

## Artículo original

## Correspondencia

Antonio Eblen-Zajjur. Universidad Católica de Chile. Avenida Vicuña Mackenna 4860, Santiago de Chile, Chile.

E-mail: antonio.eblen@uc.cl

2018, Martínez-Reyes Harold, et al. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la Creative Commons Attribution License CC BY 4.0 International NC, que permite el uso, la distribución y la reproducción sin restricciones en cualquier medio, siempre que se acredite el autor original y la fuente.

# Evaluación *in silico* del efecto de benzodiacepinas, ketamina y termo-dependencia sobre los patrones de descarga neuronal pre-Bötzinger de control respiratorio

Martínez-Reyes Harold<sup>1</sup>, Eblen-Zajjur Antonio<sup>1,2,\*</sup>.

<sup>1</sup>CENTRO DE BIOFÍSICA Y NEUROCIENCIA, FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD, UNIVERSIDAD DE CARABOBO, VENEZUELA.

<sup>2</sup>INSTITUTO DE INGENIERÍA BIOLÓGICA Y MÉDICA, FACULTADES DE INGENIERÍA, BIOLOGÍA Y MEDICINA. PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE.

Recibido	12-abril-2018
Aceptado	25-mayo-2018
Publicado	27-agosto-2018

## Resumen

La fiebre y el uso de drogas como las benzodiacepinas (agonistas GABA<sub>A</sub>) y la ketamina (antagonista NMDA) se presentan con relativa frecuencia en anestesiología. La respiración es un patrón generado en el tallo cerebral, producto de una red compleja de centros ponto-medulares, que controlan las motoneuronas respiratorias gracias a la interacción de las neuronas inspiratorias del complejo pre-Bötzinger y las espiratorias del complejo Bötzinger. Estas neuronas poseen receptores de membrana del tipo GABA<sub>A</sub> y NMDA, que muestran alta termodependencia, sin embargo; se desconoce los cambios en el patrón de descarga neuronal inducidos por estas drogas y los cambios de temperatura corporal.

**Materiales y métodos:** Se generó un modelo validado de neurona Pre-inspiratoria (complejo pre-Bötzinger) incrementándose el peso sináptico gabaérgico equivalente al efecto de las benzodiacepinas o se redujo el peso sináptico NMDA equivalente al efecto de la ketamina en condiciones de hipo (35°C), normo (37°C) e hipertermia (40°C); cuantificándose el número y amplitud de las descargas neuronales.

**Resultados:** el aumento del peso sináptico GABA<sub>A</sub> o la reducción del de NMDA a temperaturas de 35°C, 37°C o 40°C redujo proporcionalmente el número de espigas y la amplitud del potencial de acción de la neurona Pre-I, mostrando curvas dosis-respuesta polinomiales de 2do. Orden, siendo las pendientes mayores a 35°C y a 40°C.

**Conclusión:** el efecto de benzodiacepinas o de ketamina a través de sus receptores GABA<sub>A</sub> y NMDA modifican *in silico* el patrón de descarga de la neurona Pre-I del núcleo Pre-Bötzinger, mostrando predominio del efecto gabaérgico y mayor termodependencia en las curvas dosis-respuesta en hipo e hipertermia lo que respalda el interés clínico de los datos.

Palabras clave: benzodiacepinas, ketamina, pre-Bötzinger, neurona pre-Inspiratoria, centros respiratorios, GABA<sub>A</sub>, NMDA, termodependencia.

# *In silico* evaluation of benzodiazepine, ketamine and temperature effect on pre-Bötzinger neuronal discharge patterns of respiratory control

Original article

## Abstract

**Introduction:** Fever and the use of drugs such as benzodiazepines ( $GABA_A$  agonists) and ketamine (NMDA antagonist) occur relatively frequently in anesthesiology. Breathing is a pattern generated in the brain stem, product of a complex ponto-medullary networks, which control the respiratory motoneurons thanks to the interaction of the inspiratory neurons of the pre-Bötzinger complex and the respiratory ones of the Bötzinger complex. These neurons have membrane receptors of the  $GABA_A$  and NMDA type, which show high thermo-dependence, however, the changes in the pattern of neuronal discharge induced by these drugs and changes in body temperature are unknown.

**Materials and methods:** A validated model of pre-inspiratory neuron (pre-Bötzinger complex) was generated, increasing the synaptic  $GABA_A$  weight equivalent to the effect of benzodiazepines or reducing the NMDA synaptic weight equivalent to the effect of ketamine in hypo- ( $35^{\circ}\text{C}$ ), normo- ( $37^{\circ}\text{C}$ ) or hyperthermia ( $40^{\circ}\text{C}$ ) quantifying the number and amplitude of neuronal discharges.

**Results:** Increase in  $GABA_A$  or reduction of NMDA synaptic weights at temperatures of  $35^{\circ}\text{C}$ ,  $37^{\circ}\text{C}$  or  $40^{\circ}\text{C}$  proportionally reduced the number of spikes and the amplitude of the action potential of the Pre-I neuronal, showing dose-response 2nd order polynomial curves with increased slopes at  $35^{\circ}\text{C}$  and  $40^{\circ}\text{C}$ .

**Conclusion:** benzodiazepines or ketamine through its receptors  $GABA_A$  and NMDA modify *in silico* the discharge pattern of Pre-I neuron from Pre-Bötzinger nucleus, showing more gabaergic effect and higher thermo-dependence in the dose-response curves during hypo and hyperthermia which are relevant for clinical practice.

**Key words:** benzodiazepines, ketamine, pre-Bötzinger, pre-Inspiratory neuron,  $GABA_A$ , NMDA, thermodependency.

## Introduction

La respiración es un patrón rítmico de descargas neuronales, que en los mamíferos son generados en la parte inferior del tallo cerebral<sup>1-3</sup>. Ese control rítmico del funcionamiento de los músculos respiratorios puede ser dividido en 3 etapas: la primera etapa de inspiración (I), donde entran en funcionamiento los músculos inspiratorios (diafragma e intercostales), luego una segunda

etapa de inspiración - espiración (I-E) y una tercera etapa de espiración activa (E) entrando en funcionamiento los músculos espiratorios abdominales<sup>1</sup>. Todo este control viene dado por los centros respiratorios ponto-medulares, los cuales sincronizan las descargas neuronales de las motoneuronas cervicales y toraco-lumbares así como, de las motoneuronas corticales, para

sincronizar tanto la musculatura abdominal como la de las vías aéreas superiores<sup>4</sup>.

Este sincronismo viene dado por la interacción de las neuronas inspiratorias que se encuentran en el complejo pre-Bötzinger de la columna ventrolateral respiratoria medular<sup>5-7</sup> y las neuronas del complejo Bötzinger que son principalmente espiratorias<sup>2,8-10</sup> que en conjunto forman el núcleo generador central del patrón respiratorio<sup>11-13</sup>.

El Complejo pre-Bötzinger está constituido básicamente por 2 tipos de neuronas, las neuronas de excitación inspiratoria temprana (Early-I) y las neuronas pre inspiratorias (Pre-I)<sup>14</sup> las cuales por su carácter excitatorio se consideran que son células marcapaso del ritmo respiratorio<sup>15</sup> ya que tienen conexiones eferentes con las neuronas Early-I, con las neuronas inspiratorias con descarga progresiva llamadas Rampa-I, así como sinapsis aferentes con las neuronas de descarga tónica localizadas en el puente y la médula oblonga, las neuronas espiratorias tardías (Late-E), así como aferencias de los mecano y quimiorreceptores provenientes de los pulmones, bifurcación de la tráquea y bronquios, manteniendo el control homeodinámico de la respiración<sup>11-15</sup>. En esta compleja red se ha logrado reportar los parámetros funcionales de membrana y conductancias iónicas neuronales, así como los pesos sinápticos de varias de sus conexiones (*Tabla 1*).

De la misma manera todas las neuronas tienen niveles máximos de conductancia en sus canales iónicos<sup>11-16</sup> y particularmente los de la neurona Pre-I con  $g_{Na} = 170 \text{ nS}$ ,  $g_{NaP} = 5 \text{ nS}$  y  $g_K = 180 \text{ nS}$ <sup>16</sup>. Por su parte, el núcleo Bötzinger es uno de los encargados de la generación y organización del patrón respiratorio, recibiendo aferencias pulmonares que proveen señales de retroalimentación para el sistema de control respiratorio y cardiovascular, así como otras funciones reflejas vitales asociadas a la respiración, como por ejemplo la tos<sup>17</sup>.

**Tabla 1.** Peso de las conexiones sinápticas de la red de la neurona Pre-I según sea excitatoria o inhibitoria<sup>16</sup>.

Efecto sináptico	Conexión	Peso sináptico
Excitatorio	Drive (Puente)	0,03
	Drive (Rafe)	0,3
	Drive (RTN)	0,2
	PRE-I /I	0,03
	PUENTE-I	0,2
	PRE	0,025
Inhibitorio	POST-I	-0,1625
	AUG-E	-0,0275

Conociendo los patrones de descarga y los parámetros sinápticos y de membrana, Ryback, et al.<sup>18</sup> y Smith, et al.<sup>19</sup> generaron modelos de las neuronas inspiratorias, reproduciendo los patrones de descarga de las diferentes células que componen la red de control respiratorio. Estos modelos surgidos a partir de datos experimentales *in vivo* proponen varios circuitos neuronales respiratorios de carácter dinámico dentro del tronco cerebral, siendo el circuito más relevante el encargado de generar el ritmo y patrón respiratorio localizado en la columna ventral respiratoria que incluye en sentido rostro-caudal, los complejos Bötzinger (Böt), pre-Bötzinger (Pre-Böt), el grupo rostral ventral respiratorio y el grupo caudal ventral respiratorio. Adicionalmente, se describe un núcleo central generador del patrón respiratorio que incluye un grupo neuronal con propiedad intrínseca excitatoria denominadas neuronas pre-inspiratorias/inspiratorias (Pre-I/I) ubicadas en el complejo Pre-Böt que son la mayor fuente de actividad inspiratoria de la red neuronal, estimulando a las neuronas premotoras del hipogloso y al grupo rostral ventral respiratorio a través de las neuronas Rampa-I. Este grupo de neuronas Pre-I/I del Pre-Böt comprenden neuronas excitatorias dependientes de corrientes iónicas de sodio con propiedades de descarga

endógena en salvas y con sinapsis auto-excitatorias que se activan con niveles relativamente bajos de excitabilidad neuronal<sup>20,21</sup> que interactúa con un anillo de tres poblaciones neuronales mutuamente inhibidoras: la post-inspiratoria (Post-I), la aumento-espiratoria (Aug-E) ubicadas en el complejo Böt, y la temprano-inspiratoria (Early-I) del complejo pre-Böt<sup>16-21</sup>. Estos modelos de redes utilizan neuronas como compartimientos de Hodgkin-Huxley, parámetros biofísicos y de cinética de canales iónicos de las neuronas respiratorias así como las conductancias sinápticas obtenidas en experimentos *in vitro* descritos por diferentes autores<sup>14,18,22-25</sup> y que incluyen receptores de membrana tanto ionotrópicos como metabotrópicos<sup>18,19</sup>. Los receptores GABA<sub>A</sub> (canal inhibitorio de cloruro activado por el ácido γ-amino-butírico) y los receptores NMDA (n-metil-D-aspartato; canales excitatorios de sodio y calcio activados por glutamato) están presentes en alta densidad en las membranas neuronales de los núcleos de control respiratorio del tallo cerebral<sup>14,22,25</sup> mostrando además elevados valores de termodependencia<sup>26</sup> con  $Q_{10}$  superiores a 2. El uso masivo y rutinario en anestesia clínica de drogas como las benzodiacepinas que poseen acción agonista de los canales GABA<sub>A</sub> y de la ketamina con acción antagonista de los canales NMDA contrasta con el escaso conocimiento de la acción de estas drogas sobre los patrones de descarga neuronal del núcleo Pre-Böt. De igual manera el uso de anestésicos, el ambiente quirúrgico de baja temperatura o condiciones febres pueden modificar el termostato hipotalámico produciendo una reducción o aumento en la temperatura corporal cuyo impacto sobre las descargas neuronales del núcleo Pre-Böt y el patrón respiratorio aún no ha sido caracterizado. El presente estudio evalúa *in silico* los efectos tanto de los medicamentos mencionados como de la temperatura sobre la red neuronal del núcleo Pre-Böt y específicamente sobre sus neuronas Pre-I.

## Materiales y métodos

La población de neuronas blanco del presente estudio se basó en un modelo *in silico* de la neurona Pre-I del complejo pre-Bötzinger utilizando el simulador SimCC disponible libremente<sup>27</sup> desarrollado bajo el modelo matemático de corrientes iónicas de Hodgkin y Huxley<sup>17</sup>, en un computador con procesador i5 en ambiente del sistema operativo Windows<sup>7®</sup>.

Los parámetros neuronales y electrofisiológicos incluidos en el modelo de célula Pre-I se basaron en los reportes de Ryback et al.<sup>18</sup> y Smith et al.<sup>19</sup> y se presentan en la *tabla 2*.

## Protocolo experimental

El muestreo de datos se realizó a partir de 10 corridas en cada una de las siguientes condiciones, tanto a 35 (Hipotermia), 37 (Normotermia) y 40°C (Hipertermia):

a. Efecto de las benzodiacepinas: se incrementó el peso sináptico gabaérgico GABA<sub>A</sub> desde la condición control 0,6 (60% máxima conductancia) hasta el equivalente a dosis progresivas de benzodiacepinas desde 0,8 hasta 1,6 en incrementos de 0,2 unidades relativas y equivalentes a la activación del receptor GABA<sub>A</sub> a 20, 40, 60, 80, y 100% de su máxima corriente sináptica, como efecto de la administración de dosis crecientes de benzodiacepinas. Se realizaron 10 corridas para cada corriente iónica y para cada una de las 3 temperaturas de prueba (total n=150).

b. Efecto de la ketamina: se disminuyó el peso sináptico glutamatérgico NMDA desde la condición control 0,6 (60% máxima conductancia) hasta el equivalente a dosis progresivas de ketamina desde 0,5 hasta 0,0 en reducciones de 0,1 unidades relativas y equivalentes a la inhibición del receptor NMDA en 16,6; 33,3; 50; 66,3; 83,3

y 100% de su máxima corriente sináptica, como efecto de la administración de dosis crecientes de ketamina. Se realizaron 10 corridas para cada corriente iónica y para cada una de las 3 temperaturas de prueba (total n=180).

**Tabla 2.** Parámetros neuronales y electrofisiológicos incluidos en el modelo de célula Pre-I<sup>[18,19]</sup>.

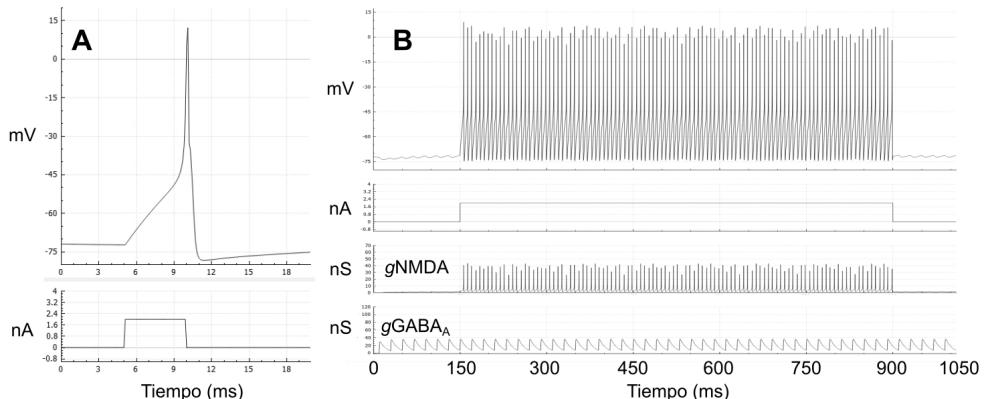
Parámetro	Valor	Unidad
Duración del registro	1010	ms
Inicio de la estimulación	10	ms
Fin de la estimulación	1000	ms
Duración estimulación tónica	990	ms
Corriente basal	0	nA
Corriente inyectada	2	nA
Voltaje de inicio	-72	mV
g <sub>Na</sub>	17	nS
g <sub>K</sub>	18	nS
p <sub>Na</sub> fuga (rango 0 a 1)	0.01	nS
p <sub>K</sub> fuga (rango 0 a 1)	0.25	nS
GABA <sub>A</sub> (Peso)	0.6 a 1.6	R%
NMDA (Peso)	0.6 a 0.0	R%
Temperatura	35, 37 o 40	°C

## Estadística

En cada una de los escenarios de simulación se cuantificó digitalmente el número de potenciales de acción (espias) y sus amplitudes totales medidas en mV desde el nivel del potencial de reposo hasta el sobretiro del potencial de acción, generados durante la fase tónica de la respuesta. El procesamiento de los datos se realizó con el programa estadístico PAST de libre disponibilidad<sup>[28]</sup>. Los valores obtenidos para cada serie de modificación del peso sináptico equivalente a dosis de cada droga se compararon multivariadamente mediante el test de distribución libre de Kruskal-Wallis. Las curvas dosis-respuesta fueron analizadas por regresión polinómica eligiéndose su orden de acuerdo a la curva de mejor ajuste mediante el coeficiente de regresión. Para todos los casos se consideró significativos valores de p<0.05.

## Resultados

En condiciones controles el modelo de neurona Pre-I generó potenciales de acción con la típica fase tónica característica de dicha neurona (figura 1) que se mantienen mientras perdure la aferencia excitatoria que en condiciones fisiológicas provienen de las neuronas Pre-I/I del Pre-Böt.



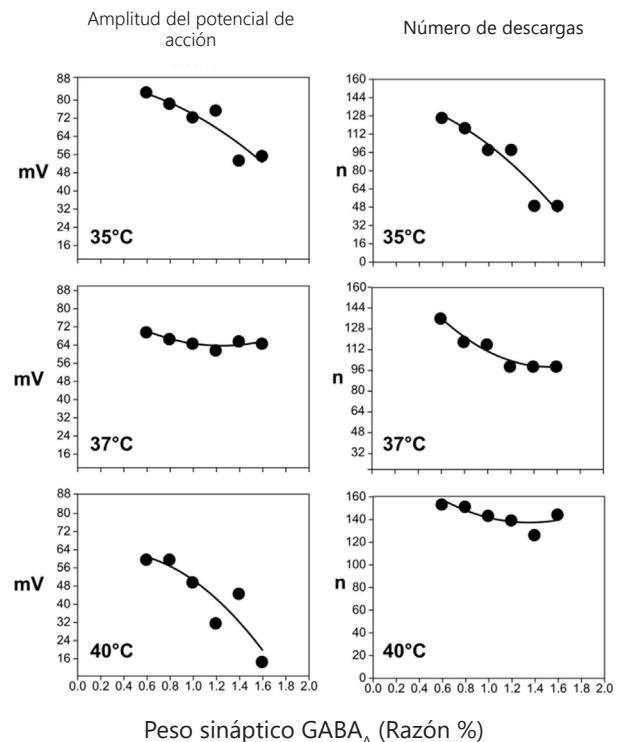
**Figura 1.** A: Morfología del potencial de acción generado por el modelo de neurona Pre-I del núcleo pre-Bötzinger ante un pulso intracelular de corriente corto (5 ms; 2 nA) a 37°C y ausencia de medicación. B: Patrón de descarga tónica característica de la misma neurona en respuesta a una despolarización tónica (750ms; 2 nA), visualizándose las conductancias (nS) NMDA y GABA<sub>A</sub> de la membrana. Los parámetros del modelo se describen en la *Tabla 1*.

## Efectos de las benzodiacepinas y su termodependencia

En la *figura 2* se presenta el efecto de dosis progresivas de benzodiacepinas (aumento del peso sináptico relativo de  $\text{GABA}_A$ ) en condiciones de hipo ( $35^\circ\text{C}$ ), normo ( $37^\circ\text{C}$ ) e hipertermia ( $40^\circ\text{C}$ ) sobre el número de espigas generadas y la amplitud del potencial de acción de la neurona Pre-I, apreciándose una disminución de la amplitud de los potenciales de acción y de su número de manera proporcional al incremento del tono gabaérgico (*figura 2*). De igual manera la reducción de la temperatura genera una reducción progresiva de ambos parámetros, mostrando curvas de ajuste polinomiales de segundo orden cuyas ecuaciones y pruebas estadísticas se presentan en la *tabla 3*. Es de hacer notar que en condiciones de hipo o hipertermia las curvas de cambio tanto de amplitud como del número de descargas, mostraron una mayor pendiente al compararlas con los mismos cambios sinápticos en normotermia. La hipertermia se caracterizó por la combinación de una reducción en la amplitud del potencial de acción así manteniéndose la frecuencia de descarga para el receptor  $\text{GABA}_A$  (*figura 2*).

## Efecto de la ketamina y su termodependencia

El efecto de dosis progresivas de ketamina (reducción del peso sináptico relativo de NMDA) en condiciones de hipo ( $35^\circ\text{C}$ ), normo ( $37^\circ\text{C}$ ) e hipertermia ( $40^\circ\text{C}$ ) sobre el número de espigas generadas y la amplitud del potencial de acción de la neurona Pre-I se muestra en la *figura 3*. Se observa un aumento de la amplitud de los potenciales de acción y de su número de manera proporcional al incremento del tono gabaérgico (*figura 2*). De igual manera la reducción de la temperatura genera una reducción progresiva de ambos parámetros, mostrando curvas de ajuste polinomiales de segundo orden cuyas ecuaciones y pruebas estadísticas se presentan en la *tabla 3*.

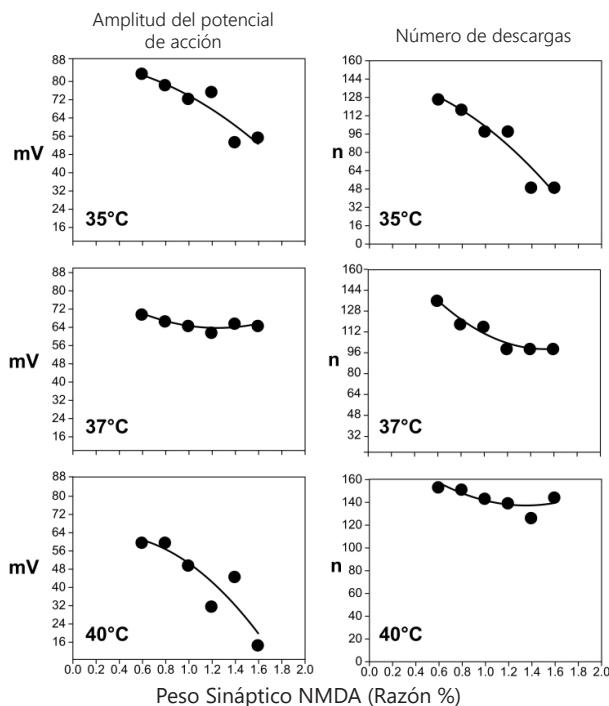


*Figura 2.* Cambios en el patrón de descarga tónica (número de espigas) y amplitud del potencial de acción (mV) de la neurona Pre-I del núcleo pre Bötzinger ante dosis progresivas de benzodiacepinas (peso sináptico relativo de  $\text{GABA}_A$ ) en condiciones de hipo ( $35^\circ\text{C}$ ), normo ( $37^\circ\text{C}$ ) e hipertermia ( $40^\circ\text{C}$ ). Las escalas se presentan similares con fines de comparación.

Las condiciones de hipo o hipertermia las curvas de cambio tanto de amplitud del potencial de acción como del número de descargas, mostraron una mayor pendiente al compararlas con los mismos cambios sinápticos evaluados en normotermia. La hipertermia se caracterizó por la ausencia de cambios significativos en la amplitud del potencial de acción y el número de descargas durante la manipulación del peso sináptico del receptor NMDA (*figura 2*).

**Tabla 3.** Análisis de regresión polinomial entre la corriente sináptica GABA<sub>A</sub> y el número y amplitud de espigas en la fase tónica de la neurona Pre-I del núcleo pre-Bötzinger. El peso sináptico GABA<sub>A</sub> se incrementó progresivamente como consecuencia de dosis crecientes de benzodiacepinas.

Espigas	Temperatura	Ecuación	r	p
Número	35°C	$-33,48X^2-18,48X+146,5$	-0,91	0,026
	37°C	$43,73X^2-133,2X+199,7$	-0,95	0,011
	40°C	N.S.	-0,63	0,225
Amplitud	35°C	$-12,95X^2-1,804X+88,49$	+0,84	0,042
	37°C	N.S.	0,79	0,096
	40°C	$-25,89X^2+15,82X+60,61$	0,80	0,090



**Figura 3.** Cambios en el patrón de descarga tónica (número de espigas) y amplitud del potencial de acción (mV) de la neurona Pre-I del núcleo pre-Bötzinger ante dosis progresivas de Ketamina (peso sináptico relativo de NMDA) en condiciones de hipo (35°C), normo (37°C) e hipertermia (40°C). Las escalas se presentan similares con fines de comparación.

El efecto comparativo de la temperatura sobre los cambios en los pesos sinápticos tanto de GABA<sub>A</sub> como de NMDA sobre la neurona Pre-I se presentan en la *figura 4*, en la que se aprecia que en condiciones de hipotermia se generaron cambios significativos tanto en el número de descargas como en la amplitud de las mismas, que fueron más intensos al manipular el peso sináptico de los receptores GABA<sub>A</sub> especialmente por arriba del 20% del incremento en su actividad (*figura 4*). En contraste, el receptor NMDA durante la hipotermia generó incrementos significativos, pero de menor intensidad (*figura 4*). En condiciones de hipertermia, el efecto sobre GABA<sub>A</sub> denota nuevamente un intenso cambio a partir de incremento en 20% del peso sináptico tanto en las curvas de amplitud del potencial de acción como del número de descargas, efecto que no se observó en la manipulación del peso sináptico NMDA (*figura 4*).

## Discusión

En el presente estudio se evaluó *in silico* en un modelo de neurona funcionalmente del tipo Pre-inspiratoria del núcleo Pre-Bötzinger del tallo cerebral, el efecto equivalente de dosis incrementadas de benzodiacepinas como agonistas de los receptores GABA<sub>A</sub> o de ketamina como antagonista de los receptores NMDA glutamatérgicos en condiciones de hipo, normo o hipotermia para emular condiciones de frecuentemente se presentan durante el acto anestésico clínico y así describir los cambios en los patrones de descarga neuronal.

El modelo neuronal implementado fue generado incorporando valores morfológicos reportados obtenidos de experimentos *in vivo* e *in vitro* tratando de lograr la mayor fidelidad a la realidad. A este respecto la morfología del potencial de acción de modelo y su respuesta ante la inyección de corriente despolarizante tanto de corta como de larga duración (emulando las aferencias tónicas

del tallo cerebral) se ajustaron a los registros reportados<sup>14,16-25</sup>. La neurona Pre-I expresa en su membrana receptores tanto del tipo GABA<sub>A</sub> como NMDA<sup>18,19</sup> que son precisamente blancos farmacológicos de drogas como los benzodiacepinas y la ketamina de uso rutinario en clínica anestesiológica. La adecuada función e interacción entre los diferentes núcleos de control respiratorio dependen del equilibrio entre la excitación generada primordialmente por el glutamato mediante sus receptores NMDA y la contraparte inhibitoria aportada por el GABA a través de sus receptores GABA<sub>A</sub><sup>14,16-25</sup>. Si bien el efecto buscado durante el acto anestésico es el de disminuir el estado de conciencia al reducir la actividad cortical cerebral, la presencia de los mismos receptores en el tallo cerebral y especialmente en los centros de control respiratorio como el núcleo Pre-Böt y sus neuronas Pre-I, hace que el efecto afecte el patrón respiratorio. La reducción de la actividad neuronal podría expresarse ya sea con una reducción en la amplitud del potencial de acción y/o en la reducción del número de descargas generadas durante una estimulación tónica.

Desde el punto de vista neurofisiológico, el mismo efecto puede ser consecuencia o de un incremento de la inhibición (agonismo GABA al incrementar el influjo de cloruro vía receptor GABA<sub>A</sub>) o una disminución en la excitabilidad (antagonismo NMDA al bloquear el influjo de sodio y calcio)<sup>27</sup>. Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que la amplitud del potencial de acción y/o el número de descargas generadas durante la estimulación tónica de la neurona Pre-I se reducen al activar al receptor GABA<sub>A</sub> (efecto de las benzodiacepinas) en las tres condiciones de temperatura evaluadas salvo en el caso de la normotermia en la amplitud del potencial de acción y la hipertermia para el número de descargas. Estos casos pueden ser explicados por la termodependencia diferencial

de los componentes de activación y desactivación del canal iónico<sup>29</sup>. El bloqueo de los receptores NMDA (efecto de la ketamina) también provoca una reducción de la amplitud de los potenciales de acción y del número de descargas neuronales en condiciones de hipo- y normotermia, no así en hipertermia donde no hubo cambios significativos. Es de hacer notar que el efecto final sobre la actividad eléctrica de la neurona Pre-I depende del balance entre las actividades GABA<sub>A</sub> y NMDA, sin embargo, entre ambas, la actividad inhibitoria es la que mas de modificó, lo cual sugiere su relevancia en el patrón de descarga de ésta neurona.

Desde el punto de vista de los efectos clínicos hipnóticos y sedativos de las benzodiacepinas y la ketamina se evidencian en la medida que se aumenta la dosis de las drogas, generando desde la hipoventilación o depresión respiratoria hasta la apnea en los pacientes medicados o con intoxicación por estas drogas. Similar depresión respiratoria o hipoventilación se presenta por la inhibición de los receptores para glutamato, N-metil-D-aspartato (NMDA) como el que podemos apreciar en los pacientes que están bajo los efectos de la ketamina ya que en el control del ciclo respiratorio, las neuronas del núcleo Bötzinger del tipo Post-inspiratorias/inspiratorias (Post-I/I) ejercen una acción inhibitoria de carácter gabaérgica sobre las neuronas sobre las neuronas Pre-Inspiratorias (Pre-I) y las Early-I del núcleo Pre-Bötzinger<sup>1</sup> que tienen una acción excitatoria de carácter glutamatérgica (NMDA) tanto sobre neuronas motoras del nervio hipogloso como sobre las neuronas excitatorias de rampa inspiratoria del núcleo respiratorio rostral<sup>14,19</sup>. El agonismo sobre los receptores GABA<sub>A</sub> mostró cambios más intensos en la amplitud y número de los potenciales de acción de la neurona Pre-I que los mismos cambios porcentuales realizados en antagonismo sobre los receptores NMDA, lo cual evidencia el predominio del

sistema gabaérgico en el núcleo Pre-Böt. Adicionalmente, el ajuste de las curvas dosis-respuesta a funciones polinomiales de segundo orden sugieren el comportamiento no lineal de la cinética de ambos canales cuyas pendientes se exacerbaban en hipo e hipertermia. El reporte de las ecuaciones de estas curvas de ajuste plantea la posibilidad de calcular el impacto sobre el patrón de descarga neuronal en Pre-I de una dosis específica del agonista o del antagonista.

Estos efectos evaluados en normotermia mostraron curvas dosis-respuesta con cinéticas polinomiales de segundo orden cuyas pendientes se incrementaron considerablemente durante hipo o hipertermia lo cual evidencia la gran termodependencia<sup>26,27</sup> con valores de coeficiente de Arrhenius ( $Q_{10}$ ) mayores de 2. En la gran mayoría de las células excitables en mamíferos el  $Q_{10}$  es de aproximadamente 2,5 y la permeabilidad iónica de membrana en reposo para el sodio es mayor que para el potasio<sup>27</sup>. Al aumentar la temperatura, se produce una despolarización, aumenta la excitabilidad y del número de descargas<sup>27,29,30</sup>.

A baja temperatura, la desactivación del canal de sodio dependiente de voltaje es menos intensa que el proceso de activación, lo que da como resultado tiempos de apertura más largos y más despolarización y excitabilidad de la membrana.

A temperaturas superiores a 40°C, los procesos de activación y desactivación se aceleran, reduciendo tanto el tiempo de apertura del canal como la excitabilidad neuronal<sup>31,33</sup>. Adicionalmente se ha reportado que el incremento de la temperatura es capaz de acortar el tiempo de activación del canal de sodio y de incrementar la tasa de hidrólisis de neurotransmisores en la sinapsis<sup>33</sup>. El presente estudio evaluó el efecto de benzodiacepinas y de ketamina sobre los receptores GABA<sub>A</sub> y NMDA así como su

termo-dependencia debido a la disponibilidad de los parámetros reportados de estos 3 variables en la neurona Pre-I. Es muy probable que los canales catiónicos sensibles a temperatura llamados TRP (Transient Receptor Potential) que se expresan a lo largo del sistema nervioso central y periférico, también se encuentren en las neuronas de los núcleos de control respiratorio del tallo cerebral.

Específicamente el TRPV<sub>1</sub> y TRP<sub>3</sub> poseen muy alta termo-dependencia con  $Q_{10} > 10$ , sin embargo; la apertura de canales para el sodio y calcio característica de estos canales ocurre por arriba de 42°C y por debajo de 33°C respectivamente, lo cual produciría la despolarización neuronal<sup>34-36</sup>. Es de hacer notar que estos umbrales térmicos son muy específicos y se encuentran alejados de las temperaturas en rango clínico a las que puede llegar el centro corporal y especialmente alejadas de las tres temperaturas 35°C, 37°C y 40°C probadas en el presente estudio, por lo que las curvas de termo-dependencia reportadas aquí *in silico* probablemente se acerquen a la realidad con  $Q_{10}$  de 2,5. Estos resultados son de utilidad en el cálculo del impacto y/o riesgo anestésico en pacientes sometidos a cirugía y que por condiciones de emergencia se realiza en condiciones febriles o de hipotermia.

### Conflictos de interés

Los autores declaran la ausencia de conflictos de interés.

### Financiamiento

Este estudio fue parcialmente financiado por el Centro de Biofísica y Neurociencias, Universidad de Carabobo, Venezuela y el Instituto de Ingeniería Biológica y Médica de la Pontificia Universidad Católica de Chile, Chile.

## Referencias

1. Bianchi AL, Denavit-Saubié M, Champagnat J. Central control of breathing in mammals: neuronal circuitry, membrane properties, and neurotransmitters. *Physiol Rev* 1995;75(1):1-45.
2. Cohen MI. Neurogenesis of respiratory rhythm in the mammal. *Physiol Rev* 1979;59:1105-73.
3. Richter DW. Neural regulation of respiration: rhythmogenesis and afferent control. In: *comprehensive human Physiology* 1996; 2079-95.
4. Hilaire G, Duron B. Maturation of the mammalian respiratory system. *Physiol Rev* 1999;79(2):325-60.
5. Smith JC, Ellenberger HH, Ballanyi K, Richter DWA, Feldman JL. Pre-Bötziinger complex: a brainstem region that may generate respiratory rhythm in mammals. *Science* 1991;254:726-9.
6. Rekling JC, Feldman JL. PreBotzinger complex and pacemaker neurons hypothesized site and kernel for respiratory rhythm generation. *Annu Rev Physiol* 1998; 60:385-405.
7. Koshiya N, Smith JC. Neuronal pacemaker for breathing visualized in vitro. *Nature* 1999;400(6742):360-3.
8. Ezure K. Synaptic connections between medullary respiratory neurons and considerations on the genesis of respiratory rhythm. *Prog Neurobiol* 1990;35:429-50.
9. Bianchi AL, Denavit-Saubié M, Champagnat J. Central control of breathing in mammals: neuronal circuitry, membrane properties, and neurotransmitters. *Physiol Rev* 1995;75(1):1-45.
10. Ezure K, Tanaka I, Saito Y. Brainstem and spinal projections of augmenting expiratory neurons in the rat. *Neurosci Res* 2003;45(1):41-51.
11. Rybak IA. Late expiratory activity emergence and interactions with the respiratory CPG. *J Neurophysiol* 2010;104:2713-29.
12. Rubin JE, Shevtsova NA, Ermentrout GB, Smith JC, and Rybak IA. Multiple rhythmic states in a model of the respiratory central pattern generator. *J Neurophysiol* 2009;101:2146-65.
13. Rybak IA, Molkov YI, Paton JF, Abdala AP, Zoccal DB. Modeling the autonomic nervous system, in *primer on the autonomic nervous system*. 3rd Edition. Robertson, Biagioli, Burnstock, Lowe, Paton, Editors. Oxford Academic Press 2012; 681-7.
14. Rybak IA, Paton JFR, Schwaber J. Modeling neural mechanisms for genesis of respiratory rhythm and pattern: II. Network models of the central respiratory pattern generator. *J Neurophysiol* 1997;77:2007-26.
15. Fietkiewicz C, Loparo K, Wilson CG. Drive latencies in hypoglossal motoneurons indicate developmental change in the brainstem respiratory network. *J Neural Eng* 2011;8(6):65011.
16. Molkov YI, Bacak BJ, Dick TE, Rybak IA. Control of breathing by interacting pontine and pulmonary feedback loops. 2013; 7:1-18.
17. Loewy AD, Spyer KM. Central regulation of autonomic functions. New York Oxford University Press 1990.
18. Rybak IA, Ptak K, Shevtsova NA, McCrimmon D. Sodium currents in neurons from the rostroventrolateral medulla of the rat. *J Neurophysiol* 2003;90:1635-42.
19. Smith JC, Abdala PL, Koizumi H, Rybak IA, Paton JFR. Spatial and functional architecture of the mammalian brain stem respiratory network: a hierarchy of three oscillatory mechanisms. *J Neurophysiol* 2007;98(6):3370-87.
20. Butera RJ, Rinzel JR, Smith J. Models of respiratory rhythm generation in the pre-Bötziinger complex: II. Populations of coupled pacemaker neurons. *J Neurophysiol* 1999;82:398-415.
21. Butera RJ, Rinzel JR, Smith J. Models of respiratory rhythm generation in the pre-Bötziinger complex: I. Populations of coupled pacemaker neurons. *J Neurophysiol* 1999;82:382-97.
22. Rybak IA, Paton JF, Schwaber SJ. Modeling neural mechanisms for genesis of respiratory rhythm and pattern: I. Network models of the central respiratory pattern generator. *J Neurophysio* 1997;77:1994-2006.
23. Rybak IA, Shevtsova NA, Paton JFR, Dick TE, et al. Modeling the ponto-medullary respiratory network. *Respir Physiol Neurobiol* 2004;143:307-19.

24. Frermann D, Keller BU, Richter D. Calcium oscillations in rhythmically active respiratory neurones in the brainstem of the mouse. *J Physiol* 1999;515:119–31.
25. Elsen FP, Ramirez J. Calcium currents of rhythmic neurons recorded in the isolated respiratory network of neonatal mice. *J Neurosci*. 1998;18:10652–62.
26. Martinez H, Eblen-Zajjur A. Termodependencia en rango clínico de las descargas neuronales individuales y colectivas en el complejo nuclear pre Bötzinger responsable del ritmo respiratorio. LXV Conv Anu ASOVAC. Caracas 2015.
27. Huguenard J, McCormick D. Electrophysiology of the neuron. New York Oxford: Oxford University Press; 1994.
28. Hammer O, Harper DAT, Ryan PD. PAST-palaeontological statistics, ver.1.89. *Palaeontol electron* 2001; 4(1):1-9.
29. Vasilenko VY. Thermosensitivity: an intrinsic property of hypothalamic neurons. *J Therm Biol* 1994; 19: 219-236.
30. Belluzzi O, Sacchi O. A five-conductance model of the action potential in the rat sympathetic neurone. *Prog Biophys Mol Biol* 1994; 55:1-30.
31. Alfonsi E, Merlini G, Giorgetti A, Ceroni M, Piccolo G, Agostinis C, Savoldi F. Temperature-related changes in sensory nerve conduction: studies in normal subjects and in patients with paraproteinaemia. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 1987; 27: 277-82.
32. Chaudhry V, Crawford TO, Derossett SE. 1993. Thermal sensitivity in demyelinating neuropathy. *Muscle Nerve* 1993; 16: 301–6.
33. Rutkove S, Kothari M, Shefner J. Nerve, muscle, and neuromuscular junction electrophysiology at high temperature. *Muscle and Nerve* 1997; 20(4):431–6.
34. Bevan S. TRP channels as thermosensors. *Current Topics in Membranes*, 2006; 57: 199-239.
35. Huang J, Zhang X, Mcnaughton PA. Modulation of temperature-sensitive TRP channels. *Cell Dev Biol* 2006; 17: 638-45.
36. Montell C, Caterina MJ. Thermoregulation: channels that are cool to the core. *Curr Biol* 2007;17: 885–87.

---

### Artículo sin conflicto de interés

---

© Archivos de Neurociencias