptor, mGlu4a, in the aste hairs of taste buds in rat gustatory papillae. *Arch Histol Cytol*, 65. 91-96.
- 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.
- Villalón H., C. (2009). Receptores de la serotonina que inhiben el tono simpático vasopresor en la rata descerebrada y desmedulada. *Arch. Cardiol. Méx.*, vol.79.
- W.Hill, R., A. Wyse, G., y Anderson, M. (2006). *fisiologia animal*. Madrig España: Editorial Medica Panamericana S.A.
- Walther, D. J., Peter, J.-U., Bashammakh, S., Hörtnagl, H., Voits, M., Fink, H., & Bader, M. (2003). Synthesis of Serotonin by a Second Tryptophan Hydroxylase Isoform. *Science*, 299(5603), 76–76. <https://doi.org/10.1126/science.1078197>
- Wang, C., Jiang, Y., Ma, J., Wu, H., Wacker, D., Katritch, V., ... Xu, H. E. (2013). Structural Basis for Molecular Recognition at Serotonin Receptors. *Science*, 340(6132), 610–614. <https://doi.org/10.1126/science.1232807>

- Wein, A. J., Kavoussi, y Novick. (2008). *Campbell-Walsh: urología*. Buenos Aires, Argentina: Editorial medica panamericana.
- Welsh, U. (2010). *Histología*. España: Editorial medica panamericana.
- Winkler, S., Garg, A. K., Mekayarajjananonth, 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.
- Xie, Z., & Askari, A. (2002). Na⁺/K⁺-ATPase as a signal transducer. *European Journal of Biochemistry*, 269(10), 2434–2439. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1033.2002.02910.x>
- 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.
- Zuleta, E. B. (2007). *El sistema nervioso : desde las neuronas hasta el cerebro humano*. Universidad de Antioquia.