

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

**“EFECTO DE LA BUSPIRONA SOBRE LA ACTIVIDAD DE Na^+/K^+ –ATPasa.
EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS CON DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE QUÍMICO
FARMACOBIOLOGO**

PRESENTA:

P.Q.F.B JOSÉ HUMBERTO CANO NAVA.

DIRECTOR DE TESIS:

D.C. ROSALIO MERCADO CAMARGO.

Tesis parcialmente apoyada por CIC-UMSNH
CNPq-1215637-Brasil.

MORELIA, MICHOACÁN,

Octubre del 2022

DEDICATORIA

En primer lugar a Dios, por todas pruebas y al mismo tiempo bendiciones que eh afrontado día con día, por permitirme estar aquí y ahora alcanzando una meta tan importante en mi vida professional y al mismo tiempo personal.

A mis padres Edgar y Rosalba, a quienes amo profundamente y agradezco por ser mi mayor apoyo, mi motor para salir adelante ,y por confiar plenamente en mi , por todo el esfuerzo que han hecho para que yo pueda realizarme como profesionista y como persona , gracias por su amor incondicional asi como por la hermosa familia que me han dado.

A mis abuelos Alfonso, José, Socorro y Teresa les agradezco por su apoyo incondicional que me brindaron para sacar adelante este gran proyecto de vida, no tienen idea de cuanto se los agradezco.

A mi hermana Morelia por su amor, por siempre recordarme la importancia de estar unidos como familia y sobre todo apoyarme en los momentos mas difíciles

A ti Mariana por mi inspiración de todos los días, por compartir esta gran logro conmigo, brindarme tu apoyo incondicional, por darle felicidad a todos mis días, y lo más importante por todo tu amor y palabras de aliento cuando sentía que no podía dandome fuerzas para salir adelante Te amo.

Por ultimo pero no menos importante a mis amigos: Mane, Paco, Mario, Christian, Fernando, Susana, Ale, Gaby, Edson, Alejandro. Por su amistad sincera e incondicional , por hacer los ratos libres en la facultad tan divertidos ,por cada una de nuestras conversaciones tan anemenas y sobre todo gracias por las risas inolvidables y sobre todo por estar ahí también en situaciones difíciles.

Gracias...

AGRADECIMIENTOS

Al laboratorio de Neurociencias de la facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH, donde tuve el honor de realizar mi proyecto de tesis.

A mi asesor de tesis el D.C. Rosalio Mercado Camargo a quien admiro y respeto por su perseverancia, éxito y sobre todo por ser una gran persona. Gracias por la confianza dada para la realización de este proyecto así como su respaldo y dedicación en cada momento.

A la M.C. Claudia Susana Bautista García, por su paciencia para transmitirme sus conocimientos en la materia y por apoyarme en mi trabajo de tesis cada vez que lo necesitaba.

A mis compañeros del laboratorio Edson, Gaby, Omar, Oscar, Beto Ezquivel, Alejandra, por hacerme amenas esas tardes de trabajo en el laboratorio, por su ayuda , conocimientos y su grata compañía.

I. CONTENIDO

DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTOS.....	II
I. CONTENIDO.....	1
I.1. Índice de Figuras.	3
I.2. Índice de Tablas.....	3
II. ABREVIATURAS	4
III. RESUMEN.....	7
IV. ABSTRACT.	8
V. INTRODUCCIÓN.....	9
V.1. Diabetes mellitus.	9
V.1.1 Clasificación de Diabetes Mellitus.....	10
V.1.2 Neuropatía diabética.	13
V.1.3 Efecto de la neuropatía diabética sobre la $\text{Na}^+/\text{k}^+ - \text{ATPasa}$	14
V.1.4 Diabetes Mellitus Experimental (DME).	14
V.2 Sistema Nervioso.	18
V.2.1. Generalidades del sistema nervioso.....	18
V.2.2 Sistema nervioso central.....	19
V.2.3 Sinapsis “Transferencia de información a través del Sistema Nervioso Central.”.	21
V.2.4 Anatomía fisiológica de la sinapsis	22
V.2.5 Neurotransmisores.....	25
V.3 Corteza cerebral.....	27
V.3.1 Capas de la corteza cerebral	28
V.3.2 Localizaciones funcionales de la corteza cerebral.	29
V.4 Sistema serotoninérgico.....	33
V.4.1. Serotonina (5-Hidroxi-triptamina)	33
V.4.2. Síntesis y metabolismo de la 5-HT.	33
V.4.4. Acciones de la 5-HT en los sistemas fisiológicos.	39
V.4.5. Agonistas y Antagonistas de los receptores de 5-HT.	45
V.5. Transporte a través de la membrana.....	48
V.5.1. Transporte iónico	49
V.5.2. Bomba de Sodio y Potasio ($\text{Na}^+ / \text{K}^+ - \text{ATPasa}$)	50

V.5.3. Modulación de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$	53
V.6. Buspirona.....	55
V.6.1. Mecanismo de acción.....	55
V.6.2. Farmacocinética.....	58
V.6.3 Farmacodinamia.	58
V.6.4 Contraindicaciones y precauciones especiales de empleo.....	59
V.6.5. Reacciones adversas asociadas.....	60
V.6.6. Sobredosificación.....	60
V.6.7. Utilización durante el embarazo y la lactancia.	60
V.6.8. Interacciones Farmacológicas con otras sustancias.....	61
V.6.9. Interacciones en pruebas de laboratorio	61
V.6.10. Controles de laboratorio.	61
VI. JUSTIFICACION.....	62
VII. HIPÓTESIS	63
VIII. OBJETIVOS.	64
XII.1. Objetivo general.	64
XII.2. Objetivos específicos.....	64
IX. MATERIALES Y MÉTODOS	65
IX.1. Material biológico.	65
IX.2. Inducción de diabetes mellitus experimental (DME).	66
IX.3. Preparación de los homogeneizados de corteza cerebral.	66
IX.4. Determinación de proteína por el método Lowry.	67
IX.5. Medición de la actividad específica de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$	67
IX.6. Curva de dosis- respuesta a buspirona.....	68
IX.7. Análisis estadístico.	69
X. RESULTADOS.....	70
XI. DISCUSIÓN.....	78
XII. CONCLUSIÓN	82
XIII. PERSPECTIVAS	83
XIV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84

I.1. Índice de Figuras.

FIGURA. 1 CAPTACIÓN SELECTIVA DE STZ POR LAS CÉLULAS BETA DEL PÁNCREAS.....	16
FIGURA. 2 ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA STZ.....	16
FIGURA. 3 DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DEL MECANISMO DE TOXICIDAD DE STZ.	17
FIGURA. 4 SÍNTESIS E INACTIVACIÓN DE LA SEROTONINA.	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
FIGURA. 5 ESQUEMA DE LOS PROCESOS ASOCIADOS CON LA NEUROTRANSMISIÓN SEROTONINÉRGICA.	36
FIGURA. 6 DOS CLASES DE AUTORRECEPTORES DE 5-HT CON UBICACIONES DISTINTAS.....	38
FIGURA. 7 ESQUEMA PARA EL TRANSPORTE ACTIVO DE Na^+ Y K^+ EFECTUADO POR LA $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPASA}$	51
FIGURA. 8 DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DEL CICLO FUNCIONAL DE LA BOMBA DE $\text{Na}^+ \text{--K}^+$	52
FIGURA. 9 ESTRUCTURA QUÍMICA DE CLORHIDRATO DE BUSPIRONA.....	55
FIGURA. 10 MECANISMO DE ACCIÓN DE BUSPIRONA.	56
FIGURA. 11 PESO CORPORAL DE RATAS CONTROL Y DME	70
FIGURA. 12 CONSUMO DE ALIMENTO RATAS CONTROL Y DME.	70
FIGURA. 13 CONSUMO DE SOLUCIÓN DE GLUCOSA AL 10 % RATAS CONTROL Y DME.....	71
FIGURA. 14 CONSUMO DE AGUA EN RATAS CONTROL Y DME.....	71
FIGURA. 15 VALORES DE LÍPIDOS OBTENIDOS EN SUERO DE RATA CONTROL Y DME.....	72
FIGURA. 16 VALORES DE ALBÚMINA OBTENIDOS EN SUERO DE RATA CONTROL Y DME	72
FIGURA. 17 VALORES DE GLUCOSA OBTENIDOS EN SUERO DE RATA CONTROL Y DME.	73
FIGURA. 18 VALORES DE TRIGLICÉRIDOS OBTENIDOS EN SUERO DE RATA CONTROL Y DME... ..	73
FIGURA. 19 VALORES DE COLESTEROL OBTENIDOS EN SUERO DE RATA CONTROL Y DME.	74
FIGURA. 20 VALORES DE LDL OBTENIDOS EN SUERO DE RATA CONTROL Y DME.	74
FIGURA. 21 VALORES DE VLDL OBTENIDOS EN SUERO DE RATA CONTROL Y DME.....	75
FIGURA. 22 VALORES DE HDL OBTENIDOS EN SUERO DE RATA CONTROL Y DME.....	75
FIGURA. 23 ACTIVIDAD BASAL DE LA $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPASA}$ EN HOMOGENEIZADO DE CORTEZA CEREBRAL DE RATAS.	76
FIGURA. 24 CURVA DOSIS RESPUESTA DE LA BUSPIRONA SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPASA}$ EN HOMOGENEIZADO DE CORTEZA CEREBRAL..	77

I.2. Índice de Tablas.

TABLA 1 MOLÉCULAS CON FUNCIONES DE MENSAJEROS QUÍMICOS EN EL SNC	27
TABLA 2 SUBTIPOS DE RECEPTORES SEROTONINÉRGICOS.....	37
TABLA 3 EFECTOS ELECTROFISIOLÓGICOS DE LOS RECEPTORES DE LA 5-HT	42
TABLA 4 ACCIONES DE LA 5-HT EN EL APARATO DIGESTIVO.....	44
TABLA 5 SEROTONINÉRGICOS: PRINCIPALES ACCIONES Y TRASTORNOS CLÍNICOS	45
TABLA 6 COMPARACIÓN ENTRE BENZODIACEPINAS Y BUSPIRONA	59
TABLA 7 REACCIONES ADVERSAS ASOCIADAS AL USO DE BUSPIRONA	60
TABLA 8 INTERACCIÓN DE FÁRMACOS CON BUSPIRONA	61
TABLA 9 ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE ALIMENTO COMERCIAL PURINA CHOW.	65

II. ABREVIATURAS

µg	-	Microgramos
µL	-	Microlitro
5-HIAA	-	5-Ácido hidroxindol acético
5-HT	-	5-Hidroxitriptamina, Serotonina.
5-HTP	-	5-hidroxitriptófano.
8-OH-DPAT	-	8-hidroxi-(2-N, N-dipropilamino)-tetralina
A.E.	-	Actividad específica.
AC	-	Adelinato Ciclasa
AMPc	-	Monofosfato cíclico de Adenosina (AMPc).
ATP	-	Adenosín trifosfato.
BZD	-	Benzodiacepinas
Ca₂⁺⁺	-	Ion Calcio
Cl⁻	-	Ion Cloruro
D.E.	-	Desviación Estándar
DA2	-	Dopamina tipo 2
DAG	-	Diaciglicerol
DM	-	Diabetes Mellitus
DM1	-	Diabetes Mellitus Tipo 1
DM2	-	Diabetes Mellitus Tipo 2
DME	-	Diabetes Mellitus Experimental
DMG	-	Diabetes Mellitus Gestacional
DNA	-	Ácido Desoxirribonucleico
FDA	-	Food and Drug Administration (Admin. de alimentos y fármacos)
g	-	Gramos
GABA	-	Ácido 7-aminobutírico
GK	-	Glucoquinasa

GMPC	-	Monofosfato cíclico de guanosina
GTP	-	Guanosín trifosfato
H⁺	-	Ion Hidrógeno
H₂O	-	Agua
i.p	-	Intra peritoneal
i.v	-	Intra vascular
IP₃	-	Inositol trifosfato
K⁺	-	Ion Potasio
KCl	-	Cloruro de Potasio
LSD	-	Dietilamida del ácido-d-lisérgico
L-Trp	-	L-Triptófano
MAO	-	Monoamino Oxidasa
mCPP	-	m-clorofenilpiperazina
MgCl₂	-	Cloruro de Magnesio
mm	-	Milímetros
mM	-	Milimolar
N	-	Normalidad
Na⁺	-	Ion Sodio
Na⁺/K⁺- ATPasa	-	Sodio, potasio-ATPasa
NaCl	-	Cloruro de Sodio
NAD	-	Neuropatía Autonómica Diabética
NAD⁺	-	Dinucleótido de Nicotinamida y adenina
nm	-	Nanómetros
NPD	-	Neuropatía periférica diabética
O₂⁻	-	Superóxido
O-GlcNAcase	-	Glucocidasa
OH⁻	-	Radical Hidroxilo
ON	-	Óxido Nítrico

ONOO⁻	-	Peroxinitrito
OTDM	-	Otros Tipos de Diabetes Mellitus.
PIP₂	-	Fosfatidilinositol-4, 5-bisfosfato
RNA	-	Ácido ribonucleico
SN	-	Sistema Nervioso
SNA	-	Sistema Nervioso Autónomo.
SNC	-	Sistema Nervioso Central
SNP	-	Sistema Nervioso Periférico
SNV	-	Sistema Nervioso Vegetativo
STZ	-	Estreptozotocina
TAG	-	Trastorno de Ansiedad Generalizada
TEP	-	Estrés postraumático
TPH	-	Triptófano hidroxilasa
Tris-HCl	-	Solución amortiguadora de trizma con ácido clorhídrico
w/v	-	Relación peso/volumen
$\bar{X}$	-	Media aritmética.

III. RESUMEN

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad metabólica crónica, altamente prevalente, con múltiples implicaciones (problemas vasculares, nefropatías, neuropatías y retinopatías). Su etiología radica en que el páncreas no produce insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que se produce. La DM tiene efectos importantes sobre el SNC, mermando grupos neuronales específicos así como el sistema de Neurotransmisión; tal es el caso del sistema serotoninérgico, el cual ejerce acciones centrales y periféricas importantes. La serotonina (5-HT), regula una gran variedad de funciones cerebrales (función cognitiva, apetito, comportamiento sexual, regulación de temperatura, actividad motora, estado de ánimo entre otras). Este neurotransmisor ejerce sus funciones a través de su interacción con diversos receptores conocidos como receptores serotoninérgicos, los cuales se encuentran distribuidos en diversas regiones del cerebro, como el receptor 5-HT_{1A} en la corteza cerebral. La bupiriona es un fármaco que funciona como un agonista parcial del receptor serotoninérgico 5-HT_{1A}, dicho fármaco es empleado para tratar casos de ansiedad, depresión entre otras alteraciones cerebrales, gracias a su efecto sedante y su capacidad de no crear farmacodependencia en los pacientes que consumen este fármaco. Se ha propuesto que la serotonina incrementa la actividad de la bomba de sodio y potasio, la cual es la enzima responsable de mantener el gradiente iónico, regular el volumen celular y la estabilidad iónica neuronal. Estudios realizados recientemente en ratas con DME describen que la actividad de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ disminuye tanto a nivel central como periférico. No se conoce si la administración del bupiriona incrementa la actividad de la bomba de sodio y potasio en la corteza cerebral de ratas con DM, por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar si la bupiriona modifica la actividad de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ en ratas con DME. Los resultados muestran un incremento de la actividad de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ en ratas con DME por la bupiriona aunque no alcanza los valores observados en las ratas control. Estos resultados sugieren que la activación del receptor 5-HT_{1A} está presente en ratas con DME pero el sistema de regulación de la actividad de la enzima esta disminuido quizás por la misma patología.

Palabras clave: Agonista, Regulación, sistema nervioso central.

IV. ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a highly prevalent, chronic metabolic disease with multiple implications (vascular problems, kidney disease, neuropathy and retinopathy), which have different risk factors and complications for the patient because the pancreas does not produce enough insulin or when the body does not effectively use the insulin it produces. The DM has significant adverse effects on the CNS, affecting specific neuronal groups and neurotransmission systems; such is the case the serotonergic system, which has an important central and peripherally actions. Serotonin (5-HT) regulates many of the brain functions (cognitive function, appetite, sexual behavior, temperature regulation, motor activity, mood, etc.). This neurotransmitter regulates different functions through its interaction with various serotonergic receptors, which are distributed in various brain regions such as 5-HT_{1A} receptor in the cerebral cortex. Buspirone is a drug that acts as a partial agonist of serotonin 5-HT_{1A} receptor and it is used to treat cases of anxiety, depression among others central disturbs, due to its characteristics of not creating drug and sedative effects in patients taking this drug is broadly employed. On the other hand, we know that 5-HT regulates the activity of the sodium and potassium pump in the nervous system, Sodium pump is an enzyme responsible for maintaining the ion gradient, maintain cell volume, regulation and ionic neuronal stability. Recent studies in rats with DME describe that the activity of the $\text{Na}^+ / \text{K}^+ - \text{ATPase}$ decreases centrally and peripherally, It is unknown if buspirona could increase the activity of the sodium pump in the cerebral cortex of rats with experimental diabetes mellitus, so the aim of the present study was to determine if buspirona could increase the activity of the $\text{Na}^+ / \text{K}^+ - \text{ATPase}$ in rats with DME. The results show an increase in activity of $\text{Na}^+ / \text{K}^+ - \text{ATPase}$ in rats with DME with buspirone although it does not reach the increase observed in control rats. These results suggest that activation of 5-HT_{1A} receptor is present in rats with DME but the system regulation of enzyme activity is decreased perhaps for the pathology itself.

Keywords: Agonist, regulation, central nervous system

V. INTRODUCCIÓN

V.1. Diabetes mellitus.

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica, altamente prevalente y con múltiples implicaciones, factores de riesgo y complicaciones que aparece cuando el páncreas no produce insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce.

En México se estima que 6.4 millones de personas sufren diabetes mellitus, mientras que en el mundo hay cerca de 346 millones de enfermos y sigue en aumento (Gutiérrez, y otros, 2015).

En 2014, el 9% de los adultos (18 años o mayores) presentaron diabetes. En 2012 fallecieron 1,5 millones de personas como consecuencia directa de la diabetes. Más del 80% de las muertes por diabetes se registra en países de ingresos bajos y medios.

La dieta saludable, la actividad física regular, el mantenimiento de un peso corporal normal y la evitación del consumo de tabaco pueden prevenir la diabetes de tipo 2 o retrasar su aparición. (OMS, ORGANIZACION MUNDIAL DE SALUD., 2015)

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad metabólica en la que destacan complicaciones como la hiperglucemia (aumento del azúcar en la sangre, en la que no se absorbe ni utiliza la glucosa de modo eficiente), por una inadecuada secreción de insulina por las células β del páncreas o la o el mal funcionamiento de esta hormona en tejidos del organismo que con el tiempo daña gravemente muchos órganos y sistemas, especialmente los nervios y los vasos sanguíneos, causando problemas cardiovasculares como lo son ; nefropatías, retinopatías y neuropatías. Los síntomas más comunes de la hiperglucemia incluyen, pérdida de peso, visión borrosa, poliuria, polifagia, polidipsia y la susceptibilidad a ciertas infecciones. (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2018)

V.1.1 Clasificación de Diabetes Mellitus.

La asignación de un tipo de diabetes (DM) a un individuo a menudo depende de las circunstancias presentes en el momento del diagnóstico, y a muchas personas con diabetes no fácilmente se les diagnostica de forma correcta. Por ejemplo, una persona diagnosticada con diabetes mellitus gestacional (DMG) puede seguir siendo hiperglucémico después del parto y puede ser que no haya sido diagnosticado correctamente por lo que la paciente presentaba tiempo atrás, la diabetes mellitus tipo 2 (DM2).

La investigación tanto clínica como epidemiológica busca una clasificación correcta de la DM que permita llevar a un diagnóstico y un correcto tratamiento de la enfermedad. La siguiente clasificación fue propuesta por los expertos de la asociación americana de diabetes:

- 1. DIABETES MELLITUS TIPO 1 (DM1):** La “diabetes auto inmune” implica una destrucción de células β , por lo general conduce a una absoluta deficiencia de insulina.

Esta forma de diabetes se representa sólo del 5 -10% de las personas con diabetes, es conocida comúnmente con los sinónimos, insulina dependiente, diabetes dependiente o diabetes juvenil, resulta de una destrucción autoinmune de las células β del páncreas. La principal función de las células beta β es la producción, almacenamiento y secreción regulada de la hormona insulina.

En este tipo de diabetes, la tasa de destrucción de las células β es muy variable, siendo rápido en algunas personas (en su mayoría lactantes y niños) y lento en otros (principalmente adultos). Algunos pacientes, especialmente los niños y adolescentes pueden presentar cetoacidosis como la primera manifestación de la enfermedad. Otros tienen modesta hiperglucemia en ayunas que puede cambiar rápidamente a la hipoglucemia y / o a cetoacidosis grave en la presencia de infección o estrés.

Aunque los pacientes rara vez son obesos cuando se presentan con este tipo de diabetes, la presencia de la obesidad no es incompatible con el diagnóstico. Estos pacientes también son propensos a otras enfermedades autoinmunes graves tales como: tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Addison, vitíligo, enfermedad celíaca, hepatitis autoinmune. La destrucción

autoinmune de las células β tiene diversos factores de predisposición genética y también se relaciona con factores ambientales poco definidos.

Diabetes Mellitus 1 Idiopática (DM1I). Estos presentan formas de la DM1 y no tienen etiologías conocidas. Algunos de estos pacientes tienen insulino dependencia permanente y son propensos a la cetoacidosis, pero no tienen evidencia de autoinmunidad. Las personas con esta forma de diabetes sufren de episodios de cetoacidosis y presentan diversos grados de deficiencia de insulina entre los episodios. Esta forma de diabetes es fuertemente heredada, carece de evidencia inmunológica para la autoinmunidad de células β (ADA, 2018).

2. DIABETES MELLITUS TIPO 2 (DM2). Se caracteriza por una predominante resistencia a la insulina o deficiencia relativa de insulina, hasta un defecto secretor de la insulina con resistencia.

Esta forma de diabetes se presenta en un 90-95% de las personas diabéticas, la diabetes tipo 2, o diabetes del adulto, abarca a las personas que tienen resistencia a la insulina y por lo general tienen relativa (no absoluta) deficiencia de insulina al menos inicialmente, y con frecuencia a lo largo de su vida útil, estos individuos no necesitan de un tratamiento de insulina para sobrevivir, dado que no se presentan lesiones autoinmunes del páncreas.

La cetoacidosis en este tipo de pacientes se produce de forma espontánea, asociándose a una enfermedad o un cuadro de estrés. Se produce con mayor frecuencia en las mujeres con DMG previa y en individuos con hipertensión o dislipidemia. Esta forma de diabetes con frecuencia no se diagnostica durante muchos años debido a que la hiperglucemia se desarrolla gradualmente y en etapas más tempranas a menudo no es lo suficientemente grave como para que el paciente nota cualquiera de los síntomas clásicos de la diabetes. Sin embargo, estos pacientes tienen un mayor riesgo de desarrollar complicaciones microvasculares y macrovasculares dado que la secreción de glucosa no es la óptima para el organismo por lo que no alcanza a compensarse la resistencia a la insulina. El riesgo de desarrollar resistencia de insulina en este tipo de diabetes aumenta con la edad, la obesidad y la falta de actividad física y su frecuencia varía en diferentes subgrupos raciales o étnicos. Sin embargo, la genética de esta forma de diabetes es compleja y no completamente definida. (ADA, 2018).

- 3. Diabetes Mellitus Gestacional (DMG).** La hiperglucemia (aumento del azúcar en la sangre) que aparece durante el embarazo y alcanza valores que, pese a ser superiores a los normales, son inferiores a los establecidos para diagnosticar una diabetes. (OMS, Organización Mundial de Salud, 2015).

Las mujeres con DMG incrementan los niveles de glucosa, esto se produce solo durante el embarazo y generalmente alrededor de la 24ª semana. La hiperglucemia que se presenta en estas pacientes aumenta el riesgo de sufrir complicaciones perinatales adversas, durante el embarazo, el parto, y de padecer diabetes de tipo 2 en el futuro.

La DMG presenta trastornos para la madre (sobrepeso, colesterol alto, infecciones vaginales, infecciones de vías urinarias, hipertensión, parto prematuro el cual la mayoría de las veces se hace por cesárea) y daños graves al bebé (macrosomía, por lo que se sugiere hacer cesárea para evitar lesiones al momento de pasar por el canal del parto, muerte fetal, y una gran disposición a la DM2) (ADA, 2018).

- 4. Otros Tipos de Diabetes Mellitus.** Comprenden un grupo pequeño y diverso, abarcando casos de diabetes en los cuales su etiología se conoce parcialmente o su patogénesis no está bien definida. Estas formas de diabetes se caracterizan frecuentemente por la aparición de hiperglucemia en una edad temprana (generalmente antes de los 25 años).

Entre las causas asociadas a la aparición de diabetes se encuentran: mutaciones genéticas (principalmente mutaciones en el gen de la glucoquinasa (GK) en el cromosoma 7p y resultados en una molécula de GK defectuoso), endocrinopatías, presencia de agentes químicos, actividad de algunos fármacos. Las enfermedades causantes de un fallo pancreático son de carácter pediátrico, tienen mutaciones en el gen receptor de insulina con alteraciones posteriores en la función del receptor de insulina y resistencia extrema a la insulina; algunas de ellas son: a) Síndrome de Leprechaunismo (tiene rasgos faciales característicos y suele ser mortal en la infancia) b) Síndrome de Rabson Mendenhall (relacionado con anomalías de los dientes y las uñas y la hiperplasia de la glándula pineal), proliferación y funcionalidad de las células β pancreáticas, infecciones, intoxicaciones. (ADA, 2018).

V.1.2 Neuropatía diabética.

La neuropatía diabética es una complicación de la DM común a largo plazo, afectando hasta el 50% de las personas que la padecen, pueden ser de carácter focal presentando diversas manifestaciones clínicas (Boulton, 2005).

Las neuropatías desarrolladas en pacientes con DM, son conocidas por una gran cantidad de síntomas y patrones de afectación neurológica, Por supuesto, las incontables variables de riesgo, alteraciones patológicas y los mecanismos subyacentes (Tesfaye, 2010)

La diabetes es una de las principales causas de la neuropatía periférica, autonómica:

1. **Neuropatía periférica diabética (NPD)** El tipo más común de neuropatía diabética, causa dolor o pérdida de sensación en los dedos del pie, en los pies, las piernas, las manos y los brazos, se conoce con el nombre de neuropatía periférica, también llamada neuropatía simétrica distal o neuropatía sensorio motriz es una enfermedad crónica, el grado de daño es dependiente de la longitud de la polineuropatía sensitiva y motora ,su desarrollo se asocia con largos periodos de hiperglucemia lo que desencadena riesgos cardiovasculares y trastornos metabólicos importantes como estrés oxidativo, alteración de lípidos, estrés oxidativo, etc. (Dyck, 1993).

El dolor neuropático y disfunción anatómica se desarrolla conforme avanza el cuadro de DM produciendo alteraciones en la microcirculación, y nervios entre los que destacan: {adormecimiento o insensibilidad al dolor o a la temperatura, una sensación de hormigueo, quemazón o picazón, dolores o calambres agudos, sensibilidad extrema al tacto, inclusive el tacto leve, pérdida de equilibrio y coordinación}. Estos síntomas a menudo son peores por las noches. La neuropatía periférica también puede causar debilidad muscular y pérdida de reflejos, sobre todo en el tobillo, produciendo cambios en el modo en que una persona camina. Pueden presentarse deformidades del pie, tales como los dedos en martillo y el colapso de la porción media del pie. Pueden aparecer erupciones y ampollas en las áreas adormecidas del pie debido a la presión o a las lesiones que pasan desapercibidas. Si las lesiones del pie no se tratan con prontitud, la infección puede propagarse al hueso, y se podría tener que amputar el pie, es probable que sus pies y piernas se vean afectados antes que sus manos y brazos. Esta polineuropatía se cree que se estabiliza con un control glucémico riguroso (Health, 2011).

- **Neuropatía Autonómica Diabética (NAD).** Es un trastorno del Sistema Nervioso Autónomo (SNA) en presencia de diabetes o trastornos metabólicos. DAN puede afectar los sistemas : Cardiovascular por los cambios de presión arterial, obesidad que fomenta el aumento de colesterol y triglicéridos, el 50% de los pacientes diabéticos con larga duración de la enfermedad tienen síntomas gastrointestinales, dado que la hiperglucemia aguda demora el vaciado gástrico, incluyendo plenitud postprandial, náuseas, vómitos, hinchazón, saciedad temprana y dolor abdominal (Brock , 2013)., trastornar funciones pseudomotoras, las cuales inervan a las glándulas sudoríparas asociándose con la resequedad de la piel en las personas con DM que al no presentar los cuidados necesarios se presenta la ulceración del pie (Marinou, 2009) y los sistemas urogenitales generando incontinencia urinaria severa , nefropatías causando disfunción eréctil, glucosilación de las fibras elásticas, función endotelial (Kempler, 2009), no acción de algunos medicamentos, cambios hormonales, trastornos psicológicos, lo que lleva a una reducción significativa en la calidad de vida y la presentación de una carga socioeconómica grave (Brock, 2013).

V.1.3 Efecto de la neuropatía diabética sobre la $\text{Na}^+/\text{k}^+ \text{--ATPasa}$.

La neuropatía diabética está asociada con la reducción de la velocidad de conducción nerviosa y la disminución en la actividad de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$. El descenso está implicado en las complicaciones de la patogénesis y anomalías electrofisiológicas características de la neuropatía en diferentes modelos animales y en humanos.

La actividad de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ esta disminuida en la membrana celular de muchos tejidos de animales diabéticos y este efecto tiene un papel importante en el desarrollo de las complicaciones de la DM (Racah, 2004).

V.1.4 Diabetes Mellitus Experimental (DME).

Al ser la DM una patología de importancia desde el punto de vista clínico y de investigación básica, se han desarrollado diversos modelos experimentales para poder estudiar los eventos involucrados en esta, la cual nos permite llevar a cabo investigación cuyos resultados conducen al desarrollo de técnicas para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de las complicaciones del síndrome, ayudando a comprender los factores hereditarios y ambientales que desencadenan la formación de esta patología, y así mismo lograr un control más oportuno.

La inducción de la diabetes se ha logrado por medio de diversas técnicas experimentales. En 1889, von Mering y Minkowski produjeron por primera vez diabetes mellitus experimental (DME) en perros mediante la remoción quirúrgica del páncreas (Houssay, 1960).

Otras técnicas empleadas son las siguientes:

1. Inducción química

El uso de agentes químicos para producir diabetes, permite realizar estudios detallados de los eventos bioquímicos y morfológicos que ocurren durante y después de la inducción de un estado diabético. Existen varias clases de agentes químicos.

- Los primeros son sustancias con citotoxicidad específica que destruyen a las células β del páncreas y causan un estado de deficiencia primaria de insulina.
- El segundo grupo lo constituyen agentes que actúan sobre las células β pero no las destruyen.
- Una tercera clase incrementa los requerimientos endógenos de insulina, debilitan al páncreas y como consecuencia se produce la diabetes.

Los agentes más utilizados son la aloxana y la estreptozotocina. Estos compuestos en dosis diabetogénicas actúan específicamente sobre las células beta. Se ha definido como dosis diabetogénica a la cantidad de agente inductor que en un 80% de los animales de una especie dada, produce hiperglucemia sostenida, necrosis de las células β del islote pancreático y que no causa daño en otros órganos.

Aunque desde hace muchos años se conoce la actividad diabetogénica de la aloxana, el mecanismo de acción es aún desconocido. Algunas evidencias indican que su efecto es mediado por una interacción a nivel de membrana en la célula β (Gabriel, R.R., 2008). En relación con la estreptozotocina (STZ), la hiperglucemia es inducida de forma irreversible al producir daño irreversible a las células β -pancreáticas, la acción citotóxica de esta es mediada por especies reactivas de oxígeno (Fig. 1, Gabriel, 2008)

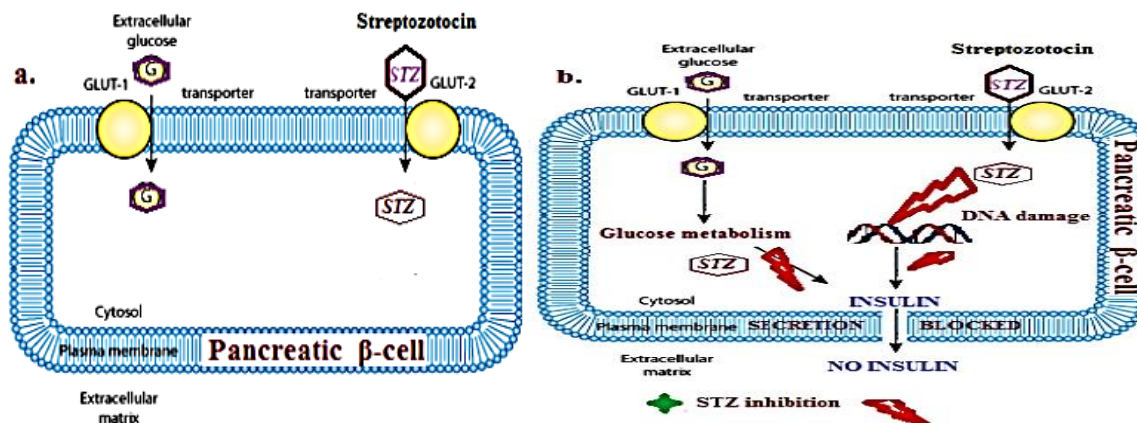


Figura 1. Captación selectiva de STZ por las células beta del páncreas. a) Modelo de STZ y la captación de glucosa por las células β del páncreas a través de transportadores selectivos. b) La inhibición de metabolismo de la glucosa y la inhibición de la secreción de insulina por STZ en las células beta del páncreas. Marcas rojas representan la inactivación de los pasos metabólicos de la producción de insulina por STZ (tomada de Busineni, and Jayasimha, 2015).

La STZ (2-deoxy-2-[3-(methyl-1-3-nitrosoureido)-D-glucopiranososa, Fig. 2) se sintetiza por el *Streptomyces achromogenes* y se utiliza para inducir la diabetes mellitus tipo 1 (insulinodependiente-1DDM), así como la tipo 2 (no insulinodependiente-NIDDM), según el momento de la inyección, la dosis empleada o su frecuencia de inyección. Una dosis i.v. de STZ (49 a 60 mg/kg) en ratas adultas puede inducir diabetes tipo 1, pero es posible utilizar dosis mayores. La STZ también se puede administrar por vía i.p. en una dosis similar o mayor cuando se inyectan 50 mg/kg de STZ por vía i.v. en ratas, 2 semanas después, la glucosa sanguínea alcanza valores de 15mmol/L, y podemos considerar entonces, que la rata presenta diabetes. La STZ altera primero la oxidación de la glucosa para ser captada por las células, para después disminuir la biosíntesis y secreción de insulina. (Busineni and Jayasimha, 2015).

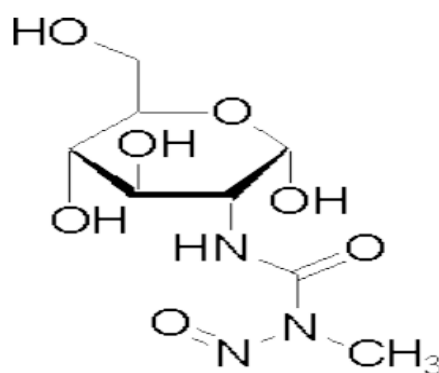


Figura 2. Estructura química de la STZ. (2-deoxy-2-[3-(methyl-1-3-nitrosoureido)-D-glucopiranososa] (ALDRICH, Streptocin, 2016).

Mecanismo de acción: La estreptozotocina entra a la célula β por el transportador GLUT 2 y causa alquilación del DNA, y ATP. Se observó en experimentos que también el Óxido Nítrico (ON) contribuye a la destrucción de la célula β del páncreas, así como especies reactivas de oxígeno que contribuyen a la fragmentación del DNA y evocan a otros cambios deletéreos en las células. La formación de aniones superóxido resultan de la acción de la STZ sobre la mitocondria y el aumento de la actividad de la xantina oxidasa, se ha demostrado que la STZ inhibe el ciclo de Krebs y disminuye el consumo de oxígeno de la mitocondria provocando disminución del ATP. El daño al DNA por la STZ induce la activación de poliribolisación del ADP que lleva a la depleción de NAD^+ y ATP (Fig. 3, Szkudelski, 2001)

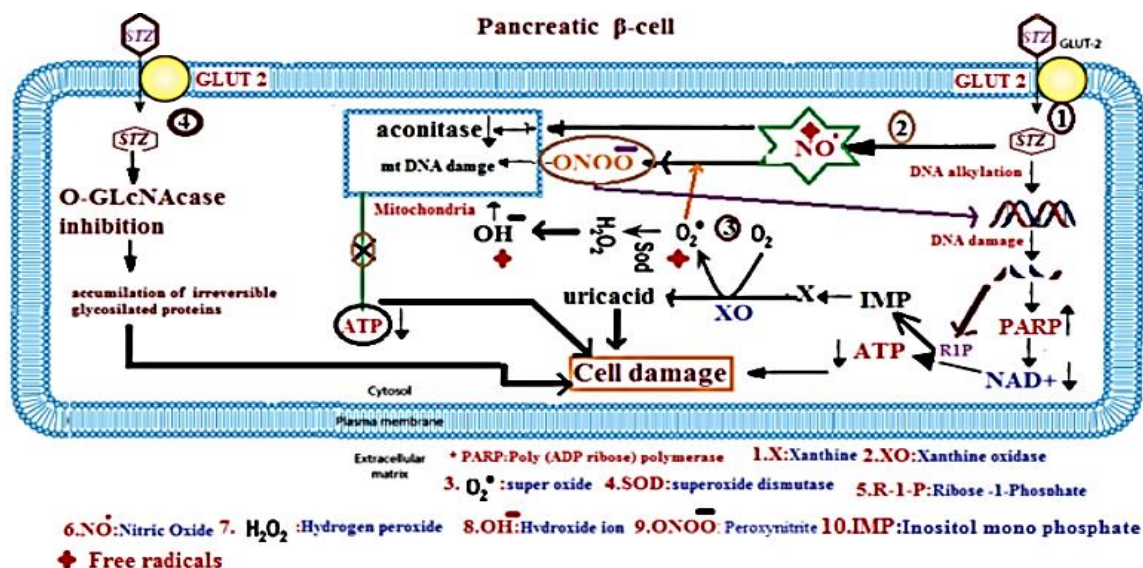


Figura 3. **Diagrama esquemático del mecanismo de toxicidad de STZ.** 1) alquilación del ADN por STZ causando daños en el ADN, la activación de PARP, lo que lleva al agotamiento de NAD^+ y las reservas de ATP que produce muerte celular 2) La liberación espontánea de NO por STZ, el deterioro de las mitocondrias por el NO, inhibición de la síntesis ATP en última instancia conduce a muerte de las células beta. 3) Generación de radicales libres como el superóxido (O_2^-), hidróxido de hidrógeno (OH^-), el peroxinitrito (ONOO^-), causando daño de las células beta. 4) La inhibición de la O-GlcNAcase (glucosidasa), por STZ, la formación de proteínas glicosiladas irreversibles que dañan las células beta pancreática. (Busineni and Jayasimha, 2015).

En general, los síndromes hiperglucémicos en roedores de laboratorio pueden ser subdivididos en tres grupos.

1. La obesidad es la característica predominante y la hiperglucemia severa no se presenta.
2. La obesidad y la hiperglucemia se encuentran frecuentemente asociadas; sin embargo, no se observa deficiencia de insulina, a pesar de la pérdida de peso y la cetoacidosis.

3. Comprende a los animales en los que presenta la diabetes con una evidente deficiencia de insulina, aunque no padecen cetoacidosis.

La rata de la cepa Wistar desarrolla un síndrome agudo de hiperglucemia (niveles de 250-750 mg/dl), hipoinsulinemia (<1 mg/ml) y cetoacidosis; en otro 30%, se presenta intolerancia a la glucosa sin progresión a cetosis. En animales muy jóvenes o muy viejos de esta cepa, rara vez se desarrolla el síndrome de la diabetes.

Esta enfermedad afecta con igual frecuencia a ambos sexos y su incidencia se ve incrementada con la consanguinidad. El cuadro agudo es metabólicamente similar al observado en seres humanos con diabetes juvenil temprana. Dicho roedor muestra una insulinitis pancreática intensa, siendo la glucosuria la primera manifestación clínica.

Se menciona que la estreptozotocina induce neoplasias renales y extra renales en ratas que han recibido una sola dosis y que han permanecido bajo observación de 8 a 16 meses después de la inyección. Otras alteraciones pueden presentarse a nivel del metabolismo del glucógeno en el riñón (Gabriel, 2008)

V.2 Sistema Nervioso.

V.2.1. Generalidades del sistema nervioso.

El sistema nervioso (SN) nos hace ser lo que somos. Nuestra personalidad, actitud, inteligencia, coordinación (o falta de ella) y muchas otras características son el resultado de complejas interacciones que tienen lugar en el sistema nervioso. Desde el entorno se recibe información y se transmite hacia el encéfalo o la médula espinal. Una vez esta información sensitiva es procesada e integrada se inicia la respuesta motora adecuada. El SN puede considerarse como una escala de niveles estructurales de complejidad creciente. A nivel microscópico, su unidad estructural y funcional es la neurona, o célula nerviosa (Haines et al., 2014).

Esta se divide en dos clases principales:

- a) Neuronas,: unidad morfo funcional del tejido, nervioso, estas almacenan, reciben y transmiten información.
- b) Células gliales,: mantienen una estrecha relación con las neuronas, produciendo mielina y manteniendo la función de soporte de la neurona, se encuentran localizadas en todos los sectores del tejido nervioso, siendo las más abundantes (Schwartz, 2002).

En el otro extremo de la escala, en el nivel macroscópico, se encuentran las grandes divisiones (o partes) del sistema nervioso que pueden ser manipuladas y

estudiadas sin necesidad de aplicar aumentos. Estos dos extremos no son independientes, sino que forman un continuo; las neuronas relacionadas funcionalmente se agrupan para formar pequeñas estructuras que a su vez se combinan entre sí para formar estructuras mayores. Formando fibras en el sistema nervioso (SN) las cuales corresponden a una extensión de células gliales y neuronas, formando una compleja interacción entre ellas, regulan actividades propias, y de otros sistemas de una forma organizada y dinámica, debido a la neurotransmisión química celular que en ellas ocurre (Brunton, 2012). La comunicación en el sistema nervioso se produce a muchos niveles diferentes, dando lugar a una amplia gama de actividades nerviosas productivas o de soporte vital.

El sistema nervioso humano se divide en sistema nervioso central (SNC) y sistema nervioso periférico (SNP). El SNC está constituido por el encéfalo y la médula espinal. Debido a su localización en el interior del cráneo y de la columna vertebral, estas estructuras son las más protegidas del cuerpo. El SNP se compone de nervios que conectan el encéfalo y la médula espinal con estructuras periféricas. Estos nervios inervan el músculo (esquelético, cardíaco, liso) y los epitelios glandulares, y contienen una gran variedad de fibras sensitivas.

El sistema nervioso vegetativo (visceromotor) es una división funcional del sistema nervioso que tiene componentes tanto en el SNC como en el SNP. Está constituido por aquellas neuronas que inervan el músculo liso, el músculo cardíaco, el epitelio glandular o una combinación de estos tejidos, regula respuestas motoras independientes del control consciente (Haines et al., 2014)

V.2.2 Sistema nervioso central.

El sistema nervioso, en comparación con otros órganos, es el máximo consumidor de oxígeno y glucosa esto se debe al constante cambio especial en determinados niveles de actividad sináptica. Estas necesidades energéticas surgen directamente de las demandas metabólicas de las células, que tienen una gran superficie y concentran biomoléculas e iones en contra de un gradiente de energía. (Haines et al., 2014)

El número de células en el sistema nervioso central (SNC) del ser humano adulto se estima en 100.000 millones. Todas ellas proceden de una población relativamente pequeña de precursores, que dan lugar a la diversidad de tipos de células que se aprecian en el adulto. Su clasificación más básica distingue entre neuronas y glía (células gliales). Las neuronas, son las unidades básicas estructurales y funcionales del sistema nervioso, están especializadas en recibir información, transmitir impulsos eléctricos e influir en otras neuronas o tejidos efectores. En muchas regiones del sistema nervioso las neuronas presentan edificaciones estructurales para realizar funciones específicas. El sistema nervioso

recibe un alto grado de vascularización del tejido, el cual recibe un 10% de sangre bombeada por el corazón, los requerimientos de energía del cerebro corresponden a 2% del total (Magistratti, 2006).

Los impulsos eléctricos que reciben las neuronas se dividen en señales aferentes y eferentes. 1) Señal Aferente: llega a la neurona a través de la sinapsis que establecen, en su mayoría las dendritas, y algunas por el cuerpo celular. 2). Señal Eferente: transmitida por el único axón de la neurona, este axón contiene muchas ramas separadas destinadas a otros sitios del cuerpo o SNC.

El SNC está constituido por 10 veces más células gliales que neuronas. La glía agrupa tres familias principales de células por sus características fisiológicas y moleculares: Los astrocitos, la microglia y la oligodendroglia. Los cuales presentan diversas funciones: dar soporte y constancia al cerebro con aislamiento a ciertos grupos y estructuras neuronales; mantiene un balance metabólico, endocrino e inmunológico; y dirigir durante el desarrollo, la migración neuronal y la inserción de axones a sitios específicos. Las células gliales también captan y retiran los neurotransmisores liberados en la sinapsis durante la transmisión de impulsos nerviosos, mantiene la concentración iónica del líquido extracelular, y envuelve los axones, mediante la producción de vainas de mielina para favorecer la conducción de señales nerviosas (Kandel, 2001).

Los mecanismos celulares básicos de la unión entre la actividad neuronal y el metabolismo, se han comenzado a esclarecer donde se han identificado un papel clave de los astrocitos en el acoplamiento de la actividad sináptica a la utilización de glucosa a través de los mecanismos moleculares que implican la intervención secuencial de los transportadores de glutamato y de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$, la activación de la glucólisis y su mediación del intercambio de lactato con las neuronas. El mecanismo básico de acoplamiento neurometabólico en astrocitos es estimulada por el glutamato promoviendo la glucólisis aeróbica, de tal manera que la entrada de Na^+ en la recaptación de glutamato y la activación subsiguiente de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ provoca la absorción de glucosa y su tratamiento glicolítico lo que resulta en la liberación de lactato. El lactato puede contribuir al sistema de alimentación dependiente de la actividad neuronal con demandas de energía asociadas con la transmisión sináptica (Magistratti, 1999).

El sistema nervioso central (SNC) está constituido por:

1. **Medula espinal:** Parte más caudal del SNC, recibe y procesa la información sensitiva de la piel, las articulaciones y los músculos de las extremidades y el tronco, controla a su vez el movimiento de estas mismas. Se subdivide en las regiones cervical, dorsal, lumbar y sacra. La médula espinal se continua hacia arriba con el tronco encefálico, compuesto del bulbo raquídeo, la protuberancia y el mesencéfalo. El tronco del encéfalo recibe información sensitiva de la piel y los músculos de la cabeza. También transmite información de la médula espinal al encéfalo y de éste a la medula espinal, regulando el grado de la vigilia y de

conciencia, a través de la formación reticular. El tronco del encéfalo consta de varios grupos de cuerpos celulares, los núcleos pares craneales. Algunos de estos núcleos reciben información de la piel y los músculos de la cabeza; otros controlan el movimiento de los músculos de la cara, el cuello y los ojos. Aún otros están especializados en la información de los sentidos especiales: oído, equilibrio y tacto.

2. **Bulbo raquídeo:** Situado directamente por encima de la médula espinal, contiene varios centros responsables de las funciones autónomas vitales, como la digestión, la respiración y el control de frecuencia cardíaca.
3. **Protuberancia:** Situada por encima del bulbo, transmite información sobre el movimiento del hemisferio cerebral al cerebro.
4. **Cerebelo:** Está situado detrás de la protuberancia y se encuentra conectado con el tronco del encéfalo a través de varios haces de fibras importantes llamados pedúnculos. El cerebelo regula la fuerza y la amplitud de los movimientos y participa en el aprendizaje de las capacidades motoras.
5. **Mesencéfalo:** Situado por encima de la protuberancia, controla muchas funciones sensitivas y motoras, como los movimientos oculares y la coordinación de los reflejos visuales y auditivos.
6. **Diencéfalo:** Situado por encima del mesencéfalo y contiene dos estructuras. Una de ellas, el tálamo, procesa la información que alcanza la corteza cerebral procedente del resto del sistema nervioso central. La otra, el Hipotálamo, regula la función autónoma, endocrina y visceral.
7. **Los hemisferios cerebrales:** Consiste en una capa externa muy plegada "corteza cerebral", y tres estructuras situadas en la profundidad: los ganglios basales, el hipocampo y los núcleos amigdalinos. Los ganglios basales participan en la regulación de la realización de los movimientos; el hipocampo está involucrado en aspectos del almacenamiento de los recuerdos; y los núcleos amigdalinos coordinan las respuestas autónomas y endocrinas de los estados emocionales. La corteza cerebral se divide en cuatro lóbulos: frontal, parietal, temporal y occipital (Kandel, 2001).

V.2.3 Sinapsis "Transferencia de información a través del Sistema Nervioso Central."

Las neuronas recogen, transforman y transmiten la información. La recogida de información por parte de las células nerviosas se produce cuando la neurona recibe entradas de otras neuronas o directamente del entorno. La información sensitiva entra en el sistema nervioso por la segunda de estas dos vías (Naftel, 2014).

La sinapsis es la zona donde la prolongación de una neurona (generalmente un terminal axónico) se comunica con una segunda neurona o con una célula efectora (glandular o muscular). En general, existen dos amplias categorías morfológicas de sinapsis:

- **Químicas:** En ellas la primera neurona secreta en la sinapsis una sustancia química llamada neurotransmisor; este a su vez, actúa sobre las proteínas receptoras de la membrana de la neurona siguiente para excitarla, modificar su sensibilidad o inhibirla, se cree que esta transmisión de información es unidireccional lo que hace un rasgo sumamente importante dada su practicidad las hace idóneas para efectuar la transmisión de señales del SNC. (Naftel, 2014).
El mecanismo de transporte de información química es el siguiente: La neurona secreta la sustancia transmisora (neurona presináptica) a la neurona sobre la cual actuara el transmisor (neurona postsináptica) permite que las señales se dirijan a objetivos específicos de áreas diferenciadas en el SNC y hacia terminales de nervios periféricos. La inmensa mayoría de las sinapsis en el SNC de mamíferos son de tipo químico.
- **Eléctricas o electrotonicas:** Son canales directos que transmiten impulso eléctrico de una célula a la siguiente, a través de una comunicación bidireccional (Kandel, 2001).

V.2.4 Anatomía fisiológica de la sinapsis.

Las células nerviosas (neuronas) controlan la información, lo que implica cambios en las propiedades bioeléctricas o bioquímicas de la célula, cada neurona 1) recibe información tanto del entorno como de otras células nerviosas, 2) procesa la información y 3) envía información a otras neuronas o a tejidos efectores. Las neuronas recogen, transforman y transmiten la información. La recogida de información por parte de las células nerviosas se produce cuando la neurona recibe entradas de otras neuronas o directamente del entorno. La información sensitiva entra en el sistema nervioso por la segunda de estas dos vías.

La neurona arquetípica está limitada por una membrana plasmática continua constituida por un cuerpo celular, o soma (contiene el núcleo rodeado por una masa de citoplasma que incluye los orgánulos necesarios para la síntesis de proteínas y el mantenimiento del metabolismo), del que surgen las dendritas (se ramifican de forma extensa en las proximidades del soma Reciben señales procedentes de otras neuronas a través de contactos (sinapsis) realizados sobre su superficie o desde el entorno a través de receptores especializados) y un axón (se comunica con una segunda neurona, o con un tejido efector; Naftel, 2014). La superficie de una neurona motora cuenta de aproximadamente 200,000 terminales presinápticas; de las cuales aproximadamente del 80-95% se encuentran en las dendritas y solo 5-20% están en el soma (Guyton, 2001).

La mayoría de las terminales presinápticas terminan en las dendritas postsinápticas, pero las terminales pueden acabar sobre el cuerpo celular, menos

a menudo, al principio o al final del axón de la célula receptora; las terminales presinápticas están separadas del soma de la neurona de 10-30 nm. La terminal posee dos estructuras importantes relacionadas con la función excitadora o inhibitoria de la sinapsis: las vesículas que contienen el neurotransmisor y, las vesículas que proporcionan el Adenosín Trifosfato (ATP), que aporta la energía necesaria para la síntesis de nuevas cantidades de sustancias transmisoras.

Cuando la terminal presináptica sufre un potencial de acción sufre una despolarización de la membrana la cual determina el vaciamiento de un pequeño número de vesículas dentro de la hendidura, una vez realizada esta acción el transmisor liberado induce un cambio inmediato de las propiedades de permeabilidad de la membrana neuronal postsináptica, lo que origina un estado de excitación o inhibición neuronal, dependiendo de la característica del receptor neuronal (Kandel, 2001).

SINAPSIS QUÍMICA:

En la sinapsis química, no hay continuidad entre las neuronas, la transmisión de información se produce cuando la neurona presináptica libera una sustancia química o neurotransmisor, que se une a receptores localizados en la membrana postsináptica. La unión neurotransmisor-receptor desencadena cambios en la permeabilidad de la membrana que producirán un potencial graduado, el potencial postsináptico o, sencillamente, el potencial sináptico (Noriega-Borgé, 2014).

En la sinapsis, la membrana de la neurona postsináptica contiene diversas proteínas receptoras. Las moléculas de estos receptores presentan dos componentes importantes: un componente de fijación que sobresale fuera de la membrana y asoma la hendidura sináptica, y un componente ionóforo que atraviesa totalmente la membrana hasta el interior de la neurona postsináptica. A su vez el ionóforo puede ser de dos clases: un canal iónico que deja pasar determinados tipos de iones a través de la membrana o un activador de segundos mensajeros que no es un canal iónico, sino una molécula que se introduce dentro del citoplasma celular y activa una o más sustancias de la neurona postsináptica. Estas sustancias a su vez actúan como segundos mensajeros y modifican determinadas funciones celulares internas (Chua, 2010).

Existen varias clases de sistemas de segundos mensajeros. Uno de los que predominan en las neuronas utiliza un grupo de proteínas llamadas proteínas G. llamadas de esta manera debido a su capacidad de unir nucleótidos de guanina. Las proteínas de membrana que unen GTP interaccionan con los sistemas de receptores que activan o inhiben la adenilato ciclasa. De las diversas proteínas G conocidas, las dos que están mejor caracterizadas son las G_s , una familia de proteínas G que intervienen en la *estimulación* de la adenilato ciclasa, y las G_i , una familia estrechamente relacionada, que interviene en las respuestas que

inhiben la adenilato ciclasa. Aunque ambos tipos de proteínas G interactúan también con otros receptores (con proteínas diana distintas de la adenilato ciclasa), resulta útil describir sus funciones en términos de los receptores adrenérgicos (Mathews, 2013).

Las proteínas G se unen a la parte de la proteína receptora que penetra dentro de la célula. La proteína G se encuentra conformada por tres elementos. 1) {alfa, α }, siendo esta la porción activadora de la proteína G, 2) {beta, β }; 3) {gamma γ } se encuentran en el interior de la zona de membrana celular adyacente a la proteína receptora, que se unen con la proteína G. Se activan mediante un impulso nervioso, dando como respuesta la separación de las fracciones β y γ quedan dispersas en el citoplasma celular (Guyton, 2001).

Dentro del citoplasma, el componente α que se separa de la proteína G puede ejercer varias funciones esto depende de la especificidad de la cada neurona que esté activándose:

Transcripción genética. Se considera el aspecto más importante que estas proteínas inducen, dado que es considerada como un sistema de segundo mensajero de la neurona postsináptica. La transcripción de genes da lugar a la síntesis de proteínas nuevas dentro de la neurona y estas pueden alterar los mecanismos metabólicos de la célula o su estructura. Cuando las neuronas se activan adecuadamente aparecen cambios estructurales, por lo general son procesos a largo plazo.

Activación de monofosfato de guanosina (GMPc) o del monofosfato cíclico de Adenosina (AMPc). Se activa la maquinaria metabólica específica de la neurona, iniciando numerosos efectos químicos, incluidos los cambios duraderos de la estructura celular de la neurona, con esta modificación se consigue una excitabilidad prolongada de la neurona.

Activación de una o más enzimas intracelulares. Las proteínas G de manera indirecta o directa activan diversas enzimas intracelulares, dando lugar a numerosas funciones químicas específicas de la célula.

Apertura de canales iónicos específicos de la célula postsináptica. A diferencia de los canales iónicos activados directamente que se cierran enseguida, estos canales permanecen abiertos por un tiempo más prolongado. (Westbrook and Schwartz, 2001).

SINAPSIS ELÉCTRICA

En la sinapsis eléctrica las membranas de las células pre y postsinápticas están unidas por una unión tipo gap, o unión comunicante. Esta unión deja en su centro un canal de comunicación a través del cual fluye la corriente iónica de una célula a otra de forma directa. Estos canales de las uniones gap tienen una baja resistencia (o una alta conductancia), por lo que el paso de corriente, sea de carga positiva o negativa, fluye desde la neurona presináptica a la postsináptica despolarizándola o hiperpolarizándola. Un potencial local conducido así pasivamente puede propagarse en ambos sentidos haciendo que la sinapsis sea bidireccional. Las sinapsis eléctricas no son exclusivas de las neuronas, se encuentran también en el músculo cardíaco, liso y en los hepatocitos. Es un tipo de transmisión rápida y estandarizada, que sirve para transmitir señales sencillas, pero no para realizar transmisiones muy elaboradas o cambios a largo plazo (Noriega-Borgé, 2014).

V.2.5 Neurotransmisores.

Las neuronas del encéfalo {contiene aproximadamente 100.000 millones (10^{11}) de neuronas, cada una de las cuales puede hacer hasta 100.000 contactos sinápticos}. El SNC humano se comunica principalmente a través de la liberación de pequeñas cantidades de mensajeros químicos, la mayoría de los cuales son comúnmente llamados neurotransmisores. Estas sustancias químicas alteran la actividad eléctrica de las neuronas después de que interactúan con los receptores de las superficies celulares.

La transferencia de información entre las neuronas tiene lugar en zonas estructural y funcionalmente especializadas denominadas sinapsis. La mayoría de las sinapsis utiliza mensajeros químicos que se liberan en unidades discretas (cuantos) de las terminales axónicas presinápticos o dendríticos, en respuesta a la despolarización del terminal (Rockhold, 2014).

La rápida difusión de un mensajero químico a través del espacio sináptico (o hendidura sináptica) va seguida de la unión de esta sustancia a los receptores que ocupan la membrana postsináptica. Se produce una alteración resultante en las propiedades eléctricas bioquímicas o genéticas de esa neurona. Con menor frecuencia, los mensajeros químicos también pueden ser liberados en zonas carentes de especializaciones sinápticas. Estos mensajeros difunden más ampliamente de lo que lo hacen los neurotransmisores liberados en la sinapsis, e influyen sobre receptores situados en lugares distantes y en más de una neurona. Ya sea sináptica o no, la comunicación química en el sistema nervioso depende de 1) la naturaleza del mensajero químico liberado presinápticamente, 2) el tipo de receptor postsináptico al que se une y 3) el mecanismo que acopla a los receptores con los sistemas efectores en la célula diana (Nestler, 2001).

Los criterios específicos que definen si un mensajero químico puede ser considerado como un neurotransmisor son:

- I. Localización: Un posible neurotransmisor debe localizarse en los elementos presinápticos de una sinapsis y además estar presente dentro de la neurona de la que se origina el terminal presináptico.
- II. Liberación La sustancia debe liberarse desde el elemento presináptico tras la activación de dicho terminal y simultáneamente a la despolarización de la neurona a la que pertenece.
- III. Identidad La aplicación del posible neurotransmisor sobre de acción las células diana debe producir los mismos efectos que se producen tras la estimulación de las neuronas en cuestión (Raiteri, 2002).

En general, los neurotransmisores pueden ser clasificados como mensajeros de molécula pequeña (con menos de 10 átomos de carbono) o neuropéptidos, más grandes (que contienen 10 o más átomos de carbono). Los mensajeros químicos utilizados por las neuronas se almacenan en vesículas secretoras y se liberan de ellas mediante exocitosis. En el caso de los neurotransmisores, estas vesículas se encuentran principalmente en los terminales nerviosos presinápticos.

Los mensajeros químicos de molécula pequeña se clasifican como aminoácidos, aminas biógenas y nucleótidos o nucleósidos. Los aminoácidos neurotransmisores son el 7-aminobutírico (GABA), glicina, aspartato y glutamato. La gran mayoría de la señalización dentro del sistema nervioso se realiza mediante aminoácidos neurotransmisores, específicamente GABA y glutamato. Las aminas biógenas corresponden a neurotransmisores tan comunes como la acetilcolina, dopamina, noradrenalina, adrenalina, serotonina e histamina. La clase de nucleótidos-nucleósidos incluye la adenosina y el adenosín trifosfato (ATP). El óxido nítrico, que funciona como un vasodilatador endógeno en el sistema cardiovascular, también ha sido identificado como un posible neurotransmisor.

Se han identificado más de 40 neuropéptidos en el tejido nervioso. Entre ellos se encuentran la metionina encefalina (met-encefalina) y la leucina encefalina (leu-encefalina), así como péptidos más grandes, como las endorfinas, el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), arginina vasopresina, colecistoquinina y entre muchos otros. A continuación (Tabla 1) se muestra las sustancias que se cree que tienen actividad como mensajeros químicos en el SNC (Buck, 2000).

Tabla 1 **Moléculas con funciones de mensajeros químicos en el SNC.** (Haines, D.E., et al. 2014).

MOLÉCULAS PEQUEÑAS NEUROPEPTIDOS	
Aminoácidos	Péptidos opioides
GABA	Metionina encefalina
Glicina	Leucina encefalina
Glutamato	(3Endorfina
Aspartato	Dinorfinas
Homocisteína	Neoendorfinas
Taurina	Péptidos de la hipófisis posterior
Aminas biógenas	Arginina vasopresina
Acetilcolina	Oxitocina
Monoaminas	Taquiquinas
Catecolaminas	Sustancia P
Dopamina	Casinina
Noradrenalina	Neuroquinina A
Adrenalina	Neuroquinina B
Serotonina	Eledoisina
Histamina	Péptidos relacionados con el glucagón
Nucleótidos y nucleósidos	Péptido intestinal vasoactivo
Adenosina	Glucagón
ATP	Secretina
Otros	Hormona liberadora de la hormona de crecimiento
Oxido nítrico	Péptidos relacionados con el polipéptido pancreático
	Neuropéptido Y
	Otros
	Somatostatina
	Factor liberador de corticotropina
	Péptido relacionado con el gen de la calcitonina
	Colecistoquinina
	Angiotensina II

ATP, adenosín trifosfato; GABA, ácido 7-aminobutírico.

V.3 Corteza cerebral.

La corteza cerebral forma un revestimiento completo del hemisferio cerebral. Está compuesto por sustancia gris y contiene aproximadamente 10.000 millones de neuronas. El área de superficie de la corteza está aumentada por su plegamiento en circunvoluciones separadas por cisuras o surcos. El espesor varía de 1,5 a 4,5 mm. Es más gruesa sobre la cresta de una circunvolución y más delgada en la profundidad del surco. La corteza cerebral al igual que la sustancia gris de cualquier otro sitio del SNC consiste en una mezcla de células nerviosas, fibras nerviosas, neuroglia y vasos sanguíneos. Los dos hemisferios cerebrales constituyen la división más amplia del cerebro (Haines, 2014). Las regiones de la corteza se clasifican de varias maneras, por ejemplo:

- ❖ Por la relación geométrica entre los tipos de células presentes en las principales capas corticales (clasificación "citoestructural"):

1. **Células piramidales:** Llevan ese nombre por su forma. La mayoría tienen un diámetro de 10 a 50 mm pero también hay células piramidales gigantes

conocidas como células de Betz cuyo diámetro puede ser hasta de 120 mm. Se encuentran en la circunvolución precentral motora.

2. **Células estrelladas:** Llamadas granulosas, son pequeñas, 8 mm y tienen forma poligonal.
3. **Células fusiformes:** Tienen su eje longitudinal vertical a la superficie y están concentrados principalmente en las capas corticales más profundas. El axón se origina en la parte inferior del cuerpo celular y entra en la sustancia blanca como fibra de proyección, asociación o comisura.
4. **Células horizontales de Cajal:** Pequeñas células fusiformes orientadas horizontalmente que se hallan en las capas más superficiales de la corteza.
5. **Células de Marinotti:** Células pequeñas multiformes presentes en todos los niveles de la corteza, participan en el mecanismo inhibitorio (Borrell, 2006).

V.3.1 Capas de la corteza cerebral

Se dividen por densidad y disposición de las células en:

1. **Capa molecular (capa plexiforme):** Capa más superficial. Consiste en una red densa de fibras nerviosas orientadas tangencialmente. Estas derivan de dendritas de células piramidales y fusiformes, los axones de células estrelladas y de Martinotti. También hay fibras aferentes que se originan en el tálamo, de asociación y comisurales. Entre las fibras nerviosas hay algunas células de Cajal. Por ser la capa más superficial se establecen gran cantidad de sinapsis entre diferentes neuronas.
2. **Capa granular externa:** Contiene un gran número de pequeñas células piramidales y estrelladas. Las dendritas de estas células terminan en la capa molecular y los axones entran en las capas más profundas.
3. **Capa piramidal externa:** Capa está compuesta por células piramidales. Su tamaño aumenta desde el límite superficial hasta el límite más profundo. Las dendritas pasan hasta la capa molecular y los axones hasta la sustancia blanca como fibras de proyección, asociación o comisurales.
4. **Capa granular interna:** Compuesta por células estrelladas dispuestas en forma muy compacta. Hay una gran concentración de fibras dispuestas horizontalmente conocidas en conjunto como la banda externa de Baillarger.
5. **Capa ganglionar (capa piramidal interna):** Contiene células piramidales muy grandes y de tamaño mediano. Entre las células piramidales hay células estrelladas y de Martinotti. Además hay un gran número de fibras dispuestas horizontalmente que forman la banda interna de Baillarger. En las zonas motoras de la circunvolución precentral, las células de proyección de Betz dan origen aproximadamente al 3% de las fibras de proyección del haz corticoespinal.
6. **Capa multiforme (capa de células polimórficas):** aunque la mayoría de las células son fusiformes, muchas son células piramidales modificadas

cuyo cuerpo celular es triangular u ovoideo. Las células de Martinotti también son conspicuas en esta capa. Hay muchas fibras nerviosas que entran en la sustancia blanca subyacente (Borrell, 2006).

- ❖ Por la posición anatómica (frontal, temporal, parietal y occipital):

V.3.2 Localizaciones funcionales de la corteza cerebral.

Un estudio que combina los registros neurofisiológicos (micro electrodos) con la histología de la corteza cerebral, sugiere que la corteza está organizada en unidades verticales de actividad funcional.

Área Frontal

- **Área Motora Primaria:** Se extiende sobre el límite superior del lobulillo paracentral. Si se estimula produce movimientos aislados en el lado opuesto del cuerpo y contracción de grupos musculares relacionados con la ejecución de un movimiento específico. Las áreas del cuerpo están representadas en forma invertida en la circunvolución precentral. Comenzando desde abajo hacia arriba: deglución, lengua, maxilares, labios, laringe, párpado y cejas, dedos, manos, muñeca, codo, hombro y tronco etc. La función del área motora primaria consiste en llevar a cabo los movimientos individuales de diferentes partes del cuerpo. Como ayuda para esta función recibe numerosas fibras aferentes desde el área premotora, la corteza sensitiva, el tálamo, el cerebelo y los ganglios basales. La corteza motora primaria no es responsable del diseño del patrón de movimiento sino la estación final para la conversión del diseño en la ejecución del movimiento.
- **Área Pre-motora:** No tiene células gigantes de Betz. La estimulación eléctrica de esta zona produce movimientos similares a los del área motora primaria pero se necesita estimulación más intensa para producir el mismo grado de movimiento. Recibe numerosas aferencias de la corteza sensitiva, tálamo y ganglios basales. La función de ésta área es almacenar programas de actividad motora reunidos como resultado de la experiencia pasada; es decir programa la actividad motora primaria.
- **Área Motora Suplementaria:** Se ubica en la circunvolución frontal medial y por delante del lobulillo paracentral. La estimulación de esta área da como resultado movimientos de las extremidades contralaterales pero es necesario un estímulo más fuerte que el necesario en la zona primaria. La eliminación de ésta área no produce una pérdida permanente de movimiento.
- **Campo Ocular Frontal:** se extiende hacia delante desde el área facial de la circunvolución precentral hasta la circunvolución frontal media. La estimulación de esta área produce movimientos conjuntos de los ojos en

especial en el lado opuesto. Controla los movimientos de seguimiento voluntario de los ojos y es independiente de los estímulos visuales. El seguimiento involuntario ocular de los objetos en movimiento comprende el área visual en la corteza occipital que está conectada al campo visual en la corteza occipital que está conectada al campo ocular frontal por fibras de asociación.

- **Área Motora del Lenguaje de Broca:** Está ubicada en la circunvolución frontal inferior entre las ramas anterior y ascendente y las ramas ascendente y posterior de la cisura lateral. En la mayoría de los individuos esta área es importante en el hemisferio izquierdo o dominante y su ablación da como resultado parálisis del lenguaje. La ablación de la región en el hemisferio no dominante no tiene efectos sobre el lenguaje. Produce la formación de palabras por sus conexiones con las áreas motoras adyacentes, músculos de la laringe, boca, lengua etc.
- **Corteza Pre-frontal:** Ocupa la mayor parte de las circunvoluciones frontal superior, media e inferior. Está vinculada con la constitución de la personalidad del individuo. Regula la profundidad de los sentimientos y está relacionada con la determinación de la iniciativa, el juicio del individuo, memoria a largo plazo y atención.

Área Parietal

- **Área Somatoestésica Primaria:** Ocupa la circunvolución postcentral sobre la superficie lateral del hemisferio y la parte posterior del lobulillo paracentral sobre la superficie medial. Histológicamente es un área de tipo granuloso con capa externa de Ballinger muy ancha y obvia. La mitad opuesta del cuerpo está representada de forma invertida: faringe, lengua, cara, ---, dedos, mano, brazo, tronco, muslo, pierna, pie. La porción de una parte del cuerpo en particular se relaciona con su importancia funcional y no con su tamaño. Por ejemplo superficies grandes ocupan la mano, la cara, labios y el pulgar. Aunque la mayoría de las sensaciones llegan a la corteza desde el lado contralateral del cuerpo, algunas provenientes de la región oral van en el mismo sentido.
- **Área Somatoestésica de Asociación:** Ocupa el lobulillo parietal superior que se extiende hacia la superficie medial del hemisferio. Tiene muchas conexiones con otras áreas sensitivas de la corteza. Se cree que su principal función consiste en recibir e integrar diferentes modalidades sensitivas. Por ejemplo reconocer objetos colocados en las manos sin ayuda de la vista, es decir maneja información de forma y tamaño relacionándola con experiencias pasadas.

Área Occipital

- **Área Visual Primaria:** Ubicada en las paredes de la parte posterior del surcocalcarino ocasionalmente alrededor del polo occipital. Histológicamente es un área de corteza delgada, del tipo granuloso con sólo algunas células piramidales. Recibe fibras que vienen de la retina. La mácula lútea, área central de la retina (área de la visión más perfecta) está representada en la corteza en la parte posterior. Las partes periféricas de la retina están representadas por el área anterior.
- **Área Visual Secundaria:** rodea el área visual primaria. Recibe fibras aferentes del área visual primaria y otras áreas corticales y el tálamo. La función consiste en relacionar la información visual recibida por el área visual primaria con experiencias visuales pasadas, lo que permite reconocer y apreciar lo que se está viendo. Se cree que existe un campo ocular occipital en el área visual secundaria cuya estimulación produce la desviación conjugada de los ojos cuando está siguiendo a un objeto, movimientos involuntarios que dependen de los estímulos visuales.

Área Temporal

- **Área Auditiva Primaria:** está ubicada en la pared inferior del surco lateral. Histológicamente de tipo granuloso, es un área de asociación auditiva. La parte anterior del área auditiva primaria está vinculada con la recepción de sonidos de baja frecuencia mientras que la parte posterior con los de alta frecuencia. Una lesión unilateral produce sordera parcial en ambos oídos con mayor pérdida del lado contralateral.
- **Área Auditiva Secundaria:** ubicada detrás del área auditiva primaria. Se cree que esta área es necesaria para la interpretación de los sonidos.
- **Área Sensitiva del Lenguaje de Wernicke:** está ubicada en el hemisferio dominante izquierdo, principalmente en la circunvolución temporal superior. Está conectado con el área de Broca por el haz de fibras llamado fascículo arcuato. Recibe fibras de la corteza visual (occipital) y de la corteza auditiva (temporal superior). Permite la compresión del lenguaje hablado y de la escritura, es decir que uno pueda leer una frase, comprenderla y leerla en voz alta.

Otras Áreas

- **Área del gusto:** está ubicada en el extremo inferior de la circunvolución postcentral de la pared superior del surco lateral en el área adyacente de la ínsula.
- **Área vestibular:** está situada cerca de la parte de la circunvolución postcentral vinculada con las sensaciones de la cara. Su localización opuesta al área auditiva.
- **Ínsula:** está enterrada dentro del surco lateral y forma su piso. Histológicamente es granulosa. Sus conexiones se conocen en forma incompleta se cree que se asocian con las funciones viscerales. (López-Bendito, 2003)

Todas las áreas restantes, tienen seis capas celulares y se conocen como áreas de asociación. Antes se suponía que recibían información provenientes de áreas sensitivas primarias, la integraban ya la analizaban, esto no ha sido comprobado. Actualmente se cree que tienen relación con la conducta, la discriminación y la interpretación de experiencias sensitivas.

El área asociativa frontal desempeña un papel que tiene que ver con las experiencias sensitivas pasadas, por ejemplo recordar una música escuchada en el pasado.

En el área asociativa parietal posterior, se integran aferencias sensitivas de tacto y presión, es decir tamaño, forma, textura. Esta capacidad se conoce como esterognosia. También se forma la apreciación de la imagen corporal.

Las funciones especializadas de una región cortical se deben o surgen de la interacción entre las conexiones con otras regiones de la corteza (sistemas corticocorticales) y zonas no corticales del cerebro (sistemas subcorticales) y un módulo de procesamiento intracortical básico de casi 100 columnas corticales conectadas verticalmente. (Mountcastle-Vernon, 1997).

Las alteraciones patológicas que ocurren en la enfermedad de Alzheimer, por ejemplo, destruye la integridad de los módulos columnares y las conexiones corticocorticales. Las zonas corticales denominadas zonas de asociación procesan información de las principales regiones sensoriales de la corteza para producir funciones corticales superiores tales como pensamiento abstracto, memoria y conciencia. Las cortezas cerebrales también brindan la integración supervisora del sistema nervioso autónomo e integran las funciones somáticas y vegetativas, que comprenden las que controlan el sistema cardiovascular y el aparato digestivo. (López-Bendito, 2003).

V.4 Sistema serotoninérgico

V.4.1. Serotonina (5-Hidroxi-triptamina)

La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT,) es un neurotransmisor del sistema nervioso central (SNC) que además ejercen acciones periféricas importantes. Es una indolamina sintetizada por las células enterocromafines del tracto gastrointestinal y neuronas específicas (serotoninérgicas) del SNC estas tienen sus cuerpos celulares localizados en los núcleos medial y dorsal del rafe en el tallo cerebral proyectando sus axones por todo el cerebro y medula espinal.

La 5-HT regula el músculo liso del sistema cardiovascular y del aparato digestivo y fomenta la agregación plaquetaria influye en una gran variedad de funciones cerebrales entre ellas, función cognitiva, sueño, percepción sensitiva, actividad motora, regulación de la temperatura, apetito, estado de ánimo comportamiento sexual, y secreción de hormonas (Gray, 2009).

En el encéfalo se expresan todos los receptores de 5-HT, probablemente en algunas neuronas se expresen múltiples subtipos de receptores 5-HT, lo cual ocasiona una enorme diversidad de efectos semejantes u opuestos. Los estudios farmacológicos y la clonación del cDNA han permitido describir 14 subtipos de receptores para la 5-HT, gracias al clonaje de los receptores ha sido posible obtener fármacos selectivos para cada uno de los subtipos y conocer las acciones de estos neurotransmisores a nivel molecular (Sanders-Bush, , 2005).

V.4.2. Síntesis y metabolismo de la 5-HT.

La 5-HT es sintetizada por una ruta de dos pasos a partir del aminoácido esencial triptófano. El triptófano, mediante transporte activo, alcanza el encéfalo unido a una proteína transportadora que también transporta otros aminoácidos neutros y de cadena ramificada. La concentración de triptófano en el cerebro depende no sólo de su concentración plasmática sino también de la concentración plasmática de otros aminoácidos que compiten por el transportador. La triptófano hidroxilasa, una oxidasa de función mixta que necesita O_2 molecular y un cofactor reducido de pteridina para su actividad, es la enzima que limita la velocidad de la vía sintética. Existe una isoforma específica para el cerebro de triptófano hidroxilasa (TPH2) que es la principal responsable de la síntesis de la 5-HT en el cerebro (Walther, 2003).

La enzima que convierte al L-5-hidroxitriptófano en 5-HT, L-aminoácido descarboxilasa aromática (AADC, *aromatic L-amino acid decarboxylase*) se distribuye extensamente y su especificidad para el sustrato es bastante amplia. El 5- hidroxitriptófano no es detectable en el cerebro puesto que se descarboxila rápidamente. El producto sintetizado, 5-HT, se acumula en gránulos secretores

por medio de un monoamino transportador vesicular (VMAT2); la 5-HT vesicular se libera por exocitosis a partir de las neuronas serotoninérgicas. En el sistema nervioso, la acción de la 5-HT liberada es interrumpida por la captación neuronal mediante un transportador específico de la 5-HT. El transportador de 5-HT (SERT[SLC6A4]) se localiza en la membrana de los axones terminales serotoninérgicos (donde finaliza la acción de la 5-HT en la sinapsis) y en la membrana de las plaquetas (donde capta 5-HT desde la sangre). Este sistema de absorción es el medio por el cual las plaquetas adquieren 5-HT, puesto que ellas carecen de las enzimas necesarias para sintetizar 5-HT. Los transportadores de aminas difieren del VMAT2, en que éste concentra a las aminas en vesículas de almacenamiento intracelular y es un transportador inespecífico de aminas, mientras que el transportador de 5-HT es específico. El transportador de 5-HT es regulado por fosforilación y posterior internalización proporcionando un mecanismo para la regulación dinámica de la transmisión serotoninérgica (Steiner, 2008).

La principal vía metabólica de la 5-HT es la desaminación oxidativa por medio de la monoaminoxidasa (MAO); de esta manera, el aldehído intermedio formado se convierte en el ácido 5-Ácido hidroxindol acético (5-HIAA) por medio de un aldehído deshidrogenasa. Normalmente la vía alternativa, que es la reducción del acetaldehído para formar un alcohol, 5-hidroxitriptofol, es insignificante. El 5-HIAA es transportado de manera activa hacia el exterior del cerebro por medio de un proceso que es sensible al inhibidor inespecífico del transporte, probenecid (Fig.4).

La formación de 5-HIAA representa casi 100% del metabolismo de la 5-HT en el cerebro, de manera que la velocidad con que se recambia la 5-HT encefálica se calcula midiendo la proporción entre 5-HIAA/5-HT. La 5-HIAA del cerebro y los sitios periféricos del almacenamiento y metabolismo de 5-HT se excreta a través de la orina en pequeñas cantidades en forma de sulfato de 5-hidroxitriptofol o conjugados glucurónidos. La excreción urinaria habitual de 5-HIAA en un adulto es de 2 a 10 mg diarios. Los pacientes con carcinoma maligno excretan mayor cantidad, lo que proporciona una prueba diagnóstica fiable de esta enfermedad. La ingestión de etanol aumenta la cantidad de NADH2 que desvía al 5-hidroxitriptofol acetaldehído de la vía oxidativa hacia la vía reductora y tiende a aumentar la excreción de 5-hidroxitriptofol reduciendo de manera proporcional la excreción de 5-HIAA. De las dos isoformas de MAO (A y B) (Bortolato M, 2008), la MAO-A es la que metaboliza preferentemente la 5-HT y la noradrenalina; la clorgilina es un inhibidor específico de esta enzima. La MAO-B prefiere a la feniletiletilamina- β y la benzilamina como sustratos; un inhibidor relativamente selectivo de la MAO-B es la selegilina en dosis reducidas. Ambas isoformas metabolizan por igual a la dopamina y la triptamina. Las neuronas contienen ambas isoformas de la MAO, situadas principalmente en la membrana externa de las mitocondrias.

La MAO-B es la isoforma principal en las plaquetas, que contienen grandes cantidades de 5-HT. Se han sugerido otras vías menores para el metabolismo de la 5-HT, como son la sulfatación y la O- o N-metilación.

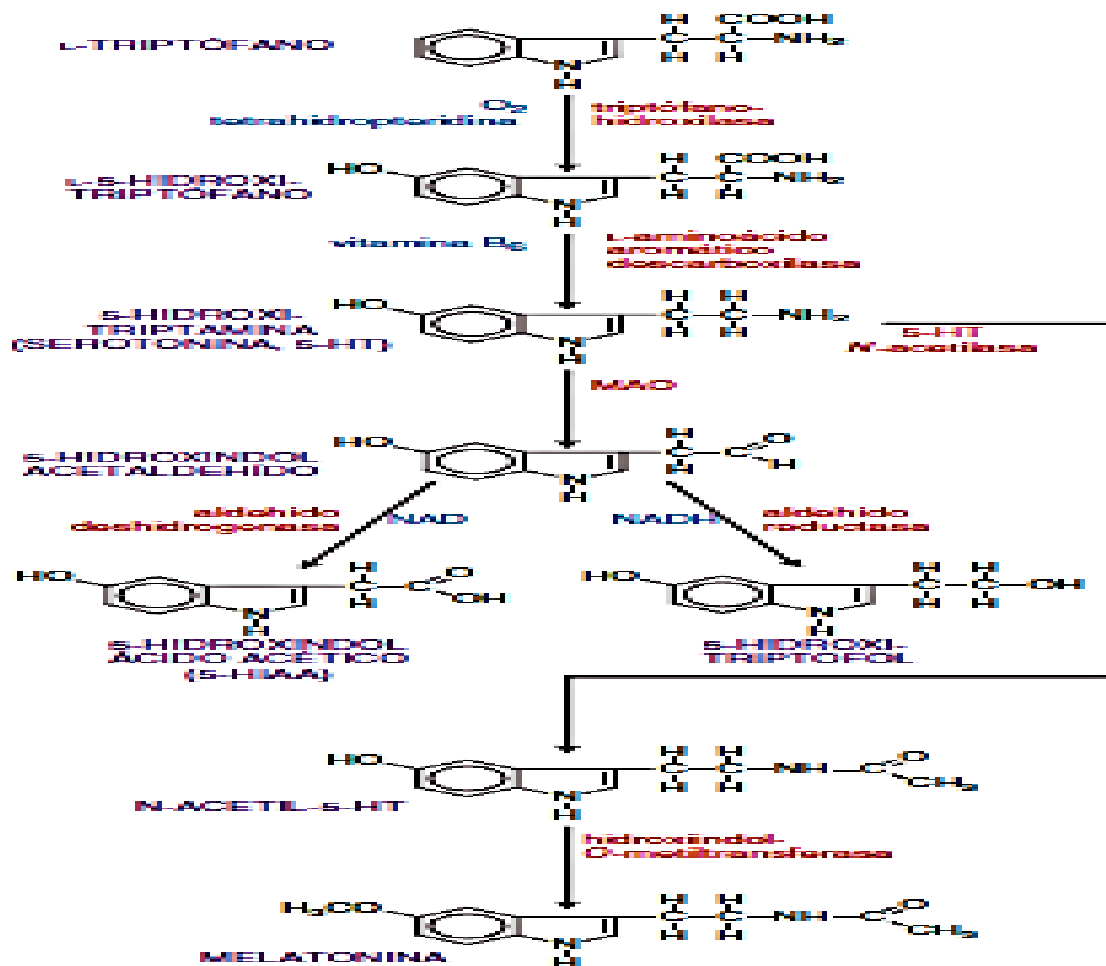


Figura 4 . **Síntesis e inactivación de la serotonina.** Las enzimas se identifican en letras rojas y los cofactores en azul. (Tomada de Sanders- Bush, 2012).

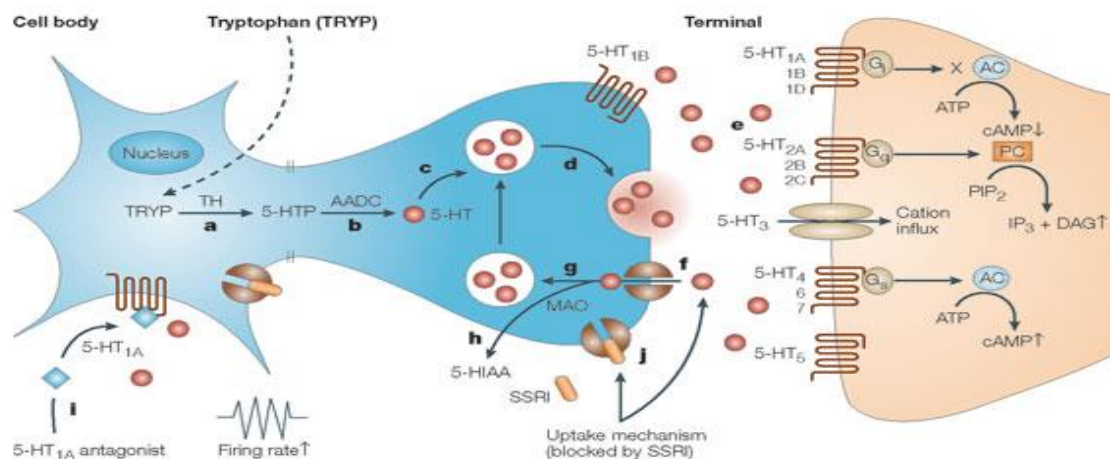


Figura 5. **Esquema de los procesos asociados con la neurotransmisión serotoninérgica.** **a)** La TPH cataliza la conversión del L-Triptófano a 5-HTP. **b)** La AADC cataliza la conversión de 5-HTP en 5-HT. **c)** La 5-HT se recoge en las vesículas de almacenamiento. **d)** Las vesículas liberan 5-HT en el espacio sináptico. **e)** El 5-HT puede activar los diversos subtipos de la familia de receptores serotoninérgicos (1, 2, 3, 4, 5, 6, y 7), que interaccionan con sus respectivos sistemas de transducción de señales dentro de la neurona postsináptica. **f)** La 5-HT se recoge en las terminales presinápticas de la 5-HT por el transportador de 5-HT. **g, h)** Dentro de las terminales presinápticas la 5-HT sería almacenada por las vesículas o degradada por la MAO. **i)** La 5-HT activa autorreceptores presinápticos somatodendríticos 5-HT_{1A}, los cuales pueden ser bloqueados por agonistas selectivos. **j)** Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRI) como Fluoxetina inhiben el transportador de 5-HT. AC, la adenilato ciclasa, DAG, diaciglicerol, IP₃, inositol trifosfato; PIP₂, fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (Wong, 2005).

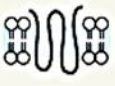
V.4.3. Receptores serotoninérgicos (funciones fisiológicas de la serotonina).

Receptores múltiples de 5-HT

Según los resultados de los estudios sobre las acciones de la 5-HT en los tejidos periféricos, los investigadores supusieron que las acciones múltiples de la 5-HT comprenden la interacción con distintos subtipos específicos de receptores de 5-HT. La caracterización farmacológica extensa y la clonación del cDNA de los receptores confirmaron esta hipótesis, las siete familias conocidas de receptores de 5-HT poseen funciones definidas (Fig. 6, Bockaert, 2006).

Los múltiples subtipos clonados de receptores de 5-HT forman la familia más grande que se conoce de receptores de neurotransmisores. Los subtipos de receptores de 5-HT se expresan en patrones definidos pero que a menudo se superponen y se acoplan con diversos mecanismos de señales transmembrana. La mayor parte de los receptores de 5-HT, especialmente el receptor 5-HT_{2C}, pueden activar a las proteínas G independientemente de los agonistas, propiedad conocida como actividad constitutiva (Tabla 2, Berg, 2008).

Tabla 2 **Subtipos de receptores serotoninérgicos** (Sanders-Bush, 2005).

5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₄₋₇  FAMILIAS ESTRUCTURALES			5-HT₃ 			
SUBTIPO	ESTRUCTURA GENÉTICA	TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES	UBICACIÓN	FUNCIÓN	AGONISTA SELECTIVO	ANTAGONISTA SELECTIVO
5-HT _{1A}	Sin intrones	↓ AC	Núcleos del rafe Corteza Hipocampo	Autorreceptor	8-OH-DPAT	WAY 100135
5-HT _{1B} ^a	Sin intrones	↓ AC	Subículo Globo pálido Sustancia negra	Autorreceptor	—	—
5-HT _{1D}	Sin intrones	↓ AC	Vasos sanguíneos craneales Globo pálido Sustancia negra	Vasoconstricción	Sumatriptán	—
5-HT _{1E}	Sin intrones	↓ AC	Corteza	—	—	—
5-HT _{1F} ^b	Sin intrones	↓ AC	Cuerpo estriado Encéfalo y periferia	—	—	—
5-HT _{2A} (Receptor D)	Intrones	↓ AC ↑ PLC y ↑ PLA ₂	Plaquetas Músculo liso Corteza cerebral	Agregación Contracción Excitación neuronal	α-metil-5-HT, DOI, MCP	Ketanserina LY53857 MDL100, 907
5-HT _{2B}	Intrones	↑ PLC	Fondo gástrico	Contracción	α-metil-5-HT, DOI	LY53857 SB206553
5-HT _{2C}	Intrones	↑ PLC ↑ PLA ₂	Plexo coroideo Hipotálamo	Producción de LCR Excitación neuronal	α-metil-5-HT, DOI, MK2.2	LY53857 SB2022084 Mesulergina Ondansetrón Tropisetron
5-HT ₃ (Receptor M)	Intrones	Conducto de iones operado por ligandos	Nervios parasimpáticos Tracto solitario Área postrema	Excitación neuronal	2-metil-5-HT	—
5-HT ₄	Intrones	↑ AC	Hipocampo Aparato digestivo	Excitación neuronal	Renzaprida	GR113808
5-HT _{5A}	Intrones	↓ AC	Hipocampo	Desconocida	—	—
5-HT _{5B}	Intrones	Desconocido	—	Seudogén	—	—
5-HT ₆	Intrones	↑ AC	Hipocampo Cuerpo estriado Núcleo accumbens	Excitación neuronal	—	SB271046
5-HT ₇	Intrones	↑ AC	Hipotálamo Hipocampo Aparato digestivo	Desconocida	5-carboxiamino- triptamina	—

Receptores 5-HT1. La subfamilia de receptores 5-HT1 consta de cinco miembros, los cuales se acoplan preferentemente a Gi/o e inhiben a la adenililciclase. Los receptores 5-HT1A, 5-HT1B y 5-HT1D también activan a un receptor ligado a un conducto de K^+ e inhiben un conducto de Ca^{2+} dependiente de voltaje, propiedad frecuente de los receptores acoplados a la familia de proteínas Gi/Go sensible a la toxina pertussis. El receptor 5-HT1A se localiza en los núcleos del rafe del tallo cerebral, donde funciona como autorreceptor inhibitorio y somatodendrítico en los cuerpos celulares de las neuronas serotoninérgicas.

Otro subtipo de receptor 5-HT1, el receptor 5-HT1D/1B, funciona como autorreceptor en los axones terminales, inhibiendo la liberación de 5-HT al igual que su homólogo de rata, el 5-HT1B. Los receptores 5-HT1D de rata se expresan con abundancia en la sustancia negra y en los ganglios basales, regulando la velocidad de descarga de las células que contienen dopamina y la liberación de dopamina en los axones terminales.

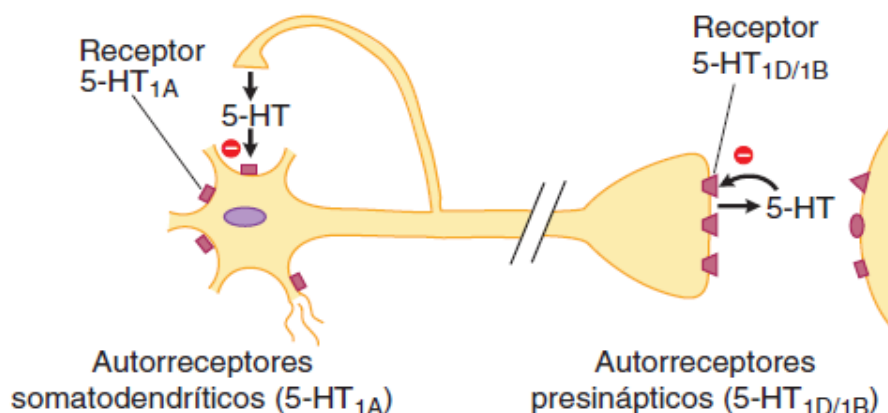


Figura 6. **Dos clases de autorreceptores de 5-HT con ubicaciones distintas.** Los autorreceptores somatodendríticos de 5-HT_{1A} reducen las descargas de las células del rafe cuando son activadas por la 5-HT liberada a partir de los axones colaterales de la misma neurona o las neuronas adyacentes. El subtipo de receptor del autorreceptor presináptico en los axones terminales del prosencéfalo, tiene propiedades farmacológicas distintas y se ha clasificado como 5-HT_{1D} (en humanos) o 5-HT_{1B} (en roedores). Estos receptores modulan la liberación de 5-HT. También se señalan los receptores postsinápticos de 5-HT₁ (Sanders- Bush, 2012).

Receptores 5-HT₂. Los tres subtipos de receptores 5-HT₂ se acoplan con las proteínas Gq/G11 insensibles a la toxina pertussis y activan a fosfolipasa C, generando de esta manera dos segundos mensajeros, el diacilglicerol (cofactor en la activación de la PKC) y el inositoltrifosfato (que moviliza los depósitos intracelulares de Ca^{2+}). Asimismo, los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} activan la fosfolipasa A₂, fomentando la liberación de ácido araquidónico. Los receptores 5-HT_{2A} se distribuyen ampliamente en el sistema nervioso central, principalmente en las terminales serotoninérgicas. Su densidad es alta en muchas estructuras encefálicas, como las cortezas prefrontal, parietal y somatosensorial, así como en las plaquetas de la sangre y en células del músculo liso. Se cree que los receptores 5-HT_{2A} del aparato digestivo corresponden al subtipo D de receptores de 5-HT originalmente descrito por Gaddum y Picarelli (1957). Los receptores 5-HT_{2B} se descubrieron en el fondo gástrico, donde se encuentran en abundancia. En el sistema nervioso central, la expresión de los receptores 5-HT_{2B} es muy reducida. Los receptores 5-HT_{2C} abundan en el plexo coroideo, tejido epitelial que constituye el sitio principal donde se produce líquido cefalorraquídeo. El receptor 5-HT_{2C} se ha implicado en el control de la producción de líquido cefalorraquídeo, el hábito alimenticio y el estado de ánimo. El receptor 5-HT_{2C} es el único receptor acoplado a proteínas G regulado por medio de la edición de RNA (Burns et al., 1997). Este mecanismo genera muchas isoformas de receptores 5-HT_{2C} con modificaciones en los tres aminoácidos dentro de la segunda asa intracelular; las isoformas editadas o modificadas tienen diversas eficiencias en el acoplamiento a la proteína G modificada. Existen variantes

empalmadas de receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}, pero no codifican proteínas funcionales. (Sanders-Bush, 2005).

Receptores 5-HT₃. Los receptores 5-HT₃ son los únicos receptores de monoamino neurotransmisores conocidos que funcionan como conductos de iones operado por ligandos. La activación de los receptores 5-HT₃ desencadena una despolarización que provoca una desensibilización rápida regulada por la entrada de cationes. Estos receptores se encuentran en las terminaciones parasimpáticas del aparato digestivo, incluidas las fibras aferentes vagales y espláncnicas. En el SNC, se observa mayor densidad de receptores 5-HT₃ en el núcleo del tracto solitario y en el área postrema. Tanto los receptores 5-HT₃ del aparato digestivo y del SNC participan en la respuesta emética, lo que proporciona la base para la propiedad antiemética de los antagonistas de los receptores 5-HT₃. El receptor 5-HT₃, ligado a un conducto pentamérico, pertenece a la superfamilia de receptores asa (*cys-loop*), que comprende al receptor colinérgico nicotínico y al receptor del ácido gamma aminobutírico A (GABA_A). La subunidad original clonada del receptor 5-HT₃ forma complejos pentaméricos funcionales que regulan los cationes cuando se expresan en ovocitos de *Xenopus* o en células en cultivo (Maricq, 1991). Hasta la fecha se han clonado cinco genes (HTR3A-E) para subunidades de receptores 5-HT₃. Los heteropentámeros de los múltiples productos genéticos exhiben distintas propiedades y distribuciones anatómicas (Barnes, 1999)

- ❖ **Receptores 5-HT₄.** Los receptores 5-HT₄ se acoplan con GS para activar a la adenililciclase, lo que aumenta el AMP cíclico intracelular. La distribución de los receptores 5-HT₄ en el organismo es muy amplia. En el SNC, se encuentran en las neuronas de los colículos superiores e inferiores y en el hipocampo. En el aparato digestivo, se localizan en las neuronas del plexo mientérico, células del músculo liso y células secretoras. En el aparato digestivo, se cree que la estimulación del receptor 5-HT₄ induce la secreción y facilita el reflejo peristáltico. Este último efecto explica la utilidad de las benzamidas procinéticas en los trastornos digestivos. Los efectos de la manipulación farmacológica de los receptores 5-HT₄ sobre la memoria y la alimentación en los modelos animales sugieren una serie de aplicaciones clínicas posibles en el futuro (Bockaert, 2008)

V.4.4. Acciones de la 5-HT en los sistemas fisiológicos.

- **Sistema nervioso central:** La 5-HT repercute en funciones cerebrales múltiples, incluidos el sueño, función cognitiva, percepción sensorial, actividad motora, regulación de la temperatura, nocicepción, estado de ánimo, apetito, conducta sexual y secreción hormonal. Todos los receptores

clonados de la 5-HT se expresan en el encéfalo, a menudo en dominios que se superponen. Aunque no se han definido de manera extensa los patrones de la expresión del receptor de 5-HT en cada neurona, probablemente en cada una de ellas se expresan múltiples subtipos de receptores de 5-HT con acciones similares u opuestas), generando una gran diversidad de acciones.

- Los cuerpos celulares principales de las neuronas de 5-HT se ubican en los núcleos del rafe del tallo cerebral y se proyectan a través del cerebro y la médula espinal. La serotonina es liberada en las sinapsis y en los sitios de tumefacción axonal, llamados *varicosidades*, que no forman contactos sinápticos definidos. Se cree que la 5-HT liberada en las varicosidades no sinápticas se difunde hacia otros objetivos en lugar de actuar sobre objetivos sinápticos definidos. Esta liberación no sináptica con efectos diseminados concuerda con la idea de que la 5-HT actúa como neuromodulador y neurotransmisor. Las terminaciones nerviosas serotoninérgicas contienen las proteínas necesarias para sintetizar 5-HT a partir de l-triptófano. La 5-HT recién formada es acumulada rápidamente en vesículas sinápticas (por medio del VMAT2), donde se protege de la MAO. La 5-HT liberada por la corriente de impulsos nerviosos se reaccumula en la terminal presináptica gracias al transportador de 5-HT, SERT. La recaptación presináptica constituye un mecanismo altamente eficaz para interrumpir la acción de la 5-HT liberada por la corriente de impulsos nerviosos.

La MAO contenida en los elementos postsinápticos y las células circundantes desactiva rápidamente a la 5-HT que escapa a la recaptación y almacenamiento neuronales (Bonsi, 2007)

- **Electrofisiología:** Las consecuencias fisiológicas de la liberación de 5-HT varían según el área del cerebro y el elemento neuronal que participa y los subtipos de receptores de 5-HT expresados (Bockaert, J C., 2006). La 5-HT ejerce acciones directas de excitación e inhibición incluso en la misma preparación, pero con patrones temporales distintos. Por ejemplo, en las neuronas del hipocampo, la 5-HT desencadena hiperpolarización mediada por receptores 5-HT_{1A} seguida de despolarización lenta mediada por receptores 5-HT₄. membrana inducidas por receptores 5-HT_{1A} son secundarias a una mayor conductancia de K^+ . Estos efectos iónicos, que son bloqueados por la toxina pertussis, son independientes del cAMP, lo que sugiere que los receptores 5-HT_{1A} se acoplan, por medio de subunidades $\text{G}\beta\gamma$, a los conductos de K^+ accionados por receptores (Andrade, 1986). Los receptores 5-HT_{1A} somatodendríticos en las células del rafe también despiertan una hiperpolarización dependiente de K^+ . La proteína G que participa es sensible a la toxina pertussis, pero al parecer la corriente de K^+ difiere de la corriente estimulada en los receptores 5-HT_{1A} postsinápticos del hipocampo.

Todavía no se conoce el mecanismo preciso de las señales que participan inhibiendo la liberación del neurotransmisor por medio del autorreceptor 5-HT_{1B}/5-HT_{1D} en las terminaciones sinápticas, aunque probablemente contribuye la inhibición de los conductos de Ca^{++} dependientes de voltaje. La despolarización lenta inducida por la activación de los receptores 5-HT_{2A} en ciertas áreas como la corteza prefrontal y el núcleo *accumbens*, comprende una menor conductancia del K^+ . Otro mecanismo definido en el que participan corrientes de membrana activadas por Ca^{++} aumenta la excitabilidad neuronal y potencia la respuesta a señales excitadoras como el glutamato.

Todavía no se han definido las secuencias intracelulares de señales en estas acciones fisiológicas de los receptores 5-HT_{2A}. En las áreas donde coexisten receptores 5-HT₁ y 5-HT_{2A}, el efecto de la 5-HT puede reflejar una combinación de ambas respuestas opuestas: una hiperpolarización importante mediada por receptores 5-HT₁ y una despolarización opuesta mediada por los receptores 5-HT_{2A}. Cuando se bloquean los receptores 5-HT_{2A}, aumenta la hiperpolarización. En muchas áreas corticales los receptores 5-HT_{2A} se localizan en las interneuronas GABAérgicas y en las células piramidales. La activación de las interneuronas aumenta la liberación de GABA (ácido γ -aminobutírico), que a su vez reduce la velocidad de descarga de las células piramidales. De esta manera, existe la posibilidad de que el receptor 5-HT_{2A} regule en forma diferencial a las células piramidales corticales, dependiendo de las células destinatarias específicas (interneuronas o células piramidales).

Se ha demostrado que la activación de los receptores 5-HT_{2C} deprime la corriente de K^+ , efecto que quizá contribuye a la respuesta excitadora. El receptor 5-HT₄, ligado a la activación de la adenilciclase, también despierta una despolarización neuronal lenta mediada por una menor conductancia del K^+ . No se conoce la razón por la que dos familias de receptores de 5-HT vinculadas a distintas vías de señales pueden despertar una acción neurofisiológica común. Aún existe otro receptor, el receptor 5-HT_{1P}, que desencadena una despolarización lenta. Este receptor, ligado a la activación de la adenilciclase, se limita al sistema nervioso intestinal (Gershon, 2007).

- El único perfil farmacológico del receptor 5-HT_{1P} es más parecido al receptor 5-HT₇. La despolarización rápida despertada por los receptores 5-HT₃ refleja la regulación directa de un conducto iónico intrínseco a la estructura del receptor mismo. La corriente de entrada inducida por el receptor 5-HT₃ tiene las características de un conducto selectivo de cationes operado por ligandos. La despolarización de la membrana es

mediada por un aumento simultáneo en la conductancia de Na^+ y K^+ , similar al receptor colinérgico nicotínico.

Los receptores 5-HT₃ se han clasificado en el SNC y en los ganglios simpáticos, los principales nervios parasimpáticos y simpáticos aferentes y en las neuronas intestinales. Las propiedades farmacológicas de los receptores 5-HT₃, que difieren de las de otros receptores de 5-HT, sugieren que pueden existir múltiples subtipos de receptores 5-HT₃ que quizá corresponden a distintas combinaciones de subunidades (Tabla 3, Jensen, 2008).

Tabla 3 Efectos electrofisiológicos de los receptores serotoninérgicos (Sanders- Bush, 2012).

SUBTIPO	RESPUESTA
5-HT _{1A,B}	Aumenta la conductancia de K^+ Hiperpolarización
5-HT _{2A} /5-HT _{2C}	Reduce la conductancia de K^+ Despolarización lenta
5-HT ₃	Regulación de Na^+ , K^+ Despolarización rápida
5-HT ₄	Reduce la conductancia de K^+ Despolarización lenta

- **Ciclo sueño-vigilia:** Una de las primeras conductas en las que se identificó la función de la 5-HT fue en el control del ciclo sueño-vigilia. Después de las investigaciones precursoras en gatos, en muchos estudios se demostró que el agotamiento de 5-HT con *p*-clorofenilalanina, inhibidor de la triptófano hidroxilasa, desencadena insomnio que es revertido por el precursor de la 5-HT, el 5-hidroxitriptófano. Por el contrario, el tratamiento con l-triptófano o con agonistas no selectivos de la 5-HT acelera el inicio del sueño y prolonga la duración total del sueño. Los antagonistas de la 5-HT pueden aumentar y disminuir el sueño de onda corta, lo que quizá refleja su interacción y oposición con diversos subtipos de los receptores de 5-HT. Un hallazgo relativamente constante en los seres humanos y animales de laboratorio, es el aumento del sueño de onda lenta después de administrar un antagonista selectivo de los receptores 5-HT_{2A/2C}, como la ritanserina. (Jouvet, 1999).
- **Conducta:** Los cambios conductuales que generan los fármacos que interactúan con los receptores de 5-HT son muy variados. Muchos modelos animales de conducta, para evaluar inicialmente las propiedades agonistas y antagonistas de los fármacos, dependen de respuestas motoras o reflejas aberrantes como los reflejos del sobresalto, la abducción de las patas traseras, los movimientos de la cabeza y otras conductas estereotipadas.

Algunos paradigmas de la conducta, como la discriminación farmacológica, ofrecen modelos de activación de receptores específicos de 5-HT que son útiles para investigar la acción de fármacos activos en el SNC, incluidos los fármacos que actúan con la 5-HT. Por ejemplo, las investigaciones sobre el mecanismo de acción de los fármacos alucinógenos dependen en gran parte de la discriminación farmacológica (Winter, 2009).

- **Plaquetas:** Las plaquetas difieren de los demás elementos formes de la sangre por su expresión de mecanismos para la captación, almacenamiento y liberación por endocitosis de la 5-HT. Las plaquetas no sintetizan 5-HT, sino que la adquieren a partir de la circulación y la almacenan en gránulos secretores por medio de transporte activo, de manera similar a lo que ocurre en las terminaciones nerviosas serotoninérgicas (Sanders- Bush, 2012)
- **Sistema cardiovascular:** La respuesta clásica de los vasos sanguíneos a la 5-HT es contracción, especialmente en los lechos esplácnico, renal, pulmonar y cerebral. Asimismo, la 5-HT induce gran variedad de respuestas en el corazón que son resultado de la activación de múltiples subtipos de receptores de 5-HT, el estímulo o la inhibición de la actividad nerviosa autónoma o el dominio de las respuestas reflejas a la 5-HT. Por lo tanto, la 5-HT tiene efectos tanto inotrópicos como cronotrópicos positivos sobre el corazón que pueden ser amortiguados por el estímulo simultáneo de los nervios aferentes desde los barorreceptores y quimiorreceptores (Kaumann, 2006)
- **Aparato digestivo:** Las células enterocromafines en la mucosa gástrica constituyen el lugar de síntesis y de la mayor parte del almacenamiento de 5-HT en el organismo y constituyen la fuente de la 5-HT circulante. Estas células sintetizan 5-HT a partir de triptófano, por medio de TPH1 y almacenan 5-HT y otros autacoides, como el péptido vasodilatador, sustancia P y otras cianinas. La liberación basal de 5-HT intestinal aumenta por la distensión mecánica, como la que causan los alimentos y por el estímulo vagal eferente. La 5-HT liberada penetra en la vena porta y posteriormente es metabolizada por la MAO-A en el hígado. La 5-HT que sobrevive a la oxidación hepática es capturada por las plaquetas o bien es captada rápidamente por el endotelio de los capilares pulmonares y desactivada. La 5-HT que es liberada a partir de las células enterocromafines también actúa en ese mismo sitio regulando la función digestiva (Tabla 4, Gershon, 2007).

Tabla 4 *Acciones de la 5-HT en el aparato digestivo. (Sanders- Bush E, 2012).*

LUGAR	RESPUESTA	RECEPTOR
Células enterocromafines	Liberación de 5-HT	5-HT ₃
	Inhibición de la liberación de 5-HT	5-HT ₄
Células de los ganglios intestinales (presinápticas)	Liberación de ACh	5-HT ₄
	Inhibición de la liberación de ACh	5-HT _{1P} , 5-HT _{1A}
Células de los ganglios intestinales (postsinápticas)	Despolarización rápida	5-HT ₃
	Despolarización lenta	5-HT _{1P}
Músculo liso intestinal	Contracción	5-HT _{2A}
Músculo liso del fondo gástrico	Contracción	5-HT _{2B}
Músculo liso del esófago	Contracción	5-HT ₄

ACh, acetilcolina.

- **Agresión e impulsividad:** Los estudios en animales de laboratorio y seres humanos sugieren que la 5-HT tiene una función primordial en la agresión e impulsividad. Muchos estudios en humanos revelan que existe una correlación entre la concentración reducida de 5-HIAA en el líquido cefalorraquídeo y la impulsividad violenta y la agresión. Al igual que con muchos efectos de la 5-HT, los estudios farmacológicos sobre la conducta agresiva en animales de laboratorio aún no son definitivos, pero sugieren que la 5-HT participa de alguna forma. En dos estudios genéticos se ha reforzado y amplificado esta idea. Los ratones con ciertos genes desactivados que carecen de receptores 5-HT_{1B}, son extremadamente agresivos (Saudou, 1994), lo que sugiere que los receptores 5-HT_{1B} participan en la embriología de las vías neuronales importantes en la agresión o bien mediando directamente la conducta agresiva. En un estudio genético en seres humanos se identificó una mutación puntual en el gen que codifica la MAO-A que se acompañó de agresividad excesiva y retraso mental (Brunner, 1993) y esto se ha confirmado en ratones con ciertos genes desactivados que carecen de la MAO-A (Cases, 1995).
- **Ansiedad y depresión:** Los efectos que tienen los fármacos que actúan sobre la 5-HT en los trastornos de ansiedad y depresión, al igual que los efectos de los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRI, *selective serotonin reuptake inhibitors*) sugieren que la 5-HT participa en la mediación neuroquímica de estos trastornos. Los ratones mutantes que carecen del transportador de 5-HT muestran ansiedad y un fenotipo "similar al depresivo" (Fox, 2007).

Los fármacos similares a la 5-HT que poseen efectos clínicos en la ansiedad y la depresión tienen efectos diversos en los modelos animales clásicos de estas enfermedades, dependiendo del paradigma experimental, la especie y la cepa. Por ejemplo, el ansiolítico **buspirona** agonista parcial

de los receptores 5-HT_{1A}, no reduce la ansiedad en los paradigmas clásicos de aproximación distanciamiento utilizados para la creación de benzodiazepinas ansiolíticas. No obstante, la bupiriona y otros agonistas de los receptores de 5-HT_{1A} han sido efectivos en otros estudios conductuales en animales utilizados para pronosticar sus efectos ansiolíticos. Además, los estudios en ratones con desactivación de los receptores 5-HT_{1A}, sugieren que estos receptores participan en la ansiedad y quizá en la depresión. Los agonistas de ciertos receptores de la 5-HT, incluidos los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} tienen propiedades ansiógenas tanto en estudios realizados con animales de laboratorio como en seres humanos (Delgado, 1990).

V.4.5. Agonistas y Antagonistas de los receptores de 5-HT.

Agonistas de los receptores de 5-HT

Los agonistas (componente que tiene la capacidad de aumentar la actividad que realiza otra sustancia) directos de los receptores de 5-HT poseen estructuras químicas distintas así como diversas propiedades farmacológicas, se pueden pronosticar a partir de múltiples subtipos de receptores de 5-HT. Los agonistas selectivos de los receptores 5-HT_{1A} han ayudado a conocer las funciones de este receptor en el cerebro y el resultado ha sido la creación de una clase de fármacos contra la ansiedad que comprenden a la bupiriona y otros medicamentos en investigación, como gepirona e ipsapirona. Los agonistas selectivos de los receptores 5-HT_{1B/1D}, como el sumatriptán, poseen propiedades singulares que tienen como resultado la contracción de los vasos sanguíneos intracraneales siendo efectivas en el tratamiento de la jaqueca aguda. Actualmente se están fabricando diversos agonistas selectivos de los receptores 5-HT₄ para el tratamiento de los trastornos digestivos. Estos agonistas se describen con más detalle en los capítulos que estudian el tratamiento de las enfermedades correspondientes (Tabla 5).

Tabla 5 **Receptores Serotoninérgicos: Principales acciones y trastornos clínicos.** (Sanders- Bush, 2012)

RECEPTOR	ACCIÓN	EJEMPLOS DE FÁRMACOS	TRASTORNO CLÍNICO
5-HT _{1A}	Agonista parcial	Bupiriona, ipsapirona	Ansiedad, depresión
5-HT _{1D}	Agonista	Sumatriptán	Jaqueca
5-HT _{2A/2C}	Antagonista	Metisergida, risperidona, ketanserina	Jaqueca, depresión, esquizofrenia
5-HT ₃	Antagonista	Ondansetrón	Emesis por quimioterapia
5-HT ₄	Agonista	Cisaprida	Trastornos digestivos
SERT (transportador de 5-HT)	Inhibidor	Fluoxetina, sertralina	Depresión, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno de pánico, fobia social, trastorno de estrés postraumático

Agonistas de los receptores de 5-HT y jaqueca.

La jaqueca o migraña afecta al 10-20% de la población. Si bien se trata de un síndrome neurológico específico, sus manifestaciones varían considerablemente. Los tipos principales de jaqueca son: jaqueca sin aura (jaqueca común), jaqueca con aura (jaqueca clásica, que comprende a los subtipos de jaqueca con aura típica, jaqueca con aura prolongada, aura sin jaqueca, jaqueca con aura precoz) y otras variedades aún más raras. La eficacia de los fármacos contra la jaqueca varía con la presencia o ausencia de aura, la duración de la cefalea, su gravedad e intensidad y otros factores ambientales y genéticos aún desconocidos (Silberstein, 2008).

La evidencia sugiere que la 5-HT constituye un mediador fundamental en la patogenia de la jaqueca, incluye lo siguiente:

- ✓ Las concentraciones plasmáticas y plaquetaria de 5-HT varían durante las distintas fases del episodio de jaqueca.
- ✓ Las concentraciones urinarias de 5-HT y sus metabolitos aumenta durante la mayor parte de la jaqueca.
- ✓ Algunas jaquecas son desencadenadas por ciertas sustancias (p.ej., reserpina y fenfluramina) que liberan 5-HT a partir de los depósitos intracelulares.

Conforme a la hipótesis de la 5-HT, los agonistas de los receptores de la 5-HT se han convertido en la base para el tratamiento *inmediato* de la jaqueca. Los tratamientos que tienen la finalidad de *prevenir* las jaquecas, como los antagonistas β -adrenérgicos y los antiepilépticos más recientes, tienen mecanismos de acción que, supuestamente, son independientes de la 5-HT (Mehrotra, 2008).

Agonistas de los receptores 5-HT₁

- **Triptanos:** Los triptanos (derivados del indol) son fármacos efectivos para el tratamiento agudo de la jaqueca (Se limitan a la familia de los receptores 5-HT₁). Un avance importante en el tratamiento de esta enfermedad es el potencial que tienen estos fármacos para reducir, en lugar de exacerbar, las náuseas y vómitos que son síntomas que acompañan a la jaqueca. Los compuestos existentes son almotriptán, eletriptán, frovatriptán, naratriptán, rizatriptán, sumatriptán y zolmitriptán. El sumatriptán para la jaqueca también se comercializa en combinación con naproxeno.
- **Metisergida:** La metisergida (butanolamida del ácido 1-metil-dlisérgico) es análoga de la metilergonovina, no es ni un antagonista selectivo ni un agonista siempre interactúa con los receptores 5-HT₁, pero al parecer sus efectos terapéuticos reflejan el bloqueo de los receptores 5-HT₂; también

bloquea a los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}, pero en algunas preparaciones su actividad es de un agonista parcial.

- **Dietilamida del ácido-d-lisérgico (LSD): Agonistas** no selectivos de 5-HT, modifica profundamente la conducta del ser humano, despertando alteraciones de la percepción como distorsión sensitiva (especialmente visual) y alucinaciones a dosis de sólo 1 µg/kg. En el rafe, el LSD y la 5-HT son igual de efectivos; sin embargo, en las áreas de proyecciones axonales serotoninérgicas (como los centros de relevo visuales) el LSD es mucho menos efectivo que la 5-HT. En un modelo de conducta animal que se considera que refleja los efectos subjetivos de las drogas, al parecer los efectos del estímulo discriminativo del LSD y otros alucinógenos, son mediados por la activación de los receptores 5-HT_{2A} (Winter, 2009).
- **8-hidroxi-(2-N, N-dipropilamino)-tetralina (8-OH-DPAT):** La 8-OH-DPAT se considera un agonista selectivo de los receptores 5-HT_{1A}. No interactúa con otros miembros de la subfamilia de receptores 5-HT₁ ni con los receptores 5-HT₂, 5-HT₃ o 5-HT₄, aunque se ha descrito la activación del receptor 5-HT₇. La 8-OH-DPAT, reduce la velocidad de la descarga de las células del rafe al activar a los autorreceptores 5-HT_{1A} e inhibe la descarga neuronal en los campos terminales (p. ej., hipocampo) por su interacción directa con los receptores postsinápticos 5-HT_{1A}.
- **Buspirona:** Una serie de arilpiperazinas de cadena larga, como la buspirona, gepirona e ipsapirona, son agonistas parciales selectivos de los receptores 5-HT_{1A}. Otras arilpiperazinas muy similares actúan como antagonistas de los receptores 5-HT_{1A}. La buspirona es el primer fármaco de esta serie utilizado en la clínica y es efectiva en el tratamiento de la ansiedad. Esta tiene propiedades ansiolíticas de las benzodiacepinas pero no interactúa con los receptores GABA_A ni presenta las propiedades sedantes y anticonvulsivas de las benzodiacepinas. La ausencia de estos efectos sedantes explica la razón por la que los pacientes prefieren las benzodiacepinas para aliviar su ansiedad.
- **m-clorofenilpiperazina (mCPP).** Mantiene acción de los receptores 5-HT_{1B} y/o 5-HT_{2A/2C}. La m-CPP es un metabolito activo del antidepresivo trazodona y se ha utilizado para probar la función de la 5-HT cerebral en el ser humano, donde modifica una serie de parámetros neuroendocrinos y desencadena efectos conductuales profundos con ansiedad como síntoma principal. Los estudios en animales sugieren que los receptores 5-HT_{2C} participan más en las acciones ansiógenas de la mCPP. La mCPP aumenta la secreción de cortisol y prolactina, probablemente por la activación combinada de los receptores 5-HT₁ y 5-HT_{2A/2C}, además, aumenta la secreción de la hormona del crecimiento, aparentemente por un mecanismo independiente de la 5-HT (Sanders-Bush, 2005).

Antagonistas de los receptores de 5-HT

Las propiedades de los antagonistas (Compuestos que provocan un bloqueo al unirse al receptor) de los receptores de la 5-HT también son muy variables.

- **Ketanserina:** La ketanserina bloquea de forma potente los receptores 5-HT_{2A}, con menor potencia a los receptores 5-HT_{2C} y carece de efectos significativos sobre los receptores 5-HT₃ o 5-HT₄ y los miembros de la familia de receptores 5-HT₁. La ketanserina también tiene alta afinidad por los receptores alfa adrenérgicos y los receptores histaminérgicos H₁, reduce la presión arterial en los pacientes con hipertensión en forma comparable a la que se observa con los antagonistas de los receptores β -adrenérgicos o los diuréticos. Al parecer este medicamento reduce el tono de la capacitancia y resistencia vascular. Probablemente este efecto es secundario al bloqueo de los receptores α ₁-adrenérgicos, no al bloqueo de los receptores 5-HT_{2A}. La ketanserina inhibe la agregación plaquetaria inducida por 5-HT pero no reduce en forma significativa el potencial agregante de otros fármacos.
- **Clozapina:** La clozapina, antagonista de los receptores 5-HT_{2A/2C}, tiene gran afinidad por dos subtipos de los receptores dopaminérgicos. Una estrategia frecuente para diseñar otros antipsicóticos atípicos es combinar las acciones bloqueadoras de los receptores 5-HT_{2A/2C} y los receptores dopaminérgicos D₂ en la misma molécula (Meltzer, 2008).
- **Ciproheptadina:** La Ciproheptadina también bloquea el efecto de la 5-HT en el músculo liso al unirse a los receptores 5-HT_{2A}. Además posee actividad anticolinérgica débil y propiedades depresoras débiles del sistema nervioso central.
- **Metisergida:** La metisergida (butanolamida del ácido 1-metil-*D*-lisérgico) es un análogo de la metilergonovina Posee actividad agonista y antagonista en múltiples receptores de la 5-HT (Sanders-Bush, 2005)

V.5. Transporte a través de la membrana.

Una célula o un orgánulo no pueden estar totalmente abiertos ni totalmente cerrados a su entorno. Su interior debe estar protegido frente a determinados compuestos tóxicos y deben captarse los metabolitos y eliminarse los productos de desecho. Dado que la célula debe manejar miles de sustancias, no es de extrañar que gran parte de la compleja estructura de las membranas esté dedicada a la regulación del transporte, consiste en una bicapa de fosfolípidos que

rodea a la célula y permite la diferenciación entre el medio intracelular y extracelular (Mathews, 2013).

Para que se lleve a cabo este intercambio la membrana presenta una permeabilidad selectiva y mecanismos que permiten a las sustancias cruzar, estos mecanismos los podemos dividir en dos grupos: a) Permiten el paso de macropartículas como exocitosis y endocitosis. b) Permiten el paso de micropartículas como osmosis, filtración, transporte activo, difusión simple y difusión facilitada. La glucosa y los aminoácidos utilizan un mecanismo de transporte facilitado para cruzar la membrana; mediante un incremento de transportadores de la membrana la insulina es capaz de aumentar en más de 10 veces el ingreso de glucosa a las células (Giovanni and Mann, 2003).

Las membranas moleculares contienen varias proteínas de transporte, cada una responsable de transferir un determinado soluto o una clase de solutos a través de la membrana. Hay dos clases de proteínas de transporte a través de la membrana, transportadora y de canales, las cuales sufren un cambio de conformación a través de sus moléculas, puede ser activo o pasivo; el mediado por los canales es siempre pasivo ya que poseen espacios acuosos a todo lo largo de su estructura molecular y permite el libre movimiento de ciertos electrones y moléculas.

Las proteínas transportadoras se unen específicamente a solutos y los transfieren a través de la membrana celular mediante cambios conformacionales que exponen al centro de unión al soluto, secuencialmente a lado de la membrana y al otro, algunos transportadores sencillamente transportan un soluto a favor de su gradiente, mientras que otros actúan como bombas que transportan un soluto en contra de su gradiente electroquímico. Utilizando la energía suministrada por la hidrólisis de ATP por el gradiente favorable de otro soluto (Na^+ , H^+ o luz), para impulsar la serie de cambios conformacionales necesarios de una manera ordenada. Los transportadores pertenecen a un número reducido de familias las cuales comprenden proteínas de secuencias de aminoácidos similares, que actúan mediante un mecanismo semejante (Voet, 2008).

V.5.1. Transporte iónico

Los canales iónicos (se forma a partir de poros acuosos a través de la membrana lipídica y permiten que los iones inorgánicos de tamaño y carga adecuados crucen la membrana a favor de sus gradientes electroquímicos a velocidades de unas 1000 veces superiores que las que se realizan con un transportador), actúan coordinadamente de formas complejas, controlando el comportamiento de las células excitables eléctricamente principalmente en la membrana del cono axónico. Los canales están regulados y generalmente se abren transitoriamente

mediante la perturbación de la membrana, como un cambio en el potencial de membrana (canales regulados por voltaje) o la unión de neurotransmisores (canales regulados por un receptor) (Guyton, 2001).

Los canales iónicos situados en la membrana postsináptica suelen ser de dos clases: canales catiónicos, estos al abrirse permiten el paso, casi siempre de los iones Na^+ , K^+ o Ca^{++} ; y canales aniónicos que facilitan el paso de los iones Cl^- , pero también de diminutas cantidades de otros aniones. Los canales catiónicos regulados por voltaje son responsables de la generación de potenciales de acción auto amplificados en células como neuronas y fibras musculares. Estos canales regulados por un receptor convierten las señales químicas en señales eléctricas en las sinapsis químicas.

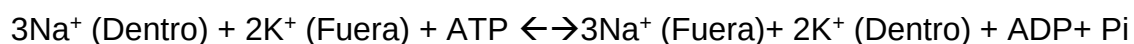
Todo potencial eléctrico a través de la membrana se opone al paso de los iones, a pesar de las diferencias de concentración entre el interior y exterior de la membrana, siempre que dicho potencial tenga polaridad y la magnitud adecuadas (Brossmer, 1975).

La bomba de sodio y potasio $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$ junto con los canales de fuga selectivos de K^+ desempeñan un papel importante en el establecimiento del potencial de membrana en reposo de las células. Esta enzima mantiene los gradientes de concentración de Na^+ y K^+ , los cuales en condiciones de reposo presentan una concentración para el Na^+ en el líquido extracelular elevada (142 mEq/L), pero baja dentro de la neurona (14 mEq/L). Una concentración elevada de K^+ dentro del soma neuronal 120 mEq/L), pero reducida en el líquido extracelular (4.5 mEq/L) (Koester, 2001).

V.5.2. La Bomba de Sodio y Potasio " $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$ " de membranas plasmáticas.

Estructura de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$: La bomba de sodio y potasio ($\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$, sodio- potasio adenosín trifosfatasa, EC 3.6.1.37) es uno de los sistemas de transporte activo de las membranas celulares (Skou, 1992).

La $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$ se clasifica dentro del grupo de ATPasas del tipo P cada una de estas ATPasas se fosforila y desfosforila secuencialmente durante el ciclo de bombeo. La típica baja relación Na^+ / K^+ del espacio intermolecular depende de la actividad de la bomba de sodio y potasio, una enzima asociada a la membrana que utiliza la energía de la hidrólisis del Adenosín Trifosfato (ATP). La estequiometría global de la relación de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$ (Fig.7) es:



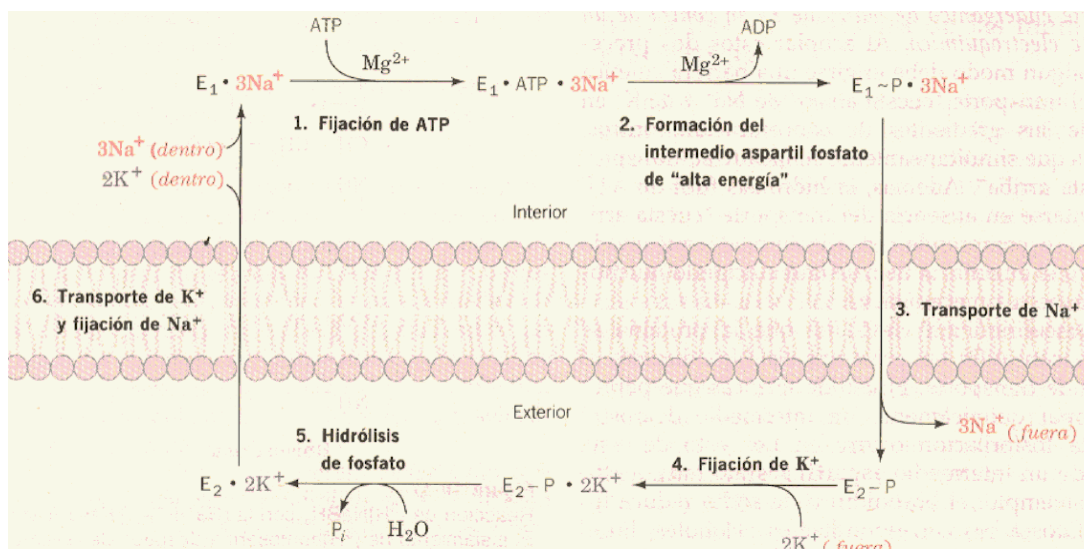


Figura 7. Esquema para el transporte activo de Na^+ y de K^+ efectuado por la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$.
1) $\text{E}_1 \cdot 3\text{Na}^+$, adquiere Na^+ dentro de la célula, se une al ATP para formar el complejo ternario $\text{E}_1 \cdot \text{ATP} \cdot 3\text{Na}^+$. **2)** El complejo ternario formado reacciona para dar el intermediario aspartil fosfato de "alta energía" $\text{E}_1 \sim \text{P} \cdot 3\text{Na}^+$. **3)** El intermediario de alta energía se relaja a su conformación de "baja energía", $\text{E}_2 \cdot 3\text{Na}^+$, y libera su Na^+ unido al exterior de la célula, por lo tanto el Na^+ se transporta a través de la membrana. **4)** El $\text{E}_2 \sim \text{P}$ se une a 2K^+ del exterior de la célula para formar $\text{E}_2 \sim \text{P} \cdot 2\text{K}^+$. **5)** El grupo fosfato se hidroliza rindiendo $\text{E}_2 \cdot 2\text{K}^+$. **6)** El $\text{E}_2 \cdot 2\text{K}^+$ cambia su conformación, liberando sus 2K^+ en la célula (interior) y es remplazado con 3Na^+ , para completar el ciclo de transporte. (Voet, 2008).

La $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$ bombea Na^+ al exterior y K^+ hacia el interior de la célula; esto se hace en una relación estequiométrica de 3:2 respectivamente. El sustrato primario es el ATP intracelular, el cual se hidroliza, dando lugar a ADP y un grupo fosfato, la energía liberada en una reacción es suficiente para la actividad de la enzima, por lo que se produce un cambio en la conformación por la fosforilación de la proteína, con lo que una vez unidos los 3 cationes Na^+ a sus sitios específicos en la sub unidad catalítica, conlleva a su liberación al exterior de la célula, esto hace posible la unión de los iones de K^+ en la sección extracelular que provoca la desfosforilación de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$ y la posterior introducción de los cationes al medio intracelular para restablecer su estado inicial (Voet, 2008).

El gradiente iónico creado por $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$ es necesario para muchos procesos comunes, así como de células específicas. La enzima está implicada en el equilibrio osmótico, el mantenimiento del volumen de la célula, el potencial de reposo de la mayoría de las células, la excitabilidad de las células musculares y neuronales, y el transporte secundario acoplado de H^+ , Ca^{++} , glucosa, aminoácidos, neurotransmisores a través de la membrana plasmática. Además de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$ impulsa el movimiento vectorial de agua y sal a través de muchos epitelios. El interesante descubrimiento de que existe no una sino

múltiples formas de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$ en células animales provee las bases de la heterogeneidad de la enzima (Blanco, 2005)

Las isoenzimas de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$ son oligómeros que resultan de la unión de varias fórmulas moleculares o isoforma de dos polipéptidos principales: La subunidad α y la β .

La $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$ está formada por un tetrámero: Dos subunidades α con peso molecular entre 110 y 112 kDa. Y sub unidades β de peso molecular entre 40 y 60 kDa. El complejo atraviesa la membrana plasmática con 10 segmentos α -Helicoidales hidrofílicos que se entienden hacia el espacio extracelular y hacia el citoplasma. La sub unidad α es la sub unidad catalítica que promueve la hidrólisis de ATP mientras se fosforila, así mismo esta sub unidad tiene los sitios de unión para el Na^+ y para el ATP en la superficie intracelular, en la porción extracelular de la enzima se encuentra el dominio de unión para el K^+ y algunos esteroides cardiotónicos como la ouabaína. La subunidad β una glicoproteína auxiliar, posee una única hélice transmembrana y un gran dominio extracelular, tiene la función de estabilizar la subunidad α , facilitar su encadenamiento y la inserción en la membrana celular (Jorgensen, 2003)). En algunos tejidos está asociada la subunidad γ , e la cual se sabe muy poco sobre su función (Fig. 8, McDonough, 1990).

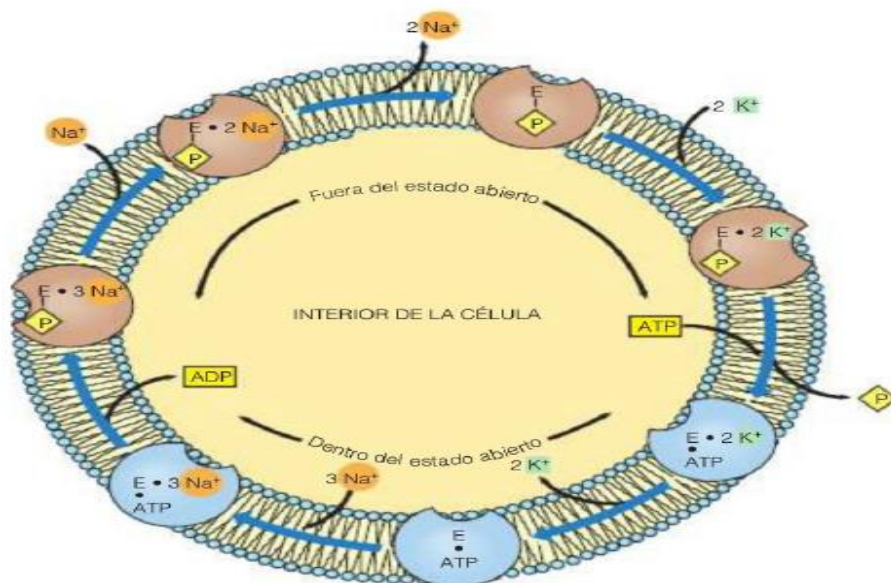


Figura 8. **Diagrama esquemático del ciclo funcional de la bomba de $\text{Na}^+ \text{--K}^+$.** Se supone que la subunidad α tiene dos estados, uno solo abierto hacia fuera (marrón) y el otro, solo abierto hacia dentro (azul). Un punto (.) entre los dos símbolos indica una unión no covalente; una línea (l) indica una unión covalente (como en la fosforilación). (Mathews, 2013).

La actividad de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPase}$ se observa en su mayoría en las células gliales, las cuales realizan el trabajo de “limpieza” en las diferentes áreas del cerebro, relacionada también con la captura de metabolitos y posiblemente neurotransmisores. La $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPase}$ es una familia multiétnica. Tanto la subunidad α como la β poseen isoformas codificadas por genes independientes localizados en distintos cromosomas. Hasta ahora se han identificado cuatro isoformas de la subunidad α ($\alpha 1\text{--}\alpha 4$) y tres isoformas de la subunidad β ($\beta 1\text{--}\beta 3$) (Arteaga, 2004).

La actividad de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPase}$ esta disminuida en la membrana celular de muchos tejidos obtenidos de animales diabéticos a nivel periférico entre los que se incluyen riñón, corazón, intestino y nervios periféricos; lugares donde este defecto tienen un papel importante en el desarrollo de complicaciones de la diabetes mellitus. En la diabetes mellitus los niveles de las isoenzimas α de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPase}$ varían según la ubicación y la isoforma, pero no hubo cambios significativos en las subunidades β . La diabetes mellitus se ha demostrado que altera los componentes de la membranas celulares jugando un papel importante en la expresión de isoenzimas ($\alpha 1, \alpha 2, \alpha 3$) al igual de cambios en su afinidad a la ouabaína, lo que influye la estructura de la membrana y función del sistema nervioso (Vague, 2004).

V.5.3. Modulación de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPase}$.

La regulación es compleja ya que su actividad puede ser regulada por diferentes factores intrínsecos y extrínsecos. Los factores de regulación intrínsecos de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPase}$: ATP, ouabaína, concentraciones de Na^+ y Mg^{++} intracelulares y K^+ extracelular (Polvani, 1989).

La regulación extrínseca de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPase}$ en diversos tejidos está bajo el control de una serie de hormonas circulantes y neurotransmisores que participan en el control a corto y largo plazo sobre su actividad. (Ewarts, 1995). La regulación a corto plazo involucra generalmente efectos directos en el comportamiento cinético de la enzima o la translocación de bombas de sodio entre los depósitos intracelulares y membrana plasmática. La regulación a largo plazo induce la síntesis de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPase}$ o su degradación. Sustancias como la hormona de la tiroides y aldosterona incrementan la expresión de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPase}$, mientras que las catecolaminas tienen diferentes efectos sobre la actividad de la bomba mediadas por la fosforilación reversible de la subunidad α , se observa un efecto inhibitorio por dopamina y un efecto estimulante por noradrenalina, epinefrina y glucagón. La insulina presenta una rápida acción, posiblemente estimula la actividad de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPase}$ al incrementar la distribución

subcelular de las bombas, el contenido de la Na^+ citoplasmático y también la aparente afinidad de la enzima al sodio. La bomba de sodio y potasio encontrada en las células del corazón donde la enzima actúa como un regulador indirecto de la contracción, es una diana importante para glucósidos cardiacos, durante la terapia de la insuficiencia cardiaca donde la ouabaína es un inhibidor específico de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$ (Clausen, 1987).

Se ha observado un aumento de en la actividad $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$ al administrar L-Trp y 5HTP, al someter a los animales a un esquema de desnutrición, con o que induce un aumento de la concentración de 5-HTP cerebral, llegando a la conclusión de que la 5-HTP, directa o indirectamente está implicada en la activación de la enzima (Hernández, 1979).

Crecimiento axonal del cerebro de fetos de rata que la 5-HT no modifica la cinética enzimática a diferencia de lo que ocurre en el cerebro del adulto, sugiriendo que la regulación de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$ por la 5-HT puede estar presente en estas tempranas estructuras, pero si se observa un cambio importante de afinidad por la Na^+ por parte de la enzima y sensibilidad por ouabaína, mostrando que el complejo enzimático en etapas tempranas del desarrollo se encuentra en un periodo de transición comparado con la configuración adulta. (Mercado et al., 1994).

Se ha descrito que la serotonina puede modificar la cinética de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$ en el cerebro de la rata, sitio en donde el neurotransmisor ejerce efectos distintos dependiendo del tipo de célula con la que interactúe, en las células gliales incrementa la velocidad de reacción de la enzima, mientras que en las neuronas se inhibe. (Mercado et al., 1992). Se ha sugerido que en el cerebro hay una regulación a la edad adulta por serotonina y que dicho efecto esta mediado por receptores específicos, hasta el momento no se conoce si en otros tipos de células que no sean nerviosas ocurra la interacción entre serotonina y la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$ (Peña et al., 1999).

Se observó en ratas que las fracciones de membranas gliales del cerebelo y corteza cerebral se altera la regulación serotoninérgica en la actividad de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$ al presentar DME en comparación con animales control (Bautista, 2008).

Se ha demostrado que la administración de L- triptófano promueve la espermatogénesis de la rata con DME incrementando la cantidad de espermatozoides, además incrementa la actividad de la $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPasa}$, mejora la viabilidad y motilidad espermáticas (Esquivel, 2015).

V.6. Buspirona

Azaspirodecanodionas: Las azaspirodecanodionas son una familia de agentes ansiolíticos (suprimen o mejoran padecimientos de ansiedad). Entre estas sustancias se incluye la buspirona, gepirona, tandospirona, ipsapirona, flesinoxán, el sunepitron y el adatanserin. Las azaspirodecanodionas son sustancias con un perfil ansiolítico muy potente (parecido al mostrado por las benzodiacepinas). No obstante, tienen la desventaja de la lentitud del inicio de la acción (parecido al mostrado por algunos antidepresivos). Son sustancias que no provocan relajación de la musculatura esquelética ni tienen efectos hipnóticos o sedantes. Tampoco han mostrado afectación sobre el componente motor o sobre la memoria (Redolar Ripoll, 2008)

Clorhidrato de buspirona.

Primer ansiolítico no sedante y no perteneciente al grupo de benzodiacepinas (BZD) desarrollado y comercializado. Se sintetizó por primera vez en 1968 de manera fortuita en el intento de crear un neuroléptico más eficaz.

Fue administrada en pacientes que sufrían esquizofrenia de fase II, teniendo resultados desalentadores, sin embargo en pacientes con criterio de diagnóstico de ansiedad, resultaron claramente positivos; Aprobada por la (FDA) Food and Drug Administration en 1986 y en agosto de este año empezó a comercializarse. (Fig. 9, De Martinnis, 2000)

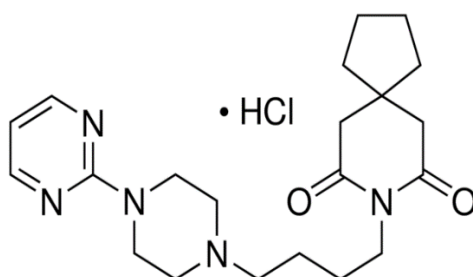


Figura 9. **Estructura química de clorhidrato de Buspirona.** Perteneciente a fármacos azaspirodecanodionas. Sinónimo *N*-[4-[4-(2-Pirimidil)-1-piperasinil] butil]-8-azaspiro [4.5] decano-7,9-diona clorhidrato. (ALDRICH, SIGMA & ALDRICH, 2014)

V.6.1. Mecanismo de acción.

La buspirona y los agentes análogos son agonistas parciales del receptor serotoninérgico 5-HT_{1A}.

Tiene propiedades ansiolíticas de las benzodiacepinas pero no interactúa con los receptores GABA ni presenta las propiedades sedantes y anticonvulsivas de las benzodiacepinas. Han mostrado que estas sustancias muestran una alta fijación

en estructuras relacionadas con la neurotransmisión serotoninérgica, como los núcleos del rafe, el septum lateral, el córtex frontal, el hipocampo, la corteza entorrinal y el núcleo interpeduncular. El hecho de que la aparición de su acción terapéutica sufra un cierto retraso después de la administración del fármaco sugiere que su mecanismo de acción podría implicar cambios adaptativos que se dan en la regulación de los receptores 5-HT_{1A}. La bupiriona es capaz de disminuir la actividad serotoninérgica de las neuronas de los núcleos del rafe, de la amígdala, del septum lateral y del hipocampo.

De todas maneras, algunos estudios han mostrado que la bupiriona bloquea los receptores para dopamina tipo 2 (D₂). Del mismo modo, esta sustancia aumenta la excitabilidad de las neuronas noradrenérgicas del LC, lo cual explicaría por qué no produce sedación ni somnolencia (Fig. 10, Redolar Ripoll, 2008).

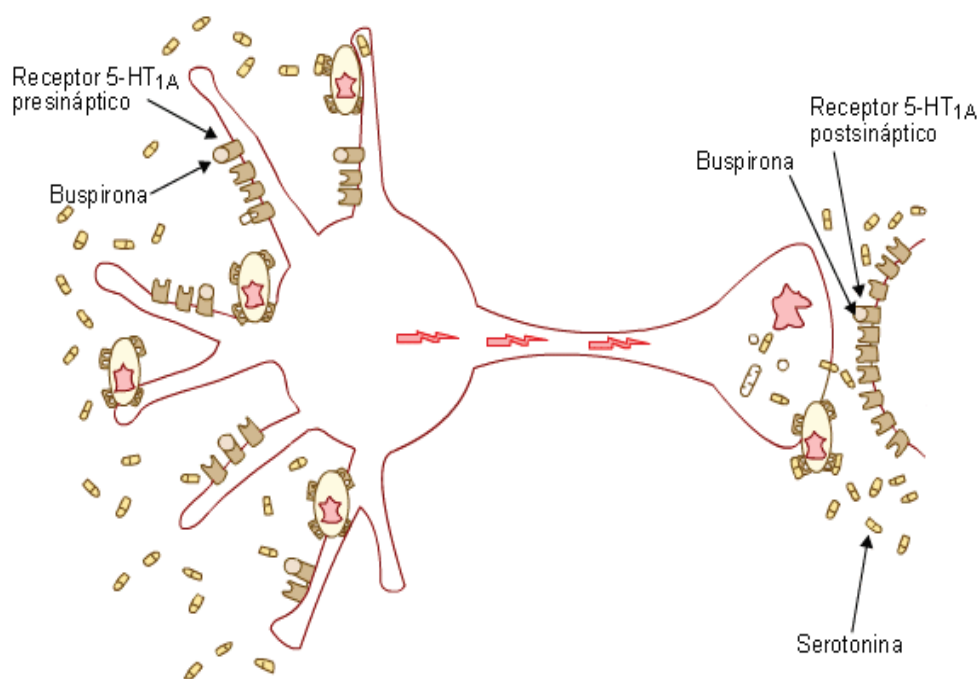


Figura 10. Mecanismo de acción de Bupiriona. Provoca una “regulación al alza” de los autor receptores somato dendríticos 5-HT_{1A}, que enlentece la activación de la neurona y que hace que se libere menos serotonina. El efecto de la bupiriona como agonista parcial sobre los receptores 5-HT_{1A} pos sinápticos podría estar relacionado con los efectos secundarios del fármaco (mareos y náuseas). El efecto de la bupiriona dependerá de las concentraciones del agonista completo (serotonina): si la serotonina se encuentra en concentraciones altas, la bupiriona tiene un efecto antagonista, ya que compite con la serotonina para unirse a los receptores 5-HT_{1A} y, al tener menos potencia que ésta (dado que la bupiriona es agonista parcial), tiene menos efecto neto. A pesar de esto, si hay muy poca serotonina, la bupiriona tiene un efecto agonista, ya que el efecto neto resultante acaba siendo mayor. (Redolar Ripoll, 2008).

En general, la bupiriona suprime la actividad serotoninérgica mientras que incrementa las actividades adrenérgicas y dopaminérgicas de las células. La bupiriona no inhibe la monoamina oxidasa, ni tiene una actividad significativa sobre los receptores benzodiazepínicos ni GABAérgicos. Sin embargo, la bupiriona muestra un cierto efecto inhibitorio sobre las vías neuronales mediado por el GABA.

In vitro, la bupiriona muestra una mayor afinidad hacia los receptores para serotonina tipo 1A, una afinidad moderada hacia los receptores para dopamina tipo 2 y una débil afinidad hacia los receptores para serotonina tipo 2. Los receptores para serotonina tipo 1A se encuentran en grandes cantidades en el rafe dorsal y en el hipocampo. La bupiriona se fija a los receptores 1A en estos lugares, en las neuronas presinápticas del rafe dorsal y en las neuronas postsinápticas del hipocampo. Los estudios en animales muestran que la bupiriona inhibe la velocidad de excitación de las neuronas que contienen 5-HT en el rafe dorsal (Eison, 1986).

La acción predominante de la bupiriona es un agonismo parcial o un antagonismo/agonismo mixto en los receptores 5-HT_{1A}. La bupiriona también se une a los receptores para Dopamina tipo 2 (DA₂), mostrando los efectos de un antagonista y un agonista dopaminérgico. La bupiriona bloquea los receptores presinápticos, mientras que sus efectos postsinápticos son conflictivos. La bupiriona se diferencia de la gepirona, un producto de estructura parecida en fase de investigación que no se fija a los receptores dopaminérgicos. La bupiriona aumenta la excitabilidad de las neuronas en el locus ceruleus, un área del cerebro donde se encuentra norepinefrina en grandes concentraciones, a diferencia de las benzodiacepinas que deprimen la excitabilidad en esta zona. Esta diferencia explicaría porque las benzodiacepinas causan somnolencia mientras que la bupiriona no lo hace. El resultado neto de todos estos efectos es la inhibición de la síntesis y liberación de segundos mensajeros. Sin embargo, como la ansiedad se cree que se ocasiona por varios procesos nerviosos, esta inhibición de la síntesis y liberación de serotonina no explica por complejo el efecto ansiolítico de la bupiriona. Clínicamente, la bupiriona alivia los síntomas asociados a un desorden de ansiedad generalizada tales como tensión motora (inquietud, crispación y tensión muscular) hiperactividad autonómica (sudoración, palpitaciones y taquicardia) y vigilancia.

Los efectos inmunosupresores de la bupiriona no están relacionados con su acción ansiolítica. La bupiriona no tiene actividad relajante muscular, anticonvulsivante y no produce dependencia cuando se administra crónicamente (Mahmood and Sahajwalla, 1999).

V.6.2. Farmacocinética.

La bupiriona se absorbe con rapidez a través del aparato digestivo. (Absorción oral con obtención de niveles plasmáticos máximo al cabo de 40-90 min de su ingestión) No obstante, el metabolismo de este fármaco hace que aproximadamente sólo un 4% del mismo llegue a la circulación sistémica.

El metabolismo de la bupiriona es fundamentalmente hepático 86% de la fijación a proteínas plasmáticas, metabolización hepática con producción de metabolitos activos menos potentes, semivida corta de 2 a 11 horas y excreción renal y sigue la vía oxidativa. Sin embargo, su metabolito principal (N-desmetilbupiriona) es conjugado. Tanto el agente como los metabolitos pueden ser excretados en la leche, aunque la mayor parte es eliminada por vía renal y, en menor grado, por vía biliar (Sweetman, 2007)

V.6.3 Farmacodinamia.

Indicaciones terapéuticas y pautas posológicas para su uso clínico

✚ **Ansiedad.** El trastorno de Ansiedad Generalizado (TAG) es la principal indicación terapéutica del fármaco. La eficacia de la bupiriona tiene características clínicas diferentes a las que se observan con BZD, quizá la más destacada sea la importante latencia de respuestas debida a la puesta en marcha de modulación de neurotransmisores y mecanismos intraneuronales. El hecho de que la bupiriona no produzca tolerancia física la convierte en una alternativa útil a las BZD en grupos de población que presentan abuso de sustancias. Se ha observado una menor eficacia del fármaco en pacientes previamente tratados con BZD, aunque ambas pueden emplearse de forma simultánea. La pauta de tratamiento se inicia, habitualmente, con 5 mg cada 8 horas, aumentando 5 mg/día cada 2 o 3 días hasta una media de 20-30 mg/día y un máximo recomendable de 60 mg/día. Debe tenerse en cuenta que es muy infrecuente un efecto inmediato del fármaco, aunque puede producirse. Se ha insinuado que puede ser efectiva en la prevención de crisis en trastorno por angustia y en casos de trastorno por estrés postraumático (TEP).

✚ **Depresión:** Se utiliza como agente potenciador del efecto serotoninérgico en depresiones resistentes combinada con un antidepresivo de primera línea, sobre todo un inhibidor selectivo de la receptación de serotonina (ISRS). Actúa reponiendo la 5-HT (enlenteciendo el flujo neuronal) como desestabilizando directamente los receptores 5-HT_{1A} ; Ha demostrado una eficacia superior al placebo en monoterapia en depresión con componente ansiolítico o sin este. Las dosis administradas son similares anteriormente en el apartado de ansiedad.

- ✚ **Otras indicaciones psiquiátricas:** Se ha utilizado con éxito de forma aislada en casos de hiperactividad y agresividad en autistas, para el tratamiento de los síntomas psicológicos asociados al consumo del alcohol; en trastornos del comportamiento, como irritabilidad, agitación o agresividad en adultos y síndrome premenstrual.
- ✚ **Otras indicaciones terapéuticas no psiquiátricas:** El empleo es muy limitado y con una dosis similar a los trastornos de ansiedad, se ha empleado en casos de cefalea tensional, deshabituación del tabaco y profilaxis de la migraña. Asimismo, es útil en ancianos y para el tratamiento de los trastornos mixtos, en los que la ansiedad se acompaña de sintomatología depresiva. Se ha descrito un caso de mejoría de los tics en un paciente aquejado de Síndrome de Gilles de Tourette sin respuestas al tratamiento con antipsicóticos (Tabla 6, Appelberg, 2001)

Tabla 6 **Comparación entre Benzodiacepinas y Buspirona.** (Salazar, 2009).

	BZN	BUSPIRONA
Efectos de monodosis	Sí	No
Tiempo hasta la eficacia completa	Días	Semanas
Dependencia	Muy posible	No
Alteración cognitiva	Sí	No
Sedación	Sí	No
Activación gabaérgica	Sí	No
Bienestar subjetivo	Sí	No
Efectos secundarios	Hipersedación Alteración amnésica	Astenia Nerviosismo
Equivalencia de dosis	Cloracepato: 20 mg / día Diazepam: 15 mg / día	15 mg / día

V.6.4 Contraindicaciones y precauciones especiales de empleo.

Este medicamento está contraindicado en casos de hipersensibilidad conocida al fármaco. Debe utilizarse con precaución en caso de enfermedad renal o hepática grave. Aunque se puede tomar tanto en ayunas como con alimentos, se recomienda mantener la misma pauta de asociación con las comidas (es decir, siempre en ayunas o siempre en alimentos), intentando evitar el zumo de pomelo en la dieta habitual, ya que aumenta la concentración plasmática máxima de

bupiriona. Dado que la bupiriona y las BZD no presentan tolerancia cruzada, la bupiriona nunca deberá sustituir a las BZD en tratamientos crónicos sin deshabitación previa.

V.6.5. Reacciones adversas asociadas.

Los efectos adversos de la bupiriona son, generalmente, infrecuentes, aunque moderadamente importantes y más habituales al principio del tratamiento. En la mayoría de los casos, la actividad prodopaminérgica de la bupiriona puede dar lugar a efectos secundarios que no son reacciones paradójicas, si no esperable por su efecto activador intrínseco (insomnio, inquietud). Alrededor de 10% de los pacientes tratados con este medicamento deben suspender administración. Las reacciones adversas más características están clasificadas por sistemas y prevalencias en la tabla 7.

Tabla 7 **Reacciones adversas asociadas al uso de bupiriona** (Salazar, 2009).

REACCIONES	DOPAMINÉRGICAS	GASTROINTESTINALES	SOBRE EL SNC	CARDIOVASCULARES
Esporádicas (1-9%)	▪ Acatisia	▪ Dispepsia ▪ Náuseas ▪ Sequedad de boca	▪ Cefalea ▪ Somnolencia ▪ Mareos ▪ Desorientación ▪ Inquietud	▪ Taquicardia
Raras (< 1%)	▪ Discinesia	▪ Vómitos ▪ Flatulencia ▪ Alteración del gusto	▪ Euforia ▪ Calambres ▪ Insomnio	▪ Hipotensión ▪ Hipertensión ▪ Colapso
Excepcionales (<1%)	▪ Disfonía ▪ Psicosis ▪ Amenorrea	▪ No se registran	▪ Disfasia ▪ Fotofobia	▪ Infarto de miocardio ▪ Epistaxis ▪ Impotencia

V.6.6. Sobredosificación.

La sobredosificación por bupiriona produce vómitos, vértigo, somnolencia, miosis y alteraciones gástricas. No se conocen casos de muerte por sobredosis con bupiriona. Se estima que la dosis letal es de 169 a 550 veces la dosis diaria recomendada. Algunos estudios con animales de laboratorio indican que es: DL50 Oral - rata - 196 mg/kg; DL50 Intraperitoneal - ratón - 146 mg/kg.

V.6.7. Utilización durante el embarazo y la lactancia.

En general, se desaconseja el uso de bupiriona durante el embarazo por el desconocimiento de sus efectos concretos, si bien debe soportarse la relación beneficio-riesgo. Estudios en ratas han relevado la excreción de bupiriona y sus metabolitos activos en leche materna, si bien no se han efectuado estudios concluyentes en seres humanos.

V.6.8. Interacciones Farmacológicas con otras sustancias

Los efectos sedantes de la bupiriona aumentan si se toma con alcohol u otros depresores del SNC.

En la siguiente tabla se detallan otras interacciones relevantes.

Tabla 8 Interacción de fármacos con Bupiriona (Salazar, 2009)

FARMACOS	CONSECUENCIA DE LA INERACCIÓN
IMAO	Hipertensión arterial
Verapamil Diltiazem Eritromicina Nefazodona Itraconazol Ritonavir Zumo de pomelo	Aumento de la concentración plasmática de bupiriona.
Rifampicina	Disminución de la concentración plasmática de bupiriona.
Fluoxetina Haloperidol Fenitoína Propranolol Warfarina	Aumento de la concentración plasmática de la bupiriona.
Clozapina	Hemorragia digestiva. Hiperglucemia.

V.6.9. Interacciones en pruebas de laboratorio

De forma clínicamente no significativa la bupiriona podría causar elevaciones transitorias en las concentraciones de hormona de crecimiento, prolactina y cortisol.

V.6.10. Controles de laboratorio.

Los controles de laboratorio deben individualizarse en cada paciente en función de su patología previa y las situaciones especiales de manejo que concurran. (Salazar, 2009).

VI. JUSTIFICACIÓN

Con los antecedentes mencionados, se conoce que la actividad de la bomba de sodio y potasio se incrementa en áreas del sistema nervioso central como son la corteza cerebral, el cerebelo, y el tallo cerebral principalmente, por otro lado tenemos que en la patología de la diabetes mellitus disminuye la actividad de la enzima en forma importante, así como se ha reportado disminución de la síntesis de serotonina durante esta patología, no se conoce si agonistas del receptor serotoninérgico 5-HT_{1A} estimulan la actividad de la enzima en la corteza cerebral de ratas control y con DME, por lo que proponemos la siguiente:

VII. HIPÓTESIS

La buspirona es un agonista serotoninérgico que incrementa la actividad de la bomba de sodio y potasio en la corteza cerebral de ratas control y con DME.

VIII. OBJETIVOS.

XII.1. Objetivo general.

Determinar si la buspirona produce un aumento en la actividad de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral de ratas con DME en etapa crónica.

XII.2. Objetivos específicos.

- Inducir un esquema de DME en ratas macho adultas.
- Determinar la actividad de la bomba $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ en el homogenizado de corteza cerebral de ratas con DME y Control respectivamente.
- Determinar el efecto del agonista serotoninérgico buspirona sobre la actividad de la bomba $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ en ratas con DME y Control respectivamente.

IX. MATERIALES Y MÉTODOS

IX.1. Material biológico.

Los animales ocupados para el proyecto fueron ratas macho adultas de la cepa Wistar de 8 semanas de edad con un peso de 200 ± 20 g, los cuales fueron criados en el Bioterio del Laboratorio de Neurobiología de la Facultad de Químico Farmacobiología, de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo; cumpliendo los protocolos vigentes para el uso de animales de investigación, de acuerdo con las disposiciones generales del Reglamento de la Ley General de Salud y Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999., 2001) (Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio); se utilizó alimento comercial Purina Chow y agua potable ad libitum (Tabla 9), ciclos de luz y oscuridad de 12 Horas (7-19 horas de luz), temperatura de 24.0 ± 2 °C y humedad relativa (HR) de $60.0 \pm 5\%$.

Tabla 9 Análisis bromatológico de alimento comercial Purina Chow.

Análisis bromatológico. Rodent Laboratory Chow5001	
Humedad (max.)	12.00%
Proteína (min.)	23.00%
Grasa (min.)	4.50%
Calcio (max.)	1.00%
Fibra (max.)	6.00%
Cenizas (max.)	8.00%
Fósforo (min.)	0.61%
E.L.N. (P.DIF.)	46.50%

IX.2. Inducción de diabetes mellitus experimental (DME).

Para implementar el modelo de DME, al grupo experimental de ratas se le administró Estreptozotocina [STZ, N-ethylnitrosocarbamoil/D/Glucosamine, SIGMA]. Vía intraperitoneal (IP), en dosis única de 55 $\mu\text{g/Kg}$ de peso, disuelta en solución amortiguadora de citratos, pH 4.5; Al grupo control se le administró un volumen equivalente del vehículo. Para efectuar la medición de la concentración de glucosa en sangre de los animales que conformaron cada grupo, de la vena caudal se obtuvo muestra sanguínea, la cual fue colocada en una tira reactiva para glucómetro (ONE-TOUCH ultra) y se registró la lectura de glucemia; Los valores normales para glucosa en sangre con este método son de 75-110 $\mu\text{g/dl}$. Los tiempos de lectura fueron: Pre-inducción, 48 horas pos-inducción, y cada semana posterior a la administración de la STZ, hasta llegar a la octava semana. Se considera etapa aguda de DME hasta la cuarta semana de inducción y crónica a partir de la cuarta semana de inducción de la DME.

IX.3. Preparación de los homogeneizados de corteza cerebral.

Los animales con un periodo de ayuno de 8 horas, fueron sacrificados entre las 8 am y 12 pm por fractura cervical, realizando una incisión media torácica, inmediatamente se perfundió el cerebro *in situ* con 20 mL de solución salina isotónica fría que fue inyectada en el ventrículo izquierdo del corazón drenado a través de la vena cava inferior.

Los animales fueron decapitados extrayendo el cerebro instantáneamente y se disecó la corteza, la cual fue homogeneizada en 10 volúmenes de solución amortiguadora Tris-HCl 50 mM a pH 7.4, con 10 pasos a 700 rpm en un homogeneizador Thomas con Vástago de teflón de 0.25mm de luz. La obtención de corteza cerebral se realizó en ratas con DME de la octava semana de post-inducción, con sus respectivos controles. Se realizó determinación del contenido proteico del tejido de corteza cerebral por el método de Lowry (Lowry et al., 1951).

IX.4. Determinación de proteína por el método Lowry.

Para obtener la cuantificación de proteína se utilizó el método (Lowry et al., 1951) por triplicado de alícuotas la cual se hace una disolución corteza cerebral en agua tridestilada 1:6 obteniendo concentraciones finales de 2 μg de proteína / μL del tejido.

Se realiza una curva patrón con albúmina V bovina granulada al 0.1%, la curva patrón de diferentes concentraciones de proteína, 0, 10, 20, 30. μL de solución estándar de proteína,

Posteriormente se pesa 0.16 g de carbonato de sodio Na_2SO_3 y se adicionan 8 mL de hidróxido de sodio al 0.1N de solución.

Se coloca 8 μL de tartrato de sodio y potasio al 2% y 8 μL de sulfato de cobre, dejando que reaccione.

Se incorpora la primera solución c, con la segunda y se adicionan 500 μL a las concentraciones de proteína, esperando 10 minutos.

Se adicionan 100 μL de (Folin & Ciocalteu's phenol reagent folin) el cual se diluye con agua tridestilada en solución 1:1, agitando y dejando esperar por 30 minutos. Posteriormente se mide por lectura espectrofotométrica a 750 nm.

Para obtener la cantidad de proteína de un tejido problema (Corteza cerebral de ratas control y DME), se realiza una disolución 1:6 adicionando 10 μL , de tejido por 50 μL modificando las cantidades 0.18 gramos de carbonato de sodio y 90 μg de sulfato de cobre (CuSO_4) y tartrato de sodio y potasio. ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$).

Para obtener concentraciones finales de 2 μg de proteína / μL . A estos homogeneizados se les midió la actividad específica de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ como se describe a continuación:

IX.5. Medición de la actividad específica de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$.

La actividad de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ se midió con el método usado por (Peña et al., 1999) por triplicado de alícuotas de 25 μL del homogeneizado de corteza cerebral, equivalentes a 50 μg de proteína. Se pre-incubó el tejido durante 10 minutos a 37°C en agitación constante de 150 ciclos por minuto en un incubador metabólico Duvnoff con el amortiguador Tris-HCl 50 mM a pH 7.4, MgCl_2 6mM, Cloruro de Potasio 20mM, Cloruro de Sodio 120 mM, con H_2O tridestilada para medir la actividad total o con Ouabaína 0.1mM para medir actividad indirecta, en un volumen final de 150 μL . Trascurrido un periodo de pre-incubación, de 20 minutos se adicionó ATP 12 mM (Adenosin-trifosfato, Sal libre de Vanadio); finalmente la

reacción se detuvo a los 10 minutos adicionando 20 μL de TCA (Ácido tricloroacético) frío al 50 % (w/v), colocando las muestras en una placa de hielo para después centrifugarlas a 3500 rpm durante 10 minutos. Se tomaron 100 μL del sobrenadante para determinar el fosfato inorgánico (pi) liberado de acuerdo al método (Fiske CH and SubbaRow, 1925), se colocan en tubos de ensayo que contienen 500 μL de solución de sulfato ferroso (FeSO_4) al 4%, Ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1.14N y molibdato de amonio al 1%, se completó el volumen final con 400 μL de agua. El (Pi) se determinó espectrofotométricamente a 800 nm a los 10 minutos de iniciada la reacción, las lecturas de absorbencia se extrapolaron en una curva patrón de fosfato de potasio, la cual se corrió en cada experimento. La actividad específica de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ fue calculada como la diferencia entre la actividad total y la medida en presencia de Ouabaína (indirecta).

IX.6. Curva de dosis- respuesta a bupiriona.

Se corren blancos con tejidos de corteza cerebral de rata control y DME. Mediante una medición de la actividad específica de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$. El método utilizado por Peña et al., 1999 para determinar la actividad específica de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ del tejido fue empleado en presencia y ausencia de bupiriona.

Para evaluar el comportamiento de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ al ser sometida al fármaco Bupiriona e identificar la dosis que se requiere para lograr cambios significativos en la actividad de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$, se administró el fármaco en una serie de diluciones que van desde (10^{-4} Mm hasta 10^{-12} Mm) obtenidas de una solución madre de concentración 2mM. La metodología para cuantificar la actividad de la bomba de sodio y potasio fue la siguiente:

Por triplicado de alícuotas de 25 μL del homogeneizado de corteza cerebral, equivalentes a 50 μg de proteína se pre-incubó el tejido durante 5 minutos a 37°C en agitación constante de 150 ciclos por minuto en un incubador metabólico Duvnoff con el amortiguador Tris-HCl 50 mM a pH 7.4, MgCl_2 6mM, Cloruro de Potasio 20mM, Cloruro de Sodio 120 mM, con 5 μL H_2O tridestilada, 10 μL de pargilina para evitar la degradación del tejido . Posteriormente se adicionó 10 μL de bupiriona a diferentes concentraciones (10^{-4} Mm hasta 10^{-12} Mm) para medir la actividad total, en un volumen final de 150 μL . Trascurrido un periodo de pre-incubación, de 20 minutos se adiciono ATP 12 mM (Adenosin-trifosfato, sal libre de Vanadio); finalmente la reacción se detuvo a los 10 minutos adicionando 20 μL de TCA (Ácido tricloroacético), frío al 50 % (w/v), colocando las muestras en una placa de hielo para después centrifugarlas a 3500 rpm durante 10 minutos. Se tomaron 100 μL del sobrenadante para determinar el fosfato inorgánico (pi) liberado de acuerdo al método (Fiske CH and SubbaRow, 1925), se colocan en

tubos de ensayo que contienen 500 μL de solución de sulfato ferroso (FeSO_4) al 4%, Ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1.14N y molibdato de amonio al 1%, se completó el volumen final con 400 μL de agua. El (Pi) se determinó espectrofotométricamente a 800 nm a los 10 minutos de iniciada la reacción, las lecturas de absorbancia se extrapolaron en una curva patrón de fosfato de potasio, la cual se corrió en cada experimento. La actividad específica de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ fue calculada como la diferencia entre la actividad total y la medida en presencia de Ouabaína (indirecta) comparando los resultados obtenidos por los blancos que se corren a la par con las diluciones de buspirona y obteniendo así la actividad específica de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$.

IX.7. Análisis estadístico.

Se llevó a cabo con ayuda del software GradPad Prism 4.0 para la evaluación estadística de los resultados experimentales, así como para realizar su presentación gráfica. Las curvas patrón de proteína y de fosfatos se calcularon en regresión lineal.

Para las curvas dosis-respuesta se empleó el modelo sigmoidal. Los datos fueron analizados por la prueba de Kolmogorov-Smirnov para verificar la distribución de Gaussiana, y a partir de estos, se calcularon la media aritmética ($\bar{X}$) y la desviación estándar (D.E). Las comparaciones de los grupos control y los DME se evaluaron por la prueba "t" de Student (Prism 4 Statics Guide-Statistical analyses for laboratory and clinical researches., 2003).

X. RESULTADOS

El peso corporal fue menor en el grupo DME transcurridas 8 semanas de la inducción con STZ; el déficit fue de 34.3% a la octava semana del esquema, al ser comparado con el grupo control (Figura 11).

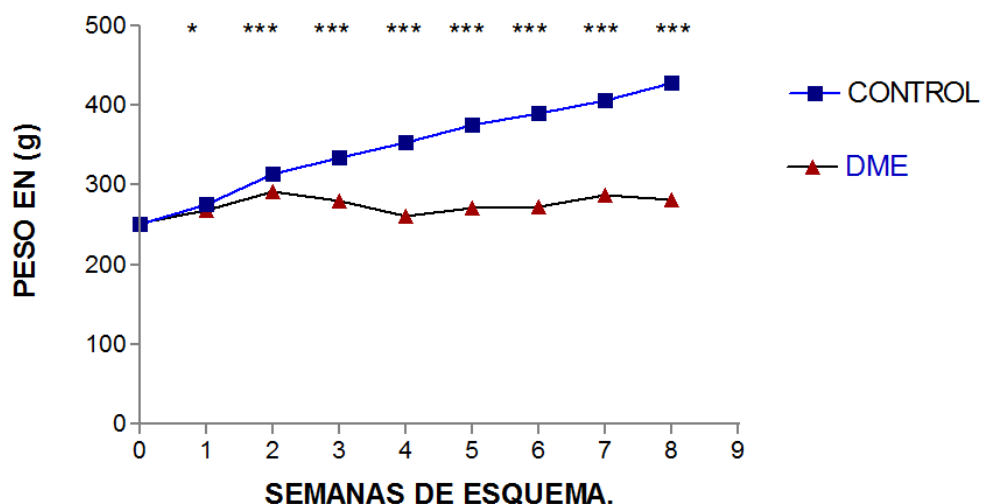


Figura 11. *Peso corporal de ratas Control y DME.* $\bar{X} \pm D.E.$ $n=10$ * ($P<0.05$), *** ($P<0.001$).

El consumo de alimento fue mayor en el grupo DME el cual aumento significativamente semana a semana; al transcurrir 8 semanas del esquema las ratas Control presentan un déficit fue de 47.8% lo que demuestra las ratas presentaron polifagia en el grupo DME (Fig. 12).

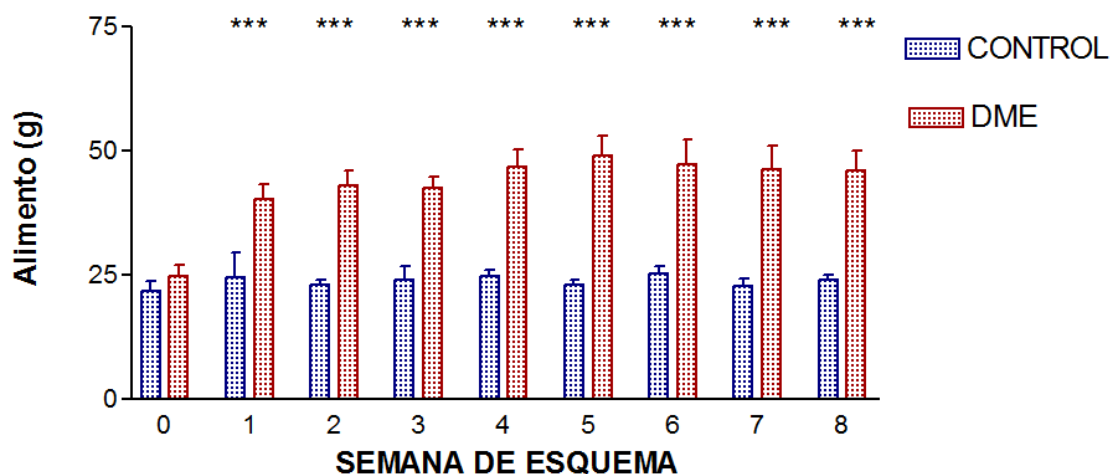


Figura. 12 *Consumo de alimento ratas Control y DME.* $\bar{X} \pm D.E.$ de 10 ratas de cada grupo ($P<0.05$), *** ($P<0.001$).

Consumo de líquidos.

Las ratas con DME presentaron a lo largo del esquema poliuria y polidipsia la cual fue aumentando considerablemente al transcurrir las semanas dado las condiciones propias del modelo experimental al cual fueron sometidas:

En el consumo de solución de glucosa al 10% las ratas Control al transcurrir la octava semana se observa un déficit de 31.85 % respecto a las ratas con DME (Fig. 13).

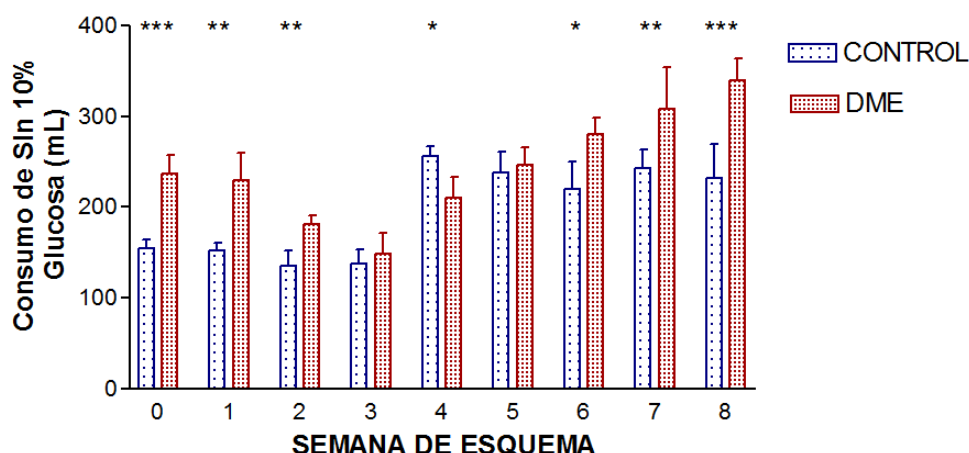


Figura 13. Consumo de Solución de Glucosa al 10 % ratas Control y DME. $\bar{x} \pm D.E.$ de 10 ratas de cada grupo ($P < 0.05$), *** ($P < 0.05$).

En el consumo de agua es evidente la presencia de poliuria y polidipsia por parte de las ratas con DME respecto a las ratas control. Se observa que el grupo Control mantiene un déficit de 79.6% respecto al grupo con DME a partir de la primer semana post-inducción con STZ (Fig. 14).

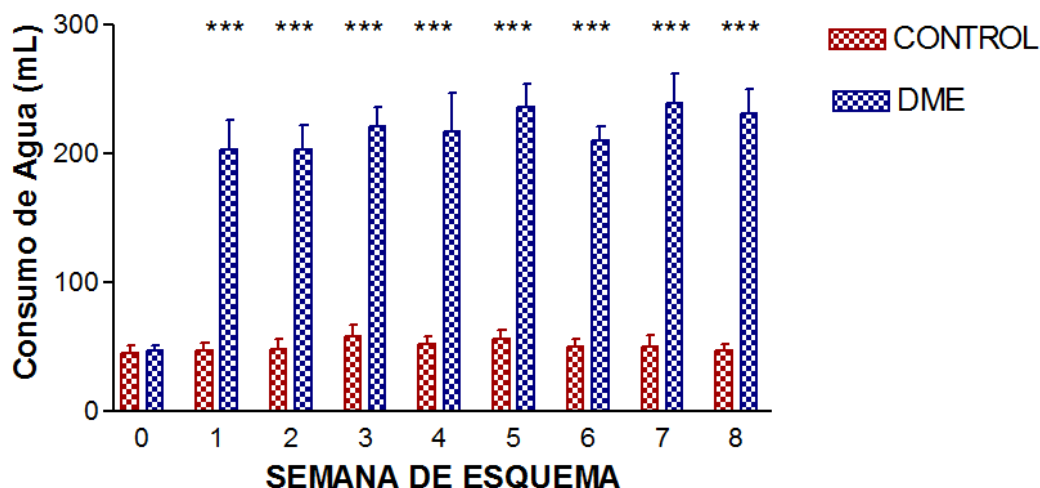


Figura 14. Consumo de Agua en ratas Control y DME. $\bar{X} \pm D.E.$ de 10 ratas de cada grupo $p < 0.05$, *** ($P < 0.001$).

Se observa que la rata con DME debido a su afección metabólica inducida por STZ tiene un aumento de los lípidos totales, debido a que la deficiencia aguda de insulina produce un aumento rápido de la movilización de ácidos grasos desde los tejidos periféricos hacia el hígado, y determina un aumento de la formación con respecto a la rata Control de 47.51 % (Fig.15).

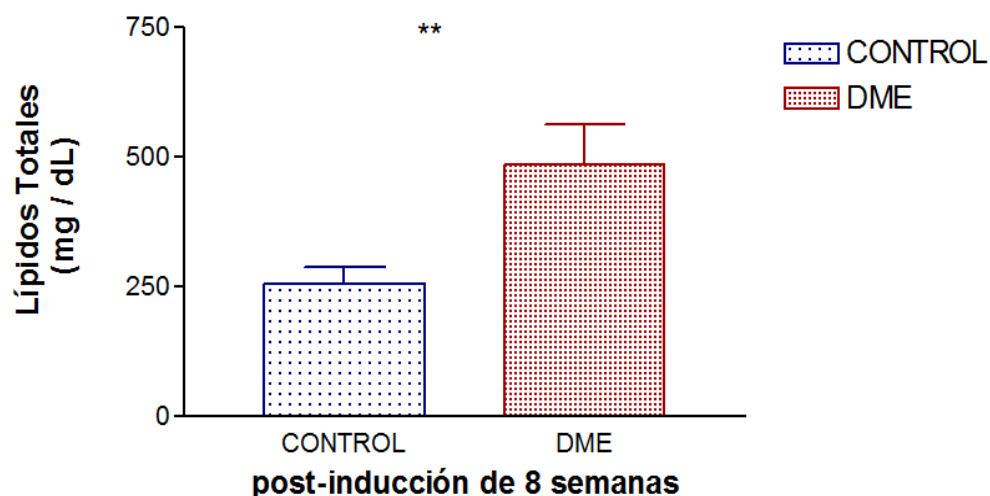


Figura. 15 Valores de Lípidos obtenidos en suero de rata control y DME. $\bar{X} \pm \text{D.E.}$ de 10 ratas de cada grupo ($P < 0.05$).

Se observó que en las ratas con DME disminuye la albúmina, probablemente renal momento del sacrificio ya está presente un posible fallo renal ya que se observó un déficit de 23.9 % respecto a las ratas Control (Fig. 16).

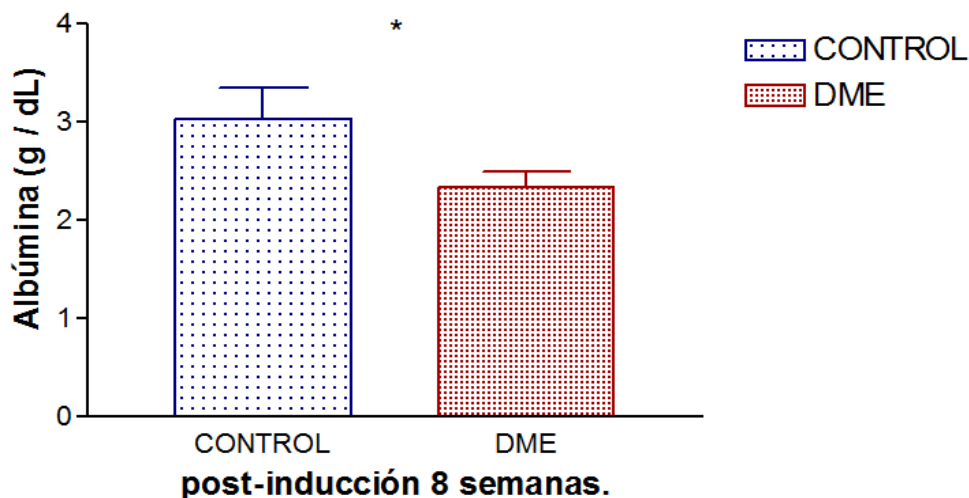


Figura 16. Valores de Albúmina obtenidos en suero de rata control y DME. $\bar{X} \pm \text{D.E.}$ de 10 ratas de cada grupo ($P < 0.05$).

Se observa un aumento significativo de la glucosa en ratas con DME debido a que no se puede utilizar de manera adecuada por los daños de las células β del

pancreas, por lo que se crea una resistencia o falta de la misma “Hiperglucemia o Hipoglucemia”. Se observa un aumento de 85.43 % respecto a los rangos ideales para mantener una homeostasis del organismo, respecto a las ratas Control (Fig. 17).

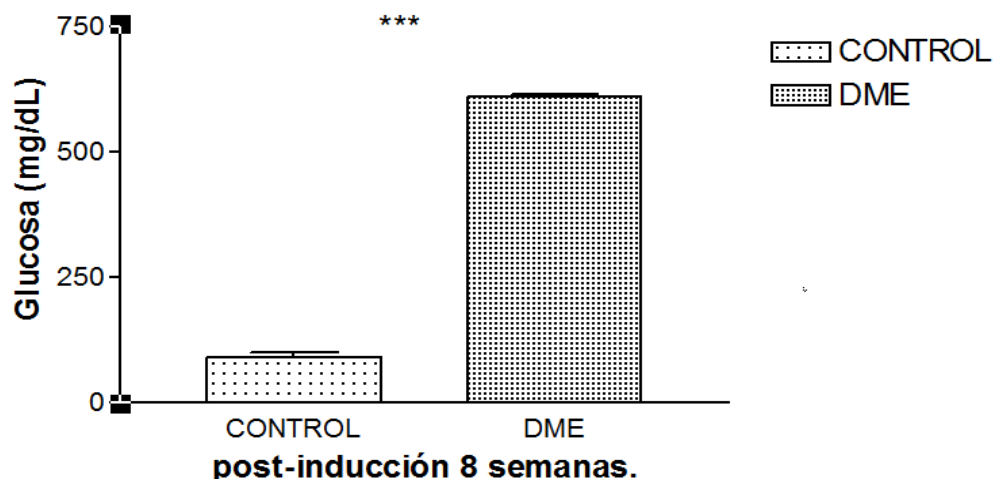


Figura 17. Valores de Glucosa obtenidos en suero de rata control y DME. $\bar{X} \pm D.E.$ de 10 ratas de cada grupo ($P < 0.001$).

Se observó un aumento en los Triglicéridos “Hipertriglicidemia” por parte de las ratas con DME debido a que existe una menor eliminación de triglicéridos por parte del tejido adiposo ya sea por falta de insulina o resistencia a la misma. Se presenta un aumento de 62.5% respecto a los valores normales de las ratas Control (Fig. 18).

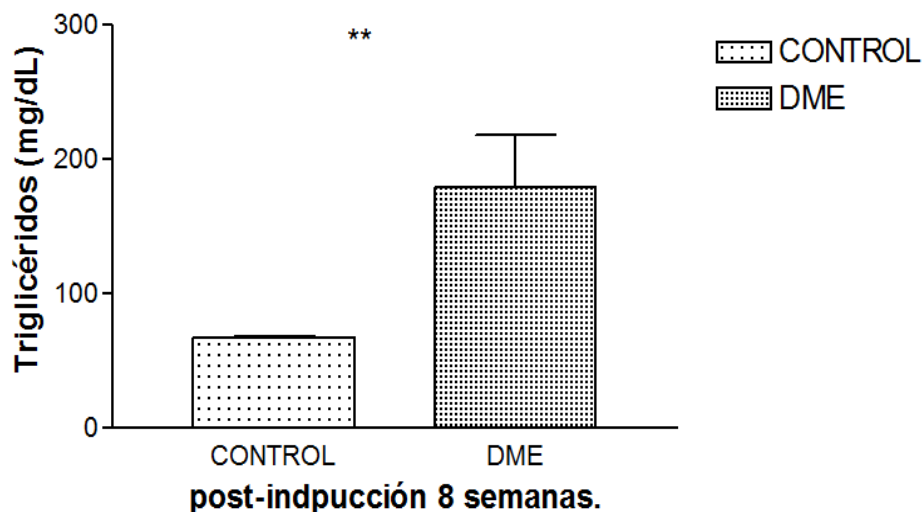


Figura 18. Valores de Triglicéridos obtenidos en suero de rata control y DME. $\bar{X} \pm D.E.$ de 10 ratas de cada grupo ($P < 0.05$).

Se observó que el colesterol en ratas con DME es similar al presente en las ratas control (Fig. 19).

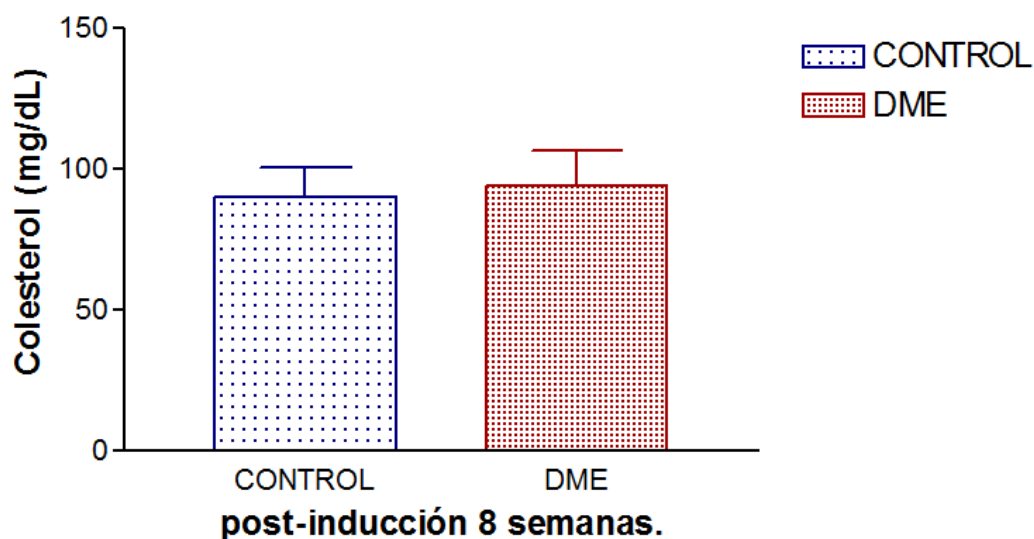


Figura 19. Valores de Colesterol obtenidos en suero de rata control y DME. $\bar{X} \pm D.E.$ de 10 ratas de cada grupo ($P < 0.05$).

Se observa un aumento de LDL debido a la modificación estructural que se genera lo que vuelve a la molécula más pequeña y densa. Se observa un aumento de 31.08% aunque no significativa estadísticamente la diferencia en las ratas del grupo con DME respecto a los valores normales de las ratas Control (Fig. 20).

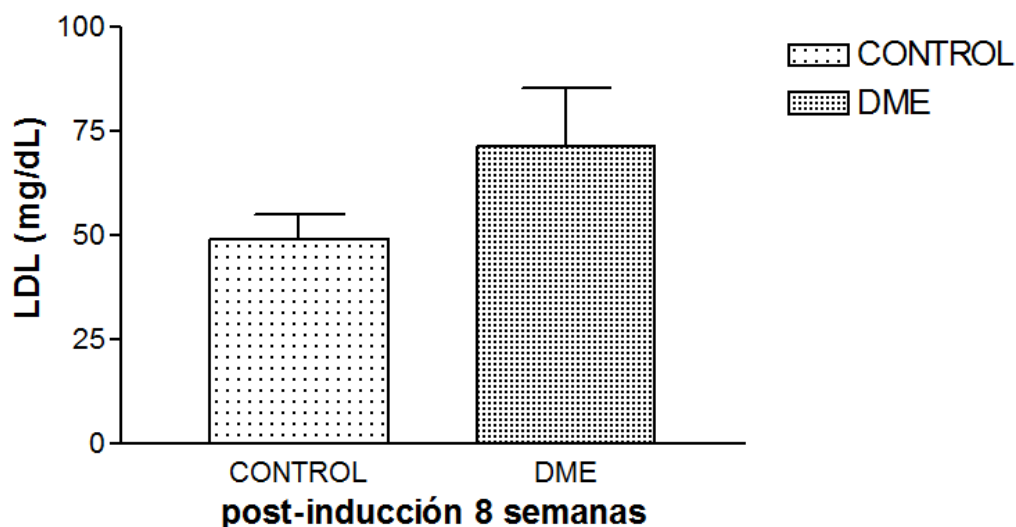


Figura. 20 Valores de LDL obtenidos en suero de rata control y DME. $\bar{X} \pm D.E.$ de 10 ratas de cada grupo ($P < 0.05$).

Se observó un aumento significativo de VLDL a consecuencia de una alta concentración plasmática de insulina presentando un defecto del catabolismo de la VLDL por inhibición de la LpL al nivel del tejido adiposo en ratas con DME. El

incremento observado fue de 33.8 % respecto a los valores normales de las ratas Control (Fig. 21).

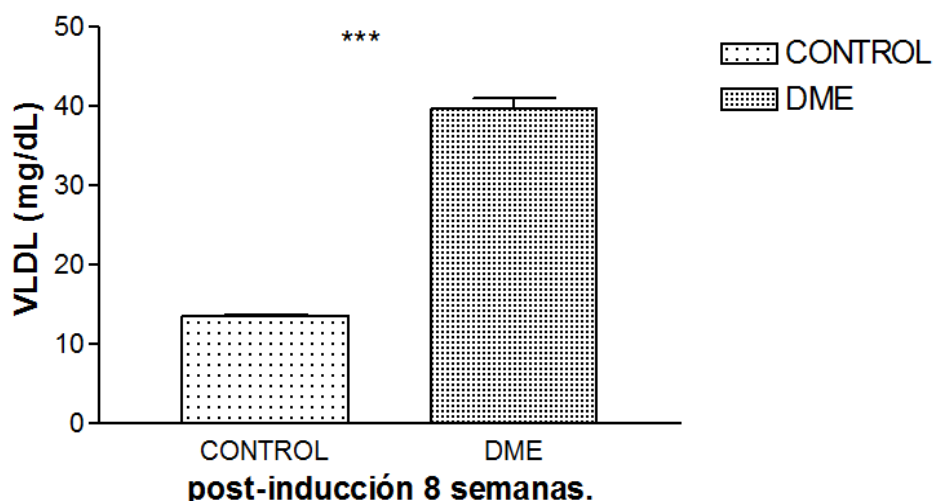


Figura 21. Valores de VLDL obtenidos en suero de rata control y DME. $\bar{X} \pm D.E.$ de 10 ratas de cada grupo ($P < 0.0001$).

Se observó que el HDL en ratas con DME es menor al presente en las ratas control esto debido a que sus moléculas son pequeñas y densas respecto a los otros lípidos presentes en el suero (Fig. 22).

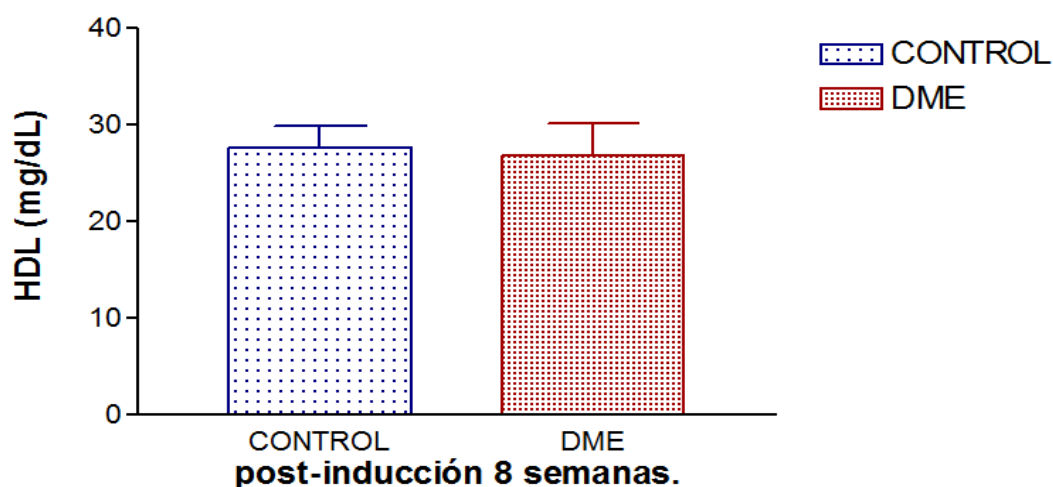


Figura 22. Valores de HDL obtenidos en suero de rata control y DME. $\bar{X} \pm D.E.$ de 10 ratas de cada grupo ($P < 0.05$).

Se realizó una curva de calibración empleada para determinar la concentración de proteína presente en los homogeneizados de la corteza cerebral de las ratas

Control y DME respectivamente, la cual fue de un rango de concentraciones promedio entre 10 y 30 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Expresando una ecuación $y = 0.0147x + 0.0336$, con un coeficiente de correlación lineal (R) de 0.9966. Para determinar la cantidad de P_i liberado y cuantificar la actividad de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$, se utilizó la curva patrón $y = 0.0037x + 0.0423$, con un $R = 0.9997$ en un rango de concentración de 25 a 100 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$.

Se observó una disminución significativa de la actividad de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ en corteza cerebral de ratas con DME de 30.% con respecto a las Control al transcurrir 8 semanas de haber ser inducidos con STZ. Esto sirve para tener datos de cuál es la actividad basal y observar cómo se modifica la actividad de la bomba de sodio y potasio y poder hacer una comparación (Fig. 23).

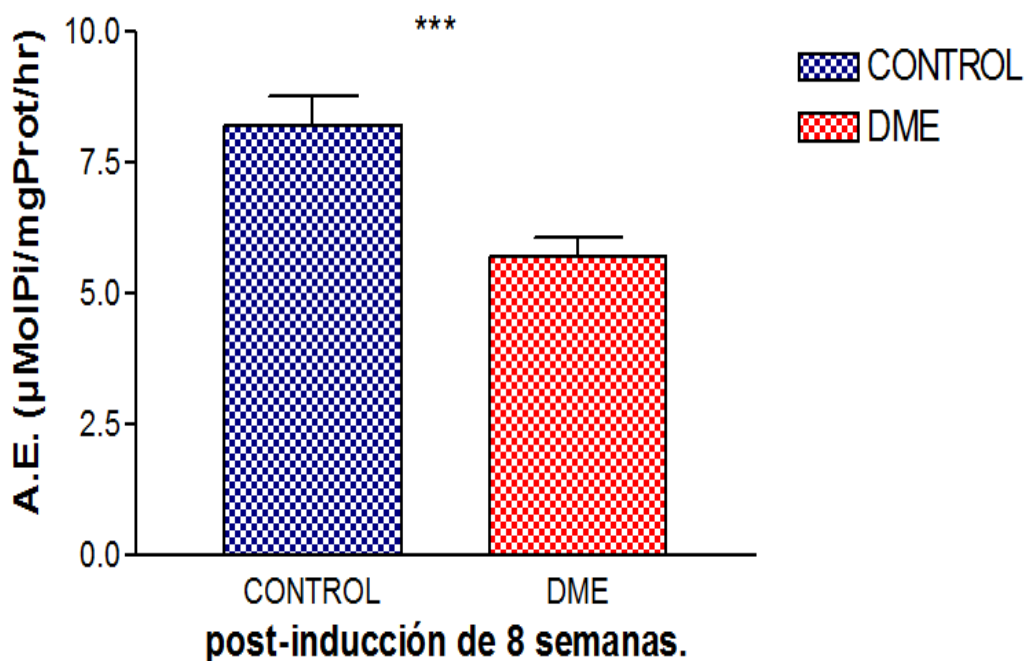


Figura 23. Actividad basal de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ en homogeneizado de corteza cerebral de ratas. $\bar{X} \pm \text{D.E.}$ de 6 experimentos realizados por triplicado*** ($P < 0.001$).

Curvas de dosis respuesta a agonista del receptor 5-HT_{1A} en relación a la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ por parte de la Bupiriona realizados de homogeneizados de corteza cerebral de ratas Control y DME:

El análisis de las curvas tanto del grupo control como del grupo DME se realizó con un modelo sigmoideo en donde se obtuvo un valor de $R = 0.9900 \pm 0.010$ ($p < 0.05$), Obteniéndose dosis efectivas cuando el estímulo alcanza un 50% (DE_{50}) las cuales se muestran en la siguiente (Fig. 24)

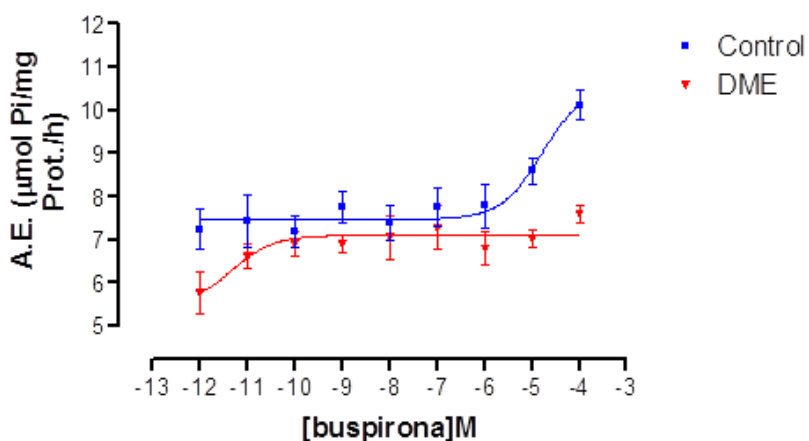


Figura 24. **Curva dosis respuesta de la Bupiriona sobre la actividad de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ en homogeneizado de corteza cerebral.** Resultados obtenidos de $\bar{X} \pm D.E$ de 6 experimentos por triplicado, obteniendo una dosis efectiva media de: $\text{DE}_{50} = 1.66 \times 10^{-5} \text{ M}$ para control y $\text{DE}_{50} = 4.69 \times 10^{-12} \text{ M}$ para DME.

XI. DISCUSIÓN

El presente estudio, se realizó en ratas de la cepa Wistar mediante la aplicación de una dosis única de STZ de 55 mg/Kg vía I.P, para inducir a un modelo de DME, Los resultados que se presentaron a lo largo del esquema fueron la presencia de hiperglucemia, pérdida de peso, que a su vez se observó a lo largo del esquema la presencia de polifagia, poliuria y polidipsia; Datos que anteriormente se han obtenido por nuestro laboratorio y diversos autores, confirmando la correcta implementación del modelo (Bautista, 2008; García, R., 2011). La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad metabólica en la que destacan complicaciones como la hiperglucemia (aumento del azúcar en la sangre, la cual no se absorbe ni se utiliza de modo eficiente), por una inadecuada secreción de insulina por las células β del páncreas o el mal funcionamiento de esta hormona en tejidos del organismo que con el tiempo daña gravemente muchos órganos y sistemas, especialmente los nervios y los vasos sanguíneos, causando problemas cardiovasculares como lo son; Nefropatías, Retinopatías y Neuropatías. Los síntomas más comunes de la hiperglucemia incluyen, pérdida de peso, visión borrosa, poliuria, polifagia, polidipsia y la susceptibilidad a ciertas infecciones. (ADA, 2018).

A su vez se ha reportado un desequilibrio en la concentración de iones tanto en el interior como en el exterior celular produciéndose así cambios tanto en la expresión como en la actividad de transportadores iónicos. Apareciéndose la reducción en velocidad de conducción nerviosa y alteración de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ los cuales se ven implicados en las complicaciones y anomalías electrofisiológicas, características de la neuropatía diabética en diferentes modelos animales y en seres humanos que presentan este síndrome metabólico (Racchah, 2004).

Se ha querido establecer si los cambios producidos por la DME sobre la actividad de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ observados a nivel periférico son similares a los ocurridos en el SNC, teniéndose avances en los cuales se ha observado que los componentes de las membranas celulares, los cuales se alteran durante la diabetes, juegan un

papel importante en la expresión de sub unidades de enzima y en su afinidad a la ouabaína, lo que influye en la estructura de la membrana y función del sistema nervioso (Vague, 2004).

La actividad de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ se encuentra disminuida en la membrana celular de muchos tejidos de animales diabéticos a nivel periférico entre los que se incluyen el corazón, riñón, gametos masculinos, intestino y nervios periféricos (Eagleton, 2003); Estudios realizados anteriormente en nuestro laboratorio, demuestran que la DME disminuyen la actividad de la bomba de sodio y potasio tanto en células neuronales como en células gliales de la corteza cerebral de ratas, observándose que las células gliales presentan una mayor afección por la diabetes. Las células gliales tienen una participación primordial, ya que restauran los gradientes iónicos y regulan el balance energético, modulando mecanismos celulares básicos de la actividad neuronal y sus sinapsis, además de mantener aislados los axones por mielina para permitir que las señales viajen a velocidad adecuada. Si la bomba de sodio y potasio falla en células que integran la glía, como los astrocitos se tendrá retardo en la remoción de neurotransmisores e iones de la hendidura sináptica, donde la naturaleza propia del tipo de sinapsis determinara que las neuronas permanezcan despolarizadas o hiperpolarizadas por tiempos mayores, trayendo con ello grandes consecuencias así como daños irreversibles (Bautista, 2008; Blanco, 2005; Esquivel, 2015; Magistretti, 2006)

En los resultados obtenidos por el presente estudio mostrados en la Figura 21, confirman informes anteriores que la DME en ratas se asocia con una disminución de 30% respecto a una rata control en la actividad de la bomba de sodio y potasio en las membranas celulares de homogenizado de corteza cerebral la cual es progresiva conforme la evolución de la enfermedad.

La regulación de $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPasa}$ es compleja, su actividad es modulada por diferentes factores intrínsecos y extrínsecos, entre los que incluyen hormonas y neurotransmisores, como la serotonina, los cuales participan tanto en el control corto y largo plazo sobre la actividad (Hernández, 1979) La regulación de la bomba de sodio y potasio por la 5-HT se lleva a cabo principalmente a través de

su interacción con receptores serotoninérgicos, observándose una modulación diferente en los diversos tipos celulares que integran el SNC, en las células cerebrales se expresan a múltiples subunidades catalíticas de la enzima de carácter específicos que tiene una función especializada entre estos dos sistemas (Peña et al., 1999). La disminución de la actividad de la bomba de sodio y potasio en la corteza cerebral se podría correlacionar con la disminución de expresión de la isoforma $\alpha 2$ (Vague, 2004).

La bupiriona es un agonista parcial del receptor serotoninérgico 5-HT_{1A} tiene propiedades ansiolíticas de las benzodiacepinas pero no interactúa con los receptores GABAA ni presenta las propiedades sedantes y anticonvulsivas de las benzodiacepinas. La bupiriona es capaz de disminuir la actividad serotoninérgica de las neuronas de los núcleos del rafe, de la amígdala, del septum lateral y del hipocampo. Algunos estudios han mostrado que la bupiriona bloquea los receptores para dopamina tipo 2 (D_2). Del mismo modo, esta sustancia aumenta la excitabilidad de las neuronas noradrenérgicas del LC, lo cual explicaría por qué no produce sedación ni somnolencia (Redolar, Ripoll., 2008). In vitro, la bupiriona muestra una mayor afinidad hacia los receptores para serotonina tipo 5-HT_{1A} , una afinidad moderada hacia los receptores para dopamina tipo 2 y una débil afinidad hacia los receptores para serotonina tipo 2. Los receptores para serotonina tipo $1A$ se encuentran en grandes cantidades en el rafe dorsal y en el hipocampo. La bupiriona se fija a los receptores $1A$ en estos lugares, en las neuronas presinápticas del rafe dorsal y en las neuronas postsinápticas del hipocampo. Los estudios en animales muestran que la bupiriona inhibe la velocidad de excitación de las neuronas que contienen 5-HT en el rafe dorsal (Eison, 1986).

Los efectos inmunosupresores de la bupiriona no están relacionados con su acción ansiolítica. La bupiriona no tiene actividad relajante muscular, anticonvulsivante y no produce dependencia cuando se administra crónicamente (Mahmood and Sahajwalla, 1999).

La actividad de la bomba de sodio y potasio en homogenizados de corteza cerebral de ratas con DME fue restaurada parcialmente a valores normales según

demostrado por ratas control y así fue calculada sus dosis DE50. Lo cual demuestra que entre los sistemas 5-HT y la bomba de sodio y potasio, la afección causada por la DME no se corrige pero si se podría contribuir a mejorar la activación del receptor 5-HT_{1A} calidad de vida de las personas que padecen la enfermedad metabólica.

XII. CONCLUSIÓN

La buspirona incrementó la actividad de la bomba de sodio y potasio en ratas con DME aunque en magnitud menor que en el grupo control, lo que nos permite concluir que la interacción bomba de sodio y potasio.-sistema serotoninérgico está presente en el cerebro de ratas con DM.

XIII. PERSPECTIVAS

- Determinar cómo se comportan las isoformas de la bomba de sodio y potasio a la hora de interactuar con la buspirona.
- Comportamiento de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral a diferentes etapas de la DME.

XIV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- ADA. (2018) *American Diabetes Association*. Obtenido de http://www.diabetes.org/es/usted-corre-el-riesgo/reduzca-su-riesgo/diabetes-gestacional.html?referrer=http://google.diabetes.org/search?site=Diabetes&client=diabetes&entqr=3&oe=ISO-8859-1&ie=ISO-8859-1&ud=1&proxystylesheet=diabetes&output=xml_no_dtd&proxy
- ALDRICH, S. &. (29 de JULIO de 2014) *SIGMA & ALDRICH*. Obtenido de <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/b7148?lang=es®ion=MX>
- ALDRICH, S. &. (2016) Obtenido de Streptocin: http://www.sigmaaldrich.com/catalog/ProductDetail.do?lang=ja&N4=S0130|SIGMA&N5=SEARCH_CONCAT_PNO|BRAND_KEY&F=SPEC
- Andrade, R. (1986) A G protein couples serotonin and GABA-B receptors to the same channels in hippocampus. *Science*, 234:1261–1265.
- Appelberg, B.G. (2001) Patients with severe depression may benefit from buspirone augmentation of selective serotonin reuptake inhibitors: results from a placebo-controlled, randomized, double-blind, placebo wash in study. *J Clin Psychiatry*, 825-832.
- Arteaga, M.F. (2004) Regeneration influences expression of the Na^+ , K^+ -atpase subunit isoforms in the rat peripheral nervous system. *Neuroscience* , 129: 691-702.
- Barnes, N.M. (1999) A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, 38:1083–1152.
- Bautista, C. (2008) *Efecto de la serotonina sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral de ratas con DM1, Tesis de Licenciatura*. Morelia, Michoacán.: Facultad de Químico Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Berg, K.A. (2008) Physiological and therapeutic relevance of constitutive activity of 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors for the treatment of depression. *Prog Brain Res*, 172:287–305.
- Blanco, G. (2005) Na^+/K^+ -ATPase subunit heterogeneity as a mechanism for tissue-specific ion regulation. *Seminars in Nephrology*, :2992-303.
- Bockaert, J. C. (2006) Neuronal 5-HT metabotropic receptors: fine-tuning of their structure, signaling, and roles in synaptic modulation. *Cell Tissue Res*. 326:553–572.
- Bockaert, J. C. (2008) 5-HT₄ receptors: history, molecular pharmacology and brain functions. *Neuropharmacology*, 55:922–931.
- Bonsi, P.C. (2007) Endogenous serotonin excites striatal cholinergic interneurons via the activation of 5-HT_{2C}, 5-HT₆, and 5-HT₇ serotonin receptors: Implications for extrapyramidal side effects of serotonin reuptake inhibitors. *Neuropsychopharmacology*, 32:1840–1854.

- Borrell, V. Y. (2006) Meninges control tangential migration of hem-derived cajalretzius cells via cxcl12/cxcr4 signaling". *Nature Neuroscience*, 9: 1284-1293.
- Bortolato, M.,C. (2008) Monoamine oxidase inactivation:from pathophysiology to therapeutics. *Adv Drug Deliv Rev*, 60:1527–1533.
- Boulton, AJM, V. A. (2005) Diabetic Neuropathies. *Diabetes Care*, 28: 256-262.
- Brock, C. S. E. (2013) Diabetic Autonomic Neuropathy Affects Symptom Generation and Brain-Gut Axis. *DIABETES CARE*, 36: 3698-3705.
- Brossmer, R. (1975) Selective Release of serotonin from platelets by diffusion facilitated by the ionophore . *Thrombosis Research*, 74: 567-577.
- Brunner, H.C.(1993) Abnormal behavior associated with a point mutation in the structural gene for monoamine oxidase A. *Science*, 262:578–580.
- Brunton, L. C. B. (2012) GOODMAN & GILMAN. Las bases farmacológicas de laterapeutica. Mc Graw-Hill.
- Buck, L. (2000) Olfato y Gusto: Los sentidos químicos,. En *Principios de Neurociencias Kandel E,R Schawartz J.H, Jessell T.M.* (págs. 32: 635-645). Mc Graw Hill.
- Burns, C.M., Chu, H., Rueter, S.M., Hutchinson, L.K., Canton, H., Sanders-Bush, E., Emeson, R. (1997) *Regulation of serotonin-2C receptor G-protein coupling by RNA editing. Nature* **387**: 303–308
- Busineni A Jayasimha Goud B, D. (2015) Streptozotocin - A Diabetogenic Agent in Animal Models. *International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Research*, 3: 254-269.
- Cases, O. S. (1995) Aggressive behavior and altered amounts of brain serotonin and norepinephrine in mice lacking MAOA. *Science*, 268:1763–1766.
- Chua , J.E. (2010) The architecture of an excitatory synapse. *J. Cell Sci.*, 123:819-823.
- Clausen, T. F. (1987) Effects of insulin and epinephrine on Na^+/K^+ and glucose transport in soleus muscle. *AM. j. Physiol.*, 252(4): 492-499.
- De Martinnis, N, R. (2000) Prior benzodiazepine use and buspirone response in the traetment of generalized anxiety disorder. *Clin Psychiatry*, 61 (2) 4-91.
- Delgado, P.L. (1990) Serotonin function and the mechanism of antidepressant action. Reversal of antidepressant-induced remission by rapid depletion of plasma tryptophan. *Arch Gen Psychiatry*, 47:411–418.
- Dyck, P.J. (1993) The prevalence by stage severity of various types of diabetic neuropathy, retinopathy and neuropathy in a population-based . *Neurology*, 43: 817-824.
- Eison, A.S. (1986) Buspirone: Review of its pharmacology and current perspectives on its mechanism of action. *Am. J Med.*, 80(suppl 3B):1-9.

- Esquivel, G.R. (2015) *Estudio de la interacción serotonina- $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPase}$ en gametos masculinos de ratas con DME. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas*. Morelia, Michoacán.: Facultad de Químico Farmacobiología: Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Ewarts, H. K. (1995) Hormonal Regulation of the $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPase}$: Mechanism underlying rapid and sustained changes in pump activity. *J. Physiol. Cell Physiol.*, 269(2):C295-C311.
- Fiske CH and Subbarow, Y. (1925). The Colorimetric Determination of Phosphorus. *J. Biol Chem*, 66: 375-400.
- Fox, M.A. (2007) A pharmacological analysis of mice with a targeted disruption of the serotonin transporter. *Psychopharmacology (Berl.)*, 195:147–166.
- Gabriel, R. R. (2008) Diabetes Mellitus Experimental. *UNAM, Ciencia Veterinaria*, 6:347-377.
- Gaddum, J.H., and Picarelli, Z.P. (1957) Two kinds of tryptamin receptor. *British J. Pharmacol. Chemo.* 12: 323-328.
- Gershon, M.D. (2007) The serotonin signaling system: From basic understanding to drug development for functional GI disorders. *Gastroenterology*, 132:397–414.
- Giovanni, E. and Mann, D. L. (2003). Regulation of Amino Acid and Glucose Transporters in Endothelial and Smooth Muscle Cells. *Physiol Rev*, 83: 183-252.
- Gray, J.A. (2009) The expanded biology of serotonin. *Rev. Med.* 60: 355-366.
- Gutiérrez, J., Rivera, Shamah, T., Villalpando, S., Franco, A., Cuevas, L., . . . M. (enero de 2015). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, Resultados Nacionales. Instituto Nacional de Salud Publica*. Obtenido de OMS: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>
- Guyton, J. (2001) Decima Edición :Tratado de fisiología médica. México, DF.: McGraw-Hill.
- Haines, DE. R. et al. (2014) En *Principios de neurociencia, Aplicaciones básicas y clínicas. Cuarta edición* (págs. 1: 2-8). España S,L.: ELSEVIER.
- Health, U. D. (2011) Diabetic Neuropathies: The Nerve Damage of Diabetes. *National Diabetes Information Clearinghouse*, 11: 1-18.
- Hernández, R.J. (1979) $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPase}$ activity in the brain cortex of rats ontogenetically malnourished, and treated with serotonin precursors. *Brain Res.*, 62(2): 348-352.
- Houssay, B. A. (1960) Pancreatic diabetes and hypophysectomy in the snake *Xenodon Merremii*. *Acta Endocrinol*, 35: 313-323.
- Jensen AA, D. P.-O. (2008) 3B but which 3B? And that's just one of the questions: the heterogeneity. *Trends Pharmacol Sci*, 29:437–444.
- Jorgensen, P.L. (2003) Structure and mechanism of $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{--ATPase}$: Functional sites and their interactions. *Annual Review of Physiology*, 65: 817-849.

- Jouvet, M. (1999) Sleep and serotonin: an unfinished story. *Neuropsychopharmacology*, 21(suppl 2):24S–27S.
- Kandel, E. (2001) Cerebro, Neuronas y Conducta . En S. J. Kandel ER, *Principios de Neurociencias*. (págs. 2,3: 5-35). Mc-Graw-Hill.
- Kaumann, A.J. (2006) 5-hydroxytryptamine receptors in the human cardiovascular system. *Pharmacol Ther*, 111:674–706.
- Kempler, P. V. T. (2009) *Erectile Dysfunction*. In *Old Age 3rd Ed*. New York: John Wiley & Sons.
- Koester, J. (2001) Principios de Neurociencias. Kandel: Canales iónicos. McGraw-Hill.
- López-Bendito, G. M. (2003) Thalamocortical development: how are we going to get there? *Nat Rev Neurosci.*, 4:276-89.
- Lowry OH, R. N. (1951). Protein measurement whit the Folin phenol reagent. En R. N. Lowry OH, *J.Biol. chem.* (págs. 193:265-275).
- Magistratti, P.P. (2006) Neuron-Glia metabolic copling and plasticity. *The Journal of Experimental Biology*, 209: 2304-2311.
- Magistretti, P. P. (1999) Cellular mechanisms of brain energy metabolism and their relevance to functional brain imaging. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 354: 1155-1163.
- Mahmood, I. and Sahajwalla, C. (1999) Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of buspirona, an anxiolytic drug. *Clin Pharmacokinet.*, 36:277-87.
- Maricq, .A.V. (1991) Primary structure and functional expression of the 5HT3 receptor, a serotonin-gated ion channel. *Science*, 254:432–437.
- Marinou, K. P. (2009) Sudomotor is asociated with foot ulceration in diabetes. *Diabetes Med.*, 26: 302-305.
- Mathews, C. K. (2013) Bioquímica, 4.a edición. En *Lípidos, membranas y transporte celular*. (págs. 10: 389-398). Madrid, España.: PEARSON EDUCACIÓN, S.A.
- McDonough, A.A. (1990) The sodium pump needs its beta subunit. *FASEB J.*, 52(5): 509-516.
- Mehrotra, S. G. (2008) Current and prospective pharmacological targets in relation to antimigraine action. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.*, 378:371–394.
- Meltzer, H.Y. (2008) In vivo actions of atypical antipsychotic drug on serotonergic and dopaminergic systems. *Prog Brain Res.*, 172:177–197.
- Mercado R, H. J. (1992). Regulatory role of a neurotransmitter (5-HT) on glial $\text{Na}^+/\text{k}^+ \text{--ATPase}$ in the rat brain. *Neurochem.*, 21 (1): 119-127.
- Mercado, R. et al.. (1994) Biochemical properties of $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPase}$ in axonal growth cone particles isolated from fetal rat brain. *Int. J. Dev. Neurosci.*, 12 (5): 495-489.

- Motulsky, HJ. (2003) Prism 4 Statics Guide-Statistical analyses for laboratory and clinical researches. *GraphPad SOFTWARE Inc.*
- Mountcastle- Vernon, B. (1997). The columnar organization of the neocortex. *Brain.*, 120: 701–722.
- Naftel, J. P. A. (2014) Biología celular de las neuronas y la glía. En H. E.D., *Principios de neurociencias, Aplicaciones basicas y clínicas, cuarta edición*. (págs. 2:14-30). Barcelona, España.: Elsevier España, S.L.
- Nestler, E.J., (2001) *Molecular Neuropsychopharmacology: A Foundation for Clinical Neuroscience*. New York,: McGraw-Hill.
- NOM-062-ZOO-1999. (2001) Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. *NORMA Oficial Mexicana*, 1-17.
- Noriega-Borgé, JM. P. (2014) COMUNICACIÓN NEURONAL: SINAPSIS. *Universidad de Cantabria.*, 1-11.
- OMS. (ENERO de 2015) *ORGANIZACION MUNDIAL DE SALUD*. Obtenido de ORGANIZACION MUNDIAL DE SALUD.: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>
- OMS. (Enero de 2015) *Organización Mundial de Salud*. Obtenido de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>
- Peña, M.T. et al. (1999) Regulation of Glial $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPase}$ by Serotonin: Identification of Participating Receptors. *Neurochemical Research.*, 24(5): 643-649.
- Polvani, C. B. (1989) Effects of cytoplasmic sodium concentration on the electrogenicity of the sodium pump. *J Biol Chem*, 264(26): 15182-15185.
- Racchah, D. J. M. (2004) C-peptide, $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPase}$ and diabetes. *Exp. Diabetes Res.* 5: 35-50.
- Raiteri, R. M. (2002) Coexistence and function of different neurotransmitter transporters in the plasma membrane of CNS neurons. *ProgNeurobiol*, 68:287-309.
- Redolar Ripoll, D. (2008) cerebro y Adicción "Neurobiología del Refuerzo". Barcelona, España: UOC.
- Rockhold, R. W. (2014) Bases químicas de la comunicación neuronal. En D. Haines, *Fundamental Neuroscience for Basic and Clinical Applications* (págs. 52-66). Barcelona ; España.: Elsevier España.
- Salazar, M. P. (2009) Tratado de Psicofarmacología, "Bases y aplicación Clínica". Madrid: PANAMERICANA.
- Sanders- Bush, E. H. (2012) 5 - hidroxitriptamina (serotonina) y dopamina. En *Goodman & Gilman, Las bases farmacológicas de la terapéutica* (págs. 13: 341-342). Mc Graw Hill.
- Sanders-Bush, E. M. (2005) *Agonistas y antagonistas de receptores 5- hidroxitriptamina, las bases farmacológicas de la terapéutica Goodman & Gilman*. España: (11): 297-315.

- Saudou, F. A. (1994) Enhanced aggressive behavior in mice lacking 5-HT_{1B} receptor. *Science*, 265:1875–1878.
- Schawartz, J.H. (2002) Principios de neurociencias, Cerebro, Neuronas y conducta. McGraw-Hill.
- Silberstein, S. (2008) Treatment recommendations for migraine. *Nat Clin Pract Neurol.*, 4:482–489.
- Skou, J. C. (1992) The Na^+/K^+ Pump. *Physiology*, 7(3): 95-100.
- Steiner, J.A. (2008) Going with the flow: Trafficking-dependent and -independent regulation of serotonin transport. *Traffic*, 9:1393-1402.
- Sweetman, S. (2007) *Buspirona, Martindale: Guía completa de Consulta Farmacoterapéutica*. Barcelona: Pharma Editores.
- Szkudelski, T. (2001) The mechanism of alloxan and streptozotocin action in beta cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.*, 50 (6): 537-546.
- Tesfaye, S. B. A. (2010) Diabetic Neuropathies: Update on Definitions, Diagnostic Criteria, Estimation of Severity, and Treatments. *Diabetes Care*, 33: 2285-2293.
- Vague, P. C. T. (2004) C-peptide $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{--ATPase}$, and diabetes. *Exp Diabetes Res.*, 5(1): 37-50.
- Voet, D. V. (2008) Segunda Edición, Fundamentos de Bioquímica: La vida a nivel molecular. Médica Panamericana.
- Walther, D.J. (2003) A unique central tryptophan hydroxylase isoform. *Biochem Pharmacol*, 66:1673-1680.
- Westbrook, G.L. and Schwartz, J. (2001) Citología de las neuronas. En S. J. Kandel et al., *Principios de Neurociencia*. (págs. 4: 67-86). McGraw-Hill.
- Winter, J. (2009) Hallucinogens as discriminative stimuli in animals: LSD, phenethylamines, and tryptamines. *Psychopharmacology (Berl)*, 203:251–263.
- Wong, D.T. (2005) The Discovery of Fluoxetine Hydrochloride. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4: 764-774.