

Papel del óxido nítrico en la retención de glucosa cerebral post-estimulación de los receptores carotídeos con cianuro de sodio en ratas

The role of the nitric oxide to retain the cerebral glucose post-stimulation of the carotid receptors with sodium cyanide in rats

Dr. José Luís Cádenas Freixas; Sergio Adrián Montero Cruz; Elena Rocés de Álvarez Buylla; Dr. Ramón Álvarez Buylla de Aldana

Instituto Superior de Ciencias Médicas Carlos J. Finlay. Camagüey, Cuba.

RESUMEN

Se realizó un estudio experimental, con el objetivo de medir la acción del óxido nítrico (NO) en la captación de glucosa cerebral, después de la estimulación con cianuro de sodio (NaCN-5µg/100g) de los receptores del cuerpo carotídeo (RCC). Los experimentos se realizaron en ratas (280-310g) anestesiadas, mantenidas con respiración artificial a una temperatura de 25°C. Los protocolos fueron el control I, la perfusión en cisterna magna (CM) de líquido cefalorraquídeo artificial-LCRa (5 µL/30 s), el control II, la ERC en forma simultánea con la perfusión de LCRa, la perfusión de un donador de NO (nitroglicerina) (NG-3µg/5µL de LCRa) en CM, la ERC en forma simultánea con NG en CM, la perfusión de un inhibidor de NO (L-NAME) (250µg/5µL de LCRa), la ERC en forma simultánea con L-NAME en CM. Los resultados obtenidos indican que la combinación de NG con ERC no altera la retención de glucosa cerebral, mientras que en los controles, la NG sola aumentó la retención cerebral de glucosa. Por el contrario, el L-NAME en combinación con ERC aumentó la captación de glucosa cerebral e indicó que el óxido nítrico desempeña un papel modulador en la respuesta hiperglucemiante en los estados de hipoxia.

DeCS: ÓXIDO NÍTRICO; GLUCOSA OXIDASA; SISTEMA NERVIOSO; CIANURO DE SODIO; RATAS.

ABSTRACT

An experimental study in the neuroendocrinology lab of Colima's University was carried out, with the objective to measure the action of the nitric oxide (NO) in the capture cerebral glucose, after the stimulation with sodium cyanide (NaCN-5µg/100g) of the carotid body receptors (RCC).The experiments were performed with anaesthetized rats (280-310 g), kept with artificial breathing at 25°C of temperature .Protocols were the following: a) control I, perfusion in cisterna magna (CM) of artificial cerebrospinal fluid LCRa(5µL/30s);b) control II,ERC in simultaneous way with the perfusion of LCRa; c)perfusion of a donor of NO (nitroglicerine)(NG-3µg/5µL of LCRa) in CM ;d) ERC in simultaneous way with NG in CM; e) perfusion of a inhibitor of NO (L-NAME)(250µg/5µL of LCRa);f) ERC in simultaneous way with L-NAME in CM.Results indicated that the combination of NG with ERC do not change the retention of the cerebral glucose, while in the controls, the NG alone in creased the cerebral retention of glucose. On the contrary, the L-NAME in combination with ERC increased the capture of the cerebral glucose, which indicated that nitric oxide played a modulator role in the hyperglycaemic answer in hypoxia stages.

DeCS: NITRIC OXIDE; CLUCOSE OXIDASE; NERVOUS SYSTEM; SODIUM CYANIDE; RATAS.

INTRODUCCIÓN

El cerebro tiene mecanismos intrínsecos que regulan la disponibilidad de sustratos energéticos en correspondencia con las variaciones locales de su actividad funcional. La actividad neuronal tiene lugar dentro de complejos neuronales y la barrera hematoencefálica limita la transferencia de moléculas desde la sangre. Esta barrera que se desarrolla para proteger al cerebro de sustancias nocivas, condiciona también los sustratos potenciales para el metabolismo energético. Debido a estas características especiales, el sistema nervioso depende casi en su totalidad del metabolismo de la glucosa. ¹ En circunstancias especiales,

como cetosis y ayuno prolongado, el sistema nervioso utiliza otras fuentes de energía (cuerpos cetónicos, etc.).² En ausencia de glucosa, durante la hipoglucemia severa (hipoglucemia insulínica), la función cerebral se deteriora y llega hasta la pérdida de la conciencia, con aumento del catabolismo de aminoácidos y componentes estructurales neuronales, liberación de neurotoxinas y muerte.³ Aunque el aporte de O₂ es también importante para mantener la homeostasis cerebral, durante la hipoxia severa tienen lugar mecanismos compensadores (glucólisis anaeróbica). El sustrato que mantiene este nivel de energía metabólica elevado lo constituye, casi en forma exclusiva, la glucosa.²

Se describe que el NO se produce dentro del cuerpo carotídeo (CC) como un modulador inhibitorio de la quimiorreacción hipóxica.⁴⁻⁶ En efecto, estudios inmunocitoquímicos demuestran una extensa red de fibras NOS positivas en el cuerpo carotídeo, con dos poblaciones anatómica y fisiológicamente distintas: la innervación de la vasculatura y la del CC.^{7,8}

En nuestra investigación se exploró el efecto del NO en la respuesta hiperglucemiante después de la estimulación de los receptores del cuerpo carotídeo (RCC) con NaCN, se analizaron los efectos de un donador de NO, como es la nitroglicerina (NG) y un inhibidor de la enzima NO sintetasa, como es el N-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME) en la retención de glucosa por el cerebro.

MÉTODOS

Nuestro estudio se llevó a cabo en el laboratorio de neuroendocrinología del Centro de Investigaciones Biomédicas de la universidad de Colima. Los experimentos se realizaron en ratas Wistar machos, de 250 a 300g. de peso corporal, en ayuno previo de 18h. Los animales se anestesiaron con pentobarbital sódico (anestesal, pfizer), 3mg/100g por vía intraperitoneal (i.p.) y se mantuvieron con respiración artificial por cánula endotraqueal, con una frecuencia de 40 respiraciones/min. El nivel de anestesia se mantuvo constante durante todo el experimento, por goteo i.p. continuo del anestésico diluido en solución salina (63mg/100mL). Se mantuvo la temperatura corporal con una lámpara.

Estimulación de los RCC y obtención de sangre

Para estimular los RCC con NaCN, el seno carotídeo izquierdo se aisló temporalmente de la circulación cefálica y general, se utilizó la técnica de *Álvarez-Buylla*.⁹ La estimulación de los RSCC se realizó por inyección lenta de 5µg/100g de NaCN en 0.1mL de solución salina. Se

colectaron muestras de sangre arterial y venosa de los vasos cateterizados. Las muestras de sangre se mantuvieron en refrigeración hasta su centrifugación. La sangre se centrifugó durante 5min a una velocidad de 3000rpm, se utilizó una centrífuga refrigerada (Beckman T J-6).

Las inyecciones en la cisterna magna se realizaron con la técnica descrita por *Hudson, Hughes, Bold-Fletcher y Vaden*.¹⁰ La inyección de las sustancias empleadas L-NAME y NG se hicieron con una bomba de infusión continua (baby bee, BAS) que contenía LCRa como vehículo, a una velocidad de 5µL/30seg.

Procedimientos bioquímicos

La concentración de glucosa en plasma se midió por el método de la glucosa oxidasa (autoanalizador beckman) en M^a/dL, en muestras de 10µL de plasma. Se determinó la concentración de glucosa a partir de la depleción de O₂ en una solución de glucosa-oxidasa saturada con O₂. El nivel de retención de glucosa por cerebro se determinó comparando la concentración de glucosa arterial en la femoral con la concentración de glucosa venosa en el seno yugular.

Drogas o sustancias aplicadas

Pentobarbital sódico (anestésico, Pfizer), 3mg/100 g: **líquido cefalorraquídeo artificial (LCRa)** NaCl 145mM, KCl 2, 7mM, MgCl₂ 1, 0mM, CaCl₂ 1, 2mM, ascorbato 2mM, NaH₂PO₄ 2mM, pH 7, 3-7, 4, 5µL/30s. El LCRa se preparó cada 48h y se conservó en refrigeración, **solución salina al 0.9 %** (Pisa), 0, 1 ml; **cianuro de sodio** (NaCN, Sigma), 5 µg/100 g en 0, 1mL de solución salina; **nitroglicerina** (NG, Scherer GMBH Eberbach Baden), 3µg en 5µL de LCRa; **N-nitro-L-arginina metil ester** (L-NAME, Sigma), 250µg en 5µL de LCRa.

Análisis estadístico

Las comparaciones estadísticas se realizaron según la prueba de *t*, modificada por *Cochran y Cox*.¹² Se usó la prueba *t* de *Student* para hacer las comparaciones entre los valores basales y los experimentales. El nivel de significancia se fijó en forma arbitraria a dos rangos *P<0, 05 (significativo), y ***P<0, 01 (altamente significativo). En todas las gráficas los valores son medias aritméticas y las líneas verticales representan los valores de error estándar. Las probabilidades (valor de P) entre los datos reportados con respecto a su basal, se calcularon como muestras pareadas.

Protocolo experimental

Se realizaron los siguientes experimentos:

- a) Primer grupo control: infusión continua de LCRa en la CM y simultáneamente con la inyección de solución salina en el seno carotídeo.
- b) Segundo grupo control: infusión continua de LCRa en la CM y estimulación de los RCC con NaCN en el seno carotídeo.
- c) Primer grupo experimental: infusión continua de NG en la CM, simultáneamente con la inyección de solución salina en el seno carotídeo.
- d) Segundo grupo experimental: infusión continua de NG en la CM, simultáneamente con la estimulación de los RCC en el seno carotídeo; tercer grupo experimental: infusión continua de L-NAME en la CM, simultáneamente con la inyección de solución salina en el seno carotídeo.
- e) Cuarto grupo experimental: infusión continua de L-NAME en la CM, simultáneamente con la estimulación de los RCC con NaCN en el seno. En todos los grupos se tomaron cinco muestras de sangre de la arteria femoral y del seno yugular, durante un período de 20min; las muestras $t = -4$ y $t = -2$ correspondieron a las basales. Las infusiones de LCRa, NG y L-NAME en la CM, así como las inyecciones de solución salina y NaCN en el SC circulatoriamente aislado, se hicieron a $t = 0$, a dos minutos de la segunda muestra basal. Después de las inyecciones e infusiones de dichas drogas, se tomaron tres muestras de sangre a $t = 4$, $t = 8$ y $t = 16$ min. La cantidad de sangre obtenida para cada tiempo fue de 0.1mL de sangre arterial y 0, 1mL de sangre venosa, colectando un volumen total de 1mL (% de volumen total). Para compensar el volumen de líquido, después de cada toma se inyectó igual volumen de solución salina al 0, 9 %.

RESULTADOS

La estimulación de los quimiorreceptores del cuerpo carotídeo con NaCN, produjo incrementos significativos en la captación de glucosa por cerebro, así como en la glucemia arterial y venosa encefálica. La concentración de glucosa en sangre arterial aumentó de $140, 0 \pm 8$, 8mg/dL en $t = -4$ min a $228, 6 \pm 16$, 0mg/dL en $t = 16$ min después de la inyección de NaCN, ($p < 0, 01$); mientras que en la sangre venosa el aumento de la glucosa fue de $121, 0 \pm 6$, 6mg/dL en $t = -4$ min a $180, 2 \pm 11$, 6mg/dL en $t = 16$ min después de la inyección de NaCN, ($p < 0, 01$). El aumento en la concentración de glucosa fue mayor en la sangre arterial que en la venosa, dando como resultado un aumento significativo en la diferencia arterio-venosa de glucosa cerebral de $18, 4 \pm 2$, 5mg/dL en $t = -4$ min a $32, 6 \pm 2$, 0 en $t = 4$ min ($P < 0, 001$) y $48, 8 \pm 9$, 8mg/dL en $t = 8$ min después de la inyección de NaCN, ($p < 0, 01$). En los experimentos

control, la infusión de LCRa en la CM, 5 μ L en 30seg más la inyección de solución salina en el SC, no produjo incrementos significativos en la glucemia arterial y venosa encefálicas (sangre del seno venoso yugular), ni en la retención de glucosa cerebral. La concentración de glucosa a los 4min antes de la infusión de LCRa en la CM fue de 133, 2 \pm 5, 7mg/dL en la sangre arterial y de 116 \pm 4, 8mg/dL en la sangre venosa. La concentración de glucosa a los 16min después de la infusión del LCRa en la CM fue de 151, 2 \pm 15, 6mg/dL y de 134, 2 \pm 15, 1mg/dL en la sangre arterial y venosa respectivamente. Los valores basales en la captación de glucosa por el cerebro (diferencias arterio-venosas de sangre encefálica) fueron de 17, 2 \pm 1, 6mg/dL en t = -4min hasta 16, 8 \pm 1, 7mg/dL a los 16min. En los experimentos control, se analizó si el NO es el mediador químico en el reflejo hiperglucemiante y en el aumento en la retención de glucosa por cerebro observados después de la estimulación de los receptores del CC con NaCN en ratas. Infundimos NG (donador de NO) en la CM sin estimular los RSCC con NaCN, y se observó que la infusión de NG sola (3 μ g/ en 5 μ L de LCRa), produjo un aumento significativo en la glucemia arterial a los cuatro y ocho minutos postinfusión (p< 0, 025 y p<0, 01) respectivamente), en cambio, en la glucemia venosa solo se observó un aumento significativo (p<0, 05) en el minuto ocho postinfusión. Del mismo modo, la retención de glucosa cerebral aumentó desde t= -4min de 16, 2 \pm 3, 2mg/dL hasta 28, 6 \pm 5, 9mg/dL a los 4min (p<0, 05) y 25, 2 \pm 4, 1mg/dL a los 8min (p <0.05).La estimulación de RCC con NaCN inyectado en el seno carotídeo de ratas, más L-NAME en la CM produjo incrementos significativos en la captación de glucosa por cerebro, así como en la glucemia arterial y venosa encefálicas. La concentración de glucosa en sangre arterial aumentó de 158, 6 \pm 6, 7mg/dL en t = -4min a 182, 6 \pm 5, 5mg/dL en t = 8min después de la inyección de NaCN en el SC (p<0, 01); mientras que en la sangre venosa el aumento de la glucosa fue de 142.8 \pm 6.8mg/dL en t = -4min a 151.4 \pm 6.1mg/dL en t = 8min después de la inyección de NaCN en el SC (P<0, 01), estos incrementos fueron significativos. Cuando se analizaron las retenciones de glucosa encefálica, se observó un aumento significativo en la diferencia arterio-venosa de glucosa cerebral de 15, 6 \pm 2.9mg/dL en t = -4min a 23, 0 \pm 3, 4 en t = 4min (P<0, 001) y 31, 2 \pm 1.0mg/dL en t = 8min después de la inyección de NaCN (p<0, 01). En los experimentos control, se valoró si el L-NAME (inhibidor de NO) por sí solo, produce cambios en la retención de glucosa por el cerebro como los observados después de la estimulación de RCC con NaCN en ratas. Se infundió L-NAME en la CM sin estimular los RCC con NaCN, y se observó que la infusión de L-NAME sólo (250 μ L en 5 μ L de LCRa) no produjo cambios significativos en la glucemia arterial y venosa, ni en la retención de glucosa encefálica en los tiempos estudiados postinyección (Tabla 1).

Tabla 1. Valores de la captación de glucosa por el cerebro en los distintos grupos de ratas según protocolo experimental

Tiempo	LCRa+salina	LCRa+NaCN	NG+salina	NG+NaCN	L-NAME+salina	L-NAME+NaCN
(Min)	(mg/dL)(n=5)	(mg/dL)(n=5)	(mg/dL)(n=5)	(mg/dL)(n=5)	(mg/dL)(n=5)	(mg/dL)(n=5)
-4	17,2±1,6	18,4±2,5	16,2±3,2	19,0±6,2	13,4±1,6	15,6±2,9
-2	17,0±2,2	20,0±2,1	16,0±3,9	17,0±6,1	13,6±1,1	15,2±2,8
4	17,4±2,2	32,6±2,0***	28,6±5,9**	21,6±4,5	9,06±1,7	23,0±3,4
8	16,0±2,5	48,8±9,8**	25,2±4,1***	22,0±3,6	13,5±1,8	31,2±1,0
16	16,8±10,7	48,4±9,1**	21,0±4,7	25,2±6,2	16,9±6,8	24,2±5,5

Números entre paréntesis, número de animales por experimento; LCRa, líquido cefalorraquídeo artificial; salina, solución salina; NaCN, cianuro de sodio; NG, nitroglicerina; L-NAME, N-nitro-L-arginina metil éster. Los valores son medias aritméticas ± error estándar *P<0, 05, **P<0, 025 y ***P<0, 01.

La infusión de nitroglicerina (3µg/ en 5µL de LCRa) en la CM más NaCN no produjo aumento significativo en las glucemias arterial y venosa. Sin embargo, en la retención de glucosa cerebral se produjo un aumento significativo desde t= -4min, de 1, 0±6, 3mg/dL hasta 25, 2±6, 3mg/dL (P< 0, 005) a t=16min (Fig. 1A y 1B).

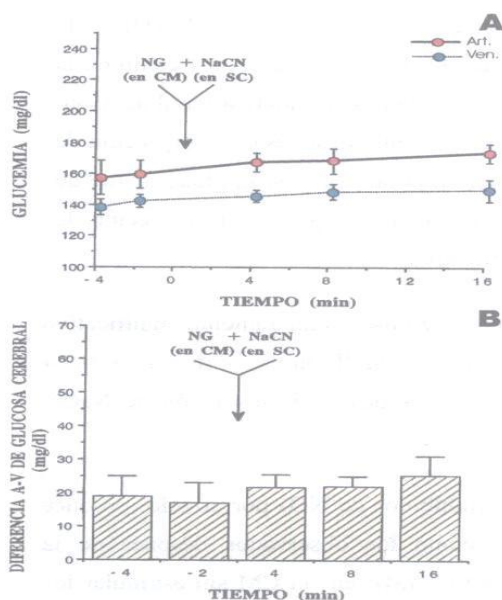


Fig. 1. Infusión de nitroglicerina (NG) en la cisterna magna (CM) más inyección de cianuro de sodio (NaCN) en el seno carotídeo circulatoriamente aislado (SC). A,

glucemias arterial (Art) y venosa (Ven); B, diferencia arteriovenosa (A-V) de glucosa cerebral antes y después de la inyección de NaCN en el SC más NG en la CM. Los valores son medias aritméticas \pm error estándar.

DISCUSIÓN

Los resultados del segundo grupo control, en el que se estimularon los RCC con la inyección de NaCN en el seno carotídeo, pudieran sugerir la participación de estos receptores en la homeostasis de la glucosa.¹³ En efecto, la estimulación quimiorreceptora con microdosis de NaCN, en el SC, simultáneamente con la infusión de LCRa en la CM, aumentó la concentración de glucosa arterial por encima de los niveles alcanzados en la sangre venosa encefálica, elevando significativamente la diferencia A-V de glucosa cerebral. Cuando se compararon estos resultados con los obtenidos en el primer grupo control, se observó que en este caso, la infusión de salina al SC acompañada de LCRa en la CM, no produjo hiperglucemia refleja ni aumento en la retención de glucosa por cerebro. Se asumió que las microdosis de NaCN, utilizadas en este trabajo, no estimulan los barorreceptores, el efecto estimulador de esta droga, se observó que en las ratas controles se debe atribuir a la actividad quimiorreceptora.¹⁴ *Álvarez-Buylla*¹⁰ demuestra que los RCC son sensibles a cambios en la glucosa local, y responden al estímulo anóxico con un reflejo hiperglucémico de corta latencia. Estos experimentos muestran que el SNC participa en el aumento rápido y transitorio de la glucosa sanguínea en respuesta a la estimulación de los RCC en ratas anestesiadas.

Se propuso que la excitación quimiosensorial del cuerpo carotídeo inducida por hipoxia puede ser el resultado de una disponibilidad disminuida de un mensajero químico inhibitorio tal como el NO.¹⁵ Es posible que la actividad quimiosensorial incrementada inducida por hipoxia sea el resultado de una reducción en los niveles de óxido nítrico.

No se conoce aún qué mediador participa en la captación de glucosa por cerebro, algunos autores señalan a la insulina como la hormona que pudiera estar involucrada en este mecanismo,¹⁶ *Seaquist, Damberg, Tkac y Gruetter*,¹⁷ *Álvarez-Buylla, Huberman, Montero, Lemus, Valles y Álvarez-Buylla E*,¹⁸ encuentran un aumento en la captación de glucosa por el cerebro en ratas y perros a los cuales se les infundió LCR en la CM proveniente de perros después de la estimulación del CC con NaCN, proponiendo la existencia de una sustancia activa en el LCR involucrada en el metabolismo cerebral. Nos planteamos la posibilidad que el NO pudiera ser la sustancia activa que participa en el aumento en la captación de glucosa por

el cerebro después de la estimulación RCC con NaCN. El NO es una sustancia biológica regulatoria y un importante mensajero intracelular que actúa como un mediador específico de varios trastornos neurológicos secundarios a isquemia/hipoxia.¹⁹ En los resultados se encontró que la NG (donador de NO), infundida en la CM de ratas no estimuladas con NaCN, produjo un aumento significativo en la captación de glucosa por cerebro similar al aumento presentado en las ratas con estimulación de los RCC con NaCN y sin infusión de NG en la CM. Estas observaciones sugieren un papel crucial para el NO sobre la quimiorrecepción hipóxica. Trabajos anteriores muestran que la inyección ICV de un donador de NO produce un incremento de vasopresina en plasma con elevación de los niveles de glucosa por glucogenolisis hepática.²⁰ El aumento en la retención de glucosa por el cerebro producido por el donador de NO (nitroglicerina) puede explicarse en base al conocimiento de que este gas aumenta la glucólisis a través de un mecanismo independiente de la glucogenolisis en astrocitos. Es decir, la glucosa utilizada por las neuronas es la que se obtiene del medio extracelular a través de transportadores, y no la que se encuentra almacenada como glucógeno en los astrocitos.²¹

Los estudios de esta serie experimental parecen confirmar la participación del NO en la captación de glucosa por el cerebro. Pero, no se puede hacer una relación directa de la participación del NO en el reflejo hiperglucemiante después de la estimulación de los RCC. Es posible que las concentraciones de NO liberado por donadores del NO en nuestros experimentos (100nM) puedan alterar la cadena de transporte de electrones y la fosforilación oxidativa de las mitocondrias de las células del cerebro en las células del glomus. En la primera parte de esta serie experimental se encontró que la NG en la CM, acompañada de la estimulación de los RCC no produce efectos sobre los niveles de glucemia arterial y venosa ni en la retención de glucosa cerebral lo que sugiere que el efecto del NO antagoniza al efecto del NaCN (Fig. 1).

La administración de donadores de NO como la NG y NPS en el CC in vitro reduce la respuesta quimiosensorial a la hipoxia, indicando que el NO actúa como un inhibidor, predominantemente, durante la hipoxia. No se sabe si la inhibición del NO es un efecto fisiológico o farmacológico debido que los niveles del NO en el cerebro son desconocidos. El mecanismo fundamental para explicar estos resultados no ha sido identificado, pero los posibles blancos para la acción del NO son la guanilato ciclasa soluble y la citocromo oxidasa, debido a que estas enzimas son altamente sensibles al NO.²² La inyección de NG en nuestros experimentos podría también producir hipoxia con una retención compensadora de glucosa por el cerebro.

La infusión de L-NAME en la CM acompañada de la inyección de NaCN en el SC incrementó significativamente la retención de glucosa por el cerebro, así como los niveles de glucemia arterial y venosa. Al inhibir la producción de NO con L-NAME se estaría bloqueando el efecto inhibitorio del NO sobre la actividad neuronal, con el consecuente aumento de actividad neuronal producido por el NaCN. La actividad neuronal, por sí misma, provocaría un aumento de la captación de glucosa por cerebro por aumento del metabolismo. En este trabajo, se encuentra un efecto a los 4min después de la inyección de L-NAME, probablemente debido a que se utilizó una vía más directa (CM). Los niveles de glucógeno en cerebro de ratas tratadas por vía i.p. con L-NAME disminuyeron durante la activación funcional del metabolismo.²³

Cuando se perfundió la CM con L-NAME, sin estimular los RCC no se observaron cambios significativos en los parámetros estudiados en el metabolismo de la glucosa. El L-NAME, al ser un bloqueador de la síntesis del óxido nítrico, inhibe los efectos del NO sobre los niveles de glucosa en SNC.

En base a estos resultados se confirmó la hipótesis de que el NO es un mediador en la respuesta hiperglucemiante y en el aumento de la captación de glucosa por el cerebro después de la estimulación de los RCC con NaCN. Todos los componentes del sistema renina-angiotensina y prostanoídes están presentes en el cerebro y hay evidencias de que el NO interactúa con ellos para modificar la acción de la angiotensina II en el sistema neurohormonal (sistema nervioso autónomo y AVP).²⁴

En este trabajo se encontró que la NG en la CM, por sí sola elevó los niveles de glucosa en sangre arterial y venosa aumentando la retención de glucosa encefálica. Sin embargo, la administración de NG acompañada de estimulación de los RCC, no produjo cambios en la glucemia. Estos resultados indicaron que la NG bloquea los efectos hiperglucemiantes y de aumento en la retención de glucosa por cerebro producidos por la inyección de NaCN en el seno carotídeo en ratas. Por otra parte, el L-NAME en la CM, sin estimulación de los RCC no provocó cambios significativos en los niveles de glucosa en plasma, ni en la retención de glucosa encefálica. Mientras que, el L-NAME acompañada de estimulación de los RCC con NaCN, provocó hiperglucemia arterial y venosa con retención de glucosa por el cerebro.

El efecto de la NG en la CM aumentó la retención de glucosa por cerebro se explica porque el NO aumenta el número de transportadores a la glucosa en cerebro. Este mecanismo se corrobora por estos mismos autores al encontrar que el NO induce la expresión del transportador a la glucosa GLUT 1,3,4. Esto explicaría, así mismo, el efecto neuroprotector del NO en condiciones de hipoglucemia por isquemia cerebral.²⁵ Sin embargo, la NG en CM con la estimulación de los RCC no produjo aumento en la retención de glucosa por cerebro,

debido a que el NO antagoniza este efecto al actuar sobre los quimiorreceptores inhibiendo la descarga quimiosensorial por su efecto vasodilatador. Por otro lado, el efecto del L-NAME en la CM disminuye la retención de glucosa por el cerebro, esto se explica por la NOS y por consiguiente de la síntesis de NO. Sin embargo, el L-NAME en CM con la estimulación de los RCC produjo un aumento en la retención de glucosa por cerebro, debido a que la inhibición del NO sinergiza el efecto hipóxico del cianuro por su acción vasoconstrictora y por la inhibición del efecto inhibitor del NO.

Estos resultados indican que el NO constituye un importante neurotransmisor y regulador de la homeostasis de la glucosa, en particular en el reflejo hiperglucemiante con retención de glucosa por cerebro después de estimular los RSCC con NaCN.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sokoloff L. Mapping local functional activity by measurement of local cerebral glucose utilization in the central nervous system of animals and man. New York. The Harvey Lectures; 1994.
2. Sokoloff L. Measurement of local cerebral glucose utilization and its relation to local functional activity in the brain. En: Vranic M, editor. Fuel Homeostasis and the Nervous System. New York: Plenum Press; 1991. p. 21-42.
3. Kety SS, Polis BD, Nadler CS, Schmidt CF. Blood flow and oxygen consumption of the human brain in diabetic acidosis. *Journal of Clinical Investigation*. 1948;27:500-10.
4. Prabhakar NR, Kumar GK, Chang CH, Agani, FH, Haxhiu MA. Nitric oxide in the sensory function of the carotid body. *Brain Research*. 1993;625:16-22.
5. Chugh DK, Katayama M, Mokashi A, Debout DE, Ray DK, Lahiri S. Nitric oxide-related inhibition of carotid chemosensory activity in the cat. *Respiratory Physiology*. 1994,97:147-52.
6. Trzebski A, Sato Y, Susuki A, Sato A. Inhibition of nitric oxide synthesis potentates the responsiveness of carotid chemoreceptor to systemic hypoxia in the rat. *Neuroscience Letters*. 1995;190:29-33.
7. Grimes PA, Lahiri S, Stone R, Mokashi A, Chug D. Nitric oxide syntheses occurs in neurons and nerve fibers of the carotid body *Advances. Neuroscience*. 1994;61:286-93.
8. Wang ZZ, Stensaas LJ, Bredt DS, Dinger BG, Fidone SJ. Localization and actions of nitric oxide in the cat carotid body. *Neuroscience*. 1994;60:275-86.

9. Prabhakar NR. NO and CO as second messengers in oxygen sensing in the carotid body. *Respiratory Physiology*. 1999;115:161-68.
10. Álvarez Buylla R, Álvarez Buylla E. Carotid sinus receptors participate in glucose homeostasis. *Respiratory Physiology*. 1998;72:347-60.
11. Hudson LC, Hughes CS, Bold Fletcher NO, Vaden SL. Cerebrospinal fluid collection in rats: modification of a previous technique. *Laboratory Animal Science*. 1994;44:358-61.
12. Cochran WG, Cox GM. *Experimental Designs in Staticsties*. USA: Wiley Public; 1962.
13. Álvarez-Buylla R, Álvarez Buylla E. Carotid sinus receptors participate in glucose homeostasis. En: Eyzaguirre SJ, Fidone RS, Fitzgerald S, Lahiri DM, McDonald. *Arterial chemoreception*. New York: Springer-Verlag; 1990. p. 330-36.
14. Acker H. Oxygen sensing in the carotid body: ideas and models. *Advances in experimental. Medicine and Biology*. 1994;360:21-7.
15. Prabhakar NR. NO and CO as second messengers in oxygen sensing in the carotid body. *Respiratory Physiology*. 1999;115:161-8.
16. Bingham EM, Hopkins D, Smith D, Pernet A, Hallett W, Reed L, Marsden PK, Amiel SA. The role of insulin in human brain glucose metabolism: an 18-fluoro-deoxyglucose positron emission tomography study. *Diabetes*. 2002;51:3384-89.
17. Seaquist IE, Damberg I, Tkac, R, Gruetter GS. The effect of insulin on in vivo cerebral glucose concentration and rates of glucose/metabolism in humans. *Diabetes*. 2001;50:2203-09.
18. Álvarez-Buylla R, Huberman A, Montero S, Lemus M, Valles V, Roces de Álvarez-Buylla E. Induction of brain glucose uptake by a factor secreted into cerebrospinal fluid. *Brain Research*. 2003;994:124-33.
19. Rodrigo J, Fernández AP, Alonso D, Serrano J, Fernández Vizarra P, Martínez Murillo R, et al. Nitric oxide in the rat cerebellum after hypoxia/ischemia. *Journal of Nuclear Medicine*. 2005;46:365-70.
20. Yamaguchi K, Hama HA. Study on the mechanism by which sodium nitroprusside, a nitric oxide donor, applied to the anteroventral third ventricular region provokes facilitation of vasopressin secretion in conscious rats. *Brain Research*. 2003;968:35-43.
21. Almeida A, Ciudad P, Bolanos JP. Nitric oxide accounts for an increased glycolytic rate in activated astrocytes through a glycogenolysis-independent mechanism. *Brain Research*. 2002;945:131-4.
22. Clementi E, Brown GC, Foxwell N, Moncada S. On the mechanism by which vascular endothelial cells regulate their oxygen consumption. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*. 1999;96:1559-62.

23. Cruz N, Dienel G. High glycogen levels in brains of rats with minimal environmental stimuli: Implications for metabolic contributions of working astrocytes. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2002;22:1476-89.
24. Kadekaro M, Terrell ML, Liu H, Bui V, Summy-Long JY. Indomethacin prevents the L-NAME-induced increase in plasma levels of oxytocin in dehydrated rats. *Brain Research*. 2000;877:371-3.
25. Ciudad P, Garcia-Nogales P, Almeida A. Expression of glucose transporter GLUT3 by endotoxin in cultured rat astrocytes: the role of nitric oxide. *Journal of Neurochemistry*. 2001;79:17-24.

Recibido: 7 de diciembre de 2005.

Aceptado: 16 de enero de 2006.

Dr. José Luis Cadenas Freixas. Especialista de II Grado en Ciencias Fisiológicas. Profesor Asistente.