



## INVESTIGACIÓN BÁSICA

# Receptores de la serotonina que inhiben el tono simpático vasopresor en la rata descerebrada y desmedulada

Araceli Sánchez-López, David Centurión, Jair Lozano-Cuenca, Enriqueta Muñoz-Islas, Luis E. Cobos-Puc, Carlos M. Villalón

Departamento de Farmacobiología. Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.

Recibido el 1 de agosto de 2006; aceptado el 29 de febrero de 2008.

### PALABRAS CLAVE

5-Hidroxitriptamina;  
Inhibición presináptica;  
Tono simpático; México.

### KEY WORDS

5-Hydroxytryptamine;  
prejunctional inhibition;  
sympathetic outflow;  
Mexico.

### Resumen

La serotonina (5-hidroxitriptamina; 5-HT), produce simpatoinhibición vascular mediante la activación de receptores 5-HT<sub>1</sub> presinápticos. Después de considerar los mecanismos de modulación de la unión neuroefectora, la presente revisión analiza los hallazgos que identifican el perfil farmacológico de los receptores serotoninérgicos que inhiben las respuestas vasopresoras simpáticas en la rata descerebrada y desmedulada. En este sentido, se ha demostrado que la simpatoinhibición inducida por la 5-HT (i) no se modifica después de administrar solución salina o los antagonistas selectivos ritanserina (5-HT<sub>2</sub>), MDL-72222 (5-HT<sub>3</sub>) o tropisetron (5-HT<sub>3/4</sub>); (ii) es antagonizada por la metisergida, un antagonista no selectivo de los receptores 5-HT<sub>1</sub> y 5-HT<sub>2</sub>, en tanto que (iii) la 5-carboxamidotriptamina (5-CT), un agonista no selectivo del receptor 5-HT<sub>1</sub>, produce un efecto mimético potente, así como los agonistas selectivos 8-OH-DPAT (5-HT<sub>1A</sub>), indorrenato (5-HT<sub>1A</sub>), CP-93,129 (5-HT<sub>1B</sub>) y sumatriptán (5-HT<sub>1B/1D</sub>). Estos hallazgos demuestran la participación de los receptores simpatoinhibitorios 5-HT<sub>1</sub>. Con el uso de antagonistas selectivos, en estudios subsecuentes se demostró que la simpatoinhibición producida por el indorrenato, CP-93,129 y sumatriptán fue antagonizada en forma selectiva por, respectivamente, el WAY-100635 (5-HT<sub>1A</sub>), cianopindolol (5-HT<sub>1A/1B</sub>) y GR-127935 (5-HT<sub>1B/1D</sub>). Estos resultados indican que, en la vasculatura sistémica de la rata, los receptores simpatoinhibitorios 5-HT<sub>1</sub> correlacionan con los subtipos 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> y 5-HT<sub>1D</sub>.

### Serotonin receptors blocking the vasopressor tone in the decorticated rat

### Abstract

Serotonin (5-hydroxytryptamine; 5-HT) has been shown to produce vascular sympatho-inhibition in a wide variety of isolated blood vessels by activation of prejunctional 5-HT<sub>1</sub> receptors. After considering the mechanisms involved in modulating neuroeffector transmission, the present review analyzes the experimental findings identifying the pharmacological profile of the 5-HT receptors that inhibit the sympathetically-induced vasopressor responses in pithed rats. Thus, 5-HT-induced sympatho-inhibition has been shown to be: (i) unaffected by physiological saline or by the selective antagonists ritanserin (5-HT<sub>2</sub>), MDL72222 (5-HT<sub>3</sub>) or tropisetron

Correspondencia: Prof. Dr. Carlos Miguel Villalón Herrera. Farmacobiología-Cinvestav Coapa. Czda. de los Tenorios 235. Col. Granjas Coapa. CP 14330. Del. Tlalpan. México, D. F., México. Teléfono: + (52) (55) 5061 2854. Fax: + (52) (55) 5061 2863. Correo electrónico: cvillalon@cinvestav.mx

(5-HT<sub>3/4</sub>); (ii) blocked by methysergide, a non-selective 5-HT<sub>1/2</sub> receptor antagonist; and (iii) potently mimicked by 5-carboxamidotryptamine (5-CT), a non-selective 5-HT<sub>1</sub> receptor agonist, as well as by the selective agonists 8-OH-DPAT (5-HT<sub>1A</sub>) indorenate (5-HT<sub>1A</sub>), CP93,129 (5-HT<sub>1B</sub>), and sumatriptan (5-HT<sub>1B/1D</sub>). These findings show the involvement of prejunctional 5-HT<sub>1</sub> receptors. With the use of selective antagonists, it has been shown subsequently that the sympatho-inhibition induced by indorenate, CP93,129, and sumatriptan was selectively antagonized by WAY100635 (5-HT<sub>1A</sub>), cyanopindolol (5-HT<sub>1A/1B</sub>), and GR127935 (5-HT<sub>1B/1D</sub>), respectively. These results demonstrate that the 5-HT<sub>1</sub> receptors mediating sympatho-inhibition on the systemic vasculature of pithed rats resemble the pharmacological profile of the 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, and 5-HT<sub>1D</sub> subtypes.

## Introducción

La serotonina, químicamente conocida como 5-hidroxitriptamina (5-HT), es una monoamina biógena con un peso molecular de 176 dáltones y con una amplia distribución en la naturaleza, donde se la encuentra tanto en el reino animal (vertebrados e invertebrados) como en el reino vegetal (plantas, frutas, nueces, etc.).<sup>1,2</sup> En los mamíferos, la 5-HT puede encontrarse en el sistema nervioso central (SNC), en donde desempeña un papel importante como neurotransmisor,<sup>1,2</sup> y en algunas estructuras periféricas como las células enterocromafines de la mucosa gastrointestinal, las plaquetas, ciertos nervios de los vasos sanguíneos, la pared de los vasos sanguíneos, los pulmones y el corazón.<sup>1,2</sup>

La 5-HT ejerce una variedad compleja de efectos en el organismo; sin embargo, su papel fisiológico preciso, además de neurotransmisor en el SNC y, quizá, en el sistema nervioso entérico<sup>3</sup> es, en el mejor de los casos, debatible, aunque ya se ha progresado en el entendimiento del papel que desempeña en ciertos procesos fisiopatológicos.<sup>4,5</sup> Puesto que la 5-HT no atraviesa la barrera hematoencefálica, existe una clara distinción entre sus funciones centrales y periféricas.<sup>3</sup> Por ejemplo, en la periferia, la 5-HT interviene en la contracción y relajación de las células musculares lisas, en la agregación plaquetaria y en la modulación presináptica (estimulación y/o inhibición) de la transmisión en las neuronas autónomas.<sup>1,3</sup> De manera adicional, en el SNC la 5-HT, funciona como un neurotransmisor y parece desempeñar un papel importante en la regulación de la memoria, el apetito, la ansiedad, el sueño, la depresión, la temperatura corporal, la conducta sexual, el sistema cardiovascular, etcétera.<sup>1,3</sup>

Gracias al descubrimiento decisivo de agonistas y antagonistas selectivos de los receptores a la 5-HT (Tabla 1), muchas funciones insospechadas de ésta en el SNC y la periferia se han dilucidado.<sup>4,5</sup> Por consiguiente, estos hallazgos originaron una nueva era en el desarrollo de fármacos con utilidad terapéutica en el tratamiento de afecciones como la ansiedad, esquizofrenia, hipertensión, migraña, los padecimientos cardiovasculares, entre otras.<sup>4,5</sup>

Es importante destacar que la 5-HT es un autacoide productor de efectos complejos en el sistema cardiovascular y en todo el organismo.<sup>1,3</sup> De manera adicional, su capacidad de interferir con la neurotransmisión en el sistema nervioso autónomo cuenta con amplia documentación.<sup>1,5</sup> De hecho, en la literatura científica, existen numerosas evidencias experimentales que refieren sus acciones inhibitorias sobre la transmisión simpática en una amplia variedad de vasos sanguíneos aislados de diferentes especies,

así como en la vasculatura sistémica de la rata.<sup>1,5</sup> Dicha simpato-inhibición vascular, que se vincula con la estimulación de receptores presinápticos tipo 5-HT<sub>1</sub> localizados en las fibras simpáticas vasculares,<sup>4,5</sup> puede resultar en (i) vasodilatación en preparaciones vasculares *in vitro* o (ii) inhibición de las respuestas vasopresoras simpáticas y/o efectos vasodepresores en modelos experimentales *in vivo*. En virtud de la complejidad que representan tales hallazgos, la presente revisión se restringe a analizar en forma crítica las evidencias experimentales que identifican el perfil farmacológico de los receptores serotoninérgicos que inhiben las respuestas vasopresoras simpáticas en la rata descerebrada y desmedulada. Para tal propósito es importante considerar en primera instancia los mecanismos moduladores de la transmisión autónoma en la unión neuroefectora.

## Modulación de la transmisión autónoma en la unión neuroefectora

El sistema cardiovascular y otros efectores autónomos se hallan bajo el control general del SNC, el cual ejerce la principal función integrativa en los procesos de homeostasis a través de conexiones nerviosas directas y, en forma más difusa, por medio del sistema endocrino.<sup>6</sup> Sin embargo, existen por lo menos otros dos niveles de control: (i) las sinapsis ganglionares periféricas, así como los plexos mientérico y submucoso en el caso del sistema nervioso entérico, y (ii) las terminales nerviosas.<sup>6</sup> La presente revisión considera básicamente los mecanismos de control local de la transmisión autónoma en las uniones neuroefectoras, con énfasis particular en los efectores cardiovasculares. Debe destacarse que los mecanismos de control de la transmisión neuroefectora (de neurona a efector) son también aplicables a la transmisión sináptica (de neurona a neurona) en sitios periféricos y centrales; asimismo, gran parte de la información acerca del control de la transmisión sináptica es aplicable a la transmisión neuroefectora autónoma.<sup>3</sup> No obstante, existen ciertas diferencias entre la transmisión sináptica y la transmisión neuroefectora.<sup>6</sup> Por esta razón, las publicaciones científicas escritas en inglés describen a los receptores de las terminales nerviosas que inervan a los efectores autónomos como receptores preunión (*prejunctional receptors*) para distinguirlos de los receptores presinápticos (*presynaptic receptors*). Pese a ello, hasta donde fue posible corroborarlo, la literatura científica publicada en español describe a los receptores neurotrópicos de la unión neuroefectora como receptores presinápticos, no como receptores preunión. Por tal razón, de aquí en más se hace referencia a los receptores

neurotrópicos de la unión neuroefectora autónoma como receptores presinápticos, aunque debe recordarse que en realidad se alude a receptores “preunión”.

Con base en lo anterior, numerosas evidencias experimentales demuestran que la liberación de un neurotransmisor puede afectarse por sustancias que ejercen acción local sobre la terminal nerviosa. En este sentido, se han descrito por lo menos cuatro mecanismos que modulan la liberación de neurotransmisores en la unión neuro-efectora autónoma, a saber: automodulación, modulación transneuronal, modulación transunión (trans-sináptica) y modulación hormonal.<sup>3</sup>

### Automodulación

Es un mecanismo que incluye un efecto de retroalimentación del neurotransmisor sobre su propia liberación mediante la estimulación de receptores presinápticos (autorreceptores) localizados sobre la terminal nerviosa.<sup>6</sup> Por ejemplo, la noradrenalina liberada de la terminal simpática, una vez que alcanza una concentración crítica en la unión neuroefectora, interactúa con autorreceptores adrenérgicos presinápticos  $\alpha_2$ , lo que inhibe su propia liberación.<sup>6</sup> Un mecanismo similar tiene lugar en las neuronas que liberan otros neurotransmisores (acetilcolina, GABA, 5-HT, etc.). En términos prácticos, en todos los sistemas de transmisión analizados, la automodulación es inhibitoria y mediada por autorreceptores presinápticos.<sup>6</sup>

### Modulación transneuronal

Es un mecanismo que implica el efecto de un neurotransmisor liberado por neuronas de un tipo sobre la liberación del neurotransmisor de neuronas adyacentes de otro tipo mediante la estimulación de receptores presinápticos (heterorreceptores).<sup>6</sup> Por ejemplo, la liberación de acetilcolina inducida por estimulación eléctrica en preparaciones de intestino es inhibida por agonistas de los receptores adrenérgicos  $\alpha_2$ .<sup>7,8</sup> De esta manera, los receptores adrenérgicos  $\alpha_2$  presinápticos dispuestos sobre las terminales colinérgicas (heterorreceptores) participan en el control fisiológico, ya que la estimulación de los nervios simpáticos noradrenérgicos inhibe la transmisión colinérgica en el intestino.<sup>8</sup> Otro ejemplo clásico de modulación transneuronal lo representan las respuestas cronotrópicas negativas a la estimulación vagal colinérgica en el corazón de conejo<sup>9</sup> y de perro,<sup>10</sup> que son inhibidas por agonistas adrenérgicos  $\alpha_2$  presentes en dichas terminales colinérgicas.

### Modulación transunión (transsináptica)

Es un mecanismo que incluye un efecto retroalimentador producido por uno o más factores (adenosina o PGE<sub>2</sub>) liberados desde el órgano efector activado sobre las terminales nerviosas autónomas y que en general implica inhibir la liberación de su neurotransmisor.<sup>6</sup> Por ejemplo, en el riñón, la adenosina ejerce acción vasoconstrictora *per se* e incrementa las respuestas vasoconstrictoras a la noradrenalina;<sup>11</sup> además, produce un efecto inhibitorio sobre la liberación de noradrenalina inducida por estimulación simpática.<sup>11</sup> La adenosina liberada del riñón como conse-

cuencia de la estimulación simpática desempeña parte de la respuesta vasoconstrictora ya que la teofilina reduce esta respuesta (al inhibir a la fosfodiesterasa del AMPc, en particular del tipo 4).<sup>12</sup> Además, la teofilina incrementa la liberación de noradrenalina, quizá por el bloqueo de los efectos inhibitorios presinápticos inducidos por la adenosina.<sup>13</sup>

### Modulación hormonal

Es un mecanismo que involucra la acción de hormonas liberadas en la sangre (adrenalina, etc.) o de sustancias de origen local sobre la liberación del neurotransmisor de las terminales nerviosas.<sup>6</sup> Por ejemplo, Langer<sup>14</sup> y otros investigadores<sup>8,15</sup> demostraron la presencia de receptores adrenérgicos beta en las terminales simpáticas. La activación de estos receptores por la adrenalina liberada de la médula suprarrenal produce un aumento en la liberación de noradrenalina de las terminales simpáticas. En congruencia con estos hallazgos, la isoprenalina y algunos agonistas adrenérgicos beta<sub>2</sub> incrementan la liberación de noradrenalina en la unión neuroefectora simpática y el bloqueo de estos receptores la suprime. La concentración de adrenalina que se alcanza en la circulación sanguínea en un estado de estrés ejerce estos efectos, por lo que se comporta como un modulador humoral cuando se secreta de la médula suprarrenal.

### Clasificación y nomenclatura de los receptores de la 5-HT

En la actualidad, parece ser regla general que existan múltiples tipos y subtipos de un receptor para cada uno de los numerosos neurotransmisores, neuromoduladores y autacoides que se encuentran tanto en el SNC como en la periferia. En lo que concierne a la 5-HT, es de particular complejidad, ya que está demostrado que dicha monoamina actúa sobre siete poblaciones diferentes de receptores designados como 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>5</sub>, 5-HT<sub>6</sub> y 5-HT<sub>7</sub> (Tabla 1).<sup>4,5</sup> No obstante, al analizarlos de manera retrospectiva, queda claro que este conocimiento no surgió de la noche a la mañana; de hecho, el primer intento relevante para caracterizar a los receptores de la 5-HT fue el publicado por Gaddum y Picarelli en 1957.<sup>16</sup> Sus estudios se basaron en el análisis de las contracciones inducidas por la 5-HT en el íleon aislado del cobayo. La morfina (M) o la dibencilina (D) bloquearon estas contracciones en forma parcial, que sin embargo fueron abolidas por la combinación de ambos compuestos. Dichos autores concluyeron que la 5-HT debía actuar a través de dos mecanismos y receptores diferentes: un receptor M localizado en las terminales nerviosas parasimpáticas (receptor neurotrópico), el cual media la liberación de acetilcolina, y un receptor D, localizado en el músculo liso (receptor musculotrópico).<sup>16</sup>

Evidencias subsecuentes demostraron que algunas respuestas musculotrópicas a la 5-HT no podían clasificarse dentro de este esquema.<sup>17</sup> En 1979, Peroutka y Snyder<sup>18</sup> reanalizaron la clasificación de Gaddum y Picarelli<sup>16</sup> y demostraron la existencia de dos sitios de unión de la 5-HT en membranas de cerebro: 5-HT<sub>1</sub> (con baja afinidad por la [<sup>3</sup>H]espi-perona) y 5-HT<sub>2</sub> (con alta afinidad por la [<sup>3</sup>H]espi-perona). En 1981, con el advenimiento de la ketanserina,<sup>19</sup>

**Tabla 1.** Características operacionales, transduccionales y respuestas funcionales de los receptores de la 5-HT.<sup>4,5,21,23-25,27,28</sup>

Receptor	Agonistas	Antagonistas	S. transduccional	Función
5-HT1A	8-OH-DPAT, indorrenato	WAY-100 635	(-) AC	Cambios conductuales, hipotensión central
5-HT1B	5-CT ≥ 5-HT > sumatriptán	SB-224 289	(-) AC	Vasoconstricción, inhibición trigeminal
r5-HT1B	CP-93 129	GR-127 935, Cianopindolol	(-) AC	Vasoconstricción, auto/heterorreceptor
5-HT1D	PNU-142 633, sumatriptán	GR-127 935, BRL-15 572	(-) AC	Heterorreceptor en la aurícula humana
5-ht1E	5-HT	Metiotepina	(-) AC	-----
5-ht1F	Sumatriptán, LY-344 864	Metisergida	(-) AC	Inhibición trigeminal
5-HT2A	á-Metil-5-HT, DOI	Ketanserina	(+) PLC	Vasoconstricción, agregación de plaquetas
5-HT2B	á-Metil-5-HT, DOI	Rauwolscina	(+) PLC	Constricción en el fondo del estómago de la rata; relajación
5-HT2C	Ro-60-0175	RO-60-0491, Mesulergina	(+) PLC	Regulación del LCF; erección
5-HT3	2-metil-5-HT, 5-MeOT inactiva	MDL-72 222, Tropisetron, ICS-205-930	Canales Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup>	Despolarización
5-HT4	5-MeOT, renzaprida	GR-113 808, Tropisetron	(+) AC	Taquicardia humana y porcina
5-ht5A/5B	5-HT, ergotamina	LSD, 5-CT, SB-699 551-A	5-ht5A (-) AC	¿Simpatoinhibición cardiaca?
5-HT6	5-MeOT ≥ 5-HT > 5-CT	Ro 04-6790, SB-357 134, SB-399 885	(+) AC	Consolidación de la memoria
5-HT7	5-CT > 5-HT ≥ 5-MeOT, LY-215 840 Sumatriptán inactivo	Mesulergina, Clozapina, SB-258 719	(+) AC	Vasorrelajación, taquicardia felina

Nota: r5-HT1B corresponde al homólogo del receptor 5-HT1B en mamíferos. 5-MeOT: 5-metoxitriptamina, AC: ciclase de adenilato y PLC: fosfolipasa C.

se confirmó que el sitio 5-HT<sub>2</sub> correspondía a la mayoría de los receptores 'D'.

Con base en lo anterior, el Comité de Nomenclatura de Receptores Serotoninérgicos de la Unión Internacional de Farmacología (NC-IUPHAR) reclasificó a los receptores serotoninérgicos.<sup>20</sup> Con base en la conjunción de criterios estructurales (secuencias en la estructura de los genes y receptores para sus componentes de, nucleótidos y aminoácidos, respectivamente), transduccionales (segundos mensajeros sintetizados de manera subsecuente a la interacción ligando-receptor) y operacionales (perfil farmacológico mediante el empleo de agonistas y antagonistas selectivos),<sup>21-23</sup> los receptores de la 5-HT se clasifican en la actualidad en siete tipos principales (Tabla 1):

- **5-HT<sub>1</sub>**, el cual corresponde a algunos receptores 'D' y sitios de unión 5-HT<sub>1</sub> y se subdivide en varios subtipos funcionales como 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> (antes 5-HT<sub>1DB</sub>) y 5-HT<sub>1D</sub> (antes 5-HT<sub>1Dα</sub>); están acoplados negativamente a la ciclase de adenilato.
- **5-HT<sub>2</sub>**, el cual corresponde a la mayoría de receptores 'D' y sitios de unión 5-HT<sub>2</sub>, y se subdivide en los subtipos funcionales 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub> y 5-HT<sub>2C</sub>; están acoplados positivamente a la fosfolipasa C.
- **5-HT<sub>3</sub>**, el cual equivale a los receptores neurotrópicos 'M'; es el único receptor de la 5-HT que forma parte integral de un canal iónico de Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> operado por ligando,

análogo a los receptores nicotínicos. Por lo tanto, no activa de manera directa a los sistemas de segundos mensajeros.

- **5-HT<sub>4</sub>**, está acoplado con efecto positivo sobre la ciclase de adenilato.
- **5-ht<sub>5</sub>**, el cual incluye los subtipos 5-ht<sub>5A</sub> (acoplado de preferencia a proteínas Gi/o, también podría acoplarse a canales del K<sup>+</sup> tipo K<sub>ir</sub>) y 5-ht<sub>5B</sub> (con sistema transduccional desconocido).<sup>24</sup>
- **5-HT<sub>6</sub>**, se acopla con efecto positivo sobre la ciclase de adenilato.
- **5-HT<sub>7</sub>**, se acopla con efecto positivo sobre la ciclase de adenilato.

De esta manera, si un receptor se acopla a proteínas G (los receptores 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>4</sub>, 5-ht<sub>5A</sub>, 5-HT<sub>6</sub> y 5-HT<sub>7</sub>) o si forma parte integral de un canal iónico (el receptor 5-HT<sub>3</sub>), evidencia la superfamilia a que dicho receptor pertenece y algunas de sus características funcionales.<sup>21,25</sup> Asimismo, desde el punto de vista operacional, la mayor parte de estos receptores exhibe un perfil farmacológico bien definido (excepto los receptores recombinantes 5-ht<sub>1E</sub>, 5-ht<sub>1F</sub>, 5-ht<sub>5A</sub> y 5-ht<sub>5B</sub>), es decir, existen agonistas y antagonistas selectivos para cada tipo/subtipo de receptor<sup>4,5</sup> (Tabla 1). Además, debe resaltarse que la clasificación anterior también incluye a ciertos receptores que esperan una caracterización definitiva, como: (i) los

receptores recombinantes 5-HT<sub>1E</sub>, 5-HT<sub>1F</sub>, 5-HT<sub>5A</sub> y 5-HT<sub>5B</sub>, los cuales se escriben con letras minúsculas para indicar que su papel funcional todavía no ha sido identificado en tejidos completos debido a la carencia de agonistas y antagonistas selectivos (Tabla 1), y (ii) los receptores atípicos (*orphan receptors*), los cuales desempeñan un papel funcional claro en tejidos completos (despolarización de las motoneuronas de la rata, inhibición de la liberación de noradrenalina en la arteria coronaria porcina y despolarización lenta de las neuronas mientéricas), pero no correlacionan con ninguno de los receptores de la 5-HT antes mencionados (Tabla 1).<sup>4,21,23,25,26</sup>

Entre otras cosas, la Tabla 1 muestra que los receptores 5-HT<sub>1</sub> son heterogéneos por naturaleza, ya que se han identificado por lo menos cinco subtipos (esto es, 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>1E</sub> y 5-HT<sub>1F</sub>); los receptores 5-HT<sub>2</sub> también son heterogéneos e incluyen a los subtipos 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub> y 5-HT<sub>2C</sub>. Por otro lado, aunque se han reportado algunas variantes ("splice variants") de los receptores 5-HT<sub>3</sub> (5-HT<sub>3a</sub> y 5-HT<sub>3b</sub>), 5-HT<sub>4</sub> (5-HT<sub>4a</sub>, 5-HT<sub>4b</sub>, 5-HT<sub>4c</sub> y 5-HT<sub>4d</sub>) y 5-HT<sub>7</sub> (5-HT<sub>7a</sub>, 5-HT<sub>7b</sub>, 5-HT<sub>7c</sub> y 5-HT<sub>7d</sub>), todavía se desconoce si dichas variantes muestran diferencias en sus características transduccionales/operacionales y, de manera más importante, si desempeñan un papel funcional diferencial.

## Efectos cardiovasculares de la 5-HT

La 5-HT produce respuestas cardiovasculares complejas, que incluyen bradicardia o taquicardia, hipotensión o hipertensión y vasodilatación o vasoconstricción.<sup>1-3</sup> Estos efectos pueden explicarse por la capacidad de esta monoamina de interactuar con receptores específicos en el SNC, ganglios autónomos, terminales nerviosas postganglionares, músculo liso vascular, endotelio vascular y tejido cardíaco.<sup>4,5</sup> Así, la respuesta eventual a la 5-HT depende de una amplia gama de factores que incluyen especie, dosis de 5-HT empleada, lecho vascular bajo estudio, condiciones experimentales, tono vascular preexistente y, de manera muy importante, naturaleza farmacológica del (los) receptor(es) involucrado(s) (Tabla 1).<sup>1-5</sup> Con respecto a este último, numerosas evidencias experimentales demuestran que las respuestas cardiovasculares a la 5-HT tienen la mediación principal de los receptores 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>5A/5B</sub> y 5-HT<sub>7</sub>, así como una acción de tipo tiramina o por mecanismos desconocidos.<sup>5</sup> Curiosamente, el receptor 5-HT<sub>6</sub> no parece intervenir en las respuestas cardiovasculares a la 5-HT.<sup>5</sup>

## Respuestas de la frecuencia cardíaca inducidas por la 5-HT

En animales anestesiados intactos (con nervios vagos intactos), la administración intravenosa (IV) de 5-HT suele disminuir la frecuencia cardíaca al inducir un reflejo tipo von Bezold-Jarisch mediante la estimulación de receptores 5-HT<sub>3</sub> localizados en terminales vagales sensoriales cardíacas.<sup>3</sup> Otros mecanismos bradicárdicos incluyen simpato-inhibición cardíaca mediante la activación de receptores presinápticos 5-HT<sub>1B/1D</sub> localizados en las fibras simpáticas cardíacas<sup>29</sup> y, en el caso de la rata, mediante un componente adicional mediado por receptores simpato-inhbitorios

5-HT<sub>5A/5B</sub>.<sup>30</sup> Después de la vagotomía, la administración IV de 5-HT incrementa la frecuencia cardíaca, pero los mecanismos que participan en esta respuesta dependen sobre todo de la especie<sup>4,5</sup> e incluyen (i) receptores miocárdicos 5-HT<sub>2A</sub> (rata),<sup>31</sup> 5-HT<sub>3</sub> (perro),<sup>3</sup> 5-HT<sub>4</sub> (cerdo)<sup>32,33</sup> y 5-HT<sub>7</sub> (gato),<sup>34</sup> (ii) receptores adrenomedulares 5-HT<sub>2</sub> (perro)<sup>3</sup> y receptores simpatoexcitatorios 5-HT<sub>3</sub> (conejo)<sup>3</sup> asociados con la liberación de catecolaminas; (iii) mecanismos de tipo tiramina (cobayo),<sup>35</sup> y (iv) mecanismos desconocidos (ciertos moluscos).<sup>3</sup> De manera adicional, la administración central de 5-HT puede causar, en general, bradicardia y/o taquicardia mediante la activación respectiva de receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>2</sub>.<sup>36,37</sup>

## Respuestas de la presión arterial sistémica a la 5-HT

- La administración IV de 5-HT en animales con el SNC y los nervios vagos intactos induce una respuesta trifásica sobre la presión arterial<sup>3-5</sup> que consiste en:
- Respuesta vasodepresora inicial intensa y de corta duración debida a bradicardia refleja (mediada por la activación de receptores 5-HT<sub>3</sub> localizados en aferentes vagales, vía un reflejo tipo von Bezold-Jarisch).<sup>3</sup>
- Respuesta vasopresora moderada debida a vasoconstricción sistémica mediada en especial por receptores vasculares 5-HT<sub>2A</sub>.<sup>4</sup>

Respuesta vasodepresora tardía de larga duración que puede incluir tres mecanismos diferentes: (i) vasodilatación directa por activación de receptores 5-HT<sub>7</sub> localizados en el músculo liso vascular;<sup>23,38</sup> (ii) inhibición del tono simpático vasopresor (con la consecuente inhibición en la liberación de noradrenalina) vía la estimulación de receptores simpato-inhbitorios 5-HT<sub>1A/1B/1D</sub>,<sup>39</sup> y (iii) liberación del factor relajante derivado de endotelio (óxido nítrico) vía la estimulación de receptores endoteliales 5-HT<sub>2B</sub>,<sup>40,41</sup> y/o 5-HT<sub>1B/1D</sub>.<sup>42</sup> De manera adicional, la administración central de 5-HT puede causar hipotensión (sobre todo mediada por receptores 5-HT<sub>1A</sub>)<sup>36</sup> e hipertensión (mediada en primer lugar por receptores 5-HT<sub>2</sub>).<sup>37</sup>

En general, la 5-HT es mucho más potente para producir la fase vasodepresora tardía de larga duración que para producir la fase vasodepresora inicial o la respuesta vasopresora.<sup>3-5</sup> La respuesta vasopresora varía en cantidad en dependencia con la especie y las condiciones experimentales; por ejemplo, el conejo, el gato y el cerdo exhiben una respuesta vasopresora débil, mientras que la observada en el perro es potente, en particular después de bloqueo ganglionar.<sup>3-5</sup> Estas diferencias podrían deberse al (sub)tipo de receptor participante y/o su distribución en las diferentes especies. Por otro lado, es importante destacar que en los vasos sanguíneos, donde los receptores 5-HT<sub>7</sub> y 5-HT<sub>2</sub> están presentes y median efectos opuestos (relajación por receptores 5-HT<sub>7</sub> y contracción por los 5-HT<sub>2</sub>), la respuesta final a la 5-HT depende del tono vascular preexistente, de la dosis empleada y de las proporciones en que los dos tipos de receptores se encuentran distribuidos. Estudios *in vivo* demuestran que la densidad de receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> y 5-HT<sub>2</sub> varía en los diferentes segmentos de un lecho vascular determinado.<sup>43</sup> El recep-

tor 5-HT<sub>7</sub> (vasodilatador) se localiza en particular en los vasos de resistencia (arteriolas), los receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> (vasoconstrictores) se localizan en vasos de la fracción no nutriente (anastomosis arteriovenosas), mientras que los receptores 5-HT<sub>2</sub> (vasoconstrictores) están presentes sobre todo en los vasos de gran calibre.<sup>3-5</sup> Por lo tanto, la 5-HT redistribuye el flujo sanguíneo arterial de tal forma que, a pesar de un decremento en el flujo sanguíneo total, el componente arteriolar aumenta, en particular en la piel.<sup>44-46</sup> La distribución vascular de los receptores de la 5-HT también explica, al menos en forma parcial, el hecho de que en estudios *in vitro* realizados en primer lugar con vasos de gran calibre suele observarse una respuesta contráctil mediada por el receptor 5-HT<sub>2</sub>.<sup>3-5</sup> En condiciones *in vivo*, donde los efectos reflejos y/o presinápticos de la 5-HT pueden modificar las respuestas vasculares, la monoamina causa vasodilatación en algunos lechos vasculares y vasoconstricción en otros.<sup>3-5</sup>

### La rata descerebrada y desmedulada como un modelo experimental de simpatoinhibición vascular sistémica

Entre los modelos experimentales de animal completo más representativos que se utilizan para estudiar a los receptores periféricos de la 5-HT se encuentra el modelo de la rata descerebrada y desmedulada,<sup>29,30,47-50</sup> que se describe a continuación. Las ratas macho Wistar normotensas (250-280 g y con una edad de 8 semanas) se anestesian con éter etílico y se realiza una traqueotomía. En un paso ulterior, se efectúa la descerebración y desmedulación insertando un estilete de acero inoxidable a través de la órbita ocular y el agujero magno hasta el agujero vertebral. Acto seguido, los animales se asisten con respiración artificial que suministra una bomba de la marca Ugo Basile (56 respiraciones/min; volumen: 20 mL/kg). Un electrodo de estimulación esmaltado reemplaza el estilete, excepto por 1 cm de longitud localizado a 9 cm de la punta, de tal forma que el segmento sin aislamiento se sitúe a la altura de las vértebras T<sub>7</sub>-T<sub>9</sub> de la médula espinal para estimular en forma selectiva el tono simpático vasopresor. Se practica una vagotomía bilateral a nivel cervical, se canulan las venas femorales izquierda y derecha para la infusión del agonista y la administración del antagonista, respectivamente, y la arteria carótida izquierda, la cual se conecta a un transductor de presión Grass (P23XL) para el registro de la presión arterial. La frecuencia cardiaca se determina mediante un tacógrafo (7P4F, Grass Instruments Co., Quincy, MA, U.S.A.) que mide el intervalo entre dos ondas consecutivas de la presión arterial sistólica. Antes de la estimulación eléctrica, los animales reciben galamina (25 mg/kg, IV) para evitar los espasmos musculares que resultan de estimular las fibras motoras en las raíces ventrales.<sup>48,50</sup>

En virtud de que los efectos simpatoinhibitorios producidos por la 5-HT son más pronunciados en particular a bajas frecuencias de estimulación, todos los animales reciben pretratamiento sistemático con 50 µg/kg (IV) de desipramina (un inhibidor de la recaptación neuronal de noradrenalina) antes de comenzar cada curva de estímulo-respuesta. Bajo estas condiciones experimentales, las

respuestas simpatoinhibitorias son mayores en magnitud a bajas frecuencias de estimulación en comparación con las respuestas obtenidas en ratas sin desipramina.<sup>29,30,47-50</sup> La temperatura corporal de cada animal se mantiene a 37 °C por medio de una lámpara y se vigila con un termómetro rectal.

Después que los animales alcanzan una estabilidad hemodinámica de por lo menos 30 min, se registran los valores basales de la presión arterial y la frecuencia cardiaca. Después se estimula el tono simpático vasopresor para producir las respuestas presoras aplicando trenes de descarga de 10 s (pulsos rectangulares monofásicos de 2 ms de duración y 50 V) a diferentes frecuencias de estimulación (0.03, 0.1, 0.3, 1 y 3 Hz). Cuando la presión arterial regresa a los niveles basales, se aplica la siguiente frecuencia de estimulación. Lo anterior se realiza en forma sistemática hasta completar la curva de estímulo-respuesta.

Es importante mencionar que éste es un modelo experimental *in situ* que permite asegurar que los efectos observados se producen en forma exclusiva sobre el sistema nervioso simpático que inerva la vasculatura sistémica y que no hay influencia del SNC ya que éste se elimina durante el procedimiento previo de descerebración y desmedulación. Por otro lado, es primordial tomar en cuenta el peso y la edad de las ratas para mantener constante la distancia torácica de estimulación.<sup>47</sup>

### Efecto inhibitorio de la 5-HT sobre las respuestas vasopresoras inducidas por estimulación simpática en la rata descerebrada y desmedulada

Como ya se mencionó antes, la 5-HT produce respuestas cardiovasculares complejas, entre las que se incluyen bradicardia o taquicardia, hipotensión o hipertensión y vasodilatación o vasoconstricción.<sup>1-3</sup> En lo que respecta a la capacidad de la 5-HT de producir vasodilatación y/o hipotensión, se implican cuando menos cuatro mecanismos distintos, a saber: (i) inhibición del centro vasomotor, (ii) efectos vasorrelajantes directos sobre el músculo liso vascular, (iii) efectos vasorrelajantes indirectos vía la liberación del factor relajante derivado del endotelio, y/o (iv) inhibición de la liberación de noradrenalina de las neuronas simpáticas.<sup>3,51-54</sup>

La acción inhibitoria de la 5-HT sobre la liberación de noradrenalina de las terminales nerviosas simpáticas vía la activación de receptores presinápticos 5-HT<sub>1</sub> ha sido confirmada en varias preparaciones aisladas, incluida la de vena safena humana y canina,<sup>55</sup> arteria coronaria canina,<sup>56</sup> arteria carótida externa canina,<sup>52-54</sup> arteria femoral canina,<sup>57</sup> riñón de rata,<sup>58</sup> así como la vena cava,<sup>59</sup> corazón<sup>60</sup> y arteria coronaria del cerdo.<sup>61</sup> El análisis farmacológico subsecuente de estos receptores presinápticos 5-HT<sub>1</sub><sup>21,27</sup> mostró una correlación con (i) el subtipo r5-HT<sub>1B</sub> (sensible a bloqueo con cianopindolol) en el caso de los roedores;<sup>59</sup> o (ii) los subtipos 5-HT<sub>1B/1D</sub> (sensibles a bloqueo por GR-127 935) en el caso de las especies no roedoras.<sup>62,63</sup> No obstante, debe destacarse que los estudios anteriores se realizaron *in vitro* o en un lecho arterial individual en el animal anestesiado; por lo tanto, las conclusiones

obtenidas de estos estudios no pueden hacerse extensivas a la vasculatura sistémica. En este sentido, en 1995, Villalón y colaboradores<sup>50</sup> reportaron que la administración de infusiones continuas de 5-HT inhibe las respuestas presoras inducidas por la estimulación del tono simpático vasopresor ( $T_7$ - $T_9$ ) en el modelo de la rata descerebrada y desmedulada. Dichos autores demostraron que tal efecto de la 5-HT es simpato-inhibitorio debido a que (i) fue más evidente a bajas frecuencias de estimulación (una característica de la inhibición presináptica) y (ii) la administración de la infusión continua de 5-HT (a las mismas dosis) no inhibió las respuestas presoras inducidas por bolos IV de noradrenalina exógena.<sup>50</sup> Estos hallazgos son similares a los reportados por Morán y colaboradores<sup>64</sup> en la rata. En virtud de que existen en la literatura numerosos reportes que refieren la capacidad de la 5-HT de inhibir la transmisión simpática en varias preparaciones vasculares,<sup>52-61,65-67</sup> los resultados de los autores de este trabajo en la rata descerebrada y desmedulada sugieren que la 5-HT también podría inhibir la transmisión simpática en la vasculatura sistémica de la rata. Puesto que el método empleado<sup>50</sup> permite la estimulación selectiva del tono simpático vasopresor,<sup>47</sup> la liberación del neurotransmisor (mediante inducción eléctrica) pudo estimarse en forma indirecta al determinar la respuesta presora causada; a su vez, el efecto inhibitorio de la 5-HT sobre esta respuesta pudo determinarse por medio de infusiones continuas, no bolos, de 5-HT, de modo que la presión arterial y la frecuencia cardíaca se mantuvieron sin modificaciones-alteradas. Como resulta obvio, la metodología utilizada no puede excluir de manera categórica posibles acciones de la 5-HT sobre los ganglios simpáticos, los cuales cuentan con receptores moduladores de la 5-HT.<sup>68</sup> Además de las implicaciones que se discuten más adelante, estos resultados demuestran con claridad que la 5-HT inhibe las respuestas presoras inducidas por la estimulación simpática, mas no las inducidas por bolos IV de noradrenalina exógena.<sup>50</sup>

Se podría argumentar que los efectos inhibitorios de la 5-HT fueron más pronunciados en animales pretratados con desipramina que en el grupo control (sin desipramina) debido a taquiflaxia de las respuestas presoras provocadas por la estimulación simpática; sin embargo, ello parece poco probable puesto que tales respuestas fueron fáciles de reproducir y permanecieron sin cambios significativos cuando los animales (control o pretratados con desipramina) recibieron cuatro infusiones subsecuentes de solución salina fisiológica.<sup>50</sup> De manera adicional, debe destacarse que en ausencia de desipramina la inhibición por 5-HT --aunque menos acentuada-- se aproxima mejor a las condiciones fisiológicas; así, la inhibición del mecanismo de recaptación neuronal de noradrenalina por desipramina en los experimentos de los autores no es un requisito obligatorio para demostrar el efecto inhibitorio de la 5-HT, aunque se requieren dosis más altas de 5-HT.<sup>50</sup>

Por otro lado, debe subrayarse que la desipramina (50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , IV) se administró antes de cada curva de estímulo-respuesta, no como una sola dosis, porque en experimentos preliminares se demostró que una sola dosis de desipramina (hasta 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) no mantenía el efecto de potenciación sobre las respuestas presoras. Ello resulta de particular relevancia dentro del contexto de este estudio

puesto que es de esperarse que el efecto presináptico inhibitorio potencial producido por la 5-HT, o cualquier otro agente, sea más evidente con bajas frecuencias de estimulación.<sup>60</sup> Por lo tanto, las curvas de estímulo-respuesta producidas en animales pretratados con desipramina fueron mayores en magnitud debido a la inhibición del mecanismo de recaptación neuronal de noradrenalina. Con estos resultados, parecería que el esquema de dosificación empleado con la desipramina en el presente estudio<sup>50</sup> fue adecuado para garantizar una concentración constante de noradrenalina en la unión neuroefectora después de cada estímulo simpático. Por lo tanto, se podría sugerir que el efecto de la 5-HT incluye una acción inhibitoria presináptica sobre la descarga vascular simpática. Empero, con tan sólo estos resultados no es posible excluir en forma categórica la posibilidad de que tal inhibición se haya debido a una interacción inespecífica entre la 5-HT y la descarga simpática a nivel postsináptico. Para evaluar esta posibilidad, se decidió estudiar el efecto potencial de las infusiones de 5-HT sobre las respuestas presoras inducidas por la administración de bolos IV de noradrenalina exógena. El hecho de que la 5-HT no haya inhibido las respuestas presoras inducidas por la noradrenalina exógena a dosis que inhibieron con claridad las respuestas presoras inducidas a través del simpático apoya la idea de que la 5-HT produce una acción inhibitoria sobre la descarga simpática vascular.<sup>50</sup>

Asimismo, debe destacarse que las terminales nerviosas simpáticas, las mismas que liberan noradrenalina, también pueden liberar varios cotransmisores (neuropéptido Y, ATP, etc.); por lo tanto, no se puede excluir una acción postsináptica de la 5-HT sobre estos cotransmisores. A pesar de esta posibilidad, la acción simpatoinhibitoria vascular de la 5-HT en los presentes experimentos se fortalece al considerar que la inhibición de la 5-HT fue más pronunciada a bajas frecuencias de estimulación, como antes se demostró en la transmisión simpática cardíaca de la rata.<sup>60,69</sup> De hecho, estos hallazgos se asemejan al efecto de otros moduladores presinápticos sobre la liberación de noradrenalina.<sup>69</sup>

Para finalizar, se desea considerar en esta sección la posible relevancia fisiológica de la simpatoinhibición vascular sistémica producida por la 5-HT, que carece de documentación satisfactoria. De esta manera, se ha demostrado que la 5-HT puede ser recaptada en (y luego liberada) las terminales simpáticas;<sup>3</sup> bajo estas condiciones, la 5-HT podría actuar como un modulador de la transmisión simpática a nivel neuroefector. Por lo tanto, la 5-HT podría modular en forma fisiológica, mediante un asa de retroalimentación negativa, la transmisión simpática, como se ha descrito para otras sustancias.<sup>6</sup>

Por otro lado, se sabe que la hipertensión es la consecuencia básica de un aumento en la descarga simpática y de un aumento concomitante de la resistencia vascular periférica; por lo tanto, si --según lo ya explicado-- la 5-HT inhibe la transmisión simpática, es razonable sugerir que este mecanismo podría ser una aproximación farmacológica para el desarrollo de fármacos con utilidad terapéutica potencial en el tratamiento de la hipertensión. Como resulta obvio, la pregunta que surge de este enfoque es: ¿cuál es el perfil farmacológico del receptor de la 5-HT que produce simpatoinhibición vascular sistémica?<sup>23,51,70,71</sup>



Como se describe en la siguiente sección, las condiciones experimentales en la rata descerebrada y desmedulada<sup>50</sup> ya descritas permitieron analizar la naturaleza farmacológica de los mecanismos/receptores involucrados en tal efecto simpatoinhibitorio de la 5-HT.

### Perfil farmacológico de los receptores presinápticos a la 5-HT que inhiben las respuestas vasopresoras inducidas por estimulación simpática en la rata

Como se describe en la sección anterior, la simpatoinhibición producida por la 5-HT sobre la vasculatura sistémica de la rata (inhibición de las respuestas vasopresoras provocadas por estimulación simpática) es fácil de reproducir. Ello condujo al grupo que escribe a investigar el perfil farmacológico del(los) tipo(s) de receptor(es) implicado(s). Como se presenta en la **Tabla 1**, se demostraron por lo menos siete tipos distintos, que pueden identificarse con el uso de agonistas y antagonistas para cada uno de estos receptores. De esta manera, el grupo<sup>72</sup> que esto escribe demostró que el efecto simpatoinhibitorio de la 5-HT fue (i) resistente a la acción de los antagonistas ritanserina (5-HT<sub>2</sub>), MDL-72 222 (5-HT<sub>3</sub>) o tropisetron (5-HT<sub>4</sub>), lo que excluye la participación de los receptores 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub> y 5-HT<sub>4</sub>, y (ii) bloqueado por la metisergida (5-HT<sub>1</sub> y 5-HT<sub>2</sub>), que no antagoniza a los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos vasculares alfa<sub>1</sub> que participan en los efectos vasopresores que produce la estimulación simpática.<sup>73</sup> Este último hallazgo sugiere la participación de receptores simpatoinhibitorios 5-HT<sub>1</sub>, como se ha demostrado en otras preparaciones vasculares *in vivo*.<sup>53,57,58,66,74</sup> Debe subrayarse que las dosis empleadas de estos antagonistas fueron de suficiente graduación como para bloquear por completo a sus respectivos receptores.<sup>33,34,53</sup> En congruencia con estos hallazgos, el efecto simpatoinhibitorio de la 5-HT fue mimetizado por la 5-CT (agonista 5-HT<sub>1</sub> y 5-HT<sub>7</sub>) y el sumatriptán (agonista 5-HT<sub>1B</sub> y 5-HT<sub>1D</sub>) con un orden de potencia mucho mayor de la 5-CT que la 5-HT y de ésta que el sumatriptán; estos resultados reafirman la participación de los receptores 5-HT<sub>1</sub>.<sup>72</sup> En este sentido, es importante recalcar que los receptores 5-HT<sub>1</sub> (y los subtipos 5-HT<sub>1</sub> relacionados) están por definición acoplados de manera negativa a la ciclasa de adenilato,<sup>21</sup> y éste es un sistema transduccional que por lo general se relaciona con una disminución en la liberación de noradrenalina de las neuronas simpáticas.<sup>6,69</sup> A pesar de estas consideraciones, todavía podría argumentarse la posible participación de los receptores 5-HT<sub>7</sub>, en particular al considerar que el perfil de potencia agonista de 5-CT de alrededor del doble que la 5-HT es también característico de estos receptores.<sup>75</sup> Sin embargo, ello parece poco probable puesto que (i) los receptores 5-HT<sub>7</sub> son resistentes a la acción agonista del sumatriptán, y (ii) en contraste con los receptores 5-HT<sub>1</sub>, los receptores 5-HT<sub>7</sub> están acoplados positivamente a la ciclasa de adenilato<sup>75</sup> y éste es un sistema transduccional que va seguido de un aumento (no una disminución) en la liberación de noradrenalina de las neuronas simpáticas.<sup>6,69</sup> Por lo tanto, los hallazgos anteriores demuestran en su conjunto la participación de receptores simpatoinhibitorios tipo 5-HT<sub>1</sub> (previamente denominado "5-HT<sub>1</sub>-like").<sup>72</sup> Esta conclusión es congruente con la de otros estudios realizados en la rata<sup>76</sup> y el gato.<sup>77</sup>

Aunque la relevancia fisiológica de la existencia de receptores simpatoinhibitorios 5-HT<sub>1</sub> en la vasculatura sistémica de la rata (independientemente del subtipo involucrado) es difícil de explicar, existe una posibilidad tangible. En este sentido, se ha demostrado que la 5-HT puede ser recaptada y, de manera eventual, liberada de los nervios simpáticos como un cotransmisor;<sup>3</sup> al alcanzar una concentración crítica en la unión neurovascular, la 5-HT podría actuar como un modulador inhibitorio de la transmisión simpática, como ha sido descrito para otras sustancias.<sup>6</sup>

Por otro lado, deben plantearse dos reflexiones relevantes inherentes al modelo experimental de la rata descerebrada y desmedulada utilizado en este estudio. En primer lugar, aunque se produjo la estimulación selectiva del tono simpático vasopresor, el propranolol se ha recomendado para eliminar la vasodilatación debida a la liberación de catecolaminas de la médula suprarrenal;<sup>78</sup> no obstante, se evitó en forma deliberada usarlo ya que dicho betabloqueador muestra afinidad por algunos sitios de unión 5-HT<sub>1</sub> y, de hecho, bloquea algunas respuestas funcionales mediadas por los receptores 5-HT<sub>1</sub> en la rata.<sup>26</sup> En segundo lugar, las posibles influencias provenientes del SNC a través de mecanismos relacionados con la 5-HT pueden excluirse puesto que se utilizaron ratas descerebradas y desmeduladas; sin embargo, como se menciona en la sección anterior, no es posible excluir en forma categórica una posible acción de la 5-HT y agonistas relacionados en los ganglios simpáticos, los cuales disponen de receptores moduladores de la 5-HT.<sup>68</sup>

### Identificación farmacológica de los subtipos de receptores presinápticos 5-HT<sub>1</sub> que inhiben las respuestas vasopresoras inducidas por estimulación simpática

En congruencia con los hallazgos anteriores, algunos estudios demuestran la existencia de receptores 5-HT<sub>1</sub> localizados en las terminales nerviosas simpáticas, donde inhiben la liberación de noradrenalina en diferentes tejidos y órganos.<sup>53,57,58</sup> De hecho, varias evidencias experimentales reportadas por el grupo autoral demuestran que los receptores 5-HT<sub>1</sub> son operativos en el modelo de la rata descerebrada y desmedulada inhibiendo la transmisión simpática.<sup>29,30,39,49,50,72</sup> No obstante, la familia de receptores 5-HT<sub>1</sub> es muy heterogénea ya que está constituida de, por lo menos, cinco subtipos de receptores, a saber: 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>1E</sub> y 5-HT<sub>1F</sub>. Por lo tanto, es importante discernir cuál(es) de estos subtipos correlaciona farmacológicamente con los receptores simpatoinhibitorios 5-HT<sub>1</sub>.

Con lo anterior en mente, Villalón y colaboradores<sup>39</sup> reanalizaron el perfil farmacológico de los receptores 5-HT<sub>1</sub> que median la inhibición de las respuestas vasopresoras inducidas por vía simpática en ratas descerebradas y desmeduladas, y consideraron el esquema de clasificación propuesto por el subcomité NC-IUPHAR de clasificación de los receptores de la 5-HT.<sup>21,23,27</sup>

Los compuestos empleados incluyeron, además del ligando endógeno (5-HT), los agonistas y/o antagonistas de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub> y 5-HT<sub>7</sub> (**Tabla 1**).



### Possible participación de receptores simpato-inhíbitorios del subtipo 5-HT<sub>1A</sub>

La posible relación de los receptores simpato-inhíbitorios 5-HT<sub>1</sub> con el subtipo 5-HT<sub>1A</sub> se demuestra en primera instancia por la potencia antagonista del WAY-100-635 (un antagonista potente y selectivo de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>)<sup>79</sup> y del cianopindolol (un antagonista de los receptores 5-HT<sub>1A/1B</sub>).<sup>21</sup> A dosis carentes de efectos *per se* sobre las respuestas vasopresoras inducidas por vía simpática, estos compuestos bloquearon la simpato-inhíbitión inducida por la 5-HT (ligando endógeno) y el indorrenato (un agonista del receptor de 5-HT<sub>1A</sub>).<sup>48,80</sup>

En congruencia con estos hallazgos, la simpato-inhíbitión por indorrenato fue resistente al bloqueo por el GR-127 935, un antagonista de los receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub>.<sup>27</sup> con baja afinidad por los receptores 5-HT<sub>1A</sub>.<sup>81</sup> Se debe hacer notar que las dosis empleadas de WAY-100 635, cianopindolol y GR-127 935 fueron más altas que las requeridas para antagonizar por completo a sus receptores respectivos.<sup>26,79,81,82</sup>

### Possible participación de receptores simpato-inhíbitorios del subtipo 5-HT<sub>1B</sub>

La evidencia que apoya la participación de los receptores 5-HT<sub>1B</sub><sup>48</sup> proviene de la capacidad del cianopindolol (antagonista de los receptores 5-HT<sub>1A/1B</sub>)<sup>21</sup> para bloquear la simpato-inhíbitión inducida por la 5-HT y por el CP-93 129 (un agonista selectivo de los receptores 5-HT<sub>1B</sub> de roedores).<sup>83</sup>

De esta manera, la simpato-inhíbitión por CP-93 129 fue resistente al bloqueo por el WAY-100 635 (en dosis incluso más altas que las requeridas para bloquear la simpato-inhíbitión por 5-HT e indorrenato),<sup>48</sup> lo que confirma la alta selectividad de este último como un antagonista del receptor 5-HT<sub>1A</sub>.<sup>79</sup> Un hallazgo relevante fue también el bloqueo por GR-127 935 de la inhibición inducida por el CP-93 129.<sup>48</sup>

### Possible participación de receptores simpato-inhíbitorios del subtipo 5-HT<sub>1D</sub>, 5-ht<sub>1E</sub> y/o 5-ht<sub>1F</sub>

Si se toman en consideración los criterios de clasificación para los receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> en las especies roedoras y no roedoras,<sup>27</sup> la simpato-inhíbitión producida por el sumatriptán (un agonista del receptor 5-HT<sub>1B/1D</sub>)<sup>21</sup> sugiere que los receptores 5-HT<sub>1D</sub> del roedor también podrían estar involucrados, según lo demostraron previamente Shepherd y colaboradores (1997).<sup>76</sup>

De acuerdo con esta sugerencia, la simpato-inhíbitión inducida por el sumatriptán fue resistente al bloqueo de WAY-100 635 (en dosis incluso más altas que las requeridas para bloquear a la 5-HT e indorrenato), un hallazgo que excluye una acción vía los receptores 5-HT<sub>1A</sub>. En contraste, el antagonista del receptor 5-HT<sub>1B/1D</sub>, GR-127 935, abolió la simpato-inhíbitión al sumatriptán en todas las frecuencias analizadas (0.03-3 Hz),<sup>48</sup> mientras que el cianopindolol, que tiene un pK<sub>D</sub> de 6.85 para los receptores 5-HT<sub>1D</sub> (comparado con 8.28 para el receptor 5-HT<sub>1B</sub>),<sup>84</sup> no tuvo efecto significativo en casi ninguna de las frecuencias estudiadas (0.1-3 Hz).

En contraste con los hallazgos anteriores, la participación de los receptores recombinantes 5-ht<sub>1E</sub> y 5-ht<sub>1F</sub> parece poco probable debido a (i) la relativamente baja afinidad del WAY-100 635, cianopindolol y GR-127 935 para estos receptores,<sup>79,81,85</sup> y (ii) el orden de potencia agonista simpato-inhíbitoria de 5-CT el doble mayor que la 5-HT, a su vez mayor que 8-OH-DPAT.<sup>50,72</sup> A excepción de la 5-HT, que tiene la afinidad más alta para los receptores 5-ht<sub>1E</sub> y 5-ht<sub>1F</sub>, la 5-CT y 8-OH-DPAT tienen muy baja afinidad para estos receptores.<sup>85</sup>

### Evidencia operacional y transduccional en contra de la participación de los receptores 5-HT<sub>7</sub>

Debe admitirse en forma explícita que los hallazgos experimentales<sup>48</sup> de los autores no aportan evidencia directa de que la inhibición producida por la 5-HT, 8-OH-DPAT, indorrenato, CP 93 129 y sumatriptán inhibe la ciclase de adenilato. Sin embargo, es importante destacar que todos los subtipos de receptores 5-HT<sub>1</sub>, por definición, están acoplados en forma negativa a la ciclase de adenilato,<sup>21</sup> el cual es un sistema transduccional que se asocia en general a la liberación disminuida de noradrenalina de las neuronas simpáticas.<sup>6,69</sup> No obstante, dado el orden de potencia agonista simpato-inhíbitoria de 5-CT mayor que la de 5-HT, que a su vez es mayor que la de 8-OH-DPAT, y la capacidad de la metisergida, un antagonista de los receptores cardiovasculares 5-HT<sub>1</sub> y 5-HT<sub>7</sub>,<sup>34</sup> para bloquear la simpato-inhíbitión a la 5-HT,<sup>72</sup> todavía puede argumentarse que los receptores 5-HT<sub>7</sub> podrían estar implicados, según lo sugerido para otros receptores cardiovasculares tipo 5-HT<sub>7</sub>.<sup>34,86,87</sup> Sin embargo, ello es poco probable ya que la mesulergina, una ergolina desprovista de interacciones con el receptor 5-HT<sub>1</sub>,<sup>21</sup> a dosis suficientes para bloquear por completo a los receptores cardiovasculares 5-HT<sub>7</sub>,<sup>4,86,87</sup> no antagonizó la inhibición a la 5-HT.<sup>48</sup> En congruencia con estos hallazgos, los receptores cardiovasculares 5-HT<sub>7</sub>, al contrario de los receptores 5-HT<sub>1A/1B/1D</sub> (i) son resistentes al bloqueo por el GR-127 935 y el cianopindolol y a la acción de los agonistas indorrenato, CP-93 129 y sumatriptán,<sup>4,86,87</sup> y (ii) están acoplados en forma positiva a la ciclase de adenilato,<sup>75</sup> un sistema transduccional que se acompaña de un aumento (no disminución) en la liberación de la noradrenalina de las neuronas simpáticas.<sup>6,69</sup>

### Possible localización de los receptores simpato-inhíbitorios 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> y 5-HT<sub>1D</sub>

Para finalizar, los autores quisieran especular sobre la posible localización de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> y 5-HT<sub>1D</sub> que median la inhibición de las respuestas vasopresoras simpáticas inducidas por la 5-HT. En este contexto, aunque los mecanismos centrales no son operativos en el modelo experimental utilizado, no es posible excluir de manera categórica una acción de la 5-HT y de los agonistas relacionados sobre los ganglios simpáticos<sup>68</sup> y las neuronas simpáticas postganglionares;<sup>3</sup> ambas estructuras disponen de receptores moduladores de la 5-HT. De hecho, algunos estudios sugieren que los receptores

5-HT<sub>1</sub> podrían mediar la inhibición (hiperpolarización inducida por la 5-HT y la 5-CT) de la transmisión simpática ganglionar.<sup>77,88</sup> Estos receptores ganglionares inhibitorios 5-HT<sub>1</sub> se asemejan en forma estrecha al subtipo 5-HT<sub>1A</sub> de la rata (bloqueado por espiperona, cianopindolol y 8-OH-DPAT)<sup>88</sup> o al subtipo 5-HT<sub>1B/1D</sub>, mas no el 5-HT<sub>1A</sub> en el gato (bloqueados por GR-127 935, pero resistentes al WAY-100 635).<sup>77</sup> Aunque esta discrepancia puede deberse a una diferencia entre especies, se ha de destacar que el posible papel de los receptores ganglionares inhibitorios 5-HT<sub>1B/1D</sub> en la rata podrá demostrarse de manera inequívoca mediante el uso de los agonistas (CP-93 129 y sumatriptán) y antagonistas (cianopindolol y GR-127 935) para estos subtipos de receptores.

Además, las líneas de evidencia farmacológica disponibles hasta el momento demuestran la existencia de receptores inhibitorios 5-HT<sub>1B/1D</sub>, mas no 5-HT<sub>1A</sub>, sobre las terminales nerviosas simpáticas.<sup>3,21,23,26</sup> Con respecto a los subtipos 5-HT<sub>1B/1D</sub> (bloqueados por GR-127 935), se debe tener presente que los homólogos interespecie del mismo receptor pueden mostrar diferencias farmacológicas importantes. Por ejemplo, el receptor 5-HT<sub>1B</sub> del roedor (96% de homología en la región transmembrana con el receptor humano 5-HT<sub>1B</sub>) exhibe una farmacología distinta que se ha asociado a lo largo de la denominación de receptor 5-HT<sub>1B</sub> (agonista, CP 93 129; antagonista, cianopindolol y SDZ-21 009).<sup>21,27</sup> De esta manera, con base en la capacidad moderada de la ketanserina para discriminar entre receptores 5-HT<sub>1B</sub> (resistentes a la ketanserina) y 5-HT<sub>1D</sub> (sensibles a la ketanserina), la inhibición de la liberación de noradrenalina de las neuronas simpáticas en tejidos humanos se atribuye a ambos receptores 5-HT<sub>1B</sub> (es decir de la vena safena)<sup>89</sup> y 5-HT<sub>1D</sub> (es decir de la aurícula derecha).<sup>63</sup> En contraste, en los vasos sanguíneos de rata, sólo se ha demostrado la participación de receptores 5-HT<sub>1B</sub> que inhiben la liberación de noradrenalina (es decir de la vena cava).<sup>21,59</sup> Hasta la fecha, no se ha podido demostrar un papel funcional para el receptor 5-HT<sub>1D</sub> en las neuronas simpáticas postganglionares de la rata. Por lo tanto, los ligandos selectivos de los subtipos 5-HT<sub>1B</sub> y 5-HT<sub>1D</sub><sup>23</sup> se convierten en pruebas cruciales para explorar si los efectos neuronales simpáticos en la rata son mediados por el subtipo de 5-HT<sub>1D</sub>.

## Conclusiones

Si se tienen en cuenta los hallazgos anteriores de manera global, se ha demostrado que el efecto simpatoinhibitorio inducido por la 5-HT fue (i) mimetizado por los agonistas indorrenato y 8-OH-DPAT (5-HT<sub>1A</sub>),<sup>21</sup> CP-93 129 (5-HT<sub>1B</sub>)<sup>83</sup> y sumatriptán (5-HT<sub>1B/1D</sub>)<sup>21</sup> y (ii) bloqueado por los antagonistas WAY-100 635 (5-HT<sub>1A</sub>), cianopindolol (5-HT<sub>1A/1B</sub>) o GR-127 935 (5-HT<sub>1B/1D</sub>), mas no por la mesulergina (5-HT<sub>7</sub>)<sup>21,86</sup> a dosis suficientes para bloquear por completo a sus respectivos receptores.<sup>48</sup> Por lo tanto, se puede concluir que los receptores 5-HT<sub>1</sub> que inhiben el tono simpático vasopresor en la rata descerebrada y desmedulada guardan correlación farmacológica con los subtipos 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> y 5-HT<sub>1D</sub>.<sup>48</sup> De manera similar, Morán y colaboradores<sup>90</sup> reportaron que la inhibición inducida por la 5-CT (agonista 5-HT<sub>1</sub>) fue (i) mimetizada por los agonistas 8-OH-DPAT (5-HT<sub>1A</sub>), sumatriptán y L-694 247

(5-HT<sub>1B/1D</sub>), y (ii) bloqueada por los antagonistas WAY-100 635 (5-HT<sub>1A</sub>) y GR-127 935 (5-HT<sub>1B/1D</sub>), respectivamente.

## Bibliografía

- Villalón CM, Terrón JA, Hong E, Saxena PR. Efectos cardiovasculares de agonistas y antagonistas de los receptores de la 5-HT (Parte I). Arch Inst Méx Cardiol 1993;63:441-7.
- Villalón CM, Terrón JA, Hong E, Saxena PR. Efectos cardiovasculares de agonistas y antagonistas de los receptores a la 5-HT (Parte II). Arch Inst Mex Cardiol 1993;63:553-61.
- Saxena PR, Villalón CM. Cardiovascular effects of serotonin agonists and antagonists. J Cardiovasc Pharmacol 1990;15(Suppl. 7):S17-34.
- Villalón CM, De Vries P, Saxena PR. Serotonin receptors as cardiovascular targets. Drug Discov Today 1997;2:294-300.
- Villalón CM, Centurion D. Cardiovascular responses produced by 5-hydroxytryptamine: a pharmacological update on the receptors/mechanisms involved and therapeutic implications. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 2007;376:45-63.
- Rand MJ, Majewski H, Wong-Dusting H, Story DF, Loiacono RE, Ziogas J. Modulation of neuroeffector transmission. J Cardiovasc Pharmacol 1987;10(Suppl 12):S33-44.
- Drew GM. Pharmacological characterization of the presynaptic alpha-adrenoceptors regulating cholinergic activity in the guinea-pig ileum. Br J Pharmacol 1978;64:293-300.
- Gillespie JS. Presynaptic receptors in the autonomic nervous system. En: Burnstock G, Hoyle CHV (eds.): "Autonomic neuroeffector mechanisms". Berlin, Springer-Verlag 1980:352-425.
- Starke K. Alpha sympathomimetic inhibition of adrenergic and cholinergic transmission in the rabbit heart. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 1972;274:18-45.
- Chassaing C, Duchene-Marullaz P, Veyrac MJ. Effects of catecholamines on cardiac chronotropic response to vagal stimulation in the dog. Am J Physiol 1983;245:H721-4.
- Hedqvist P, Fredholm BB. Effects of adenosine on adrenergic neurotransmission; prejunctional inhibition and postjunctional enhancement. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 1976;293:217-23.
- Hedqvist P, Fredholm BB, Olundh S. Antagonistic effects of theophylline and adenosine on adrenergic neuroeffector transmission in the rabbit kidney. Circ Res 1978;43:592-8.
- Hedqvist P. Evidence for transsynaptic modulation of adrenergic transmitter secretion. En: Yoshida M, Hagihara Y, Ebashi S (eds.): Neurotransmitter-receptors. Oxford, Pergamon Press 1982:103-7.
- Langer SZ. Presynaptic regulation of the release of catecholamines. Pharmacol Rev 1981;32:337-62.
- Rand MJ, McCulloch MW, Story DF. Catecholamine receptors on nerve terminals. En: Szekeres L (ed.): Handbook of experimental pharmacology. Berlin, Springer-Verlag 1980:223-66.
- Gaddum JH, Picarelli ZP. Two kinds of tryptamine receptor. Br J Pharmacol Chemother 1957;12:323-8.
- Saxena PR. The effects of antimigraine drugs on the vascular responses by 5-hydroxytryptamine and related biogenic substances on the external carotid bed of dogs: possible pharmacological implications to their antimigraine action. Headache 1972;12:44-54.
- Peroutka SJ, Snyder SH. Multiple serotonin receptors: differential binding of [3H]5-hydroxytryptamine, [3H]lysergic acid diethylamide and [3H]spiroperidol. Mol Pharmacol 1979;16:687-99.
- Van Nueten JM, Janssen PA, van Beek J, Xhonneux R, Verbeuren TJ, Vanhoutte PM. Vascular effects of ketanserin (R-41 468), a novel antagonist of 5-HT<sub>2</sub> serotonergic receptors. J Pharmacol Exp Ther 1981;218:217-30.
- Bradley PB, Engel G, Feniuk W, Fozard JR, Humphrey PP, Middlemiss DN, et al. Proposals for the classification and nomenclature of functional receptors for 5-hydroxytryptamine. Neuropharmacology 1986;25:563-6.

21. Hoyer D, Clarke DE, Fozard JR, Hartig PR, Martin GR, Mylecharane EJ, et al. International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). *Pharmacol Rev* 1994;46:157-203.
22. Hoyer D, Martin G. 5-HT receptor classification and nomenclature: towards a harmonization with the human genome. *Neuropharmacology* 1997;36:419-28.
23. Saxena PR, De Vries P, Villalón CM. 5-HT<sub>1</sub>-like receptors: a time to bid goodbye. *Trends Pharmacol Sci* 1998;19:311-316.
24. Thomas DR. 5-HT<sub>5A</sub> Receptors as a therapeutic target. *Pharmacol Ther* 2006;111:707-714.
25. Hoyer D, Hannon JP, Martin GR. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacol Biochem Behav* 2002;71:533-54.
26. Martin GR. Vascular receptors for 5-hydroxytryptamine: distribution, function and classification. *Pharmacol Ther* 1994;62:283-324.
27. Hartig PR, Hoyer D, Humphrey PP, Martin GR. Alignment of receptor nomenclature with the human genome: classification of 5-HT<sub>1B</sub> and 5-HT<sub>1D</sub> receptor subtypes. *Trends Pharmacol Sci* 1996;17:103-5.
28. Humphrey PP, Feniuk W, Perren MJ, Connor HE, Oxford AW, Coates LH, et al. GR-43 175, a selective agonist for the 5-HT<sub>1</sub>-like receptor in dog isolated saphenous vein. *Br J Pharmacol* 1988;94:1123-32.
29. Villalón CM, Centurion D, Fernández MM, Morán A, Sánchez-López A. 5-Hydroxytryptamine inhibits the tachycardia induced by selective preganglionic sympathetic stimulation in pithed rats. *Life Sci* 1999;64:1839-47.
30. Sanchez-Lopez A, Centurion D, Vazquez E, Arulmani U, Saxena PR, Villalón CM. Pharmacological profile of the 5-HT-induced inhibition of cardioaccelerator sympathetic outflow in pithed rats: correlation with 5-HT<sub>1</sub> and putative 5-HT<sub>5A/5B</sub> receptors. *Br J Pharmacol* 2003;140:725-35.
31. Centurion D, Ortiz MI, Saxena PR, Villalón CM. The atypical 5-HT<sub>2</sub> receptor mediating tachycardia in pithed rats: pharmacological correlation with the 5-HT<sub>2A</sub> receptor subtype. *Br J Pharmacol* 2002;135:1531-9.
32. Villalón CM, Den Boer MO, Heiligers JP, Saxena PR. Mediation of 5-hydroxytryptamine-induced tachycardia in the pig by the putative 5-HT<sub>4</sub> receptor. *Br J Pharmacol* 1990;100:665-7.
33. Villalón CM, Den Boer MO, Heiligers JP, Saxena PR. Further characterization, by use of tryptamine and benzamide derivatives, of the putative 5-HT<sub>4</sub> receptor mediating tachycardia in the pig. *Br J Pharmacol* 1991;102:107-12.
34. Villalón CM, Heiligers JP, Centurion D, De Vries P, Saxena PR. Characterization of putative 5-HT<sub>7</sub> receptors mediating tachycardia in the cat. *Br J Pharmacol* 1997;121:1187-95.
35. Dhasmana KM, De Boer HJ, Banerjee AK, Saxena PR. Analysis of the tachycardiac response to 5-hydroxytryptamine in the spinal guinea-pig. *Eur J Pharmacol* 1988;145: 67-73.
36. McCall RB, Clement ME. Role of serotonin<sub>1A</sub> and serotonin<sub>2</sub> receptors in the central regulation of the cardiovascular system. *Pharmacol Rev* 1994;46:231-43.
37. Ramage AG. Central cardiovascular regulation and 5-hydroxytryptamine receptors. *Brain Res Bull* 2001;56:425-39.
38. Centurion D, Glusa E, Sanchez-Lopez A, Valdivia LF, Saxena PR, Villalón CM. 5-HT<sub>7</sub>, but not 5-HT<sub>2B</sub> receptors mediate hypotension in vagosympathectomized rats. *Eur J Pharmacol* 2004;502:239-42.
39. Villalón CM, Centurion D, Rabelo G, De Vries P, Saxena PR, Sanchez-Lopez A. The 5-HT<sub>1</sub>-like receptors mediating inhibition of sympathetic vasopressor outflow in the pithed rat: operational correlation with the 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> and 5-HT<sub>1D</sub> subtypes. *Br J Pharmacol* 1998;124:1001-11.
40. Glusa E, Richter M. Endothelium-dependent relaxation of porcine pulmonary arteries via 5-HT<sub>C</sub>-like receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1993;347:471-7.
41. Glusa E, Pertz HH. Further evidence that 5-HT-induced relaxation of pig pulmonary artery is mediated by endothelial 5-HT<sub>2B</sub> receptors. *Br J Pharmacol* 2000;130:692-8.
42. Schoeffter P, Hoyer D. 5-Hydroxytryptamine (5-HT)-induced endothelium-dependent relaxation of pig coronary arteries is mediated by 5-HT receptors similar to the 5-HT<sub>1D</sub> receptor subtype. *J Pharmacol Exp Ther* 1990;252:387-95.
43. De Vries P, Heiligers JP, Villalón CM, Saxena PR. Blockade of porcine carotid vascular response to sumatriptan by GR 127935, a selective 5-HT<sub>1D</sub> receptor antagonist. *Br J Pharmacol* 1996;118:85-92.
44. Saxena PR, Verdouw PD. 5-Carboxamidetryptamine, a compound with high affinity for 5-hydroxytryptamine, binding sites, dilates arterioles and constricts arteriovenous anastomoses. *Br J Pharmacol* 1985;84:533-44.
45. Saxena PR, Verdouw PD. Tissue blood flow and localization of arteriovenous anastomoses in pigs with microspheres of four different sizes. *Pflugers Arch* 1985;403:128-35.
46. Saxena PR, Verdouw PD. Redistribution by 5-hydroxytryptamine of carotid arterial blood at the expense of arteriovenous anastomotic blood flow. *J Physiol* 1982;332:501-20.
47. Gillespie JS, MacLaren A, Pollock D. A method of stimulating different segments of the autonomic outflow from the spinal column to various organs in the pithed cat and rat. *Br J Pharmacol* 1970;40:257-67.
48. Villalón CM, Centurion D, Rabelo G, De Vries P, Saxena PR, Sánchez-López A. The 5-HT<sub>1</sub>-like receptors mediating inhibition of sympathetic vasopressor outflow in the pithed rat: operational correlation with the 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> and 5-HT<sub>1D</sub> subtypes. *Br J Pharmacol* 1998;124:1001-11.
49. Sanchez-Lopez A, Centurion D, Vazquez E, Arulmani U, Saxena PR, Villalón CM. Further characterization of the 5-HT<sub>1</sub> receptors mediating cardiac sympatho-inhibition in pithed rats: pharmacological correlation with the 5-HT<sub>1B</sub> and 5-HT<sub>1D</sub> subtypes. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2004;369:220-7.
50. Villalón CM, Contreras J, Ramirez-San JE, Castillo C, Perusquia M, Lopez-Munoz FJ, et al. 5-Hydroxytryptamine inhibits pressor responses to preganglionic sympathetic nerve stimulation in pithed rats. *Life Sci* 1995;57:803-12.
51. Saxena PR, Villalón CM. Brain 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonism: a novel mechanism for antihypertensive action. *Trends Pharmacol Sci* 1990;11:95-6.
52. Villalón CM, Terron JA. The 5-HT<sub>1</sub>-like receptor mediating the increase in canine external carotid blood flow: close resemblance to the 5-HT<sub>1D</sub> subtype. *Br J Pharmacol* 1994;113:13-20.
53. Villalón CM, Terron JA, Hong E. Role of 5-HT<sub>1</sub>-like receptors in the increase in external carotid blood flow induced by 5-hydroxytryptamine in the dog. *Eur J Pharmacol* 1993;240:9-20.
54. Villalón CM, Hong E, Terron JA. Influence of sympathetic tone on the reactivity to indorenate in the external carotid vascular bed of the dog. *Arch Med Res* 1993;24:147-54.
55. McGrath MA. 5-hydroxytryptamine and neurotransmitter release in canine blood vessels, inhibition by low and augmentation by high concentrations. *Circ Res* 1977;41:428-35.
56. Cohen RA. Serotonergic prejunctional inhibition of canine coronary adrenergic nerves. *J Pharmacol Exp Ther* 1985;235:76-80.
57. Feniuk W, Humphrey PP, Watts AD. Modification of the vasomotor actions of methysergide in the femoral arterial bed of the anaesthetized dog by changes in sympathetic nerve activity. *J Auton Pharmacol* 1981;1:127-32.
58. Charlton KG, Bond RA, Clarke DE. An inhibitory prejunctional 5-HT<sub>1</sub>-like receptor in the isolated perfused rat kidney. Apparent distinction from the 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> and 5-HT<sub>1C</sub> subtypes. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1986;332:8-15.
59. Molderings GJ, Fink K, Schlicker E, Gothert M. Inhibition of norepinephrine release via presynaptic 5-HT<sub>1B</sub> receptors of the rat vena cava. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1987;336:245-50.
60. Göthert M, Kollacker P, Rohm N, Zerkowski HR. Inhibitory presynaptic 5-hydroxytryptamine (5-HT) receptors on the sympathetic nerves of the human saphenous vein. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1986;332:317-23.

61. Molderings GJ, Göthert M, Fink K, Roth E, Schlicker E. Inhibition of noradrenaline release in the pig coronary artery via a novel serotonin receptor. *Eur J Pharmacol* 1989; 164: 213-222.
62. Molderings GJ, Werner K, Likungu J, Göthert M. Inhibition of noradrenaline release from the sympathetic nerves of the human saphenous vein via presynaptic 5-HT receptors similar to the 5-HT<sub>1D</sub> subtype. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1990;342:371-7.
63. Molderings GJ, Frolich D, Likungu J, Göthert M. Inhibition of noradrenaline release via presynaptic 5-HT<sub>1D</sub> alpha receptors in human atrium. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1996;353:272-0.
64. Morán A, Velasco C, Salvador T, Martin ML, San Roman L. Inhibitory 5-hydroxytryptamine receptors involved in pressor effects obtained by stimulation of sympathetic outflow from spinal cord in pithed rats. *Br J Pharmacol* 1994;113:1358-62.
65. Mena MA, Vidrio H. Reversal of serotonin vasodilatation in the dog external carotid bed by sympathetic denervation. *J Cardiovasc Pharmacol* 1979;1:149-54.
66. Terron JA, Hong E, Lopez-Muñoz FJ, Villalon CM. Inhibition of serotonin-induced increase in canine external carotid blood flow by drugs that decrease the sympathetic outflow. *J Auton Pharmacol* 1994;14:165-75.
67. Göthert M, Fink K, Molderings GJ, Schlicker E. 5-Hydroxytryptamine and related drugs and transmitter release from autonomic nerves in the cardiovascular system. En: Saxena PR, Wallis DI, Wouters W, Bevan P (eds.): *Cardiovascular pharmacology of 5-hydroxytryptamine: prospective therapeutic applications*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers 1990:285-94.
68. Fozard JR. MDL 72222: a potent and highly selective antagonist at neuronal 5-hydroxytryptamine receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1984;326:36-44.
69. Langer SZ. Presynaptic regulation of the release of catecholamines. *Pharmacol Rev* 1980;32:337-62.
70. Saxena PR, Villalon CM. 5-Hydroxytryptamine: a chameleon in the heart. *Trends Pharmacol Sci* 1991;12:223-7.
71. Villalon CM, Saxena PR. Classification of 5-HT receptors. En: Hogenhuis LAH & Steiner TJ (eds.): *Headache and migraine*. Utrecht, Wetenschappelijke Uitgeverij Bunge 1992:31-52.
72. Villalon CM, Contreras J, Ramirez-San Juan E, Castillo C, Perusquia M, Terron JA. Characterization of prejunctional 5-HT receptors mediating inhibition of sympathetic vasopressor responses in the pithed rat. *Br J Pharmacol* 1995;116:3330-6.
73. Centurion D, Mehotra S, Sanchez-Lopez A, Gupta S, Maassen van den Brink A, Villalon CM. Potential vascular alpha<sub>1</sub>-adrenoceptor blocking properties of an array of 5-HT receptor ligands in the rat. *Eur J Pharmacol* 2006;535:234-42.
74. Mylecharane EJ, Phillips CA. Mechanisms of 5-hydroxytryptamine-induced vasodilatation. En: Fozard JR (ed.): *In the peripheral actions of 5-hydroxytryptamine*. Oxford: Oxford University Press 1989:147-181.
75. Plassat JL, Amlaiky N, Hen R. Molecular cloning of a mammalian serotonin receptor that activates adenylate cyclase. *Mol Pharmacol* 1993;44:229-36.
76. Shephard SL, Williamson DJ, Cook D, Hill RG, Hargreaves RJ. Studies on the sympatholytic effects of some 5-HT<sub>1D</sub> receptors agonists in pithed rats and guinea-pigs. *Br J Pharmacol* 1996;117:268.
77. Jones JF, Martin GR, Ramage AG. Evidence that 5-HT<sub>1D</sub> receptors mediate inhibition of sympathetic ganglionic transmission in anaesthetized cats. *Br J Pharmacol* 1995;116:1715-7.
78. Flavahan NA, Grant TL, Greig J, McGrath JC. Analysis of the alpha-adrenoceptor-mediated, and other, components in the sympathetic vasopressor responses of the pithed rat. *Br J Pharmacol* 1985;86:265-74.
79. Fletcher A, Forster EA, Bill DJ, Brown G, Cliffe IA, Hartley JE, et al. Electrophysiological, biochemical, neurohormonal and behavioral studies with WAY-100635, a potent, selective and silent 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist. *Behav Brain Res* 1996;73:337-53.
80. Dompert WU, Glaser T, Traber J. 3H-TVX Q 7821: identification of 5-HT<sub>1</sub> binding sites as target for a novel putative anxiolytic. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1985;328:467-70.
81. Skingle M, Beattie DT, Scopes DI, Starkey SJ, Connor HE, Feniuk W, et al. GR127935: a potent and selective 5-HT<sub>1D</sub> receptor antagonist. *Behav Brain Res* 1996;73:157-61.
82. Villalon CM, Sanchez-Lopez A, Centurion D. Operational characteristics of the 5-HT<sub>1</sub>-like receptors mediating external carotid vasoconstriction in vagosympathectomized dogs. Close resemblance to the 5-HT<sub>1D</sub> receptor subtype. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1996;354:550-6.
83. Macor JE, Burkhart CA, Heym JH, Ives JL, Lebel LA, Newman ME, et al. 3-(1,2,5,6-Tetrahydropyrid-4-yl)pyrrolo[3,2-b]pyrid-5-one: a potent and selective serotonin (5-HT<sub>1B</sub>) agonist and rotationally restricted phenolic analogue of 5-methoxy-3-(1,2,5,6-tetrahydropyrid-4-yl)indole. *J Med Chem* 1990;33:2087-93.
84. Hoyer D. Functional correlates of serotonin 5-HT<sub>1</sub> recognition sites. *J Recept Res* 1988;8:59-81.
85. Adham N, Kao HT, Schechter LE, Bard J, Olsen M, Urquhart D, et al. Cloning of another human serotonin receptor (5-HT<sub>1F</sub>): a fifth 5-HT<sub>1</sub> receptor subtype coupled to the inhibition of adenylate cyclase. *Proc Natl Acad Sci* 1993;90:408-12.
86. Villalon CM, Centurion D, Lujan-Estrada M, Terron JA, Sanchez-Lopez A. Mediation of 5-HT-induced external carotid vasodilatation in GR 127935-pretreated vagosympathectomized dogs by the putative 5-HT<sub>7</sub> receptor. *Br J Pharmacol* 1997;120:1319-27.
87. De Vries P, Villalon CM, Heiligers JP, Saxena PR. Nature of 5-HT<sub>1</sub>-like receptors mediating depressor responses in vagosympathectomized rats; close resemblance to the cloned 5-HT<sub>7</sub> receptor. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1997;356:90-9.
88. Ireland SJ, Jordan CC. Pharmacological characterization of 5-hydroxytryptamine-induced hyperpolarization of the rat cervical ganglion. *Br J Pharmacol* 1987;92:417-27.
89. Göthert M, Fink K, Frolich D, Likungu J, Molderings G, Schlicker E, et al. Presynaptic 5-HT auto- and heteroreceptors in the human central and peripheral nervous system. *Behav Brain Res* 1996;73:89-92.
90. Moran A, Fernandez MM, Velasco C, Martin ML, San RL. Characterization of prejunctional 5-HT<sub>1</sub> receptors that mediate the inhibition of pressor effects elicited by sympathetic stimulation in the pithed rat. *Br J Pharmacol* 1998;123:1205-13.