



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA  
FACULTAD DE MEDICINA  
COMISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO  
POSTGRADO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS  
INSTITUTO DE MEDICINA EXPERIMENTAL

**ESTUDIO DE PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS Y ELÉCTRICAS DE  
NEURONAS BAROSENSIBLES DEL NÚCLEO DEL TRACTO SOLITARIO (NTS)  
DE RATAS SPRAGUE-DAWLEY Y ESPONTÁNEAMENTE HIPERTENSAS  
(SHR)**

Tesis Doctoral que se presenta para optar al título de Doctor en Ciencias Fisiológicas

Humberto Julio Acevedo Llovera.

Caracas, junio 2012



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA  
FACULTAD DE MEDICINA  
COMISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO  
POSTGRADO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS  
INSTITUTO DE MEDICINA EXPERIMENTAL

**ESTUDIO DE PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS Y ELÉCTRICAS DE  
NEURONAS BAROSENSIBLES DEL NÚCLEO DEL TRACTO SOLITARIO (NTS)  
DE RATAS SPRAGUE-DAWLEY Y ESPONTANEAMENTE HIPERTENSAS  
(SHR)**

Tesis Doctoral que se presenta para optar al título de Doctor en Ciencias Fisiológicas

Humberto Julio Acevedo Llovera.

Tutor: Estela Gottberg

Caracas, junio 2012



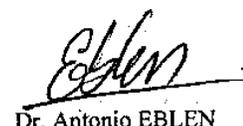
Curso de Post-grado en Ciencias Fisiológicas  
Universidad Central de Venezuela  
Facultad de Medicina  
Apartado Postal 50587, Sabana Grande  
Caracas - Venezuela

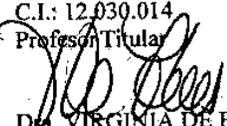
## VEREDICTO

Los abajo firmantes, miembros del Jurado designado por el Consejo de la Facultad de Medicina y por el Consejo de Estudios de Postgrado de la Universidad Central de Venezuela, para examinar el Trabajo de Tesis titulado "ESTUDIO DE PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS Y ELÉCTRICAS DE NEURONAS BAROSENSIBLES DEL NÚCLEO DEL TRACTO SOLITARIO (NTS) DE RATAS SPRAGUE-DAWLEY Y ESPONTÁNEAMENTE HIPERTENSAS (SHR)", presentado por el ciudadano HUBERTO ACEVEDO, Cédula de Identidad No. 3.974.103, a los fines de cumplir con el requisito legal para la obtención del Título de DOCTOR EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS, dejamos constancia de lo siguiente:

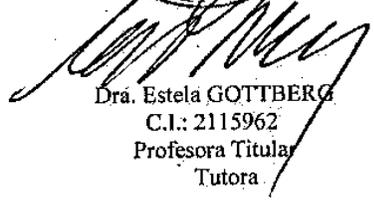
- 1.- Que recibimos cada uno un ejemplar de dicho Trabajo de Tesis y que estudiamos su contenido con el fin de evaluar el trabajo realizado por el autor.
- 2.- Que fijamos de común acuerdo el día 12 de Junio del año 2012 a las 10:00 a.m., en el salón del Postgrado en Ciencias Fisiológicas, ubicado en el Instituto de Medicina Experimental para realizar la presentación y defensa pública del Trabajo de Tesis de acuerdo con lo estipulado en las normas reglamentarias del Curso de Postgrado en Ciencias Fisiológicas.
- 3.- Que la presentación y defensa pública del Trabajo de Tesis fue realizada en la fecha y hora fijada, mediante una exposición oral de su contenido durante 45 minutos, luego de lo cual el autor respondió satisfactoriamente a las preguntas que le fueron formuladas por los miembros del Jurado.
- 4.- Que una vez finalizada la defensa pública del trabajo de Grado, el Jurado decidió por unanimidad declararlo APROBADO, por considerar, sin hacerse solidario de las ideas expuestas por el autor, que se ajusta a lo dispuesto y exigido por el Reglamento de Estudios de Postgrado. Para dar este veredicto el Jurado estimó que la obra examinada constituye un aporte original porque representa una contribución muy importante al conocimiento relacionado con la descripción de las respuestas de neuronas barosensibles del núcleo del tracto solitario

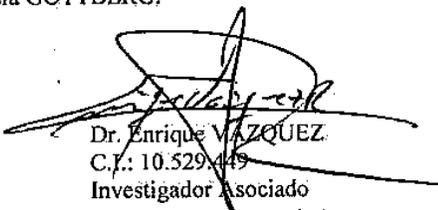
En fe de lo cual se levanta la presente acta a los 12 días del mes de junio del año dos mil doce, dejándose también constancia de que conforme al artículo 18 de las Normas y procedimientos para la elaboración de la tesis doctoral, actuó como miembro principal del Jurado el Dr. Enrique VÁZQUEZ, inicialmente designado por el Consejo de Estudios de Postgrado, como suplente del Dr. Horacio VANEGAS quien no se encontraba disponible para constituir el jurado en la fecha propuesta. Así mismo según lo dispuesto en la normativa jurídica vigente actuó como coordinador del jurado la tutora Dra. Estela GOTTBERG.

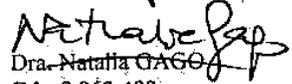
  
Dr. Antonio EBLEN  
C.I.: 12.030.014  
Profesor Titular

  
Dra. VIRGINIA DE FRIAS  
C.I.: 6.093.953  
Profesora Agregado



  
Dra. Estela GOTTBERG  
C.I.: 2115962  
Profesora Titular  
Tutora

  
Dr. Enrique VÁZQUEZ  
C.I.: 10.529.449  
Investigador Asociado

  
Dra. Natalia CAGO  
C.I.: 9.963.488  
Profesora Agregado

**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA  
VICERRECTORADO ACADÉMICO  
SISTEMA DE INFORMACIÓN CIENTÍFICA, HUMANÍSTICA Y  
TECNOLÓGICA (SICHT)**

FECHA: 11 de marzo de 2014

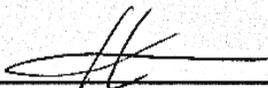
**AUTORIZACIÓN PARA LA DIFUSIÓN ELECTRONICA DE LOS TRABAJOS DE  
LICENCIATURA, TRABAJO ESPECIAL DE GRADO, TRABAJO DE GRADO Y  
TESIS DOCTORAL DE LA  
UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA.**

Yo, (Nosotros) Humberto Julio Acevedo Llovera, autor(es) del trabajo o tesis, ESTUDIO DE PROPIEDADES FARMACOLOGICAS Y ELECTRICAS DE NEURONAS BAROSENSIBLES DEL NUCLEO DEL TRACTO DE RATAS SPRAGUE-DAWLEY Y ESPONTANEAMENTE HIPERTENSAS (SHR).

Presentado para optar: al TÍTULO DE DOCTOR EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS  
Autorizo a la Universidad Central de Venezuela, a difundir la versión electrónica de este trabajo, a través de los servicios de información que ofrece la Institución, sólo con fines de académicos y de investigación, de acuerdo a lo previsto en la Ley sobre Derecho de Autor, Artículo 18, 23 y 42 (Gaceta Oficial N° 4.638 Extraordinaria, 01-10-1993).

X	Si autorizo
	Autorizo después de 1 año
	No autorizo
	Autorizo difundir sólo algunas partes del trabajo.
Indique:	

Firma(s) autor (es)

  
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

C.I. N° 3974103

C.I. N° \_\_\_\_\_

e-mail: julio.biologo307@gmail.com

e-mail: \_\_\_\_\_

En Caracas, a los 11 días del mes de Marzo de 2014

**Nota:** En caso de no autorizarse la Escuela o Comisión de Estudios de Postgrado, publicará: la referencia bibliográfica, tabla de contenido (índice) y un resumen descriptivo, palabras clave y se indicará que el autor decidió no autorizar el acceso al documento a texto completo.

La cesión de derechos de difusión electrónica, no es cesión de los derechos de autor, porque este es intransferible.

## RESUMEN

El Núcleo del Tracto Solitario (NTS) representa un centro de integración de la actividad refleja cardiopulmonar, donde diversos estudios reportan al Glutamato y el GABA como los principales neurotransmisores excitador e inhibidor respectivamente. El objetivo de este trabajo fue estudiar algunas propiedades farmacológicas y eléctricas de neuronas barosensibles del NTS de ratas normotensas Sprague-Dawley y espontáneamente hipertensas (SHR). Se emplearon ratas machos con pesos entre 280-380 gramos y anestesiados con Uretano a dosis 1gr/kg. En un grupo se administraron en el NTS, L-Glutamato y GABA, además se midió la presión arterial (PA) y la frecuencia cardiaca (FC). En otro, se registró la actividad neuronal con electrodos de resistencia entre  $5M\Omega \pm 2M\Omega$  y por microiontoforesis se microinyectaron L-Glutamato (0,5M), GABA (0,5M) y antagonistas. El Glutamato administrado incrementó significativamente la PA y la FC, mientras que el GABA las redujo en las ratas estudiadas. Patrones gaussianos se observaron en las curvas dosis-respuestas por la aplicación mediante microiontoforesis de Glutamato y GABA en las normotensas; mientras que en las SHR, el Glutamato no lo generó. El Glutamato incrementó significativamente la frecuencia de los potenciales de acción en las ratas estudiadas; aumentando la amplitud en las hipertensas, además de reducir amplitud y duración en las normotensas. El GABA disminuyó significativamente la frecuencia y la duración de los potenciales en las SHR y normotensas; incrementando la amplitud en las primeras y reduciéndola en las segundas. Estos resultados permitieron caracterizar las neuronas del NTS sensibles a presión en ratas normotensas e hipertensas.

Palabras claves: NTS, L-Glutamato, GABA, SHR, Normotensa.

## ABSTRACT

The Nucleus of Solitary Tract (NTS) represents an integration center reflects cardiopulmonary where several studies reported to glutamate and GABA as the major excitatory and inhibitory neurotransmitters respectively. The aim of this work was to study some pharmacological and electrical properties of barosensory NTS neurons in normotensive (Sprague- Dawley) and spontaneously hypertensive rats (SHR). Two groups of male rats (280-380 g) were anesthetized with urethane at a dose 1gr/kg. In one group were administered in the NTS, L- glutamate and GABA , plus blood pressure (BP ) and heart rate (HR ) was measured. In other one, the neuronal activity was recorded with electrodes resistance between  $5M \Omega \pm 2M \Omega$  and was microinjected by microiontoforesis L-Glutamate (0.5 M), GABA (0.5 M) and antagonists. Supplied Glutamate increased both BP and HR significantly, whereas GABA reduces it. Gaussian patterns were observed in the dose curves - responses to the application of microiontoforesis Glutamate and GABA in normotensive, whereas Glutamate was not generated it in SHR. Also, L-Glutamate increased significantly the frequency and duration of action potentials in both group of rats, increasing the amplitude in the SHR and decreasing it in the normotensive. By the contrary, GABA significantly decreased the frequency and duration of potentials in both groups; increasing the amplitude in the former and reducing it in the latter. These results allowed characterizing barosensibles NTS neurons in normotensive and hypertensive rats.

Keywords: NTS, L-Glutamate, GABA, SHR, Normotensive.

## **AGRADECIMIENTOS**

- 1.- A la Profesora Estela Gottberg, por haber aceptado ser la tutora de este Trabajo.
- 2.- Al Postgrado de Ciencias Fisiológicas de la Facultad de Medicina, por haberme permitido realizar los cursos pertenecientes al Programa de Doctorado y el trabajo especial de grado conducente al título de Doctor.
- 3.- A la Cátedra de Fisiología de la Escuela de Bioanálisis que facilitó el desarrollo de las actividades conducente a la culminación de los cursos del postgrado y el trabajo de investigación.
- 4.- A la Profesora Nathaly Gago, de la Cátedra de Fisiología de la Escuela de Medicina José María Vargas, por permitirme utilizar el vibratomo para realizar los cortes cerebrales de las ratas.
- 5.- Al Dr. Enrique Arciniega, quien me brindó el estímulo, conocimiento y apoyo desinteresado cuando fue necesario durante el desarrollo de los cursos y el trabajo especial de grado.
- 6.- Al Bioterio de la Escuela de Medicina José María Vargas, que suministró, alimentó y mantuvo en condiciones apropiadas los animales empleados en este trabajo.
- 7.- Al Bioterio del Instituto de Higiene Rafael Rangel, quienes me suministraron animales para ser usados en este trabajo.
- 8.- Al personal de la Biblioteca Marcel Roche del Instituto de Investigaciones Científicas de Venezuela (IVIC) por la colaboración brindada al permitirme obtener las separatas, consultar material escrito (libros, monografías) y reproducción de imágenes, requerido en el desarrollo de esta investigación.
- 9.- Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela, quienes financiaron el curso de postgrado y el desarrollo de este trabajo.
- 10.- Todos aquellas personas e Instituciones diversas que brindaron el apoyo desinteresado que contribuyo a feliz término este proyecto.

**A Aminta, mi esposa,  
Humberto Jesús, mi hijo,  
Isabel Melina, mi hija,  
mis hermanos,  
mis sobrinos.**

## INDICE

<b>RESUMEN</b> .....	I
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	II
<b>DEDICATORIA</b> .....	III
<b>INDICE</b> .....	IV
<b>INDICE DE FIGURAS</b> .....	IX
<b>INDICE DE TABLAS</b> .....	XIII
<b>INTRODUCCION</b> .....	1
A.- Glutamato.....	2
A1.- Receptores de Glutamato.....	2
A1a.-Receptores No-NMDA, tipos AMPA/KA.....	2
A1a1.- Receptores Inotrópicos AMPA.....	3
A1a2.- Receptores inotrópicos KA.....	4
A1b.-Receptores NMDA.....	6
A1c.- Receptores Metabotrópicos.....	6
A2.- El ion Mg <sup>2+</sup> .....	6
A3.- El ácido kynureico (KA).....	7
A4.- El Glutamato, el NTS y la regulación de la presión arterial.....	8
B.- GABA.....	10
B1.- Receptores de GABA.....	10
B1a.- Receptor GABAA.....	10
B1b.- Receptor GABAB.....	12
B2.- El GABA y la Presión arterial en ratas.....	15
C.- Nervios Depresor aórtico (ADN) y del Seno Carotideo (CSN).....	16

C1.- Nervio depresor aórtico (ADN).....	16
C2.- Nervio del Seno carotideo (CSN).....	18
D.- Cerebelo y Propiocepción.....	20
E.- El Núcleo del Tracto Solitario (NTS).....	24
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	29
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	29
<b>MATERIALES</b> .....	30
A.- Animales.....	30
<b>METODOS</b> .....	30
A.- Procedimiento quirúrgico y esterotáxico.....	30
B.- Registro de la Presión arterial (PA) y la Frecuencia cardiaca (FC).....	30
C.- Identificación de unidades barosensibles del NTS.....	30
D.- Registro de la actividad de unidades del NTS.....	31
E.- Micropipetas usadas para aplicar los agonistas y los antagonistas.....	31
F.- Micropipeta de corriente de compensación.....	31
G.- Aplicación de sustancias.....	32
H.- Análisis de la Data.....	32
I.- Histología.....	33
Figuras.....	34
<b>RESULTADOS</b> .....	35
Tablas y Figuras.....	35
Resultados.....	85
1.-Efectos del Glutamato y GABA sobre la Presión arterial y la frecuencia cardíaca en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y	

Normotensas (Sprague-Dawley) .....	85
2.-Distribución de las Respuestas (No espigas/sg) cuando se incrementan las dosis (10-125 nA) de Glutamato administrado por microiontoforesis en el NTS de las ratas normotensas (Sprague-Dawley) y las espontáneamente hipertensas (SHR).....	86
3.- Efecto del Glutamato y antagonistas glutamatérgicos inyectados por microiontoforesis sobre la frecuencia de descarga de neuronas barosensibles del NTS de ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley).....	87
4.- Efecto del GABA y antagonistas gabaérgicos inyectados por microiontoforesis sobre la frecuencia de descarga de neuronas barosensibles del NTS de las ratas (Sprague–Dawley) e hipertensas (SHR).....	88
5.- Efecto del Glutamato, NBQX, MK-801 y el MgCl <sub>2</sub> sobre la Duración y la Amplitud de Potenciales de acción (Pots.A) de neuronas del NTS en ratas hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley).....	90
6.- Efecto del GABA, Saclofen y Picrotoxina sobre la Duración y la Amplitud de Potenciales de Acción de Neuronas del NTS en ratas hipertensas (SHR) y normotensas Sprague-Dawley.....	93
7.- Derivación de criterios para la diferenciación inter grupos, en base a las acciones del neurotransmisor y la participación de receptores. Análisis y comparación de los efectos del Glutamato y sus antagonistas sobre la variación (expresada en %) de la duración de los potenciales de acción (Pots. A) registrados en neuronas del NTS en ratas Hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley).....	95
8.- Derivación de criterios para la diferenciación inter grupos, en base a las acciones del neurotransmisor y la participación de receptores. Análisis y comparación de los efectos del Glutamato y sus antagonistas sobre la variación (expresada en %) de la amplitud de los potenciales de acción (Pots. A) registrados en neuronas del NTS en ratas Hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley).....	99
9.- Derivación de criterios para la diferenciación inter grupos, en base a las acciones del neurotransmisor y la participación de receptores. Análisis y comparación de los efectos del GABA, Saclofen y Picrotoxina sobre la variación (expresada en %) de la duración de los potenciales de acción (Pots. A) registrados en neuronas del NTS en ratas Hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley).....	104

10.- Derivación de criterios para la diferenciación inter grupos, en base a las acciones del neurotransmisor y la participación de receptores. Análisis y comparación de los efectos del GABA, Saclofen y Picrotoxina sobre la variación (expresada en %) de la amplitud de los potenciales de acción (Pots. A) registrados en neuronas del NTS en ratas Hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley).....	107
11.- Corte cerebral e indicación de Posición de la punta del electrodo.....	110
<b>DISCUSION</b> .....	111
1.- Efectos del Glutamato y GABA sobre la presión arterial y la frecuencia cardiaca en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley).....	111
2.- Distribución de las respuestas (No espigas/sg) cuando se incrementan las dosis (10-125 nA) de Glutamato administrado por microiontoforesis en el NTS de las ratas normotensas (Sprague-Dawley) e hipertensas (SHR).....	112
3.- Efectos del Glutamato y sus antagonistas microinyectados por microiontoforesis, sobre la frecuencia de descarga de neuronas barosensibles del NTS de las ratas hipertensas (SHR) y las normotensas (Sprague-Dawley) .....	118
4.- Efecto del GABA inyectado por microiontoforesis sobre la frecuencia de descarga de neuronas barosensibles del NTS de las ratas normotensas (Sprague-Dawley) y las hipertensas (SHR).....	126
5.- Efecto del Glutamato, NBQX, MK-801 y MgCl <sub>2</sub> sobre la Duración y la Amplitud de Potenciales de acción (Pots.A) de neuronas barosensibles del NTS en ratas hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley).....	130
6.- Efecto del GABA, Saclofen y Picrotoxina sobre la Duración y la Amplitud de Potenciales de acción (Pots. A) de neuronas barosensibles del NTS en ratas hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley).....	134
7.- Comparación de los efectos (expresados en %) del Glutamato, NBQX, MK-801 y MgCl <sub>2</sub> , sobre la Duración y la Amplitud de Potenciales de acción (Pots.A) de neuronas barosensibles del NTS en ratas hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley).....	139
7a.- Efectos (%) del Glutamato y sus antagonistas sobre la duración	

de los Potenciales de Acción (Pots.A) en neuronas barosensibles del NTS en ratas hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley).....	139
7b.- Efectos (%) del GLUTAMATO y sus antagonistas sobre la amplitud de los Potenciales de Acción de neuronas barosensibles del NTS en ratas hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley).....	141
8.- Comparación de los efectos (expresados en %) del GABA, Saclofen y Picrotoxina sobre la duración y la amplitud de Potenciales (Pots.A) de neuronas barosensibles del NTS en ratas hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley).....	141
8a.- Efectos (expresados en %) del GABA, Saclofen y Picrotoxina sobre la Duración de Potenciales (Pots.A) de neuronas del NTS en ratas hipertensas (SHR) y Normotensas (Sprague-Dawley).....	143
8b.- Efectos (expresados en %) del GABA, Saclofen y Picrotoxina sobre la Amplitud de Potenciales (Pots.A) de neuronas del NTS en ratas SHR y Sprague-Dawley (SD).. ....	144
<b>CONCLUSIONES</b> .....	148
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	151
<b>REFERENCIAS</b> .....	153

## INDICE DE FIGURAS

Fig. 1.- Montaje experimental.....	34
Fig. 2.- Montaje experimental para registro y aplicación de sustancias por microiontoforesis.....	35
Fig.3.- Registro de actividad de una unidad barosensibles del NTS de una rata SHR.....	36
Fig. 4.- Registro de la Presión arterial bajo efecto de Fenilefrina administrada por vía intravenosa e histogramas de la descarga de unidades barosensibles del NTS en una rata SHR.....	37
Fig. 5.- Registros de la Presión arterial (mm Hg) y la Frecuencia cardiaca (latidos por min, bpm) de una rata Sprague-Dawley a la cual en el NTS se le microinyectó 3 µl de una solución de Glutamato (0,5M) .....	39
Fig. 6.- Registro de la Presión arterial (mm Hg) y la Frecuencia cardiaca (latidos por min) de una rata SHR a la cual se le microinyectó 3 µl de una solución de Glutamato (0,5 M) en el NTS.....	41
Fig. 7.- Registros de la Presión arterial y la Frecuencia cardiaca obtenido de una rata Sprague-Dawley a la cual se le microinyectó 3 µl de GABA (0,5 M) en el NTS.....	43
Fig. 8.- Registros de la Presión arterial(mm Hg) y la Frecuencia cardiaca(latido por min, bpm) de una rata hipertensa (SHR) a la cual se le microinyectó 3 µl de GABA (0,5 M) en el NTS.....	45
Fig. 9.- Efecto del Glutamato aplicado por microiontoforesis, sobre la frecuencia de descarga de algunas unidades del NTS en ratas SHR.....	47
Fig. 10.- Relación dosis vs respuestas. Variación del No de espigas/sg. producida por Glutamato microinyectado a dosis crecientes (nA) y mediante microiontoforesis en el NTS de ratas normotensas (A,Sprague-Dawley) y espontáneamente hipertensas (B,SHR).....	48
Fig. 11.- Cambios del No espigas/sg. en neuronas barosensibles del NTS, cuando se aplican por microiontoforesis dosis crecientes de GABA en dicho núcleo de ratas hipertensas (SHR)	

.....	49
Fig. 12.- Cambios del No espigas/sg. en neuronas barosensibles del NTS, cuando se aplican por microiontoforesis dosis crecientes de GABA en dicho núcleo de ratas normotensas (Sprague-Dawley).....	50
Fig. 13.- Efectos del NBQX, MK-801 y MgCl <sub>2</sub> (antagonizando la acción del Glutamato endógeno) sobre la frecuencia de descarga de neuronas del NTS de ratas hipertensas (SHR). NBQX (antagonista de Glutamato a través de receptores tipo AMPA), MK-801(antagonista de Glutamato a través de receptores tipo NMDA) y MgCl <sub>2</sub> (bloqueador del canal iónico del receptor a Glutamato, tipo NMDA).....	51
Fig. 14.- Valores (promedios ± SEM) de la frecuencia de descarga de neuronas del NTS en ratas hipertensas (SHR); Control y bajo la acción de Glutamato (GLUT), Glutamato con tratamiento previo del antagonista NBQX (NBQX+GLUT), Glutamato con tratamiento previo del antagonista MK-801 y Glutamato con tratamiento previo del MgCl <sub>2</sub> (MgCl <sub>2</sub> + GLUT), microinyectados por microiontoforesis en dicho núcleo.....	53
Fig. 15.- Efectos del NBQX, MK-801 y MgCl <sub>2</sub> antagonizando la acción del Glutamato endógeno sobre la frecuencia de descarga de neuronas del NTS de ratas normotensas (Sprague-Dawley). Valores (promedio±SEM) de la descarga obtenida como Control y bajo la acción de NBQX (antagonista no-NMDA), MK-801 (antagonista NMDA) y MgCl <sub>2</sub> (bloqueador del canal iónico del receptor NMDA).....	55
Fig. 16.- Valores (promedios ± SEM) de la frecuencia de descarga de neuronas del NTS. Control y bajo la acción de Glutamato (GLUT), Glutamato con tratamiento previo del antagonista NBQX (NBQX+GLUT), Glutamato con tratamiento previo del antagonista MK-801 y Glutamato con tratamiento previo del MgCl <sub>2</sub> (MgCl <sub>2</sub> + GLUT), microinyectados por microiontoforesis en el mismo núcleo de ratas normotensas (Sprague-Dawley).....	57
Fig. 17.- Efecto del GABA aplicado por microiontoforesis, sobre la frecuencia de descarga de algunas unidades del NTS en un rata normotensa (Sprague-Dawley).....	59
Fig. 18.- Efectos de Picrotoxina y Saclofen, sobre el GABA endógeno en las frecuencias de descarga de neuronas del NTS en ratas hipertensas (SHR).....	60

Fig. 19.- Valores (promedios $\pm$ SEM) de frecuencia de descarga de neuronas del NTS, en ratas espontáneamente hipertensas (SHR). Control y bajo la acción de GABA; GABA con tratamiento previo del antagonista Picrotoxina (PICROT + GABA); GABA con tratamiento previo del antagonista SACLOFEN (SACLOF + GABA) .....	62
Fig. 20.- Efectos de Picrotoxina y Saclofen, sobre el GABA endógeno en la frecuencias de descarga de neuronas del NTS de ratas normotensas (Sprague-Dawley).....	64
Fig. 21.- Valores (promedios $\pm$ SEM) de frecuencia de descarga de neuronas del NTS, en ratas normotensas (Sprague-Dawley). Control y bajo la acción de GABA; GABA con tratamiento previo del antagonista Picrotoxina (PICROT + GABA); GABA con tratamiento previo del antagonista SACLOFEN (SACLOF + GABA) .....	66
Fig. 22.- Representaciones de registros de Potenciales de Acción (Promedio) de neuronas del NTS en condiciones Control y bajo la acción de Glutamato, NBQX, MK-801, MgCl <sub>2</sub> y pretratamiento, microinyectados por microiontoforesis en el mismo núcleo de una rata espontáneamente hipertensa (SHR). En el cuadrante superior derecho de cada espiga se indica la duración (ms) y la amplitud (mv).....	68
Fig. 23.- Representaciones de registros de Potenciales de Acción (Promedio) de neuronas del NTS en condiciones Control y bajo la acción de Glutamato, NBQX, MK-801, MgCl <sub>2</sub> y pretratamiento, microinyectados por microiontoforesis en el mismo núcleo de una rata normotensa (SHR). En el cuadrante superior derecho de cada espiga se indica la duración (ms) y la amplitud (mv).....	71
Fig. 24.- Representaciones de registros de Potenciales de Acción (Promedio) de neuronas del NTS en condiciones Control y bajo la acción GABA, SACLOFEN, PICROTOXINA y pretratamiento, microinyectados por microiontoforesis en el mismo núcleo de una rata espontáneamente hipertensa (SHR). En el cuadrante superior derecho de cada espiga se indica la duración (ms) y la amplitud (mv).....	74
Fig. 25.- Representaciones de registros de Potenciales de Acción (Promedio) de neuronas del NTS en condiciones Control y bajo la acción GABA, SACLOFEN, PICROTOXINA y pretratamiento, microinyectados por microiontoforesis en el mismo núcleo de una rata normotensa (Sprague-Dawley). En el cuadrante superior derecho de cada espiga se indica la duración (ms) y la amplitud (mv).....	77

Fig. 26.- Cuadro superior (azulado), fotografía de un corte coronal del cerebro de una rata estudiada, indicando mediante flecha la localización de la punta del electrodo de registro. Cuadro Inferior, una representación del Atlas cerebral de Paxinos y Watson (1997) señalando el núcleo Intermedio del tracto solitario (Sol IM) y marcas (triángulos negros) de registros..... 84

## INDICE DE TABLAS

TABLA I. Valores basales (promedio $\pm$ SEM) de Presiones arteriales y de Frecuencia cardiaca registradas en ratas hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley).....	38
TABLA II. Variaciones de los valores de las presiones (promedio $\pm$ SEM) arteriales Sistólica, Diastólica y Media, además de la frecuencia cardiaca (latidos por minuto) cuando se microinyectó 3 $\mu$ l de Glutamato (0,5M) en el NTS de ratas normotensas (Sprague-Dawley)...	40
TABLA III. Variaciones de los valores de las presiones (promedio $\pm$ SEM) arteriales Sistólica, Diastólica y Media y además de la Frecuencia cardiaca (latidos por minuto) cuando se microinyectó 3 $\mu$ l de Glutamato (0,5M) en el NTS de ratas espontáneamente hipertensas (SHR).....	42
TABLA IV. Variaciones de los valores de las presiones (promedio $\pm$ SEM) arteriales Sistólica, Diastólica y Media, además de la frecuencia cardiaca (latidos por minuto) cuando se microinyectó 3 $\mu$ l de GABA (0,5M) en el NTS de ratas normotensas (Sprague-Dawley).....	44
TABLA V. Variaciones de los valores de las presiones (promedio $\pm$ SEM) arteriales Sistólica, Diastólica y Media y además de la Frecuencia cardiaca (latidos por minuto) cuando se microinyectó 3 $\mu$ l de GABA (0,5M) en el NTS de ratas espontáneamente hipertensas (SHR).....	46
TABLA VI.- Valores promedios de la frecuencia de descarga basales y bajo la acción de NBQX, MK-801 y MgCl <sub>2</sub> (antagonistas de Glutamato), en neuronas del NTS de ratas espontáneamente hipertensas (SHR).....	52
TABLA VII.- Valores (promedios $\pm$ SEM) de la frecuencia de descarga de neuronas del NTS en ratas hipertensas (SHR); Control y bajo la acción de Glutamato (GLUT), Glutamato con tratamiento previo del antagonista NBQX (NBQX+GLUT), Glutamato con tratamiento previo del antagonista MK-801 y Glutamato con tratamiento previo del MgCl <sub>2</sub> (MgCl <sub>2</sub> + GLUT).....	54
TABLA VIII.- Valores promedios de la frecuencia de descarga basales y bajo la acción de NBQX, MK-801 y MgCl <sub>2</sub> (antagonistas y bloqueador de receptores de Glutamato), en neuronas del NTS de ratas normotensas (Sprague-Dawley).....	56
TABLA IX.- Valores (promedios $\pm$ SEM) de la frecuencia de descarga	

de neuronas del NTS en ratas normotensas (Sprague-Dawley); CONTROL y bajo la acción de Glutamato (GLUT), Glutamato con tratamiento previo del antagonista NBQX (NBQX+GLUT), Glutamato con tratamiento previo del antagonista MK-801 y Glutamato con tratamiento previo del MgCl <sub>2</sub> (MgCl <sub>2</sub> + GLUT).....	58
TABLA X.- Valores (promedio $\pm$ SEM) de la la frecuencia de descarga de neuronas del NTS en ratas hipertensas (SHR); CONTROL y bajo la acción de Picrotoxina y Saclofen (antagonistas GABAA y GABAB, respectivamente).....	61
TABLA XI.- Valores (promedios $\pm$ SEM) de la frecuencia de descarga de neuronas del NTS en ratas espontáneamente hipertensas (SHR). Control y bajo la acción de GABAA (GABA), GABA con tratamiento previo del antagonista PICROTOXINA (PICROT+GABA) y GABA con tratamiento previo del antagonista SACLOFEN (SACLOFEN+GABA).....	63
TABLA XII.- Valores (promedio $\pm$ SEM) de la la frecuencia de descarga de neuronas del NTS en ratas normotensas (Sprague-Dawley). Control y bajo la acción de PICROTOXINA y SACLOFEN.	65
TABLA XIII.- Valores (promedios $\pm$ SEM) de la frecuencia de descarga de neuronas del NTS en ratas normotensas (Sprague-Dawley). Control y bajo la acción de GABA (GABA), GABA con tratamiento previo del antagonista PICROTOXINA (PICROT+GABA) y GABA con tratamiento previo del antagonista SACLOFEN (SACLOF+GABA).....	67
TABLA XIV.- Efectos de la microinyección de GLUTAMATO, (GLUT), NBQX, MK-801, MgCl <sub>2</sub> y pretratamientos, sobre la duración (promedio $\pm$ SEM) de diez (10) Potenciales de acción registrados desde neuronas del NTS de ratas espontáneamente hipertensas (SHR).....	69
TABLA XV.- Efectos de la microinyección de GLUTAMATO (GLUT), NBQX, MK-801, MgCl <sub>2</sub> y pretatamientos, sobre la amplitud (promedio $\pm$ SEM) de diez (10) Potenciales de acción registrados desde neuronas del NTS en ratas espontáneamente hipertensas (SHR).....	70
TABLA XVI.- Efectos de la microinyección de GLUTAMATO, (GLUT), NBQX, MK-801, MgCl <sub>2</sub> y pretratamientos, sobre la duración (promedio $\pm$ SEM) de diez (10) Potenciales de acción registrados desde neuronas del NTS de ratas normotensas (Sprague-Dawley).....	72

TABLA XVII.- Efectos de la microinyección de GLUTAMATO (GLUT), NBQX, MK-801, MgCl <sub>2</sub> y pretatamientos, sobre la amplitud (promedio ± SEM) de diez (10) Potenciales de acción registrados desde neuronas del NTS en ratas normotensas (Sprague-Dawley).....	73
TABLA XVIII.- Efectos de la microinyección de GABA, PICROTOXINA (PICROT), SACLOFEN (SACLOF) y pretratamientos, sobre la duración (promedio ± SEM) de potenciales de acción registrados desde neuronas del NTS en ratas espontáneamente hipertensas (SHR).....	75
TABLA XIX.- Efectos de la microinyección de GABA, PICROTOXINA (PICROT), SACLOFEN (SACLOF) y pretratamientos GABA sobre la amplitud (promedio ± SEM) de potenciales de acción registrados desde neuronas del NTS en ratas espontáneamente hipertensas (SHR).....	76
TABLA XX.- Efectos de la microinyección de GABA, PICROTOXINA (PICROT), SACLOFEN (SACLOF) y pretratamientos, sobre la duración (promedio ± SEM) de potenciales de acción registrados desde neuronas del NTS en ratas normotensas (Sprague-Dawley).....	78
TABLA XXI.- Efectos de la microinyección de GABA, PICROTOXINA (PICROT), SACLOFEN (SACLOF) y pretratamientos, sobre la amplitud (promedio ± SEM) de potenciales de acción registrados desde neuronas del NTS en ratas normotensas (Sprague-Dawley).....	79
TABLA XXII.- Variación de la duración (expresado en %, promedio ± SEM) de potenciales de acción (Pots. A) registrados en el NTS de ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawey), por efecto de GLUTAMATO (GLUT), NBQX, MK-801, MgCl <sub>2</sub> y pretatamientos (NBQX+GLUT; MK-801+GUT y MgCl <sub>2</sub> +GLUT).....	80
TABLA XXIII.- Variación de la amplitud (expresado en %, promedio ± SEM) de potenciales de acción (Pots. A) registrados en el NTS de ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawey), por efecto de GLUTAMATO (GLUT), NBQX, MK-801, MgCl <sub>2</sub> y pretatamientos (NBQX+GLUT; MK-801+GUT y MgCl <sub>2</sub> +GLUT).....	81
TABLA XXIV.- Variación de la duración (expresado en %, promedio ± SEM) de potenciales de acción (Pots. A) registrados en el NTS de ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawey), por efecto de GABA, PICROTOXINA, SACLOFEN y pretratamiento (PICROTOXINA+GABA; SACLOFEN+GABA).....	82

TABLA XXV.- Variación de la amplitud (expresado en %, promedio  $\pm$  SEM) de potenciales de acción (Pots. A) registrados en el NTS de ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawey), por efecto de GABA, PICROTOXINA, SACLOFEN y pretratamiento (PICROTOXINA+GABA; SACLOFEN+GABA)..... 83

## INTRODUCCION

Existe abundante evidencia de la participación de aminoácidos excitatorios e inhibitorios en la regulación nerviosa de la presión arterial en ratas normotensas, la mas clara, la encontramos en los componentes nerviosos que forman el arco reflejo barorreceptor.

Amino ácidos excitatorios existen en los aferentes barorreceptores, neuronas del Núcleo del Tracto Solitario (NTS) y del núcleo rostral ventrolateral bulbar (RVLM); además neuronas inhibitorias del núcleo caudal ventrolateral bulbar (CVLM) contienen el acido gamma-aminobutírico (GABA) (7).

Evidencias electrofisiológicas y farmacológicas destacan las funciones de los amino ácidos neurotransmisores en el funcionamiento normal del reflejo barorreceptor. Las ratas espontáneamente hipertensas (SHR) se diferencian de las Wistar Kyoto (WKY) en las respuestas a la estimulación, inhibición o lesiones de neuronas del reflejo mencionado: una semana después de la denervación de los barorreceptores, la presión sanguínea se elevó en las WKY y no cambió en las SHR; estimulación del CVLM resultó en una mayor reducción de la presión en SHR en comparación con las WKY; inyecciones de tetrodotoxina en el CVLM produjeron un ligero incremento de la presión en SHR y el bloqueo de los receptores sensibles a Glutamato en la médula espinal atenuaron la respuesta a la estimulación del RVLM en ambas grupo de ratas, pero sólo se redujo la presión sanguínea de reposo en las SHR. Al integrar estos resultados se puede señalar que la alteración de la actividad de los amino ácidos en los sitios del arco reflejo barorreceptor contribuyen a la hipertensión en las SHR (7).

La primera evidencia funcional que destaca la importancia del NTS en el control de la presión arterial la encontramos en los experimentos donde lesiones (eléctrica y química, ácido Kaínico ) del NTS provocan una elevación de la PA y la muerte del animal 2 a 3 horas después del procedimiento (41). Es relevante destacar que la misma maniobra en perro y gatos, no provoca la muerte, sino una hipertensión crónica y sostenida (153, 123)

## **A.-GLUTAMATO.**

El Glutamato es un amino ácido no esencial que no atraviesa la barrera hematoencefálica, por ello debe ser sintetizado en las neuronas a partir de precursores locales. El precursor más importante es la Glutamina, que es liberada por las células gliales y captada por el terminal presináptico y metabolizada por la enzima mitocondrial glutaminasa; este neurotransmisor también puede ser sintetizado por la transaminación de 2-Oxoglutarato, un intermediario del ciclo de ácidos tricarboxílicos; una vez sintetizado en el citoplasma del terminal es empaquetado en vesículas mediante transportadores llamados VGLUT; liberado en la hendidura sináptica es eliminado por los transportadores de amino ácidos excitatorios presentes en las glías y otros en el terminal presináptico, en la glía y astrocitos es convertido en Glutamina por la enzima Glutaminasa, en aquella forma es transportada fuera de estas células hacia las terminaciones nerviosas donde se convierte en Glutamato, siguiendo el ciclo Glutamato-Glutamina (9).

### **A1.-Receptores de Glutamato.**

El Glutamato puede ejercer sus efectos en la neurotransmisión uniéndose a proteínas de membrana conocidas como receptores. Los receptores de Glutamato incluyen dos grandes grupos, los receptores ionotrópicos que actúan como canales iónicos de compuerta dependientes de ligandos y los metabotrópicos que se encuentran acoplados a la proteína G. Los ionotrópicos de acuerdo a los amino ácidos dicarboxílicos que actúan como agonistas de los mismos, se subdividen en tres tipos; los sensibles a N-Metil-D-Aspartato (NMDA), los sensibles al  $\alpha$ -amino-3-hidroxy-5-metil-4-isoxalona, llamados receptores AMPA o Quisquelato y finalmente los receptores sensibles al ácido cainico. ((81), estos dos últimos en conjunto son llamados No-NMDA.

#### **A1a-Los receptores No-NMDA, tipos AMPA/KA.**

Elucidar la estructura de los receptores ionotrópicos del Glutamato es fundamental para comprender sus funciones (28). El estudio de la estructura cristalina del sitio de enlace para

Glutamato de la subunidad GluR2 (AMPA), Glu5/6 (KA) y las subsiguientes estructuras de las regiones de enlace con Glutamato en NMDA (NR1 y NR2) (5, 57, 58) han permitido un esquema visual de cómo estos receptores pueden operar y en algunos casos como los agonistas pueden llevar a activar el receptor.

### **A1a1.-Los receptores ionotrópicos AMPA**

Los receptores del tipo AMPA, pueden existir como canales AMPA que se componen de 4 subunidades (GluR1, GluR2, GluR3 y GluR4) con 4 segmentos transmembranas y pertenecientes a la familia  $\alpha$ , conformado un complejo homométrico o heterométrico de 4 subunidades; En la mayoría de los receptores AMPA, el resto aminoácido de la región M2 formadora del poro es el aminoácido polar no cargado Glutamina, pero en la GluR2 es la arginina, este aminoácido es el responsable de las características de permeabilidad a los iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  y de aquella para el  $\text{Ca}^{2+}$  (81).

Estos receptores son tetrámeros y sus subunidades forman un complejo macromolecular de varias regiones funcionales: un dominio amino terminal (ATD) donde un número de moléculas ejercen su acción modulando la función del receptor (69); el dominio donde enlazan los ligandos consiste de las regiones S1 (N-terminal del segmento transmembrana M1) y S2 entre las regiones M3 y M4, (62, 103, 104); las regiones asociadas con la membrana M1, M3 y M4, así como un lazo del segmento M2 que entra al poro y junto con los residuos de esta región (que cubre el interior del poro) controla la selectividad y permeabilidad iónica (191); un dominio intracelular carboxy-terminal (CTD) contiene un serie de motivos que permiten la interacción con señales de transducción y proteínas de andamiaje, regulación del tráfico y la localización de las proteínas del receptor (170, 189, 137). Muchos de los residuos de los dominios S1 y S2 de enlace con Glutamato son conservados a través de las subunidades del receptor.

La cristalografía de rayos X de la región de enlace agonista-GluR2S1-S2 (6), reveló que el ligando se localiza en una cavidad formada entre ambos dominios; del dominio S1 los residuos Pro478, Thr480 y Arg485 así como Ser654, Thr655 y Glu705 del dominio S2 establecen puentes de hidrógenos con Glutamato. La porción aromática del Tyr450 forma una estructura

electrón-densa anillada por encima del bolsillo de enlace de ligandos y mutaciones del residuo tirosina alteró la potencia del agonista y desensibilizó a los receptores que contienen GluR2 (72) Dentro de la cavidad existen 4 moléculas de agua que forman una red que establece enlaces de hidrógenos entre el ligando y la cadena de los amino ácidos dentro de la cavidad (56).

Una estructura tetrahedral es formada entre el grupo  $\alpha$ -amino de los ligandos (Glutamato, AMPA o Kainato) y los residuos Pro478, Thr480 y Glu705; mientras que el grupo  $\alpha$ -carboxyl es anclado por la Arg485 cargada y acompañada con interacciones de los residuos Ser654 y Thr480. Distinto patrón ocurre con los grupos  $\gamma$  carboxyl de los agonistas, este grupo interactúa con los grupos OH y el esqueleto NH de los residuos Ser654 y Thr655 y dos moléculas de agua en el caso de los ligandos Glutamato y Kanato; mientras que en el caso del AMPA, el grupo estozole interactúa, deja un sitio vacío (normalmente ocupado por el grupo  $\gamma$  carboxyl del Glutamato y el Kanato) que es ocupado por una molécula de agua y de esta manera el AMPA puede comportarse como un ligando similar a Glutamato (5).

En el caso del antagonista DNQX, el patrón es diferente, los dos grupos carboxyl del DNQX actúan como el grupo  $\alpha$ -carboxyl del Glutamato, interactuando con los residuos Thr480 y Arg485. El DNQX es estabilizado por enlaces de hidrógeno adicionales formado entre Pro478 y vía una molécula de agua a Tyr405; finalmente estabilizadoras interacciones  $\pi$  son suministradas por el residuo aromático (Thyr450) el cual es orientado paralelo al anillo quinoxalinediona de DNQX (5).

Cuando un ligando forma un complejo con la proteína GluR2S1S2 cambia el ángulo de cierre del dominio S1-S1 comparado a la conformación no ligada. Para los antagonistas competitivos como el DNQX un ligero movimiento de cierre de los lóbulos del dominio S1-S2, ( $< 3^\circ$ ) fue observado insuficiente para inducir un cambio conformacional necesario para operar el receptor (71); contrariamente, mayor es el cierre del dominio S1-S2 en el caso de los agonistas y ello se relaciona con su eficacia en la activación del canal (74, 75).

## **A1a2.-Los receptores ionotrópicos AK.**

Los receptores sensibles a Kainato son ensamblados como complejos homoméricos y heteroméricos de las subunidades GluR5-7, KA1 y KA2, las dos últimas son incapaces de formar canales y necesitan ensamblarse con las GluR5-7 para formar un canal-receptor funcional.

El receptáculo que contiene el sitio de enlace con ligandos de las subunidades GluR5 y GluR6 del receptor sensible a Kainato, comparte características similares de la subunidad GluR2 (**105, 122, 124**), es decir la interacción de los grupos  $\alpha$ -carboxyl,  $\alpha$ -amino y  $\gamma$ -carboxyl de Glutamato dentro del receptáculo envuelve similares contactos con residuos como aquellos descritos para el GluR2; sin embargo, existe una mayor sensibilidad del Glutamato por GluR5 que por el GluR6, por la sustitución de los contactos con residuos Thr503 y Ser674 por los contactos con los residuos Ala487 y Ala658; además de la existencia de una menor estabilidad del enlace con GluR6 debido a la pérdida de enlaces de puentes de Hidrógeno con el grupo  $\alpha$ -amino de Glutamato y otras interacciones mediadas por el agua y otros residuos (Glu723).

Varias diferencias existen en las características del receptáculo de enlace-ligando de GluR5/6 y el GluR2, primeramente el receptáculo en GluR5 es 40% mas grande que su similar en el AMPA, permitiendo el atrapamiento de más moléculas de agua que no existen en el GluR2 y mayor número de puentes de hidrógeno (GluR2 puede contener 4 moléculas de agua, GluR5 contiene 6 y el GluR6 contiene 5), otra la constituye la interacción estérica representada por la existencia de residuos de mayor tamaño en GluR5/6 (GluR5: Ser706, Leu720 y Ser726; GluR6: Asp690, Phe704 y Thr710) que forman el receptáculo en comparación al GluR2. Por otro lado, el AMPA dentro del bolsillo de enlace de los ligandos en el GluR6 posiciona el anillo isoxaole en un ángulo inapropiado para establecer interacciones con Asp690 y sitios normalmente usadas por el grupo  $\gamma$ -carboxyl de Glutamato (**105**); en el caso del GluR5, la hidratación es relevada por la sustitución de la Asparagina con una más pequeño residuo de Serina pero esto no es suficiente para optimizar el enlace; contrariamente el Quisquelato es capaz de mimetizar la estequiometría del Glutamato y las proyecciones del anillo heterocíclico es capaz de establecer contactos similares a aquellos hechos por el grupo  $\gamma$ -carboxyl del Glutamato dentro del receptáculo. La mayor potencia del agonista Kainato, por los receptores que contienen GluR6, en comparación a los que poseen GluR2, radica en que mayor es el

cierre del dominio S1-S2 dentro del complejo GluR6-Kainato (23,3°) que el observado en el complejo GluR2-Kainato(13°) aunque menor que el observado para el Glutamato (26,6°) y de allí que se le considere agonista parcial( **(105)**).

### **A1b.-Los receptores NMDA.**

El receptor N-Metil-D-Aspartato (NMDA) es de tipo ionotrópico y media las respuestas sinápticas del Glutamato y el Aspartato en el sistema nervioso central. El receptor funcional es un complejo heteromérico de las subunidades NMDA-R1 y NMDA-R2 (estas últimas son cuatro: NMDA-R2A hasta la NMDA-R2D). Contiene cuatro sitios de reconocimiento; el del enlace de NMDA; el del enlace del catión divalente dentro del poro, al cual el ion  $Mg^{2+}$  se une; sitio dentro del canal que enlaza MK-801(es empleado como antagonista NMDA) y anestésicos; un cuarto sensible a la glicina, el ión  $Zn^{2+}$  y poliaminas. Contiene integrado un canal catiónico que es altamente permeable a  $Ca^{2+}$ , así como a  $Na^{1+}$  y  $K^{1+}$  El se encuentra estrictamente controlado por el ión  $Mg^{2+}$  de una manera voltaje-dependiente; adicionalmente también puede ser modulado por protones, cambios en el estado redox y sustancias endógenas como el óxido nítrico (NO) y el ácido araquidónico. Es activado por un input sináptico muy fuerte y produce una sostenida despolarización que conduce a repetidas descargas en salvas. La alta permeabilidad al  $Ca^{2+}$  y la sensibilidad del canal a que sea bloqueado por el  $Mg^{2+}$  está relacionada con el residuo de Asparagina del segmento de la proteína transmembrana 2 que forma el canal (**151**).

### **A1c.-Los receptores metabotrópicos.**

Los receptores metabotrópicos activan los canales iónicos de manera indirecta, es decir a través de la activación de segundos mensajeros, el Glutamato al enlazarse a un receptor metabotrópico activa la enzima Fosofolipasa C (PLC), lo cual conduce a la producción de dos segundos mensajeros (el Inositol 3,4,5 trifosfato,  $IP_3$  y el Diacilglicerol, DAG) a partir del fosfatidilinositol-4,5-bifosfato ,PIP (**81**).

### **A2.-El ion $Mg^{2+}$**

Se ha mencionado la relación existente entre el ión  $Mg^{2+}$  y el receptor NMDA, por otro lado, el Sulfato de Magnesio ( $MgSO_4$ ) es ampliamente usado en el tratamiento de Eclampsia, sin embargo los efectos del ión  $Mg^{2+}$  en la regulación cardiovascular no son bien conocidos. Recientemente la relación entre este ión y la presión arterial se le ha prestado atención, así en ratas machos adultos Wistar, anestesiados con uretano y artificialmente ventilados, que la microinyección en el núcleo rostral ventrolateral del bulbo (RVLM) de: 2 nmol de L-Glutamato; 1,3 y 10 nmol de  $MgSO_4$ ; 10 nmol de  $MgCl_2$ ; 20 pmol de NMDA; 5 pmol AMPA y 1 nmol de (1S-3R)-ACPD (antagonista de receptores metabotrópicos de Glutamato); con y sin pre tratamiento de 10 nmol de  $MgSO_4$  para cada droga; resultó en una reducción de la presión arterial y la frecuencia cardíaca dosis-dependiente del  $MgSO_4$  y reducciones para las dos variables cardiovasculares estudiadas en el caso del  $MgCl_2$ ; las respuestas presoras de NMDA o (1S-3R)-ACPD fueron significativamente atenuadas por el pre tratamiento con 10 nmol de  $MgSO_4$  y no así las evocadas por L-Glutamato o el AMPA. Los autores concluyen que el ión  $Mg^{2+}$  juega un papel inhibitorio en las neuronas del RVLM e inhibe las respuestas evocadas por agonistas NMDA y de receptores metabotrópicos de Glutamato (77).

### **A3.- El ácido kynureico (KA)**

El ácido kynurenico (KA) es un agonista específico no endógeno de receptores sensibles a Glutamato, producido por la conversión de kynurenina al ácido mediante la reacción catalizada por la enzima kynurerina aminotransferasa. Una elevada actividad de la enzima ha sido reportada en el bulbo, el bulbo olfatorio y el cerebelo, mientras que en la médula espinal presentaba la más baja actividad en ratas WKY; el mismo estudio reflejó en las ratas SHR, reducciones del 45-55% en el bulbo y la médula espinal, mientras que en el cerebelo y el bulbo olfatorio reducciones de 25-30%; adicionalmente el contenido del KA en los núcleos rostral ventrolateral bulbar (RVLM) y el caudal ventrolateral bulbar (CVLM) se reportó significativamente más bajo en las SHR en comparación a las ratas WKY; los autores concluyeron relacionando las reducciones de actividad de la enzima y de contenido del ácido como factores que contribuyen a la hipertensión de las ratas SHR (82).

En las ratas SHR, la microinyección de NMDA, agonista NMDA sitio-glicina y antagonista NMDA sitio glicina(FICA) en el CVLM, produjeron diferencias de magnitud en las respuestas depresoras y de su bloqueo, que fueron consideradas como indicativas de niveles bajos del ácido kynurenico en ratas SHR en comparación a las ratas WKY (84, 83).

En las ratas SHR y WKY, se ha reportado la existencia de un mecanismo protein-3-cinasa activada por mitógenos en la regulación de la presión arterial; adicionalmente en las SHR se reportó la activación de un mecanismo fosfatidilinositol-3 cinasa para la misma regulación arterial, este último se relaciona con la acción de la angiotensina II y los receptores tipo I (164).

#### **A4.-Glutamato, el NTS y la regulación de la Presión arterial.**

Estudios realizados con rebanadas longitudinales de cerebro de ratas Sprague-Dawley, arrojaron la primera evidencia directa, indicando que amino ácidos excitatorios podrían mediar los primeros eventos en la transmisión sináptica de fibras aferentes al NTS (2).

En este mismo contexto encontramos en estudios in vitro de rebanas cerebrales de ratas Wistar el reporte de “descargas en salvas” evocadas por la estimulación eléctrica o por la aplicación de N-Metil-D-Aspartato (NMDA) de neuronas del NTS (177).

Muchos estudios han reportado al Glutamato como el principal neurotransmisor baroreceptor (197, 2, 108) sin embargo, el mecanismo por el cual este neurotransmisor puede activar neuronas de segundo orden del NTS, permanece escasamente comprendido. Varios estudios han sugerido que los receptores a Glutamato del tipo NMDA (24,28-30), no-NMDA ((2, 199, 119, 46) o metabotrópicos (61, 136, 55) y combinaciones de los mismos pueden estar involucrados en la transmisión de aferentes baroreceptores.

Estudios que examinan los efectos de los antagonistas de receptores NMDA y no-NMDA reportan alteración de la descarga de neuronas del NTS, moduladas por aferentes baroreceptores (161, 159), sugiriendo la participación de receptores ionotrópicos en la excitación de estas neuronas. Sin embargo, en la mayoría de las neuronas el bloqueo de receptores no-NMDA produce el mayor efecto atenuador de la actividad neuronal, indicando un mayor rol de este tipo de receptor; por otro lado, un número menor de neuronas además del

NBQX, requieren la acción del AP5 (antagonista del tipo NMDA) para eliminar la actividad neuronal; en este tipo de neuronas la aplicación inicialmente de AP5 reduce pero no elimina la actividad, indicando que este receptor participa en la activación de las mismas pero que los receptores no-NMDA son necesarios para mantener la actividad de estas neuronas.

Aunque la transmisión del input de aferentes Cardio-vagales está menos estudiada se sugiere que los roles de los receptores a Glutamato de los tipos NMDA y no-NMDA es similar al reportado en el caso de la transmisión de input mediado por aferentes baroreceptores; el bloqueo con el antagonista Kynureico elimina la descarga de neuronas del NTS producida por estimulación del nervio vago o del seno carotideo en ratas (197). Sin embargo, en un trabajo reciente (160), se reporta que antagonistas de receptores NMDA y no-NMDA disminuyen la descarga de neuronas del NTS que reciben input vagal mecanoreceptor cardiaco, lo que sugiere la participación de ambos tipos de receptores en la activación de estas neuronas del NTS; por otro lado, el uso de antagonista del receptor tipo no-NMDA produce eliminación de la actividad en la mayoría de las neuronas lo que sugiere un mayor rol para este tipo de receptor de Glutamato; sin embargo, como ocurre en el caso del input baroreceptor, también en este input mecanoreceptor cardiaco el antagonista AP5 reduce pero no elimina la actividad en este tipo de neuronas, sugiriendo la participación de receptores tipo NMDA, pero que ellos no son suficiente para mantener la activación por Glutamato de estas neuronas.

Aunque se ha sugerido que los receptores NMDA de Glutamato no parecen participar en la iniciación de la activación de las neuronas del NTS, se ha planteado cual pudiera ser la participación; así se ha estudiado el papel del NMDA en la respuesta al estímulo con valores elevados de presión, mediante un experimento en ratas, en el cual se mantiene un valor alto de presión (media 145 mm Hg) y un valor bajo (media 95 mm Hg) y se examina la diferencia en la transmisión mediada por receptores NMDA, en condiciones control y al inyectarse NMDA, resultando que la participación de los receptores NMDA es mayor a valores mayores de presión, posiblemente porque se origina una mayor disponibilidad de receptores NMDA por remoción del  $Mg^{+2}$  debido al incremento en la excitabilidad neuronal originada por el aumento de excitación ante la elevada presión (162).

En relación a otros posibles mecanismos involucrados en la neurotransmisión en el NTS, trabajos reportan algunas señales farmacológicas obtenidas de estudios de estructura-función de receptores ionotrópicos de Glutamato **(28)**; igualmente para el mismo año, demuestran que el Glutamato suprime la liberación de GABA vía receptores metabotrópicos en neuronas baroreceptoras del NTS en ratas **(26)**. La importancia del Glutamato en la neurotransmisión del NTS, se amplía mediante estudios realizados en la región comisural de este núcleo en SHR, sugiriendo una importante participación del L-Glutamato y del ATP en tales procesos **(19)**.

## B.-GABA

El ácido gamma aminobutírico, el mayor neurotransmisor inhibitorio en el cerebro, ejerce su acción vía receptores ionotrópico GABAA y metabotrópico GABAB.

### B1.- Receptores de GABA

#### B1a.-Receptor GABAA

Los receptores GABAA (GABAA-R) son los receptores inhibitorios más numerosos en el sistema nervioso central (CNS). Ellos fueron primero identificados farmacológicamente siendo activados por GABA y el agonista selectivo muscimol, bloqueados por bicuculina y picrotoxina, además son modulados por benzodiazepinas, barbitúricos y ciertos depresores del CNS **((129, (98, 165))**.

Los receptores GABAA son parte de la superfamilia de canales iónicos con lazos de cisteínas, pentaméricos y activados por ligandos; incluyen a los receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) **(97)**, los receptores de Glicina, GlyRs **(20)**, los receptores ionotrópicos 5-HT (5HT3Rs) **(178)** y canales iónicos activados por  $Zn^{2+}$  **(34)**. Ellos difieren en su estructura de dos familias de canales iónicos activados por ligandos (LGIC) adicionales: la de los receptores tetraméricos de Glutamato(P2X) **(28)** y la de los receptores triméricos de purina **(89)**.

Estos receptores son organizados como un complejo pentamérico de proteínas que atraviesa la membrana, rodeando un poro central que forma el canal iónico a través de la membrana.

Cada subunidad consiste de una larga región extracelular hidrofílica N-terminal, seguida por 4 dominios transmembrana (M)  $\alpha$ -hélices con un largo lazo intracelular entre M3 y M4, y termina con un corto dominio C-terminal extracelular. La porción M2 forma la cubierta interna del canal iónico, con una contribución de la M1 (167).

Un dominio  $\alpha$ -hélice, dentro del lazo citoplasmático M3-M4, ha sido demostrado que influye en la conducción de iones (138). Se han identificado 19 genes que expresan las subunidades de los receptores GABAA (166). Estos producen 16 subunidades ( $\alpha 1-6, \beta 1-3; \gamma 1-3, \delta, \epsilon, \theta$  y  $\pi$ ) combinadas como receptores GABAA y 3 subunidades  $\rho$  que contribuyen a lo que se conoce como receptor GABAC; las aves y probablemente algunas otras especies expresan adicionalmente  $\beta 4$  y  $\gamma 4$ , pero carecen de las subunidades  $\theta$  y  $\epsilon$ , manteniendo como total 19.

Mientras que los canales nAChR, 5-TH3R y el activado por  $Zn^{2+}$  son selectivos para cationes y por ello excitatorios, el receptor GABAA y la familia de receptores de Glicina son canales anión-selectivos y pueden mediar la inhibición.

Desde el punto de vista funcional, los receptores GABAA de mamíferos son anión-selectivos, es decir son canales de  $Cl^-$  que pueden ser activados por GABA y median la transmisión sináptica fásica rápida y también la inhibición tónica en regiones extrasinápticas y presinápticas. El incremento de la permeabilidad al  $Cl^-$  generalmente reduce la excitabilidad neuronal (inhibición), porque el potencial de equilibrio para el  $Cl^-$  en la mayoría de las neuronas maduras esta cerca del potencial de membrana en reposo y la concentración de cloro dentro de la célula  $[Cl^-]_i$  es mucho menor que aquella dentro del fluido extracelular  $[Cl^-]_o$  (166). Sin embargo, dependiendo de la expresión de transportadores de  $Cl^-$ , la  $[Cl^-]_i$  puede incrementarse, conduciendo al potencial de equilibrio del  $Cl^-$  a valores menos negativo que el potencial de membrana en reposo. Bajo tales condiciones, la activación de los receptores GABAA pueden causar despolarización de la membrana, posiblemente suficiente como para desencadenar descargas de potenciales de acción (excitación); lo que puede ocurrir en la naturaleza, por lo general no por que sean neuronas maduras, especialmente en el desarrollo temprano (12). Adicionalmente, una activación intensa de los receptores GABAA, resultando en incremento de la  $[Cl^-]_i$  puede cambiar el potencial de membrana hacia el umbral de disparo, causando excitación de las neuronas (101). El canal de estos receptores puede

conducir otros aniones con una permeabilidad variable en relación a la del  $\text{Cl}^-$ ; el flujo del ión bicarbonato podría ser relevante bajo estas condiciones ((79). Estos receptores son encontrados en tejidos no nerviosos tales como el páncreas se activan con una limitada capacidad y sus roles funcionales no se han aclarado (15).

En relación a los mecanismos de regulación de los receptores GABAA, existe controversia; la Picrotoxina es considerada uno de sus antagonistas, su mecanismo de acción no ha sido aclarado. Se ha reportado que ejerce una acción inhibitoria, alostérica, no competitiva, independiente de voltaje sobre receptores humanos homoméricos GABA  $\rho 1$  expresados en oocitos de *Xenopus*, con un  $\text{IC}_{50} 0,6 \pm 0,1 \mu\text{M}$  y  $\text{GABA EC}_{50} = 1 \mu\text{M}$ .

El valor  $\text{IC}_{50}$  del Picrotoxin es indicativo de una baja afinidad de este antagonista ante el receptor (63).

### **B1b.-Receptor GABAB**

Los receptores del ácido  $\gamma$  aminobutírico tipo B (GABAB) fueron demostrados primeramente en terminales presinápticos donde sirven como autorreceptores y también como un heterorreceptores para influir sobre la liberación de transmisores por la supresión de la conductancia de  $\text{Ca}^{+2}$  neuronal. Estudios subsecuentes demostraron la presencia de los receptores postsinápticos en neuronas, cuya activación produce un incremento de la conductancia de membrana para el  $\text{K}^+$ , en asociación con hiperpolarización neuronal. El receptor está acoplado a proteínas Gi/Go con efectos sobre la actividad de la enzima adenilciclase ((16, 79, 90, 147).

El Baclofen ( $\beta$ -paraclorofenil GABA) es un espasmolítico usado en la clínica, que reproduce en una manera estereoselectiva el efecto del GABA en este sistema. El término GABAB fue acuñado para distinguir en este receptor, el sitio de interacción con BACLOFEN, de aquel del antagonista BICUCULINA presente en el GABAA (70). Los antagonistas del receptor GABAA, Bicuculina y Picrotoxina no bloquean el receptor GABAB. Por otro lado, una diferencia entre los dos receptores la encontramos en que los GABAA son canales iónicos de compuerta activados por ligandos; mientras que los receptores GABAB están acoplados a

proteínas G (79). Los receptores GABAB son descritos como metabotrópicos y los GABAA ionotrópicos.

Desde el punto de vista estructural, este receptor es un heterodímero compuesto de las subunidades GABAB1 y GABAB2 (126), la subunidad GABAB1 fue la primera clonada (86), con alto peso molecular, proteína con siete segmentos que atraviesan la membrana, homóloga al receptor metabotrópico sensible a Glutamato, sin embargo su forma recombinante exhibió una afinidad para agonistas, 1000 veces más baja que la apreciada en el GABAB silvestre. La proteína GABAB2 tiene 54% de similitud y 35% de homología con el GABAB1, alto peso molecular (110kDa), siete dominios transmembranas y un largo dominio N-terminal extracelular. La proteína GABA2 no solamente sirve para anclar el GABAB1 a la superficie celular, es un componente que se une a la proteína G, mientras que el GABAB1 es necesario para la activación por los agonistas (130), tanto es así que en ciertos tejidos de ratones que carecen del gen para esta proteína ocurren fallas en la respuesta pre y pos sinápticas a los agonistas GABAB ((143; 154); de tal manera que una vez el agonista se une a la subunidad GABA1, produce un cambio conformacional en el complejo de proteínas que permite que GABAB2 se ancle y active la proteína G acoplada al sistema de señales (100), 24). Aunque existe una estequiometría 1:1 entre las subunidades del receptor funcional, la producción de las subunidades parece estar regulada de manera independiente (106), así el mRNA de ambas subunidades en la médula espinal se incrementa 24 horas luego de la respuesta inflamatoria producida en la pata posterior de una rata, sin embargo el incremento es significativamente mayor para el mRNA de GABAB2.

Agonistas GABAB inhiben la enzima adenilciclase en condiciones basal y su activación por forskolin en rebanadas de cerebro ((192; 90)) a través de un mecanismo dependiente de la proteína G, que produce una reducción del nivel intracelular de cAMP; por otro lado, la activación del receptor GABAB puede incrementar la formación de cAMP en respuesta a agonistas acoplados a proteínas Gs, tal como la isoprenalina, en rebanadas de cerebro pero no en membranas aisladas de neuronas, lo que sugiere la activación de ciclasas citoplasmáticas (51).

Cuando se activan los receptores GABAB disminuye la conductancia de  $\text{Ca}^{2+}$  y se incrementa la de  $\text{K}^+$  en la membrana neuronal. El efecto sobre la conductancia de  $\text{Ca}^{2+}$  parece estar primariamente asociada con corrientes presinápticas P/Q y de tipo N **(11)**. La modulación de la conductancia de  $\text{K}^+$  parece estar relacionada con la localización postsináptica del receptor GABAB y además varios tipos de canales de  $\text{K}^+$  **((67))**. En cuanto a la distribución, en el cerebro de mamífero las regiones con la más alta densidad de sitios de enlace con GABAB son los núcleos talámicos, la capa molecular del cerebelo, la corteza cerebral, el núcleo interpeduncular y el cuerno dorsal de la médula espinal **(18, 29)**. Estudios en el cerebelo de ratas y de humanos así como de la médula espinal indican que variantes GABAB1(a) están asociados con receptores presinápticos, mientras que GABAB1(b) se localizan predominantemente en el nivel postsináptico **(180)**, En otros sitios del cerebro la proteína GABAB1(b) está en nivel presináptico y la GABAB1(a) en el postsináptico **(141)**. Los receptores GABA pueden mediar respuestas en otros órganos jugando un papel muy importante en la modulación del input autonómico, en el intestino, el esófago (169) en miocitos de corazón de rata, lo que fundamenta el efecto del baclofen como modificador de las corriente rectificadora de  $\text{K}^+$  hacia el interior de estas células **((96))**. Adicionalmente, las variantes GABAB1(a) está presente en la médula adrenal, pituitaria, bazo y próstata, mientras que GABAB1(b) se localiza exclusivamente en riñones e hígado.

Posibles relaciones entre receptores GABAB e hipertensión se derivan de estudios que reportan incrementos en el ARNm de receptores GABAB en neuronas del NTS en modelos animales de hipertensión; así, ratas Sprague-Dawley, hipertensas mediante el engrapado de un riñón, las cuales mostraban aumentos adicionales de la presión arterial cuando se microinyectaba Baclofen en el NTS, producían un incremento de 3 veces el nivel del ARNm de los receptores GABAB **(48)**; en ratas espontáneamente hipertensas se han reportado incrementos en la expresión del receptor GABAB, mediante aumento del ARNm para este receptor **((49))**. Por otro lado, en ratas espontáneamente hipertensas y las tratadas con acetato de deoxycorticosterona y sal, también hipertensas, la respuesta depresora producida por el bloqueo de receptores GABAB mediante inyección del antagonista GABAB, CGP35348 en el NTS fue 75% mayor que la de los controles **(182)**.

A partir de estudios en ileum de cobayo y rebanadas de corteza de ratas, se ha reportado que Faclofen, Saclofen y 2-OH-Saclofen (derivados sulfónicos de Baclofen, agonista GABAB), son los primeros antagonistas selectivos de los receptores GABAB; aunque ellos poseían baja afinidad  $IC_{50} = 130 \mu M$ ,  $26 \mu M$  y  $11 \mu M$ , respectivamente; es decir una capacidad reducida para inhibir el enlace del agonista [ $^3H$ ]CGP27492 a receptores GABAB (87, 88). Posteriormente, trabajos en membranas de neuronas cerebelosas de rata, reportan para estos derivados sulfónicos afinidades  $IC_{50} = 118 \mu M$ ;  $7,8 \mu M$  y  $5,1 \mu M$  respectivamente, en su accionar para inhibir la unión de [ $^3H$ ]-(-)-Baclofen a receptores GABAB (46). Estos resultados parecen indicar heterogeneidad en los enlaces de los antagonistas y los sitios específicos de estos receptores.

## **B2.-El GABA el NTS y la regulación de la Presión arterial en ratas.**

Las primeras evidencias demostrando el papel del GABA sobre el NTS y que sugirieron un mecanismo de control de la PA, provienen de los estudios realizados en ratas Wistar, donde microinyecciones de volúmenes apropiados de GABA y Glicina en el NTS, produjeron un incremento y una reducción de la PA respectivamente, mientras que efectos contrarios fueron observados cuando se emplearon Bicuculina, antagonista del GABA) y estriquina, antagonista de Glicina (91, 92).

Para el año 2000, un grupo de investigadores reportan que la microinyección de GABA en la región comisural de la línea media del NTS en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) anestesiadas reducía la PA y la actividad nerviosa simpática esplénica y que estos eventos no ocurrían en ratas Sprague-Dawley y Wistar-Kyoto ((148). Un año mas tarde los mismos investigadores demuestran que la microinyección de Glutamato en esa misma región, es decir en SHR, provocaba un aumento de la PA y bradicardia o disminución de la frecuencia cardiaca (149).

Este mismo grupo, igualmente demuestra que las lesiones electrolíticas de esta región provocaban una reducción en la PA en ratas SHR, llegando a alcanzar los niveles observados en animales normotensos, aún varios días después de la lesión (149). En el mismo año, otros investigadores proponen la existencia de dos zonas en el NTS que podrían tener una influencia

en la PA: la primera, el tercio intermedio, el cual al ser destruido o sometido a una acción inhibitoria produciría una fulminante o sostenida hipertensión; la segunda, la región comisural, la cual es considerada como importante no sólo por su contribución a la hipertensión sino también por sostenimiento de la misma en las SHR **(33)**. Más recientemente se ha demostrado que el Glutamato suprime la liberación de GABA vía receptores metabotrópicos en neuronas baroreceptoras del NTS en ratas **(26)**

## **C.- Nervios Depresor aórtico (ADN) y del Seno Carotídeo (CSN)**

### **C1.-Nervio depresor aórtico (ADN).**

Distintos estudios se han realizado para identificar las proyecciones al NTS y las características electrofisiológicas de las fibras que la integran el nervio depresor aórtico (ADN). En estudios identificando las proyecciones mediante marcadores, la peroxidasa de rábano (HRP) aplicada al ADN unilateralmente, en ratas, gatos y conejos, marcan de manera predominante e ipsilateral las regiones dorsomedial, dorsolateral y comisural del Núcleo del tracto solitario (NTS), con algún efecto contralateral **((30, 80, 186).)**; por otro lado, el marcador lipofílico DiA aplicado en el ADN produce una distribución mas restringida de terminales barorreceptores que los identificados con HRP, generalmente en el NTS medial y sin efecto contralateral **(109)**. Estudios electrofisiológicos de estimulación del ADN generalmente confirman los resultados de estudios anatómicos y/o marcajes, sugiriendo que la mayores áreas de inervación por los barorreceptores se localizan en el NTS medial y dorso-medial en la mayoría de las especies **(171)**. Adicionalmente, otros estudios electrofisiológicos, empleando las dos subclases mayores de barorreceptores, los formados con axones mielinados (tipo A) y los no mielinados (tipo C), reproducen los resultados de los marcajes **(43)**, aunque se aprecia en el gato que las fibras tipo c se distribuyen mas medialmente y las mielinadas más lateralmente en el NTS **(41)**.

Al analizar las características de descarga de las fibras tipo A, en las ratas, encontramos. Que el umbral para la iniciación de la descarga está en un rango de 40- 120 mm Hg **(30)**. En respuesta a un incremento en escalón de la presión, estos receptores descargan a una frecuencia que se adapta a un valor estacionario que esta relacionado directa y

proporcionalmente con la amplitud del escalón aplicado, en un tiempo de 4-5 sg. In vivo, sobre la mayor parte del rango de presiones arteriales, muestran una descarga pulsátil con cada onda de presión; siendo este patrón muy regular y reflejando con alta fidelidad la onda de presión detectada. Al considerar la descarga de los barorreceptores formados con las fibras tipo C aórtica, encontramos que tienen un umbral para descarga más elevado que el observado en los receptores con fibras tipo A, concretamente 60- >200 mm Hg **(179)**; descargan a una frecuencia más baja que la de los receptores con fibras tipo A, ante presiones de igual valor; mantiene una frecuencia de descarga máxima durante 20-30 sg. La mayoría de los receptores que están formados con fibras tipo C exhiben un patrón de descarga irregular en respuesta a un incremento en escalón de presión; sin embargo en ratas y conejos este es regular. In vivo, los receptores tipo C, disparan una salva de potenciales de acción a una baja frecuencia menor que las del tipo A, o disparan uno o dos potenciales escasamente relacionado con el pulso de presión **(194)**.

Se discute acerca del rol de los dos tipos de receptores mencionados e igualmente cual parámetro del patrón de descarga determina la respuesta refleja.

Aun cuando los dos tipos de receptores del nervio depresor aórtico (ADN) actúan sinérgicamente en la rata; el formado por fibras A es requerido predominante en la vía cardíaca y no en la depresora. **(53)**.

A nivel central, a la activación de los aferentes de los barorreceptores han sido reportados una variedad de respuestas **(173)**; potenciales postsinápticos (EPSP), las respuesta inhibitorias (IPSP) puras son raras y tienden a tener grandes latencias, además respuesta más complejas EPSP-IPSP en preparaciones in vivo **(116)** e in vitro **(45)**. Por otro lado estas respuestas muestran una jerarquía en la latencia sináptica, tal que las más cortas tienden a estar asociados con EPSP, las de duración intermedia se relacionan con EPSP-IPSP y las más largas con IPSP **(117, 116)**.

Estudios electrofisiológicos de receptores aórticos de ratas normotensas (NTR) e hipertensas (SHR), indican diferencias en los valores de las presiones umbrales y de sensibilidad, planteándose que las mismas no se deben a diferencias en la Distensibilidad vascular **(22)**. Por otro lado, en dos tipos de hipertensión se ha reportado que ocurren alteraciones de la respuesta

depresora y tal fenómeno está relacionado con modificaciones en la integración de la información aferente del nervio aórtico en el NTS **(200)**.

Adicionalmente se han reportado diferencias neuroanatómicas y electrofisiológicas entre los aferentes de receptores baroreceptores aórticos de ratas machos y hembras; debido a la prevalencia de una mayor proporción de fibras aferentes de bajo umbral (mielinadas, tipo A) en las hembras; postulándose que ello contribuye a la desigualdad en la sensibilidad barorrefleja por sexo. **((93))**

## **C2.- Nervio del seno carotideo (CSN).**

Proyecciones de fibras aferentes del nervio del seno carotideo (CSN) a las regiones del NTS han sido estudiadas en el gato mediante el transporte anterógrado de la peroxidasa de rábano (HRP), reportándose que el marcaje es bilateral aunque con predominio ipsilateral en las regiones medial, lateral, comisural y dorsomedial del NTS parvocelular; además se localizó marcaje en las regiones ventrolateral e intermedia del NTS, la formación reticular y el borde dorsal del núcleo motor del vago; esta distribución es más amplia que la observada en el nervio depresor aórtico (ADN) **(31, 35, 13)**.

Localización de los componentes aferentes y eferentes del nervio del seno carotideo (CSN) en ratas por HRP, demostró un marcaje ipsilateral en los núcleos medial y ventrolateral del NTS, además el área postrema, también se encontró marcaje en los núcleos ambiguo y el salival inferior; bilateralmente en el núcleo comisural **(163)**.

En estudios morfológicos del CSN en ratas se observó que éste emerge desde el glosofaríngeo (par IX) 0,6-1,0 mm desde el extremo distal del ganglio petroso; el nervio consistió de simple haces de axones, luego en la cercanía del cuerpo carotideo se divide en haces de múltiples axones, con una mayoría ingresando al cuerpo y los restantes inervando la pared del seno carotideo directamente e indirectamente desde el cuerpo; contiene alrededor 625 axones, de los cuales 86% son no mielinizados. **(107)**

Al examinar el patrón de descarga de fibras del CSN en respuesta a incrementos lentos en rampa de la presión en preparaciones del seno carotideo en perros, se identificaron dos tipos. El tipo I, generalmente compuesto de grandes fibras aferentes no mielinizadas tipo A,

presentando un patrón de descarga discontinuo e hiperbólico , caracterizado por un rápido incremento a presiones umbrales con una relativa alta frecuencia umbral que gradualmente se incrementa a una mayor saturación en la tasa de disparo; el súbito incremento inicial de descarga, la mayor sensibilidad y el rango estrecho de presiones para su operación sugiere que colabora en la provisión de información de cambios súbitos y rápidos de la presión arterial. El tipo II, generalmente formado de fibras más pequeñas A y no mielinizadas C, exhibió un patrón de descarga continuo y sigmoidal caracterizado por un incremento gradual en la descarga con valores superiores a la presión umbral, una baja frecuencia umbral y menor saturación de la tasa de disparo; además presentaron una descarga espontánea a presiones inferiores al umbral; significativos y mas bajos niveles de sensibilidad, frecuencia umbral, saturación de la tasa de frecuencia y presión umbral en comparación al tipo I; el rango de presiones de operación es mayor y la presión en la cual esta fibras poseen la mayor sensibilidad era mayor que la reportada para las fibras tipo I; la presencia de actividad espontánea, combinada con una reducida sensibilidad y un rango mayor de presión de operación, sugiere que estas fibras participan en el suministro de información sobre la presión arterial al nivel de línea de base y el control tónico **(155)**.

De manera interesante se ha reportado la existencia de una conductancia transitoria de  $K^+$  en las fibras tipo I de barorreceptores asociados con el CSN, la cual puede jugar un rol importante en la determinación del valor de la presión umbral (Pth) y la diferenciación entre los barorreceptores tipos I y II, porque la conductancia sería efectiva en el control de la excitabilidad de la zona de iniciación de las espigas **(184)**.

Adicionalmente se ha postulado que la epinefrina altera las características de la conductancia de potasio en la zona iniciadora de espigas descrita en el barorreceptor tipo I y de esta manera el simpático puede incrementar la actividad aferente barorreceptora de manera diferencial **(156)**. Estudios usando preparaciones del seno carotídeo aislados de perros, demostraron que las habilidades de reajuste ante cambios de presión de los dos tipos de barorreceptores son diferentes y sugieren la posibilidad de roles funcionalmente diferentes para cada uno de los mismos en el sistema cardiovascular **(157)**.

Complementariamente se ha sugerido que los dos tipos de barorreceptores contribuyen diferencialmente a la regulación de la presión sanguínea, debido a que el bloqueo de las fibras tipo A producen disminución de la sensibilidad barorrefleja sin cambio en la presión arterial de la línea de base; por otro lado, el bloqueo de las fibras tipo A pequeñas y las C, producen incremento de la presión de la línea de base y menor reducción de la sensibilidad, indicando pérdida del control tónico de la presión **(158)**.

Recientemente se ha postulado que la información que se transmite en fibras del CSN que atraviesan el cuerpo carotídeo, contribuyen a la elevación del tono simpático de manera crítica para la generación de hipertensión en las SHR **(1)**.

#### D.- Cerebelo y Propiocepción.

El Cerebelo influye en los movimientos al modificar los patrones de actividad de las neuronas motoras superiores. Estructuralmente tiene dos componentes principales: una Corteza Cerebelosa laminada y un agrupamiento subcortical de células llamadas en conjunto Núcleos Cerebelosos profundos. En éste órgano los axones aferentes desde la Corteza cerebral y el tallo cerebral, envían ramas a los núcleos profundos y la corteza cerebelosa; las células eferentes de la corteza cerebelosa lo hacen hacia los núcleos profundos, desde donde se originan vías eferentes principales que van a regular las neuronas motoras superiores en la Corteza Cerebral y el Tronco encefálico, conformando un circuito. La función principal de esta porción del sistema nervioso central, es detectar la diferencia o el error motor entre el movimiento que se intentó y el movimiento real; luego a través de sus proyecciones hacia las neuronas motoras superiores, reducirlo; tales correcciones se pueden hacer durante el curso del movimiento y como forma de aprendizaje motor cuando se almacena la corrección **(144)**.

Se puede dividir de acuerdo al origen de la aferencia en tres regiones. El Cerebrocerebelo, ocupa la mayor parte del hemisferio cerebeloso lateral, recibe aferencias de muchas áreas de la corteza cerebral, se relaciona con los movimientos muy hábiles, particularmente con la planificación y ejecución de las secuencias espaciales y temporales complejas. El Vestibulocerebelo, comprende los lóbulos caudales del Cerebelo e involucra el Flóculo y el Nódulo, recibe aferencia desde los núcleos vestibulares del tronco encefálico y se relaciona

con los movimientos de la postura y el equilibrio, representa la zona más antigua del Cerebelo. El Espinocerebelo, ocupa las zonas mediana y paramediana de los hemisferios cerebelosos, es la única región que recibe aferencias directamente de la Médula espinal; su porción lateral está relacionada con los movimientos donde participan músculos distales, ejemplo las extremidades al caminar; la porción central llamada Vermis se vincula con el movimiento donde participan los músculos proximales, así como los oculares en respuesta a las aferencias vestibulares (144).

El Cerebelo se conecta con otras regiones del Sistema Nervioso Central, a través de tres grandes vías, llamadas Pedúnculos. El Pedúnculo Cerebeloso Superior ( brachium conjunctivum) una vía predominantemente eferente, contiene axones de neuronas localizadas en los Núcleos Profundos y ellos se proyectan hacia las neuronas motoras superiores en el Núcleo Rojo, las capas profundas del Colículo Superior y después de un relevo en el Tálamo dorsal, llegan a las áreas motora primaria y premotora de la Corteza cerebral. El Pedúnculo Cerebeloso medio (brachium pontis) es una vía aferente, los cuerpos celulares de sus axones están en la base de la Protuberancia, donde forman los Núcleos Póntinos y sus axones se llaman fibras pontinas transversas; estos reciben aferencias de casi todas las áreas de la Corteza Cerebral y el Colículo Superior. El Pedúnculo Cerebeloso inferior (cuerpo restiforme), contiene vías eferentes y aferentes; las eferentes proyectan hacia los Núcleos Vestibulares y la Formación reticular; mientras que las aferentes, incluyen axones desde la Médula espinal, los Núcleos Vestibulares y varias regiones del Tegmento del Tronco encefálico (144).

El control del movimiento en tiempo real requiere no solamente el estar consciente del mismo, sino que también predecir la posición de los miembros o el miembro, una función asignada al Cerebelo. Las predicciones cerebelares podrían contribuir a la percepción de la posición del miembro (es decir la propiocepción) particularmente cuando una persona mueve activamente el miembro. (14). La información acerca de la posición espacial de los miembros o un miembro y el movimiento no son generados por los receptores individualmente, más bien por poblaciones de aferentes. Las señales aferentes generadas durante un movimiento son procesadas a una codificación que identifica la posición final del miembro. Luego las señales

aferentes son direccionadas centralmente a un mapa del cuerpo para determinar la localización de los miembros en el espacio **(142)**.

En sujetos humanos se postula que el cerebelo se encarga de la integración de simples movimientos en más complejos, al cumplir la función de coordinación de movimientos. Coordinaciones de activaciones específicas se han registrados en el lóbulo anterior izquierdo y bilateralmente en los lóbulos paramedianos del cerebelo, estos núcleos reciben información propioceptiva espinocerebelar específica de miembros anteriores; también recibe aferencias corticocerebelares desde áreas motoras que conllevan información al cerebelo **(145)**.

El Cerebelo izquierdo, trabajando con la corteza parietal derecha, simultáneamente comparte combinaciones de información exteroceptiva (visión) e interoceptiva (kinestesia) para percibir el movimiento; esta interacción y su información, puede actualizar una de las “imágenes del cuerpo” disponible, cuando se realiza la percepción del movimiento del cuerpo **(66)**. Experiencias con la generación de miembros fantasmas, producidas por el bloqueo de nervios periféricos, han demostrado que áreas motoras en el cerebro son capaces para generar sensaciones conscientes del desplazamiento y movimiento de miembros o miembro del cuerpo en la ausencia de alguna información sensorial **(142)**.

En un reciente estudio de las propiedades del reflejo vestibulosimpático basado en la actividad del nervio esplénico, se ha postulado que el sistema vestibular participa en la compensación de los cambios en la presión arterial derivados de variaciones posturales **(195)**. Complementando el anterior hallazgo, investigaciones han demostrado que el cerebelo está directamente o indirectamente conectado a varios centros que parecen estar envueltos en control autonómico; estos incluyen partes de la Corteza cerebral, el Hipotálamo, la Sustancia gris periacueductal, núcleos al interior y alrededor del centro pontino de micturición, el núcleo del vago dorsal, el tracto solitario y la formación reticular bulbar **(40)**.

Adicionalmente, se ha propuesto que el cerebelo contiene cinco núcleos (cerebelar, corticonuclear y microcomplejos) dedicados al control cardiovascular. Primero, una porción discreta rostral de los núcleos fastigial y la porción medial del vermis anterior (lóbulos I, II y III) conjuntamente forman un núcleo que controla el reflejo baroreceptor. Segundo, vermis anterior también forma un microcomplejo con los núcleos parabraquiales. Tercero, una

porción caudal discreta de los núcleos fastigial y la porción medial del vermis posterior (lóbulos VII y VIII) forman otro nódulo que controlan el reflejo vestibulosimpático. Cuarto, la porción medial de la Uvula puede formar un nódulo con los núcleos del tracto solitario y parabraquial. Quinto, el extremo lateral de los nódulos y la uvula, junto con los núcleos parabraquial y vestibular, forman un microcomplejo cardiovascular que controla la magnitud y/o tiempo de respuesta de los nervios simpáticos y la estabilidad de la presión arterial sanguínea durante cambios de posición de la cabeza y la postura del cuerpo. La porción lateral del nódulo-uvula parece ser un centro de control de integración cardiovascular que envuelve los reflejos barorreceptor y vestibulosimpático (127).

La lesión del cerebelo da lugar a dos agrupaciones sindromáticas: el síndrome vermiano (arquicerebeloso) con alteraciones en la estática y marcha, y el síndrome cerebeloso hemisférico (neocerebeloso) con alteraciones en la coordinación del movimiento. La lesión de vías aferentes produce un síndrome arquicerebeloso, y la de las vías eferentes se manifiesta por un síndrome neocerebeloso.

En pacientes con lesión cerebelar se aprecia que tienen un déficit de la capacidad propioceptiva activa (pacientes cerebelares tienen déficit propioceptivo comparado con individuos sanos durante movimientos activos, pero no cuando los miembros son movidos pasivamente) consistente de una alteración de la predicción del movimiento, más que una incapacidad para generalmente incrementar señales propioceptivas periféricas durante el movimiento (14).

Las consideraciones expresadas anteriormente, permiten reflexionar acerca del procedimiento para acceder al Núcleo del Tracto Solitario (NTS), el cual se localiza muy cerca de la superficie dorsal del tallo cerebral a nivel del IV ventrículo en una zona por debajo del Cerebelo. En el procedimiento empleado se remueve completamente este órgano, en un animal anestesiado e inmovilizado al colocarse en un aparato esterotáxico; se eliminan las influencias cerebelosas y establecen condiciones fisiológicas en el sujeto experimental diferentes a su estado normal anestesiado. La imposición de este procedimiento se deriva de las características del microelectrodo empleado para el registro y la aplicación de sustancias muy cerca de la zona de registro; el arreglo de las micropiñetas en este microelectrodo múltiple

obliga que sus componentes posean puntas muy aguzadas que derivan en incrementos de la resistencia eléctrica de los mismos y otro tanto, para poder llegar a la zona del tallo cerebral desde la superficie del cerebelo intacto, es necesario emplear electrodos de una cierta longitud que aumenta aún más la resistencia de los mismos. Es evidente que en experimentos agudos, las preparaciones al ser obtenidas bajo anestesia y maniobras quirúrgicas modifican las funciones fisiológicas normales y el investigador al analizar los resultados debe considerar esta situación. En relación a la preparación se debe considerar que la participación cerebelar en las funciones cardiovasculares y propioceptivas se activan con movimientos del animal, el cual en este caso se mantiene anestesiado e inmovilizado, lo cual crea condiciones fisiológicas con un grado de invariabilidad basal suficiente para derivar resultados valorables, cuando se estudian variables en las neuronas del NTS. Quizás un montaje con microelectrodos y una cánula de suministro en preparaciones crónicas, donde el cerebelo no se elimine, aunque permanezca parcialmente lesionado; podría derivar resultados valorables de las neuronas del NTS, permaneciendo el animal despierto; sin embargo, la posibilidad de evaluar efectos de agonistas y antagonistas sobre la neuronas estudiadas se dificulta al aplicarse volúmenes de sustancias. Otra posibilidad pudiera utilizar un dispositivo (a diseñar) que desplace parte de la masa cerebelosa (sin membranas que la recubran) suficientemente y permita exponer la superficie dorsal del tallo cerebral para acceder al núcleo mencionado; aunque en este caso debemos considerar un incremento en la resistencia vascular cerebelosa que puede trasladarse a otras regiones cerebrales y de esta manera alterar al menos la presión sanguínea cerebral, localmente y con un grado de variabilidad muy alto que pudiera afectar las condiciones del estudio. Otra posibilidad a explorar, sería acceder al NTS, localizado en la superficie dorsal del tallo y debajo del cerebelo, utilizando el microelectrodo múltiple con una inclinación o ángulo a nivel de la porción inferior de este último; ello permitiría una menor lesión y conservaría las conexiones.

#### **E.-El Núcleo del Tracto Solitario (NTS)**

Los centros neurales que controlan la presión arterial están distribuidos a lo largo del neuroeje y están organizados en redes topográficas y selectivas; siendo el NTS el centro primario de integración refleja cardiopulmonar **(33)**.

El NTS tiene un número de características anatómicas que contribuyen a esta posición primaria:

.- En la rata, el NTS contiene alrededor de 42.000 células con  $10^6$  sinapsis y probablemente un tercio de las mismas se relacionan con el reflejo baroreceptor **(131)**.

.- Múltiples modalidades de aferentes viscerales se distribuyen en sinapsis a través del NTS viscerotópicamente. Así aferentes gustativos se concentran rostralmente, cardiovasculares dorsomedialmente, respiratorios ventral y ventrolateralmente y finalmente aferentes gastrointestinales terminan en la región subpostrema. Aunque estas aferencias se superponen **(94)**.

.- En el NTS se establecen patrones de conexiones recíprocas que incluyen los núcleos hipotalámicos paraventricular y lateral, el bulbar ventrolateral, del Raphe caudal, el grupo de células A5 y el área postrema **(94)**.

.- Existe un indeterminado número de sinapsis mediante interneuronas **(33)**.

.- Unidades del NTS proyectan axones hacia los núcleos motor dorsal del vago, ambiguo, área postrema, formación reticular dorsal, retrofacial, prepósitos, intercalatus, Parabraquial y el intermedio lateral de la médula espinal.

.- En el NTS ocurre una alta tasa de intercambio de solutos con la circulación sistémica en las porciones medial y comisural, lo que sugiere un déficit de la barrera hematocefálica localizada en regiones importantes para la regulación cardiovascular y sitios potenciales para la integración neurohumoral **(64)**.

Por otro lado, experimentos in animales conscientes y anestesiados sugieren que el NTS, particularmente la porción medial es esencial para la integridad del reflejo baroreceptor. El bloqueo por lesión o de manera farmacológica del NTS elimina la respuesta barorrefleja. La estimulación eléctrica o farmacológica del NTS medial reproduce las respuestas de bradicardia, hipotensión y reducción de la actividad nerviosa simpática observadas al estimular los troncos barorreceptores del nervio depresor aórtico (ADN) y del nervio

asociado al seno carotideo, CSN **(146)**. Sin embargo, un problema mayor en estos experimentos, sea a nivel reflejo o celular, es la ausencia de información firme acerca de los circuitos neurales locales envueltos, lo que dificulta obtener una interpretación mecánica confiable; así, a nivel reflejo, es importante valorar la distancia en relación a las dimensiones del NTS, que un volumen de 50-100 nl de una droga altamente concentrada recorrerá (se estima que cada 100 nl se difundirán a un área con un radio de 300 $\mu$ ); además, unos segundos después de difundir se establecerá un gradiente de concentración entre el micropipeta y la zona de difusión; así los valores de concentración en cada tiempo y espacio sería difícil de precisar. También, este pequeño volumen de droga alcanzará varios subnúcleos del NTS, en los cuales existen poblaciones heterogéneas de neuronas, aquellas que reciben aferencias directas, interneuronas locales y neuronas externas. Ello es válido también para la estimulación eléctrica. Tales complicaciones pueden explicar los desacuerdos en experimentos de microinyección y eléctricos **(94, 99)**.

En estudios a nivel intracelular se ha reportado que la activación de aferentes barorreceptores excitan neuronas del NTS, produciendo potenciales postsinápticos excitatorios (EPSP). Raramente se observan respuestas inhibitorias puras de larga duración ante activación de los barorreceptores, lo que sugiere que la conexión es polisináptica **(172)**. Respuestas tipo EPSP-IPSP producidas por la estimulación de aferentes in vivo e in vitro, también se han observado en el NTS **(115, 45)**. En una pequeña proporción de neuronas del NTS que reciben input aferente, se ha reportado que presentan un patrón de descarga sincronizado con el ciclo cardiaco **(116, 173)**.

Aunque a nivel celular es difícil asegurar si una neurona esta conectada monosinápticamente a aferentes o si mantiene una conexión polisináptica; sin embargo, es posible establecer una jerarquización de las latencias sinápticas, las más cortas están asociadas a EPSPs y las más largas a IPSPs, mientras que las asociadas a EPSP-IPSP tienen valores intermedios de duración **(117, 115)**, esto ha sido explicado considerando que las neuronas que responden con EPSP reciben input aferente monosináptico y aquellas que lo hacen mediante IPSPs o de manera EPSP-IPSPs se conectan mediante vías polisinápticas.

Las neuronas baroceptivas del NTS exhiben una morfología, que no se diferencia de la apreciada en aquellas que reciben input de aferencias provenientes de receptores quimio, faringoesofageal o gastrointestinal. Además desde el punto de vista eléctrico, en ellas se han reportado tres tipos de patrones de respuestas a los estímulos de presión arterial; el adaptativo, el no adaptativo y el de excitación prolongada. Ellos parecen estar relacionados con los núcleos que reciben la descarga de aferentes vagales o simpáticos **(38, 39), (135)**. El patrón adaptativo se ha encontrado en un 46% de las neuronas baroceptivas **(133)** y se caracteriza por un incremento en la amplitud de los EPSPs o de descarga a medida que la presión es elevada, sin embargo, durante la elevación de la presión la relación EPSPs/descarga alcanza un máximo y disminuye aunque la presión continúa aumentando; después del cese del estímulo baroreceptor el potencial de membrana se hiperpolariza por  $5,0 \pm 1$  mV por debajo del potencial de membrana en reposo y se produce una reducción de los potenciales EPSPs que transcurre 10-15 sg, es lo que se llama hiperpolarización evocada. Las neuronas que presentan este patrón, también muestran una adaptación a determinadas frecuencias de espigas cuando se les inyecta corrientes despolarizantes constantes; este patrón de descarga se ha asociado a corrientes dependientes de potasio y calcio que pueden ser bloqueadas con apamin y charybdotoxina ,ChTX **(23; 120; 134)**; estas corrientes limitan la frecuencia de disparo de las neuronas y también su respuesta a impulsos sinápticos excitatorios aferentes. Se ha sugerido que la activación de estas corrientes podría contribuir a la depresión frecuencia-dependiente en el NTS; pero por otro lado, el bloqueo de estas corrientes incrementa el desempeño del reflejo baroreceptor **(133)**.

La hiperpolarización evocada es un fenómeno cuya magnitud y duración es dependiente de la intensidad del estímulo de presión y por ello del grado de despolarización y de la entrada de calcio; ella parece funcionar como un filtro que amortigua el impulso barorreceptor excitatorio aferente que ingresa al NTS. El mecanismo de este proceso es desconocido pero puede reflejar el lento curso temporal de la inactivación de la corriente de potasio calcio-dependiente, ya que durante la inyección de corriente el dura 1-2 sg, mientras que durante la hiperpolarización evocada por la estimulación barorreceptora su duración es de 10-15 sg; ella es lo suficientemente potente para alterar la respuesta excitatoria que sigue a un segundo estímulo

barorreceptor, también se han reportado disminuciones de amplitud y número de EPSPs; en este sentido podría actuar como un mecanismo no facilitante ante inputs recurrentes ((133).

Otra característica de la neuronas baroceptivas del NTS que muestran patrón adaptativo, lo constituye que estando bombardeadas por muchos potenciales sinápticos subumbrales, presentan una baja resistencia de entrada o elevada conductancia de membrana; de tal manera que a medida que la actividad baroreceptora se incrementa en el mismo grado la resistencia de entrada disminuye y ello ocasiona que la neurona sea menos capaz de responder, lo cual contribuye detener o al desvío de la actividad excitatoria que ingresa y se permite el comportamiento adaptativo, así se constituye un mecanismo de protección en la neurona que recibe una elevada actividad periférica y se evita la sobre actividad y depleción energética en la misma (133).

## **OBJETIVO GENERAL**

Estudiar algunas propiedades farmacológicas y eléctricas de neuronas barosensibles del NTS de ratas Sprague-Dawley y espontáneamente hipertensas (SHR)

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

- 1.- Estudiar los cambios de presión arterial y frecuencia cardíaca en ejemplares Sprague-Dawley y espontáneamente hipertensas (SHR), cuando se administra GABA y Glutamato en el NTS.
- 2.- Estudiar los efectos del Glutamato y sus antagonistas NBQX, MK-801 y del MgCl<sub>2</sub> como bloqueador del canal iónico del receptor NMDA (aplicados por microiontoforesis) sobre las características (amplitud y duración) del potencial de acción y la frecuencia de descarga de neuronas del NTS en ratas Sprague-Dawley (normotensas) y SHR(hipertensas).
- 3.- Estudiar los efectos de GABA y sus antagonistas SACLOFEN y PICROTOXINA (aplicados por microiontoforesis) sobre las características (amplitud y duración) del potencial de acción y la frecuencia de descarga de neuronas del NTS en ratas normotensas e hipertensas.
- 4.- En base a los efectos producidos por los neurotransmisores usados sobre las variables estudiadas en ambos grupos de ratas, se establecerán criterios de diferenciación entre las mismas.

## **MATERIALES**

A.- Animales: Se emplearon 60 ratas machos de las cepas Sprague-Dawley y de la espontáneamente hipertensa (SHR) con pesos entre 280-380 gramos. Estos animales se mantuvieron en espacios a temperatura 20-24°C con ciclos de luz-oscuridad de 12:12 h y con libre acceso de gránulos de comida y agua. El manejo de los animales se realizó atendiendo las normas establecidas en la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Sociedad Americana de Fisiología (65) y del capítulo 3 del Código de Ética para la Vida del Gobierno Bolivariano de Venezuela (32).

## **MÉTODOS**

A.- Procedimiento quirúrgico y esterotáxico: Todos los animales fueron anestesiados con Uretano a dosis de 1gr/kg por vía intraperitoneal. Una vez anestesiados, se procede a la canulación de la arteria femoral y la vena femoral izquierda; la primera nos permite medir la PA mediante un transductor de presión y la segunda constituye una vía para la vía intravenosa de suministro. Luego el animal es colocado en el aparato esterotáxico, se expone el cráneo y se remueve el cerebelo, de seguida mediante técnicas esterotáxicas y el empleo del atlas cerebral Paxino y Watson (132), se localizó el NTS en la zona dorsal del tallo cerebral 1-1,5 mm rostral al obex, 0,5 mm de la línea media y una profundidad de 0,7- 1 mm.

B.- Registro de la Presión arterial (PA) y la Frecuencia cardíaca (FC): En condiciones control y bajo la condición de recibir una inyección de 3nl de GABA (0,5M) o de 3nl de L-Glutamato (0,5M) en el NTS; con el transductor de presión se registra la PA directamente de la arteria femoral, la señal se transmite a una unidad de interface; a partir de la cual es transmitida al computador en donde el programa BIOPAC permite observar el registro de la PA y la FC, así como determinar los valores de cada variable.

C.- Identificación de unidades barosensibles del NTS: Con la finalidad de identificar unidades barosensibles en el NTS, se administra vía intravenosa Fenilefrina, concretamente 1 ml de una solución 10 µg/ml; esta sustancia ocasiona un incremento de la PA y su desarrollo temporal puede ser registrado como ya se indicó, mientras tanto también se registra (amplificación de

100x y filtro 1-30Khz) la descarga de neuronas en el núcleo, esta actividad se almacena mediante un programa llamado Audition 1.5 (8).(Figs. 4 y 5); luego mediante el uso de los programas G-prime (59), Excel (113) y Statgraphic plus 5.1 (174). se determina el cambio de la descarga de las unidades barosensibles.

D.- Registro de la actividad de unidades del NTS: Mediante la micropipeta central llena de azul de Pontamina y Acetato de Sodio y una resistencia de rango  $5 \text{ M}\Omega \pm 2\text{M}\Omega$  de un electrodo múltiple, compuesto de 6 micropipetas se hizo el registro; se pudo registrar (con amplificación de 100x y filtro 1-30Khz) la descarga de neuronas en el núcleo. La actividad se almacena mediante el programa Audition 1.5.(Figs. 4 y 5), luego a partir del programa G-prime que permite a partir de un registro multiunitario, seleccionar espigas considerando su amplitud y mediante una ventana de voltaje (su valor se conservó fijo durante todos los experimentos); también se obtiene el histograma de intervalo o de frecuencia y de cada barra del histograma se puede obtener la morfología promedio de las espigas seleccionadas; ésta se almacena en un archivo ASCII que se puede importar al programa Excel, donde se realiza una nueva promediación con otras espigas obtenidas (de una barra similar del histograma de intervalo o de frecuencia) en otros experimentos; finalmente se calculan los valores absolutos y relativos (porcentajes) de amplitud y duración del potencial de acción por neurona, bajo la condición control o influenciado por las sustancias aplicadas en cada grupo de rata estudiada.

E.- Micropipetas usadas para aplicar los agonistas y los antagonistas: Los 4 micropipetas restantes se utilizaron para aplicar mediante microiontoforesis los agonistas y los antagonistas; la micropipeta de L-Glutamato presentó una resistencia en un rango de  $6 \text{ M}\Omega \pm 5\text{M}\Omega$ ; la correspondiente al antagonista NBQX en el rango de  $29 \text{ M}\Omega \pm 16\text{M}\Omega$ ; la de MK-801 en el rango  $27 \text{ M}\Omega \pm 15\text{M}\Omega$ ; la de MgCl<sub>2</sub> entre los valores  $29 \text{ M}\Omega \pm 16\text{M}\Omega$ ; la de GABA entre los valores  $11 \text{ M}\Omega \pm 6 \text{ M}\Omega$ ; la de SACLOFEN entre los valores  $24 \text{ M}\Omega \pm 22 \text{ M}\Omega$  y finalmente la de Picrotoxina estuvo entre los valores  $30 \text{ M}\Omega \pm 13 \text{ M}\Omega$ .

F.- Micropipeta de corriente de compensación: La sexta micropipeta, se llenó de 3 M de Cloruro de sodio, presentó una resistencia en el rango  $3 \text{ M}\Omega \pm 1 \text{ M}\Omega$ . y se utilizó para generar

corrientes de compensación y anular los efectos eléctricos directos de la inyección de sustancias mediante corriente. Esta data se salva mediante el programa Audition y con el programa G-prime esta actividad puede ser analizada y reportada en valores de frecuencia de descarga, duración y amplitud de los potenciales de acción de neuronas barosensibles del NTS, bajo condiciones Control y las derivadas por la aplicación de Glutamato o GABA y sus antagonistas.

G.- Aplicación de sustancias: Mediante la técnica de microiontoforesis las sustancias una vez cargadas en solución son administradas por repulsión desde la micropipeta que las contienen y sus efectos sobre la actividad neuronal, pueden ser registrados con el electrodo de registro que se localiza en sus inmediaciones. Las soluciones de las sustancias que fueron utilizadas incluyeron: L- Glutamato (0,5M), GABA (0,5M), los antagonistas MK-801 (10  $\mu\text{g}/\text{cc}$ ), NBQX (4  $\mu\text{g}/\text{cc}$ ) y  $\text{MgCl}_2$  (9  $\mu\text{g}/\text{cc}$ ); además se emplearon los antagonistas de GABA, Picrotoxina (10  $\mu\text{g}/\text{cc}$ ) y Saclofen (10  $\mu\text{g}/\text{cc}$ ).

H.- Análisis de la Data: La data se estructura organizando los valores de las variables (frecuencia, amplitud y duración del potencial de acción) en forma pareada para estimar el efecto del agonista basal y los antagonistas (control vs agonista o antagonista); un arreglo similar se empleó para estimar el efecto del agonista exógeno (agonista vs pre tratamiento con un antagonista) por variable neuronal registrada; estos valores individuales se promedian. Los valores fueron expresados con su valor promedio  $\pm$  error típico. Con los valores promedio se realizaron comparaciones al interior de cada grupo estudiado, para estimar el efecto del agonista endógeno y el exógeno sobre la frecuencia de descarga, duración y amplitud de los potenciales de acción estudiados. Para estimar posibles diferencias entre las rata normotensas e hipertensas, los valores absolutos promedios se compararon inicialmente, además se expresaron porcentualmente y se calcularon como valor promedio  $\pm$  error típico, en base a ello se realizaron nuevas comparaciones. Para la determinación de significación estadística se utilizó la prueba t y niveles de significación \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0.01$  y \*\*\* $p < 0,001$ . Usando las Dósimas paramétricas la probabilidad de cometer el error tipo II (no rechazar hipótesis falsas) es más baja (152) y considerando que en general con las dósimas no paramétricas, las

hipótesis son menos precisas y rinden menos información en las conclusiones (193); seleccionamos la prueba paramétrica t de student. Desde un punto de vista práctico, el programa de estadística STATGRAPHIC PLUS 5.1 (174), al permitir analizar los datos para establecer significación, ofrece una utilidad que determina la asimetría (skewness) y el grado de aguzamiento (kurtosis) de la distribución de la data con respecto a la distribución normal, del resultado de lo cual, recomienda la posibilidad de aplicar métodos paramétricos o no.

I.- Histología: Una vez concluido el registro de la actividad neuronal en el NTS se procedió, a aplicar una corriente anódica en el orden de fracciones de microamperios por 3 minutos a través del electrodo de registro, lo cual produjo un depósito de colorante (Azul de Pontamina) en la zona cerebral donde se encontraba la punta del mismo y tal marca se observa con lupa estereoscópica en un corte coronal del cerebro de la rata estudiada y con el empleo del atlas cerebral (132), tal localización se identificó con la coloración azul típica del colorante empleado.

## MATERIALES Y METODOS

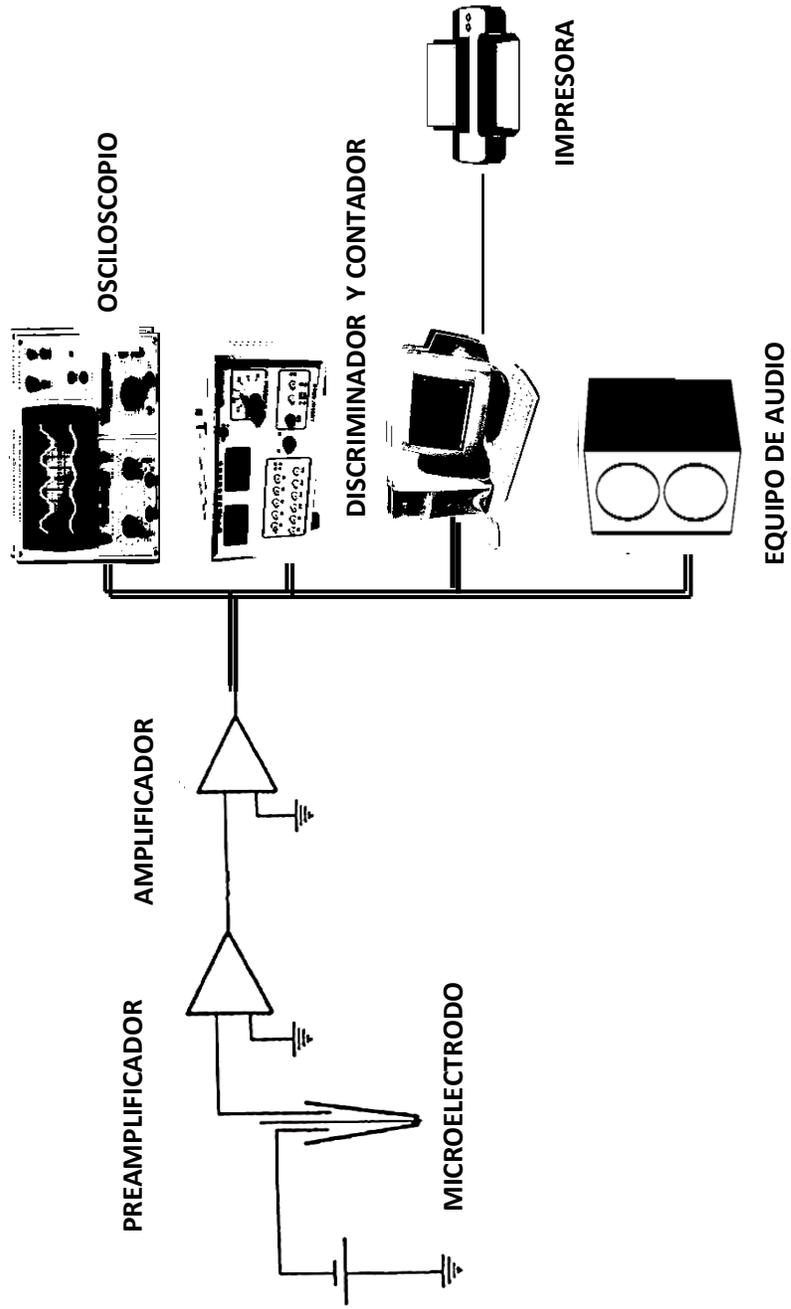


Fig. 1. Montaje experimental

## MATERIALES Y METODOS

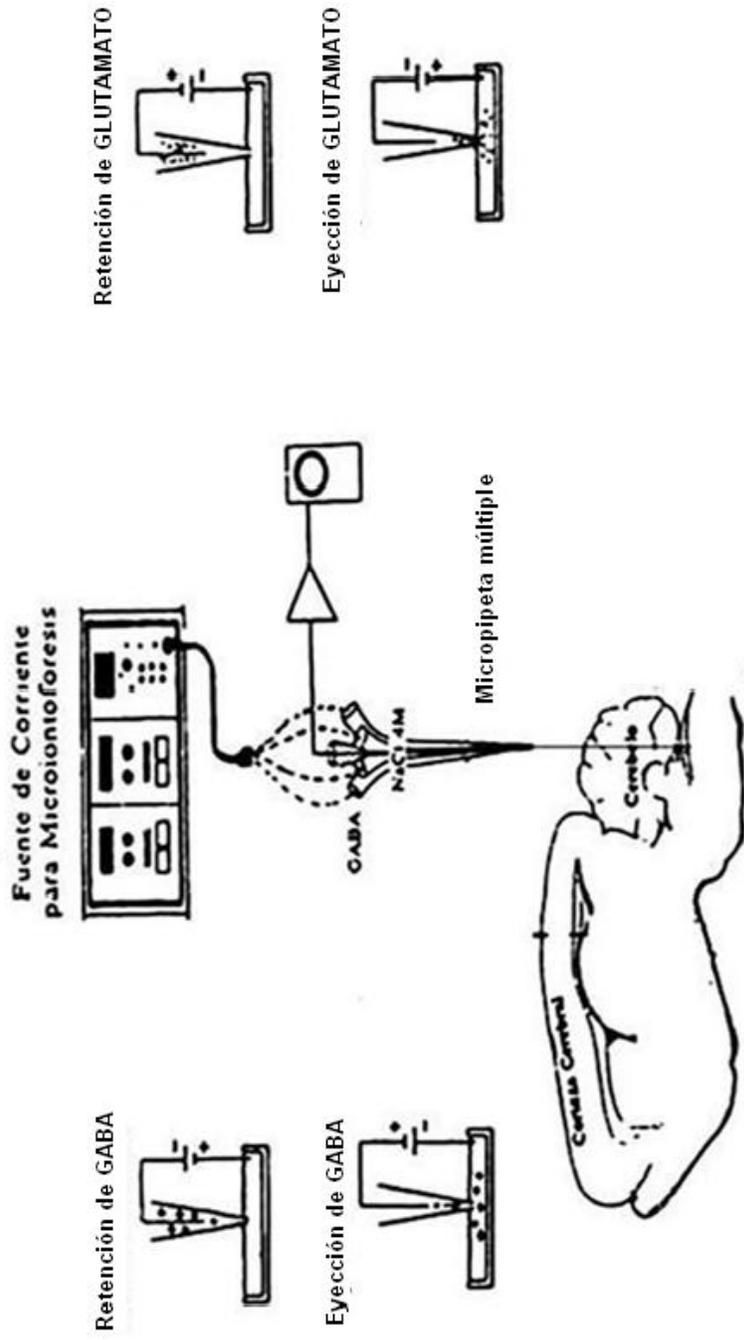
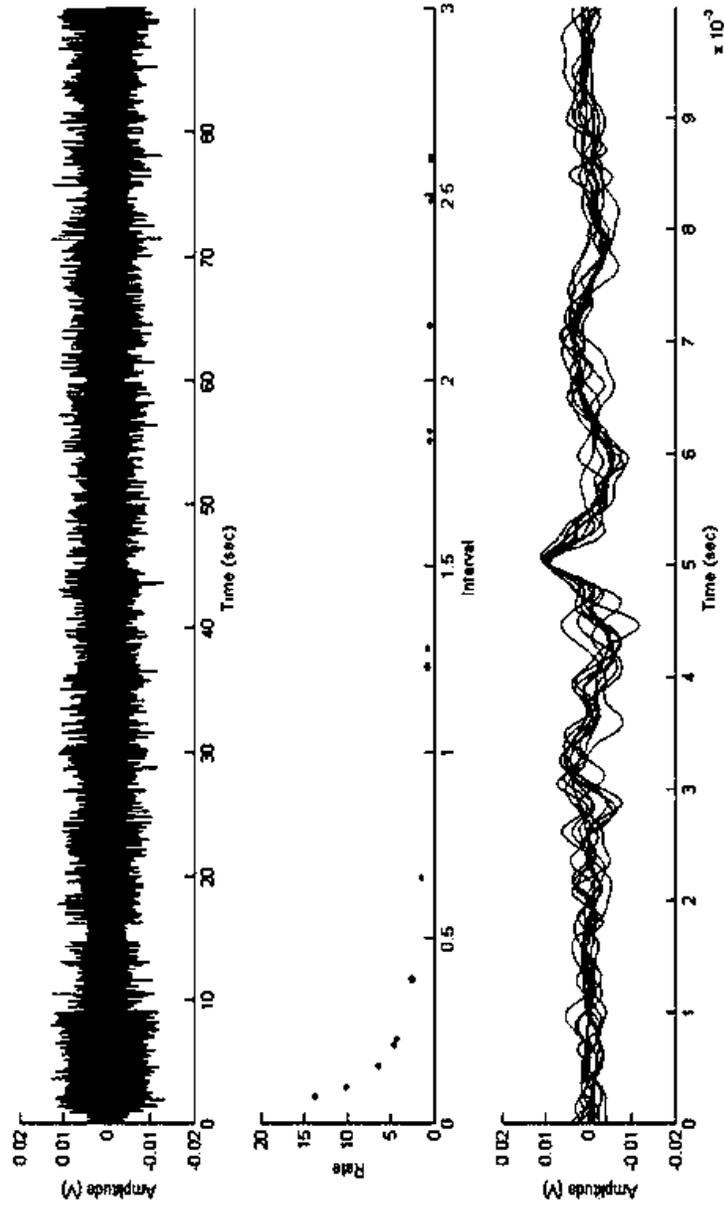
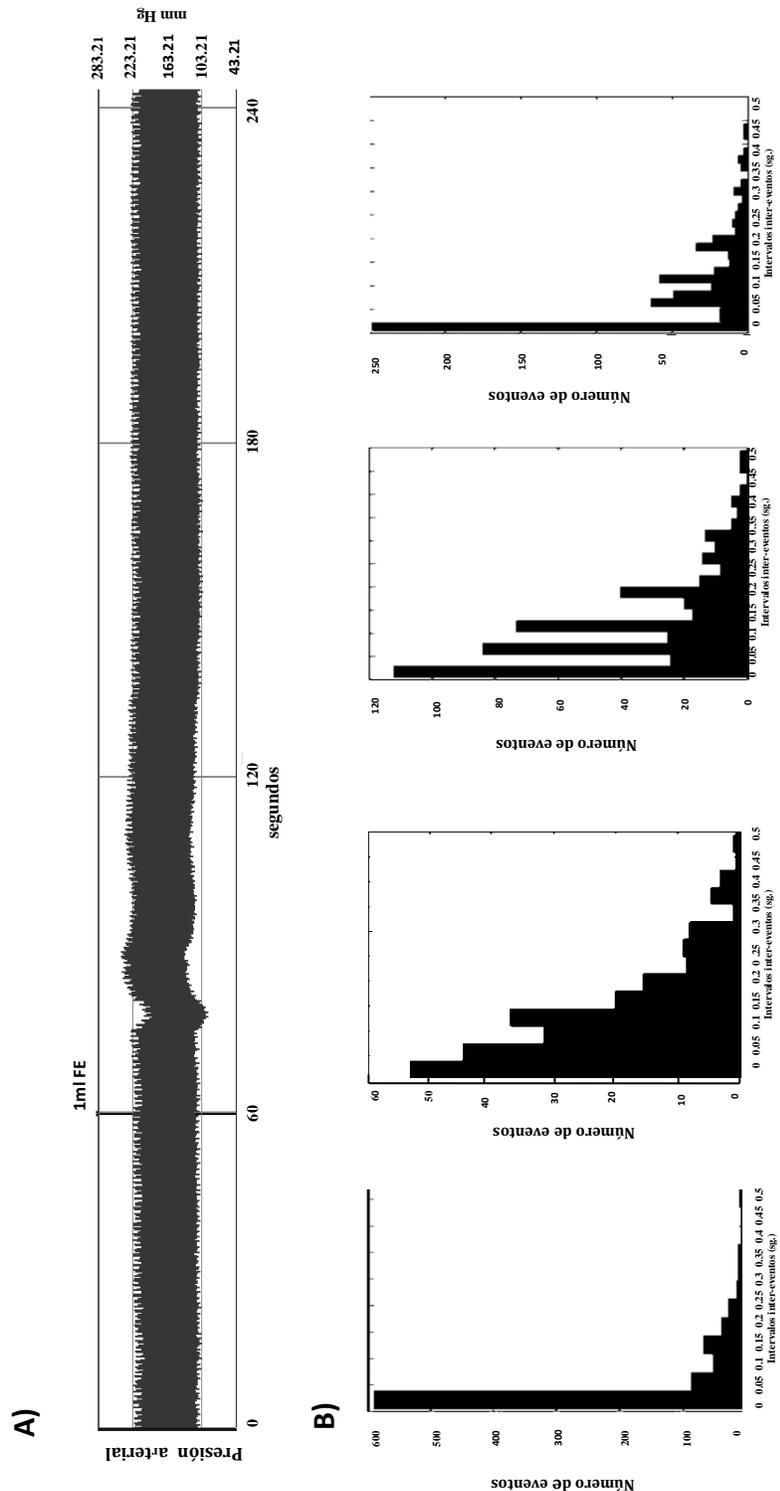


Fig. 2.- Montaje experimental a través del cual mediante un microelectrodo múltiple de vidrio se registra la actividad neuronal y se microinyecta por microiontoforesis los agonistas y antagonistas en el NTS de las ratas estudiadas.

## MATERIALES Y METODOS



**Fig. 3.- Registro de actividades de unidades barosensibles del NTS de una rata SHR, del cual mediante el Programa G-Prime se obtuvo el gráfico de frecuencia de intervalos y Potencial de acción promedio de una neurona barosensible de este núcleo.**



**Fig 4.- A) Registros de la presión arterial control y bajo la acción de Fenilefrina (10 µg/ml) en una rata hipertensa. B) Histogramas de intervalo inatrespaga de una neurona baronsensible del NTS registrada simultaneamente en la rata.**

## RESULTADOS

TABLA I

SHR	Presión Sistólica	Presión Diastólica	Presión media	Frecuencia cardiaca
$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$145 \pm 12 (*)$	$60 \pm 7$	$95 \pm 8$	$273 \pm 10$
N	10	10	10	10
Sprague - Dawley				
$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$124 \pm 8$	$61 \pm 6$	$89 \pm 4$	$282 \pm 16$
N	13	13	13	13

Valores basales, Promedio (mm Hg)  $\pm$  error típico (SEM), de las presiones arteriales y la frecuencia cardiaca registradas en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y las Sprague-Dawley (normotensas). Nivel de significación \* $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

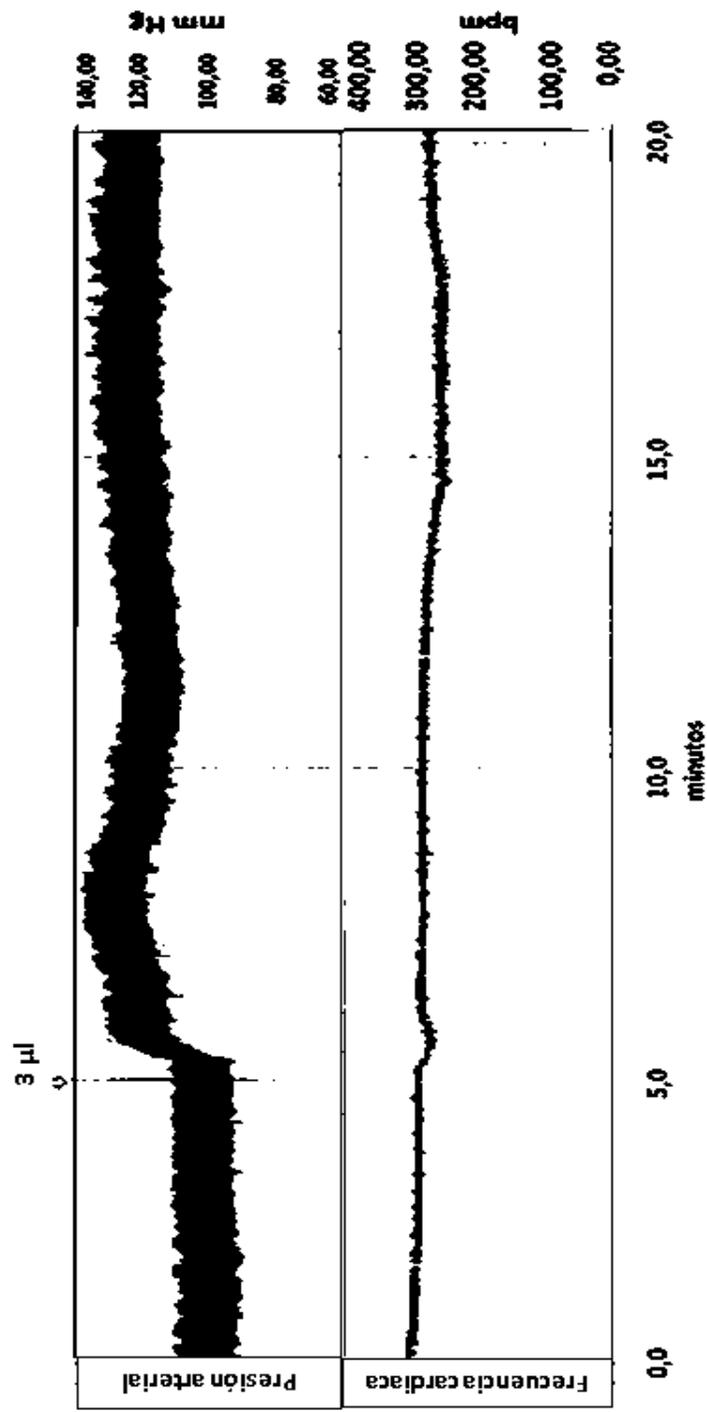


Fig. 5.- Registros de la presión arterial (mm Hg) y la frecuencia cardiaca (latidos por minuto, bpm) de una rata Sprague-Dawley, a la cual en el NTS, se le microinyectó 3 µl. de una solución de Glutamato (0,5M).

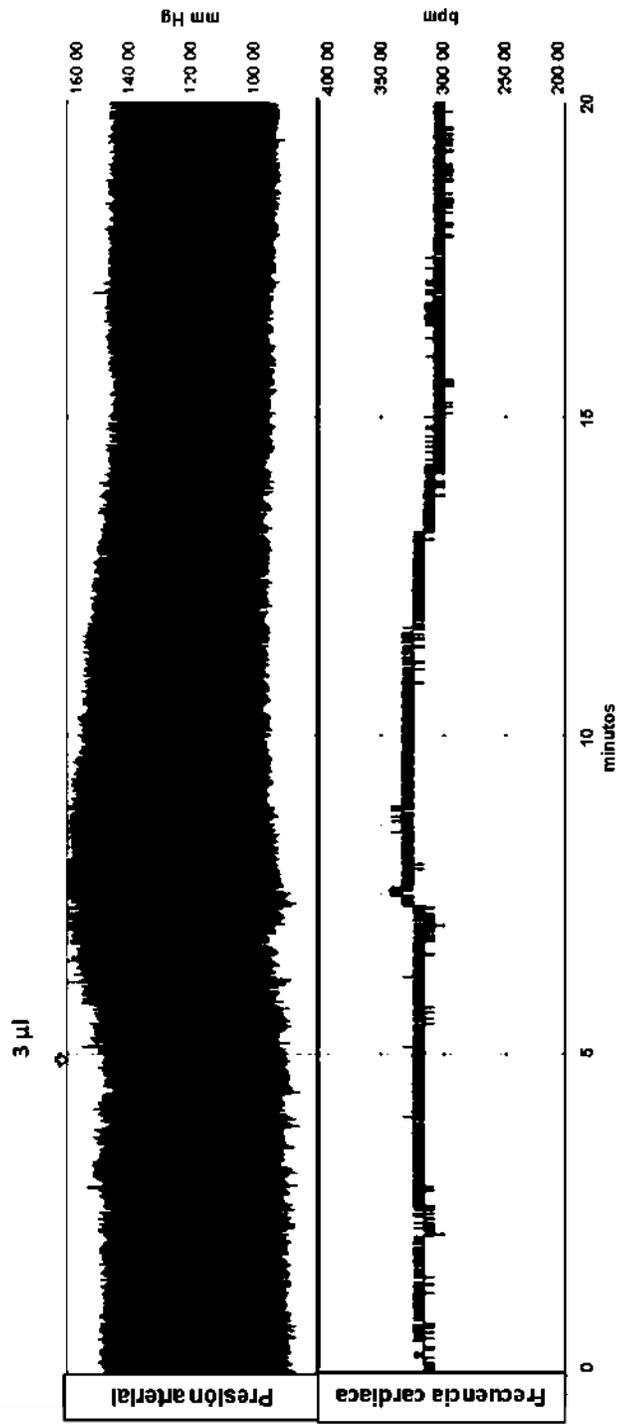
## RESULTADOS

TABLA II

CONTROL	Presión Sistólica	Presión Diastólica	Presión media	Frecuencia cardiaca
$\bar{X} \pm \text{SEM}$	120 $\pm$ 3	69 $\pm$ 5	94 $\pm$ 3	236 $\pm$ 35
N	6	6	6	6
GLUTAMATO				
$\bar{X} \pm \text{SEM}$	132 $\pm$ 5 (*)	77 $\pm$ 5	102 $\pm$ 3	262 $\pm$ 24
N	6	6	6	6

Variación de los valores de las presiones (promedio  $\pm$  SEM), Sistólica, Diastólica y Media, además de la Frecuencia cardiaca (latidos por minuto) cuando se microinyectó 3  $\mu$ l de GLUTAMATO (0,5 M) en el NTS de ratas normotensas (Sprague-Dawley). Nivel de significación \* p < 0,05.

## RESULTADOS



**Fig. 6.- Registros de la presión arterial (mm Hg) y la frecuencia cardiaca (latidos por minuto,bpm) de una rata SHR, a la cual se le microinyectó 3 µl. de una solución de Glutamato (0,5M) en el NTS.**

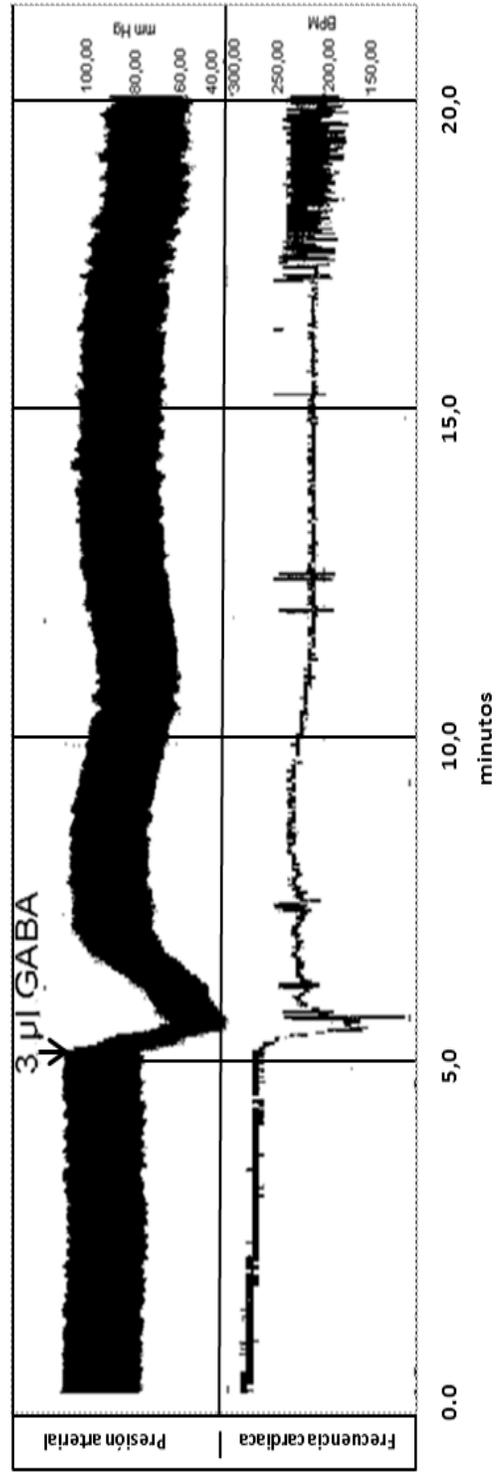
## RESULTADOS

TABLA III

CONTROL	Presión Sistólica	Presión Diastólica	Presión media	Frecuencia cardíaca
$\bar{X} \pm \text{SEM}$	144 ± 4	79 ± 7	109 ± 6	284 ± 16
N	8	8	8	7
GLUTAMATO				
$\bar{X} \pm \text{SEM}$	163 ± 9 (*)	88 ± 8 (*)	124 ± 8	291 ± 20
N	6	6	6	6

Variación de los valores de las presiones (promedio ± SEM), Sistólica, Diastólica y Media, además de la Frecuencia cardíaca (latidos por minuto) cuando se microinyectó 3 µl de GLUTAMATO (0,5M) en el NTS de ratas espontáneamente hipertensas (SHR). Nivel de significación \*p<0,05

## RESULTADOS



**Fig.7.- Registros de la Presión Arterial y la Frecuencia Cardiaca obtenido de una rata Sprague-Dawley a la cual se le microinyectó 3 µl de GABA (0,5M) en el NTS**

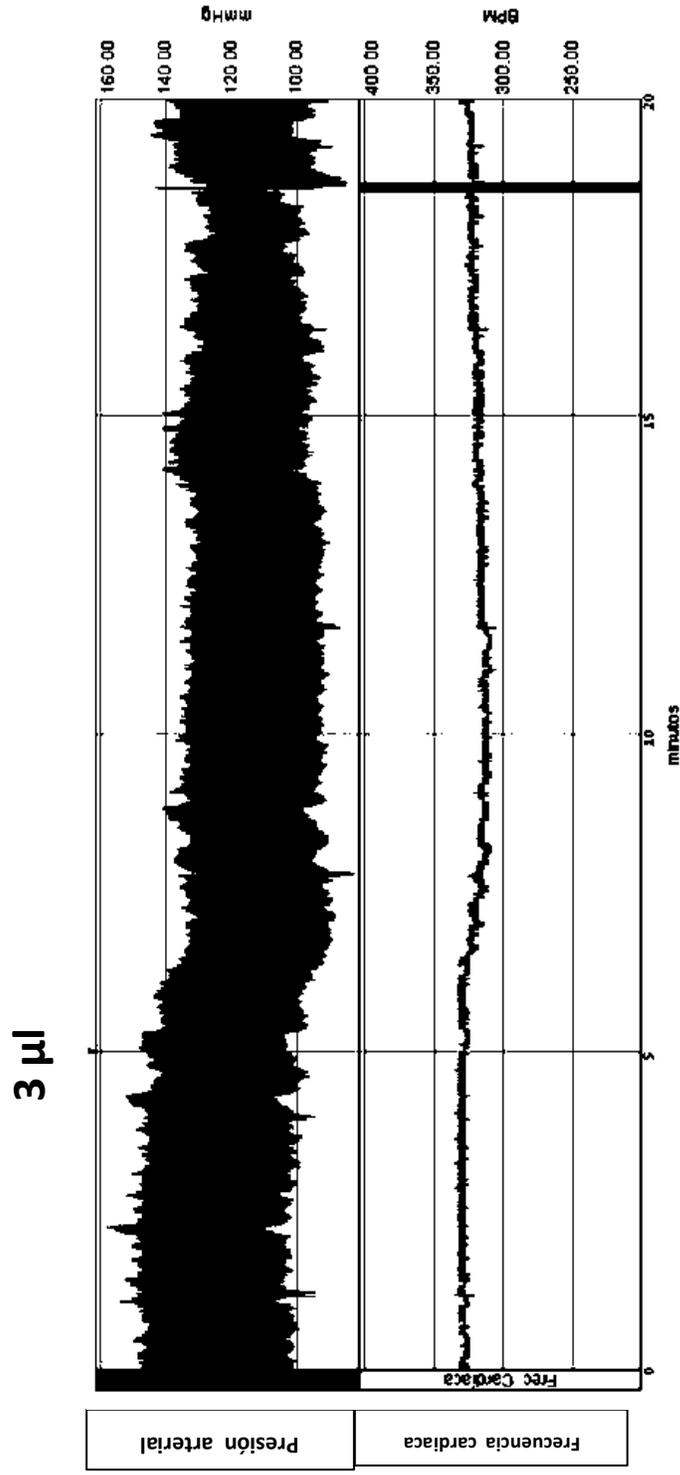
## RESULTADOS

TABLA IV

CONTROL	Presión Sistólica	Presión Diastólica	Presión media	Frecuencia cardíaca
$\bar{X} \pm SEM$	120 $\pm$ 3	69 $\pm$ 3	94 $\pm$ 3	236 $\pm$ 35
N	8	8	8	6
GABA				
$\bar{X} \pm SEM$	123 $\pm$ 5	57 $\pm$ 5 (*)	86 $\pm$ 3	232 $\pm$ 31
N	6	6	6	6

Variación de los valores de las presiones (promedio  $\pm$  SEM), Sistólica, Diastólica y Media, además de la Frecuencia cardíaca (latidos por minuto) cuando se microinyectó 3 $\mu$ l de GABA (0,5M) en el NTS de ratas Sprague-Dawley (normotensas). Nivel de significación \* p< 0,05.

## RESULTADOS



**Fig. 8.- Registros de la presión arterial (mm Hg) y la frecuencia cardíaca (latidos por minuto, bpm) de una rata hipertensa (SHR) a la cual se le microinyectó 3  $\mu$ l de GABA (0,5 M) en el NTS.**

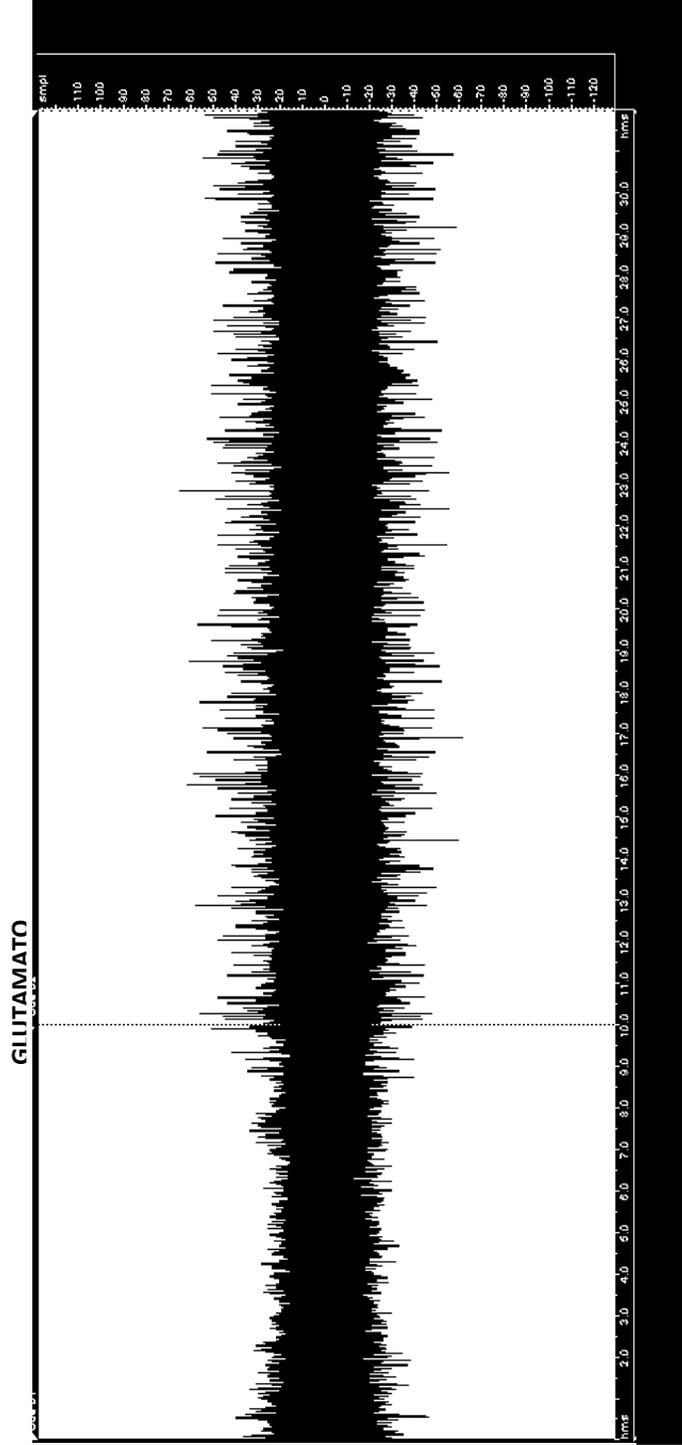
## RESULTADOS

**TABLA V**

<b>CONTROL</b>	<b>Presión Sistólica</b>	<b>Presión Diastólica</b>	<b>Presión media</b>	<b>Frecuencia cardiaca</b>
$\bar{X} \pm SEM$	144 $\pm$ 4	79 $\pm$ 7	109 $\pm$ 6	284 $\pm$ 18
<b>N</b>	8	8	8	7
<b>GABA</b>				
$\bar{X} \pm SEM$	132 $\pm$ 3(*)	66 $\pm$ 10	93 $\pm$ 8	260 $\pm$ 22
<b>N</b>	7	7	7	6

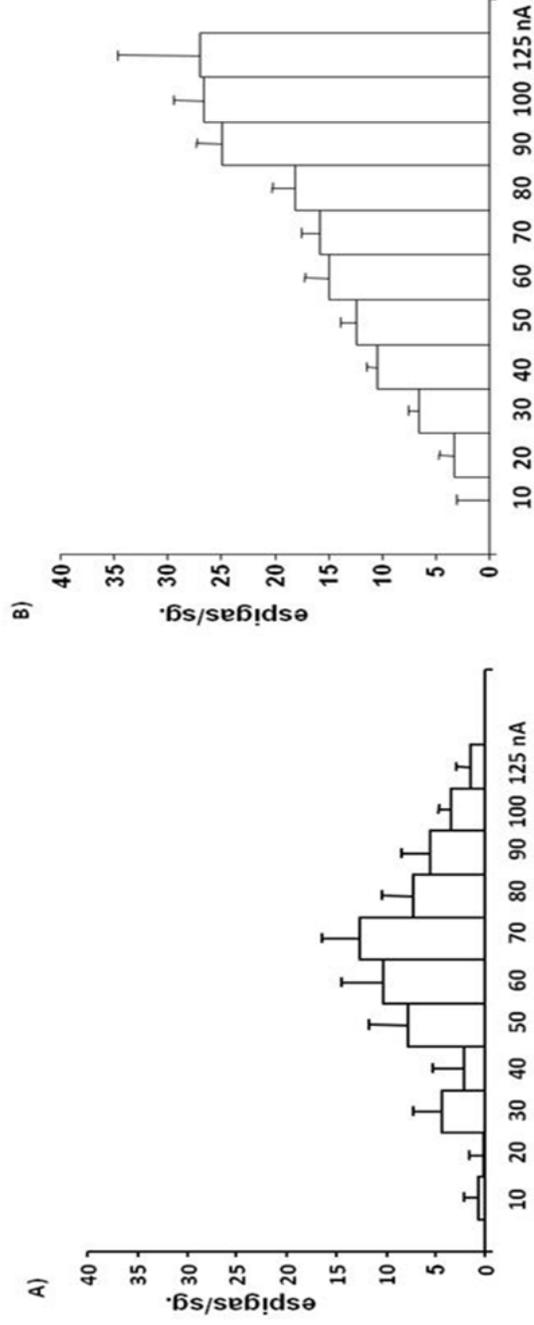
**Variación de los valores de las presiones (promedio  $\pm$  SEM), Sistólica, Diastólica y Media, además de la Frecuencia cardiaca (latidos por minuto) cuando se microinyectó 3 $\mu$ l de GABA (0,5M) en el NTS de ratas SHR (Hipertensas). Nivel de significación \*p< 0,05).**

## RESULTADOS



**Fig. 9.- Efecto del Glutamato aplicado por microiontoforesis, sobre la frecuencia de descarga de algunas unidades del NTS en ratas hipertensas (SHR).**

## RESULTADOS



**Fig. 10.- Relación dosis vs respuestas. Variación del No de espigas/sg. producida por Glutamato microinyectado a dosis crecientes (nA) y mediante microiontoforesis en el NTS de ratas normotensas (A, Sprague Dawley) y espontáneamente hipertensas (B, SHR)**

## RESULTADOS

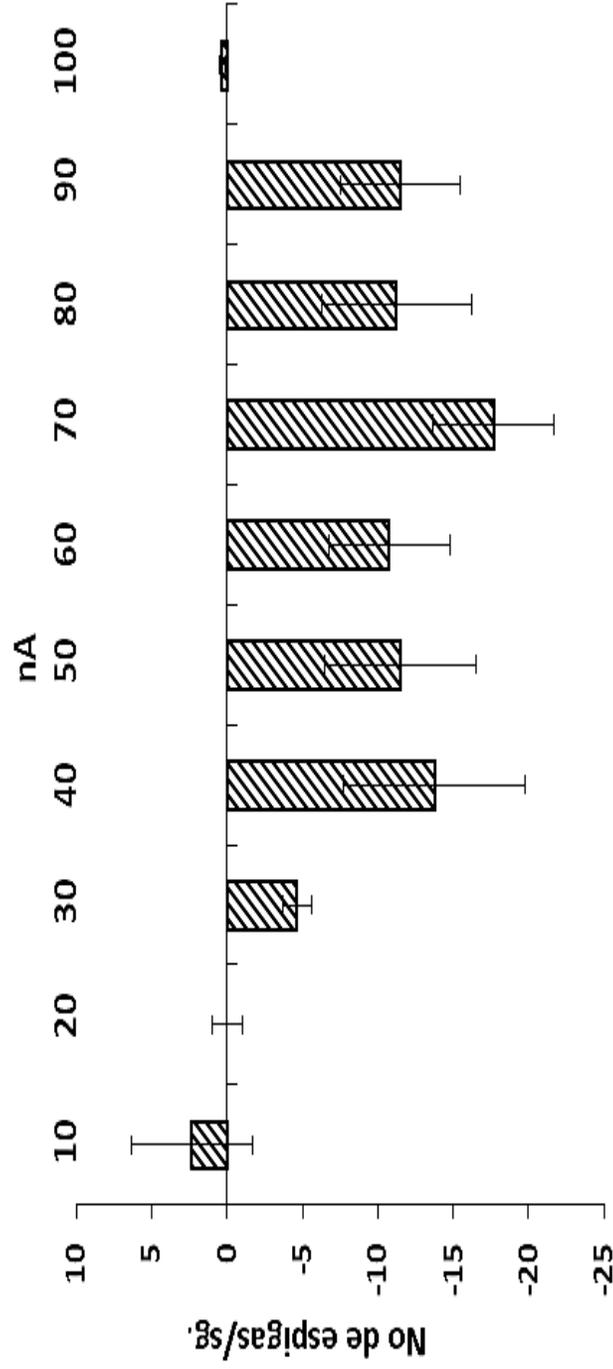
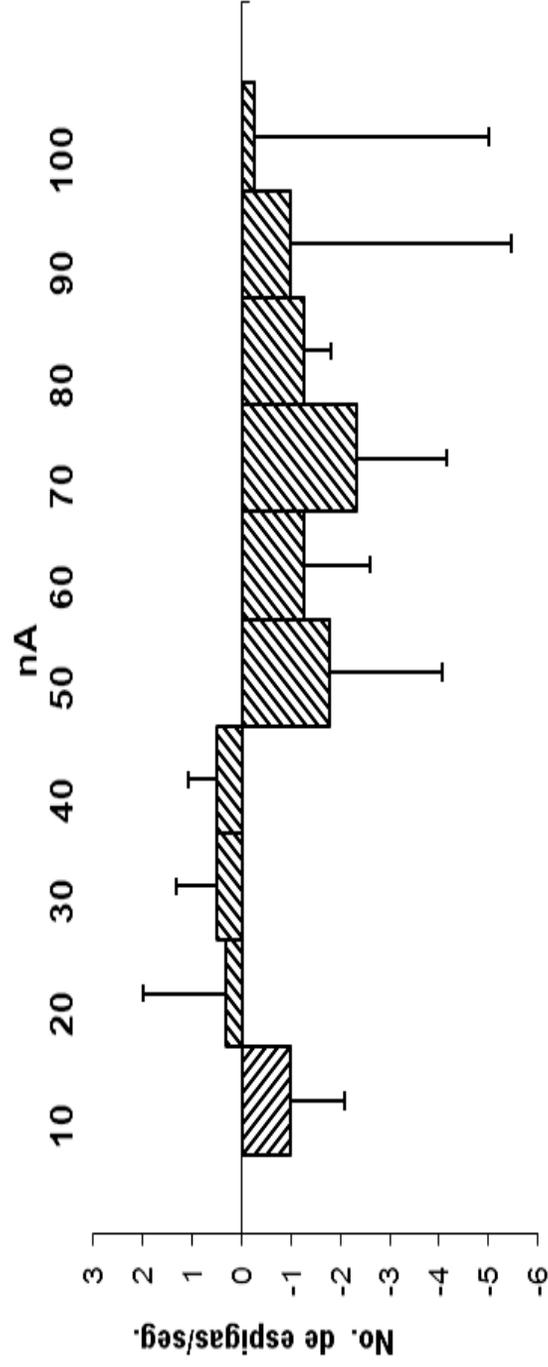


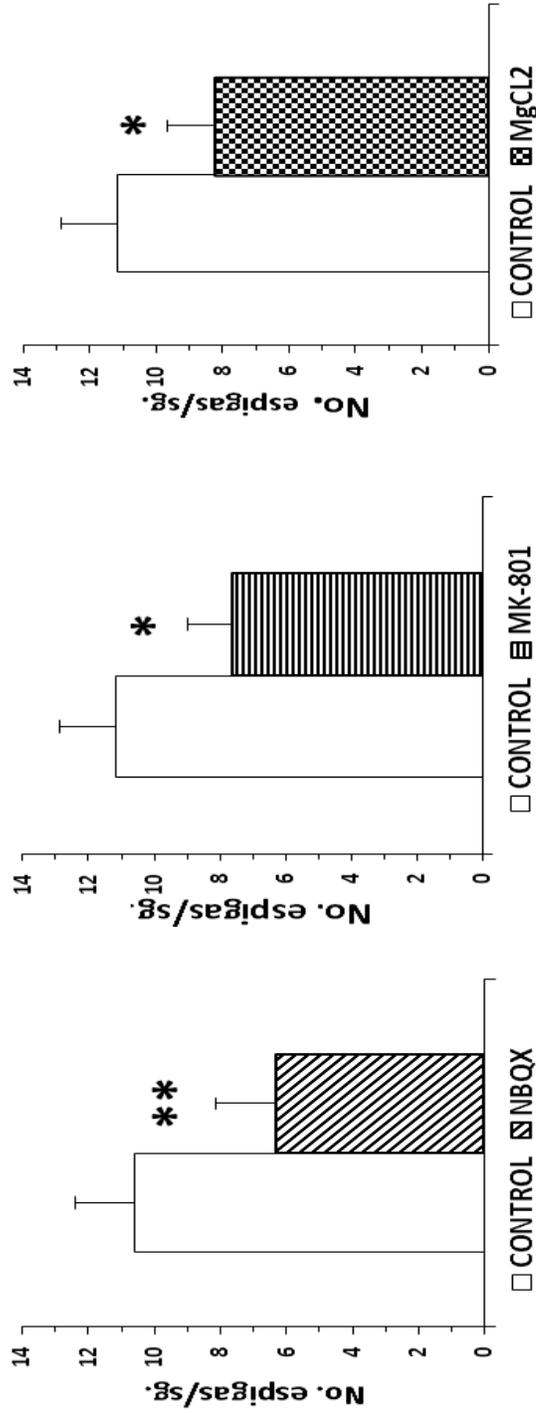
Fig. 11.- Cambios del No. espigas/sg. en neuronas barosensibles del NTS, cuando se aplican por microiontophoresis dosis crecientes de GABA en dicho núcleo de ratas hipertensas (SHR).

## RESULTADOS



**Fig. 12.- Cambios del No. espigas/sg. en neuronas barosensibles del NTS, cuando se aplican por microiontophoresis dosis crecientes de GABA en dicho núcleo de ratas normotensas (Sprague-Dawley).**

## RESULTADOS



**Fig. 13.- Efectos del NBQX, MK-801 y MgCl<sub>2</sub> (antagonizando la acción del GLUTAMATO endógeno) sobre la frecuencia de descarga de neuronas del NTS de ratas hipertensas (SHR). NBQX (antagonista de Glutamato a través de receptores tipo AMPA), MK-801 (antagonista de Glutamato a través de receptores tipo NMDA) y MgCl<sub>2</sub> (bloqueador del canal iónico del receptor a Glutamato, tipo NMDA). Nivel de significación \*p < 0,05 y \*\* p < 0,01.**

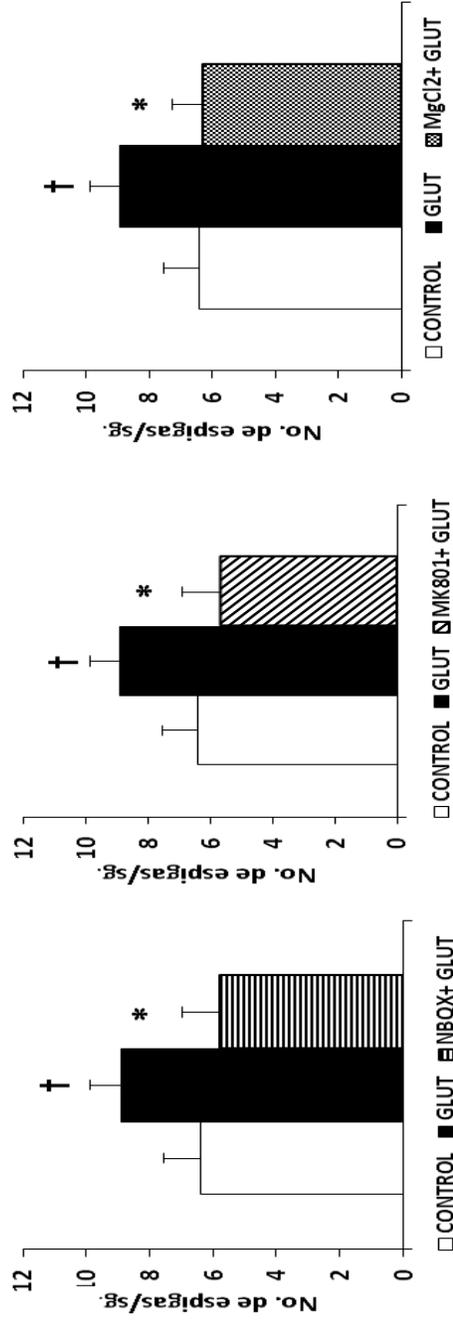
## RESULTADOS

TABLA VI

	CONTROL	NBQX	CONTROL	MK-801	CONTROL	MgCl <sub>2</sub>
$\bar{X} \pm \text{SEM}$	10,6 ± 2	6,3 ± 2 (**)	11,2 ± 2	7,6 ± 1,4 (*)	11,2 ± 2	8,2 ± 1,5 (*)
N	13	13	13	13	13	13

Valores promedios de la frecuencia de descarga basales y bajo la acción de NBQX, MK-81 y MgCl<sub>2</sub> (antagonistas de GLUTAMATO), en neuronas del NTS de ratas espontáneamente hipertensas (SHR). Nivel de significación \*\* p<0,01 ; \* p<0,05.

## RESULTADOS



**Fig. 14.- Valores (promedios  $\pm$  SEM) de la frecuencia de descarga de neuronas del NTS en ratas SHR; CONTROL y bajo la acción de GLUTAMATO (GLUT), GLUTAMATO contratamiento previo del antagonista MK-801 (MK-801 + GLUT), GLUTAMATO con tratamiento previo del antagonista NBQX (NBQX + GLUT), GLUTAMATO con tratamiento previo de MgCl<sub>2</sub> (MgCl<sub>2</sub> + GLUT), microinyectados por microiontoforesis en dicho núcleo. Nivel de significación †  $p < 0,05$  CONTROL vs GLUT; \*  $p < 0,05$  GLUT vs ((NBQX, MK-801 o MgCl<sub>2</sub>) + GLUT).**

## RESULTADOS

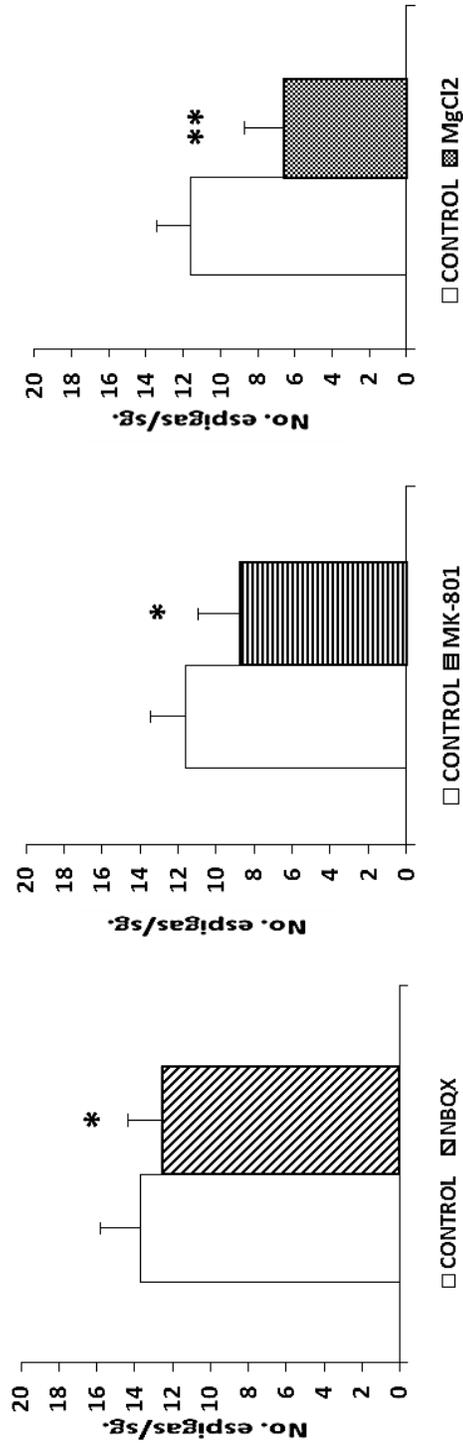
TABLA VII

	CONTROL	GLUTAMATO	NBQX + GLUT	MK-801 + GLUT	MgCl <sub>2</sub> + GLUT
$\bar{x} \pm \text{SEM}$	6,4 ± 1	8,9 ± 1 (†)	5,8 ± 1 (*)	5,7 ± 1 (*)	6,9 ± 1 (*)
N	14	13	14	14	14

Valores promedio de la frecuencia de descarga de neuronas del NTS en ratas SHR; CONTROL y bajo la acción de GLUTAMATO (GLUT), Glutamato con tratamiento previo del antagonista NBQX (NBQX + GLUT), Glutamato con tratamiento previo del antagonista MK-801 (MK-801+ GLUT) y Glutamato con tratamiento previo de MgCl<sub>2</sub> (MgCl<sub>2</sub> + GLUT). Nivel de significación † p < 0,05 CONTROL vs GLUT; \* p < 0,05 GLUT vs ((NBQX, MK-801 y MgCl<sub>2</sub>) + GLUT).

Nivel de significación \*\*p < 0,05 y \*\*\*p < 0,01.

## RESULTADOS



**Fig. 15.- Efectos del NBQX, MK-801 y MgCl<sub>2</sub> antagonizando la acción del GLUTAMATO endógeno sobre la frecuencia de descarga de neuronas del NTS de ratas normotensas (Sprague-Dawley). Valores (promedio ± SEM) de la descarga obtenido como Control y bajo la acción de NBQX (antagonista no-NMDA), MK-801 (antagonista NMDA) y MgCl<sub>2</sub> (bloqueador del canal iónico del receptor NMDA). Nivel de significación \*p < 0,05 y \*\*p < 0,01.**

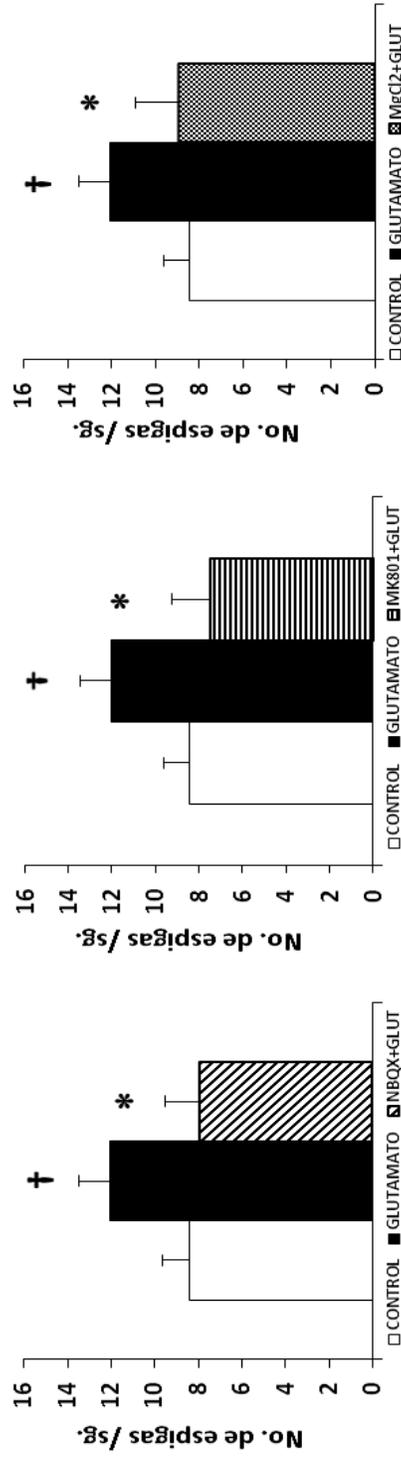
## RESULTADOS

**TABLA VIII**

	CONTROL	NBQX	CONTROL	MK-801	CONTROL	MgCl <sub>2</sub>
$\bar{X} \pm \text{SEM}$	13,7 ± 2	12,5 ± 2 (*)	11,6 ± 2	8,8 ± 2 (*)	11,6 ± 2	6,6 ± 2 (**)
N	12	12	13	13	13	13

Valores promedios de la frecuencia de descarga basales y bajo la acción de NBQX, MK-801 y MgCl<sub>2</sub> (antagonistas y bloqueador de receptores de GLUTAMATO), en neuronas del NTS de ratas normotensas (Sprague-Dawley). Nivel de significación \*\* p < 0,01; \* p < 0,05.

## RESULTADOS



**Fig. 16.- Valores (promedio  $\pm$  SEM) de la frecuencia de descarga de neuronas del NTS; CONTROL y bajo la acción de GLUTAMATO (GLUT), GLUTAMATO con tratamiento previo del antagonista NBQX (NBQX + GLUT), GLUTAMATO con tratamiento previo de antagonista MK-801 (MK-801 + GLUT) y GLUTAMATO con tratamiento previo de MgCl<sub>2</sub> (MgCl<sub>2</sub> + GLUT) microinyectados por microiontoforesis en el mismo núcleo de ratas normotensas (Sprague-Dawley). Nivel de significación †  $p < 0,05$  CONTROL vs GLUT, \*  $p < 0,05$  GLUT vs ((NBQX, MK-801 y MgCl<sub>2</sub>) + GLUT).**

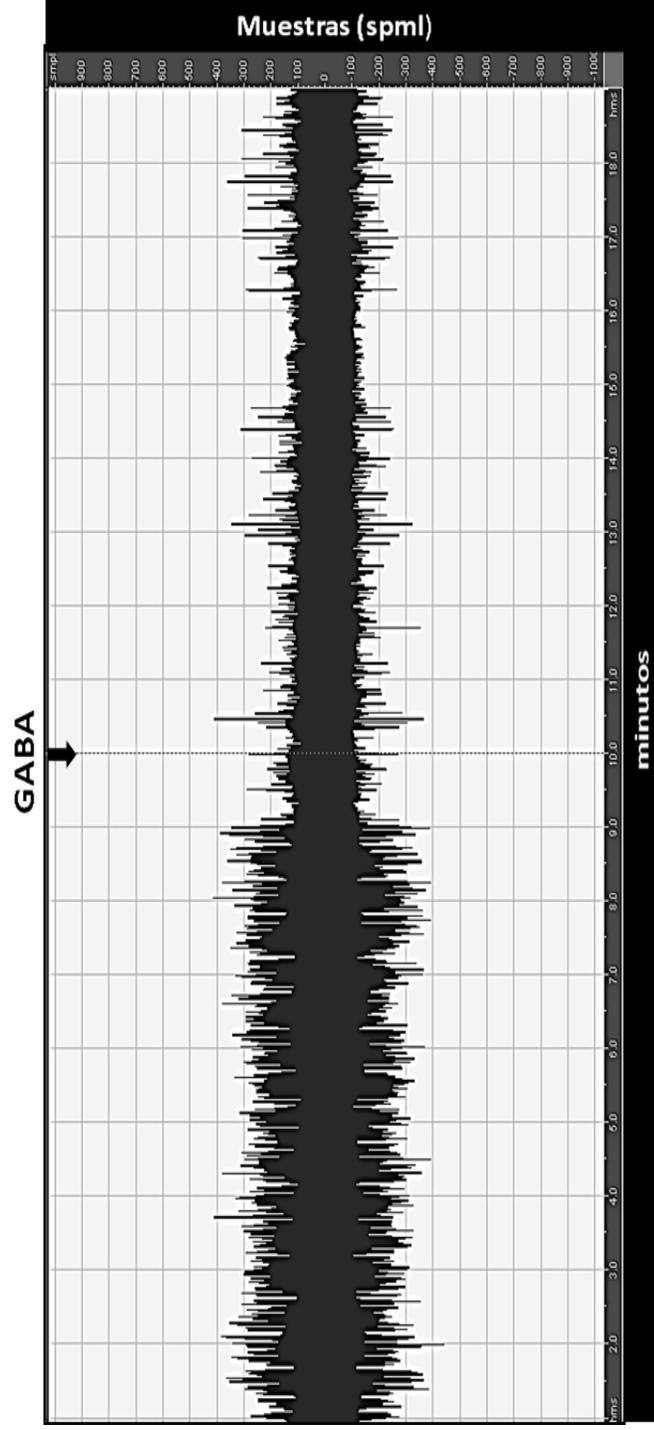
## RESULTADOS

TABLA IX

	CONTROL	GLUTAMATO	NBQX + GLUT	MK-801 + GLUT	MgCl <sub>2</sub> + GLUT
$\bar{x} \pm \text{SEM}$	8,4 ± 1	12 ± 1 (†)	7,9 ± 1,6 (*)	7,4 ± 1,8 (*)	8,9 ± 2 (*)
N	13	14	9	11	11

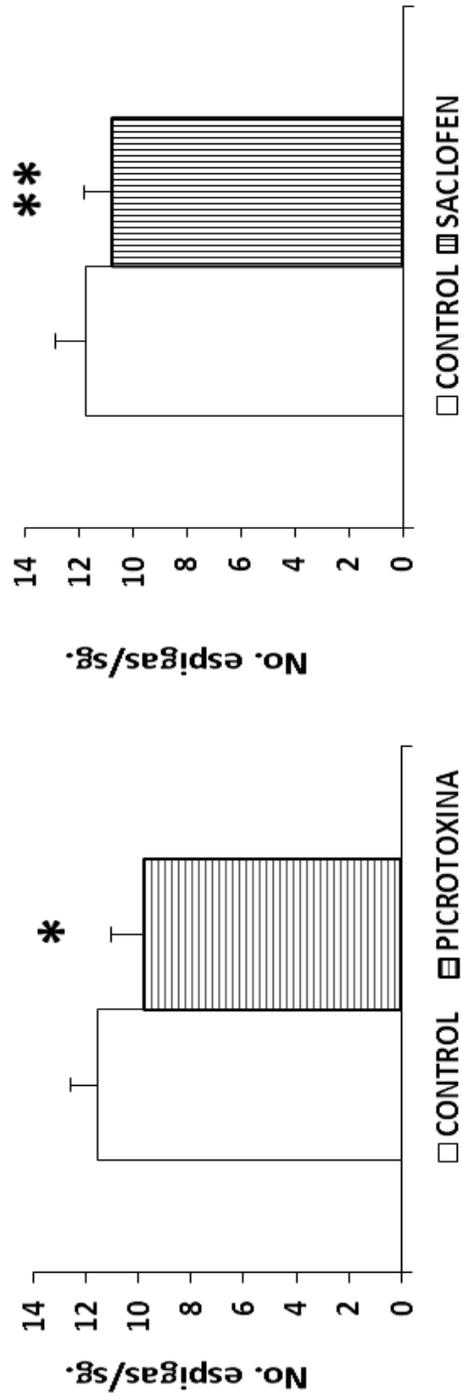
.- Valores (promedios ± SEM) de la frecuencia de descarga de neuronas del NTS en ratas normotensas (Sprague-Dawley); CONTROL y bajo la acción de GLUTAMATO, GLUTAMATO con tratamiento previo de NBQX (NBQX + GLUT), GLUTAMATO con tratamiento previo de MK-801 (MK-801 + GLUT) y GLUTAMATO con tratamiento previo de MgCl<sub>2</sub> (MgCl<sub>2</sub> + GLUT). Nivel de significación † p < 0,05 CONTROL vs GLUT; \* p < 0,05 GLUT vs ((NBQX, MK-801 y MgCl<sub>2</sub>) + GLUT).

## RESULTADOS



**Fig 17.- Efecto del GABA aplicado por microiontoforesis sobre la Frecuencia de descarga de algunas unidades del NTS en una rata normotensa (Sprague-Dawley)**

## RESULTADOS



**Fig. 18.- Efectos de la PICROTOXINA y SACLOFEN sobre el GABA endógeno en las frecuencias de descarga de neuronas del NTS en ratas SHR. Nivel de significación \*\*  $p < 0,01$  y \*  $p < 0,05$**

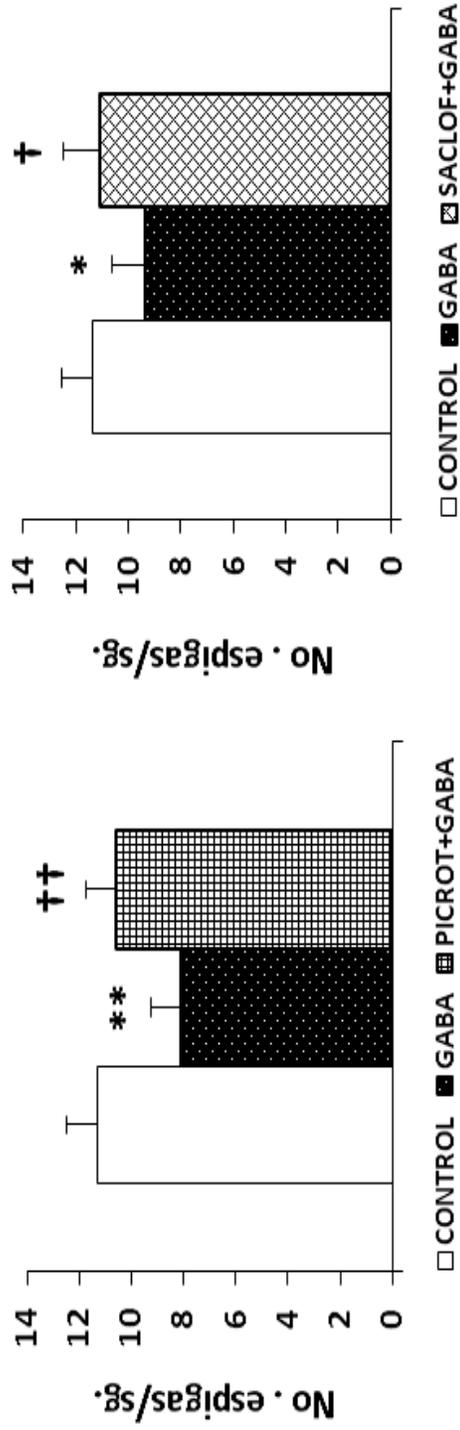
## RESULTADOS

TABLA X

	CONTROL	PICROTOXINA	CONTROL	SACLOFEN
$\bar{X} \pm SEM$	$11,6 \pm 1$	$9,8 \pm 1 (*)$	$11,8 \pm 1$	$10,8 \pm 1 (**)$
N	25	25	25	25

.- Valores (promedios  $\pm$  SEM) de la frecuencia de descarga de neuronas del NTS en ratas hipertensas (SHR); CONTROL y bajo la acción de PICROTOXINA y SACLOFEN (antagonistas GABAA y GABAB, respectivamente). Nivel de significación \*\*  $p < 0,01$  \*  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS



**Fig. 19.- Valores (promedio  $\pm$  SEM) de frecuencia de descargas de neuronas del NTS, en ratas espontáneamente hipertensas (SHR). Control y bajo la acción de GABA; GABA con tratamiento previo del antagonista Picrotoxina (PICROT + GABA); GABA con tratamiento previo del antagonista SACLOFEN (SACLOFEN + GABA). Nivel de significación \*\* p < 0,01 y \* p < 0,05 Control vs GABA; †† p < 0,01 y † p < 0,05 GABA vs ((PICROT, SACLOF) + GABA)**

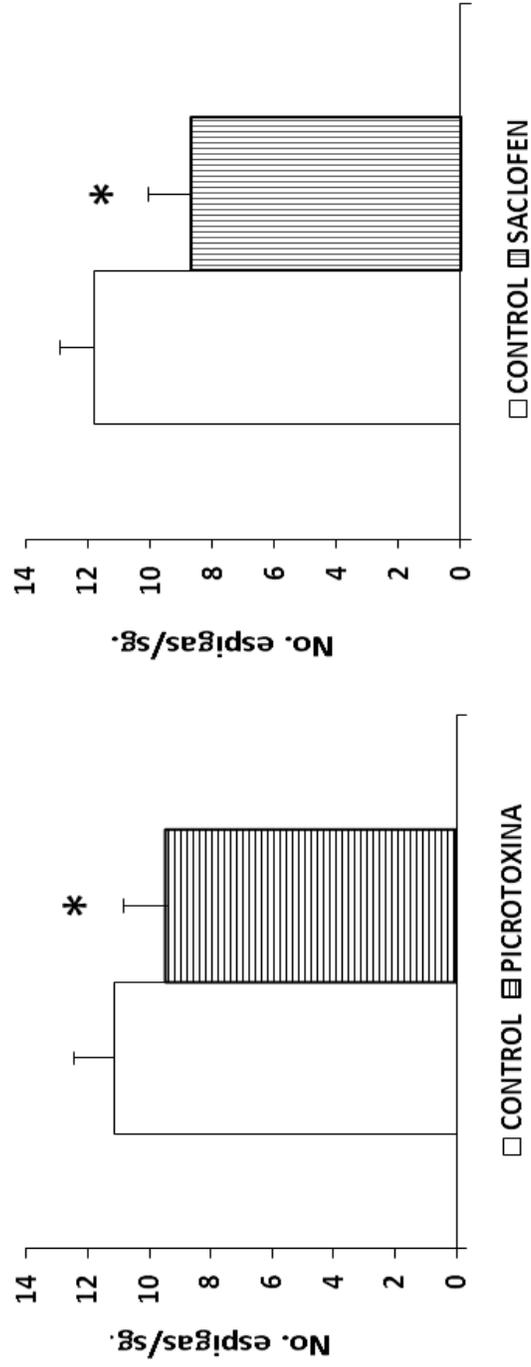
## RESULTADOS

TABLA XI

	CONTROL	GABA	PICROT + GABA	CONTROL	GABA	SACLOF + GABA
$\bar{x} \pm \text{SEM}$	11,3 ± 1,2	8,1 ± 1,2 (**)	10,6 ± 1,2 (††)	11,3 ± 1,2	9,4 ± 1,1 (*)	11,1 ± 1,1 (†)
N	24	24	24	22	22	22

.- Valores (promedio ± SEM) de la frecuencia de descarga de neuronas del NTS en ratas espontáneamente hipertensas (SHR). Control y bajo la acción de GABA(GABA), GABA con tratamiento previo del antagonista PICROTOXINA (PICROT + GABA) y GABA con tratamiento previo del antagonista SACLOFEN (SACLOF + GABA). Nivel de significación \*\* p < 0,01 y \* p < 0,05 CONTROL vs GABA, además †† p < 0,01 y † p < 0,05; GABA vs ((PICROT , SACLOF ) + GABA).

## RESULTADOS



**F. 20.- Efectos de SACLOFEN y PICROTOXINA sobre el GABA endógeno en las frecuencias de descargas de neuronas del NTS en ratas normotensas (Sprague-Dawley). Niveles de significación \* $p < 0,05$ .**

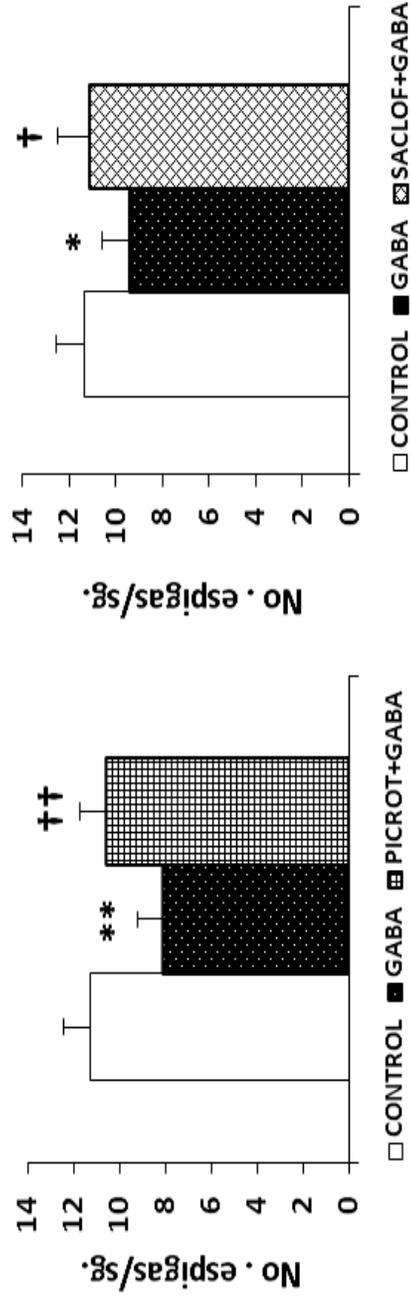
## RESULTADOS

TABLA XII

	CONTROL	PICROTOXINA	CONTROL	SACLOFEN
$\bar{x} \pm \text{SEM}$	11,1 $\pm$ 1	9,4 $\pm$ 1 (*)	11,8 $\pm$ 1	8,8 $\pm$ 1 (*)
N	19	19	25	23

.-Valores (promedio  $\pm$  SEM) de las frecuencias de descarga de neuronas del NTS en ratas normotensas (Sprague-Dawley). CONTROL y bajo los efectos de PICROTOXINA y SACLOFEN. Nivel de significación \*  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS



**Fig. 21.- Valores (promedio  $\pm$  SEM) de frecuencia de descarga de neuronas del NTS, en ratas normotensas (Sprague-Dawley). CONTROL y bajo la acción de GABA; GABA con tratamiento previo del antagonista PICROTOXINA (PICROT + GABA); GABA con tratamiento previo del antagonista SACLOFEN (SACLOF + GABA). Nivel de significación \*\* p < 0,01; \* p < 0,01 Control vs GABA; †† p < 0,01 y † p < 0,05 GABA vs ((PICROT, SACLOF) + GABA)**

## RESULTADOS

TABLA XIII

	CONTROL	GABA	PICROT +	CONTROL	GABA	SACLOF +
$\bar{X} \pm SEM$	11,8 ± 1,4	9,9 ± 1,2 (*)	11,2 ± 1,2 (††)	11,7 ± 1,2	8,2 ± 1,3 (**)	9,9 ± 1,2 (†)
N	25	25	25	24	24	24

Valores (promedio ± SEM) de frecuencia de descarga de neuronas del NTS, en ratas normotensas (Sprague-Dawley). CONTROL y bajo la acción de GABA; GABA con tratamiento previo del antagonista PICROTOXINA (PICROT + GABA); GABA con tratamiento previo del antagonista SACLOFEN (SACLOF + GABA). Nivel de significación \*\* p < 0,01; \* p < 0,01 Control vs GABA; †† p < 0,01 y † p < 0,05 GABA vs ((PICROT, SACLOF) + GABA)

## RESULTADOS

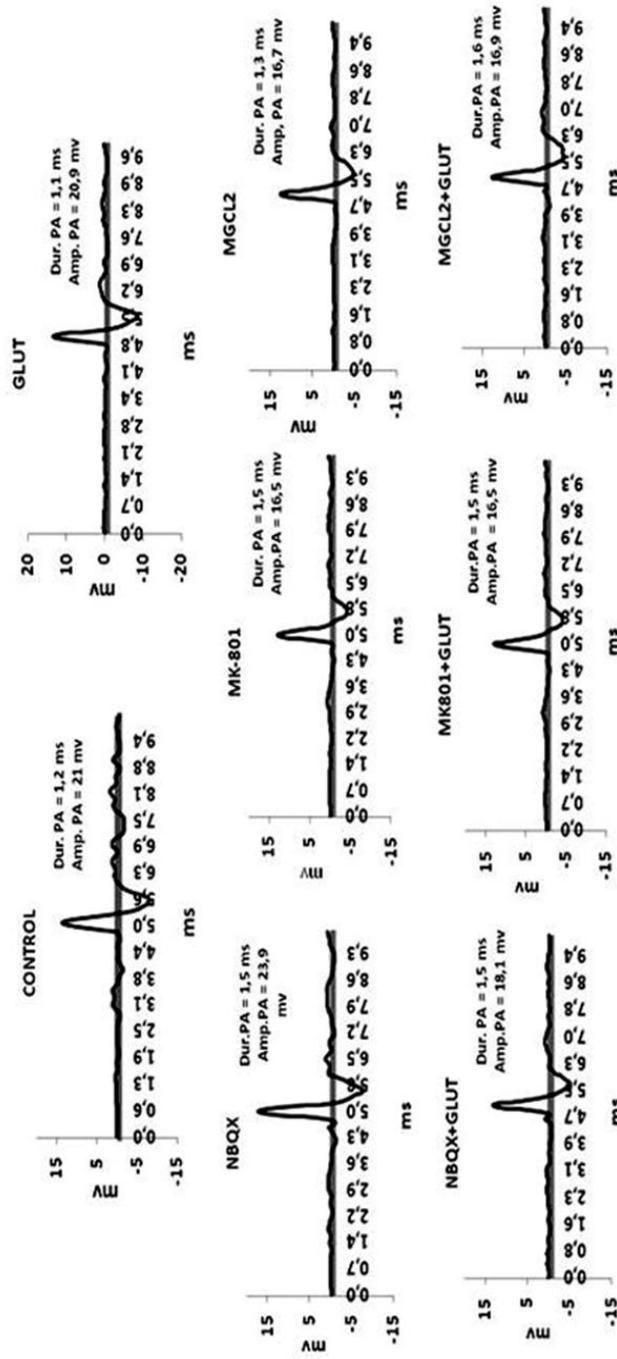


Fig. 22.- Representaciones de registros de Potenciales de Acción (Promedio) de neuronas del NTS en condiciones CONTROL, bajo la acción de GLUTAMATO, NBQX, MK-801, MgCl<sub>2</sub> y pretratamiento, microinyectados por microiontoforesis en el mismo núcleo de una rata espontáneamente hipertensa (SHR). En el cuadrante superior derecho de cada espiga se indica la Duración (ms) y la Amplitud pico a pico (mv).

## RESULTADOS

**TABLA XIV**

DURACION DEL Pot. A	CONTROL	GLUT	NBQX	MK-801	MgCl2	NBQX + GLUT	MK-801 + GLUT	MgCl2 + GLUT
$\bar{X} \pm SEM$	$1,3 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,1$	$1,3 \pm 0,1$					
N	10	10	10	10	10	10	10	10

Efectos de la microinyección por microiontoforesis de GLUTAMATO (GLUT), NBQX, MK-801, MgCl2 y pretratamiento, sobre la duración (promedio (ms)  $\pm$  SEM) de diez (10) potenciales de acción registrados en el NTS de ratas espontáneamente hipertensas (SHR).

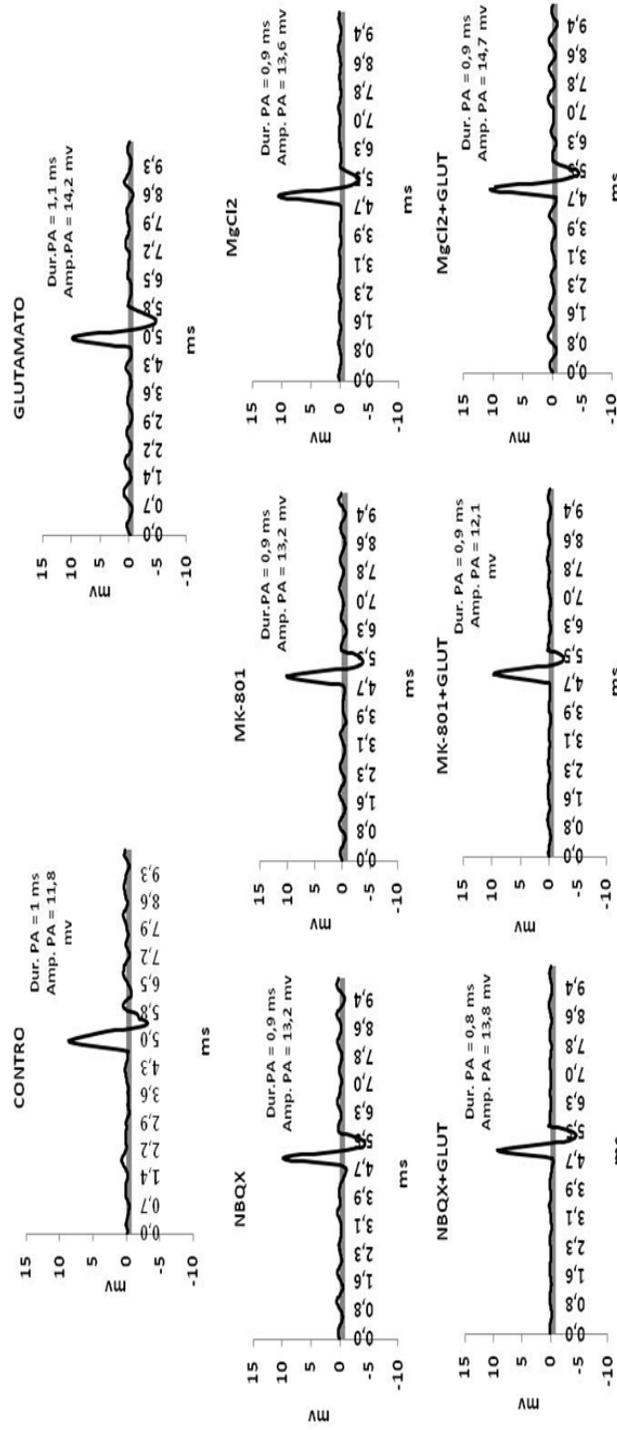
## RESULTADOS

**TABLA XV**

AMPLITUD DEL Pot. A	CONTROL	GLUT	NBQX	MK-801	MgCl2	NBQX + GLUT	MK-801 + GLUT	MgCl2 + GLUT
$\bar{X} \pm SEM$	17 ± 0,1	20 ± 0,1	22 ± 1,8 (*)	21 ± 1 (*)	20 ± 1,6	18 ± 0,3	20 ± 1	20 ± 0,9
N	10	10	10	10	10	10	10	10

Efectos de la microinyección por microiontoforesis de GLUTAMATO (GLUT), NBQX, MK-801, MgCl2 y pretratamiento, sobre la amplitud (promedio (mv) ± SEM) de diez (10) potenciales de acción registrados en el NTS de ratas espontáneamente hipertensas (SHR). Nivel de significación \* p < 0,05.

## RESULTADOS



**Fig. 23.- Representaciones de registros de Potenciales de Acción (Promedio) de neuronas del NTS en condiciones CONTROL, bajo la acción de GLUTAMATO, NBQX, MK-801, MgCl<sub>2</sub> y pretratamiento, microinyectados por microiontoforesis en el mismo núcleo de una rata normotensa (Sprague-Dawley). En el cuadrante superior derecho de cada espiga se indica la Duración (ms) y la Amplitud pico a pico (mV).**

## RESULTADOS

**TABLA XVI**

DURACION DEL Pot. A	CONTROL	GLUT	NBQX	MK-801	MgCl2	NBQX + GLUT	MK-801 + GLUT	MgCl2 + GLUT
$\bar{X} \pm \text{SEM}$	1,9 ± 0,2	1,7 ± 0,2	1,1 ± 0,1(*)	1,4 ± 0,2	1,4 ± 0,3	1,1 ± 0,1(†)	1,5 ± 0,3	1,7 ± 0,3
N	15	15	10	13	6	9	10	9

Efectos de la microinyección por microiontoforesis de GLUTAMATO (GLUT), NBQX, MK-801, MgCl2 y pretratamiento, sobre la duración (promedio (ms) ± SEM) de diez (10) potenciales de acción registrados en el NTS de ratas normotensas (Sprague-Dawley). Nivel de significación \* p < 0,05 Control vs NBQX; † p < 0,05 GLUT vs (NBQX + GLUT)

## RESULTADOS

**TABLA XVII**

AMPLITUD DEL Pot. A	CONTROL	GLUT	NBQX	MK-801	MgCl2	NBQX + GLUT	MK-801 + GLUT	MgCl2 + GLUT
$\bar{X} \pm SEM$	$20 \pm 1$	$19 \pm 1$	$17 \pm 1 (*)$	$20 \pm 1$	$17 \pm 2$	$19 \pm 2$	$14 \pm 3$	$18 \pm 1$
N	15	15	10	13	6	9	14	9

Efectos de la microinyección por microiontoforesis de GLUTAMATO (GLUT), NBQX, MK-801, MgCl2 y pretratamiento, sobre la amplitud (promedio (mv)  $\pm$  SEM) de potenciales de acción registrados en el NTS de ratas normotensas (Sprague-Dawley). Nivel de significación \*  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

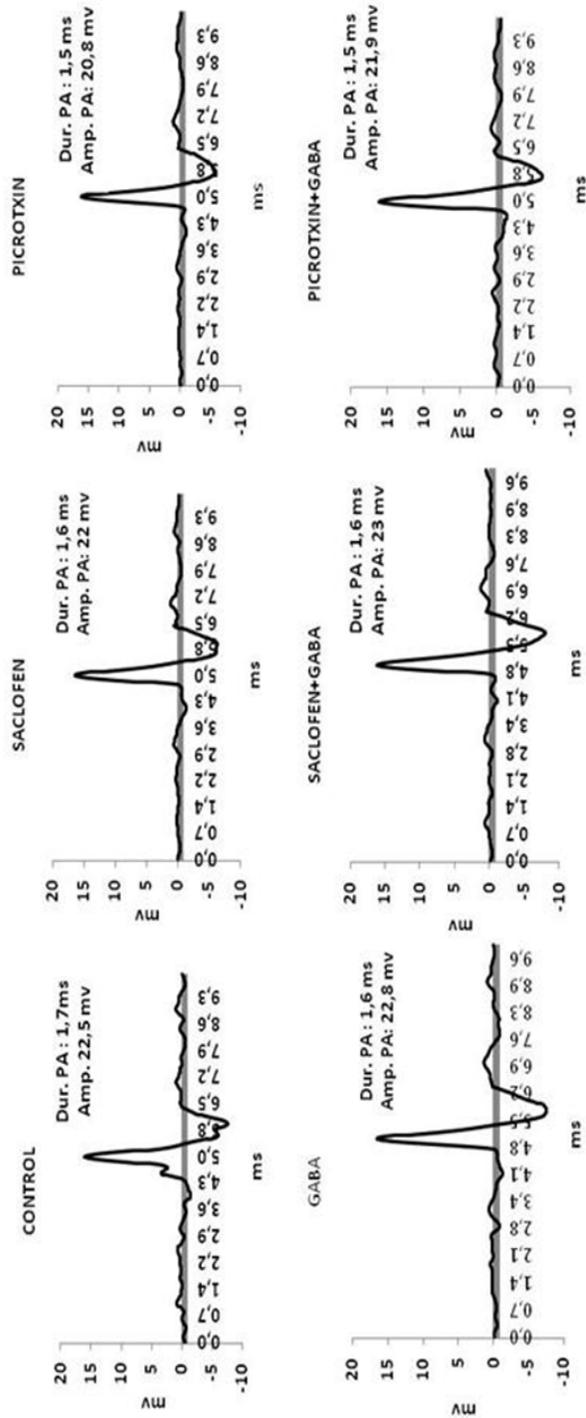


Fig. 24.- Representaciones de registros de Potenciales de Acción (Promedio) de neuronas del NTS en condiciones CONTROL, bajo la acción de GABA, PICROTOXINA, SACLOFEN y pretratamiento, microinyectados por microiontoforesis en el mismo núcleo de una rata hipertensa (SHR). En el cuadrante superior derecho de cada espiga se indica la Duración (ms) y la Amplitud pico a pico (mv).

## RESULTADOS

**TABLA XVIII**

DURACION DE Pot. A	CONTROL	GABA	PICROT	SACLOF	PICROT + GABA	SACLOF + GABA
$\bar{X} \pm SEM$	1,7 ± 0,1	1,6 ± 0,05	1,5 ± 0,1 (*)	1,6 ± 0,05	1,3 ± 0,09 (†)	1,7 ± 0,06
N	10	10	9	10	9	9

Efectos de la microinyección por microiontoforesis de GABA, PICROTOXINA (PICROT), SACLOFEN (SACLOF) y pretratamiento, sobre la duración (promedio (ms) ± SEM) de potenciales de acción registrados en el NTS de ratas espontáneamente hipertensas (SHR). Nivel de significación \* p < 0,05 CONTROL vs PICROT; † p < 0,05 GABA vs (PICROT+ GABA).

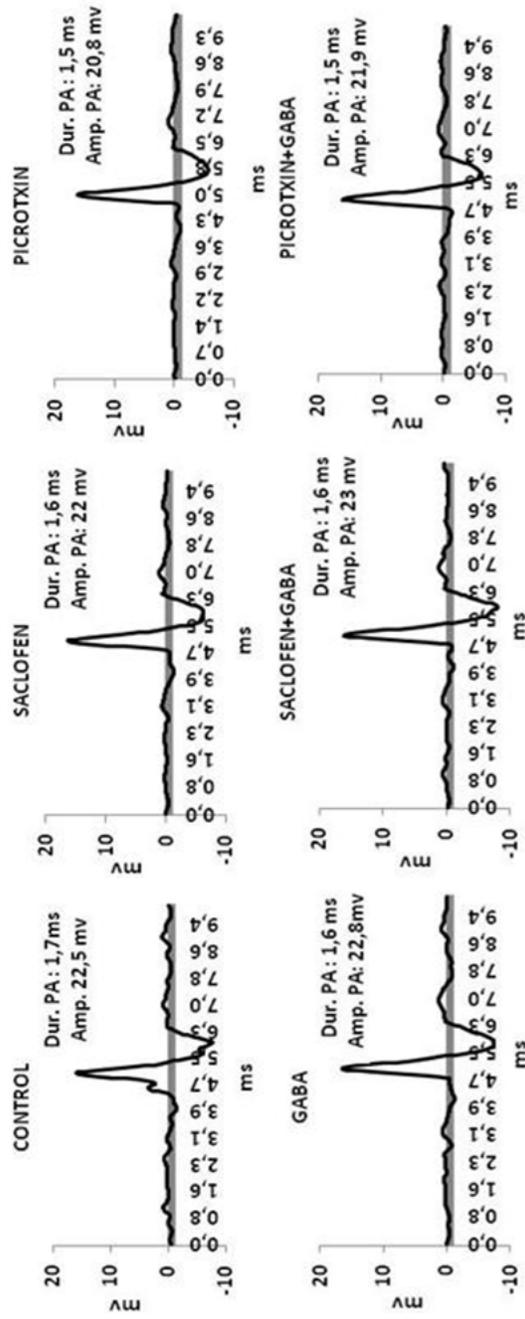
## RESULTADOS

**TABLA XIX**

AMPLITUD DE Pot. A	CONTROL	GABA	PICROT	SACLOF	PICROT + GABA	SACLOF + GABA
$\bar{X} \pm SEM$	21 ± 1,4	23 ± 0,7	24 ± 0,4	25 ± 0,8	23 ± 0,8 (*)	24 ± 0,8 (**)
N	10	10	9	10	9	9

Efectos de la microinyección por microiontoforesis de GABA, PICROTOXINA (PICROT), SACLOFEN (SACLOF) y pretratamiento, sobre la amplitud (promedio (ms) ± SEM) de potenciales de acción registrados en el NTS de ratas espontáneamente hipertensas (SHR). Nivel de significación \*\* p < 0,01 y \* p < 0,05; CONTROL vs ((PICROT, SACLOF) + GABA).

## RESULTADOS



**Fig. 25.- Representaciones de registros de Potenciales de Acción (Promedio) de neuronas del NTS en condiciones CONTROL, bajo la acción de GABA, PICROTOXINA, SACLOFEN y pretratamiento, microinyectados por microiontoforesis en el mismo núcleo de una rata normotensa (Sprague-Dawley). En el cuadrante superior derecho de cada espiga se indica la Duración (ms) y la Amplitud pico a pico (mV).**

## RESULTADOS

TABLA XX

DURACION DE Pot. A	CONTROL	GABA	PICROT	SACLOF	PICROT + GABA	SACLOF + GABA
$\bar{X} \pm \text{SEM}$	1,5 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,1	1,8 ± 0,1 (*)
N	15	14	15	15	10	9

Efectos de la microinyección por microiontoforesis de GABA, PICROTOXINA (PICROT), SACLOFEN (SACLOF) y pretratamiento, sobre la duración (promedio (ms) ± SEM) de potenciales de acción registrados en el NTS de ratas normotensas (Sprague-Dawley). Nivel de significación \*  $p < 0,05$  GABA vs (SACLOF + GABA).

## RESULTADOS

**TABLA XXI**

AMPLITUD DE Pot. A	CONTROL	GABA	PICROT	SACLOF	PICROT + GABA	SACLOF + GABA
$\bar{X} \pm SEM$	$16 \pm 0,9$	$15 \pm 0,8$	$15 \pm 0,7$	$14 \pm 0,6$	$16 \pm 0,6 (*)$	$16 \pm 0,6 (**)$
N	15	14	15	15	10	9

Efectos de la microinyección por microiontoforesis de GABA, PICROTOXINA (PICROT), SACLOFEN (SACLOF) y pretratamiento, sobre la amplitud (promedio  $\pm$  SEM) de potenciales de acción registrados en el NTS de ratas normotensas (Sprague-Dawley). Nivel de significación \*\*  $p < 0,01$  y \*  $p < 0,05$ ; GABA vs ((PICROT, SACLOF) + GABA).

## RESULTADOS

**TABLA XXII**

VARIACION DE LA DURACION DE Pots. A. (SHR)	GLUT	NBQX	MK-801	MgCl2	NBQX+GLUT	MK-801 + GLUT	MgCl2 + GLUT
$\bar{x} \pm SEM$	5,1% ± 9,2%	8,3% ± 8,9% (*)	2,6% ± 8,8% (**)	2,1% ± 6,8%	3,7% ± 8,9% (++)	9,9% ± 8% (+++)	2,5% ± 8,4%
N	10	10	10	10	10	10	10
VARIACION DE LA DURACION DE Pots. A. (SPRAGUE-DAWLEY)							
$\bar{x} \pm SEM$	-10,7% ± 8,9%	-23,9% ± 10,2%	-37,9% ± 10,8%	-13,5% ± 12,3%	-35,9% ± 7,9%	-37,9% ± 10,8%	-4% ± 10,3%
N	15	10	15	6	9	15	9

Variación de la Duración (expresado en % , promedio ± SEM) de potenciales de acción (Pot.A), registrados en el NTS de ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley), por efecto de GLUTAMATO (GLUT), NBQX, MK-801, MgCl2 y pretratamiento (NBQX + GLUT; MK-801 + GLUT y MgCl2 + GLUT). Nivel de significación \*\* p < 0,01 y \* p < 0,05 CONTROL vs antagonistas; +++ p < 0,001 ++ p < 0,01 GLUT vs ((NBQX, MK-801) + GLUT).

## RESULTADOS

### TABLA XXIII

VARIACION DE LA AMPLITUD DE Pots. A. (SHR)	GLUT	NBQX	MK-801	MgCl2	NBQX+GLUT	MK-801 + GLUT	MgCl2 + GLUT
$\bar{x} \pm SEM$	5,1% $\pm$ 9,2% (***)	26,4% $\pm$ 12,2% (*)	24,7% $\pm$ 11% (**)	20,4% $\pm$ 12,3%	-5,7% $\pm$ 7,4%	2,2% $\pm$ 7,4%	3,5% $\pm$ 6,8%
N	10	10	10	10	10	10	10
VARIACION DE LA AMPLITUD DE Pots. A. (SPRAGUE-DAWLEY)							
$\bar{x} \pm SEM$	-7% $\pm$ 8,9%	-4,7% $\pm$ 4,1%	-1,9% $\pm$ 3,9%	-3% $\pm$ 5,9%	-23,5% $\pm$ 6,5% (††)	-2,7% $\pm$ 6,8%	16,7% $\pm$ 7%
N	15	10	13	6	9	10	10

Variación de la Amplitud (expresada en % , promedio  $\pm$  SEM) de potenciales de acción (Pots.A), registrados en el NTS de ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley), por efecto de GLUTAMATO (GLUT), NBQX, MK-801, MgCl2 y pretratamiento (NBQX + GLUT; MK-801 + GLUT y MgCl2 + GLUT). Nivel de significación \*\*\* p < 0,001 , \*\* p < 0,01 y \* p < 0,05 CONTROL vs GLUTAMATO Y antagonistas respectivamente; †† p < 0,01 GLUT vs ((NBQX, MK-801) + GLUT).

## RESULTADOS

**TABLA XXIV**

VARIACION DE LA DURACION DE Pots. A. (SHR)	GABA	PICROTOXINA	SACLOFEN	PICROTOXINA + GABA	SACLOFEN + GABA
$\bar{x} \pm SEM$	-10% $\pm$ 4%	-8% $\pm$ 4%	-9% $\pm$ 3%	-19% $\pm$ 8%	-8% $\pm$ 4%
N	9	8	9	8	8
VARIACION DE LA DURACION DE Pots. A. (SPRAGUE-DAWLEY)					
$\bar{x} \pm SEM$	-7% $\pm$ 8%	9% $\pm$ 15%	2% $\pm$ 12%	-3% $\pm$ 8%	1% $\pm$ 8%
N	13	8	13	9	13

**Variación de la Duración (expresado en % , promedio  $\pm$  SEM) de potenciales de acción (Pots. A), registrados en el NTS de ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley), por efecto de GABA, PICROTOXINA, SACLOFEN y pretratamiento ((PICROTOXINA + GABA; SACLOFEN + GABA).**

## RESULTADOS

TABLA XXV

VARIACION DE LA AMPLITUD DE POTS. A. (SHR)	GABA	PICROTOXINA	SACLOFEN	PICROTOXINA + GABA	SACLOFEN + GABA
$\bar{x} \pm SEM$	11% $\pm$ 10 %	17% $\pm$ 12 % (*)	20% $\pm$ 11 % (**)	-1% $\pm$ 2%	9% $\pm$ 6 %
N	9	8	9	8	8
VARIACION DE LA AMPLITUD DE POTS. A. (SPRAGUE-DAWLEY)					
$\bar{x} \pm SEM$	-8% $\pm$ 3 %	-9% $\pm$ 5%	-9% $\pm$ 4%	-2% $\pm$ 2%	4% $\pm$ 3%
N	13	8	13	9	13

Variación de la Amplitud (expresada en %, promedio  $\pm$  SEM) de potenciales de acción (Pots. A), registrados en el NTS de ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley), por efecto de GABA, PICROTOXINA, SACLOFEN y pretratamiento (PICROTOXINA +GABA; SACLOFEN+GABA). Nivel de significación \*\* p < 0,01 y \* p < 0,05 CONTROL vs SACLOFEN y PICROTOXINA respectivamente.



## RESULTADOS

### **1.- EFECTOS DEL GLUTAMATO Y DEL GABA SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL Y LA FRECUENCIA CARDIACA EN RATAS ESPONTÁNEAMENTE HIPERTENSAS (SHR) Y NORMOTENSAS (SPRAGUE-DAWLEY).**

La Tabla I muestra los valores de Presión Arterial (PA) y de Frecuencia Cardíaca (FC) registrados en grupos de ejemplares de las ratas normotensas y las SHR en condiciones basales. Se puede apreciar que la Presión Sistólica (PS) de los ejemplares de la cepa SHR fue significativamente ( $p < 0,05$ ) mayor que la correspondiente a los animales normotensos, este valor pudiera representar una característica distintiva de individuos de este grupo. Aunque no significativos pero mayores se apreciaron los valores correspondientes a la Presión Media (PM) y la FC en las SHR.

La figura 5, muestra un registro de las dos variables mencionadas en condiciones Control y luego bajo la acción de 3  $\mu$ l de Glutamato microinyectado en el NTS de una rata normotensa Sprague-Dawley, se puede apreciar una elevación de la Presión Arterial (PA) y poco cambio en la Frecuencia cardíaca (FC). Cuando se analizaron los valores reportados en la TABLA II de un grupo de 6 ejemplares de esta cepa, observamos que ocurrió una elevación significativa ( $p < 0,05$ ) de la Presión arterial Sistólica (PS) cuando se compararon con los valores controles; también se apreciaron tendencias al incremento en los otros valores de presión y en la FC. En la figura 6, se registraron igualmente la PA y FC de un ejemplar de la cepa SHR a la cual se administró la misma cantidad de Glutamato señalada, apreciándose que este neurotransmisor elevó la PA y produjo un ligero incremento de la FC. Al analizar los valores promedios reportados en la TABLA III de un grupo de 6 animales de la cepa SHR, podemos ver que las Presiones arteriales Sistólica (PS) y Diastólica (PD) presentaron incrementos significativos ( $p < 0,05$ ) y se observaron tendencia al incremento en la Presión media (PM) y la FC.

Cuando se realizó la microinyección 3 $\mu$ l de GABA en el NTS de ratas normotensas se observó que la PA y la FC disminuyeron, un registro de ambas variables de un ejemplar de esta cepa

se observa en la Figura 7. Al analizar la TABLA IV apreciamos que el efecto de este neurotransmisor se expresó por una disminución significativa de la PD ( $p < 0,05$ ) y se pudo ver que los valores de PM y la FC mostraron reducciones no significativas. Por otro lado, al producir la inyección del GABA en el NTS de ratas SHR, se apreció que la PA y la FC disminuyeron tal como se ve en los registros mostrados en la Figura 8. Al analizar la TABLA V en la cual se reportaron los tres valores de la PA y el de FC, apreciamos que el GABA produjo una disminución altamente significativa de la PS ( $p < 0,01$ ) y se apreciaron incrementos en los otros dos valores de PA y reducción de la FC, estos tres últimos cambios no fueron significativos.

## **2.- DISTRIBUCIÓN DE LAS RESPUESTAS (No.espigas/sg) CUANDO SE INCREMENTAN LAS DOSIS (10-125 nA) DE GLUTAMATO Y GABA ADMINISTRADO POR MICROIONTOFORESIS EN EL NTS DE LAS RATAS NORMOTENSAS (SPRAGUE-DAWLEY) Y LAS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSAS (SHR).**

La figura 9.- muestra un registro obtenido por el software Audition 1.5 de la actividad neuronal del NTS en una rata SHR, se puede apreciar como después de aplicar GLUTAMATO por microiontoforesis, la actividad neuronal se incrementó. La figura 10, representa la relación dosis vs respuesta, mediante histogramas de los cambios (a partir del estado basal) en la frecuencia de descarga de las neuronas del NTS en los dos grupos estudiados, cuando se incrementaron las dosis de corriente de eyección del neurotransmisor desde 10 nA hasta 125 nA. El histograma A, corresponde a las descargas promedio de neuronas barosensibles del NTS en las ratas Sprague-Dawley y el denominado con la letra B, corresponde a neuronas similares del mismo núcleo pero de las SHR. En el caso del histograma de las respuestas de neuronas en las ratas normotensas, las mismas se distribuyeron siguiendo un patrón gaussiano con una dosis de valor medio de 70 nA; mientras que en el caso de las neuronas de las SHR, los cambios de frecuencia tendieron a ser mayores con incrementos de las dosis por encima de 80 nA. Las figuras 11 y 12 muestran la relaciones

dosis vs respuestas mediante un Histograma de los cambios (a partir del estado basal) de la frecuencia de descarga de neuronas del NTS, bajo la microinyección mediante microiontoforesis de GABA en ejemplares hipertensos y normotensos respectivamente. En las SHR (fig. 11) el GABA microinyectado por microiontoforesis (entre 30 – 100 nA) en el NTS produjo una reducción de apreciable magnitud del número de espigas/sg. en las neuronas registradas de dicho núcleo. Por otro lado, en las normotensas (fig. 12) el GABA microinyectado en el mismo núcleo en el rango de dosis (50-100 nA), redujo en menor magnitud el número de espigas/sg, al compararse con los valores controles.

### **3.- EFECTO DEL GLUTAMATO Y ANTAGONISTAS GLUTAMATERGICOS INYECTADO POR MICROIONTOFORESIS SOBRE LA FRECUENCIA DE DESCARGA DE NEURONAS BAROSENSIBLES DEL NTS DE RATAS HIPERTENSAS (SHR) Y NORMOTENSAS (SPRAGUE-DAWLEY)**

La figura 13 muestra los valores (promedios  $\pm$  SEM) y los histogramas respectivamente de la frecuencia de descarga de unidades del NTS de ratas SHR en condiciones CONTROL y bajo la acción de las sustancias NBQX, MK-801 y el MgCl<sub>2</sub>, éste último como bloqueador del canal del receptor de Glutamato tipo NMDA. En la TABLA VI se puede apreciar que las tres sustancias redujeron significativamente la frecuencia de descarga con relación a la observada en el grupo CONTROL, siendo el efecto del NBQX de una significación  $p < 0,01$  y las de MK-801 y MgCl<sub>2</sub>  $p < 0,05$ .

La figura 14 se reportan los valores y el incremento significativo de frecuencia de descarga de las neuronas por efecto del Glutamato ( $p < 0,05$ ) y las acciones antagónicas estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) de las sustancias MK-801, NBQX y MgCl<sub>2</sub> microinyectados (antes que el Glutamato) por microiontoforesis en el NTS de ratas SHR. En la TABLA VII, al comparar el efecto de los antagonistas sobre la acción del Glutamato en la frecuencia de descarga de neuronas barosensibles del NTS, se observaron que los valores siguen la secuencia MK-

801≥NBQX>MgCl<sub>2</sub> en relación al efecto de ellos, cuando antagonizaron la acción del Glutamato.

La figura 15, muestra los histogramas de frecuencia de descarga (promedios ± SEM) de unidades del NTS en ratas Sprague-Dawley estudiadas en condiciones CONTROL y bajo la acción de las sustancias NBQX, MK-801 y el MgCl<sub>2</sub> empleado como bloqueador del canal del receptor a Glutamato tipo NMDA. En la TABLA VIII se puede apreciar que las tres sustancias redujeron significativamente la frecuencia de descarga neuronal en comparación a los valores del grupo CONTROL, siendo el efecto del MgCl<sub>2</sub> el de mayor significación ( $p < 0,01$ ) y el de las otras dos sustancias a nivel de  $p < 0,05$ .

La figura 16, muestra el incremento significativo de la frecuencia de descarga de las neuronas barosensibles del NTS por efecto del Glutamato ( $p < 0,05$ ) y las acciones antagonicas estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) de las sustancias MK-801, NBQX y MgCl<sub>2</sub> microinyectadas en el mismo núcleo de las ratas normotensas. En la TABLA IX se aprecia que los valores siguen la secuencia MK-80≥NBQX> MgCl<sub>2</sub> en relación a su efecto de antagonizar la acción del Glutamato exógeno.

#### **4.- EFECTO DEL GABA Y ANTAGONISTAS GABAERGICOS, INYECTADOS POR MICROIONTOFORESIS SOBRE LA FRECUENCIA DE DESCARGA DE NEURONAS BAROSENSIBLES DEL NTS DE LAS RATAS NORMOTENSAS (SPRAGUE-DAWLEY) E HIPERTENSAS (SHR).**

La figura 17.- muestra un registro de la actividad neuronal del NTS en una rata SHR, obtenido por el software Audition 1.5; se puede apreciar como después de aplicar GABA por microiontoforesis, la actividad neuronal se redujo.

La figura 18 representa los histogramas de la frecuencia de descarga (promedio ± SEM) de unidades del NTS de ratas SHR en condiciones CONTROL y bajo la acción de las sustancias PICROTOXINA y SACLOFEN microinyectados en el NTS, como antagonistas de los

receptores sensibles a GABA. En La TABLA X se apreció que las dos sustancias redujeron significativamente la frecuencia de descarga de las neuronas estudiadas en comparación a lo observado en el grupo CONTROL, a un nivel de  $p < 0,05$ ; siendo el efecto del SACLOFEN mayor que el de la PICROTOXINA al antagonizar el GABA de origen endógeno.

La figura 19, representa mediante un histograma el descenso significativo de la frecuencia de descarga de las neuronas barosensibles del NTS por efecto del GABA ( $p < 0,01$ ) y las acciones antagónicas estadísticamente significativas de las sustancias PICROTOXINA ( $p < 0,01$ ) y SACLOFEN ( $p < 0,05$ ) usadas en pre tratamiento de las neuronas del NTS previo a una segunda microinyección por microiontoforesis de GABA en dicho núcleo de ratas SHR. En la TABLA XI al analizar el efecto de los antagonistas sobre la acción del GABA en la frecuencia de descarga de neuronas barosensibles del NTS, los valores mostraron la secuencia, SACLOFEN>PICROTOXINA de acuerdo al efecto antagonizante contra el GABA exógeno.

La figura 20 muestra los valores (promedio  $\pm$  SEM) y los histogramas de frecuencia de descarga de unidades barosensibles del NTS en ratas Sprague-Dawley, en condiciones CONTROL y bajo la acción de las sustancias PICROTOXINA y SACLOFEN como bloqueadores de los receptores sensibles a GABA. Se puede apreciar que las dos sustancias redujeron significativamente la frecuencia de descarga en comparación a la del grupo CONTROL, a nivel de  $p < 0,05$ . En la TABLA XII se observa que es mayor el efecto del SACLOFEN en comparación al de PICROTOXINA cuando se estudia la acción antagonizante sobre el GABA endógeno, es decir se sigue la secuencia SACLOFEN > PICROTOXINA.

La figura 21, exhibe los valores (promedio  $\pm$  SEM) y se representa el descenso significativo de la frecuencia de descarga de las neuronas barosensibles del NTS por efecto del GABA ( $p < 0,01$ ) y las acciones antagónicas estadísticamente significativas de las sustancias PICROTOXINA ( $p < 0,01$ ) y SACLOFEN ( $p < 0,05$ ) en ratas Sprague-Dawley. En la TABLA XIII comparar el efecto de los antagonistas sobre la acción del GABA en la frecuencia de descarga de neuronas del NTS, los mismos siguieron la secuencia

PICROTOXINA >SACLOFEN al ser usados en pre tratamiento y en relación a su efecto de antagonizar la acción del GABA exógeno.

#### **5.- EFECTO DEL GLUTAMATO, NBQX, MK-801 Y EL MGCL2 SOBRE LA DURACIÓN Y LA AMPLITUD DE POTENCIALES DE ACCIÓN (Pots.A) DE NEURONAS DEL NTS EN RATAS HIPERTENSAS (SHR) Y NORMOTENSAS (SPRAGUE-DAWLEY)**

La figura 22 representa los Pots. A (incluyendo la DURACION y la AMPLITUD) pertenecientes a neuronas barosensibles del NTS en ratas SHR, en condiciones CONTROL y bajo la acción de GLUTAMATO (GLUT), NBQX, MK-801 y MgCl<sub>2</sub>; microinyectados por microiontoforesis en el NTS de un ejemplar de estas ratas.

En la TABLA XIV no se apreciaron variaciones en la duración de los Pots.A de neuronas barosensibles del NTS de ratas SHR en todos los grupos (GLUT, NBQX, MK-801 y MgCl<sub>2</sub>). Cuando se realizaron las prueba t de student para establecer diferencias significativas al comparar los valores promedios de duración de los Pots.A de los grupos con relación a los del grupo CONTROL e igualmente al comparar la duración promedio de los Pots.A de los grupos NBQX+GLUT, MK-801+GLUT y MgCl<sub>2</sub> + GLUT, contra la observada en el grupo GLUT, en ambos no encontramos diferencias significativas. Sin embargo, los primeros resultados pueden interpretarse considerando que los antagonistas (solos) microinyectados al NTS no produjeron efectos sobre el Glutamato endógeno que modifique la duración del Pots.A observada en el grupo CONTROL; mientras que los segundos muestran que el pre tratamiento con las mismas sustancias no tuvieron efecto sobre el Glutamato exógeno que se expresara por una variación de la duración del Pots.A observada en el grupo GLUT de ratas SHR.

Al observar los valores promedios de Amplitud del Pots.A de unidades barosensibles del NTS de ratas SHR en la TABLA XV, apreciamos una tendencia al incremento de la misma en los grupos que se les microinyectó GLUTAMATO y en los grupos de los antagonistas cuando la microinyección se realizó sin y con pre tratamiento. El incremento en la amplitud fue

estadísticamente significativo ( $p < 0,05$ ) en los grupos NBQX y MK-801 cuando se compararon con la amplitud observada en el grupo CONTROL. Por otro lado, el pretratamiento parece indicar una mayor participación de receptores sensibles a NBQX en comparación a los específicamente sensibles a MK-801, al antagonizar la acción del GLUTAMATO endógeno (NBQX>MK-801); el pretratamiento con NBQX, produjo (aunque no significativa) reducción de la amplitud del Pot.A. al compararlo con el efecto incrementador producido por el Glutamato en neuronas del NTS de ratas SHR.

En la figura 23 se representan los Pots. A (incluyendo la DURACION y la AMPLITUD) pertenecientes a neuronas barosensibles del NTS en ratas Sprague-Dawley, en condiciones CONTROL y bajo la acción de GLUTAMATO (GLUT), NBQX, MK-801 y MgCl<sub>2</sub>; microinyectados por microiontoforesis en el NTS de ejemplares de estas ratas normotensas.

Al observar los valores promedios de duración de los Pots.A de neuronas del NTS en ratas normotensas, TABLA XVI, apreciamos una tendencia a la reducción en todos los grupos si se comparan con los observados en el grupo CONTROL e igual si se comparan los valores del grupo GLUT con los de los grupos pre tratamiento. La reducción de la duración del Pots.A en el grupo NBQX fue estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) cuando se comparó con el valor reportado en el grupo CONTROL y la observada en el grupo NBQX+GLUT fue igualmente significativa ( $p < 0,05$ ) al cuando se compararon los valores con los del grupo GLUT. En las ratas Sprague-Dawley estudiadas fue bastante claro que el GLUTAMATO, tanto el basal como el exógeno, mediaban su acción sobre la duración de los Pots.A a través de receptores que son sensibles específicamente a NBQX en mayor grado que los sensibles a MK-801 y MgCl<sub>2</sub>; en este sentido siguieron la secuencia NBQX>MK-801>MgCl<sub>2</sub> al antagonizar la acción del GLUTAMATO.

En la TABLA XVII se reportan los valores promedio de las amplitudes de Pots.A de neuronas del NTS en ratas Sprague-Dawley, observándose una tendencia de reducción en las amplitudes en los grupos (GLUT, NBQX, MK-801 y MgCl<sub>2</sub>) cuando se compara con el grupo CONTROL; esta reducción es significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) en el grupo NBQX cuando se compara con los valores del grupo CONTROL. Este resultado indica que el

GLUTAMATO basal medió su acción sobre la amplitud de los Pots.A de neuronas del NTS en ratas normotensas, a través de receptores sensibles al NBQX primeramente, siguiendo la secuencia NBQX  $\geq$  MgCl<sub>2</sub>>MK-801. En el caso del GLUTAMATO exógeno, se apreció una tendencia a la reducción o mantenerse sin cambio, siguiendo el orden MK-801>MgCl<sub>2</sub>>NBQX cuando los valores de duración de los grupos de pre tratamiento (NBQX+GLUT, MK-801+GLUT y MgCl<sub>2</sub> + GLUT) se comparan con el valor observado en el grupo GLUT, tales cambios no fueron estadísticamente significativos.

Al integrar los resultados acerca del efecto del GLUTAMATO y sus antagonistas sobre la duración y la amplitud de Pots.A de neuronas del NTS en las ratas hipertensas (SHR) y normotensas, encontramos que el GLUTAMATO tiende a no cambiar la duración del Pots.A en las ratas hipertensas y disminuirla en las normotensas; mientras que en relación a la amplitud del Potencial, la aumenta en las SHR y en las ratas normotensas la reduce. Al considerar el efecto de los antagonistas sobre la duración de los Pots.A, se aprecia una tendencia a no producir cambios en las ratas SHR y de reducción en las ratas Sprague-Dawley estudiadas; por otro lado en cuanto a la amplitud la tendencia es a aumentar en las SHR y reducirla en las otras. En las ratas SHR, el NBQX es el antagonista del GLUTAMATO endógeno que produjo efectos significativos, aumentando la amplitud de los Pots. A, cuando se compararon con la observada en el grupo control ( $22 \text{ mv} \pm 1,8 \text{ mv} > 17 \text{ mv} \pm 0,1 \text{ mv}$ ;  $p < 0,05$ ) y reduciéndola para el caso del GLUTAMATO exógeno ( $18 \text{ mv} \pm 0,2 \text{ mv} < 20 \text{ mv} \pm 1,5 \text{ mv}$ ), este último resultado no fue significativo. En las ratas Sprague-Dawley estudiadas, el NBQX es el antagonista que bloquea la acción del GLUTAMATO, tanto el basal como el exógeno, produciendo una reducción significativa ( $1,1 \text{ ms} \pm 0,1 \text{ ms} < 1,9 \text{ ms} \pm 0,2 \text{ ms}$ ,  $P < 0,05$ ;  $1,1 \text{ ms} \pm 0,1 \text{ ms} < 1,7 \text{ ms} \pm 0,2 \text{ ms}$ ,  $p < 0,05$ ) de la duración del Potencial; mientras que en la amplitud, el NBQX antagonizó la acción del GLUTAMATO exógeno, reduciendo significativamente la amplitud ( $17 \text{ mv} \pm 1 \text{ mv} < 20 \text{ mv} \pm 1 \text{ mv}$ ;  $p < 0,05$ ).

## **6.- EFECTO DEL GABA, SACLOFEN Y PICROTOXINA SOBRE LA DURACIÓN Y LA AMPLITUD DE POTENCIALES DE ACCIÓN DE NEURONAS DEL NTS EN RATAS HIPERTENSAS (SHR) Y NORMOTENSAS (SPRAGUE-DAWLEY).**

En las figura 24 se representan los Potenciales de acción (Pots.A), incluyendo la DURACION y la AMPLITUD) de neuronas del NTS, CONTROL y bajo la acción de GABA, SACLOFEN y PICROTOXINA microinyectados por microiontoforesis en el NTS de ejemplares de la cepa SHR.

En la TABLA XVIII se observan los valores promedios de la duración de Potenciales de Acción de neuronas del NTS de ratas SHR en condiciones CONTROL y los que resultan de la acción del GABA exógeno y los antagonistas SACLOFEN (SACLOF) Y PICROTOXINA (PICROT), microinyectados por microiontoforesis, tanto simples sustancias como en tratamientos previo a una segunda aplicación de GABA. Tanto el GABA como los antagonistas en sus distintos modos de aplicación mostraron una tendencia a la disminución de la duración del Potencial. La duración promedio de los Pots.A, observada en el grupo GABA cuando se comparó con la observada en el grupo CONTROL mostró una reducción que no fue estadísticamente significativa. La duración promedio observada en el grupo PICTROT+GABA cuando se comparó con la observada en el grupo GABA fue significativamente menor ( $1,3 \pm 0,09 < 1,6 \pm 0,05$ ;  $p < 0,05$ ). Este último resultado, junto a la reducción no significativa de la duración del Potenciales de Acción, observada en el grupo PICROT, expresando el bloqueo del efecto del GABA basal, indicaría que la acción del GABA (tanto el basal como el exógeno) sobre la duración de los Pots.A, de estas neuronas del NTS en ratas SHR, parece ser mediada mayormente por receptores GABA del tipo GABAA sensibles específicamente a PRICOTOXINA.

La TABLA XIX reporta los valores promedio de la amplitud de los Pots.A del NTS además de los efectos del GABA y sus antagonistas, en ratas SHR. El GABA y sus antagonistas microinyectados solos y como pre tratamientos previo a una segunda aplicación de GABA, mostraron una tendencia al aumento de la amplitud de tales potenciales. La amplitud observada en el grupo GABA cuando se comparó con la del grupo CONTROL mostró un

aumento que no fue estadísticamente significativo. En el grupo SACLOF se observó un aumento en la amplitud de los Pots.A, cuando se comparó con lo reportado en el grupo CONTROL y tal cambio fue estadísticamente significativo ( $25\text{mv} \pm 0,8\text{mv} > 21\text{mv} \pm 1,4\text{mv}$ ;  $p < 0,01$ ). Igualmente en el grupo PICROT, se apreció un ligero incremento en la amplitud del Potencial de Acción cuando se comparó con lo registrado en el grupo CONTROL y ello también fue estadísticamente significativo ( $24\text{ mv} \pm 1\text{ mv} > 21\text{ mv} \pm 1,4\text{ mv}$ ;  $p < 0,05$ ). El grupo SACLOF mostró un aumento de la amplitud del Pots.A mayor que el reportado en el grupo PICROT, indicando que el efecto del GABA basal sobre la amplitud de los Potenciales de Acción de estas neuronas es mediado predominantemente por receptores del tipo GABAB que pueden ser específicamente bloqueados por SACLOFEN.

En la figura 25 se representan Pots.A, incluyendo la DURACION y la AMPLITUD de neuronas del NTS, control y bajo la acción de GABA, SACLOFEN y PICROTOXINA microinyectados por microiontoforesis en el NTS de ratas Sprague-Dawley.

La TABLA XX muestra los valores promedios de la duración de Pots.A de neuronas del NTS en ratas normotensas, en condiciones CONTROL, así como bajo los efectos del GABA y los antagonistas SACLOFEN y PICROTOXINA microinyectados solos o en pre tratamiento previo a una segunda microinyección de GABA en el NTS. Cuando se compararon los valores de duración de los grupos GABA, SACLOF y PICROT con los del grupo CONTROL y los del pre tratamiento con PICROTOXINA con el grupo GABA; todos mostraron una tendencia de reducción en la duración de los Pots.A estudiados, siendo el efecto del PICROTOXINA mayor que el de SACLOFEN, siguiendo el orden PICROTOXINA>SACLOFEN en antagonizar el GABA basal. Por otro lado, solo el pre tratamiento con SACLOFEN previo a la microinyección una segunda vez de GABA, mostró una elevación significativa de la duración del Pots.A ( $1,8 \pm 0,1 > 1,4 \pm 0,1$ ;  $p < 0,05$ ) cuando se compararon con el valor de duración observada en el grupo GABA, por lo que hubo una secuencia SACLOFEN>PICROTOXINA en antagonizar la acción del GABA exógeno. Este último efecto fue indicativo que el GABA exógeno ejerció su efecto sobre la duración del Pots. A de estas neuronas mayormente a través de los receptores GABAB y el basal mayormente lo hizo a través de los receptores GABAA

En la TABLA XXI, se muestran los valores promedios de las amplitudes de Pots.A de neuronas barosensibles del NTS de ratas Sprague-Dawley. Los valores promedios de las amplitudes de los potenciales en los grupos GABA, SACLOF y la PICROT mostraron tendencias a la reducción de las amplitudes. La amplitud en el grupo SACLOF cuando se compara con la observada en el grupo CONTROL exhibió la reducción mayor, aunque no fue estadísticamente significativa ( $14 \text{ mv} \pm 0,6 \text{ mv} < 16 \text{ mv} \pm 0,9 \text{ mv}$ ). Este resultado puede interpretarse considerando que el GABA basal ejerce su efecto en mayor grado mediante receptores del tipo GABAB, cuyo bloqueo por SACLOFEN y no por PICROTOXINA, originó una mayor reducción de la amplitud de los Pots.A estudiados; por otro lado el efecto del GABA exógeno también es completamente bloqueado por el SACLOFEN como se observa en el valor del grupo SACLOF+GABA; además los valores reportados en los grupos con el antagonista PICROTOXINA solo y como pretratamiento, muestran antagonismos a los efectos del GABA basal y el exógeno respectivamente, pero en menor magnitud, especialmente en caso del basal.

En resumen el GABA mostró una tendencia a reducir la duración de los Potenciales de Acción de NTS en ratas de las cepas SHR y SD; mientras que contribuyó a que la amplitud sea incrementada en las SHR y reducida en las SD. En las ratas SHR, las acciones del GABA basal y exógeno, sobre la duración del Pot. A, pareció ser dependiente más de receptores del tipo GABAA sensibles a PICROTOXINA; mientras que el incremento en la amplitud por el GABA basal, pareció ser dependiente de la activación de receptores tipo GABAB sensibles a SACLOFEN. En las ratas Sprague-Dawley, mediante la activación de receptores tipo GABAB sensibles a SACLOFEN, el GABA exógeno aumenta la duración de los Pots.A de neuronas del NTS, mientras que el basal media la reducción de la amplitud.

## **7.- DERIVACIÓN DE CRITERIOS PARA LA DIFERENCIACIÓN INTER GRUPOS, EN BASE A LAS ACCIONES DEL NEUROTRANSMISOR Y LA PARTICIPACION DE RECEPTORES. ANALISIS Y COMPARACION DE LOS EFECTOS DEL GLUTAMATO Y SUS ANTAGONISTAS SOBRE LA VARIACIÓN (EXPRESADO**

**EN %) DE LA DURACIÓN DE LOS POTENCIALES DE ACCIÓN (Pots.A) REGISTRADOS EN NEURONAS DEL NTS EN RATAS HIPERTENSAS (SHR) Y NORMOTENSAS (SPRAGUE-DAWLEY).**

Con el fin de derivar criterios con fundamento en las acciones del neurotransmisor y el orden de participación de sus receptores, que permitan diferenciar los dos grupos de ratas; los cambios en la duración de los Pots.A fueron expresados en % con relación a aquellas observadas en la condición CONTROL, así se consideraron los grupos de tratamiento GLUT, NBQX, MK-801 y MgCl<sub>2</sub>, en los casos de microinyección del GLUTAMATO o sus antagonistas solos, respectivamente. Igualmente, se consideraron los cambios en la duración de los Pots.A y se conformaron los grupos (NBQX+GLUT), (MK-801+GLUT), (MgCl<sub>2</sub>+GLUT), para los casos en los cuales se evaluaron los efectos del GLUTAMATO exógeno una vez realizado los pre-tratamientos con antagonistas y sus valores son expresados como % del valor obtenido al aplicarse el GLUTAMATO inicialmente.

En las TABLA XXII se expresan los valores (%) de duración de los Pots. A registrados en neuronas del NTS de las ratas estudiadas y los resultados del análisis estadístico de la comparación de los mismos. De los valores en los grupos de tratamientos con antagonistas, se estimaron las secuencias de participación de los receptores No-NMDA y NMDA sensibles a GLUTAMATO.

En las ratas hipertensas, al considerar la variación (%) de la duración de Pots.A de neuronas del NTS reportados en la TABLA XXII, apreciamos que los grupos de tratamiento GLUT, NBQX, MK-801 y MgCl<sub>2</sub>, reportan incrementos porcentuales en la duración de los Pots.A (  $5,1\% \pm 9,2\%$ ;  $8,3\% \pm 8,9\%$ ;  $2,6\% \pm 8,8\%$ ;  $2,1\% \pm 6,8\%$  ) respectivamente; también se observan incrementos para los grupos con pre-tratamiento (NBQX+GLUT), (MK-801+GLUT) y (MgCl<sub>2</sub>+GLUT) ( $3,7\% \pm 8,9\%$ ;  $9,9\% \pm 8,0\%$ ;  $2,5\% \pm 8,4\%$ ). Cuando los antagonistas se microinyectaron solos, la participación de los mismos siguió el orden NBQX>MK801>MgCl<sub>2</sub> ( $8,3\% \pm 8,9\% > 2,6\% \pm 8,8\% > 2,1\% \pm 6,8\%$ ), indicando el modo como se desarrolló la participación de los receptores (No-NMDA>NMDA), en la mediación de los efectos del GLUTAMATO basal sobre la duración de los Potenciales de acción

investigados. Por otro lado, cuando los antagonistas se aplicaron como pre tratamiento previo a la microinyección de GLUTAMATO, la acción de los antagonistas siguió el orden MK-801 > NBQX > MgCl<sub>2</sub> ( $9,9\% \pm 8,0\% > 3,7\% \pm 8,9\% > 2,5\% \pm 8,4\%$ ) indicando el modo como se ejecutó la participación de los receptores (NMDA> No-NMDA), en el desarrollo de los efectos del GLUTAMATO exógeno sobre la duración de los Potenciales de acción estudiados.

En las ratas normotensa, contrariamente a lo señalado para las SHR, de los valores reportados en la TABLA XXII apreciamos que los grupos de tratamiento GLUT, NBQX, MK-801 y MgCl<sub>2</sub>, muestran reducciones porcentuales en la duración de los Pots.A de neuronas del NTS ( $-10,7\% \pm 8,9\%$  ;  $-23,9\% \pm 10,2\%$  ;  $-37,9\% \pm 10,8\%$  ;  $-13,5\% \pm 12,3\%$ ) respectivamente e igualmente, reducciones para los casos de los grupos con pre-tratamiento (NBQX+GLUT), (MK-801+GLUT) y (MgCl<sub>2</sub>+GLUT) ( $-35,9\% \pm 7,9\%$  ;  $-37,9\% \pm 10,8\%$  ;  $-4,0\% \pm 10,3\%$  ). Cuando los antagonistas se microinyectaron solos, la participación de los mismos siguió el orden MK801>NBQX> MgCl<sub>2</sub> ( $-37,9\% \pm 10,8\% > -23,9\% \pm 10,2\% > -13,5\% \pm 12,3\%$ ), indicando el modo como se desarrolló la participación de los receptores (NMDA> No-NMDA), en la mediación de los efectos del GLUTAMATO basal sobre la duración de los Potenciales de acción investigados. Por otro lado, cuando los antagonistas se aplicaron como pre tratamiento previo a la microinyección de GLUTAMATO, la acción de los antagonistas siguió el orden MK901>NBQX>MgCl<sub>2</sub> ( $-37,9\% \pm 10,8\% > -35,9\% \pm 7,9\% > -4,0\% \pm 10,3\%$ ), indicando el modo como se ejecutó la participación de los receptores (NMDA> No-NMDA), en el desarrollo de los efectos del GLUTAMATO exógeno sobre la duración de los Potenciales de acción estudiados.

Los valores % expresados en los grupos donde se utiliza MgCl<sub>2</sub> como bloqueador del canal iónico del receptor NMDA, representan magnitudes relativamente baja con respecto a los valores en grupos donde se utilizaron sustancias que ejercen una acción antagonizante más específica sobre los receptores del Glutamato, ello pareciera indicar una baja proporción de receptores del tipo NMDA que sufrieron inactivación debido a este bloqueador y por ello, se consideró la secuencia de participación de los receptores NMDA o No NMDA, en base a las sustancias antagonistas específicas, en las dos cepas.

Resumiendo, en las ratas SHR, el GLUTAMATO microinyectado solo, produjo aumento porcentual de la duración de los Pots.A. El basal produjo aumento porcentual de la duración de los Pots.A, en este incremento, el orden de participación de los antagonistas fue NBQX>MK801>MgCl<sub>2</sub>. El exógeno produjo aumento porcentual de la duración de los Pots.A y los antagonistas siguieron el orden MK901>NBQX>MgCl<sub>2</sub>. En las ratas Sprague-Dawley estudiadas, el GLUTAMATO microinyectado solo, produjo una reducción porcentual en la duración de los Pot. A. El basal y el exógeno, produjeron reducciones porcentuales en la duración de los Pot. A, el orden de participación de los antagonistas fue MK-801>NBQX>MgCl<sub>2</sub>. El tipo de efecto (aumento o reducción) del GLUTAMATO exógeno o el basal, el cambio porcentual en la duración de los Pots.A y la secuencia de participación mediante la cual probablemente los receptores median el efecto del Glutamato, son tres características que pueden ser considerados para diferenciar las ratas SHR de las Sprague-Dawley estudiadas en base a este neurotransmisor. En las ratas SHR, el GLUTAMATO microinyectado solo, produce un aumento porcentual de la duración de los potenciales de acción estudiados, también el basal, mediante un orden de participación NBQX>MK801>MgCl<sub>2</sub>; igualmente el exógeno produjo aumento, siguiendo el orden MK901>NBQX>MgCl<sub>2</sub>. Por otro lado en las Sprague-Dawley (SD), el GLUTAMATO solo, basal y el exógeno produjo reducciones porcentuales en la duración de los potenciales de acción estudiados, siguiendo la participación de los receptores el orden MK-801>NBQX>MgCl<sub>2</sub>.

Aunque el GLUTAMATO microinyectado produce un aumento no significativo de la duración de los Pots.A registrados en el NTS de ratas SHR y una reducción en las normotensas, este efecto no se puede utilizar para diferenciar las ratas los animales estudiados.

Considerando el caso del GLUTAMATO basal, los resultados de incremento significativo en las hipertensas vs la reducción en las normotensas, observados al estudiar los efectos de este neurotransmisor basal sobre la variación porcentual de la duración de los Pots.A de las neuronas del NTS; se puede establecer un criterio de diferenciación entre las ratas estudiadas .

De tal manera que el GLUTAMATO basal contribuye al aumento significativo de la variación porcentual de la duración de los Pots.A, registrados en el NTS de ratas SHR .

Para el caso del GLUTAMATO exógeno, los resultados de tipo (incremento en las hipertensas y reducción en las normotensas) y la significación del cambio apreciado (mayor en las hipertensas que en las normotensas), además de la participación para los receptores (en las hipertensas, NMDA > No-NMDA), al estudiar los efectos sobre la duración de los Pots.A de las neuronas del NTS, en conjunto permiten establecer un criterio de diferenciación entre las ratas. De tal manera que el exógeno contribuye al aumento significativo de la duración de los Pots.A, registrados en el NTS de ratas hipertensas.

#### **8.- DERIVACION DE CRITERIOS PARA LA DIFERENCIACION INTER GRUPOS DE RATAS, EN BASE A LAS ACCIONES DEL NEUROTRANSMISOR Y LA PARTICIPACIÓN DE SUS RECEPTORES. ANALISIS Y COMPARACIÓN DE LOS EFECTOS DEL GLUTAMATO Y SUS ANTAGONISTAS SOBRE LA VARIACIÓN (EXPRESADA EN %) DE LA AMPLITUD DE LOS POTENCIALES DE ACCIÓN REGISTRADOS EN NEURONAS DEL NTS EN RATAS HIPERTENSAS (SHR) Y NORMOTENSAS (SPRAGUE-DAWLEY).**

Con el fin de derivar criterios estadísticos que permitan diferenciar los dos grupos de ratas, los cambios en la amplitud de los Pots.A fueron expresados en % en relación con aquellas observadas en la condición CONTROL; además se conformaron los grupos de tratamiento GLUT, NBQX, MK-801 y MgCl<sub>2</sub>-, en los casos de microinyección del GLUTAMATO o sus antagonistas solos, respectivamente. Igualmente, se estudiaron los cambios en la amplitud de los Pots.A y se conformaron los grupos de tratamiento (NBQX+GLUT), (MK-801+GLUT), (MgCl<sub>2</sub>+GLUT), para los casos en los cuales se evaluaron los efectos del GLUTAMATO exógeno una vez realizado los pre-tratamientos con antagonistas y sus valores son expresados como % del valor obtenido al aplicarse el GLUTAMATO inicialmente.

En la TABLA XXIII, se expresan la variación (%) de amplitud de los Pots. A de ratas normotensas e hipertensas y los resultados del análisis de significación estadística al realizar la comparación entre los mismos. De los valores en los grupos de tratamientos con antagonistas, se estimaron las secuencias de participación de los receptores No-NMDA y NMDA sensibles a GLUTAMATO.

En las ratas SHR, al considerar la variación (%) de la amplitud de Pots.A de neuronas del NTS reportados en la TABLA XXIII, apreciamos que los grupos de tratamiento GLUT, NBQX, MK-801 y MgCl<sub>2</sub>, reportan incrementos porcentuales en la amplitud de los Pots.A respectivamente; estos resultados son significativos cuando se comparan con los valores reportados en los grupos similares de las ratas SD ( $20,0\% \pm 1\%$  vs  $-7 \pm 4\%$ ,  $p < 0,001$ ;  $26,4\% \pm 12,2$  vs  $-4,7\% \pm 4,1\%$   $p < 0,05$ ;  $24,7\% \pm 11\%$  vs  $-1,9 \pm 3,9\%$ ,  $p < 0,01$ ); mientras que se reporta aumento aunque de manera no significativa en el grupo MgCl<sub>2</sub> ( $20,4\% \pm 12,3\%$  vs  $-3,0\% \pm 5,9\%$ ); también se observan incrementos no significativos para los grupos con pretratamiento (MgCl<sub>2</sub>+ GLUT), (MK-801+GLUT), ( $3,5\% \pm 6,8\%$ ;  $2,2\% \pm 7,4\%$ ) respectivamente y reducción para el grupo (NBQX+GLUT) ( $-5,7\% \pm 7,4\%$ ). Cuando los antagonistas se microinyectaron solos, la participación de los mismos siguió el orden NBQX>MK801>MgCl<sub>2</sub> ( $26,4\% \pm 1,0\% > 24,7\% \pm 11,0\% > 20,4\% \pm 12,3\%$ ), indicando el modo como se desarrolló la participación de los receptores (No-NMDA >NMDA), en la mediación de los efectos del GLUTAMATO basal sobre la amplitud de los Potenciales de acción investigados. Por otro lado, cuando los antagonistas se aplicaron como pretratamiento previo a la microinyección de GLUTAMATO, la acción de los antagonistas siguió el orden MgCl<sub>2</sub> > MK901 > NBQX ( $3,5\% \pm 6,8\% > 2,2\% \pm 7,4\% > -5,7\% \pm 7,4\%$ ) indicando el modo como se ejecutó la participación de los receptores (NMDA> No-NMDA), en el desarrollo de los efectos del GLUTAMATO exógeno.

En las ratas Sprague-Dawley estudiadas, contrariamente a lo señalado para las SHR, de los valores reportados en la TABLA XXIII, apreciamos que los grupos de tratamiento GLUT, NBQX, MK-801 y MgCl<sub>2</sub>, muestran reducciones porcentuales no significativas en la amplitud de los Pots.A de neuronas del NTS ( $-7,0\% \pm 4,0\%$ ;  $-4,7\% \pm 4,1\%$ ;  $-1,9\% \pm 3,9\%$ ;  $-3,0\% \pm$

5,9%) respectivamente y para los grupos con pre-tratamiento, aumento significativo para el grupo (NBQX+GLUT) ( $23,5\% \pm 6,5\%$  vs  $-5,7\% \pm 7,4\%$ ,  $p < 0,01$ ) y no significativo para los grupos (MK-801+GLUT), (MgCl<sub>2</sub>+GLUT) ( $2,7\% \pm 6,8\%$  ;  $16,7\% \pm 7,0\%$ ) cuando se comparan con los valores reportados para las ratas SHR. Cuando los antagonistas se microinyectaron solos, la participación de los mismos siguió el orden NBQX > MgCl<sub>2</sub> > MK801 ( $-4,7\% \pm 4,1\%$  >  $-3,0\% \pm 5,9\%$  >  $-1,9\% \pm 3,9\%$ ), indicando el modo como se desarrolló la participación de los receptores (NMDA > No-NMDA), en la mediación de los efectos del GLUTAMATO basal sobre la variación porcentual de la amplitud de los Potenciales de acción estudiados. Por otro lado, cuando los antagonistas se aplicaron como pre tratamiento previo a la microinyección de GLUTAMATO, la acción de los antagonistas siguió el orden NBQX > MgCl<sub>2</sub> > MK901 ( $23,5\% \pm 6,5\%$  >  $16,7\% \pm 7,0\%$  >  $2,7\% \pm 6,8\%$ ), indicando el modo como se ejecutó la participación de los receptores (No-NMDA > NMDA), en el desarrollo de los efectos del GLUTAMATO exógeno.

Resumiendo, en las ratas SHR, el GLUTAMATO microinyectado solo, produjo un aumento porcentual significativo de la amplitud de los Pots.A al compararse con el valor reportado en el grupo similar de las ratas normotensas. El GLUTAMATO basal, produjo también un aumento porcentual significativo de la amplitud de los Pots.A al compararse con los valores reportados en los grupo similares en las ratas Sprague-Dawley estudiadas ; en este incremento, el orden de participación de los antagonistas fue NBQX>MK801>MgCl<sub>2</sub>. El efecto del GLUTAMATO exógeno se apreció con un menor aumento en la amplitud e inclusive reducción ( $3,5\% \pm 6,8\%$  >  $2,2\% \pm 7,4\%$  y  $-5,7\% \pm 7,4\%$ ) y el orden seguido por los antagonistas en su accionar fue MgCl<sub>2</sub>>MK-801>NBQX. En las ratas Sprague-Dawley , el GLUTAMATO microinyectado solo, produjo una reducción porcentual en la amplitud de los Pots. A. El basal, produjo una reducción porcentual en la amplitud de los Pots. A y además sus efectos fueron antagonizados siguiendo el orden MK-801>NBQX>MgCl<sub>2</sub>; sin embargo el efecto del exógeno se apreció con un aumento significativo en la amplitud en el grupo (NBQX+GLUT), cuando se compara con el valor reportado en el grupo similar en las ratas hipertensas; mientras que los antagonistas ejercieron su acción siguiendo el orden NBQX > MgCl<sub>2</sub> > MK-801.

En la TABLA XXIII se reportan las variaciones porcentuales en la amplitud de los Pots. A de neuronas del NTS de ratas SHR y SD, debido a la acción del GLUTAMATO microinyectado (grupo GLUT); se apreció que en las ratas SHR, esta sustancia produjo un aumento ( $20,0\% \pm 1\%$ ) y en las ratas Sprague-Dawley una reducción porcentual ( $-7,0\% \pm 4\%$ ) en la amplitud de los Pots.A; cuando se realizó el análisis estadístico de estos cambios, para este grupo de tratamiento en cada grupo de ratas, se encontró que los mismos fueron estadísticamente significativos ( $p < 0,001$ ), por ello, permite formular un criterio que contribuye a diferenciar los dos grupos de animales, considerando el efecto del GLUTAMATO microinyectado sobre la amplitud de los Pots.A estudiados. De tal manera que el GLUTAMATO microinyectado produce un aumento significativo de la amplitud de los Pots.A, registrados en el NTS de ratas SHR.

Al revisar en la mencionada tabla, los efectos de los antagonistas sobre el GLUTAMATO basal (grupos NBQX y MK-801), apreciamos al comparar y analizar estadísticamente las variaciones porcentuales en la amplitud de los Potenciales de Acción observadas en los grupos de tratamiento, la magnitud de los cambios en las ratas SHR fueron significativamente mayores que las reportadas para las ratas Sprague-Dawley ( $26,4\% \pm 1,0\%$  vs  $-4,7\% \pm 4,1\%$   $p < 0,05$ ;  $24,7\% \pm 11,0\%$  vs  $-1,9\% \pm 3,9\%$ ),  $p < 0,01$ ) al antagonizar el GLUTAMATO basal. Por otro lado, el orden de participación de los receptores en ratas SHR fue No-NMDA > NMDA y en las ratas Sprague-Dawley, No-NMDA > NMDA. Considerando el caso del GLUTAMATO basal, los resultados de tipo (incremento en las SHR y reducción en las normotensas), la significación del cambio apreciado (mayor en las SHR que en las normotensas), observados al estudiar los efectos de este neurotransmisor sobre la amplitud de los Pots.A de las neuronas del NTS; todos ellos permiten establecer un criterio de diferenciación entre las SHR y las normotensas. De tal manera que el GLUTAMATO basal contribuye al aumento significativo de la amplitud de los Pots.A, registrados en el NTS de ratas SHR.

Por otro lado, al considerar el GLUTAMATO exógeno (grupo (NBQX+GLUT), (MK-801+GLUT)), apreciamos que produjo una reducción en el primero y un aumento en el

segundo grupo de tratamiento, ambos porcentuales de la amplitud de los Pots.A en las ratas SHR; mientras que en ambos grupos de tratamiento se observaron aumentos porcentuales en las Sprague-Dawley; para el grupo de tratamiento (NBQX+GLUT) la magnitud del aumento en las normotensas fue significativamente mayor que la reducción reportada en las hipertensas; en el otro grupo de tratamiento no se observan diferencias significativas. Adicionalmente se observó que la acción de los antagonistas sigue el orden NBQX>MK-801, para antagonizar los efectos de este neurotransmisor en las normotensas, de ello se pudo inferir una secuencia probable de participación para los receptores igual a No-NMDA>NMDA. Para el caso del GLUTAMATO exógeno, los resultados de tipo (incremento en las Sprague-Dawley y reducción en las SHR) y la significación del cambio apreciado (mayor en las que en las SHR), además de la participación para los receptores (en las normotensas, No-NMDA>NMDA), al estudiar los efectos sobre la amplitud de los Pots.A de las neuronas del NTS, todos en conjunto permiten establecer un criterio de diferenciación entre las SHR y normotensas. El GLUTAMATO exógeno contribuye al aumento significativo de la amplitud de los Pots.A, registrados en el NTS de ratas normotensas.

En la misma tabla, al considerar los grupos MgCl<sub>2</sub> y (MgCl<sub>2</sub>+GLUT), apreciamos los efectos del MgCl<sub>2</sub> al bloquear el efecto del Glutamato basal y el microinyectado o exógeno, sobre la variación porcentual de la amplitud de los Potenciales de Acción de neuronas del NTS registrados en los dos grupos de ratas estudiadas. Esta sal microinyectada sola (grupo MgCl<sub>2</sub>) al bloquear el efecto del Glutamato basal, produjo un aumento porcentual en la amplitud de los Pots.A estudiados en las ratas SHR (20,4% ± 12,2%) y una reducción en las Sprague-Dawley (-3,0% ± 5,9%); estos cambios no fueron estadísticamente significativos, por ello, no son de utilidad para formular un criterio que permita diferenciar las ratas hipertensas de las normotensas, considerando este agente potencial modificador de las acciones del GLUTAMATO basal.

Por otro lado, cuando el MgCl<sub>2</sub> se utiliza en pre tratamiento (grupo de tratamiento (MgCl<sub>2</sub>+GLUT)), se aprecian incrementos en la variación porcentual de la amplitud de los Pots.A estudiados, sin embargo, estos cambios no fueron estadísticamente significativos;

pueden interpretarse como un efecto de bloqueo del canal iónico de los receptores a GLUTAMATO tipo NMDA, siendo mayor en las ratas normotensas ( $16,7\% \pm 7\%$ ) en comparación con las SHR ( $3,5\% \pm 6,8$ ), estos resultados no son de utilidad para formular un criterio que permita diferenciar las ratas estudiadas, considerando este agente modificador de las acciones del GLUTAMATO exógeno o microinyectado.

### **9.- DERIVACION DE CRITERIOS PARA LA DIFERENCIACION INTER GRUPOS DE RATAS, EN BASE A LAS ACCIONES DEL NEUROTRANSMISOR Y LA PARTICIPACION DE RECEPTORES. ANALISIS Y COMPARACION DE LOS EFECTOS DEL GABA, SACLOFEN Y PICROTOXINA SOBRE LA VARIACIÓN (EXPRESADA EN %) DE LA DURACIÓN DE POTENCIALES DE ACCIÓN REGISTRADOS EN NEURONAS DEL NTS EN RATAS HIPERTENSAS (SHR) Y NORMOTENSAS (SPRAGUE-DAWLEY).**

Con el fin de derivar criterios con fundamento en las acciones del neurotransmisor y el orden de participación de sus receptores, que permitan caracterizar las ratas estudiadas; los cambios en la duración de los Pots.A fueron expresados en % con relación a aquellas observadas en la condición CONTROL; además se conformaron los grupos de tratamiento GABA, PICROT y SACLOF, en los casos de microinyección del GLUTAMATO o sus antagonistas solos. Igualmente, se estudiaron los cambios en la duración de los Pots.A y se conformaron los grupos de tratamiento (PICROT+GABA) y (SACLOF+GABA, para los casos en los cuales se evaluaron los efectos del GABA exógeno una vez realizado los pre-tratamientos con antagonistas y sus valores son expresados como % del valor obtenido al aplicarse el GABA inicialmente.

En la TABLA XXIV, se expresan los valores (%) de los grupos y los resultados del análisis estadístico de la comparación entre los mismos. De los valores en los grupos de tratamientos con antagonistas, se estimaron las secuencias de participación de los receptores GABAA y GABAB.

En las ratas SHR, al considerar la variación (%) de la duración de Pots.A de neuronas del NTS reportados en la tabla anteriormente mencionada, apreciamos que los grupos de tratamiento GABA, PICROT y SACLOF, reportan reducciones porcentuales en la duración de los Pots.A ( $-10\% \pm 4\%$ ;  $-8\% \pm 6\%$ ;  $-9\% \pm 3\%$ ) respectivamente; también se observan decrementos ( $-19\% \pm 8\%$ ;  $-8\% \pm 9\%$ ) para los grupos con pre-tratamiento (PICROTOXINA+GABA) y (SACLOFEN+GABA) respectivamente. Cuando los antagonistas se microinyectaron solos, la participación de los mismos siguió el orden SACLOFEN > PICROTOXINA ( $-9\% \pm 3\% > -8\% \pm 6\%$ ), lo que permitió inferir GABAB > GABAA, orden como se desarrolló la participación de los receptores, en la mediación de los efectos del GABA basal, sobre la duración de los Potenciales de acción investigados. Por otro lado, cuando los antagonistas se aplicaron como pre tratamiento previo a la microinyección de GABA, la acción de los antagonistas siguió el orden PICROTOXINA > SACLOFEN ( $-19\% \pm 8\% > -8\% \pm 9\%$ ) lo que permitió inferir GABAA > GABAB, el orden como se ejecutó la participación de los receptores, en el desarrollo de los efectos del GABA exógeno sobre la duración de los mismos potenciales.

En las ratas Sprague-Dawley, contrariamente a lo señalado para las SHR, de los valores reportados en la ya mencionada tabla, apreciamos que el grupo GABA, muestra reducción ( $-7\% \pm 8\%$ ) en la duración de los Pots.A registrados de neuronas del NTS; mientras que en los grupos de tratamiento PICROT y SACLOF, se observaron incrementos ( $9\% \pm 15\%$ ;  $2\% \pm 12\%$ ) respectivamente, en la duración de los Pots.A registrados de neuronas del NTS. En los grupos con pre-tratamiento, apreciamos una reducción ( $-3\% \pm 11\%$ ) en el grupo (PICROT +GABA) y aumento ( $1\% \pm 7\%$ ) en el grupo (SACLOF+GABA) de la duración de los potenciales estudiados.

Cuando los antagonistas se microinyectaron solos, la participación de los mismos siguió el orden PICROTOXINA > SACLOFEN ( $9\% \pm 15\% > 2\% \pm 15\%$ ) lo que permitir inferir el modo como se desarrolló la intervención de los receptores (GABAA > GABAB), en la mediación de los efectos del GABA basal sobre la duración. Por otro lado, cuando los antagonistas se aplicaron como pre tratamiento previo a la microinyección de GABA, la

acción de la PICROTOXINA produjo una reducción, mientras que el SACLOFEN ocasionó un incremento en la duración de los Pots. A registrados. Considerando la magnitud de los cambios, un orden sería PICROTOXINA>SACLOFEN, lo que permitió inferir GABAA > GABAB como el orden de intervención de los receptores en el desarrollo de los efectos del GABA exógeno sobre la duración de los potenciales estudiados.

Resumiendo, en las ratas SHR, el GABA microinyectado solo, produjo una reducción porcentual de la duración de los Pots.A. El basal, produjo una reducción porcentual de la duración de los Pots.A, en esta reducción, el orden de participación de los antagonistas al antagonizar el efecto del neurotransmisor fue SACLOFEN>PICROTOXINA de lo cual se infiere el orden de los receptores como GABAB>GABAA; por otro lado, siguieron el orden PICROTOXINA> SACLOFEN para antagonizar el efecto del GABA exógeno, por lo cual el orden de los receptores fue el opuesto, GABAA>GABAB. En las ratas Sprague-Dawley, el GABA microinyectado solo, produjo una reducción porcentual de la duración de los Pots.A. El basal, produjo un aumento porcentual en la duración de los Pot. A, y el orden de participación de los antagonistas fue PICROTOXINA > SACLOFEN para antagonizar los efectos del neurotransmisor, de lo cual se derivó el orden de participación de receptores GABAA > GABAB. En cuanto al GABA exógeno, los pre tratamientos, ocasionaron efectos opuestos, el pre tratamiento con PICROTOXINA produjo una reducción y el de SACLOFEN un incremento en la duración de los Pots. A registrados; al comparar la magnitud de ambos, se podría sostener el siguiente orden PICROTOXINA > SACLOFEN y derivar el mismo orden de participación de receptores.

El tipo de efecto (aumento o reducción de la duración) del GABA microinyectado o el basal, la magnitud del cambio porcentual de los Pots.A y la secuencia de participación mediante la cual probablemente los receptores median el efecto del GABA, son tres características que pueden ser considerados para singularizar las ratas SHR y las Sprague-Dawley.

En la TABLA XXIV se reportan las variaciones porcentuales en la duración de Potenciales de Acción de neuronas del NTS de ratas SHR y normotensas, debido a la acción del GABA microinyectado (grupo GABA); se apreció que en las ratas SHR, esta sustancia produjo una

reducción porcentual ( $-10\%5\pm 4\%$ ) e igualmente en las normotensas ( $-7\% \pm 8\%$ ) en cuanto a la duración de los Pots.A; cuando se realizó la comparación y el análisis estadístico de estos cambios, para este grupo de tratamiento, los mismos no fueron estadísticamente significativos, por ello no fueron de utilidad para formular un criterio.

Al atender en la mencionada tabla, los efectos de los antagonistas sobre el GABA basal (grupos PICROT y SACLOF), apreciamos al comparar y analizar estadísticamente las variaciones porcentuales en la duración de los Potenciales de Acción observadas en los grupos de tratamiento, que la magnitud de los cambios no fueron estadísticamente significativos, por ello no sirvieron de fundamento para formular un criterio

Por otro lado, al considerar el GABA exógeno y analizar los grupos de tratamiento (PICROT+GABA) y (SACLOF+GABA), apreciamos que se produjo una reducción porcentual de la duración de los Pots.A en las ratas hipertensas y un aumento en las normotensas; la magnitud de la reducción en las primeras no fue significativamente mayor que el aumento reportado en las segundas. Aunque se observó que la acción de los antagonistas sigue secuencias opuestas, para antagonizar los efectos de este neurotransmisor en los grupos estudiados. Los resultados no fueron considerados de utilidad para formular un criterio.

#### **10.- DERIVACION DE CRITERIOS PARA LA DIFERENCIACION INTER GRUPO DE RATAS, EN BASE A LAS ACCIONES DEL NEUROTRANSMISOR Y EL PAPEL DE SUS RECEPTORES. ANALISIS Y COMPARACION DE LOS EFECTOS DEL GABA, SACLOFEN Y PICROTOXIN SOBRE LA VARIACIÓN (EXPRESADA EN %) DE LA AMPLITUD DE LOS POTENCIALES DE ACCIÓN (Pots. A) DE NEURONAS DEL NTS EN RATAS HIPERTENSAS (SHR) Y NORMOTENSAS (SPRAGUE-DAWLEY).**

Con el fin de derivar criterios con fundamento en las acciones del neurotransmisor y el orden de participación de sus receptores, que permitan caracterizar los dos grupos de ratas estudiados; los cambios en la amplitud de los Pots.A fueron expresados en % con relación

aquellas observadas en la condición CONTROL en el caso de microinyección del GABA (grupo GABA); además se conformaron los grupos de tratamiento PICROT y SACLOF, en los casos de microinyección de los antagonistas solos. Igualmente, se conformaron los grupos de tratamiento (PICROT + GABA), (SACLOF + GABA), para los casos en los cuales se evaluaron los efectos del GABA exógeno una vez realizado los pre-tratamientos con antagonistas y sus valores son expresados como % del valor obtenido al aplicarse el GABA inicialmente. En la TABLA XXV, se expresaron los valores (%) de los grupos de tratamiento y grupo de ratas, además de los resultados del análisis estadístico de sus comparaciones. De los valores en los grupos de tratamientos con antagonistas, se estimaron las secuencias de participación de los receptores GABAA y GABAB.

En las ratas SHR, al considerar la variación (%) de la amplitud de los Pots.A de neuronas del NTS reportados en la ya señalada, apreciamos aumento no significativo en el grupo GABA ( $11\% \pm 10\%$ ) mientras que en los grupos de tratamiento, PICROT y SACLOF, se reportan aumentos porcentuales significativos en la amplitud de los Pots.A ( $17\% \pm 12\%$   $p < 0,05$ ;  $20\% \pm 11\%$   $p < 0,01$ ) respectivamente; también se observan aumentos para (SACLOF+GABA) ( $9\% \pm 6\%$ ) y reducción para (PICROT+GABA) ( $-1\% \pm 2\%$ ), grupos de pre tratamiento. Cuando los antagonistas se microinyectaron solos, la participación de los mismos siguió el orden SACLOFEN > PICROTOXINA ( $20\% \pm 11\% > 17\% \pm 12\%$ ), lo que permitió inferir GABAB > GABAA, el orden como se desarrolló la participación de los receptores, en la mediación de los efectos del GABA basal, sobre la variación (%) de la amplitud de los Potenciales de acción investigados. Por otro lado, cuando los antagonistas se aplicaron como pre tratamiento previo a la microinyección de GABA, las efectos de los antagonistas fueron opuestos, sin embargo la magnitud del aumento ( $9\% \pm 6\%$ ) observado para el grupo (SACLOF +GABA) fue mayor que la reducción ( $-1\% \pm 2\%$ ) reportado para el grupo (PICROT+GABA), por lo que se consideró el orden SACLOFEN>PICROTOXINA, lo que permitió inferir GABAB > GABAA, el orden como se ejecutó la participación de los receptores, en el desarrollo de los efectos del GABA exógeno sobre la amplitud de los Potenciales de acción estudiados.

En las ratas normotensas, contrariamente a lo señalado para las hipertensas, los valores reportados en la tabla ya indicada, apreciamos que el grupo GABA muestra reducción ( $-8\% \pm 3\%$ ) en la variación porcentual de la amplitud de los Pots.A registrados de neuronas del NTS; mientras que en los grupos de tratamiento PICROT y SACLOF, se observaron reducciones ( $-9\% \pm 5\%$ ;  $-9\% \pm 4\%$ ) respectivamente, en las variaciones estudiadas, de lo cual se derivó que ninguno de los receptores predominó en su participación en la acción del neurotransmisor basal. En los grupos con pre-tratamiento, apreciamos reducción ( $-2\% \pm 2\%$ ) en el grupo (PICROT +GABA) y aumento ( $4\% \pm 3\%$ ) en el grupo (SACLOF+GABA) en la variación de la amplitud estudiada, de lo cual se estableció un orden de participación de los receptores como GABAB > GABAA en la mediación de la acción de este neurotransmisor exógeno.

El tipo de efecto (aumento o reducción) del GABA microinyectado o el basal, el cambio porcentual en la duración de los Pots.A y la secuencia de participación mediante la cual probablemente los receptores median el efecto del GABA, son tres características que pueden ser considerados para identificar las ratas hipertensas y las Sprague-Dawley.

En la TABLA XXV se reportan las variaciones porcentuales en la amplitud de los Potenciales de Acción de neuronas del NTS de ratas SHR y normotensas, debido a la acción del GABA microinyectado (grupo GABA); se apreció que en las ratas SHR, esta sustancia produjo un aumento porcentual ( $11\% \pm 10\%$ ) y reducción en las ratas normotensas ( $-8\% \pm 3\%$ ) sobre la amplitud de los Pots.A; cuando se realizó la comparación y el análisis estadístico de estos cambios, para este grupo de tratamiento, los mismos no fueron estadísticamente significativos, por ello no fueron de utilidad para formular un criterio acción estudiados. Al atender en la mencionada tabla, los efectos de los antagonistas sobre el GABA basal (grupos PICROT y SACLOF); comparar y analizar estadísticamente las variaciones porcentuales en la amplitud de los Potenciales de Acción observadas en los grupos de tratamiento, apreciamos, que la magnitud de los aumentos en las ratas SHR fueron significativamente mayores a las reducciones observadas en las ratas normotensas ( $17\% \pm 12\%$  vs  $-9\% \pm 5\%$   $p < 0,05$ ;  $20\% \pm 11\%$  vs  $-9\% \pm 4\%$   $p < 0,01$ ). Por otro lado, el orden de participación de los receptores fue en las SHR, GABAB > GABAA y como GABAA  $\cong$  GABAB sin predominio de alguno en las

Sprague-Dawley.. Considerando el caso del GABA basal, los resultados de tipo (incremento en las SHR y reducción en las SD), la significación del cambio apreciado (mayor en las SHR que en las SD), observados al estudiar los efectos de este neurotransmisor sobre la amplitud de los Pots.A de las neuronas del NTS, así como la clara secuencia de participación de receptores en SHR (GABAB>GABAB); todos ellos permiten establecer criterios de particularización entre las ratas hipertensas y las normotensas. De esta manera el GABA basal contribuye al aumento significativo de la amplitud de los Pots.A, registrados en el NTS de ratas hipertensas. Por otro lado, a partir de lo observado para el GABA exógeno y del análisis del grupo de tratamiento (SACLOF+GABA), apreciamos que se produjo un aumento porcentual de la amplitud de los Pots.A en las ratas hipertensas y en las normotensas; sin embargo, la magnitud de los cambios no fueron significativos; al considerar el grupo (PICROT+GABA) apreciamos que se produjo una reducción porcentual de la duración, en los dos grupos de ratas estudiadas; aunque la magnitud de las reducciones no fueron significativa. Se observó que la acción de los antagonistas sigue la misma secuencia para antagonizar los efectos del neurotransmisor exógeno en ambos grupos de ratas. Los resultados considerados no son de utilidad para formular criterios que permitan calificar las ratas hipertensas y las normotensas, en base al efecto del GABA exógeno sobre la amplitud de los potenciales de acción estudiados.

## **11.- CORTE CEREBRAL E INDICACIÓN DE POSICIÓN DE LA PUNTA DEL ELECTRODO.**

La fig. 26 muestra la fotografía de un corte cerebral de una rata de la cual se obtuvieron registros de actividad neuronal del NTS; en la misma mediante una flecha blanca y una marca azul, se indica el lugar donde se localizó la punta del microelectrodo empleado para el registro y la aplicación por microiontoforesis de sustancias. Adicionalmente para mayor referencia se incorpora una representación de un corte coronal del cerebro de rata, perteneciente al Atlas cerebral (132), señalando el núcleo Intermedio del Tracto Solitario (Sol IM) y marcas de registros (triángulos negros).

## DISCUSION

### 1.- EFECTOS DEL GLUTAMATO Y GABA SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL Y LA FRECUENCIA CARDIACA EN RATAS ESPONTÁNEAMENTE HIPERTENSAS (SHR) Y NORMOTENSAS (SPRAGUE-DAWLEY).

La Tabla I muestra los valores de Presión Arterial (PA) y de Frecuencia Cardiaca (FC) registrados en condiciones basales, en ratas normotensas y las hipertensas; se puede apreciar que la Presión Sistólica (PS) en las hipertensas fue significativamente ( $p < 5\%$ ) mayor que la correspondiente a los animales normotensos estudiados, este valor pudiera representar una característica distintiva de las ratas hipertensas. Igualmente en las SHR, los valores de Presión Media (PM) y la FC registrados fueron mayores que los de las normotensas, pero los mismos no representaron alguna diferencia significativa.

Cuando se analizan los valores reportados en la TABLA II de un grupo de 6 ejemplares de ratas normotensas a los cuales se les microinyectó  $3\mu\text{l}$  de GLUTAMATO en el NTS, observamos que ocurrió una elevación significativa ( $p < 5\%$ ) de la PS, cuando se compararon con los valores controles; también se apreció una tendencia al incremento en los otros valores de presión y en la FC.

Al analizar los valores promedios reportados en la TABLA III de un grupo de 6 ratas hipertensas, a los cuales se les microinyectó GLUTAMATO en el NTS, se pudo observar en las Presiones arteriales PS y Diastólica (PD), que ocurrieron incrementos significativos ( $p < 5\%$ ) y además, una tendencia al incremento en la presión Media (PM) y de la frecuencia cardíaca (FC). Los datos reportados acerca del efecto de la inyección intranuclear de Glutamato en el NTS de ratas SHR, coinciden con lo reportado por otros investigadores (148). Nosotros reportamos en la TABLA II, que la inyección de Glutamato en el NTS de las ratas normotensas estudiadas, produjo aumento significativo de la PS ( $p < 0,05$ ) y una tendencia al incremento en los valores de PD y PM, así como de la FC; contrariamente los investigadores ya señalados (148) no reportaron cambio significativo alguno cuando realizaron la microinyección de este neurotransmisor en ratas normotensas.

En la TABLA IV, al analizar los valores de presión y frecuencia cardiaca de ratas normotensas, a las cuales se les microinyectó 3µl de GABA en el NTS, apreciamos una disminución significativa de la PD ( $p < 5\%$ ) y se pudo observar que los otros valores de presión y de la FC, no mostraron cambios significativos. Al analizar la TABLA V, en la cual se reportan los tres valores de la PA y el de FC en ratas hipertensas, a las cuales se les microinyectó 3µl de GABA en el NTS, apreciamos que el GABA produce una disminución altamente significativa ( $p < 1\%$ ) de la PS y una tendencia a la reducción en los otros dos valores de PA y la FC. Los datos relacionados con la disminución de la PA en las ratas SHR, coinciden con lo reportado por los investigadores ya mencionados (149); igual como lo señalamos para el caso del GLUTAMATO, reportamos un efecto depresor igual en ratas Sprague-Dawley, mientras que aquellos autores no lo hicieron. Es posible que la cantidad de los neurotransmisores representen uno de los factores que explicaría la diferencia en los reportes, dado que las inyecciones se realizaron incrementando la cantidad y el valor señalado se consideró apropiado por la posibilidad de reproducir los resultados en ambos grupos de animales, la mayor cantidad de los neurotransmisores permite una difusión mayor y quizás afectando las unidades cercanas y lejanas casi con la misma cantidad, unidades que participan de la activación simpática y otras que las inhiben; aunque no se reportan, se hicieron pruebas con CINA en los dos grupos de animales y no apreciamos efectos significativos sobre la presión arterial y la FC. Estos efectos pudiesen ser consecuencias de la activación de algún centro hipertensor en el núcleo estudiado; al respecto es necesario destacar que se han postulado en el NTS de ratas, la existencia de dos regiones que controlan la PA y la FC; una localizada en la región medial y dorsomedial responsable de que no ocurra una elevación de la presión arterial, cuya destrucción produce hipertensión y muerte; otra localizada en la región comisural la cual es responsable de la hipertensión observada en las ratas SHR (33).

## **2.- DISTRIBUCIÓN DE LAS RESPUESTAS (No de ESPIGAS/SG) CUANDO SE INCREMENTAN LAS DOSIS (10-125 NA) DE GLUTAMATO ADMINISTRADO POR MICROIONTOFORESIS EN EL NTS DE LAS RATAS NORMOTENSAS (SPRAGUE-DAWLEY) E HIPERTENSAS (SHR).**

En la figura 10 se reproduce la relación dosis-respuesta de las ratas normotensas e hipertensas, las cuales bajo la aplicación en el NTS de corrientes-dosis crecientes de GLUTAMATO siguen un patrón gaussiano, con valor medio de 70 nA en las normotensas y otro con valor medio superior a 70 nA en las hipertensas; estas curvas parecieran indicar la presencia de un mecanismo que limita la actividad de las neuronas barosensibles del NTS a la excitación excesiva en las ratas normotensas, por ello es probable que una elevada cantidad de un neurotransmisor excitador, que se le microinyecta por microiontoforesis a las neuronas del NTS en ratas normotensas pueda provocar que las mismas limiten su descarga a un valor máximo, incluso se inhibe la respuesta a altas dosis de GLUTAMATO; contrariamente, un comportamiento algo diferente, parece operar en las ratas SHR, donde a los incrementos del neurotransmisor aplicados se responde con incrementos mayores en la frecuencia de descarga de las neurona barosensibles del NTS. Patón y colaboradores (133), reportaron que un porcentaje elevado de las neuronas barosensibles del NTS, mostraban lo que ellos llamaron “Patrón adaptativo” en la frecuencia de descarga ante incrementos crecientes del estímulo baroreceptor; esto es, cuando se incrementó en forma de rampa la presión a nivel del seno carotídeo ipsilateral, se apreció un patrón de respuesta evocada en las neuronas barosensibles, que consistió de un incremento en amplitud y frecuencia de los potenciales postsinápticos excitatorios (EPSPs) o la frecuencia de potenciales de acción, a medida que la presión fue elevada; sin embargo, durante el desarrollo de la acción presora, la relación EPSPs/frecuencia de descarga, alcanzó un máximo y disminuyó, mientras la presión continuó incrementándose; posterior al cese de la estimulación barorreceptora el potencial de membrana se hiperpolarizó en  $5.0 \pm 1\text{mV}$  por debajo del potencial de membrana en reposo y hubo una reducción en la generación de los EPSPs nuevos, que transcurrió 10-15 sg; esto último se llamó “Hiperpolarización evocada”. El incremento en magnitud y frecuencia de los EPSPs, además de la frecuencia de los potenciales de acción, la hiperpolarización evocada, junto con una resistencia de entrada baja que convierte a la neurona inexcitable ante nuevos estímulos, pueden operar como mecanismos protectores en tales células barosensibles ante un exceso de estimulación barorreceptora (133). Contrariamente, las unidades (sensibles a cambios de

presión sanguínea) del NTS en ratas SHR parecen haber perdido alguno o todos estos mecanismos protectores o poseer una capacidad para soportar o adaptarse a una mayor y excesiva cantidad del agente excitante y así atenuar o compensar los efectos dañinos a la célula barosensible de este núcleo; es decir, nos atrevemos a especular que probablemente un potencial de membrana de reposo hiperpolarizado (quizás debido a una actividad aferente inhibitoria elevada) con relación al observado normalmente en ratas normotensas, que pueda aminorar los efectos de reducción de la resistencia de entrada, haciendo a las neuronas más factibles de responder a nuevos estímulos excitadores; además ello puede favorecer el aumento en magnitud y la frecuencia de los EPSP y la frecuencia de generación de los potenciales de acción, permitiendo un rango más amplio de respuestas ante el estímulo barorreceptor y una reducción de la hiperpolarización evocada post estimulación, todo lo cual contribuiría a la excitación de la célula barosensible, ante nuevos estímulos; de esta manera, en las ratas hipertensas, expuestas a un nivel elevado de excitación no pudieran mantener el mecanismo observado en las unidades barosensibles del NTS de las ratas normotensas. Al estudiar el grupo de animales hipertensos se puede reflexionar acerca de lo que inicia la hipertensión crónica; han sido reportados en el NTS de ratas convertidas en hipertensas mediante engrapado renal e igualmente en las SHR, niveles elevados de RNA mensajero de receptores GABAB (48, 168). La sensibilidad de los barorreceptores arteriales se altera en la hipertensión, de tal manera que el umbral del estímulo de presión necesario para evocar respuesta se eleva; así tenemos que el número absoluto de aferentes barorreceptores descargando a una dada presión se incrementa en la hipertensión crónica; en conejos hipertensos, el 91% de las fibras barorreceptoras aferentes mielinizadas y 28% de las nomielinizadas descargan al nivel de reposo de la presión arterial; en los conejos hipertensos crónicos, el 100% fibras barorreceptoras aferentes mielinizadas y 78% de las nomielinizadas responden al nivel hipertensivo de reposo de la presión arterial (76) lo que sugiere un gran incremento en la descarga aferente excitatoria hacia el NTS en los animales hipertensos crónicos como resultado del reclutamiento de fibras aferentes no mielinizadas. Se han reportado niveles reducidos del RNAm de la subunidad GABAA- $\alpha$ 1 en neuronas del NTS de ratas convertidas en hipertensas por engrapado renal, lo que sugiere que la reducida respuesta

mediada por los receptores GABAA observada en vivo y en vitro, puede ser el resultado de bajos niveles de estos receptores; esta reducción se pudo abolir por el corte de los nervios depresores del seno carotídeo y aórtico que eliminaba la información aferente al NTS antes que se desarrollara la hipertensión; interpretándose entonces, que la expresión baja de la subunidad en las neuronas barosensibles del NTS en hipertensión, es dependiente de la activación aferente barorreceptora en este núcleo (202). Por otro lado, si la descarga barorreceptora excitatoria aferente al NTS es elevada en Hipertensión, debería esperarse que las neuronas barosensibles de este núcleo descargaran de forma elevada, sin embargo, en las ratas hipertensas por engrapado renal, tal actividad no es diferente de las normales, lo cual supone que en hipertensión debe ocurrir un incremento de la inhibición mediada por receptores GABAB que limiten el impulso excitatorio a las unidades barosensibles del NTS (118). Sin embargo, se ha demostrado que la activación de receptores GABAB con Baclofen un agonista GABAB, no influye la endocitosis de los receptores en las neuronas del NTS (190, 52), mientras que aumenta la degradación por mecanismos independiente de endocitosis (52). Una posibilidad a considerar sería un aumento del flujo de Calcio a través de canales voltaje dependiente, fenómeno que se ha descrito en el NTS de ratas hipertensas (171), entonces se produciría aumento del Calcio intracelular y ello podría iniciar alteraciones en la expresión genética, lo cual influiría alguno de los mecanismos que alterarían la función de los receptores de GABA.

La figura 11 reproduce el efecto de la microinyección por iontoforesis de GABA en el NTS de las ratas SHR, lo cual produjo una marcada reducción de la frecuencia de descarga; este efecto pudiera estar relacionado con la presencia de un mayor número de receptores GABAB. La activación de estos receptores disminuye la conductancias de  $Ca^{+2}$  e incrementa la de  $K^{1+}$  en la membrana neuronal (67, 11) ambos efectos pudieron facilitar hiperpolarización y como consecuencia una reducción de la frecuencia de descarga de estas células barosensibles. Igualmente, los receptores GABAA por su incremento de la conductancia al ion  $Cl^-$ , permite que este pueda ingresar al interior celular y con ello también favorecer la hiperpolarización de la células estudiadas. Otras evidencias, permiten sostener las anteriores afirmaciones: Los receptores GABAB son del tipo metabotrópicos dependientes de la proteína G, ellos median

dos tipos de inhibición, la presináptica vía la reducción de la conductancia del ión calcio que ocasiona una disminución de la exocitosis del neurotransmisor dependiente de calcio; mientras que la postsináptica mediante un incremento de la conductancia del ión potasio lo que produce una hiperpolarización de la membrana postsináptica; en el NTS la inhibición se expresa predominantemente en neuronas que participan de la transmisión de señales de aferentes barorreceptores mediante la vía polisináptica y en muy reducido grado en aquellas que participan de la transmisión por vía monosináptica **(21, 199)**. La respuesta presora a la estimulación de receptores GABAB en el NTS mediante la microinyección de Baclofen (agonista GABAB) fue exagerada en las ratas SHR, mientras que la misma respuesta por estimulación de receptores GABAA por la microinyección de Muscimol (agonista GABAA) en el mismo núcleo, no se observó con tal exageración **(24)**. Han sido reportados niveles elevados de RNA mensajero de los receptores GABAB en el NTS de ratas SHR y ratas Sprague-Dawley convertidas en hipertensas (4 a 5 semanas) mediante engrapado renal **(49 )**; **(48), 168)**; sugiriendo que la hipertensión produce cambios dinámicos en los mecanismos dependientes de receptores al interior del NTS. En ratas Sprague-Dawley convertidas en hipertensas al ser tratadas con acetato de deoxycorticosterona y sal, así como en las SHR, la respuesta depresora producida por el bloqueo de receptores GABAB en el NTS mediante la inyección de CGP 35348 (antagonista GABAB) fue 75% mayor comparada con la observada en los controles, sugiriendo que la transmisión neural mediada por receptores GABAB en el NTS puede contribuir a la elevada presión observada en los modelos de hipertensión en animales **((182)**. En ratas convertidas en hipertensas por engrapado renal, el Baclofen (agonista GABAB) causa un aumento en la inhibición presináptica de la liberación de Glutamato desde aferentes barorreceptores a neuronas de 2do orden en el NTS; igualmente, causa un aumento en la respuesta inhibitoria postsináptica a través de la mediación de receptores GABAB en las mismas neuronas. **(203, 201)**, por lo que estos receptores parecen ser importantes en la generación de hipertensión.

Al considerar la curva dosis-respuesta expresando el efecto del GABA microinyectado por iontoforesis en el NTS de las ratas Sprague-Dawley y representado en la figura 12; se aprecia una reducción de la frecuencia de descarga en comparación a los controles (rango entre 50-100

nA), este efecto inhibitorio se apreció de una magnitud baja si se compara con lo observado en las ratas SHR; sin embargo, tal fenómeno puede interpretarse en el contexto de una inhibición presináptica y postsináptica, ésta última mediante hiperpolarización de las neuronas barosensibles del NTS por parte de este neurotransmisor, la sensibilidad y la influencia de la hipertensión. El GABA, ejerce su inhibición mediante la activación de receptores localizados en terminales nerviosos presinápticos y células nerviosas postsinápticas; además en sus acciones dos tipos de receptores a GABA han sido determinados, el receptor GABAA, pentamérico, asociado a canales de Cloro y primariamente participa en la inhibición a nivel postsináptico (111); mientras que el GABAB, esta acoplado a la Proteína G y puede inducir una reducción de la conductancia del calcio para mediar la inhibición presináptica e incrementar la conductancia del potasio para generar inhibición postsináptica (183). El mecanismo por el cual la activación de receptores GABAA postsinápticos provocan hiperpolarización en células nerviosas maduras, consiste en activar canales de  $\text{Cl}^-$  que permiten su ingreso a la célula la cual posee una  $[\text{Cl}^-]_i$  muy baja y siguiendo su gradiente de concentración alcanzar el potencial de equilibrio ( $E_{\text{Cl}^-}$ ) para este ión, este tiene un valor más negativo que el potencial de membrana en reposo; la hiperpolarización puede mantenerse gracias a la existencia de cotransportadores de  $\text{Cl}^-$ ; el tipo KCC2 que predomina y extrae un ión  $\text{Cl}^-$  junto a un ión  $\text{K}^+$ ; además existe el tipo NKCC1 el cual extrae  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  junto con dos iones de  $\text{Cl}^-$ ; adicionalmente se localizan canales del ión cloro dependiente de voltaje; todos estos mecanismos permiten mantener a nivel bajo al concentración intracelular del ión cloro en una célula madura, favoreciendo la hiperpolarización y de esta manera se puede reducir la frecuencia de descarga de la neurona (12). Resulta interesante señalar que las respuestas presora y la de la descarga simpática, inducida por la microinyección en el NTS de agonistas GABAA no son diferentes, cuando se comparan las observadas en las ratas normotensas con las de ratas hipertensas SHR, DOCA-sal y las de engrapado renal (48, 182, 196); contrariamente, las mismas respuestas inducidas por la microinyección en el NTS de agonistas GABAB, en las ratas hipertensas SHR, DOCA-sal y las de engrapado renal están aumentadas cuando se comparan con las observadas en ratas normotensas (48, 182, 196) 185), sugiriendo un efecto de la hipertensión sobre los

mecanismos de inhibición del GABA. Adicionalmente, un efecto similar se puede indicar en la sensibilidad al GABA; en experimentos in vivo se han reportado cambios de la sensibilidad al GABA por parte de neuronas del NTS, es decir la habilidad de Muscimol (agonista GABAA) para inhibir la descarga evocada por la activación barorreceptora del nervio aórtico fue reducida en animales con 1 a 4 semanas de hipertensión; contrariamente, la habilidad de Baclofen (agonista GABAB) para inhibir la descarga evocada por la activación barorreceptora del nervio aórtico fue incrementada en animales con 1 a 4 semanas de hipertensión (112).

Las adaptaciones en las neuronas del NTS que reciben información desde los barorreceptores arteriales periféricos son significativas, al considerar el papel del reflejo barorreceptor en la Normotensión y la Hipertensión; en ratas hipertensas mediante el engrapado renal, se incrementa 50% la variabilidad de la presión arterial media (PAM), expresando una reducida capacidad amortiguadora del reflejo barorreceptor; por otro lado, cuando se considera en las normotensas, la denervación de los barorreceptores del seno carotídeo, que elimina la llegada de información presora al SNC, se produce un incremento del 50% en la variabilidad de la misma presión; mientras que la misma maniobra en las ratas hipertensas por engrapado renal, produce una variabilidad que es el doble de la observada en las normotensas. Estos resultados parecen indicar que la contribución del reflejo barorreceptor a los mecanismos que minimizan la variabilidad de la PAM es mucho mayor en las ratas hipertensas (conservando la innervación barorreceptora) en comparación a las normotensas; esto es importante debido a que el aumento de la variabilidad de la presión arterial media esta asociada con el incremento de riesgo para los casos de mortalidad cardiovascular por infarto al miocardio, ataque o lesiones de órganos blancos tales como el corazón, riñón y los vasos sanguíneos (68).

### **3.- EFECTOS DEL GLUTAMATO Y SUS ANTAGONISTAS MICROINYECTADOS POR MICROIONTOFORESIS SOBRE LA FRECUENCIA DE DESCARGA DE NEURONAS BAROSENSIBLES DE LAS RATAS HIPERTENSAS (SHR) Y LAS NORMOTENSAS (SPRAGUE-DAWLEY).**

La figura 13.- muestra los histogramas (promedios  $\pm$  SEM) de la frecuencia de descarga de unidades del NTS de ratas SHR en condiciones CONTROL y bajo la acción de las sustancias NBQX (antagonista de receptor NO-NMDA tipo AMPA) MK-801((+)-5-metil-10,11-dihidro-5H-dibenzo[a,d]ciclohepten-5,10-imine maleato; antagonista no competitivo del receptor NMDA) y el MgCl<sub>2</sub> como bloqueador del canal del receptor a Glutamato tipo NMDA. Se puede apreciar que las tres sustancias reducen significativamente la frecuencia de descarga al compararse con la observada en los CONTROLES, siendo el efecto del NBQX el de mayor significación ( $p < 0,01$ ) y el de las otras dos sustancias a nivel de  $p < 0,05$ . Además estos resultados nos permiten señalar la presencia de receptores NO-NMDA (tipo AMPA) y NMDA sensibles a GLUTAMATO en estas neuronas del NTS de ratas hipertensas (SHR).

Con el fin de destacar la mediación de los tipos de receptores en la acción del GLUTAMATO, en la interpretación de estos datos, se considerará que al utilizar el antagonista NBQX, se bloquea un receptor no-NMDA y se evalúa el efecto del GLUTAMATO ya sea como endógeno o exógeno; de igual manera al bloquear el receptor NMDA con MK-801 o MgCl<sub>2</sub>, se evalúa el efecto del GLUTAMATO en las condiciones anteriormente mencionadas. No se descartan los efectos observados en la acción del GLUTAMATO a través de la mediación de receptores metabotrópicos, pero experimentalmente no podemos estimar tales efectos.

Los valores anteriormente nos permiten señalar en estas neuronas barosensibles del NTS en las ratas SHR, la presencia de receptores a Glutamato del tipo No-NMDA por la acción antagonizante del NBQX y del NMDA por la acción del antagonista MK-801 y la acción del MgCl<sub>2</sub> como bloqueador del canal iónico sensible a Mg<sup>2+</sup> presente en estos receptores. Los datos reportados en la TABLA VI, muestran los valores que sirven de base para la figura 13 y para estimar la participación de los receptores No-NMDA y el NMDA en la mediación del efecto del GLUTAMATO endógeno; Se estimó la magnitud de las reducciones significativas de la frecuencia de descarga con respecto a la observada en el grupo CONTROL, cuando se empleó un antagonista específico en las células estudiadas. De esta manera cuando se empleó el antagonista de receptores No-NMDA, es decir el NBQX se produjo la mayor reducción significativa ( $p < 0,01$ ) de la frecuencia de descarga, este resultado indicó la mayor participación de los receptores No-NMDA del tipo AMPA en la respuesta observada en el

grupo CONTROL dependiente del GLUTAMATO endógeno; en un segundo grado se aprecia la reducción significativa ( $p < 0,05$ ) de la frecuencia de descarga cuando se emplea el antagonista MK-801, esto indicó que receptores NMDA sensibles al MK-801 participan en segundo orden en la generación de la frecuencia de descarga observada en el grupo CONTROL; finalmente se aprecia una reducción significativa ( $p < 0,05$ ) cuando se utiliza el  $MgCl_2$ , el cual se empleó como bloqueador del canal iónico de receptores tipo NMDA. De esta manera podemos señalar que el GLUTAMATO endógeno media su acción excitatoria con la mediación de los receptores tipo No-NMDA primariamente, en segundo término los NMDA sensibles a MK-801 y finalmente los sensibles al  $MgCl_2$  que son igualmente NMDA. Los receptores No-NMDA sensibles al NBQX, son los llamados AMPA, activados primariamente, ellos que son canales iónicos con permeabilidad a los ion  $Na^+$  y  $K^+$ , pueden facilitar la despolarización suficiente para incrementar la frecuencia de descarga en estas neuronas (81) pero además pueden contribuir a la activación de los receptores NMDA, los cuales están asociados con canales iónicos que tienen elevada permeabilidad al ion  $Ca^{2+}$  (151), lo cual contribuiría con despolarización adicional que facilite el incremento de la frecuencia de descarga en las células estudiadas. Es en este orden de participación de los receptores que pudiera esperarse un incremento notable de la frecuencia de descarga de las células del NTS en las ratas hipertensas (SHR). Por otro lado, el canal iónico del NMDA posee una elevada sensibilidad a que el canal sea bloqueado por el  $Mg^{2+}$ , la misma parece estar relacionada con el residuo de Asparagina del segmento de la proteína transmembrana 2 que forma el canal (151); el ión  $Mg^{2+}$  juega un papel inhibitorio en las neuronas del RVLM e inhibe las respuestas evocadas por agonistas NMDA y de receptores metabotropicos de Glutamato en este caso, apreciamos unos valores indicativos de un efecto de menor magnitud por parte del ión  $Mg^{2+}$  sobre la frecuencia de descarga observada en el grupo control, quizás debido a que este ión ejerce su efecto al estar el receptor activo, el canal iónico abierto y el potencial de membrana con valores negativos; en este caso, es probable un bajo número receptores activos con sus canales abiertos y una inhibición reducida.

En la figura 14 se reportan el incremento significativo de frecuencia de descarga de las neuronas barosensibles del NTS en ratas SHR, por efecto del Glutamato exógeno y las

acciones antagónicas estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) de las sustancias MK-801, NBQX y  $MgCl_2$  en ratas SHR sobre el mismo efecto de este neurotransmisor microinyectado en una segunda oportunidad.

Los valores reportados en la TABLA VII, que sirven de base para la figura 14, se pueden interpretar considerando que el GLUTAMATO iotofóricamente microinyectado en el NTS de ratas SHR, a través de la interacción con receptores No-NMDA y NMDA produjo un incremento significativo ( $p < 0,05$ ) de la frecuencia de descarga en las neuronas estudiadas. Para estimar la mediación de los receptores en el efecto del GLUTAMATO exógeno, sus acciones se evaluaron en preparaciones en las cuales las neuronas habían recibido previamente un pre tratamiento con un antagonista específico, ello produjo reducciones significativas de la frecuencia de descarga en las células estudiadas, cuando se compara con el resultado obtenido en la primera aplicación, de esta manera la mayor reducción significativa ( $p < 0,05$ ), en la frecuencia de descarga se observó cuando se utilizó el MK-801, el cual es un antagonista NMDA; en segundo orden se reporta la reducción significativa ( $p < 0,05$ ) cuando se utilizó el NBQX un antagonista No-NMDA y finalmente se pudo apreciar la reducción significativa ( $p < 0,05$ ) cuando se empleó el  $MgCl_2$ , como bloqueador del canal iónico del receptor NMDA. Estos resultados nos permiten señalar que el GLUTAMATO exógeno parece mediar su acción en primer término por la participación de receptores NMDA sensibles a MK-801, en segundo lugar por la participación de receptores No-NMDA sensibles a NBQX y en tercer lugar por la mediación de receptores NMDA que son susceptibles de bloqueo de su canal iónico por el ión  $Mg^{2+}$  en neuronas barosensibles del NTS en ratas SHR. Como explicación a este resultado cabría mencionar que el GLUTAMATO exógeno o microinyectado, representó una cantidad en exceso de este neurotransmisor, es probable que ello permitió la participación quizás simultánea de los dos tipos de receptores, dado que particularmente los del tipo NMDA requieren de una fuerte despolarización de la neurona para excitarla y para ello es necesario que se produzca la eliminación del bloqueo del ion magnesio de su canal iónico. Lo señalado puede ocurrir por la mediación del receptor AMPA (No-NMDA), debido a que está asociado a canales que son permeables a  $Na^+$  y  $K^+$ , lo que favorece una despolarización rápida e inicial, la cual, contribuye al desbloqueo del canal iónico del receptor NMDA; de esta manera, el exceso

de GLUTAMATO puede contribuir secundariamente a una mayor despolarización por activación directa del receptor NMDA; todo ello facilitaría el incremento de la frecuencia de descarga observada cuando se microinyecta GLUTAMATO en el NTS de estas células en las ratas hipertensas (SHR), superando la influencia inhibitoria que se ejerce sobre estas neuronas (133) y además, la probable actividad reducida de los mecanismos de adaptación de estas neuronas del NTS a la elevada excitación (133) que limitan el efecto de la sobreexcitación en neuronas del NTS de ratas normotensas, impidiendo un incremento en la concentración intracelular de calcio y sus efectos neurotóxicos (133). Todo lo cual, pudiera plantear otros tipos de adaptaciones ante los efectos de la elevada excitación junto con la existencia de mecanismos que redujeran el efecto tóxico del ion calcio en unidades barosensibles del NTS de ratas SHR. En este caso, igualmente apreciamos unos valores indicativos de un efecto de menor magnitud por parte del ión  $Mg^{2+}$  sobre la frecuencia de descarga observada en el grupo control, quizás debido a que este ión ejerce su efecto al estar el receptor activo con su canal iónico abierto y el potencial de membrana con valores negativos; en este caso, es probable un bajo número de receptores activos con sus canales abiertos y una inhibición de magnitud reducida.

La figura 15, muestra los histogramas (promedios  $\pm$  SEM) de la frecuencia de descarga de unidades del NTS de ratas normotensas en condiciones CONTROL y bajo la acción de las sustancias NBQX, MK-801 y el  $MgCl_2$  como bloqueador del canal del receptor a Glutamato tipo NMDA. Se puede apreciar que los dos antagonistas y el bloqueador del canal iónico del receptor NMDA, reducen significativamente la frecuencia de descarga en comparación a lo reportado en el grupo CONTROL, siendo el efecto del  $MgCl_2$  el de mayor significación ( $p < 0,01$ ) y el de las otras dos sustancias a nivel de  $p < 0,05$ . Las sustancias empleadas y el bloqueador, antagonizaron el efecto del GLUTAMATO (producido en condiciones basales o endógeno), sobre la frecuencia de descarga de las neuronas barosensibles del NTS. Además estos resultados nos permiten señalar la presencia de receptores No-NMDA (tipo AMPA) y NMDA sensibles a GLUTAMATO en estas neuronas del NTS de ratas normotensas.

Los valores registrados en la TABLA VIII que sirven de base a la figura 15, se pueden interpretar considerando la participación de los receptores No-NMDA y NMDA en la mediación del efecto del GLUTAMATO basal, que produce incremento en la frecuencia de descarga de estas neuronas; para estimar la mediación de los receptores, se consideran las reducciones significativas de la frecuencia de descarga con respecto a la observada en el grupo CONTROL, cuando se emplea un antagonista específico o el bloqueador en las células estudiadas; de esta manera la mayor reducción significativa ( $p < 0,01$ ) de la frecuencia de descarga ocurrió cuando se empleó el  $MgCl_2$ , el cual se utilizó como bloqueador del canal iónico de receptores tipo NMDA; en un segundo grado se aprecia la reducción significativa ( $p < 0,05$ ) de la frecuencia de descarga cuando se emplea el antagonista MK-801, esto indicó que receptores NMDA sensibles al MK-801 son responsables en segundo orden de la reducción de la frecuencia de descarga observada en el grupo CONTROL y finalmente se aprecia una reducción significativa ( $p < 0,05$ ) cuando se utiliza el antagonista de receptores No-NMDA, es decir el NBQX. Estos resultados indicaron si bien una mayor participación de los receptores NMDA sensibles al  $MgCl_2$ , el efecto de esta sal es bloquear el canal iónico de este receptor, este ión ejerce su efecto al estar el receptor funcional con su canal iónico abierto y el potencial de membrana con valores negativos; así este resultado se puede explicar considerando la existencia de un número importante de los receptores NMDA funcionales, con canales iónicos abiertos debido a la depolarización por la activación de receptores No-NMDA y una elevada inhibición de las neuronas barosensibles por el mecanismo protector ya mencionado para estas ratas normotensas; por otro lado, es indicativo de la acción del GLUTAMATO endógeno, lo reportado para la mediación de receptores NMDA sensibles al MK-801 y el de los receptores No-NMDA sensibles al NBQX. Considerando una reducción en la frecuencia de descarga significativamente similar ( $p < 0,05$ ) por la participación de receptores NMDA y los receptores No-NMDA; el efecto del GLUTAMATO endógeno, podría ser explicado a partir de la participación del mecanismo de protección que poseen estas células ante la estimulación excesiva con un agente excitatorio (Paton y cols., 201), concepto que aplicado a los receptores NMDA, podemos considerar que estos receptores tienen una alta permeabilidad al  $Ca^{2+}$ , que son permeables a  $Na^+$  y  $K^+$  y que además exigen un

potente impulso sináptico para su activación, lo cual les permite producir una sostenida despolarización que conduce a repetidas descargas en salvas (151); por otro lado, que lo descrito en los No-NMDA es diferente, en el sentido que con una reducida participación, quizás menos numerosos o menos sensibles, sin embargo más susceptibles de producir despolarizaciones y de esta manera facilitar la activación de los receptores NMDA; por ello en estas células la activación de menores cantidades de receptores No-NMDA, limitarían los efectos de la activación de los receptores NMDA por las implicaciones neurotóxicas de incrementar la concentración intracelular del ión calcio; conservando esta secuencia para la activación de los dos tipos de receptores, ello formaría uno de los componentes del mecanismo de protección mencionado; aunque activos, ambos pueden contribuir al incremento controlado de la frecuencia de descarga, tal como se observó en las curvas dosis-respuestas en las células estudiadas.

En la figura 16, se reportan el incremento significativo ( $p < 0,05$ ) de la frecuencia de descarga de las neuronas del NTS, por efecto del Glutamato microinyectado por microiontoforesis o exógeno y las acciones antagónicas de las sustancias MK-801, NBQX y  $MgCl_2$  sobre la frecuencia de descarga de neuronas barosensibles en ratas normotensas. Al comparar el efecto de los antagonistas sobre la acción del Glutamato en la frecuencia de descarga de neuronas barosensibles del NTS y observando los valores de la TABLA IX, los mismos siguen la secuencia  $MK-801 \geq NBQX > MgCl_2$  en relación a su efecto de antagonizar la acción del Glutamato exógeno. El pre-tratamiento con los antagonistas MK-801 y NBQX producen la acción antagonizante sobre el Glutamato exógeno en la misma magnitud, aunque mayor que la ejercida por el  $MgCl_2$ .

Los datos reportados en la TABLA IX, se pueden interpretar considerando que el GLUTAMATO iotofóricamente microinyectado en el NTS de ratas normotensas, a través de la interacción con receptores No-NMDA y NMDA produjo un incremento significativo de la frecuencia de descarga en las neuronas estudiadas ( $p < 0,05$ ). Para estimar la mediación de los receptores en el efecto del GLUTAMATO exógeno, sus acciones se evaluaron en preparaciones en las cuales las neuronas habían recibido previamente un pre tratamiento con un antagonista específico, luego una segunda aplicación de GLUTAMATO produjo

reducciones significativas ( $p < 0,05$ ) de la frecuencia de descarga en las células estudiadas, cuando se compara con el resultado obtenido en la primera aplicación. De esta manera la mayor reducción significativa de la frecuencia de descarga ( $p < 0,05$ ) se observó cuando se empleó el antagonista MK-801 el cual bloquea receptores tipo NMDA, en el mismo orden se reportó la reducción significativa ( $p < 0,05$ ) cuando se utilizó el antagonista de receptores No-NMDA, sensibles a NBQX, los llamados AMPA; finalmente se reporta la reducción significativa ( $*p < 0,05$ ) al emplearse el  $MgCl_2$  como bloqueador del canal iónico de receptores NMDA y sensible a  $Mg^{2+}$ . Para el GLUTAMATO exógeno, la mediación con participación casi igual de los receptores NMDA sensibles a MK-801 y receptores No-NMDA, sensibles a NBQX, podría explicarse considerando lo ya señalado en cuanto al mecanismo de protección (133), el cual ante un exceso de GLUTAMATO, pareciera un reclutamiento de los dos tipos de receptores, donde el NMDA, con sus exigencias para activación limitaría la excesiva activación. En relación al  $MgCl_2$  los resultados reportaron una menor participación de los receptores NMDA sensibles al  $MgCl_2$ , el efecto del ión magnesio es bloquear el canal iónico de este receptor, ejerce su efecto al estar el receptor funcional con su canal iónico abierto y el potencial de membrana con valores negativos; así este resultado se puede explicar considerando la existencia de un número bajo de receptores NMDA funcionales, con canales iónicos abiertos debido a la depolarización por la activación de receptores No-NMDA y una elevada inhibición de las neuronas barosensibles por el mecanismo protector.

Resumiendo. En primer lugar se demuestra la presencia de receptores No-NMDA, tipo AMPA sensibles al NBQX; de igual manera se demuestra la existencia de receptores NMDA sensibles al MK-801 y al  $MgCl_2$  en las neuronas estudiadas en ambas cepas. En segundo lugar, en las ratas SHR el efecto del GLUTAMATO basal es mediado por los receptores siguiendo el orden No-NMDA > NMDA >  $MgCl_2$ ; en el caso del GLUTAMATO exógeno, el orden fue NMDA > No-NMDA >  $MgCl_2$ . En tercer lugar en las ratas Sprague-Dawley (SD), el GLUTAMATO basal medió sus acciones siguiendo el orden  $MgCl_2$  > NMDA > No-NMDA; por otro lado el exógeno medió sus acciones siguiendo el orden NMDA  $\geq$  No-NMDA >  $MgCl_2$ .

#### **4.- EFECTO DEL GABA INYECTADO POR MICROIONTOFORESIS SOBRE LA FRECUENCIA DE DESCARGA DE NEURONAS BAROSENSIBLES DEL NTS DE LAS RATAS NORMOTENSAS (SPRAGUE-DAWLEY) Y LAS HIPERTENSAS (SHR).**

La figura 17 muestra un registro obtenido por el software Audition 1.5 de la actividad neuronal del NTS en una rata SHR, donde se puede apreciar como después de aplicar GABA por microiontoforesis, la actividad neuronal se reduce.

La figura 18 muestra los histogramas (promedios  $\pm$  SEM) de la frecuencia de descarga de unidades del NTS de ratas SHR en condiciones CONTROL y bajo la acción de las sustancias PICROTOXINA y SACLOFEN como antagonistas de los receptores sensibles a GABA. Con el fin de estimar la participación de los receptores GABAA y GABAB en la mediación del efecto del GABA basal o endógeno, se estimaron la magnitud de las reducciones significativas de la frecuencia de descarga con respecto a la observada en el grupo CONTROL, cuando se emplea un antagonista específico en las células estudiadas.

Se pudo apreciar que las dos sustancias reducen significativamente ( $p < 0,05$ ) la frecuencia de descarga de las neuronas barsosensibles del NTS, cuando se compararan con la observada en los grupos CONTROLES de ratas hipertensas (SHR).

Los valores de la TABLA X, reportan el descenso significativo ( $p < 0,05$ ) de la frecuencia de descarga de las neuronas barosensibles del NTS en ratas SHR por efecto de las sustancias PICROTOXINA ( $p < 0,05$ ) y SACLOFEN ( $p < 0,05$ ). Se pudo observar que la mayor reducción significativa ( $p < 0,05$ ) de la frecuencia de descarga, se produjo cuando se empleó SACLOFEN, este es un antagonista de receptores GABAB; en menor grado ocurrió la reducción significativa ( $p < 0,05$ ) empleando PICROTOXINA el antagonista de receptores GABAA; de tal manera que la acción del GABA basal o endógeno, es mediada en primer lugar por receptores GABAB y en segundo lugar por receptores GABAA. Sin embargo, al cuantificar la magnitud de las acciones, se pudo estimar la secuencia de participación de los receptores como GABAB  $>$  GABAA; además se esperaba que ambas sustancias al ser antagonistas, atenuaran o eliminaran la acción de este neurotransmisor generado

endógenamente, pero más bien se observó una reducción de la frecuencia basal de las neuronas estudiadas, indicativo de la potenciación de una inhibición no específica GABAérgica. Es probable que la reducción de la frecuencia de descarga de las neuronas en las condiciones probadas, pueda ser explicada a partir de una hiperpolarización de las neuronas estudiadas por una inervación inhibitoria no GABAérgica, probablemente de conexiones que liberan GLICINA, la cual ocasiona inhibición postsináptica y ello explicaría que no pudiéramos apreciar el aumento de la frecuencia de descarga una vez se microinyecta el antagonista sin importar si es GABAA o GABAB; al respecto, se ha demostrado la existencia de un sistema de inhibición mediado por GLICINA junto al de GABA en el NTS (91); la microinyección de glicina en las regiones rostral y caudal del NTS produce un incremento en la presión arterial media y elimina la respuesta presora a la estimulación del reflejo quimiorreceptor con cianuro de potasio (139); se ha demostrado la existencia de una inhibición dual de GABA y GLICINA coliberadas en terminales que finalizan en las zonas laterales del NTS donde se coexpresan postsinápticamente receptores GABAA y de GLICINA (17, 47).

En la figura 19, se reportan el descenso significativo ( $p < 0,01$ ) de la frecuencia de descarga de las neuronas por efecto del GABA exógeno o microinyectado y las acciones antagónicas estadísticamente significativas de las sustancias PICROTOXINA ( $p < 0,01$ ) y SACLOFEN ( $p < 0,05$ ) en ratas hipertensas (SHR). Al comparar la magnitud del efecto de los antagonistas en la acción del GABA exógeno sobre la frecuencia de descarga de neuronas barosensibles del NTS y observando los valores de la TABLA XI, apreciamos que siguen la secuencia SACLOFEN > PICROTOXINA. El pre-tratamiento con el antagonista SACLOFEN produjo la acción antagonizante en mayor grado que la observada al emplear PICROTOXINA, porque anuló la acción del GABA microinyectado una segunda vez, reestableciendo el valor de frecuencia de descarga reportado en el grupo control; por ello indicó que la vía de acción del GABA exógeno es predominantemente a través del receptor GABAB. Estos resultados coinciden con lo reportado en modelos animales de hipertensión, en cuanto a los receptores GABAB; se reportan incrementos en los niveles de RNAm de receptores GABAB en ratas

hipertensas (48, 49)) indicativo de mayor número de receptores GABAB, adicionalmente se conoce que los receptores GABAB una vez activados producen un incremento de la conductancia de membrana para el  $K^+$  y en asociación hiperpolarización neuronal (16)); todo lo anterior explicaría la mayor participación de receptores GABAB en la reducción de la frecuencia de las unidades barosensibles del NTS en las ratas hipertensas (SHR). También pueden contribuir a la hiperpolarización los receptores GABAA, ellos están asociados con canales selectivos a aniones, concretamente canales de  $Cl^-$  que pueden ser activados por GABA y median la inhibición en regiones extrasinápticas y postsinápticas; el incremento de la permeabilidad al  $Cl^-$  generalmente reduce la excitabilidad neuronal (inhibición), porque el potencial de equilibrio para el  $Cl^-$  en la mayoría de las neuronas maduras es más negativo y de un valor cercano al del potencial de membrana en reposo, además, la concentración de cloro dentro de la célula  $[Cl^-]_i$  es mucho menor que aquella del medio extracelular  $[Cl^-]_o$ . (166). además en las células maduras se localizan de manera predominante el cotransportador KCC2 que permite la expulsión al medio extracelular de un ión  $K^+$  y un ión  $Cl^-$ ; igualmente se localizan canales del ión  $Cl^-$  dependiente de voltaje que facilitan su salida (12).

La figura 20, muestra los histogramas (promedios  $\pm$  SEM) de la frecuencia de descarga de células barosensibles del NTS en ratas normotensas tanto en condiciones CONTROL, como bajo la acción de las sustancias PICROTOXINA y SACLOFEN, empleadas como antagonistas de los receptores sensibles a GABA. Se puede apreciar que las dos sustancias reducen significativamente ( $p < 0,05$ ) la frecuencia de descarga en comparación a la observada en los grupos CONTROLES. Los valores reportados en la TABLA XII, nos permiten señalar la presencia de receptores de GABA, tipo A y B en estas neuronas del NTS; por otro lado, del análisis de los mismos, apreciamos que la reducción más significativa ( $p < 0,01$ ) se produjo con el uso de SACLOFEN, mientras una menos significativa ( $p < 0,05$ ), ocurre cuando se usa PICROTOXINA. Estos resultados indican que el GABA endógeno media su acción inhibitoria en las neuronas barosensibles estudiadas, principalmente a través de los receptores de GABA, del tipo GABAB sensibles al antagonista SACLOFEN; mientras que en segundo lugar participan los receptores GABAA sensibles a PICROTOXINA. Adicionalmente,

también permiten explicar la existencia de una hiperpolarización que conlleva a la reducción de la frecuencia de descarga en estas células; al respecto podemos mencionar que es probable que la reducción de la frecuencia de descarga de las neuronas pueda ser explicada a partir de una hiperpolarización de las neuronas estudiadas por una inervación inhibitoria no GABAérgica, probablemente de neuronas o conexiones que liberan GLICINA, la cual ocasiona inhibición postsináptica y ello explicaría que no pudiéramos apreciar el aumento de la frecuencia de descarga una vez se microinyecta el antagonista sin importar si es GABAA o GABAB; al respecto, se ha demostrado la existencia de sistema de inhibición mediado por GLICINA junto al de GABA en el NTS (91); la microinyección de glicina en las regiones rostral y caudal del NTS produce un incremento en la presión arterial media y elimina la respuesta presora a la estimulación del reflejo quimiorreceptor con cianuro de potasio (139); se ha demostrado la existencia de una inhibición dual de GABA y GLICINA coliberadas en terminales que finalizan en las zona laterales del NTS donde se coexpresan postsinápticamente receptores GABAA y de GLICINA (17, 47).

En la figura 21, se reportan el descenso significativo ( $p < 0,01$ ) de las frecuencias de descarga de las neuronas barosensibles del NT por efecto del GABA exógeno y las acciones antagónicas estadísticamente significativas de las sustancias SACLOFEN ( $p < 5\%$ ) y PICROTOXINA ( $p < 5\%$ ) en ratas normotensas. Al comparar el efecto de los antagonistas sobre la acción del GABA en la frecuencia de descarga de neuronas barosensibles del NTS y observando los valores de la TABLA XIII, los mismos siguen la secuencia SACLOFEN > PICROTOXINA en relación a su efecto de antagonizar la acción del GABA. Aparentemente el pre-tratamiento con el antagonista SACLOFEN produce la acción antagonizante en mayor grado que la que puede ejercer el PICRTOXINA; indicando que la vía de la acción del GABA exógeno es predominantemente a través del receptor GABA B y en segundo lugar por la activación de receptores GABA A, igual que señalamos para el endógeno, la primacía en la mediación por parte de los receptores GABAB, garantiza la hiperpolarización necesaria y luego, la participación de receptores GABAA, la complementa. De esta manera se cumplen las condiciones de hiperpolarización que permiten la reducción de

la frecuencia observada por la acción del GABA exógeno en estas células barosensibles del NTS en ratas normotensas.

En ambos grupos de ratas estudiados la acción del GABA tanto el endógeno como el exógeno, parece ser mediada predominantemente por receptores del tipo GABAB, en segundo lugar por la participación de receptores GABAA.

Es de destacar que al aplicar en el NTS, antagonistas de GABA en condiciones basales, se apreció una potenciación de la acción inhibitoria, probablemente debida a la activación de vías no GABAérgicas, quizás Glicinérgicas que modulan directa o indirectamente la frecuencia de descarga de neuronas barosensibles del NTS en las ratas de ambos grupos de animales; en este texto, se señalaron reportes que indicaban como la microinyección de Glicina en el NTS de ratas reduce la presión arterial y la frecuencia cardiaca (175, 176); por otro lado, se ha reportado incremento de la presión arterial por la activación del reflejo quimiorreceptor antes y después de la microinyección de glicina en el NTS de ratas despiertas (139); en ratas adultas Wistar se ha demostrado que la glicina esta asociada con GABA en terminales axónicos localizados en la parte lateral del NTS y se ha especulado acerca de una regulación en la liberación de ambos neurotransmisores al nivel presináptico (47); en otros animales como los gatos, igualmente, se ha determinado un patrón de coexistencia de glicina y GABA en neuronas con funciones respiratoria y cardiovascular (150).

#### **5.-EFECTO DEL GLUTAMATO, NBQX, MK-801 Y EL MgCl<sub>2</sub> SOBRE LA DURACION Y LA AMPLITUD DE POTENCIALES DE ACCION (Pots.A) DE NEURONAS DEL NTS EN RATAS HIPERTENSAS (SHR) Y NORMOTENSAS (SPRAGUE-DAWLEY).**

Al estudiar los efectos sobre la amplitud, se consideraron los valores máximo y mínimo de la espiga, los que dependen de los valores del potencial de equilibrio a los cuales las corrientes de sodio y potasio tienden una vez permitido el movimiento de tales iones; los incrementos en las conductancias de los iones mencionados facilita el que los valores del potencial de

equilibrio para cada ión puedan ser alcanzados, rápidamente con la activación de los No-NMDA y menos rápidos con la participación de receptores NMDA.

Al estudiar los efectos del GLUTAMATO sobre la duración del potencial de acción, se consideraran la duración de los componentes de despolarización y repolarización, los cuales dependerán del predominio de los efectos rápidos mediados por receptores No-NMDA y los efectos lentos mediados por los NMDA.

Al integrar los resultados acerca del efecto del GLUTAMATO y sus antagonistas sobre la duración y la amplitud de los Potenciales de Acción de neuronas del NTS en las ratas SHR y normotensas; encontramos que el GLUTAMATO (basal o endógeno y el exógeno) tiende a no cambiar la duración del Pots.A en las ratas SHR, mientras que la disminuyó en las normotensas. En relación a la amplitud del Potencial, la aumenta en las SHR y en las ratas normotensas la reduce ligeramente, estos cambios no son estadísticamente significativos.

En las ratas SHR, la ausencia de cambios en la duración de los Pots.A por parte del GLUTAMATO (basal y el exógeno), pudiera ser explicado considerando aspectos de la dosis y tiempo de acción del agonista y los antagonistas para producir cambios suficientes que pudieran ser reflejados en la duración del Potencial de acción de las neuronas barosensibles del NTS estudiadas o pudiera estar reflejándose una mayor participación de receptores del tipo NMDA cuyos efectos sobre los cambios iónicos son más lentos; tal posibilidad puede plantearse aunque se ha comprobado que este agonista aumenta la frecuencia de descarga de las mismas, tal como se ha reportado en este trabajo.

En relación a la amplitud de los Pots.A en las ratas SHR, el GLUTAMATO basal aparentemente la redujo, mediante la participación de receptores No-NMDA (al emplear el antagonista NBQX se apreció un incremento significativo a nivel de  $p < 0,05$  en la amplitud con relación al control), mientras que el exógeno la incrementa, mediante la participación del mismo tipo de receptor (porque al emplear el antagonista NBQX y luego aplicar GLUTAMATO se apreció como la amplitud se redujo en relación a la observada cuando se aplicó primeramente este neurotransmisor), aunque este último cambio no fue significativo.

Se puede sostener que los cambios en la amplitud de los Pots. A por parte del GLUTAMATO (basal o exógeno) son mediados por la participación de los receptores siguiendo la secuencia No-NMDA > NMDA. Una posible explicación a este resultado la podemos encontrar en los incrementos en las conductancias para  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  que se originan al activar receptores No-NMDA tipo AMPA (sensibles al NBQX), lo cual facilita que los iones  $\text{Na}^+$  pueda entrar según su potencial de equilibrio y producir la fase de depolarización y luego la salida de  $\text{K}^+$  permite que este ión pueda hacerlo según el potencial de equilibrio para el mismo y producir la fase de repolarización del potencial de acción. Esto se aplicaría para el caso del aumento de la amplitud observada por el GLUTAMATO exógeno; mientras que en la reducción observada para el endógeno, se debe incluir una mayor participación de los receptores NMDA, los cuales favorecen la entrada de iones  $\text{Ca}^{2+}$  y ello pudiera reducir la entrada de iones sodio, lo cual contribuiría a una menor fase de depolarización en el potencial de acción. Nos atrevemos a especular que el aumento de la frecuencia de descarga observado en estas neuronas barosensibles del NTS de las ratas SHR, por efecto del GLUTAMATO exógeno, podría explicarse por un incremento en la generación de potenciales de acción en el tiempo, con duración poco variable y un aumento de amplitud a manera compensatoria. Al considerar el efecto del GLUTAMATO endógeno sobre la frecuencia de descarga, ésta es modulada por mecanismos inhibitorios, descritos alterados, en las neuronas barosensibles de ratas hipertensas.

En las ratas normotensas, el GLUTAMATO tanto el basal (endógeno) como el exógeno mediado por receptores NMDA, produjeron una reducción significativa de la duración del Potencial de Acción ( $1,1\text{ms} \pm 0,1\text{ms} < 1,9\text{ms} \pm 0,2\text{ms}$ ;  $P < 0,01$ ;  $1,1\text{ms} \pm 0,1\text{ms} < 1,7\text{ms} \pm 0,2\text{ms}$ ,  $p < 0,05$ ), así la participación de los receptores siguió el orden NMDA>No-NMDA. Por la participación de los receptores AMPA y NMDA se puede explicar la reducción de la duración de los Potenciales de acción, porque aunque la activación de los receptores AMPA producen incrementos en las conductancias de los iones Sodio y Potasio principalmente **(81)** generando respuestas rápidas ante los agonistas; el receptor NMDA produce incremento de la conductancia del ión calcio principalmente, aunque también son permeables a los iones sodio y potasio **(151)** además la corrientes dependiente de estos iones normalmente se pueden

encontrar afectados, porque el canal específico de calcio se encuentra bloqueado por el ión Magnesio: en conjunto todos estos cambios enlentecen las respuestas ante el agonista; considerando lo señalado, cuando son activados en conjunto ambos tipos de receptores por el mismo agonista, predomina el efecto de la activación del receptor No-NMDA sobre el del NMDA y ello pudiera contribuir a generar potenciales de acción con una menor duración.

En cuanto a la amplitud, en las ratas normotensas, el GLUTAMATO basal (endógeno), redujo significativamente la amplitud ( $17\text{mv} \pm 1\text{mv} < 20\text{mv} \pm 1\text{mv}$ ;  $p < 0,05$ ) gracias a la participación de receptores sensibles a NBQX (receptores AMPA), pudiéndose señalar el orden de participación de los receptores No-NMDA > NMDA. Una reducción ( $14\text{mv} \pm 3\text{mv} < 19\text{mv} \pm 3\text{mv}$ ) aunque no significativa, también se apreció por la participación de receptores sensibles a MK-801 (antagonista de receptores NMDA), en la acción de GLUTAMATO exógeno; pudiéndose señalar el orden de participación de los receptores NMDA > No-NMDA. La participación de los receptores NMDA en la acción del GLUTAMATO basal como la del exógeno, permite explicar la reducción reportada, dado que a través de este tipo de receptor los cambios iónicos, tenderían a reducir la repolarización del potencial de acción, debido a las características de funcionamiento de este receptor que favorece la conductancia de entrada para iones de carga positiva. A partir de estos resultados se puede especular acerca del aumento en la frecuencia de descarga de las neuronas barosensibles en estas ratas normotensas, por la acción del GLUTAMATO; reducciones de la duración y la amplitud permiten la generación más frecuente de potenciales de acción, tal como ha sido reportado para este agonista en este trabajo.

En relación a la amplitud de los Potenciales de Acción estudiados, en las ratas SHR, el GLUTAMATO endógeno, la aumentó y el exógeno la redujo, mediante los receptores NMDA. En las ratas Sprague-Dawley estudiadas, el endógeno redujo la amplitud significativamente, mediante los receptores NMDA (sensibles al NBQX) y el exógeno utilizando receptores No-NMDA (sensibles al MK-801).

Este último resultado permitiría establecer una diferencia entre ambas cepas, el GLUTAMATO exógeno reduce la amplitud, en las SHR por mediación de receptores NMDA y en las normotensas por receptores No-NMDA (sensibles al MK-801).

## **6.-EFECTO DEL GABA, SACLOFEN Y PICROTOXINA SOBRE LA DURACION Y LA AMPLITUD DE POTENCIALES DE ACCION (Pots.A) DE NEURONAS DEL NTS EN RATAS HIPERTENSAS (SHR) Y NORMOTENSAS (SPRAGUE-DAWLEY).**

El GABA tiende a reducir la duración de los Pots.A de NTS en ejemplares de las ratas hipertensas y normotensas; siendo significativa en las ratas SHR ( $p < 0,05$ ); mientras que contribuye a que la amplitud sea incrementada en las hipertensas y reducida en las ratas normotensas (TABLAS XVIII, XIX, XX y XXI).

En las ratas SHR (TABLA XVIII), el GABA endógeno redujo significativamente la duración de los Pots.A, este efecto estuvo mediado por dos receptores; en el caso de receptores GABAB ( $P < 0,01$ ; sensibles al antagonista SACLOFEN) y los receptores GABAA ( $P < 0,01$ ; sensibles al antagonista PICROTOXINA)

Los receptores GABAA son capaces de contribuir a la reducción de la duración de los Potenciales de Acción registrados, por que favorecen la hiperpolarización vía incremento de la conductancia a los iones Cloro, ello podría acelerar la fase de repolarización del Potencial de Acción, lo cual reduce este tiempo y contribuye a la reducción del tiempo total que mide la duración de la respuesta neuronal. Los receptores GABAA son anión-selectivos, están asociados con canales de  $Cl^-$  que pueden ser activados por GABA y median la transmisión sináptica fásica rápida y también la inhibición tónica en regiones extrasinápticos y presinápticos. Ellos producen un incremento de la permeabilidad al  $Cl^-$  y de esta manera generalmente reducen la excitabilidad neuronal (inhibición), porque el potencial de equilibrio para el  $Cl^-$  en la mayoría de las neuronas maduras esta cerca del potencial de membrana en reposo y la concentración de cloro dentro de la célula  $[Cl^-]_i$  es mucho menor que aquella dentro del fluido extracelular  $[Cl^-]_o$  (166). El efecto del GABA exógeno fue estudiado en los grupos donde se utilizan los antagonistas en pre tratamientos previo a la aplicación del GABA y sus resultados se compararon con el efecto del neurotransmisor microinyectado; en los dos

casos hubo reducción de la duración, siendo significativa ( $P < 0,01$ ) y mayor que la reportada en el grupo PICROTOXINA+GABA, este resultado se puede interpretar por la interacción del GABA y los receptores GABAB activos; en el grupo SACLOFEN+GABA, también hubo reducción de la duración aunque no significativa. Los receptores GABAB están localizados pre y postsinápticamente, producen supresión de la conductancia del  $Ca^{+2}$  e incrementos de la conductancia del  $K^{+}$  en asociación con la hiperpolarización neuronal (**16, 85, 90, 147**); además están acoplados a proteínas G (**85**) por ello, son calificados de metabotrópicos. Esta hiperpolarización puede reducir la duración de los efectos del neurotransmisor excitatorio basal y de esta manera puede contribuir a la reducción del tiempo de repolarización en los Potenciales estudiados en las ratas SHR.

Con el fin de establecer la participación de los receptores en la acción del GABA sobre la amplitud de los Potenciales de Acción registrados de neuronas barosensibles del NTS en las ratas SHR, se analizaron los datos sobre la amplitud reportados en la TABLA XIX; encontrando que hubo un incremento en las amplitudes reportadas en los grupos GABA, NBQX, PICROTOXINA, NBQX+GABA y PICROTOXINA+GABA. Se apreciaron dos incrementos significativos cuando se compararon los valores de los grupos SACLOFEN vs CONTROL ( $p < 0,01$ ) y PICROTOXINA vs CONTROL ( $p < 0,05$ ), estas comparaciones permiten estimar la mediación de los receptores en la acción del GABA endógeno sobre la amplitud de los potenciales estudiados, el mayor incremento de la amplitud ocurrió cuando se empleó el antagonista SACLOFEN; este efecto lo podemos interpretar señalando que la hiperpolarización que normalmente se produce cuando el receptor GABAB es activado por GABA (**16, 85, 90, 147, 67**), fue bloqueada y ello origina que procesos despolarizantes puedan entrar en acción y junto con ello favorecer un mayor valor en el registro de la amplitud; en este sentido es interesante señalar que la activación por GABA de receptores GABAA activos puede contribuir a esta despolarización en algunas células; siendo ellos anión-selectivos, activados pueden incrementar la permeabilidad al  $Cl^{-}$  y con ello generalmente reducir la excitabilidad neuronal (inhibición), (**166**); sin embargo, dependiendo de la expresión de transportadores de  $Cl^{-}$ , la  $[Cl^{-}]_i$  puede incrementarse, modificando al potencial de equilibrio del  $Cl^{-}$  que es menos negativo que el potencial de membrana en reposo,

bajo tales condiciones, la activación de los receptores GABAA pueden causar despolarización de la membrana, posiblemente suficiente para desencadenar descargas de potenciales de acción (excitación), lo que puede ocurrir en la naturaleza, especialmente en el desarrollo temprano (12). Un razonamiento similar se puede emplear para interpretar el efecto observado en el grupo de la PICROTOXINA (antagonista GABAA), solo que se trata de la activación de los receptores GABAB, ellos están acoplados a proteínas G (85); son considerados metabotrópicos, presinápticos que pueden suprimir la conductancia  $Ca^{+2}$  neuronal; como postsinápticos producen un incremento de la conductancia de membrana para el  $K^{+}$  y en asociación con hiperpolarización neuronal. (16, 85, 90, 147); por lo indicado anteriormente, su activación puede conducir a hiperpolarización mas lenta y facilitar la intervención de mecanismos despolarizantes que facilitarían una despolarización de menor magnitud, lo cual incrementaría en menor grado la amplitud por esta vía el GABA basal o endógeno.

Si el mismo análisis se realiza con los valores reportados en los grupos de pre tratamientos con los antagonistas, diseñados para evaluar la participación de los receptores en la acción del GABA exógeno, podemos señalar que el mayor incremento de la amplitud se localiza en el grupo donde se produjo el pre tratamiento con SACLOFEN, con receptores GABAA activos y el menor donde se empleo PICROTOXINA con receptores GABAB activos; en los dos casos se puede proponer la intervención de procesos despolarizantes que contribuyen al incremento de la amplitud. De este análisis se puede concluir que normalmente, el GABA basal y el exógeno median sus acciones sobre la amplitud de los potenciales de acción registrados de unidades barosensibles del NTS en ratas SHR, a través de la participación primariamente de los receptores GABAA y en segundo término de los GABAB.

Resumiendo, cuando se evalúa los efectos del GABA sobre la duración y la amplitud de los Potenciales de Acción de las neuronas barosensibles del NTS en las ratas SHR; encontramos que la reducción de la duración, en el caso del GABA endógeno la mediaron los receptores GABAA y GABAB, y caso del exógeno los receptores GABAB; mientras que el incremento en la amplitud se produjo por la activación del GABA endógeno y exógeno de los receptores GABAA.

La evaluación de los efectos del GABA sobre la duración y la amplitud de los Potenciales de Acción de las neuronas barosensibles del NTS en las ratas normotensas TABLAS XX y XXI, resultó en:

El GABA reduce la duración de los Potenciales de Acción de las neuronas barosensibles del NTS estudiadas; cuando se bloquearon los receptores GABAA con PICROTOXINA y estuvieron activos los GABAB, el GABA endógeno produjo la mayor reducción en relación a lo reportada en el grupo CONTROL; por otro lado, el efecto de bloquear con SACLOFEN y mantener activo los receptores GABAA produjo una menor disminución de la duración en comparación a la reportada en el grupo CONTROL, estos resultados se pueden interpretar señalando que el GABA basal redujo la duración de los Potenciales de acción registrados de neuronas barosensibles del NTS en ratas SD, a través de receptores GABAB primeramente y segundo lugar participaron los receptores GABAA. Estos resultados se pueden interpretar señalando que una reducción de la duración de los Pots.A estudiados se puede producir por una rápida hiperpolarización, ello puede ocurrir por incremento de la conductancia al ión  $K^+$  o por aumento de la del  $Cl^-$ , acciones que pueden ser generadas por la activación de los dos receptores de GABA, sin embargo, el aumento de la permeabilidad al ión potasio (activación de receptores GABAB) y en consecuencia una menor duración de la fase de repolarización puede contribuir a la reducción de la duración, mas rápido y en mayor proporción que la facilitada por la activación de los receptores GABAA, que incrementan la permeabilidad al ión Cloro, todo ello se puede derivar al analizar los datos relativos al GABA basal o endógeno la ratas normotensas. Cuando se analizaron los grupos de pre tratamientos con los antagonistas, diseñados para evaluar el efecto del GABA exógeno\_sobre la duración de los Pots. a estudiados en las ratas normotensas, encontramos que en ambos grupos se reportaron incrementos de la duración; el grupo donde se empleó PICROTOXINA, reportó el menor incremento de la duración y su monto fue igual a la reducción producida por el GABA, pareciera que el antagonista anuló el efecto del neurotransmisor exógeno, pero también en esta condición se encuentran activos los receptores GABAB , lo que nos permite señalar que el GABA exógeno parece mediar su efecto sobre la duración estudiada, primeramente a partir de los receptores GABAB, su activación hemos señalado incrementa la conductancia al ión  $K^+$

(16, 85, 90,147), lo que puede facilitar un menor tiempo de repolarización y de esta manera menor tiempo de duración del potencial; en el grupo de pre tratamiento con SACLOFEN se reportó una elevación significativa ( $p < 0,05$ ) de la duración estudiada, indicativo de una despolarización que favoreció al incremento de la duración, quizás por procesos de despolarización que se pueden generar por receptores GABAA al incrementar la conductancia del ión Cloro y reducir la diferencia entre el potencial de membrana y el nivel de disparo (12). El GABA (basal y exógeno) ejercen su efecto reductor sobre la duración de los Potenciales de acción, registrados de neuronas barosensibles del NTS en ratas SD, a través de receptores GABAA primeramente y segundo lugar de los receptores GABAB.

Al considerar el efecto del GABA sobre la amplitud de los Potenciales de Acción en unidades barosensibles del NTS en ratas normotensas, podemos señalar que los valores promedios de las amplitudes de los potenciales en los grupos GABA, SACLOFEN y el PICROTOXINA mostraron una tendencia a la reducción de las amplitudes observadas en el grupo CONTROL; destaca el resultado donde el GABA endógeno ejerce su efecto en mayor grado mediante receptores del tipo GABAB, cuyo bloqueo por SACLOFEN produjo la reducción de mayor magnitud ( $14 \text{ mv} \pm 0,6 \text{ mv} < 16 \text{ mv} \pm 0,9 \text{ mv}$ ) aunque no fue estadísticamente significativa. Además los valores reportados en los grupos donde se empleó el antagonista PICROTOXINA, muestran antagonismo a los efectos del GABA basal y el exógeno pero en menor magnitud, particularmente cuando se trata del endógeno. Se concluye que el GABA endógeno y el exógeno ejercen la reducción de la amplitud de los Potenciales de Acción registrados de unidades barosensibles del NTS de ratas normotensas, a través de la mediación de los receptores GABAB primariamente y secundariamente mediante los receptores GABAA.

Resumiendo, cuando se evalúa los efectos del GABA sobre la duración y la amplitud de los Potenciales de Acción de las neuronas barosensibles del NTS en las ratas normotensas, la reducción de la duración producidas por el GABA (basal y exógeno) fue mediada primariamente por los receptores GABAA; mientras que la reducción en la amplitud producida por GABA (basal y exógeno) fue mediada primariamente por la participación de receptores GABAB.

Comparando, los efectos del GABA sobre la duración y la amplitud de los Potenciales de Acción de las neuronas barosensibles del NTS en ratas hipertensas y normotensas, tenemos:

1.- El GABA tiende a reducir la duración de los Pots.A de NTS en las ratas SHR y normotensas, siendo significativa en las ratas SHR ( $p < 0,05$ ); mientras que incrementa la amplitud en las SHR y la reduce en las ratas normotensas.

2.- En relación a la duración, ocurrió una reducción de la duración en las dos cepas; en las ratas SHR, producida por el GABA endógeno la mediaron los receptores GABAA y GABAB; y la producida por el GABA exógeno la mediaron los receptores GABAB. En las ratas Sprague-Dawley estudiadas, la reducción producida por el GABA (basal y exógeno) fue mediada primariamente por los receptores GABAA.

3.- En relación a la amplitud; en las ratas SHR el incremento en la amplitud se produjo por la activación del GABA (basal y exógeno) de los receptores GABAA; en las ratas normotensas la reducción en la amplitud producida por GABA (endógeno y exógeno) fue mediada primariamente por la participación de receptores GABAB.

4.- Diferencias en los receptores que median la reducción de la duración de los potenciales estudiados cuando se evalúa el efecto del GABA exógeno, la diferencia en los efectos producidos por el GABA (basal y exógeno) sobre la amplitud y la diferencia en los receptores que median los efectos del GABA (basal y exógeno) sobre la amplitud de los Potenciales de acción estudiados, pueden servir para diferenciar las ratas normotensas de las hipertensas.

## **7.-COMPARACION DE LOS EFECTOS (EXPRESADOS EN %) DEL GLUTAMATO, NBQX, MK-801 y MgCl<sub>2</sub>, SOBRE LA DURACION Y LA AMPLITUD DE LOS POTENCIALES DE ACCION (Pots.A) DE NEURONAS DEL NTS EN RATAS HIPERTENSAS (SHR) Y NORMOTENSAS (SPRAGUE-DAWLEY).**

**7a.- Efectos (%) del GLUTAMATO y sus antagonistas sobre la duración de los Potenciales de Acción (Pots.A) de neuronas barosensibles del NTS en ratas hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley).**

Con la finalidad de comparar y establecer diferencias significativas en los efectos del GLUTAMATO basal y el exógeno sobre la duración de los Pots.A de neuronas barosensibles del NTS estudiadas en ratas hipertensas y normotensas, se procedió a expresar porcentualmente los cambios en la duración ocurridos por efecto de este neurotransmisor solo y bajo la acción de antagonistas con respecto al valor observado en el grupo control, así como con relación al valor observado en el grupo GLUTAMATO usando los antagonistas en pretratamientos.

El GLUTAMATO produce un aumento porcentual de la duración de los Pots.A de neuronas del NTS en las ratas hipertensas (SHR) y en las ratas normotensas una reducción, al comparar los valores observados entre los dos grupos de animales, los efectos no fueron estadísticamente significativos.

Cuando se empleó el antagonista NBQX, bloqueamos receptores No-NMDA, de esta manera el GLUTAMATO endógeno y el exógeno mediante receptores NMDA, produce incrementos porcentuales en la duración de los Pots.A en las ratas SHR y reducciones porcentuales en las Sprague-Dawley estudiadas; al comparar tales variaciones entre hiper y normotensas, encontramos que los incrementos observados en las ratas hipertensas son significativamente mayores que las reducciones observadas en las ratas normotensas, producidas por el GLUTAMATO basal ( $p < 0,05$ ) y el exógeno ( $p < 0,01$ ) respectivamente.

Cuando se empleó el antagonista MK-801, bloqueamos receptores NMDA y permanecen activos receptores No-NMDA; de esta manera el GLUTAMATO basal y el exógeno mediante receptores No-NMDA, produce incrementos porcentuales en la duración de los Pots.A en las ratas SHR y reducciones porcentuales en las Sprague-Dawley estudiadas; al comparar tales variaciones, encontramos que los incrementos observados en las ratas SHR son significativamente mayores que las reducciones observadas en las ratas SD, producidas por el GLUTAMATO basal ( $p < 0,01$ ) y el exógeno ( $p < 0,001$ ). Estos resultados permiten establecer un criterio para diferenciar las ratas hipertensas de las normotensas; esta vez, para el caso del GLUTAMATO (basal y el exógeno), los incrementos porcentuales observados en las duraciones de los Pots.A registrados de unidades barosensibles del NTS en ratas hipertensas

son estadísticamente mayores que las reducciones porcentuales de la duración observadas para las mismas unidades pero en las ratas normotensas.

Cuando se emplea el  $MgCl_2$  como bloqueador del canal iónico del NMDA, el  $Mg^{+2}$  actúa como un antagonista de este receptor, así bloqueamos los receptores NMDA y permanecen activos los receptores No-NMDA. De esta manera el GLUTAMATO basal y el exógeno mediante receptores No-NMDA, producen incrementos porcentuales en la duración de los Pots.A en las ratas SHR y reducciones porcentuales en las SD; al comparar tales variaciones entre los dos grupos de ratas, encontramos que los incrementos observados en las ratas hipertensas no son significativamente mayores que las reducciones observadas en las ratas normotensas.

#### **7b.- Efectos (%) del GLUTAMATO y sus antagonistas sobre la amplitud de los Potenciales de Acción (Pots.A) de neuronas barosensibles del NTS en ratas hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley).**

Con la finalidad de comparar y establecer diferencias significativas en los efectos del GLUTAMATO basal y el exógeno sobre la amplitud de los Pots.A de neuronas barosensibles del NTS estudiadas en ratas SHR y normotensas, se procedió a expresar porcentualmente los cambios en la amplitud ocurridos por efecto de este neurotransmisor solo y bajo la acción de antagonistas con respecto al valor observado en el grupo control, así como con relación al valor observado en el grupo GLUTAMATO usando los antagonistas en pre tratamientos.

El GLUTAMATO produjo un aumento porcentual de la amplitud de Pots.A de neuronas del NTS en las ratas hipertensas y en las ratas normotensas una reducción, al comparar los valores observados entre los dos grupos de animales, estos efectos no fueron estadísticamente significativos.

Cuando se analiza el efecto del GLUTAMATO basal y el exógeno sobre la variación porcentual de la amplitud, el GLUTAMATO basal mediante receptores NMDA produjo incremento y el exógeno reducción porcentual de la amplitud de los Pots.A en las ratas SHR; además el GLUTAMATO basal produce reducción y el exógeno incremento porcentuales en

las SD; al comparar tales variaciones, encontramos que los incrementos producidos por el GLUTAMATO endógeno en las ratas SHR son significativamente mayores que las reducciones generadas en las ratas Sprague-Dawley estudiadas ( $p < 0,05$ ) y en el caso del exógeno, la reducción producida en las ratas SHR es significativamente menor que el incremento observado en las ratas Sprague-Dawley estudiadas ( $p < 0,01$ ). Estos resultados, acerca del incremento porcentual de la amplitud de los Pots.A estudiados y producido por el GLUTAMATO basal en las ratas SHR son significativamente mayores que las reducciones porcentuales reportadas para Pots.A registrados en las ratas normotensas y para el caso del GLUTAMATO exógeno, la reducción porcentual de la amplitud producida en las ratas SHR fue significativamente menor al incremento porcentual observado en la amplitud de Pots.A registrados de unidades barosensibles del NTS de ratas Sprague-Dawley; ambos resultados sirven para determinar nuevos criterios de caracterización de las ratas hipertensas y las normotensas.

En presencia del  $MgCl_2$  el GLUTAMATO basal y el exógeno, mediante receptores No-NMDA, produjeron incrementos porcentuales en la amplitud de los Pots.A en las ratas hipertensas; mientras que en las normotensas, el endógeno produjo reducción y el exógeno incremento porcentual; al comparar tales variaciones entre los dos grupos de ratas, encontramos que el incremento observado en las ratas hipertensas en el caso del GLUTAMATO basal no es significativamente mayor que la reducción observada en las ratas normotensas; mientras que la reducción de la amplitud observada en las hipertensas y el incremento apreciado en las normotensas, ambos producidos por el GLUTAMATO exógeno no fueron estadísticamente significativos.

Integrando el efecto del GLUTAMATO sobre la variación porcentual de la duración de los Pots.A de neuronas barosensibles del NTS en ratas SHR y SD, podemos señalar para el caso del GLUTAMATO (basal y el exógeno), los incrementos porcentuales observados en las duraciones de los Pots.A registrados de unidades barosensibles del NTS en ratas hipertensas fueron significativamente mayores que las reducciones porcentuales de la duración observadas por las mismas unidades pero en las ratas normotensas; de esta manera estos

resultados permiten establecer un nuevo criterio para diferenciar los dos grupos de ratas. De igual manera, el incremento porcentual de la amplitud de los Pots.A estudiados y producido por el GLUTAMATO endógeno en las ratas hipertensas, los cuales fueron significativamente mayores que las reducciones porcentuales reportadas para Pots.A registrados en las ratas normotensas; junto con el efecto del GLUTAMATO exógeno, que produce la reducción porcentual de la amplitud en las ratas hipertensas y que fue significativamente menor al incremento porcentual observado en la amplitud de Pots.A registrados de unidades barosensibles del NTS de ratas normotensas; ambos efectos, sirven para determinar nuevos criterios de singularización de los dos grupos de ratas estudiados.

## **8.- COMPARACION DE LOS EFECTOS (EXPRESADOS EN %) DEL GABA, SACLOFEN Y PICROTOXINA SOBRE LA DURACION Y LA AMPLITUD DE POTENCIALES DE ACCION (Pots.A) DE NEURONAS BAROSENSIBLES DEL NTS EN RATAS HIPERTENSAS (SHR) Y NORMOTENSAS (SPRAGUE-DAWLEY).**

### **8a.- Efectos (%) del GABA y sus antagonistas sobre la duración de los Potenciales de acción (Pots. A) de neuronas barosensibles del NTS en ratas hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley).**

Al analizar los valores reportados en la TABLA XXIII, representativos de los efectos (expresados porcentualmente) del GABA (iotofóricamente microinyectado), el basal y el exógeno, sobre la duración de los Pots.A, observamos:

1.- El GABA microinyectado iotofóricamente produjo reducción porcentual de la duración de los potenciales estudiados en las cepas hipertensas y las normotensas; al comparar los valores no se pueden establecer criterios de diferenciación estadística entre los dos grupos de ratas.

2.- En las ratas hipertensas, el GABA endógeno, redujo porcentualmente la duración de los Pots.A estudiados, mediante la participación de los receptores GABAB y GABAA; mientras

que el exógeno, también redujo porcentualmente la duración, pero por la mediación primariamente de receptores GAABB. En las ratas normotensas, el GABA endógeno, incrementó porcentualmente la duración de los Pots.A estudiados, mediante la participación primaria de los receptores GABAB; mientras que el exógeno la redujo porcentualmente por la participación de receptores GABAB y la incrementa porcentualmente por la mediación de receptores GABAA.

3.- Al comparar entre los dos grupos de ratas, los efectos (expresados porcentualmente) del GABA endógeno sobre la duración de los Pots.A registrados de unidades barosensibles del NTS, encontramos que la reducción expresada en las ratas hipertensas y la elevación observada en las normotensas, no representa diferencia significativa.

4.- Al comparar entre los dos grupos de ratas, los efectos (expresados porcentualmente) del GABA exógeno sobre la duración de los Pots.A registrados de unidades barosensibles del NTS; encontramos que la reducción (mediada por receptores GABAB) expresada en las ratas hipertensas y la elevación (mediada por receptores GABAA) observadas en las normotensas por una lado y la reducción (mediada por receptores GABAB) observadas en las mismas ratas; no representaron la existencia de diferencias significativas entre los dos grupos de ratas, al considerar los efectos considerando la participación de los receptores. Los valores reportados del efecto del GABA basal y el exógeno, sobre la variación porcentual de la duración de los potenciales de acción registrados de unidades del NTS en los dos grupos de ratas estudiados, no fueron significativamente diferentes, por ello no permiten diferenciar las ratas hipertensas de las normotensas.

#### **8b.- Efectos (%) del GABA y sus antagonistas sobre la amplitud de los Potenciales de acción (Pots. A) de neuronas del NTS en ratas hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley).**

En las ratas hipertensas, el GABA iontoforéticamente inyectado, produjo un incremento porcentual en la amplitud de los Pots.A estudiados, mediante la activación de los tipos de

receptores GABAA y GABAB. En el caso del efecto del GABA basal, por la activación del receptor GABAA más que el GABAB, se incrementó porcentualmente la amplitud. Al considerar el efecto del GABA exógeno mediante la activación del GABAA aumentó porcentualmente la duración de los basal en neuronas del NTS; concluyéndose que ocurrió un predominio en la activación de los receptores GABAA en la mediación de los efectos del GABA sobre la variación porcentual de la amplitud de los Pots.A estudiados en las ratas hipertensas estudiadas.

En las ratas normotensas, la interpretación de los datos, permitió considerar que el GABA iontoforéticamente microinyectado, produjo una reducción porcentual en la amplitud de los Pots.A estudiados, mediante la participación de los dos tipos de receptores. El GABA basal produjo una reducción porcentual de la amplitud mediante la activación del receptor GABAA; mientras que el exógeno se manifestó por incremento porcentual mediado por la activación del receptor GABAA y reducción porcentual de la amplitud mediado por la activación del receptor GABAB; en conclusión el GABA mediante una mayor activación de los receptores GABAB produjo una reducción porcentual de las amplitudes de los Pots.A estudiados en las ratas normotensas.

Cuando se compararon los valores del GABA iotoforéticamente microinyectado, el basal y el exógeno al afectar porcentualmente la amplitud de los Pots.a estudiados en las neuronas barosensibles del NTS de los dos grupos de ratas se apreciaron varios resultados. El GABA microinyectado iotoforéticamente, en las ratas SHR produjo un incremento porcentual de la amplitud de los Pots.A estudiados, mientras que en las ratas SD, generó una reducción; la comparación de estos valores nos revelo que tales efectos no son estadísticamente diferentes. Por otro lado el GABA basal activando receptores GABAA produjo un incremento porcentual de la amplitud de los Pots.A estudiados en ratas SHR, este efecto fue significativamente mayor a la reducción porcentual observada en Pots.A registrados de neuronas barosensibles del NTS en ratas SD, a un nivel de  $p < 0,01$ . Adicionalmente, el GABA exógeno activando receptores GABAB produjo un incremento porcentual de la amplitud de los Pots.A estudiados en ratas SHR, fue significativamente mayor a la reducción porcentual observada en Pots.A registrados

de neuronas barosensibles del NTS en ratas SD, a nivel de  $p < 0,05$ . Por todo lo anterior se puede sostener, que el GABA basal y exógeno produjeron significativamente mayores variaciones porcentuales en la amplitud de Pots.A registrados en neuronas barosensibles del NTS en las ratas hipertensas; mientras que en los casos del GABA iotofóricamente microinyectado, los cambios producidos no fueron significativos al compararse los valores respectivos en las dos grupos de ratas.

Integrando, el efecto del GABA (iontoforéticamente microinyectado) sobre la variación porcentual de la duración de los Pots.A de neuronas barosensibles del NTS en ratas SHR y SD, se caracterizó porque en las ratas hipertensas el incremento porcentual de la duración ocurre con un predominio en la mediación de los receptores GABAB; mientras que en las ratas normotensas se reportó una reducción sin un predominio de receptores; sin embargo, cuando se compararon los efectos del GABA en las dos grupos de ratas, comprobamos que no existían diferencias significativas. Al considerar el efecto del GABA (endógeno) sobre la variación porcentual de la amplitud de los Pots.A de las mismas neuronas barosensibles del NTS en ratas SHR y Sprague-Dawley estudiadas, este se caracterizó porque en las ratas SHR el incremento porcentual de la amplitud ocurre sin predominio en la mediación de alguno de los receptores; mientras que en las ratas normotensas se reportó un predominio de receptores en la variaciones porcentuales de la amplitud registradas; sin embargo, cuando se compararon los efectos del GABA en los dos grupos, comprobamos que el incremento porcentual de la amplitud de los Pots.A producido por el GABA endógeno y la mediación de receptores GABAA en ratas SHR fue significativamente mayor a la reducción observada en Pots.A registrados de neuronas barosensibles del NTS en ratas normotensas; por otro lado, el incremento porcentual de la amplitud de los Pots.A producido por el mismo tipo de GABA y la mediación de receptores GABAB en ratas hipertensas fue significativamente mayor que la reducción observada en Pots.A registrados de neuronas barosensibles del NTS en ratas normotensas.

Los resultados reportados para el caso del GABA basal en relación al incremento de la amplitud ocurridos en las ratas hipertensas son significativamente mayores a los reportados

en las ratas normotensas, mientras que en los casos del GABA iotofóricamente microinyectado y el exógeno, al compararse los valores respectivos en los dos grupos de ratas, los cambios producidos no fueron significativos; de esta manera los cambios en la amplitud producidos por el GABA endógeno, permiten determinar un criterio adicional para identificar las ratas hipertensas y las normotensas.

## CONCLUSIONES

1.- La inyección de 3  $\mu$ l de GLUTAMATO (0,5M) a nivel del NTS produjo el aumento significativo de las presiones arteriales Sistólica (PS) y Diastólica (PD), además de incrementar aunque no significativamente la Presión media (PM) y y la frecuencia cardiaca (FC) en las ratas hipertensas (SHR). Adicionalmente, en las ratas normotensas (Sprague-Dawley). una cantidad igual de Glutamato (0,5M) incrementó significativamente la presión arterial Sistólica (PS) y ocasionó incrementos no significativos en los otros dos valores de presión y la FC.

2.- La inyección de 3  $\mu$ l de GABA (0,5M) a nivel del NTS produjo una disminución significativa de la presión arterial Sistólica (PS) en las ratas hipertensas, mientras que en las normotensas estudiadas redujo significativamente la presión arterial Diastólica.

3.-Se apreció un patrón gaussiano en la curva dosis respuesta (frecuencia de descarga de neuronas barosensibles del NTS vs dosis del neurotransmisor) a GLUTAMATO, con una descarga máxima a un valor medio de 70 nA (medida de la dosis de GLUTAMATO inyectado por microiontoforesis) en las ratas normotensas(Sprague-Dawley) estudiadas y otro con valores medio superiores a 70 nA en las ratas espontáneamente hipertensa(SHR); indicando posiblemente la presencia de un mecanismo que limita la actividad de las neuronas barosensibles del NTS a la excitación excesiva en las ratas normotensas y en menor grado en las hipertensas.

4.- Se apreció un patrón gaussiano en la curva dosis respuesta (frecuencia de descarga de neuronas barosensibles del NTS vs dosis del neurotransmisor) al GABA con reducciones máximas de la descarga a un valor medio de 80 nA (medida de la dosis de GABA inyectado por microiontoforesis) en las ratas normotensas y de 70 nA en las hipertensas estudiadas.

5.- El GLUTAMATO (basal y el exógeno) incrementan la frecuencia de descarga de las neuronas del NTS en ratas hipertensas, predominantemente por la activación de receptores

del tipo No-NMDA; contrariamente en las ratas normotensas, el GLUTAMATO basal ejerce su acción a través de receptores del tipo NMDA y el exógeno mediante receptores No-NMDA.

6.- El GABA (basal y el exógeno) parecen mediar su acción inhibitoria sobre la frecuencia de descarga de las neuronas del NTS de las ratas espontáneamente hipertensas y las normotensas, mayormente a través de receptores GABAB.

7.-El GLUTAMATO tiende a no cambiar la duración de los potenciales de acción en las ratas hipertensas y disminuirla en las normotensas.

8.-El GLUTAMATO aumenta la amplitud de los potenciales de acción en las ratas hipertensas y la reduce en las normotensas.

9.- Los receptores a GLUTAMATO sensibles específicamente al antagonista NBQX son los que median en ambos grupos de ratas los efectos de este neurotransmisor sobre la duración y la amplitud de los potenciales de acción registrados en el NTS.

10.- El GABA reduce la duración de los Potenciales de Acción de NTS en las ratas espontáneamente hipertensas y las normotensas.

11.- El GABA incrementa la amplitud de los Potenciales de Acción estudiados en las hipertensas y la reduce en las normotensas.

12.- En el accionar del GABA sobre la duración de los Potenciales de Acción de neuronas barosensibles del NTS en las ratas estudiadas; se observó que los receptores GABAA, median el efecto del GABA exógeno y los GABAB, median el efecto del GABA basal en las hipertensas; mientras que los GABAB contribuyen a los efectos del GABA (basal y el exógeno) en las normotensas.

13.- El GLUTAMATO tiende a incrementar porcentualmente la duración de los potenciales de acción registrados en el NTS de las ratas hipertensas y disminuirla porcentualmente en los registrados en el mismo núcleo pero de las normotensas.

14.- El incremento porcentual en la duración de los Potenciales de Acción estudiados, producido por el GLUTAMATO endógeno con la mediación de los receptores No-NMDA y del exógeno, con la participación de los receptores NMDA, en las ratas hipertensas fue significativamente mayor que en las normotensas.

15.- El efecto del GABA endógeno de incrementar porcentualmente la amplitud en los Potenciales de Acción estudiados, mediante la participación de los receptores GABAA en las ratas hipertensas, fue significativamente mayor que la reducción observada en las normotensas.

16.- Los efectos del GABA (exógeno y el endógeno) de reducir porcentualmente la duración de los Potenciales de acción estudiados en las ratas hipertensas no fueron significativamente diferentes de los observados en las normotensas.

## RECOMENDACIONES

- 1.- Realizar estudios de microinyección intranuclear de los neurotransmisores, además de la microinyección por iontoforesis de los mismos y sus antagonistas, en neuronas de las ratas hipertensas (SHR) y normotensas (Sprague-Dawley) pero de los núcleos bulbares, Núcleo Ventrolateral Rostral bulbar (VLRB), el Núcleo Ventrolateral Intermedio (VLIB) y el Núcleo Ventrolateral Caudal bulbar (VLCB) para evaluar efectos sobre la frecuencia cardíaca, la presión arterial, la frecuencia de descarga, la duración y la amplitud de los potenciales de acción de unidades barosensibles de los núcleos estudiados.
- 2.- Realizar estudios similares a los realizados, en neuronas de los núcleos del Tracto Solitario (NTS), (VLRB), (VLIB) y (VLCB) empleando un mayor número de antagonistas y agonistas; considerando aquellos más eficientes en su acción como antagonistas de los neurotransmisores GLUTAMATO, GABA, particularmente antagonistas de receptores a Glutamato del tipo Metabotrópicos.
- 3.- Realizar un estudio similar en neuronas del NTS, VLRB, VLIB y VLCB en ratas normotensas (Sprague-Dawley) bajo un régimen de dietas hiper e hiposódica.
- 4.- Realizar estudios similares en neuronas del NTS, VLRB, VLIB y VLCB en ratas Wistar-Kyoto.
- 5.- Explorar la posibilidad de realizar estos estudios en ejemplares de ratas SHR, Wistar Kyoto o Sprague-Dawley manipulados genéticamente para eliminar alguno de los receptores a los neurotransmisores..
- 6.- Realizar estos estudios en otros modelos de hipertensión en animales.
- 7.- Realizar estos estudios en animales sometidos a algún protocolo de ejercicio físico.

8.- Realizar estudios similares en modelos de animales con el síndrome metabólico, diabetes o alguna patología que pueda relacionarse con la hipertensión arterial.

9.- Realizar estudios similares en animales SHR, Sprague-Dawley y Wistar Kyoto evaluando efectos de metales sobre la presión arterial.

10.- Realizar estudios similares en animales SHR, Sprague-Dawley y Wistar Kyoto evaluando extractos vegetales con propiedades depresoras o hipertensoras.

## REFERENCIAS

1. Abdala AP, McBryde FD, Marina N, Hendy EB, Engelman ZJ, Fudim M, Sobotka PA., Gourine AV. and Paton JFR. (2012). Hypertension is critically dependent on the carotid body input in the spontaneously hypertensive rat. *J Physiol* 590:17 pp. 4269–4277 4269.
2. Andresen MC, Yang M., (1990) Non-NMDA receptors mediate sensory afferent synaptic transmission in medial nucleus tractus solitaries. *Am. J. Physiol.* 259 (Heart Circ.Physiol.28):H1307-H1311.
3. Andresen MC, Doyle MW, Jin YH y Bailey TW (2001) Cellular Mechanisms of Baroreceptor Integration at the Nucleus Tractus Solitarius. *Ann N.Y.Acad.Sci.* Jun,940:132-41.
4. Andresen MC, Yang M (1990) Non-NMDA receptors mediate sensory afferent synaptic transmission in medial nucleus tracts solitarius. *Am. J.(Heart Circ.Physiol.)* 259(8):H1307-H1311.
5. Armstrong, N, Gouaux, E. (2000). Mechanisms for activation and antagonism of an AMPA-sensitive glutamate receptor: crystal structures of the GluR2 ligand binding core. *Neuron*, 28, 165–181.
6. Armstrong N., Sun Y, SUN, Y., Chen, G.Q. & Gouaux, E. (1998). Structure of a glutamate-receptor ligand-binding core in complex with kainate. *Nature*, 395, 913–917.
7. Arnolda L, Minson J, Kapoor V, Pilowski P, Llewellyn-Smith I, Chalmers J.(1992) Amino acid neurotransmitters in hypertension. *Kidney Int Suppl Jun;37:S7-7.*
8. Audition 1.5 build 4124.1 [Audition\1.5]
9. Augustine GJ. (2007) Unidad I: Señalización Neural. Cap. 6. Neurotransmisores y sus receptores. *Neurociencia*. Purves. Augustine. Fitzpatrick. Hall. LaMantia. McNamara. Williams. Editorial Médica Panamericana. Pags.141-178
10. Balan JA, Caous CA, Yun-Gou Yu y Charles JL.(2004) Barosensitive neurons in the rat tractus solitarius and paratrigeminal nucleus: a new model for medullary, cardiovascular reflex regulation. *Can.J. Physiol. Pharmacol.* Jul;82(7):474-84
11. Barral J, Toro S, Galarraga E, and Bargas J (2000) GABAergic presynaptic inhibition of rat neostriatal afferents is mediated by Q-type  $Ca^{2+}$  channels. *Neurosci Lett* **283**:33–36.

12. Ben-Ari Y (2002). Excitatory actions of GABA during development: the nature of the nurture. *Nat Rev Neurosci* 3:728–739.
13. Berger AJ. (1979). Distribution of carotid sinus nerve afferent fibers to solitary tract nuclei of the cat using transganglionic transport of horseradish peroxidase. *Neuroscience Letters*. Volume 14, Issues 2–3, October, Pages 153–158.
14. Bhabnuri NH, Okamura AM, y Bastian AJ. (2013). Predictive modeling by the cerebellum improves proprioception. *J Neurosci*. Sep 4; 33(36):14301-6.
15. Borboni P, Porcio O, Fusco A, Sesti G, Lauro R, Marlier LN (1994) Molecular and cellular characterization of the GABAA receptor in the rat pancreas. *Mol Cell Endocrinol* 103:157–163.
16. Bowery NG, Bettler B, Froestl W, Gallager JP, Marshall F, Raiteri M, Bonner TI, Enna SJ (2002) International Union Pharmacology. XXXIII. Mammalian  $\gamma$ -aminobutyric acidB receptors: structure and function. *Pharmacol Rev* 54:247–264.
17. Bowery NG, Smart TG. (2006). GABA and glycine as neurotransmitters: a brief history. *British Journal of Pharmacology* 147, S109-S119.
18. Bowery NG, Hudson AL, Price GW. (1987) GABAA and GABAB receptor site distribution in the rat central nervous system. *Neuroscience*. Feb; 20(2):365-83.
19. Braga VA, Soriano RN, Braccialli AL, de Paula PM, Bonagamba LGH, Paton JFR, and Machado HB (2007). Involvement of L-glutamate and ATP in the neurotransmission of the sympathoexcitatory component of the chemoreflex in the commissural nucleus tractus solitarii of awake rats and in the working heart-brainstem preparation. *J. Physiol*. Jun15, 581 (Pt 3):1129-45.
20. Breitinger HG, Becker CM. (2002).The inhibitory glycine receptor simple views of a complicated channel. *Chembiochem* 3:1042–1052.
21. Brooks PA, Glaum SR, Miller RI, Spyer KM (1982). The actions of baclofen on neurons and synaptic transmission in the nucleus tractus solitarius of the rat in vitro. *J Physiol (Lond)* 457:115-129.
22. Brown AM, Saum WR, Tuley FH (1976) A comparison of aortic baroreceptor discharge in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Circ. Res.* 39:488-96.

23. Butcher JW, Kasparov S, Paton JFR (1999) Differential effects of apamin on neuronal excitability in the nucleus tractus solitarius studied in vitro. *J.Auton.Nerv.Sys.*77:90-97.
24. Calver AR, Robbins MJ, Cosio C, Rice SQ, Babbs AJ, Hirst WD, Boyfield I, Wood MD, Russell RB, Price GW, Couve A, Moss SJ, Pangalos MN.(2001). The C-terminal domains of the GABA(b) receptor subunits mediate intracellular trafficking but are not required for receptor signaling. *J Neurosci.* Feb 15;21(4):1203-10.
25. Catelli JM, Sved AF (1988) Enhanced pressor response to GABA in the nucleus tractus solitarii of the spontaneously hypertensive rat. *Eur J Pharmacol* 151: 243-248.
26. Chao-Yin Chen, Ann Bonham (2006) Glutamate suppresses GABA release via presynaptic metabotropic glutamate receptors at baroreceptor neurons in rats. *J.Physiol* 562.2 pp.535-551.
27. Chao-Yin Chen, Bechtold AG, Tabor J. y Bonham A. (2009) Exercise Reduces GABA Synaptic Input onto Nucleus Tractus Solitarii Baroreceptor Second-Order Neurons via NK1 Receptor Internalization in Spontaneously Hypertensive Rats. *The Journal of Neuroscience*, March 4, 29(9):2754-2761
28. Chen PE, Wyllie DJ (2006). Pharmacological insights obtained from structure-function studies of ionotrópico glutamate receptors. *Br J Pharmacol* 147:839–853.
29. Chu DC, Albin RL, Young AB, Penney JB. (1990). Distribution and kinetics of GABAB binding sites in rat central nervous system: a quantitative autoradiographic study. *Neuroscience.* 34(2):341-57.
30. Ciriello J. (1980). Brainstem projections of aortic baroreceptor afferent fibers in the rat. *Neurosci. Lett.* 36:37-42.
31. Ciriello J, Hryciyshyn AW, Calaresu FR.(1981). Horseradish peroxidase study of brain stem projections of carotid sinus and aortic depressor nerves in the cat. *J Auton Nerv Syst.* Jun; 4(1):43-61.
32. Código de Ética para la Vida (2010). Capítulo 3. Normas para la utilización de animales en investigación. Páginas 61-67. Editado por el Ministerio del Poder Popular para la Ciencia, Tecnología e Industrias Intermedias del Gobierno Bolivariano de Venezuela.
33. Colombari E, Sato AM, Cravo SL, Beramaschi CT Campos Jr.RR y Lopes OU (2001) Role of the Medulla Oblongata in Hypertension. *Hypertension*; 38:549.

34. Davies PA, Wang W, Hales TG, Kirkness EF (2003) A novel class of ligand-gated ion channel is activated by Zn<sup>2+</sup> J Biol Chem 278:712–717.
35. Davies RO, Madhu K. (1981). Carotid sinus nerve projections to the brain stem in the cat. Brain Research Bulletin. Volume 6, Issues 4–6, April, Pages 531–541.
36. Degtyarenko AM, Kaufman MP. (2005b) “Barosensory cells in the nucleus tractus solitaries receive convergent input from group III muscle afferents and central command” Neuroscience 140:1041-1050.
37. Degtyarenko AM, Kaufman MP. (2005a) “MLR-induced inhibition of barosensory cells in the NTS” Am.J. Physiol. Heart Circ. Physiol 289:H2575-H2584.
38. Deuchars J, Li Y-W, Kasparov S, Paton JFR (2000a) Morphological and electrophysiological properties of physiologically characterized baroreceptive neurons in the dorsal vagal complex of the rat. J.Comp.Neurol.417:233-249.
39. Deuchars J, Li Y-W, Kasparov S, Paton JFR (2000b) Morphology of neurons in the nucleus tractus solitarius (NTS) of the rat receiving afferent input from peripheral arterial chemoreceptors. J.Physiol. 523.P:265P.
40. Dietrichs E, Haines DE. (2002). Possible pathways for cerebellar modulation of autonomic responses: micturition. Scand J Urol Nephrol Suppl. (210):16-20.
41. Doba N, Reis DJ (1973). Acute fulminating neurogenic hypertension produced by brainstem lesions in the rat. Circ.Res, 32:584-593.
42. Donoghue S, Fox RE, Kidd C, McWilliam PN (1981) The terminations and secondary projections of myelinated and non-myelinated fibers of the aortic nerve in the cat. Q.J. Exper.Physiol. 66:405-22.
43. Donoghue S, Garcia M, Jordan D, Spyer K. (1982). Identification and brain-stem projections of aortic baroreceptor afferent neurones in nodose ganglia of cats and rabbits. J. Physiol. 322:337-53.
44. Drew CA, Jonhston GA, Kerr DJ, Ong. J.( 1990) Inhibition of baclofen binding to rat cerebellar membranes by phaclofen, saclofen, 3-aminopropylphosphonic acid and related GABAG receptor antagonists.Neurosci Lett. May 18:113(1)107-10.
45. Drewe JA, Childs GV, Kunze DL (1988) Synaptic transmission between dissociated adult mammalian neurons and attached synaptic boutons. Science 241: 1810-13.

46. Drewe JA, Miles R, Kunze DL (1990) Excitatory amino acid receptors of guinea pig medial nucleus tractus solitarius neurons. *Am. J. Physiol. (Heart Circ. Physiol.)* 259(28):H1389-H1395.
47. Dufour A, Tell F, Kessler J-P, Baude A (2010). Mixed GABA-glycine synapses delineate a specific topography in the nucleus tractus solitarii of adult rat. *J Physiol* 588. 7 pp 1097-1115.
48. Durgam VR, Vitela M, Mifflin SW (1999) Enhanced gamma aminobutyric acid-B receptor agonist response and m RNA within the nucleus of the solitary tract in hypertension. *Hypertension* Jan ;33(1 part 3):530-6.
49. Emma JS, Maqbool A, Saha S, Batten TFC (2008) .Increased GABAB Receptor Subtype Expression in the Nucleus of the Solitary Tract of the Spontaneously Hypertension Rat. *Journal Molecular Neuroscience*. 35:2:June 211-234.
50. Enna SJ, Bowery NG (1997) *The GABA Receptors*, 2nd ed, Humana Press, Totowa, NJ.
51. Enna SJ (2000) Editorial. *J Pharmacol Exp Ther*. Jan; 292(1):1-2.
52. Fairfax BP, Picher JA, Scott MG, Calver AR, Pangalos MN, Moss SJ, Couve A (2004). Phosphorylation and chronica agonist treatment atypically modulate GABAB receptor surface stability. *J Biol Chem*: 279;12565-12573.
53. Fan, W, Schild JH, Andresen MC. (1999). Graded and dynamic reflex summation of myelinated and unmyelinated rat aortic baroreceptors. *Am. J. Physiol.* 277 *Regulatory Integrative Comp. Physiol.* 46): R748–R756.
54. Fazan VPS, Salgado HC. Barreira AA. (1997). A Descriptive and Quantitative Light and Electron Microscopy Study of the Aortic Depressor Nerve in Normotensive Rats. *Hypertension*. 30: 693-698.
55. Foley CM, Vogl HW, Mueller PJ y cols. (1999) Cardiovascular response to group I metabotopica glutamate receptor activation in NTS. *Am. J. Physiol* 276:R1469-R1478.
56. Frandsen A., Pickering, D.S., Vestergaard, B., Kasper, C.,Nielsen, B.B., Greenwood , J.R., Campiani, G., Fattorusso C., Gajhede , M., Schousboe, A. & Kastrop, J.S. (2005).Tyr702 is an important determinant of agonist binding and domain closure of the ligand-binding core of GluR2. *Mol. Pharmacol.*, 67, 703–713.

57. Furukawa, H, Gouaux, E. (2003). Mechanisms of activation, inhibition and specificity: crystal structures of the NMDA receptor NR1 ligand-binding core. *EMBO J.*, 22, 2873–2885.
58. Furukawa, H., Singh, SK., Mancusso, R, Gouaux, E.(2005). Subunit arrangement of and function in NMDA receptors. *Nature*, 438, 185–192.
59. G-Prime v 1.3.1: Gust Lott - GKLG@cornell.edu Spring 2007. Cornell University.
60. Gentry C, Urban L, et al. (2001) Epilepsy, hyperalgesia, impaired memory and loss of pre- and postsynaptic GABAB responses in mice lacking GABAB(1). *Neuron***31**:47–58.
61. Glaum SR, Miller RJ (1992) Metabotropic glutamate receptors mediate excitatory transmission in the nucleus of the solitary tract. *J. Neurosci.* 12:2251-2258.
62. Gouaux, E. (2004). Structure and function of AMPA receptors. *J. Physiol.*, 554, 249–253.
63. Goutman JD, Calvo DJ (2004) Studies on the mechanisms of action of picrotoxin, quercetin and pregnanolone at the GABA $\rho$  receptor. *British Journal of Pharmacology*. 141:717-727.
64. Gross PM, Wall KM, Pang JJ, Shaver SW, Wainman DS (1990) Microvascular specializations promoting rapid interstitial solute dispersion in nucleus tractus solitarius. *Am. J. Physiol.* 259:R1131-38.
65. *Guia para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio* (2011). Capitulo 2. Animal Care and Use Program. Páginas 11-40. Sociedad Americana de Fisiología.
66. Hagura N, Oschida Y, Aramaki Y, Okada T, Matsumura M, Sadalo N y Naito E. (2009). Visuokinesthetic perception of hand movement is mediated by cerebro-cerebellar interaction between the left cerebellum and right parietal cortex. *Cereb Cortex*. Jan;19(1):176-86.
67. Harayama N, Shibuya I, Tanaka K, Kabashima N, Ueta Y, Yamashita H (1998). Inhibition of N- and P/Q-type calcium channels by postsynaptic GABAB receptor activation in rat supraoptic neurones. *J Physiol* 509:371–383.
68. Haywood JR, Mifflin SW, Craig T, Calderon A, Hensler JG, Hinojosa-Laborde C (2001).  $\gamma$ -Aminobutyric Acid (GABA)-A function and binding in the paraventricular nucleus of the hypothalamus in chronic renal-wrap hypertension. *Hypertension* 37:614-618.

69. Herin GA, Aizenman E. (2004). Amino terminal domain regulation of NMDA receptor function. *Eur J Pharmacol*, 500,101–111.
70. Hill DR, Bowery NG (1981). 3H-baclofen and 3H-GABA bind to bicuculline-insensitive GABAB sites in rat brain. *Nature (Lond)* 290:149–152.
71. Hogner A, Greenwood JR, Liljefors T, Lunn ML, Egebjerg J, Larsen IK, Gouaux E, Kastrop JS.(2003). Competitive antagonism of AMPA receptors by ligands of different classes: crystal structure of ATPO bound to the GluR2 ligand-binding core, in comparison with DNQX. *J Med Chem.* Jan 16;46(2):214-21.
72. Holm, MM., Naur, P., Vestergaard, B., Geballe, MT., Gajhede, M., Kastrop, JS., Traynelis, SF., Egebjerg, J. (2005). A binding site tyrosine shapes desensitization and agonist potency at the AMPA receptor GluR2: a mutagenic, kinetic and crystallographic study. *J. Biol. Chem.*, 280, 35469–35476.
73. Hsin-Yung Chen, Jin-Shang Wu, Jia-Jin Jason Chen, Juei-Tang Cheng (2008) Impaired regulation function in cardiovascular neurons of nucleus tractus solitarii in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neuroscience Letters* 431:161-166.
74. Jin R, Banke TG, Mayer ML, Traynelis SF & Gouaux E (2003). Structural basis for partial agonist action at ionotropic glutamate receptors. *Nat. Neurosci*, 6, 803–810.
75. Jin R, Clark S, Weeks AM, Dudman JT, Gouaux E. & Partin KM (2005). Mechanism of positive allosteric modulators acting on AMPA receptors. *J. Neurosci.*, 25, 9027–9036.
76. Jones JV, Thoren PN. (1977) Characteristic of aortic baroreceptors with non-modulated afferents arising from aortic arch of rabbits with chronic renovascular hypertension. *Acta Physiol Scand*: 101; 286-296.
77. Kagiya S, Tsuchihashi T, Phillips MI, Abe I, Matsumura K, and Fujishima M. (2001) Magnesium decreases arterial pressure and inhibits cardiovascular responses induced by N-methyl-D-aspartate and metabotropic glutamate receptors stimulation in rostral ventrolateral medulla. *J.Hypertens*.Dec:19(12):2213-9.
78. Kalia M, Welles R. (1980). Brain stem projections of the aortic nerve in the cat: a study using tetramethyl benzidine as the substrate for horseradish peroxidase. *Brain Res.* 188:23-32.
79. Kaila K, Lamsa K, Smirnov S, Taira T, Voipio J (1997) Long-lasting GABA-mediated depolarization evoked by high-frequency stimulation in pyramidal neurons of rat

hippocampal slice is attributable to a network-driven, bicarbonate-dependent K<sup>+</sup> transient. *J Neurosci* 17:7662–7672.

80. Kalia M., Welles R. (1980) Brain stem projections of the aortic nerve in the cat: a study using tetramethyl benzidine as the substrate for horseradish peroxidase. *Brain Res.* 188:23-32.
81. Kandel ER, Siegelbaum ST. (2000). Parte III. Interacciones elementales entre neuronas: transmisión sináptica. Integración Sináptica. Principios de Neurociencia. Cuarta edición. Erick Kandel. James H.Schwartz. Thomas M.Jessell. Pags. 207-228.
82. Kapoor V, Kapoor R, Chalmers J. (1994) Kynurenic acid, an endogenous glutamate antagonist, in SHR and WKY rats: possible role in central blood pressure regulation. *Clin.Exp.Pharmacol.Physiol.* Nov;21(11):891-6.
83. Kapov V, Kapoor R.(1998) Enhanced sensitivity of medullary depressor neurons to N-methyl-D-aspartate glycine site antagonists in the spontaneously hypertensive rat. *Clin.Exp.Pharmacol Physiol.*Mar-Apr;25(3-4):216-9.
84. Kapov V, Kapoor R, Chalmers JP.(1996) Altered responsiveness of mdullary depressor neurones to L-glutamate and D-serine in SHR rats. *Neuroreport.* May 31.7(8):1409-12.
85. Karbon EW, Enna SJ (1985) Characterization of the relationship between gamma-aminobutyric acid B agonists and transmitter-coupled cyclic nucleotidegenerating systems in rat brain. *Mol Pharmacol* 27:53–59.
86. Kaupmann K, Huggel K, Heid J, Flor PJ, Bischoff S, Mickel SJ, McMaster G, Angst C, Bittiger H, Froestl W, and Bettler B (1997) Expression cloning of GABAB receptors uncovers similarity to metabotropic glutamate receptors. *Nature (Lond)* 386:239–246.
87. Kerr DIB, Ong J, Johnston GAR, Abbenante J, Prager RH (1988) 2-Hydroxysaclofen: an improved antagonist at central and peripheral GABAB receptors. *Neurosci Lett* 92:92–96.
88. Kerr DIB, Ong J, Prager RH, Gynther BD, Curtis DR (1987) Phaclofen: a peripheral and central baclofen antagonist. *Brain Res* 405:150–154.
89. Khakh BS, North RA.(2006) P2X receptors as cell-surface ATP sensor in health and disease. *Nature* 442/3:527–532.
90. Knight AR, Bowery NG (1996) The pharmacology of adenylyl cyclase modulation by GABAB receptors in rat brain slices. *Neuropharmacology* 35:703–712.

91. Kubo T, Kihara M., (1987) Evidence for the presence of GABAergic and glycine-like systems responsible for cardiovascular control in the nucleus tractus solitarius of the rat” *Neurosci. Lett.*74:331-336.
92. Kubo T, Kihara M., (1988) Evidence for  $\gamma$ -aminobutyric acid receptor-mediated modulation of the aortic baroreceptor reflex in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Neuroscience Letters*, 89:156-160.
93. Li B-Y, Qiao G-F, Feng B, Zhao R-B, Lu Y-J, Schild JH. (2008). Electrophysiological and neuroanatomical evidence of sexual dimorphism in aortic baroreceptor and vagal afferents in rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 295: R1301–R1310.
94. Leone C, Gordon FJ (1989) Is L-glutamate a neurotransmitter of baroreceptor information in the nucleus of tractus solitarius? *J.Pharmacol. Exp. Ther.* 250:953-62.
95. Loewy AD (1990) Central autonomic pathways. In *Central Regulation of Autonomic Functions*, ed. AD Loewy, KM Spyer, pp. 88-103. New York Oxford Univ. Press.
96. Lorente P, Lacampagne A, Pouzeratte Y, Richards S, Malitschek B, Kuhn R, Bettler B, Vassort G (2000) Gamma-aminobutyric acid type B receptors are expressed and functional in mammalian cardiomyocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* **97**:8664–8669.
97. Lukas, RJ, Bencherif, M (2006). Recent developments in nicotinic acetylcholine receptor biology. In: Arias, HR., editor. *Biological and Biophysical Aspects of Ligand-gated Ion Channel Receptor Superfamilies*. Research Signpost; Kerala, India: p. 2-33.
98. Macdonald RL, Olsen RW (1994). GABAA receptor channels. *Annu Rev Neurosci* 17:569–602.
99. Machado BH, Bonagamba LGH (1992) Microinjection of L-glutamate into the nucleus tractus solitarius increases arterial pressure in conscious rats. *Brain Res.* 576:131-38.
100. Margeta-Mitrovic M, Jan YN, Jan LY.(2000). A trafficking checkpoint controls GABA(B) receptor heterodimerization. *Neuron.* Jul;27(1):97-106.
101. Marty A, Llano I. (2005) Excitatory effects of GABA in established brain networks. *Trends Neurosci.*28:284–289.
102. Masubuchi Y, Tsukamoto K, Isogai O, Yajima Y, Ito S, Saito S, Uchiyama T. (2004) Effect of a high-salt diet on  $\gamma$ -aminobutyric acid-mediated responses in the nucleus tractus solitarius of Sprague-Dawley rats. *Brain Research Bulletin* 64:221-226.

103. Mayer, M.L, Armstrong, N. (2004). Structure and function of glutamate receptor ion channels. *Annu. Rev. Physiol.*, 66, 161–181.
104. Mayer ML. (2005). Glutamate receptor ion channels. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 15, 282–288.
105. Mayer ML. (2005). Crystal structures of the GluR5 and GluR6 ligand binding cores: molecular mechanisms underlying kainite receptor selectivity. *Neuron*, 45, 539–552.
106. McCarson KE, Enna SJ (1999) Nociceptive regulation of GABAB receptor gene expression in rat spinal cord. *Neuropharmacology* **38**:1767–1773.
107. McDonald DM. (1983). Morphology of the rat carotid sinus nerve. I. Course, connections, dimensions and ultrastructure. *J Neurocytol. Jun*:12(3):345-72.
108. Meely MP, Underwood MD, Talman WT, Reis DJ (1989) Content and in vitro release of endogenous amino acids in the area of the nucleus of the solitary tract of the rat. *J. Neurochem.* 53:1807-1817.
109. Mendelowitz D, Yang M, Andressen MC, Kunze DL. (1992). Localization and retention in vitro of fluorescently labeled aortic baroreceptor terminals on neurons from the nucleus tractus solitarius. *Brain Res.*581:339-43.
110. Mendelsohn FAO, Quirion R, Saavedra JM, Aguilera G, Catt KJ (1984) Autoradiographic localization of angiotensin II receptors in rat brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:1575-79.
111. Mehta A, Ticku M (1999). An update on GABA-A receptors. *Brain Research Rev.* 29:196-197.
112. Mei L, Zhang J, Mifflin S (2003). Hypertension alters GABA receptor mediated inhibition de neurons in the nucleus of the solitary tract. *Am J Physiol.* 285:R1276-R1286.
113. Microsoft Excel 2010.
114. Michelin LC, Stern JE. (2009) Exercise-induced neuronal plasticity in central autonomic networks: role in cardiovascular control. *Exp. Physiol.*94.9 pp 947-960.
115. Mifflin SW, Felder RB. (1988) An intracellular study of time-dependent cardiovascular afferent interactions in nucleus tractus solitarius *J. Neurophysiol.* 59:1798-813.
116. Mifflin SW, Felder RB. (1990) Synaptic mechanisms regulating cardiovascular afferent inputs to solitary tract nucleus. *Am. J. Physiol.* 259H653-61.

117. Mifflin SW. (1992) Arterial chemoreceptor input to nucleus tractus solitarius. *Am. J. Physiol.* 263:R368-75.
118. Mifflin SW (2001) What does the brain know about blood pressure? *News Physiol Sci*:16; 266-271.
119. Miller BD, Felder RD (1988) Excitatory amino acid receptors intrinsic to synaptic transmission in nucleus tractus solitarii. *Brain Res.*456:333-343.
120. Moak JP, Kunze D (1993) Potassium currents of neurons isolated from the medial nucleus tractus solitarius. *Am.J. Physiol.*265: 1596-1602.
121. Nakagawa T, Shirasaki T, Tateishi N y cols. (1990) Effects of antagonists on N-methyl-D-aspartate response in acutely isolated nucleus tractus solitarii neurons of the rat. *Neurosci. Lett* 113:169-174.
122. Nanao, M.H., Green, T., Stern-Bach, Heinemann, S.F. y Choe, S. (2005). Structure of the kainate receptor subunit GluR6 agonist-binding domain complexed with domoic acid. *Proc. Natl.Acad. Sci. U.S.A.*, 102, 1708–1713.
123. Nathan MA, Reis DJ, (1980) Chronic labile hypertension produced by lesions of the nucleus tractus solitarii in the cat. *Circ.Res.* 40:72-81.
124. Naur, P., Vestergaard, B., Skov, L.K., Egebjerg, J., Gajhede, M., Kastrup, J.S. (2005). Crystal structure of the kainate receptor GluR5 ligand-binding core in complex with (S)-glutamate. *FEBS Lett.*, 579, 1154–1160.
125. Nayate A Moore SA, Weiss R, Taktakishvili OM, Lin LH, Talman WT. (2008) Cardiac damage after lesions of the nucleus tractus solitarii. *Am. J. Physiol. Regul.Integr.Comp.Physiol.* 296:R272-R279.
126. Ng GYK, Clark J, Coulombe N, Ethier N, Hebert TE, Sullivan R, Kargman S, Chateauneuf A, Tsukamoto N, McDonald T, et al. (1999) Identification of a GABAB receptor subunit, gb2, required for functional GABAB receptor activity. *J BiolChem* **274**:7607–7610.
127. Nisimaru N.(2004). Cardiovascular modules in the cerebellum. *Jpn J Physiol.* Oct;54(5):431-48.
128. Ohta H, Talman WT (1994) Both NMDA and non-NMDA receptors in the NTS participate in the baroreceptor reflex in rats. *Am. J. Physiol.* 267:R1065-R1070.

129. Olsen RW, Sieghart W.(2008) International Union of Pharmacology. LXX. Subtypes of  $\gamma$ -Aminobutyric Acid<sub>A</sub> Receptors:Classification on the Basis of Subunit Composition, Pharmacology, and Function, Update. *Pharmacol Rev* 60:243-260.
130. Pagano A, Rovelli G, Mosbacher J, Lohmann T, Duthey B, Stauffer D, Ristig D, Schuler V, Meigel I, Lampert C, et al. (2001) C-terminal interaction is essential for surface trafficking but not for heteromeric assembly of GABAB receptors. *J Neurosci* **21**:1189–1202.
131. Palkovits. M.(1981) Neuropeptides and biogenic amines in central cardiovascular in central cardiovascular control mechanisms. In *Central Nervous System Mechanisms in Hypertension*, ed. JP Buckley, CM Ferrario, pp. 73-87. New York: Raven.
132. Paxino G. Watson Ch. (1997). *The rat Brain in Sterotaxic coordinates*. Compact Third Edition. Academic Press.
133. Paton J, LI Y-W, Schwaber J. (2001) Response Properties of Baroreceptive NTS Neurons. *Ann. N. Y. Acad.Sci.* Jun 940: 157-168.
134. Paton JFR, Foster WR, Schwaber (1993) Characteristic firing behavior of cell types in the cardiorespiratory region of the nucleus tractus solitarii of the rat. *Brain Res.* 604:112-125.
135. Paton JFR, Li Y-W, Deuchars J, Kasparov S (2000) Properties of solitary tract neurons receiving inputs from the sub-diaphragmatic vagus nerve. *Neuroscience* 95: 141-153.
136. Pawloski-Dahm C, Gordon FJ (1992) Evidence for a kynurenate-insensitive glutamate receptor in nucleus tractus solitarii. *Am.J. Physiol.* 262:H1611-H1615.
137. Perez-Otano, I., Ehlers, M.D. (2005). Homeostatic plasticity and NMDA receptor trafficking. *Trends Neurosci.*, 28, 229–238.
138. Peters JA, Hales TG, Lambert JJ. (2005) Molecular determinants of single-channel conductance and ion selectivity in the Cys-loop family: insights from the 5-HT<sub>3</sub> receptor. *Trends Pharmacol Sci* 26:587–594.
139. Pimentel FF, Bonagamba LGH, Machado HB (2003). Pressor response to chemoreflex activation before and after microinjection of glycine into the NTS of awake rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 284:R1000-R1009.

140. Potts JT, Paton JFR, Mitchell JH, Garry MG, Kline G, Anguelov PT, Lee SM. (2003) "Contraction-sensitive skeletal muscle afferents inhibit arterial baroreceptor signaling in the nucleus of the solitary tract: Role of intrinsic GABA interneurons" *Neuroscience* 119:201-214.
141. Princivalle AP, Pangalos MN, Bowery NG, Spreafico R (2001) Distribution of GABAB(1a), GABAB(1b) and GABAB2 receptor protein in cerebral cortex and thalamus of adult rats. *Neuroreport* 12:591-595.
142. Proske U, Gandevia SC. (2012). The Proprioceptive senses: their roles in signaling body shape, body position and movement, and muscle force. *Physiol Rev.* Oct; 92(4):1651-97.
143. Prosser HM, Gill CH, Hirst WD, Grau E, Robbins M, Calver A, Soffin EM, Farmer CE, Lanneau C, Gray J, et al. (2001) Epileptogenesis and enhanced prepulse inhibition in GABAB1-deficient mice. *Mol Cell Neurosci* 10:1-10.
144. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, Lamantia A-S, McNamara JO y Williams SM.(2007). *Modulación del Movimiento por el Cerebelo*. Cap. 18. 479-496. *Neurociencia 3a Edición*. Médica Panamericana. S.A.
145. Ramnani N, Toni I, Passingham RE, Hagard P. (2001). The cerebellum and parietal cortex play specific role in coordination: a PET study. *Neuroimage*. Oct; 14(4):888-911.
146. Reis DJ, Talman WT (1984). Brain lesions and hypertension In: De Jong W, ed. *Experimental and Genetic Models in Hypertension*. New York: Elsevier, 1984:451-473. Birkenhager WH, Reid JL, eds. *Handbook of Hypertension*. Vol 4.
147. Saint DA, Thomas T, Gage PW., (1990) GABA<sub>B</sub> agonists modulate a transient potassium current in cultured mammalian hippocampal neurons. *Neurosci Lett* 118:9-13.
148. Sato MA, Colombari E, Morrison SF (2000) Inhibition of commissural nucleus of the solitary tract (commNTS) reduces sympathetic nerve activity (SNA) in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Physiologist*. 43:264.
149. Sato MA, Menani JV, Lopes OU, Colombari E. (2001) Lesions of the commissural nucleus of the solitary tract reduce arterial pressure in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*: 38:560-564
150. Saha S, Batten TF, McWilliam PN. (1999). Glycine-immunoreactive synaptic terminals in the nucleus tractus solitarii of the cat: ultrastructure and relationship to GABA-immunoreactive terminals.

151. Scatton B. (1993). The NMD complex. *Fundam Clin Pharmacol.* 7(8):389-400.
152. Scheffler William C. (1981). *Dóćimas no Paramétricas. Capítulo 12. Páginas 215-234. Bioestadística. Fondo Educativo Interamericano S.A.*
153. Schmitt H, Labie M. (1979). Destruction of the nucleus tractus solitarii in dogs: acute effects on blood pressure and haemodynamics, chronic effects on blood pressure: importance of the nucleus for the effects of drugs. In: Meyer P, Schmitt H, eds. *Nervous System and Hypertension. New York: Willey-Flammarion: 173-201.*
154. Schuler V, Lüscher C, Blanchet C, Klix N, Sansig G, Klebs K, Schmutz M, Heid J, Gentry C, Urban L, Fox A, Spooren W, Jatón AL, Vigouret J, Pozza M, Kelly PH, Mosbacher J, Froestl W, Käslin E, Korn R, Bischoff S, Kaupmann K, van der Putten H, Bettler B. (2001). Epilepsy, hyperalgesia, impaired memory, and loss of pre- and postsynaptic GABA(B) responses in mice lacking GABA(B<sub>1</sub>) Neuron. *2001 Jul 19;31(1):47-58.*
155. Seagard JL, van Brederode JFM, Dean C, Hopp FA, Gallenberg LA, Kampine JP. (1990). Firing Characteristics of Single-Fiber Carotid Sinus Baroreceptors. *Circulation Research.* 66:1499-1509.
156. Seagard JL, van Brederode JFM, Dean C, Hopp FA, Elegbe EO, Gallenberg LA, Kampine JP. (1991). Different Types of Carotid Baroreceptors. *Circulation Research.* 69:1097-1105.
157. Seagard JL, Gallenberg LA, Hopp FA, Dean C. (1992). Types of Carotid Baroreceptors. *Circulation Research.* 70:559-565.
158. Seagard JL, Hopp FA, Drummond HA, Van Wynsberghe DM. (1993). Selective Contribution of Two Types of Carotid Sinus Baroreceptors to the Control of Blood Pressure. *Circulation Research.* 72:1011-1022.
159. Seagard JL, Dean C, Hopp FA (1997) Glutamate receptor subtypes involved in transmission of baroreceptor input to NTS neurons. *Soc. Neurosci. Abstr.* 23:722.
160. Seagard JL, Dean C, Hopp FA (1999) Role of glutamate receptors in transmission of vagal cardiac input to neurons in the nucleus tractus solitarius. *J. Physiol.* 520:243-253.
161. Seagard JL, Dean C, Hopp FA (2000) Neurochemical transmission of baroreceptor input in the NTS. *Brain Res. Bull.* 51:111-118.
162. Seagard JL, Dean C, Hopp FA (2001) Properties of NTS Neurons Receiving Input from Barosensitive Receptors. *Ann N.Y Acad Sci.*(940):142-56.

163. Seiders EP, Stuesse SL. (1984). A horseradish peroxidase investigation of carotid sinus nerve components in the rat. *Neuroscience Letters*. Volume 46, Issue 1, 20 April, Pages 13–18.
164. Seyedabadi M, Goodchild AK, Pilowski PM. (2001) Differential role of kinases in brain stem of hypertensive and normotensive rats. *Hypertension*. Nov; 38(5):1087-92.
165. Sieghart W(1995) Structure and pharmacology of GABAA receptor subtypes. *Pharmacol Rev* 47:181– 234.
166. Simon J, Wakimoto H, Fujita N, Lalande M, Barnard EA (2004) Analysis of the set of GABAA receptor genes in the human genome. *J Biol Chem* 279:41422–41435.
167. Sine S, Engel A. (2006) Recent advances in Cys-loop receptor structure and function. *Nature* 440:448– 455.
168. Sing R, Ticku MK (1985). Comparison of  $^3\text{H}$  baclofen binding to GABA-B receptors in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Brain Res* 358: 1-9.
169. Smid SD, Blackshaw LA.(2000) Vagal neurotransmission to the ferret lower oesophageal sphincter: inhibition via GABA(B) receptors. *Br J Pharmacol*. Oct;131(3):624-30.
170. Song, I., Huganir, R.L. (2002). Regulation of AMPA receptors during synaptic plasticity. *Trends Neurosci*. 25: 578–588.
171. Spyer KM. (1981). Neural organisation and control of the baroreceptor reflex. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol*. 88:24-124.
172. Spyer KM, Donoghue S, Felder RB, Jordan D. (1984) Processing of afferent inputs in cardiovascular control. *Clin. Exp. Hypertens. Part A. Theory Pract*. 6(1-2): 173-84.
173. Spyer KM. (1990) The Central nervous organization of reflex circulatory control. In *Central Regulation of Autonomic Functions*, ed. AD Loewy, KM Spyer, pp. 168-88. New York Oxford Univ. Press.
174. Statgraphics Plus Versión 5.1. Statistical Graphic Corp. 1994-2001.
175. Talman WT, Colling JM, Robertson SC. (1991). Glycine microinjected into nucleus tractus solitarius of rat acts through cholinergic mechanisms. *Am J Physiol*. 1991 Apr;260(4 Pt 2):H1326-31.

176. Talman WT, Robertson SC. (1989) Glycine, like glutamate, microinjected into the nucleus tractus solitarii of rat decrease arterial pressure and heart rate. *Brain Res.* Jan 16;477(1-2):7-13.
177. Tell F, Jean A. (1991) Bursting discharges evoked in vitro, by solitary tract stimulation or application of N-methyl-D-aspartate, in neurons of the rat nucleus tractus solitarii. *Neuroscience Letters* 124:221-224.
178. Thompson AJ, Lummis SCR. (2006) 5-HT<sub>3</sub> receptors. *Curr Pharm Des* 12:3615–3630.
179. Thoren PN, Saum WR, Brown AM. (1977) Characteristic of rat aortic baroreceptors with nonmedullated afferent nerve fibers. *Circ. Res.* 40:231-37.
180. Towers S, Princivalle A, Billinton A, Edmunds M, Bettler B, Urban L, Castro-Lopes J, Bowery NG (2000) GABAB receptor protein and mRNA distribution in rat spinal cord and dorsal root ganglia. *Eur J Neurosci* **12**:3201–3210.
181. Tolstykh G, de Paula PM, Mifflin S (2007). Voltage-dependence calcium currents are enhanced in nucleus of the solitary tract neurons isolated from renal wrap hypertensive rats. *Hypertension*: 49;1163-1169.
182. Tsukamoto K, Sved AF (1993) Enhanced  $\gamma$  Aminobutyric Acid-Mediated Responses in Nucleus Tractus Solitarius of Hypertensive Rats. *Hypertension* 22:819-825.
183. Ulrich D, Bettler B (2007) GABA-B receptors: synaptic functions and mechanisms of diversity. *Curr Opin Neurobiol* 17:298-303.
184. Van Brederode JFM, Seagard JL, Dean C, Hopp FA, Kampine JP. (1990). Experimental and Modeling Study of the Excitability of Carotid Sinus Baroreceptors. *Circulation Research*.66:1510-1525.
185. Vitela M., Mifflin SW (2001) Gamma-Aminobutyric acid (B) receptor-mediated responses in the nucleus tractus solitarius are altered in acute and chronic hypertension. *Hypertension* 37:619-622.
186. Wallach J, Loewy A. (1980). Projections of the aortic nerve to the nucleus tractus solitarius in the rabbit. *Brain Res.* 188:247-51.
187. Wen-Bin L., Chan Julie Y.H.(2001)Rostral Ventrolateral Medulla Suppresses Reflex Bradycardia by the Release of Gamma-aminobutyric Acid in Nucleus Tractus Solitarii of the Rat” *Synapse* 39:23-31.

188. Wen-Bin L., Chan Julie Y.H. (2001) Gabaergic Neurotransmission at the Nucleus Tractus Solitarius in the Suppression of Reflex Bradycardia by Parabrachial Nucleus” *Synapse* 42:27-39.
189. Wenthold , R.J., Prybylowski, K., Standley, S., Sans, N. y Petralia, R.S. (2003). Trafficking of NMDA receptors. *Annu.Rev. Pharmacol. Toxicol*, 43, 335–358.
190. Wilkins ME, Li X, Smart TG (2008). Tracking cell surface GABAB receptors using an alpha-bugartoxin tag. *J Biol Chem*:283;34745-34752.
191. Wollmuth LP., Sobolevsky AI. (2004). Structure and gating of the glutamate receptor ion channel. *Trends Neurosci*, 27,321– 328.
192. Xu J, Wojcik WJ (1986) Gamma aminobutyric acid B receptor-mediated inhibition of adenylate cyclase in cultured cerebellar granule cells: blockade by isletactivating protein. *J Pharmacol Exp Ther* **239**:568–573.
193. Ya Lun Chou (1972). Estadística No Paramétrica. Capítulo 14. Páginas 478-530. Análisis Estadístico. Editorial Interamericana S.A. de C.V. Cedro núm. 512. México 4. D.F.
194. Yao T, Thoren PN. (1983). Characteristics of brachiocephalic and carotid sinus baroreceptors with non-medullated afferents in rabbit. *Act Physiol. Scand.* 117: 1-8.
195. Yates BJ, Miller AD. (1994). Properties of sympathetic reflexes elicited by natural vestibular stimulation: implications for cardiovascular control. *J Neurophysiol.* Jun 7(6):2087-92.
196. Yin M, Sved AF (1996) Role of gamma-aminobutyric acid B receptors in baroreceptor reflexes in hypertensive rats. *Hypertension* 27:1291-1298.
197. Zhang W, Mifflin SW (1985) Excitatory amino-acid receptors contribute to carotid sinus and vagus nerve evoked excitation of neurons in the nucleus of the tractus solitarius. *J Auton Nerv Syst* 55:50-56.
198. Zhang J, Mifflin SW (1998) Differential roles for NMDA and non-NMDA receptor subtypes in baroreceptor afferent integration in the nucleus of the solitary tract of the rat. *J.Physiol* 511(3):733-745.
199. Zhang J, Mifflin SW (1998) Receptor subtype specific effects of GABA agonists on neurons receiving aortic depressor nerve inputs within the nucleus of the solitary tract. *J Auton Nerv Syst* 73: 170-181.

200. Zhang J, Mifflin SW. (2000). Integration of Aortic Nerve Inputs in Hypertensive Rats.. Hypertension. 35[part 2]:430-436.
201. Zhang W, Herrera-Rosales M, Mifflin S (2007). Chronic Hypertension Enhances Postsynaptic Inhibition by Baclofen in the Nucleus of the Solitary Tract. Hypertension 49 [ part 2]:659-663.
202. Zhang W, Mifflin S (2010). Plasticity of GABAergic Mechanisms With the Nucleus of the Solitary Tract in Hypertension. Hypertension 55: 201-206.
203. Zhang W, Mifflin S (2010). Chronic Hypertension Enhances Presynaptic Inhibition by Baclofen in the Nucleus of the Solitary Tract. Hypertension 55 [ part 2]:481-486.