

## REVISIÓN

# El complejo pre-Bötzinger: generación y modulación del ritmo respiratorio



J. Muñoz-Ortiz<sup>a</sup>, E. Muñoz-Ortiz<sup>a</sup>, M.L. López-Meraz<sup>b</sup>, L. Beltran-Parrazal<sup>b</sup> y C. Morgado-Valle<sup>b,\*</sup>

<sup>a</sup> Doctorado en Investigaciones Cerebrales, Universidad Veracruzana, Xalapa de Enríquez, Veracruz, México

<sup>b</sup> Centro de Investigaciones Cerebrales, Dirección General de Investigaciones, Universidad Veracruzana, Xalapa de Enríquez, Veracruz, México

Recibido el 2 de marzo de 2016; aceptado el 9 de mayo de 2016

### PALABRAS CLAVE

Generación del ritmo respiratorio;  
Respiración;  
Complejo pre-Bötzinger;  
Control neural de la respiración;  
NK1R;  
*In vitro*

### Resumen

**Introducción:** En los mamíferos, el complejo pre-Bötzinger (preBötC) es una red neuronal bilateral y simétrica localizada en el tallo cerebral, la cual es indispensable para la generación y modulación del ritmo respiratorio. En humanos existen pocos estudios acerca del preBötC y su relación con enfermedades neurológicas no ha sido descrita. Sin embargo, la importancia del preBötC en el control neural del ritmo respiratorio y su posible participación en enfermedades neurológicas en humanos ha sido mostrada gracias a la manipulación farmacológica y de lesiones del preBötC realizadas en modelos animales *in vivo* e *in vitro*.

**Método:** En esta revisión describimos los efectos de algunos fármacos sobre la actividad inspiratoria *in vitro* en el modelo de rebanada transversal del tallo cerebral que contiene el preBötC, y algunos experimentos *in vivo*. La farmacología fue clasificada de acuerdo con los principales sistemas de neurotransmisión y con la importancia de los fármacos como estimuladores o inhibidores de la actividad del preBötC y, por tanto, de la generación del ritmo respiratorio.

**Conclusiones:** El neurólogo clínico encontrará esta información relevante para entender cómo el sistema nervioso central genera el ritmo respiratorio y, además, podrá relacionarla con las observaciones hechas durante su práctica.

© 2016 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

### KEYWORDS

Respiratory rhythm generation;  
Breathing;

### Pre-Bötzinger complex: Generation and modulation of respiratory rhythm

### Abstract

**Introduction:** In mammals, the preBötzinger complex (preBötC) is a bilateral and symmetrical neural network located in the brainstem which is essential for the generation and modulation

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [comorgado@uv.mx](mailto:comorgado@uv.mx) (C. Morgado-Valle).

preBötzinger complex;  
Neural control of breathing;  
NK1R;  
In vitro

of respiratory rhythm. There are few human studies about the preBötC and, its relationship with neurological diseases has not been described. However, the importance of the preBötC in neural control of breathing and its potential participation in neurological diseases in humans, has been suggested based on pharmacological manipulation and lesion of the preBötC in animal models, both *in vivo* and *in vitro*.

**Method:** In this review, we describe the effects of some drugs on the inspiratory activity *in vitro* in a transverse slice that contains the preBötC, as well as some *in vivo* experiments. Drugs were classified according to their effects on the main neurotransmitter systems and their importance as stimulators or inhibitors of preBötC activity and therefore for the generation of the respiratory rhythm.

**Conclusion:** Clinical neurologists will find this information relevant to understanding how the central nervous system generates the respiratory rhythm and may also relate this information to the findings made in daily practice.

© 2016 Sociedad Española de Neurología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## Introducción

El complejo pre-Bötzinger (preBötC) es una red neuronal cuya actividad genera la fase inspiratoria de la respiración. En 1991, el preBötC fue descrito como una región de la médula oblongata ventral que contiene la red neuronal necesaria y suficiente para generar el ritmo respiratorio en preparaciones de rebanadas medulares de roedores neonatos<sup>1</sup>. El preBötC es una región limitada, bilateral y simétrica de la columna respiratoria ventral. Se encuentra caudal al núcleo facial y al complejo Bötzinger (BötC), rostral al núcleo reticular lateral y ventral al núcleo ambiguo<sup>1</sup> (fig. 1A). En el humano, el preBötC se encuentra ventral a la división semicompacta y caudal a la división compacta del núcleo ambiguo<sup>2</sup>.

En la rata adulta, el preBötC se extiende 300-400  $\mu\text{m}$  en el plano rostro-caudal<sup>1</sup>. Cada preBötC muestra actividad rítmica independiente, sin embargo, se comunican bidireccionalmente con conexiones sinápticas que sincronizan la actividad de ambos lados<sup>3</sup>. En estudios *in vivo* se ha mostrado que las neuronas del preBötC envían proyecciones: contralaterales al preBötC, ipsilaterales y contralaterales al BötC, al grupo respiratorio ventral caudal, al grupo respiratorio parafacial/núcleo retrotrapezoide (pFRG/RTN), al núcleo parahipogloso, al núcleo del tracto solitario, al núcleo parabraquial/núcleo de Kölliker-Fuse y a la sustancia gris periacueductal<sup>4</sup>.

Además de su papel en la generación del ritmo respiratorio, el preBötC es fundamental para la formación del patrón respiratorio<sup>5</sup>. La modulación peptidérgica sobre el preBötC proveniente de núcleos quimiosensibles como el pFRG/RTN, y posiblemente del núcleo del tracto solitario, es fundamental para la generación de suspiros<sup>6</sup>.

## La generación del ritmo respiratorio: de la preparación *in vitro* al registro electrofisiológico

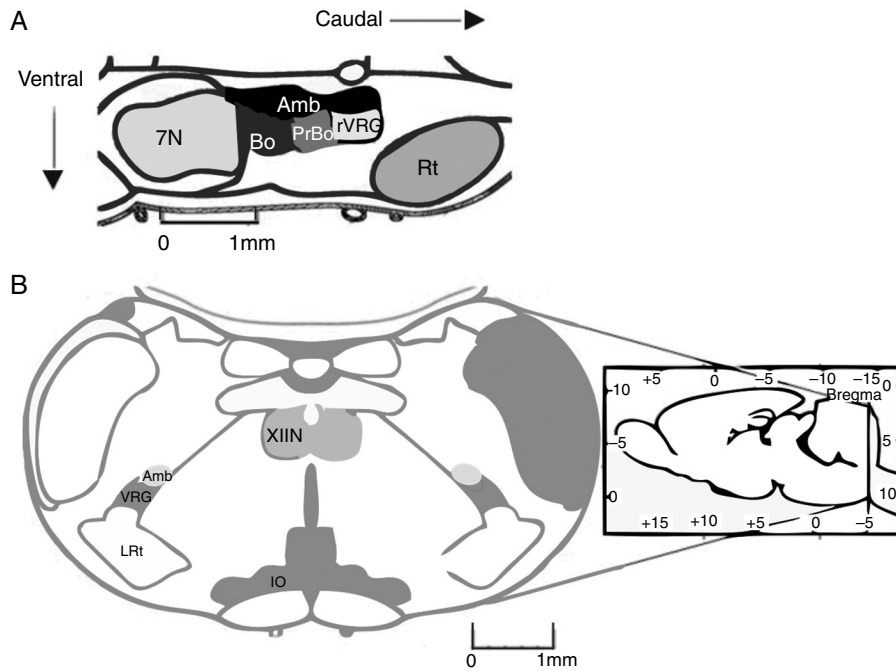
La generación del ritmo respiratorio en mamíferos ha sido estudiada *in vivo* en distintos modelos animales como gato,

cabra, rata y ratón<sup>1,7-9</sup>. Los modelos más utilizados para el estudio del ritmo respiratorio *in vitro* son: la preparación tallo cerebral-médula espinal conocida como *en bloc* y la rebanada transversal rítmica, ambas de rata y ratón neonatos<sup>9</sup>. La rebanada transversal rítmica descrita en 1991 por Smith et al.<sup>1</sup> contiene el preBötC, el núcleo y nervios hipoglosos (XIIn y XIIIn, respectivamente) en los cuales se registra e integra la actividad motora rítmica relacionada con la respiración. Dicha actividad está en fase con las neuronas del generador central de patrones, el preBötC. En la preparación *en bloc*, la actividad rítmica del nervio frénico está en fase con la actividad del preBötC.

Las ventajas y limitaciones de estudiar el ritmo respiratorio *in vitro*, así como una metodología para obtener rebanadas rítmicas de manera reproducible, ha sido revisada por otros<sup>10</sup>. Brevemente: bajo el microscopio el tallo cerebral es seccionado en serie en el plano transversal usando un vibratomo hasta que aparecen marcas anatómicas como el núcleo ambiguo y la oliva inferior (fig. 1B). En seguida se corta una rebanada transversal (500-600  $\mu\text{m}$ ). En esta preparación se pueden registrar: a) directamente mediante registro de fijación de parche en célula única, la actividad rítmica de las neuronas del preBötC, que resulta de la interacción sináptica de la red neuronal y, b) indirectamente, la actividad rítmica del preBötC a partir del registro de las raíces del XIIIn, que transmiten la señal de las motoneuronas del XIIn excitadas por las neuronas del preBötC (fig. 2). La actividad rítmica del XIIIn es generalmente integrada ( $\int$  XIIIn). Una vez establecida la actividad basal, la aplicación de fármacos puede ser realizada en el baño de la rebanada o inyectando el fármaco cerca de la neurona registrada.

## Tipos neuronales en el complejo pre-Bötzinger

El preBötC es una red de interneuronas heterogénea<sup>11</sup>. En las ratas, contiene una población de  $\sim 1.000$  neuronas por lado<sup>12</sup>, de las que  $\sim 600$  en total expresan el receptor neuroquinina-1 (rNK1), cuyo ligando es la sustancia P (SP)<sup>13</sup>. Algunas neuronas expresan somatostatina, un neuropéptido con acción moduladora en la respiración. La

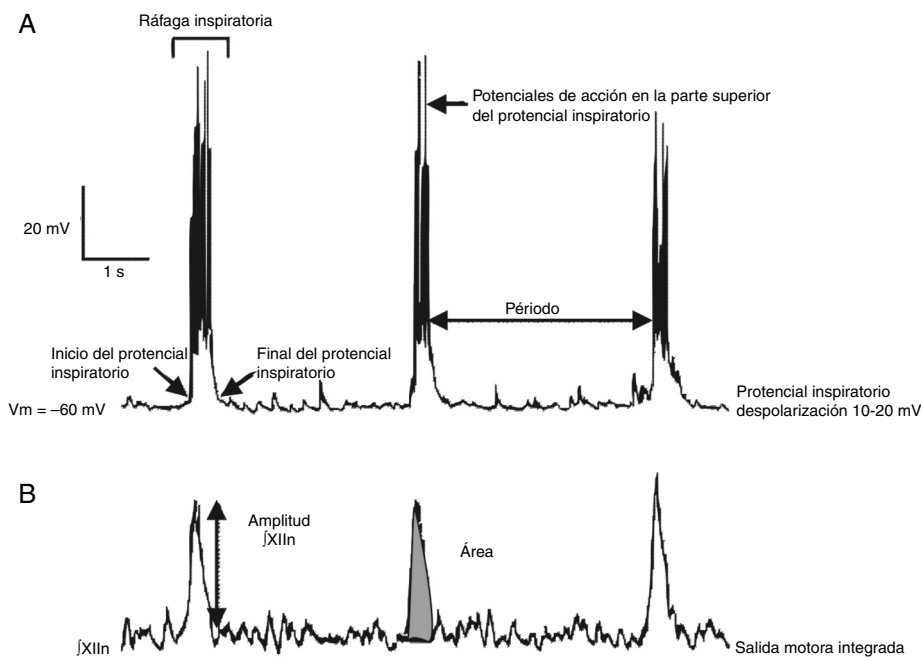


**Figura 1** A) Representación de la ubicación del complejo pre-Bötzinger en el cerebro de roedor en corte sagital (fuente: modificada de Paxinos y Watson<sup>58</sup>). En mamíferos, el complejo pre-Bötzinger está en el bulbo ventrolateral, al nivel del óbex, caudal al núcleo facial, rostral al núcleo reticular lateral y ventral al núcleo ambiguo. B) Corte coronal que presenta las marcas anatómicas para localizar el complejo pre-Bötzinger.

Amb: núcleo ambiguo; IO oliva inferior; VRG grupo respiratorio ventral; XIIN: núcleo hipogloso.

inmunorreactividad a rNK1 o a somatostatina es utilizada como marcador de neuronas del preBötC<sup>14-16</sup>. En estudios *post mortem* de cerebros de humanos con atrofia multi-sistémica, demencia con cuerpos de Lewy o síndrome de

Perry, se ha observado una disminución significativa de neuronas inmunorreactivas a rNK1 en la región correspondiente al preBötC, con respecto al número de células inmunorreactivas encontradas en la misma área en cerebros de humanos



**Figura 2** Parámetros de estudio en el registro de la actividad eléctrica individual de las neuronas del complejo pre-Bötzinger (superior) y de la actividad poblacional de la raíz del nervio XII (inferior). La actividad de XIIn se registra con un electrodo de succión y se integra.

fallecidos por otras causas. Estos hallazgos indican que los trastornos respiratorios asociados a estas enfermedades probablemente se deban a la pérdida de neuronas que regulan la generación del ritmo respiratorio<sup>17-20</sup>.

Se han identificado subpoblaciones neuronales glutamatergicas, glicinérgicas, GABAérgicas, y con coexpresión de glicina-GABA<sup>16,21</sup>. Como resultado de las interacciones sinápticas entre las neuronas del preBötC, cada neurona produce actividad rítmica inspiratoria en forma de una despolarización sincrónica de 10-20 mV, con duración de 0.3-0.8 s y con potenciales de acción encima, llamada potencial inspiratorio en fase con toda la red<sup>22</sup> (fig. 2). Aunque rítmicas, no se considera a la mayoría de las neuronas del preBötC como neuronas marcapasos<sup>23</sup>, ya que en ausencia de conectividad sináptica la actividad rítmica cesa. Por último, el preBötC contiene neuronas silenciosas, que no disparan potenciales de acción aun cuando se encuentran en la misma área neuroanatómica. El preBötC no contiene neuronas espiratorias. Durante la ventilación pulmonar, la fase inspiratoria es la fase activa que involucra la contracción de músculos, mientras que la fase espiratoria es pasiva<sup>24</sup>. La espiración se vuelve activa en procesos como toser, estornudar o durante el ejercicio forzado. Se ha propuesto que la espiración activa está controlada por el pFRG/RTN<sup>25,26</sup>.

## Farmacología de los receptores del glutamato

El glutamato es el principal neurotransmisor excitatorio en el preBötC<sup>21,27</sup>. Las neuronas del preBötC expresan receptores ionotrópicos de glutamato de los tipos N-metil-D-aspartato (NMDAR),  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropionato (AMPA) y kainato, así como metabotrópicos, mGluR<sup>28-30</sup>.

La activación y modulación de los AMPAR es crucial para la generación del ritmo respiratorio. La aplicación del agonista AMPA en el preBötC incrementa la frecuencia del ritmo, ya que despolariza las neuronas ritmogénicas<sup>29,31</sup>, en tanto la aplicación del antagonista 2,3-dihidroxi-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo(f)quinoxalina (NBQX) elimina completamente la actividad respiratoria<sup>28</sup>. No obstante, en condiciones en las que se elimina el  $Mg^{2+}$  extracelular para quitar el bloqueo dependiente de voltaje de los NMDAR, el ritmo respiratorio se mantiene aún en altas concentraciones de NBQX, ya que la corriente postsináptica generada por los NMDAR sustituye a la corriente de los AMPAR<sup>28</sup>.

A pesar de estar presentes en las neuronas del preBötC, los NMDAR no son esenciales para la generación del ritmo respiratorio ni para la conducción de la transmisión sináptica en el neonato, pues la aplicación del bloqueador del poro del canal maleato de dizolcipina (MK-801) en preparaciones de rata no tiene efecto alguno sobre el ritmo respiratorio<sup>28</sup>. Además, preparaciones de ratones carentes de la subunidad NMDAR1 del receptor NMDA (NMDAR1<sup>-/-</sup>), necesaria para formar NMDAR funcionales, tienen ritmo respiratorio semejante al control<sup>32</sup>.

Se ha propuesto que los receptores metabotrópicos de glutamato del grupo I contribuyen a la generación del potencial inspiratorio. El mGluR1 regula una conductabilidad de  $K^+$  y mGluR5 utiliza  $Ca^{2+}$  intracelular como segundo mensajero y opera vía el receptor dependiente de inositol 1,4,5 trifosfato

(IP3Rs)<sup>30,33</sup>. Los antagonistas selectivos de mGluR1 LY36738 y mGluR5 6-metil-2-(feniletinil) piridina (MPEP) reducen significativamente la amplitud y área del potencial inspiratorio, sin generar efectos sobre la actividad de la salida motora<sup>33</sup>. El antagonista general del grupo II de mGluRs 1-amino-5-fosfonoindan-1-ácido carboxílico (APICA) reduce la frecuencia en la salida motora del XIIIn sin un cambio en la amplitud<sup>33</sup>.

La capsaicina, el compuesto activo del chile, evoca liberación de glutamato y SP. La capsaicina actúa agotando y previniendo la reaccumulación de SP en las neuronas sensoriales periféricas<sup>34</sup>. El tratamiento con capsaicina en la rebanada transversal disminuye la frecuencia de la actividad rítmica respiratoria medida en el XIIIn de manera dependiente de la concentración y el tiempo. El ritmo respiratorio cesa presuntamente porque la capsaicina evoca liberación de glutamato y SP de las fibras de las neuronas del preBötC<sup>27</sup>.

## Farmacología de los receptores de GABA

Las neuronas inspiratorias pueden ser inhibidas o estimuladas vía receptores a GABA tipo A (GABA<sub>A</sub>R) por el anestésico sevoflurano. La aplicación de bajas concentraciones (0,23 y 0,47 mM) estimula la actividad del preBötC, mientras que concentraciones desde 0,75 mM deprimen su actividad<sup>35</sup>. La microinyección bilateral en el preBötC de muscimol, un agonista de los GABA<sub>A</sub>R, detiene el ritmo medido en el XIIIn, pero la aplicación unilateral no cesa el ritmo<sup>36</sup>. En ratas, existe un periodo de transición del desarrollo del control motor respiratorio entre los días P10 y P15, cuando se ha indicado que hay un incremento de la inhibición neuronal GABAérgica. Esto se hace evidente al probar la sensibilidad a pentobarbital en el preBötC, la cual incrementa en P14, mientras que la sensibilidad a pentobarbital en motoneuronas del XIIIn disminuye entre los días P11-P15, y es más baja en P14. Estos cambios en la sensibilidad a pentobarbital indican una variación en la expresión de subunidades que conforman al GABA<sub>A</sub>R<sup>37</sup>. Esta expresión diferencial podría ser clave para compensar o evitar un posible aumento de la inhibición GABAérgica y, por consiguiente, la depresión respiratoria durante el desarrollo. Por otra parte, la bicuculina, antagonista de los receptores GABA<sub>B</sub>, no genera cambios en la actividad respiratoria en neonatos<sup>38</sup>.

La información acumulada muestra que la participación del sistema GABAérgico en la generación del ritmo respiratorio podría ser dependiente de la edad, pues mientras a edades tempranas GABA parece no desempeñar un papel relevante en la ritmogénesis del preBötC, en edades posteriores a P10 podría estar participando en la modulación de la depresión respiratoria.

## Farmacología de los receptores de la glicina

Los receptores de glicina (GlyR) son canales iónicos de  $Cl^-$  activados por ligando que median la neurotransmisión inhibitoria rápida en la médula espinal y el tronco cerebral<sup>39</sup>. El antagonista de los GlyR, estriocina, ha sido utilizada para abolir la contribución de corrientes espontáneas mediadas por dichos receptores y como diana molecular para los

anestésicos volátiles<sup>35,38</sup>. Por ejemplo, la aplicación de estricnina previa a sevoflurano antagoniza el efecto depresor de este en la actividad de las neuronas preinspiratorias, en tanto su coaplicación con sevoflurano (0,47 mM) causa un incremento significativo en el ritmo de las ráfagas pre-IS<sup>35</sup>. Sin embargo, hasta ahora no se ha demostrado que su participación sea crítica en la generación del ritmo respiratorio.

## Farmacología de los receptores de la acetilcolina

Las perturbaciones de la neurotransmisión colinérgica en el tronco cerebral afectan el patrón motor respiratorio tanto *in vivo* como *in vitro*<sup>40</sup>. Las neuronas del preBötC responden a la aplicación local de la acetilcolina (ACh), carbacol o a la aplicación en el baño de muscarina. La muscarina incrementa la frecuencia, amplitud y duración de las ráfagas motoras del XIIIn. Además, induce actividad de tipo convulsivo durante el periodo interráfaga. Los efectos son bloqueados por la atropina<sup>40</sup>. La ACh y la nicotina modulan los patrones respiratorios activando los receptores nicotínicos (nAChR) en el preBötC<sup>41</sup>. La nicotina, mediante la activación de la subunidad  $\alpha 4$  de los nAChR, facilita la entrada glutamatérgica excitatoria a las neuronas inspiratorias del preBötC y las despolariza. Por otra parte, el inhibidor de la acetilcolinesterasa neostigmina eleva los niveles de ACh, excita las neuronas inspiratorias, incrementa la frecuencia respiratoria y la amplitud, induciendo actividad tónica en el XIIIn<sup>42</sup>.

La microinyección unilateral del inhibidor de la acetilcolinesterasa sulfato de fisostigmina (physo) en el preBötC incrementa la frecuencia de la actividad rítmica del  $\int$ XIIIn, en tanto que inyectado ipsilateralmente induce actividad tónica y un incremento de la amplitud y duración de las ráfagas del  $\int$ XIIIn; además, disminuye el periodo del ciclo respiratorio y su variabilidad<sup>43</sup>. Por otro lado, el 4-difenilacetoxi-N-metilpiperidina (4-DAMP), antagonista selectivo de los receptores muscarínicos de ACh M3, bloquea las corrientes inducidas por carbacol, además de aumentar la resistencia membranal de entrada y bloquear todos los efectos de physo, excepto el incremento de la frecuencia respiratoria<sup>40,43</sup>. En presencia tanto de dihidro- $\beta$ -eritroidina como de 4-DAMP, physo induce efectos opuestos, lo que indica que la transmisión colinérgica en el preBötC regula la frecuencia respiratoria en tanto que, en el XIIIn, regula la actividad tónica, amplitud y duración de las ráfagas inspiratorias del  $\int$ XIIIn en ratas neonatas<sup>43</sup>.

## Farmacología de los receptores de la serotonina

La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) desempeña un papel clave en la modulación del patrón de la respiración actuando sobre diferentes subtipos de receptores. La aplicación sistémica del agonista 8-hidroxi-2-dipropilamino tetralin hidrobromuro (8-OH-DPAT) en perros reduce en ~40% la duración inspiratoria y espiratoria, pero no produce cambios en la amplitud de la descarga del nervio frénico<sup>44</sup>.

Este estudio *in vivo* señala que 8-OH-DPAT modula la fase del ritmo respiratorio por la activación de receptores de 5-HT en regiones diferentes al preBötC y, en general, fuera de la columna respiratoria, apuntando a la participación de estructuras cercanas como el núcleo rafé, RTN, complejo parabraquial-Kölliker-Fuse y el núcleo del tracto solitario<sup>44</sup>.

*In vitro*, la aplicación de 5-HT en el baño o directamente en el preBötC aumenta la frecuencia del ritmo respiratorio<sup>45,46</sup>. El efecto de la 5-HT sobre la actividad rítmica es mimetizado por el agonista R(-)-2-(2,5-dimetoxi-4-iodofenil) aminoetano hidrocloreuro (DOI) y bloqueado por el antagonista de receptores 5-HT2A ketanserina<sup>45,47</sup>.

## Farmacología de los receptores adrenérgicos

La norepinefrina pertenece al grupo de las catecolaminas y actúa como regulador de la actividad respiratoria<sup>48</sup>. La pérdida de innervación noradrenérgica está relacionada con la enfermedad de Alzheimer<sup>49</sup>. La aplicación de norepinefrina a rebanadas de ratones después de exposición a hipoxia intermitente aguda (AIH) hace que la actividad respiratoria sea irregular, presumiblemente por un aumento de la inhibición sináptica dentro del preBötC<sup>48</sup>. Esta irregularidad puede ser prevenida mediante el bloqueo de la inhibición sináptica únicamente de forma previa a la AIH, ya que si se trata de bloquear la inhibición sináptica después de AIH, la respiración no se puede restablecer. Esto indica cambios sutiles en la transmisión sináptica de la red generadora del ritmo respiratorio, como la liberación endógena de neuro-moduladores.

## Farmacología de los receptores purinérgicos

Distintas funciones de la red respiratoria neural se mantienen en condiciones homeostáticas mediante la señalización de adenosina a través de su unión a receptores purinérgicos P1 (P1R), y de ATP que se une a receptores purinérgicos P2 (P2R)<sup>50</sup>. La señalización de los P2R tiene un papel muy importante en la respuesta ventilatoria central a la hipoxia<sup>51</sup>. Las redes generadoras del ritmo inspiratorio en el preBötC son excitadas por activación de P2R del subtipo P2Y<sup>52</sup>.

La aplicación de adenosina en preparaciones de ratón reduce la frecuencia inspiratoria, que permanece significativamente por debajo del control. En preparaciones de rata no tiene efecto sobre la frecuencia basal inspiratoria<sup>50</sup>. La aplicación local de ATP en preparaciones de rata produce un aumento en la frecuencia inspiratoria de inicio rápido y corta duración, en tanto que en preparaciones de ratón no tiene efecto significativo<sup>50,53</sup>.

Los efectos moduladores de los receptores P2Y1 (P2Y1R) sobre la actividad eléctrica de la salida motora del nervio frénico (C4) y del XIIIn se han estudiado en presencia del agonista MRS2365, el cual potencia la amplitud de la ráfaga inspiratoria del XIIIn, y a concentraciones 10 veces mayores, la amplitud de las ráfagas de C4 es potenciada<sup>52</sup>. La aplicación de MRS2365 en el preBötC en preparaciones de ratones durante 10 s aumenta la frecuencia y duración de  $\int$ XIIIn por encima de la frecuencia basal<sup>50,53</sup>. Registros de célula completa muestran que las motoneuronas del XIIIn son más

sensibles a la modulación de los P2Y1R que las motoneuronas del nervio frénico<sup>52</sup>.

El antagonista del receptor pirodoxal-fosfato-6-azofenil-2',4'-disulfonato tetrasodio (PPADS) reduce la magnitud de corriente inducida por ATP<sup>51</sup>. La evidencia indica que la señalización a ATP modula el preBötC de forma indirecta, ejerciendo sus efectos sobre la frecuencia respiratoria.

## Farmacología de los receptores de opioides

Agonistas del receptor  $\mu$ -opioides ( $\mu$ OR) afectan el ritmo respiratorio cuando son inyectados directamente en el preBötC. Neuronas con propiedades ritmogénicas denominadas de tipo 1 que expresan rNK1 y  $\mu$ OR han sido propuestas como relevantes para la generación del ritmo respiratorio, ya que modulan la frecuencia respiratoria<sup>14</sup>.

La aplicación del agonista de  $\mu$ OR [D-Ala2,N-Me-Phe4,Gly5-ol] encefalin acetato (DAMGO) en el baño de la rebanada disminuye la frecuencia respiratoria medida en el XIIIn<sup>54</sup>. La inyección de DAMGO directamente en el preBötC activa una conductabilidad de  $K^+$  que induce la hiperpolarización de las neuronas<sup>14</sup>. Estos datos son de relevancia clínica, ya que la morfina, que activa los  $\mu$ OR, es comúnmente utilizada como analgésico postoperatorio de larga duración al ser inyectada de manera epidural o intratecal. Sin embargo, esta droga puede provocar depresión respiratoria. Una explicación plausible a este efecto secundario es que el líquido cefalorraquídeo que contiene la morfina active los  $\mu$ OR de las neuronas del preBötC y deprima su actividad y, por lo tanto, la generación del ritmo respiratorio.

## Fármacos misceláneos

Existen compuestos que no actúan en un receptor conocido específico y, sin embargo, afectan al ritmo respiratorio. Tal es el caso de la creatina, un compuesto endógeno sintetizado de arginina y glicina que es almacenado en su mayoría en el músculo esquelético; su suplementación está asociada a la prevención de enfermedades neurodegenerativas y su deficiencia en el sistema nervioso central, con desórdenes intelectuales<sup>55,56</sup>.

El efecto de la creatina en hipoxia en la amplitud y duración de la ráfaga inspiratoria y en los niveles de ATP en condiciones de anoxia fue evaluado en neuronas del preBötC mediante el registro de fijación de parche en célula completa y en la salida motora del XIIIn en rebanadas hipóxicas de ratón a diferentes etapas posnatales (P0-5 y P6-13) tratados mediante nutrición normal (controles), alimentados con creatina (2 g/kg/día; grupo suplementado), o rebanadas incubadas 3 h en creatina (200  $\mu$ M)<sup>57</sup>. En rebanadas de ratones P0-P13 en condiciones de anoxia (30 min), la amplitud y duración de la ráfaga inspiratoria aumenta tanto en rebanadas de ratones control como en las de ratones suplementados con creatina en comparación con los valores preanóxicos<sup>57</sup>. Los niveles de ATP se mantienen constantes en rebanadas pretratadas con creatina en comparación con una disminución en rebanadas control. Estos datos señalan que la creatina puede contrarrestar la insuficiencia de energía por hipoxia<sup>57</sup>.

## Conclusión

Se han realizado múltiples manipulaciones farmacológicas para estudiar la generación del ritmo respiratorio a nivel central, sin embargo, aún existe una gran interrogante respecto a cuáles son los receptores y las vías de señalización endógenas indispensables y suficientes para que el ritmo emerja. Es de gran relevancia para el estudio de la ritmogénesis respiratoria hacer una clara distinción entre los mecanismos de generación vs. los de modulación del ritmo. Aunque se conocen los distintos tipos neuronales que forman el preBötC, las interacciones entre ellos para que emerja la fase inspiratoria del ritmo respiratorio aún no son claras. La farmacología ha sido de gran ayuda para formar una imagen de la organización del preBötC. Sin embargo, ningún fármaco está exento de efectos indeseables ya que, aun utilizados a concentraciones adecuadas, pueden afectar a sistemas distintos de los que se pretende estudiar, por lo que estudios futuros deben contemplar la especificidad del fármaco elegido y sus posibles interacciones con receptores distintos del blanco. Como se mostró en esta revisión, se siguen utilizando fármacos no selectivos que, si bien generan una respuesta observable y medible, dificultan conocer los mecanismos moleculares específicos participantes. El uso de las concentraciones farmacológicas idóneas utilizadas en los experimentos muestra una enorme discrepancia con las propuestas por organizaciones como la International Union of Basic and Clinical Pharmacology Committee on Receptor Nomenclature and Drug Classification (IUPHAR) para activar los receptores de interés. Los estudios futuros deberán hacer un análisis exhaustivo sobre los resultados que se pudieran obtener como respuesta a una interacción entre diversos sistemas de receptores y no de un solo sistema.

Finalmente, los estudios para conocer el funcionamiento del preBötC en humanos y primates no humanos son escasos. Sin embargo, es claro que, aun con la poca información con la que se cuenta, existe una correlación directa entre la muerte asociada a una falla respiratoria en pacientes con enfermedades neurodegenerativas en etapas avanzadas y la cantidad de neuronas del núcleo preBötC.

## Financiación

Financiamiento CONACYT-128392, CONACYT-153627 y beca doctoral CONACYT-515158.

## Conflictos de intereses

No se presentaron conflictos de intereses para la realización de esta revisión.

## Bibliografía

1. Smith J, Ellenberger H, Ballanyi K, Richter D, Feldman J. Pre-Bötzinger complex. A brainstem region that may generate respiratory rhythm in mammals. *Science*. 1991;254:726–9.
2. Lavezzi AM, Maturri L. Functional neuroanatomy of the human pre-Bötzinger complex with particular reference to

- sudden unexplained perinatal and infant death. *Neuropathology*. 2008;28:10–6.
3. Koshiya N, Smith JC. Neuronal pacemaker for breathing visualized in vitro. *Nature*. 1999;400:360–3.
  4. Tan W, Pagliardini S, Yang P, Janczewski WA, Feldman JL. Projections of preBötzinger complex neurons in adult rats. *J Comp Neurol*. 2010;518:1862–78.
  5. Kam K, Worrell JW, Janczewski WA, Cui Y, Feldman JL. Distinct inspiratory rhythm and pattern generating mechanisms in the preBötzinger complex. *J Neurosci*. 2013;33:9235–45.
  6. Li P, Janczewski WA, Yackle K, Kam K, Pagliardini S, Krasnow MA, et al. The peptidergic control circuit for sighing. *Nature*. 2016;530:293–7.
  7. Schwarzacher SW, Smith JC, Richter DW. Pre-Bötzinger complex in the cat. *J Neurophysiol*. 1995;73:1452–61.
  8. Krause KL, Neumueller SE, Marshall BD, Kiner T, Bonis JM, Pan LG, et al. Micro-opioid receptor agonist injections into the presumed pre-Botzinger complex and the surrounding region of awake goats do not alter eupneic breathing. *J Appl Physiol*. 2009;107:1591–9.
  9. Smith JC, Feldman JL. In vitro brainstem-spinal cord preparations for study of motor systems for mammalian respiration and locomotion. *J Neurosci methods*. 1987;21:321–33.
  10. Funk GD, Greer JJ. The rhythmic, transverse medullary slice preparation in respiratory neurobiology: Contributions and caveats. *Respir Physiol Neurobiol*. 2013;186:236–53.
  11. Alheid GF, McCrimmon DR. The chemical neuroanatomy of breathing. *Respir Physiol Neurobiol*. 2008;164:3–11.
  12. Feldman JL, del Negro CA, Gray PA. Understanding the rhythm of breathing: So near, yet so far. *Annu Rev Physiol*. 2013;75:423–52.
  13. Gray PA, Janczewski WA, Mellen N, Mccrimmon DR, Feldman JL. Normal breathing requires preBötzinger complex neurokinin-1 receptor-expressing neurons. *Nat Neurosci*. 2001;4:927–30.
  14. Gray PA, Rekling JC, Bocchiaro CM, Feldman JL. Modulation of respiratory frequency by peptidergic input to rhythmogenic neurons in the preBötzinger complex. *Science (80-)*. 1999;286:1566–8.
  15. Gray PA, Hayes JA, Ling GY, Llona I, Tupal S, Picardo MC, et al. Developmental origin of preBötzinger complex respiratory neurons. *J Neurosci*. 2010;30:14883–95.
  16. Liu YY, Ju G, Wong-Riley MT. Distribution and colocalization of neurotransmitters and receptors in the pre-Bötzinger complex of rats. *J Appl Physiol*. 2001;91:1387–95.
  17. Benarroch EE, Schmeichel AM, Low PA, Parisi JE. Depletion of ventromedullary NK-1 receptor-immunoreactive neurons in multiple system atrophy. *Brain*. 2003;126:2183–90.
  18. Tsuboi Y, Dickson DW, Nabeshima K, Schmeichel AM, Wszolek ZK, Yamada T, et al. Neurodegeneration involving putative respiratory neurons in Perry syndrome. *Acta Neuropathol*. 2008;115:263–8.
  19. Presti MF, Schmeichel AM, Low PA, Parisi JE, Benarroch EE. Degeneration of brainstem respiratory neurons in dementia with Lewy bodies. *Sleep*. 2014;37:373–8.
  20. Mizukami K, Homma T, Aonuma K, Kinoshita T, Kosaka K, Asada T. Decreased ventilatory response to hypercapnia in dementia with Lewy bodies. *Ann Neurol*. 2009;65:614–7.
  21. Koizumi H, Koshiya N, Chia JX, Cao F, Nugent J, Zhang R, et al. Structural-functional properties of identified excitatory and inhibitory interneurons within pre-Botzinger complex respiratory microcircuits. *J Neurosci*. 2013;33:2994–3009.
  22. Morgado-Valle C, Fernandez-Ruiz J, Lopez-Meraz L, Beltran-Parrazal L. Substitution of extracellular Ca<sup>2+</sup> by Sr<sup>2+</sup> prolongs inspiratory burst in pre-Bötzinger complex inspiratory neurons. *J Neurophysiol*. 2015;113:1175–83.
  23. Del Negro CA, Morgado-Valle C, Hayes JA, Mackay DD, Pace RW, Crowder Ea, et al. Sodium and calcium current-mediated pacemaker neurons and respiratory rhythm generation. *J Neurosci*. 2005;25:446–53.
  24. Feldman JL, del Negro CA. Looking for inspiration: New perspectives on respiratory rhythm. *Nat Rev Neurosci*. 2006;2006.
  25. Janczewski WA, Feldman JL. Distinct rhythm generators for inspiration and expiration in the juvenile rat. *J Physiol*. 2006;570:407–20.
  26. Pagliardini S, Janczewski WA, Tan W, Dickson CT, Deisseroth K, Feldman JL. Active expiration induced by excitation of ventral medulla in adult anesthetized rats. *J Neurosci*. 2011;31:2895–905.
  27. Morgado-Valle C, Feldman JL. Depletion of substance P and glutamate by capsaicin blocks respiratory rhythm in neonatal rat in vitro. *J Physiol*. 2004;555:783–92.
  28. Morgado-Valle C, Feldman JL. NMDA receptors in preBotzinger complex neurons can drive respiratory rhythm independent of AMPA receptors. *J Physiol*. 2007;582:359–68.
  29. Ge Q, Feldman JL. AMPA receptor activation and phosphatase inhibition affect neonatal rat respiratory rhythm generation. *J Physiol*. 1998;509:255–66.
  30. Pace RW, del Negro CA. AMPA and metabotropic glutamate receptors cooperatively generate inspiratory-like depolarization in mouse respiratory neurons in vitro. *Eur J Neurosci*. 2008;28:2434–42.
  31. Shao XM, Ge Q, Feldman JL. Modulation of AMPA receptors by cAMP-dependent protein kinase in preBötzinger complex inspiratory neurons regulates respiratory rhythm in the rat. *J Physiol*. 2003;547:543–53.
  32. Funk GD, Johnson SM, Smith JC, Dong X, Lai J, Feldman JL. Functional respiratory rhythm generating networks in neonatal mice lacking NMDAR1 gene. *J Neurophysiol*. 1997;78:1414–20.
  33. Pace RW, Mackay DD, Feldman JL, del Negro CA. Inspiratory bursts in the preBötzinger complex depend on a calcium-activated non-specific cation current linked to glutamate receptors in neonatal mice. *J Physiol*. 2007;582:113–25.
  34. Rollyson WD, Stover CA, Brown KC, Perry HE, Stevenson CD, McNeese CA, et al. Bioavailability of capsaicin and its implications for drug delivery. *J Control Release*. 2014;196:96–105.
  35. Takita K, Morimoto Y. Effects of sevoflurane on respiratory rhythm oscillators in the medulla oblongata. *Respir Physiol Neurobiol*. 2010;173:86–94.
  36. Pace RW, Mackay DD, Feldman JL, del Negro Ca. Role of persistent sodium current in mouse preBötzinger complex neurons and respiratory rhythm generation. *J Physiol*. 2007;580:485–96.
  37. Turner SM, Johnson SM. Abrupt changes in pentobarbital sensitivity in preBötzinger complex region, hypoglossal motor nucleus, nucleus tractus solitarius, and cortex during rat transitional period (P10–P15). *Respir Physiol Neurobiol*. 2015;207:61–71.
  38. Shao XM, Feldman JL. Respiratory rhythm generation and synaptic inhibition of expiratory neurons in pre-Bötzinger complex: Differential roles of glycinergic and GABAergic neural transmission. *J Neurophysiol*. 1997;77:1853–60.
  39. Avila A, Nguyen L, Rigo J-M. Glycine receptors and brain development. *Front Cell Neurosci*. 2013;7:184.
  40. Shao XM, Feldman JL. Acetylcholine modulates respiratory pattern: Effects mediated by M3-like receptors in PreBötzinger complex inspiratory neurons. *J Neurophysiol*. 2000;83:1243–52.
  41. Shao XM, Tan W, Xiu J, Puskar N, Fonck C, Lester HA, et al. Alpha4\* nicotinic receptors in preBotzinger complex mediate cholinergic/nicotinic modulation of respiratory rhythm. *J Neurosci*. 2008;28:519–28.
  42. Shao XM, Feldman JL. Efficient measurement of endogenous neurotransmitters in small localized regions of central nervous systems in vitro with HPLC. *J Neurosci Methods*. 2007;160:256–63.
  43. Shao XM, Feldman JL. Cholinergic neurotransmission in the preBötzinger complex modulates excitability of inspiratory

- neurons and regulates respiratory rhythm. *Neuroscience*. 2005;130:1069–81.
44. Radocaj T, Mustapic S, Prkic I, Stucke AG, Hopp FA, Stuth EA, et al. Activation of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the preBötzinger region has little impact on the respiratory pattern. *Respir Physiol Neurobiol*. 2015;1–11.
  45. Al-Zubaidy ZA, Erickson RL, Greer JJ. Serotonergic and noreadrenergic effects on respiratory neural discharge in the medullary slice preparation of neonatal rats. *Pflugers Arch*. 1996;431:942–9.
  46. Schwarzacher SW, Pestean A, Günther S, Ballanyi K. Serotonergic modulation of respiratory motoneurons and interneurons in brainstem slices of perinatal rats. *Neuroscience*. 2002;115:1247–59.
  47. Peña F, Ramirez J-M. Endogenous activation of serotonin-2A receptors is required for respiratory rhythm generation in vitro. *J Neurosci*. 2002;22:11055–64.
  48. Zanella S, Doi A, Garcia AJ, Elsen F, Kirsch S, Wei AD, et al. When norepinephrine becomes a driver of breathing irregularities: How intermittent hypoxia fundamentally alters the modulatory response of the respiratory network. *J Neurosci*. 2013;34:36–50.
  49. Gannon M, Che P, Chen Y, Jiao K, Roberson ED, Wang Q. Noreadrenergic dysfunction in Alzheimer's disease. *Front Neurosci*. 2015;9:220.
  50. Zwicker JD, Rajani V, Hahn LB, Funk GD. Purinergic modulation of preBötzinger complex inspiratory rhythm in rodents: The interaction between ATP and adenosine. *J Physiol*. 2011;589:4583–600.
  51. Lorier aR, Lipski J, Housley GD, Greer JJ, Funk GD. ATP sensitivity of preBötzinger complex neurones in neonatal rat in vitro: Mechanism underlying a P<sub>2</sub> receptor-mediated increase in inspiratory frequency. *J Physiol*. 2008;586:1429–46.
  52. Alvares TS, Revill AL, Huxtable AG, Lorenz CD, Funk GD. P<sub>2</sub>Y<sub>1</sub> receptor-mediated potentiation of inspiratory motor output in neonatal rat in vitro. *J Physiol*. 2014;592:3089–111.
  53. Huxtable AG, Zwicker JD, Poon BY, Pagliardini S, Vrouwe SQ, Greer JJ, et al. Tripartite purinergic modulation of central respiratory networks during perinatal development: The influence of ATP, ectonucleotidases, and ATP metabolites. *J Neurosci*. 2009;1–19.
  54. Montandon G, Qin W, Liu H, Ren J, Greer JJ, Horner RL. PreBotzinger complex neurokinin-1 receptor-expressing neurons mediate opioid-induced respiratory depression. *J Neurosci*. 2011;31:1292–301.
  55. Smith RN, Agharkar AS, Gonzales EB. A review of creatine supplementation in age-related diseases: More than a supplement for athletes. *F1000Research*. 2014;3:222.
  56. Stockler-Ipsiroglu S, van Karnebeek CD. Cerebral creatine deficiencies: A group of treatable intellectual developmental disorders. *Semin Neurol*. 2014;34:350–6.
  57. Wilken B, Ramirez JM, Probst I, Richter DW, Hanefeld F. Creatine protects the central respiratory network of mammals under anoxic conditions. *Pediatr Res*. 1998;43:8–14.
  58. Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 6th ed. Amsterdam, Boston: Elsevier; 2007.