

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES**

**“MODULACIÓN FARMACOLÓGICA DE LA ACTIVIDAD  
OSCILATORIA EN LA MUSCULATURA BRONQUIAL EN RATAS”**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA

ABRAHAM AGUSTÍN ARELLANO PERUSQUÍA

DIRIGIDA POR

M. en C. CARLOS ISAAC SILVA BARRÓN

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2006.

**BIBLIOTECA CENTRAL**  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

No. ADQ H 712505

CLAS TS  
619.93  
A679m

20-  
a us ...



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES**

**“MODULACIÓN FARMACOLÓGICA DE LA ACTIVIDAD  
OSCILATORIA EN LA MUSCULATURA BRONQUIAL EN  
RATAS”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**PRESENTA**

**ABRAHAM AGUSTÍN ARELLANO PERUSQUÍA**

**DIRIGIDA POR**

**M. en C. CARLOS ISAAC SILVA BARRÓN**

**SINODALES**

**M. en C. CARLOS ISAAC SILVA BARRÓN**  
DIRECTOR

\_\_\_\_\_

**Dr. ROGELIO ARELLANO OSTOA**  
SINODAL

\_\_\_\_\_

**Dr. MARCO ANTONIO SÁNCHEZ RAMOS**  
SINODAL

\_\_\_\_\_

**Dr. AMADOR DEL PRADO**  
SINODAL

\_\_\_\_\_

*“Cuando se nos otorga la enseñanza se debe percibir como un valioso regalo y no como una dura tarea, aquí está la diferencia de lo trascendente”*

*-Albert Einstein-*

## DEDICATORIAS

*A Adriana, mi madre, y Agustín, mi padre, por su amor, sus cuidados, su paciencia, su tiempo, sus sacrificios, sus ejemplos de vida íntegra, sus visiones de esperanza y fe en Dios*

*A David, mi hermano y amigo y Karina, mi cuñada, por estar siempre ahí cuando los necesito*

*A mi abuelita lolita, por su amor y sus rezos, los cuales siempre me protegen; a mi abuelito David, que desde el cielo sé que me está cuidando*

*A Anita y tacho, mis abuelitos, por el inmenso amor que siempre me han brindado*

*A Chiqui, Paty y Lulú, por todo el cariño, apoyo y consejos que han derramado en mi*

*A Martín, Elva y Ana Elva, por ese gran cariño que siempre me han brindado, mil gracias*

*A Bricia, cuyo amor, visión y apoyo son mis fuentes de actividad e inspiración*

*A Carlos, gracias compadre por tantos años de amistad incondicional*

## AGRADECIMIENTOS

*Agradezco profundamente al M. en C. Carlos Isaac Silva Barrón por brindarme la oportunidad de superarme; por su dirección, apoyo y estímulo siempre presentes; y sobre todo por su amistad y por ser una gran persona*

*Al Dr. Rogelio Arellano Ostoá por su gran disponibilidad para ayudarme y ofrecerme su apoyo incondicional*

*Al Dr. Marco Antonio Sánchez Ramos por aceptar revisar mi tesis y por sus valiosas observaciones a éste trabajo*

*Al Dr. Amador del Prado por su amable gestión y gran ayuda*

*A mis amigos Luis, Josué, Silvia, Dalía, Moisés y Paloma, por su gran amistad y por todos esos momentos tan agradables que hemos compartido durante todo éste tiempo, gracias por compartir inquietudes, éxitos y fracasos*

*A Lulú, mi tía, por haberme apoyado tanto a lo largo de la carrera y brindarme su hospitalidad durante todo éste tiempo*

*A Pepe, Juan y mi tita Tere, por el inmenso amor que siempre me han brindado*

*A Angelina por todo ese cariño derramado en mí*

*A la familia Álvarez Apodaca por su cariño y su apoyo y por aceptarme como uno más de sus miembros*

*A mis compañeros de generación por todos los momentos que compartimos en el transcurso de la carrera*

*A la Universidad Autónoma de Querétaro, a la Facultad de Ciencias Naturales, a la Licenciatura en Biología y todo el equipo de maestros que me proporcionaron el medio ambiente académico para alcanzar ésta meta*

*A Dios por darme vida, salud y alegría en la realización de mis anhelos*

# ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
II.1. Organización estructural y funcional del sistema nervioso	2
II.2. Sistema nervioso autónomo: simpático y parasimpático	2
II.2.1. Sistema nervioso simpático	3
II.2.2. Sistema nervioso parasimpático	6
II.3. Farmacología del sistema simpático o adrenérgico	9
II.3.1. La neurona adrenérgica	9
II.3.2. Neurotransmisión en neuronas adrenérgicas	9
II.3.2.1. Síntesis de neurotransmisores adrenérgicos (catecolaminas)	9
II.3.2.2. liberación del neurotransmisor	11
II.3.2.3. Interacción del neurotransmisor con los receptores adrenérgicos	13
II.3.2.4. Mecanismos de señalización intracelular	13
II.4. Receptores adrenérgicos	14
II.4.1. Clasificación	14
II.4.2. Receptores adrenérgicos $\alpha$	16
II.4.2.1. Receptores $\alpha_1$	16
II.4.2.2. Receptores $\alpha_2$	16
II.4.3. Receptores adrenérgicos $\beta$	17
II.4.3.1. Receptores $\beta_1$	17
II.4.3.2. Receptores $\beta_2$	18
II.4.3.3. Receptores $\beta_3$	18
II.5. Estudios sobre la Actividad Oscilatoria de la Musculatura Bronquial (AOMB).	21

III. JUSTIFICACIÓN	26
IV. HIPOTESIS	27
V. OBJETIVOS	28
V.1. General	28
V.2. Específicos	28
VI. METODOLOGÍA	29
VI.1. Materiales	29
VI.1.1. Material biológico	28
VI.1.2. Reactivos	29
VI.1.3. Equipo para registros fisiológicos (respiratorios y cardíacos)	30
VI.2. Métodos	30
VII. RESULTADOS	33
VII.1. Prueba de agonistas no selectivos para receptores adrenérgicos $\alpha$ y $\beta$ en registros poligráficos usando diferentes concentraciones farmacológicas.	33
VII.1.1. Agonista para receptores de tipo $\alpha$ y $\beta$	33
VII.1.2. Agonista para receptores de tipo $\beta$	33
VII.2. Prueba de agonistas y antagonistas de receptores adrenérgicos $\alpha$ y $\beta$ en registros poligráficos usando diferentes concentraciones farmacológicas.	37
VII.2.1. Agonistas y antagonistas de receptores adrenérgicos de tipo $\alpha$	37
VII.2.1.1. Agonista de tipo $\alpha_1$	37
VII.2.1.2. Antagonista de tipo $\alpha_1$	39
VII.2.1.3. Agonista de tipo $\alpha_2$	39
VII.2.1.4. Antagonista de tipo $\alpha_2$	42
VII.2.2. Agonistas y antagonistas de receptores adrenérgicos de tipo $\beta$ .	42
VII.2.2.1. Agonista de tipo $\beta_1$	42
VII.2.2.2. Antagonista de tipo $\beta_1$	46



VII.2.2.3. Agonista de tipo $\beta_2$	46
VII.2.2.4. Antagonista de tipo $\beta_2$	49
VII.2.2.5. Agonista de tipo $\beta_3$	49
VII.2.2.6. Antagonista de tipo $\beta_3$	52
VIII. DISCUSIÓN	59
IX. CONCLUSIÓN	66
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

## RESUMEN

En publicaciones previas de nuestro laboratorio se demostró la presencia de una actividad oscilatoria en la musculatura bronquial (**AOMB**), tanto en humano como en el animal experimental, cuya regulación depende fuertemente de la activación simpática. Sin embargo, en esos trabajos no se valoró farmacológicamente dicha actividad. El objetivo del presente trabajo consistió en explorar la posible modulación de la **AOMB** en el animal íntegro por agonistas y antagonistas adrenérgicos. Para la obtención de los registros se usaron 36 ratas macho de 11 semanas de edad (entre 350 y 450 g de peso) de la cepa Wistar, a las cuales se les anestesió con pentobarbital sódico y posteriormente se les introdujo una boquilla especialmente adaptada a la cánula traqueal del animal, la cual va acoplada a un transductor de presión-volumen, para obtener la **AOMB**. Se colocaron electrodos de aguja subdérmicamente, conectados a un transductor para registrar frecuencia cardiaca (**FCA**) como una indicación de los cambios en el sistema nervioso autónomo experimentados por el animal. Los registros se obtuvieron en papel mediante un polígrafo. Las maniobras experimentales consistieron en la inyección por vía intraperitoneal de dosis crecientes (de  $10^{-9}$  a  $10^{-3}$  M) de agonistas y antagonistas adrenérgicos ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ ), registrando sus efectos sobre la respiración y la actividad eléctrica del corazón a intervalos de 5 y 10 minutos. Al aplicar agonistas y antagonistas selectivos, observamos que los agonistas  $\beta_2$  incrementan drásticamente la actividad tónica del músculo bronquial con respecto a los registros control, viéndose disminuida la actividad fásica en cuanto a número de oscilaciones por minuto. Los datos sugieren que la actividad tónica del músculo bronquial llega a ser tan alta al estimular receptores  $\beta_2$ , que se superpone a la actividad fásica (actividad oscilatoria) impidiéndonos observar adecuadamente dicha actividad en registros poligráficos, situación que no ocurre al estimular receptores de tipo  $\alpha$  adrenérgicos. Además, tanto la actividad tónica como la fásica, están realizando una acción complementaria entre si, permitiendo al organismo ajustar sus mecanismos de ventilación ya que encontramos que al aplicar bloqueadores de tipo  $\beta_2$  broncoconstrictores, la actividad fásica desaparece por completo. En resumen, al perderse la actividad fásica, se estaría creando una compensación mediante un aumento ligero de la actividad tónica y si a esto se suma un aumento significativo en la duración de la fase inspiratoria (que trae como consecuencia una disminución en la ventilación) nos reproduciría el efecto de lo que hemos llamado una broncoconstricción funcional. Por otra parte, se sugiere algún tipo de participación de receptores  $\beta_3$  en los mecanismos de ajuste de la respiración ya descritos, sin embargo debido a la falta de información sobre este tipo de receptores, nuestros resultados no nos permiten aportar sugerencias para explicar por completo su participación en este fenómeno.

## I. INTRODUCCIÓN

En este proyecto fueron realizados estudios sobre la modulación farmacológica de la actividad respiratoria en ratas. García Ramos (1990) reportó por primera vez oscilaciones broncomotoras en registros respiratorios obtenidos por poligrafía tanto en humanos como en animal experimental. Definió los mecanismos de control de las oscilaciones bronquiales y sugirió que las oscilaciones broncomotoras están bajo el control de la vía simpática.

Para demostrar lo anterior, trabajando con gatos y perros (García – Ramos, 1990), encontró por medio de vagotomías (sección del nervio vago, par craneal X encargado del control de la vía parasimpática en diversas estructuras y órganos de la cabeza, cavidad torácica, cavidad abdominal y piel) y simpaticotomías (sección de la cadena ganglionar estrellada, encargada del control de la vía simpática principalmente en el proceso respiratorio), que las oscilaciones broncomotoras están regidas por la vía simpática.

Por otra parte, la vía simpática está modulada por mecanismos adrenérgicos periféricos en donde se encuentran involucrados diferentes tipos de receptores (tipos  $\alpha$  y  $\beta$ ) para la adrenalina y es sabido que la aplicación de drogas que interactúan con estos mecanismos, como lo son los agonistas y antagonistas adrenérgicos, son usadas para tratar ciertas enfermedades, por ejemplo, del sistema cardiovascular y las vías respiratorias.

## II. ANTECEDENTES

### II.1. Organización estructural y funcional del sistema nervioso

Dos grandes divisiones se presentan en el sistema nervioso con base en su conformación anatómica externa: por un lado está el sistema nervioso central y, por otra parte, el sistema periférico. El sistema nervioso central está compuesto por el encéfalo y por la médula espinal. El cerebro se halla alojado en la bóveda craneana; la médula espinal, en la estructura ósea de la espina dorsal (Alcaraz, 2001). El sistema nervioso periférico está formado por todo el tejido nervioso situado fuera del sistema nervioso central. Está dividido en dos partes funcionales diferentes: la división sensorial o aferente, que lleva la información sensorial hasta el sistema nervioso central, y la división motora o eferente, que transmite las órdenes motoras hasta los músculos y las glándulas. A su vez, la división eferente tiene dos componentes, (1) el sistema nervioso somático, que inerva los músculos esqueléticos, y (2) el sistema nervioso autónomo, que inerva la musculatura lisa, el músculo cardíaco y las glándulas (Guyton, 2001).

### II.2. Sistema nervioso autónomo: simpático y parasimpático

El sistema nervioso autónomo es el encargado de gobernar involuntariamente las funciones internas del cuerpo que generalmente no afectan la conciencia, como por ejemplo los movimientos del tubo digestivo y el corazón, la contracción de los músculos lisos de los vasos sanguíneos, la vejiga urinaria, el iris del ojo y muchos otros, así como la secreción de diversas glándulas (Tresguerres, 1999).

Los nervios autónomos, como los del sistema nervioso somático, salen del encéfalo o de la médula espinal, pero a diferencia de estos últimos, los nervios del sistema nervioso autónomo no están formados por una, sino por dos neuronas motoras. Las correspondientes sinapsis se producen fuera de la médula, pero antes de la llegada al órgano efector. Estas sinapsis externas con respecto a la

médula espinal tienen lugar en ganglios. Las fibras que van desde la médula hasta los ganglios son las denominadas fibras autónomas preganglionares; las que van desde los ganglios hasta los órganos efectores son las llamadas fibras postganglionares (Figura 1) (Hickman y col., 2002).

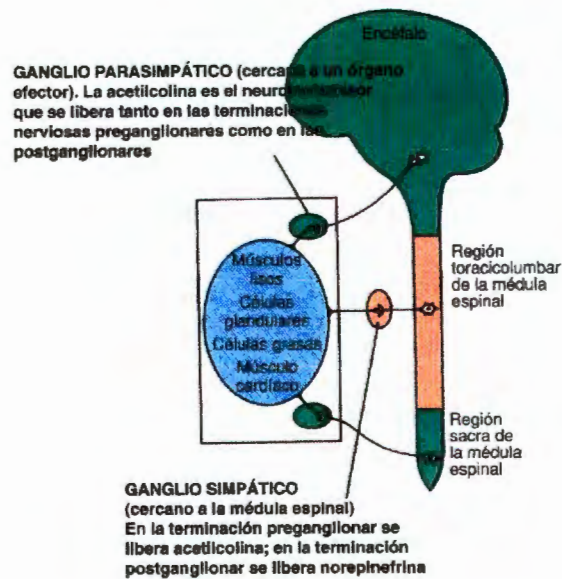


Figura 1. Organización general del sistema nervioso autónomo (Tomado de Hickman y col., 2002).

### II.2.1. Sistema nervioso simpático

El sistema simpático está compuesto de un conjunto de neuronas dispuestas en distintas regiones. Pueden definirse cuatro grupos de neuronas. El primer grupo estaría compuesto por las neuronas hipotalámicas que controlan la actividad visceral. El segundo grupo lo formarían las neuronas de la médula espinal en las que se integra una variedad de reflejos originados por sensaciones viscerales de dolor o sensaciones de plenitud estomacal o intestinal, así como estimulaciones provenientes de receptores en los vasos sanguíneos y en las distintas vísceras. El tercer grupo estaría constituido por las neuronas posganglionares de la cadena paravertebral y el cuarto grupo por las neuronas posganglionares de los ganglios

prevertebrales. El grupo de la médula espinal se halla formado por las neuronas de la llamada columna intermedia lateral, dichas neuronas reciben también el nombre de preganglionares porque se encuentran antes de los ganglios paravertebrales situados en la cadena ganglionar paralela a la médula espinal y precediendo las ubicadas en los ganglios prevertebrales localizados en la región abdominal. Los ganglios paravertebrales recibe ese nombre precisamente por su colocación paralela a la médula espinal (Alcaraz, 2001).

En la figura 2 se indican los órganos inervados por dicho sistema, en los ojos produce dilatación pupilar y aplanamiento del cristalino para asegurar la visión lejana; en las glándulas salivales inhibe la secreción o produce secreciones mucosas; en el sistema respiratorio origina efectos dilatadores en los bronquios; en el sistema circulatorio, aceleración cardíaca y constricción de los vasos; en el sistema digestivo, inhibición del peristaltismo intestinal y de la secreción glandular, y en las glándulas sudoríparas, secreción; mientras que en los folículos pilosos produce piloerección. En el aparato genital produce inhibición, salvo en la parte final del acto sexual que da lugar a eyaculación y contracción de las paredes vaginales. En el sistema urinario produce contracción esfinteriana (Cuadro 1) (Alcaraz, 2001).

Por otra parte, los mediadores químicos del simpático son la acetilcolina en las sinapsis preganglionares y la adrenalina en las uniones posganglionares con los efectores, excepto en las terminaciones de las fibras posganglionares en las glándulas sudoríparas del cuerpo y en los vasos sanguíneos de los músculos esqueléticos en los que el neurotransmisor es acetilcolina. Sin embargo, son adrenérgicas las glándulas sudoríparas de las palmas de las manos. En general, puede decirse que en las sinapsis del simpático, los receptores alfa adrenérgicos median la vasoconstricción, la inhibición peristáltica y la dilatación de la pupila, en tanto que los beta adrenérgicos producen vasodilatación, aceleración cardíaca y relajación bronquial (Ninomiya, 1991).

Las fibras simpáticas que llegan a la médula suprarrenal hacen sinapsis con las neuronas que ahí se encuentran las cuales provocan una descarga de adrenalina y noradrenalina que al verterse en la sangre y ser llevadas a todo el cuerpo ocasionan activación generalizada del organismo. La adrenalina actúa además sobre los almacenes de glucógeno en el hígado para provocar liberación de glucosa. De este modo, en conjunción con la liberación de ácidos grasos de los tejidos adiposos, se proporciona la energía necesaria para responder a las necesidades del ataque o de la huida. El conjunto de acciones del simpático contribuye, entonces, a que el enfrentamiento al peligro se realice de la mejor manera posible (Guyton, 2001).

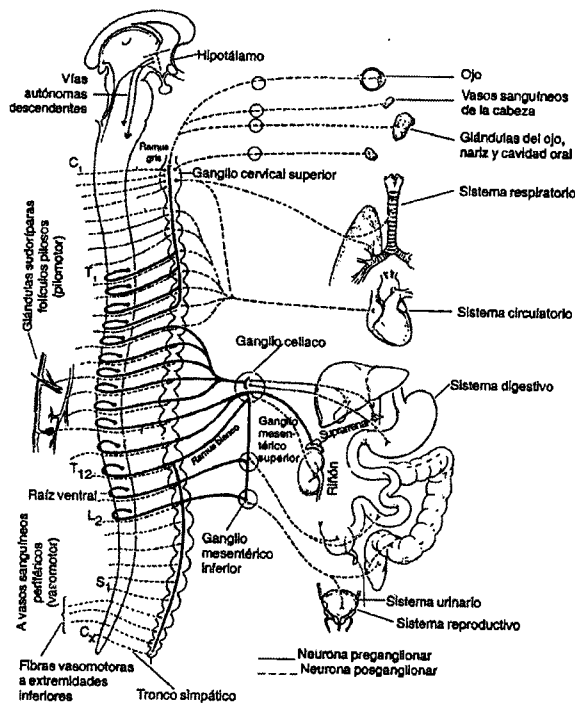


Figura 2. Sistema nervioso simpático. Órganos inervados por dicho sistema. Se muestran los cuatro tipos de neuronas por los que está compuesto (Tomado de Alcaraz, 2001).

## II.2.2. Sistema nervioso parasimpático

Así como las acciones de simpático permiten que el animal pueda enfrentarse a las situaciones de peligro poniendo en juego sus distintos recursos, lo cual ocasiona una pérdida de energía, el parasimpático está encargado de las respuestas restauradoras, de ahí sus acciones específicas y su orientación hacia condiciones que implican disminución en la entrada de estímulos externos al organismo (Fox, 2006).

El sistema parasimpático también recibe el nombre de sistema craneosacro porque sus reacciones están mediadas por dos regiones del sistema nervioso. En la región craneal, en el tallo cerebral se encuentran los núcleos que inervan regiones de la cabeza, el tórax y la parte abdominal superior. En la zona sacra constituida por los segmentos sacros tercero y cuarto de la médula espinal están las neuronas preganglionares que inervan la porción inferior abdominal y los órganos pélvicos. Encontramos en el parasimpático una organización caracterizada por cuatro grupos neuronales. El primer grupo está formado por las neuronas hipotalámicas que regulan la actividad de las células nerviosas tanto del segundo grupo, es decir, las neuronas mesencefálicas y romboencefálicas de la porción craneal, como de las neuronas del tercer grupo, o sea, las neuronas autónomas espinales de la zona sacra. Entonces, el segundo grupo lo constituyen las neuronas del tallo cerebral de la porción craneal y el tercer grupo lo integran las neuronas espinales. El último grupo está formado por las neuronas posganglionares ubicadas en las cercanías de los órganos efectores (Figura 3) (Kandel y col., 2000).



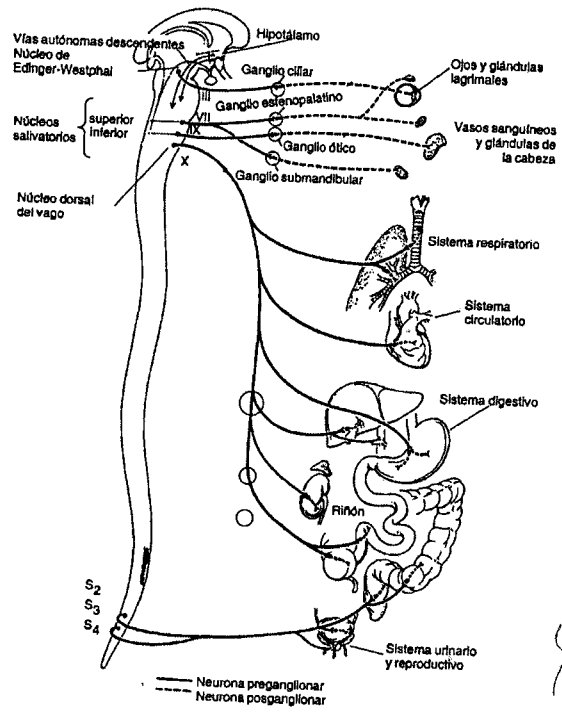


Figura 3. Sistema parasimpático. Se muestran los órganos inervados por dicho sistema (Tomado de Alcaraz, 2001).

Las reacciones del parasimpático son opuestas a las del simpático. Las acciones del parasimpático son: constricción pupilar, combamiento del cristalino para la visión cercana, secreción acuosa de las glándulas salivales, enlentecimiento del corazón, constricción de los bronquios, aumento en la motilidad intestinal y relajación esfinteriana (Cuadro 1). Es importante mencionar que en el bulbo raquídeo se localiza el núcleo dorsal del vago, punto de origen de las fibras del mismo nombre, también conocido como X par craneal, cuyos impulsos actúan sobre corazón, pulmones, esófago, estomago, hígado, páncreas, intestino delgado y colon ascendente y transversal, así como sobre el músculo liso de la vasculatura de esa región para producir disminuciones en la presión sanguínea (Moffet y col., 1993).

Cuadro 1. Acción simpática y parasimpática sobre las diferentes estructuras corporales (tomado de Ramos, 2001).

ESTRUCTURA	EFEECTO DE LA ACTIVACIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO SIMPÁTICO	EFEECTO DE LA ACTIVACIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO PARASIMPÁTICO
CORAZÓN	Aumento de la frecuencia cardíaca	Disminución de la frecuencia cardíaca
	Aumento de la fuerza de contracción	
ARTERIAS	Aumento de la velocidad de conducción	Disminución de la velocidad de conducción
	Contracción	
VENAS	Dilatación	Dilatación
	Contracción	
APARATO RESPIRATORIO	Dilatación	Broncoconstricción
	Broncodilatación	
TRACTO GASTROINTESTINAL	Disminución de la motilidad	Aumento de secreción de glándulas bronquiales Aumento de la motilidad
	Contracción de esfínteres	
HÍGADO	Glucogenólisis	Relajación de esfínteres
	Gluconeogénesis	
RIÑÓN	Lipólisis	síntesis de glucógeno
	Secreción de renina	
VEJIGA	Relajación del detrusor	Contracción del detrusor Relajación de esfínteres
	Contracción de esfínteres	
ÚTERO	Contracción de útero gestante	
	Relajación de útero gestante y no gestante	
OJOS	Contracción pupilar	Contracción pupilar Aumento de secreción de glándulas lagrimales
	Dilatación pupilar	
GLÁNDULAS SUBMANDIBULAR Y PARÓTIDA	Secreción salival viscosa	Secreción salival acuosa
PIEL	Activación de glándulas sudoríparas en palmas de las manos Activación de folículos pilosos (piloerección)	

## II.3. Farmacología del sistema simpático o adrenérgico

### II.3.1. La neurona adrenérgica

Las neuronas adrenérgicas liberan adrenalina o noradrenalina como neurotransmisor. Estas neuronas se encuentran en el sistema nervioso central (SNC) y también en el sistema nervioso simpático, en donde tienen función de enlace entre los ganglios y los órganos efectores. Las neuronas adrenérgicas y los receptores presinápticos o postsinápticos en las neuronas o los órganos efectores son sitios de acción de los fármacos adrenérgicos (Mycek y col., 2000).

### II.3.2. Neurotransmisión en neuronas adrenérgicas

La neurotransmisión en neuronas adrenérgicas se lleva a cabo en estructuras múltiples en forma de cuentas que se llaman varicosidades: el proceso se efectúa en cinco pasos: síntesis, almacenamiento, liberación y unión de noradrenalina a receptores, seguidos por la remoción del neurotransmisor de la hendidura sináptica (Figura 4) (Mycek y col., 2000)

#### II.3.2.1. Síntesis de neurotransmisores adrenérgicos (catecolaminas)

El grupo catecol es un anillo bencénico con dos oxhidrilos sustituyentes. Las catecolaminas son derivadas del grupo catecol con un grupo amino en la cadena lateral. Los neurotransmisores adrenérgicos son catecolaminas. Del proceso biosintético debemos destacar los siguientes hechos fundamentales: La tirosina es un aminoácido normal que se encuentra en cualquier dieta y es captada de la circulación, por un proceso de transporte activo, hacia el interior axonal. La tirosina también puede ser sintetizada en el organismo a partir de la fenilalanina, transformación captada por una enzima llamada hidroxilasa de fenilalanina. La hidroxilación de la tirosina da origen a las catecolaminas (Cooper y col., 2003).

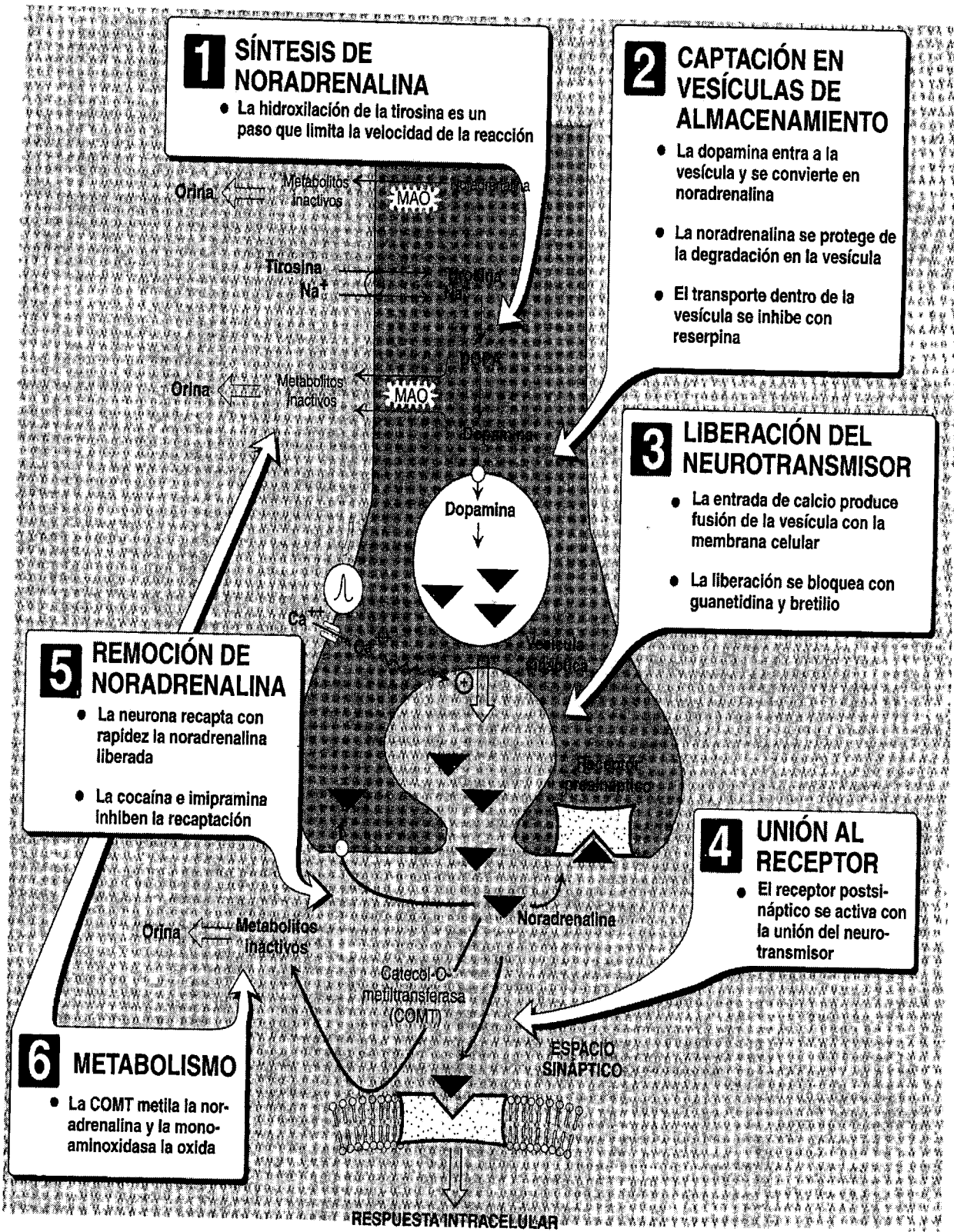


Figura 4. La neurona adrenérgica. Síntesis y liberación de noradrenalina (Tomado de Mycek y col., 2000).

Siguiendo el proceso biosintético, un acarreador ligado a  $\text{Na}^+$  transporta la tirosina hacia el axoplasma de la neurona adrenérgica, en donde se hidroxila en dihidroxifenilalanina (DOPA) por la hidroxilasa de tirosina. Este es el paso que limita la velocidad de la formación de noradrenalina. La DOPA se descarboxila y forma entonces dopamina (Cooper y col., 2003).

La dopamina se desplaza hacia el interior de vesículas sinápticas por un sistema de transportación de aminas que también participa en la recaptación de noradrenalina preformada. La hidroxilasa  $\beta$  de dopamina hidroxila la dopamina para formar noradrenalina. Las vesículas sinápticas contienen dopamina o noradrenalina, además de la hidroxilasa  $\beta$  y el trifosfato de adenosina. No toda la noradrenalina se almacena en vesículas; se puede encontrar cierta cantidad como reserva citoplásmica y puede desplazarse. En la médula suprarrenal la noradrenalina es metilada por la enzima fenetilamina N- metiltransferasa para formar adrenalina; ambas sustancias se almacenan en las células cromafines. Tras la estimulación, la médula suprarrenal libera alrededor de 85% de adrenalina y 15% de noradrenalina (Figura 5) (Mycek y col., 2000).

#### II.3.2.2. Liberación del neurotransmisor

La liberación del neurotransmisor se produce por despolarización de la terminal neuronal ocasionada por la llegada del potencial de acción. La despolarización ocasiona un incremento de la permeabilidad axonal de la membrana al calcio elevando en forma transitoria la concentración axoplasmática del mismo. El cambio de la permeabilidad de la membrana axonal consiste en un cambio conformacional en las proteínas de la membrana permitiendo la apertura de canales de calcio y el ingreso del mismo favorecido por el gradiente electroquímico. Ello permite el adosamiento de la membrana vesicular con la axonal, seguido a la fusión de ambas y la producción de una solución de

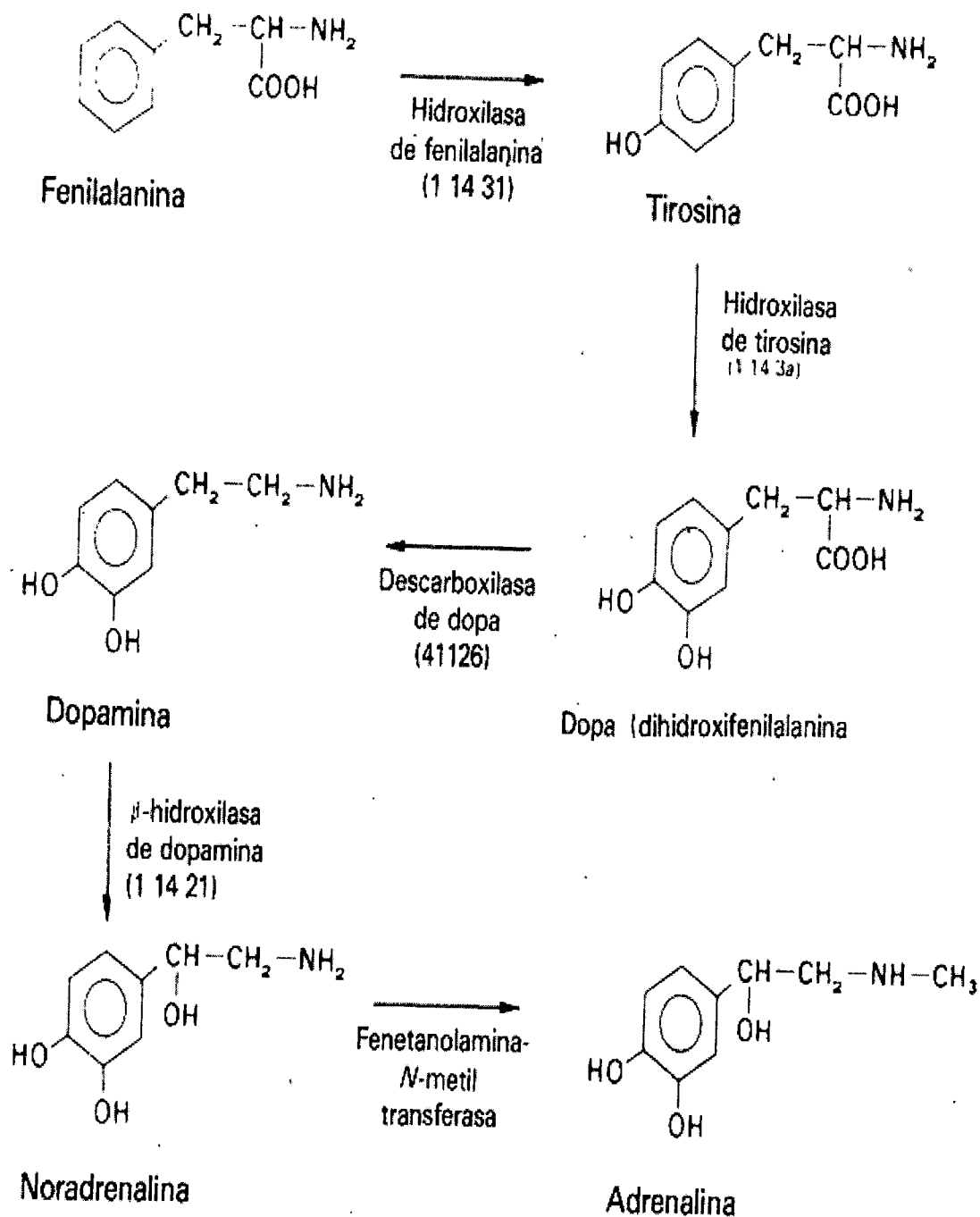


Figura 5. Vía principal en la síntesis de catecolaminas (Tomado de Bowman y rand, 1984).

continuidad transitoria entre el compartimiento vesicular y el espacio intersináptico produciéndose la exocitosis (Rang y col., 2004).

### II.3.2.3. Interacción del neurotransmisor con los receptores adrenérgicos

El neurotransmisor liberado de las vesículas sinápticas se difunde en el espacio sináptico y se une a receptores postsinápticos en el órgano efector o receptores presinápticos en la terminal nerviosa. Una vez que los receptores postsinápticos de membrana reconocen al neurotransmisor, se desencadena una cascada de sucesos celulares que tiene como resultado la formación de segundos mensajeros intracelulares que actúan como enlaces (transductores) para la comunicación entre el neurotransmisor y la acción que se genera en la célula efectora. Los receptores adrenérgicos emplean el sistema de segundo mensajero conocido como monofosfato cíclico de adenosina (AMPc) y el ciclo de fosfoinosítidos para convertir la señal en una acción celular (Rang y col., 2004). Por otra parte, la activación de receptores presinápticos produce la inhibición de la adenilciclase y disminución del AMPc intracelular a través de proteínas G inhibitorias (Gi) ligadas a trifosfato de guanosina (GTP) a través de la subunidad  $\alpha_i$  de la misma, provocando una inhibición por un mecanismo de autorregulación de la liberación de noradrenalina en la terminal adrenérgica (Malgor y Valsecia, 2001).

### II.3.2.4. Mecanismos de señalización intracelular

Los receptores adrenérgicos emplean mecanismos de señalización intracelular conocidos como segundos mensajeros, que son moléculas que forman parte de la cascada de sucesos que traduce la unión del neurotransmisor en una respuesta celular. Los dos conocidos de manera más amplia son el sistema de la adenilato ciclase y el sistema de IP<sub>3</sub>/DAG. La activación de receptores que siguen la vía de la adenilato ciclase (AC), activan a dicha enzima estimulando la síntesis de AMPc. El AMPc activa reacciones catalíticas estimulando proteínas cinasas A y

proteínfosfatasas que agregan o ligan grupos fosfatos o sustratos claves (enzimas y otras macromoléculas) responsables finales de los efectos fisiológicos y farmacológicos (Figura 6) (Rang y col., 2004).

Por otra parte, la activación de receptores que siguen la vía  $IP_3/DAG$  comienzan activando una fosfolipasa C (FC) a través de la intervención de proteínas G. A través de la acción enzimática de la fosfolipasa C el fosfatidilinositol bifosfato ( $IP_2$ ) de la membrana origina 1,4,5, inositol trifosfato ( $IP_3$ ) y diacilglicerol (DAG) que actúan como segundos mensajeros. El  $IP_3$  moviliza calcio del retículo endoplásmico incrementando la concentración de calcio intracelular, fundamental en el desarrollo de funciones celulares dependientes de éste y en la activación de calmodulinas. El DAG activa proteínas cinasas C, las cuales promueven fosforilaciones de otras proteínas específicas, enzimas, proteínas ligadas a canales iónicos, etc. que actúan en la secreción celular, contracción de músculos lisos, secreción de hormonas, autacoides, etc. (Cooper y Col., 2003).

## II.4. Receptores adrenérgicos

### II.4.1. Clasificación

Los receptores adrenérgicos se pueden clasificar en los siguientes grupos:

- a) Receptores adrenérgicos alfa:  $\alpha_1$  postsinápticos,  $\alpha_2$  pre y postsinápticos.
- b) Receptores adrenérgicos beta:  $\beta_1$  cardiosselectivos,  $\beta_2$  broncodilatadores,  $\beta_3$  lipolíticos y  $\beta_2$  presinápticos.
- c) Receptores dopaminérgicos: en general son postsinápticos, aunque pueden localizarse presinápticamente en algunas regiones. Las dos grandes familias de receptores dopaminérgicos (D1 y D2) están localizados en sistema nervioso central y a nivel periférico (Malgor y Valsecia, 2001).



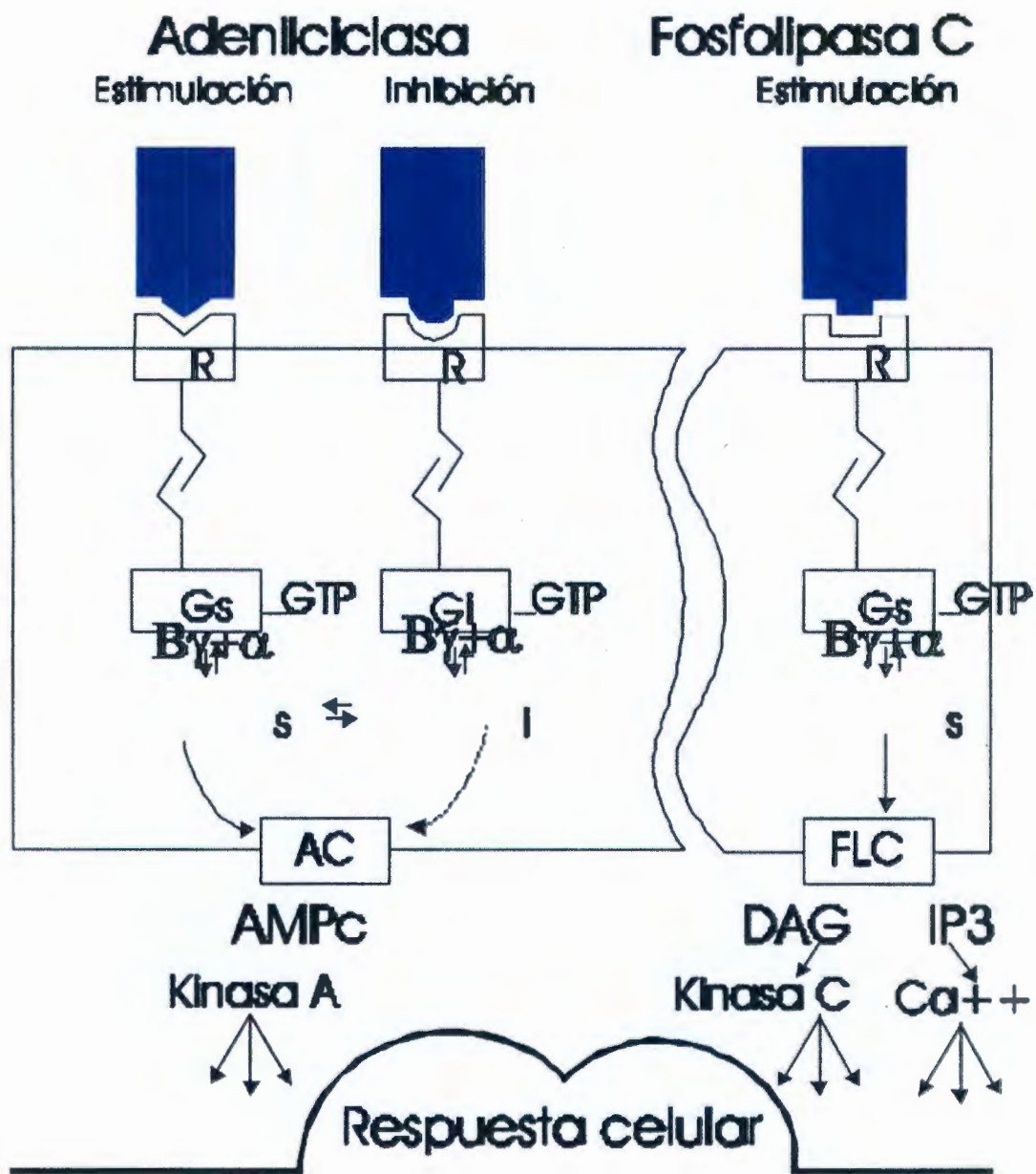


Figura 6. Mecanismos de señalización de receptores adrenérgicos (Tomado de Malgor y Valsecia, 2001).

## II.4.2. Receptores adrenérgicos $\alpha$

### II.4.2.1. Receptores $\alpha_1$

La activación del receptor  $\alpha_1$  provoca una redistribución e incremento del calcio citosólico lo cual desencadena los efectos fisiológicos y farmacológicos. La formación del complejo agonista-receptor inicia los siguientes mecanismos: la estimulación del receptor  $\alpha_1$  por un agonista provoca la activación de la FC (fosfodiesterasa de membrana) a través de la intervención de proteínas G. Por la acción enzimática de la FC el  $IP_2$  origina  $IP_3$  el cual moviliza calcio del retículo endoplásmico incrementando la concentración de calcio intracelular, y DAG que va a activar proteínas cinasas C, tal y como se describió con anterioridad en mecanismos de señalización intracelular (Rang y col., 2004).

Los receptores  $\alpha_1$  son activados por: noradrenalina, metaraminol, fenilefrina, nafazolina, xilometazolina y Son bloqueados por prazosin y por el antagonista selectivo Benoxathian hydrochloride (Hussain y Marshall, 2000; Honner y Docherty, 1999; Barbieri y col., 1998; Melchiorre y col., 1984). Los principales efectos farmacológicos son la contracción de músculos lisos, vasoconstricción (hipertensión), estímulo de algunas secreciones exocrinas (salivales, sudoríparas), disminución de la secreción de insulina y jugo pancreático (Cuadro 2) (Malgor y Valsecia, 2001).

### II.4.2.2. Receptores $\alpha_2$

La activación de receptores  $\alpha_2$  presinápticos produce la inhibición de la AC y disminución del AMPc intracelular a través de proteínas  $G_i$  ligadas a GTP a través de la subunidad  $\alpha_i$  de la misma (Bowman y rand, 1984).

Son activados por: clonidina, alfa-metil-noradrenalina, alfa-metil-DOPA, guanabenz, guanfacine y por el agonista selectivo B-HT 933 dihydrochloride

(Browne y Macrae, 1994; Nielsen y col., 1992). Son bloqueados por yohimbina y por el antagonista selectivo SKF 86466 (Tolentino-Silva y col., 2000). Los principales efectos farmacológicos son la inhibición por un mecanismo de autorregulación de la liberación de noradrenalina en la terminal adrenergica, provocando un efecto simpaticolítico principalmente central. Los agentes activadores de receptores  $\alpha_2$  actúan principalmente en el núcleo del tracto solitario, originando un reflejo simpaticolítico inhibitorio del centro vasomotor (hipotensión, bradicardia). También existen receptores  $\alpha_2$  postsinápticos, demostrados principalmente en arteriolas, venas y bronquios, con funciones similares a los  $\alpha_1$ . Estos receptores  $\alpha_2$  están acoplados a canales de calcio operados por cambios de voltaje (Malgor y Valsecia, 2001).

#### II.4.3. Receptores adrenérgicos $\beta$

##### II.4.3.1. Receptores $\beta_1$

Su localización es postsináptica y están en corazón principalmente. La activación del complejo agonista receptor activa la enzima AC, estimulando la formación de AMPc. El AMPc activa reacciones catalíticas estimulando proteínas cinasas y proteínofosfatasas que agregan o ligan grupos fosfatos o sustratos claves (enzimas y otras macromoléculas) responsables finales de los efectos fisiofarmacológicos (Florez, 2000).

Son activados por la dobutamina y bloqueados principalmente por el Atenolol, metoprolol y acebutolol. Sus principales efectos son cardiacos (Cuadro 2). Producen estímulos de las propiedades fundamentales del corazón aumentando la frecuencia cardiaca y la contractilidad y velocidad de conducción en aurículas y ventrículos (Malgor y Valsecia, 2001).

#### II.4.3.2. Receptores $\beta_2$

Son postsinápticos. Se localizan en músculo liso bronquial, en arteriolas, músculo liso de venas, estomago e intestino (motilidad y tono), útero, células beta de los islotes de Langerhans, hepatocitos y aparato yuxtaglomerular. El mecanismo de acción es idéntico al de los receptores  $\beta_1$  (Florez, 2000).

Son activados por salbutamol, orciprenalina, terbutalina, fenoterol, clenbuterol, procaterol (broncodilatadores); isoxuprina, ritodrina (útero-inhibidores principalmente) y son bloqueados por butoxamina y por el antagonista selectivo ICI 118,551 hydrochloryde (Bilski y col., 1983; Bristol y col., 1989; Booze y col., 1989). Sus principales efectos son broncodilatación (antiasmáticos), vasodilatación (hipotensión), incremento de liberación de insulina, estímulo a la glucogenólisis y gluconeogénesis y relajación del músculo uterino (Cuadro 2) (Malgor y Valsecia, 2001).

#### II.4.3.3. Receptores $\beta_3$

Son postsinápticos. Ubicados principalmente en adipositos. Recientemente descritos, incrementan la lipólisis por activación de una lipasa específica e incrementan la lipemia en numerosas especies (Cuadro 2). El mecanismo de acción es idéntico a los  $\beta_1$ . Estimulan AC y aumentan AMPc (Florez, 2000). Estudios recientes han demostrado la presencia de receptores  $\beta_3$  en el corazón y se ha observado que la aplicación de agonistas selectivos de los receptores  $\beta_3$  provocan efectos inotrópicos negativos en el sistema cardiovascular (Moniotte, 2005).

Los receptores  $\beta_3$  son activados principalmente por el agonista selectivo BRL 37344 sal de sodio (Tsuji y Bray, 1998; Oriowo y col., 1996; Moniotte, 2005) y son bloqueados por el antagonista selectivo SR 59230 sal de oxalato (Brown y Summers, 2001).

Cuadro 2. Tipo y ubicación de los receptores adrenérgicos. Respuesta de los órganos efectores a su estimulación (Tomado de Malgor y Valsecia, 2001).

ORGANO EFECTOR	ESTRUCTURA	TIPO RECEPTOR ADRENÉRGICO	RESPUESTA A ACTIVACION DE RECEPTORES
CORAZÓN	Nódulo S-A	$\beta_1$	Aumento frecuencia y vel. Conducción
	Aurículas	$\beta_1$	Aum. contracción y velocidad conducción
	Nod. A-V, haz de Hiss y S. Purkinge	$\beta_1$	Aumenta automatismo y vel. conduc.
	Ventriculos	$\beta_1$	Aumenta automatismo y vel. conduc. Y contracción
MÚSCULO LISO ARTERIOLAS	Músculo radial del iris	$\alpha$	Contracción (Midriasis)
	Músculo ciliar	$\beta_2$	Relajación/ visión cercana
MÚSCULO LISO: BRONQUIOS	A.cerebrales	$\alpha_1$	Vasoconstricción
	Piel y mucosas	$\alpha_1$ y $\alpha_2$	
VENAS	Gland. salivales	$\alpha_1$ y $\alpha_2$	Contracción Relajación
	Coronarias	$\alpha_1$ y $\alpha_2$ $\beta_2$	
MÚSCULO LISO: BRONQUIOS	Renales	$\alpha_1$ y $\alpha_2$ $\beta_1$ y $\beta_2$	Vasoconstricción Dilatación Relajación Broncodilatación
	Bronquios	$\beta_2$	
APARATO DIGESTIVO	Venas	$\alpha_1$ $\beta_2$	Ambos relajación Relajación Relajación Contracción
	Motilidad y tono Estomago e intest.	$\alpha_1$ y $\alpha_2$ $\beta_2$	
	Vesícula	$\beta_2$	
	Esfínteres	$\alpha_1$	
VEJIGA	Detrusor	$\beta_2$	Relajación
	Trigono y esfínter	$\alpha_1$	Contracción
PIEL	Uréteres motilidad/tono	$\alpha_1$	Aumento
	Piel, musc. pilomotores	$\alpha_1$	Contracción
UTERO	Útero	$\alpha_1$ $\beta_2$	Contracción Relajación
BAZO	Cápsula esplénica	$\alpha_1$ $\beta_2$	Contracción Relajación
MÚSCULO ESQUELÉTICO		$\beta_2$	- contractilidad - glucogenólisis - captación de $K^+$

ORGANO EFECTOR	ESTRUCTURA	TIPO RECEPTOR	RESPUESTA A ACTIVACION DE RECEPTORES
SECRECIONES EXOCRINAS- ENDOCRINAS	Glándulas sudoríparas	$\alpha_1$	Secreción localizada
	Páncreas: Acinos Células beta de islotes de Langerhans	$\alpha$ $\alpha_2$ $\beta_2$	Disminuye secr. Jugo Aumenta secr. Insulina Aumenta secr. insulina
	Glándulas salivales	$\alpha_2$ $\beta$	Secreción de agua y $K^+$ Secreción amilasa
	Aparato yuxtglomerular: secreción renina	$\alpha_2$ $\beta_1$	Disminuye aumenta
EFECTOS METABÓLICOS	Glándula pineal	$\beta$	Aumenta Síntesis de melatonina
	Hepatocitos: Potasio, glucogenólisis, gluconeogénesis	$\beta_2$	Aum. glucogenólisis y gluconeogénesis. Hiperglucemia e hiperpotasemia
	Adipositos	$\beta_3$	Aum. lipólisis
	Acido láctico muscular	$\beta$	Hiperlactacidemia
ÓRGANOS SEXUALES MASCULINOS	Testículos Conductos Vesícula seminal	$\alpha$	Eyaculación
S.N.C.	Núcleo caudado, putamen, sustancia nigra, núcleo amigdalino medial, corteza frontal parietal	D 1	Estimulación de la actividad locomotora extrapiramidal
ORGANOS PERIFÉRICOS	Núcleos de la base: estriado, s. nigra, globus pallidus, hipotálamo, hipófisis posterior	D 2	Inhibición actividad locomotora extrapiramidal, secr. prolactina
	Músculo liso arteriolar, riñón, corazón (coronarias), mesentéricas y cerebrales	D 1	Vasodilatación e incremento de los flujos sanguíneos
	Terminales neuronales presinápticas	D 2	Autorregulación negativa de liberación de catecolaminas

## II.5. Estudios sobre la Actividad Oscilatoria de la Musculatura Bronquial (AOMB)

La fisiología de la musculatura bronquial ha sido poco estudiada por las dificultades técnicas que ello representa. Se sabe que tiene cambios de tono, que el vago es broncoconstrictor y el simpático broncodilatador. Se sabe también que reacciona a sustancias tales como la histamina, lo que tiene importancia en clínica al establecerse la relación entre esta sustancia y muchos casos de asma bronquial (García – Ramos, 1992).

La posibilidad de que, aparte de la actividad tónica, el músculo liso de los bronquios exhiba actividad fásica surgió de observaciones en el músculo liso aislado (Kirkpatrick, 1980). En el hombre y en otros mamíferos, la presencia de actividad fásica no había sido reconocida, ya que modifica muy poco los registros de respiración, registros que habitualmente son poco sensibles, con mucha inercia y con alto poder de amortiguación que depende principalmente de la gran masa de aire que se mueve en el sistema pulmón-aparato de medida. Ocasionalmente aparecen en los trazos pequeñas variaciones que han sido atribuidas a la turbulencia que tiene lugar en las irregularidades normales del calibre de las vías aéreas, o por la presencia de moco en éstas, o por factores de error en el sistema de registro (García – Ramos, 1992).

En registros de presión o de flujo respiratorios, tomados sin filtrar las frecuencias altas, tanto en el hombre como en gatos y perros anestesiados, se observaron pequeñas oscilaciones. Al eliminar los posibles factores de interferencia, se determina que estas oscilaciones representan actividad relativamente rápida de la musculatura bronquial (García-Ramos, 1990). En voluntarios conscientes, esta actividad de reposo aumenta durante una inspiración profunda, la maniobra de Valsava, un breve periodo de apnea voluntaria, después de fumar un cigarrillo, por estimulación cutánea por frío o por estimulación dolorosa, y durante reacciones emocionales provocadas (García-Ramos y Silva, 1990).

En los animales de experimentación, la actividad oscilatoria también se observó con el tórax abierto y bajo respiración artificial. Se registro también, en forma aumentada, en condiciones que exageran la actividad simpática, como la oclusión de las carótidas, la estimulación dolorosa, la asfixia y la doble vagotomía. La actividad se reduce por la doble estelectomía (García-Ramos, 1990)

Así pues, las ondas oscilatorias de la musculatura bronquial no parecen estar bajo el control del sistema parasimpático ya que éstas persisten aún después de efectuar vagotomías bilaterales. Las oscilaciones son altamente reducidas después de hacer una simpaticotomía. Mayor evidencia de que el control simpático es importante, deriva de las observaciones indicadoras de que hay un mejoramiento de la actividad bronquial en todas las condiciones en donde la actividad simpática es incrementada (García – Ramos, 1990).

El control simpático de este fenómeno no parece ser el único. En gatos y ratas anestesiados se realizaron observaciones sobre las oscilaciones que aparecen en los registros de presión o de flujo respiratorio. Es confirmada la idea de que estas oscilaciones son de la misma naturaleza que las respuestas producidas por la aplicación de estímulos eléctricos al vago, ya que hay interferencia de unas con otras. Es también confirmada la hipótesis de que este tipo de actividad representa un fenómeno diferente de los conocidos cambios de tono. El posible papel determinante de algunos factores mecánicos, como estímulos de tal actividad, fue estudiado por la aplicación de pulsos de presión positiva o negativa al extremo abierto de la cánula traqueal, y por el análisis de otras condiciones en las que hay distensión o colapsos pulmonares bruscos. Con todo esto se llegó a la conclusión de que el músculo liso de las vías aéreas responde activamente al estiramiento. La presión y la velocidad del aire que pasa por los bronquios parecen ser factores importantes, tanto como la longitud o tensión iniciales de las fibras musculares. Estos resultados sugieren que en condiciones normales la estimulación mecánica interviene junto con la influencia facilitadora del sistema simpático (García – Ramos, 1991).



Por otra parte, la actividad oscilatoria que aparece en los registros de presión traqueal o de flujo aéreo expresa los movimientos de la musculatura bronquial. Una contracción sincrónica fásica de las fibras musculares se traduce por salida brusca de aire. Es lo que ocurre por la aplicación de un estímulo eléctrico al cabo periférico del vago en animal experimental. La relación fásica, también de un grupo importante de fibras, produce entrada de aire y se produce al inicio de la fase inspiratoria la que, como se sabe, va acompañada de una descarga de las motoneuronas espinales del simpático. Reacciones semejantes se producen por la activación refleja por los estímulos al cabo central del vago, y por las situaciones diversas en que hay aumento de la actividad simpática (García – Ramos, 1992).

En condiciones normales, las oscilaciones irregulares se deberían a la activación, dispersa en el tiempo y espacio, de las diferentes fibras musculares en los distintos territorios de las vías aéreas. Este estado podría conservar a estas vías aéreas inferiores en una condición de reducción media de su calibre, la que podría ser considerada como de contracción tónica con irregularidades (García – Ramos, 1992). Esto no significa que se esté negando la capacidad del músculo liso de los bronquios para mostrar contracciones y relajaciones tónicas que han sido reconocidas por la mayoría de los autores (Cabezas y Col., 1971). La actividad fásica se superpondría sobre la actividad tónica. El hecho de que la actividad oscilatoria descrita persistiera después de la denervación del pulmón se debería a que los plexos neuronales periféricos seguirían controlando la función de la musculatura lisa de los bronquios (Coburn, 1987), del mismo modo que lo hacen en el intestino los plexos correspondientes. Existe también la posibilidad de la intervención de la respuesta miogénica, contracción de las fibras musculares lisas por el estiramiento, que es una característica de muchos otros tipos de músculo liso (García – Ramos, 1992).

En lo que se refiere a la posible significación fisiológica de la actividad fásica de la musculatura bronquial (aún de la actividad tónica es considerada como dudosa)

(Stephens y Hoppin., 1986), es razonable suponer que los cambios bruscos de calibre de los bronquios a que da lugar contribuyan en forma favorable a la mezcla de los gases en los tubos bronquiales, lo que resultaría en una mejor ventilación de los alvéolos (García – Ramos, 1992). Ha sido reconocido el papel de los cambios en la actividad broncomotora en la regulación de la distribución de la ventilación (Crawford y col., 1987). La observación de ondas repentinas de relajación al principio de la inspiración, sugiere que el músculo liso bronquial en mamíferos tiene una función accesoria de favorecer el intercambio gaseoso en la respiración y es posible que esta función accesoria pueda ser un vestigio evolutivo (Mitchell y col., 1985).

Es indudable que la relajación fásica amplia que muchas veces ocurre al inicio de la inspiración debe tener un efecto muy favorable al permitir la entrada de una mayor cantidad de aire al pulmón de la que lo hacen por si solos los músculos inspiratorios. Las observaciones que indican mayor actividad fásica en todos aquellos casos en que la actividad simpática es mayor, concuerda con las ideas de Cannon que consideran la exageración de la actividad simpática como una reacción a las condiciones de urgencia y así contribuyen a la mejor adaptación del organismo en tales condiciones (García – Ramos, 1992)

Por otra parte, en el animal experimental es más fácil registrar la actividad oscilatoria normal de la musculatura bronquial, en razón de que la masa de aire que se mueve durante la respiración es relativamente pequeña y amortigua menos los cambios. En las condiciones de control, las oscilaciones aparecen como ondas de amplitud irregular, con frecuencia variable entre 10 y 30 por segundo y presentes casi exclusivamente durante las inspiraciones. Habitualmente, la actividad se inicia al principio de la inspiración con una onda rápida de presión negativa, que va seguida de oscilaciones menores, irregulares, durante toda la fase inspiratoria (Figura 7) (García – Ramos, 1992).

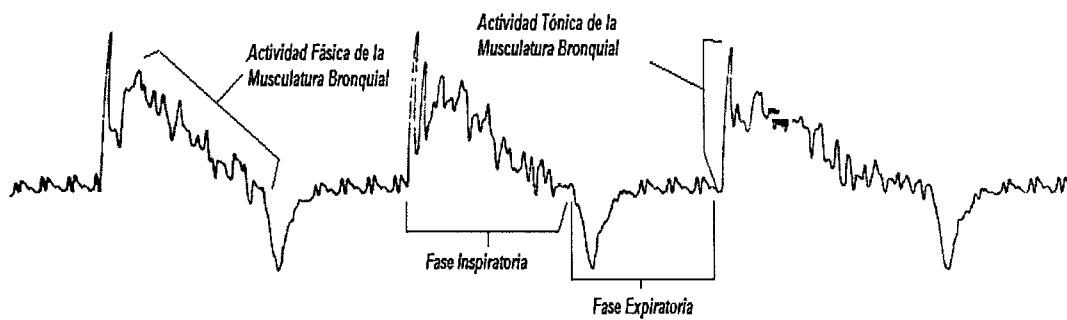


Figura 7. Oscilaciones bronquiales en un gato anestesiado, durante la respiración normal (Tomado de García – Ramos, 1992).

### **III. JUSTIFICACIÓN**

Dado que la única evidencia experimental de la modulación adrenérgica sobre la actividad oscilatoria de la musculatura bronquial (AOMB) está basada en la exclusión quirúrgica de la vía simpática o parasimpática en animal de laboratorio, mas no así en el uso de fármacos adrenérgicos, el presente proyecto pretende obtener información a cerca de la posible modulación farmacológica de las oscilaciones broncomotoras. Así mismo, se tratara de identificar los tipos de receptores que están modulando la actividad de la musculatura bronquial. Estos tipos de estudios son de gran importancia desde el punto de vista médico, ya que el conocer más a cerca de estos tipos de mecanismos, nos ayudaría a entender mejor los procesos fisiológicos de algunas patologías respiratorias y obtener fármacos más eficaces para el tratamiento de las mismas.

#### **IV. HIPOTESIS**

La AOMB es modulada farmacológicamente por receptores adrenérgicos de tipo  $\beta$  en animal experimental.

## V. OBJETIVOS

### V.1. General

- Probar diferentes dosis de fármacos que actúen sobre receptores adrenérgicos, tratando de inferir como modulan la actividad oscilatoria de la musculatura bronquial.

### V.2. Específicos

- Probar agonistas y antagonistas de receptores adrenérgicos  $\alpha$  y  $\beta$  y ver en registros poligráficos como éstos modulan la actividad respiratoria.
- Con base en los registros obtenidos se tratará de identificar los subtipos de receptores adrenérgicos que participan en la actividad oscilatoria de la musculatura bronquial.

## VI. METODOLOGÍA

### VI.1. Materiales

#### VI.1.1. Material biológico

Se utilizaron ratas machos Wistar de 11 semanas de edad (entre 350 y 450 g de peso), las cuales fueron adquiridas del bioterio del Instituto de Neurobiología de la U.N.A.M. campus Juriquilla.

#### VI.1.2. Reactivos

La epinefrina (agonista  $\alpha$  y  $\beta$ ), isoproterenol (agonista  $\beta$ ), BRL 37344 (agonista  $\beta_3$  selectivo), bromohidrato de fenoterol (agonista  $\beta_2$  selectivo), clorhidrato de dobutamina (agonista  $\beta_1$  selectivo), B-HT 933 (agonista  $\alpha_2$  selectivo), clorhidrato de fenilefrina (agonista  $\alpha_1$  selectivo), atenolol (antagonista  $\beta_1$  selectivo), ICI 118,551 (antagonista  $\beta_2$  selectivo), SR 59230A (antagonista  $\beta_3$  selectivo), SKF 86466 (antagonista  $\alpha_2$  selectivo) y clorhidrato de benoxathian (antagonista  $\alpha_1$  selectivo), fueron adquiridos de los laboratorios SIGMA-ALDRICH, gracias al apoyo otorgado por los recursos PIFI de la Licenciatura en Biología de la U.A.Q.

Se usó dimetil sulfoxido (DMSO) de la marca SIGMA, como disolvente del antagonista  $\beta_3$  BRL 37344 sal de sodio. El pentobarbital sódico, usado como anestésico general fue de la marca Sedalvet.

### VI.1.3. Equipo para registros fisiológicos (respiratorios y cardiacos)

Se utilizó un polígrafo modelo 7D, transductor de presión – volumen modelo PT5 A, cable transductor para electrocardiograma (ECG), electrodos de aguja, papel y tinta para polígrafo todo lo anterior de la marca Grass Instruments. Para el registro respiratorio se diseñó una boquilla especial que se adapta a la cánula traqueal del animal y se acopla al transductor de presión – volumen.

### VI.2. Métodos

Se prepararon soluciones de los agonistas y antagonistas adrenérgicos anteriormente mencionados en concentraciones  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$  M respectivamente, excepto para el BRL 37344 sal de sodio, el SKF 86466 y el Fenoterol bromohidrato, donde se usaron concentraciones de  $10^{-9}$  a  $10^{-3}$  M, mientras que el SR 59230A sal de oxalato se usó en concentraciones de  $10^{-9}$  a  $10^{-6}$  M, de acuerdo a lo reportado en la bibliografía. Los animales se anestesiaron con pentobarbital intraperitonealmente (23-30 mg/Kg de peso). A cada animal se le hizo una traqueotomía, aislando cuidadosamente la traquea y haciendo un pequeño corte sobre ésta para poder introducir a la cánula traqueal del animal la boquilla especial que se acopla al transductor de presión – volumen. Este último se conecta al preamplificador del polígrafo para la obtención de registros respiratorios en papel. Para obtener el registro de la frecuencia cardiaca se colocaron dos electrodos de aguja subdermicamente, conectados a la posición G1 y G2 del cable transductor que a su vez se conecta al preaplicador del polígrafo en la posición A.C. ELEC. (García – Ramos, 1990) (Figura 8).

Se trabajó con el polígrafo sin filtrar las frecuencias altas con el fin de visualizar las oscilaciones bronquiales. Para la obtención de la frecuencia cardiaca se restringió más la filtración. En ambos registros se ajustaba la sensibilidad, tomando los parámetros siguientes:



1) para la respiración el balance de voltaje se ajustó a 40 mV y la sensibilidad a 10 mV / cm. y .02 mV / cm. en los dispositivos correspondientes. El filtro de frecuencias se ajustó a (FF) 40 Khz.

2) para el electrocardiograma el balance de voltaje se ajustó en posición 0 y la sensibilidad a 0.5 mV / cm. y 10 mV / cm. en los dispositivos correspondientes. El filtro de frecuencias se ajustó a 75 Hz.



Figura 8. Rata con traqueotomía, conectada al transductor de presión – volumen, para obtener registro de la actividad bronquial. Se observan los electrodos de aguja colocados subdermicamente para registrar ECG.

Se trabajó con 36 ratas macho Wistar de 11 semanas de edad, las cuales se mantuvieron en ciclos de 12 hrs de luz y oscuridad durante todo el experimento. La dieta y el agua fueron de acceso continuo para los animales.

Para cada fármaco se usaron 3 ratas. Los fármacos se administraron de la siguiente manera: se aplicó a cada rata vía intraperitoneal el fármaco,

administrando dos mililitros de las concentraciones anteriormente mencionadas en orden de menor a mayor concentración. Para cada concentración se tomó registro en el polígrafo a los cinco y a los diez minutos a una velocidad del papel (VP) de 25 y 50 milímetros/segundo. Éste procedimiento se llevó a cabo para cada concentración del fármaco que se probó. Es importante mencionar que antes de administrar el fármaco a la rata, se tomó un tramo de registro poligráfico a manera de control.

Los registros se analizaron observando los cambios en las ondas broncomotoras para cada agonista y antagonista adrenérgico administrado. Posteriormente se escanearon los registros de mayor relevancia y se hicieron las discusiones pertinentes para cada caso. De los mejores registros se hicieron mediciones tanto de la actividad tónica (amplitud de la primer onda en centímetros) como de la fásica (oscilaciones posteriores a la tónica donde se midió el número de éstas por segundo) y se graficó.

El tipo de experimentos que se realizan con ésta metodología, nos proporciona información de tipo cualitativo donde se aprecia un efecto similar en todos los animales sometidos a la acción del fármaco correspondiente, por lo que los registros mostrados a lo largo del apartado de resultados son los que mejor ilustran dicho efecto.

## VII. RESULTADOS

VII.1. Prueba de agonistas no selectivos para receptores adrenérgicos  $\alpha$  y  $\beta$  en registros poligráficos usando diferentes concentraciones farmacológicas.

### VII.1.1. Agonista para receptores de tipo $\alpha$ y $\beta$

Se administró intraperitonealmente diferentes concentraciones de epinefrina. Se observó un incremento en la frecuencia cardiaca (FCA) conforme aumentamos la concentración del fármaco. Se apreció que existieron modificaciones en la AOMB conforme el fármaco aumentaba de concentración (Figura 9). La actividad tónica (onda rápida de presión negativa observada al inicio de la inspiración, que nos indica relajación muscular y por lo tanto broncodilatación, ver figura 7) comenzó a aumentar en concentraciones de  $10^{-5}$  M, alcanzando un gran aumento en concentraciones de  $10^{-3}$  M. Conforme se incrementó la actividad tónica, la fásica (oscilaciones menores, descendentes e irregulares que aparecen durante la fase inspiratoria, precedidas siempre por la onda de presión negativa correspondiente a la actividad tónica. Ver figura 7) disminuyó en cuanto a número de oscilaciones, tal y como se muestra en los registros de la figura 9. Cuando se aumentó la actividad tónica en las concentraciones en el rango de  $10^{-6}$  a  $10^{-3}$  M, la actividad fásica se vio reducida en cuanto a número de oscilaciones, pero estas conservaron su estructura en forma descendente e irregular similar a lo que ocurre en registros de respiración normal.

### VII.1.2. Agonista para receptores de tipo $\beta$

Se administró vía intraperitoneal distintas concentraciones de Isoproterenol. Pudimos observar un incremento en la FCA conforme se fue aumentando la concentración del fármaco. La AOMB se modificó drásticamente. La actividad tónica comenzó a incrementar en concentraciones de  $10^{-6}$  M, alcanzando un gran aumento en concentraciones de  $10^{-3}$  M. Conforme se iba incrementando la

actividad tónica, la fásica iba disminuyendo en cuanto a número de oscilaciones, tal y como se muestra en los registros de la figura 10. Cuando se aumenta la actividad tónica en las concentraciones en el rango de  $10^{-6}$  a  $10^{-3}$  M, la actividad fásica se vio reducida en número de oscilaciones, pero estas conservaron su estructura en forma descendente e irregular similar a lo que ocurre en registros de respiración normal.

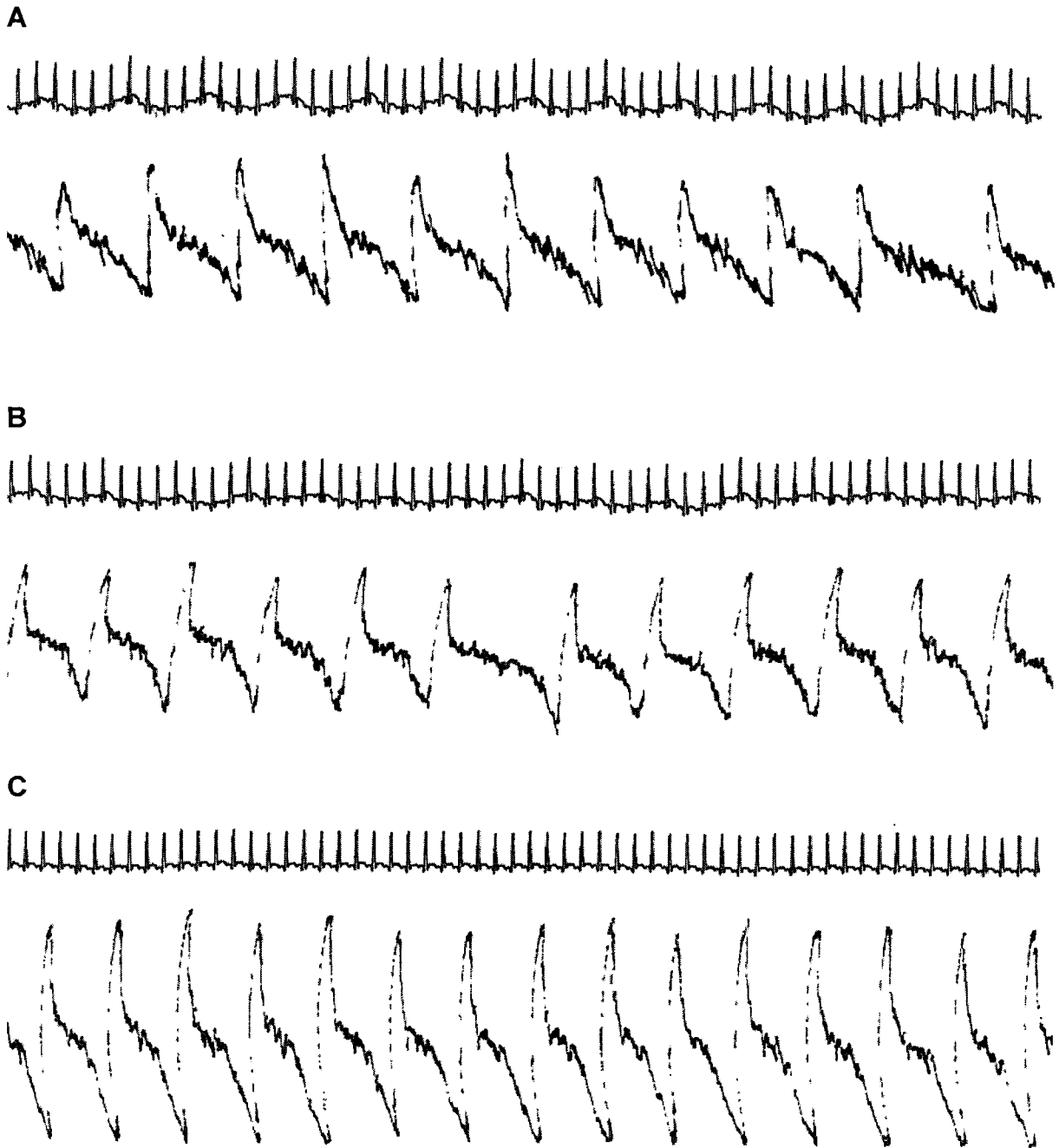


Figura 9. Registros donde se muestra la acción que ejerce la epinefrina sobre la AOMB y la FCA (VP de 25 mm/seg; FF de 40 Khz para AOMB y 75 Hz para FCA).

A. Registro control (sin aplicación del fármaco).

B. Registro al aplicar la concentración mas baja ( $10^{-6}$  M).

C. Registro al aplicar la concentración más alta ( $10^{-3}$  M).

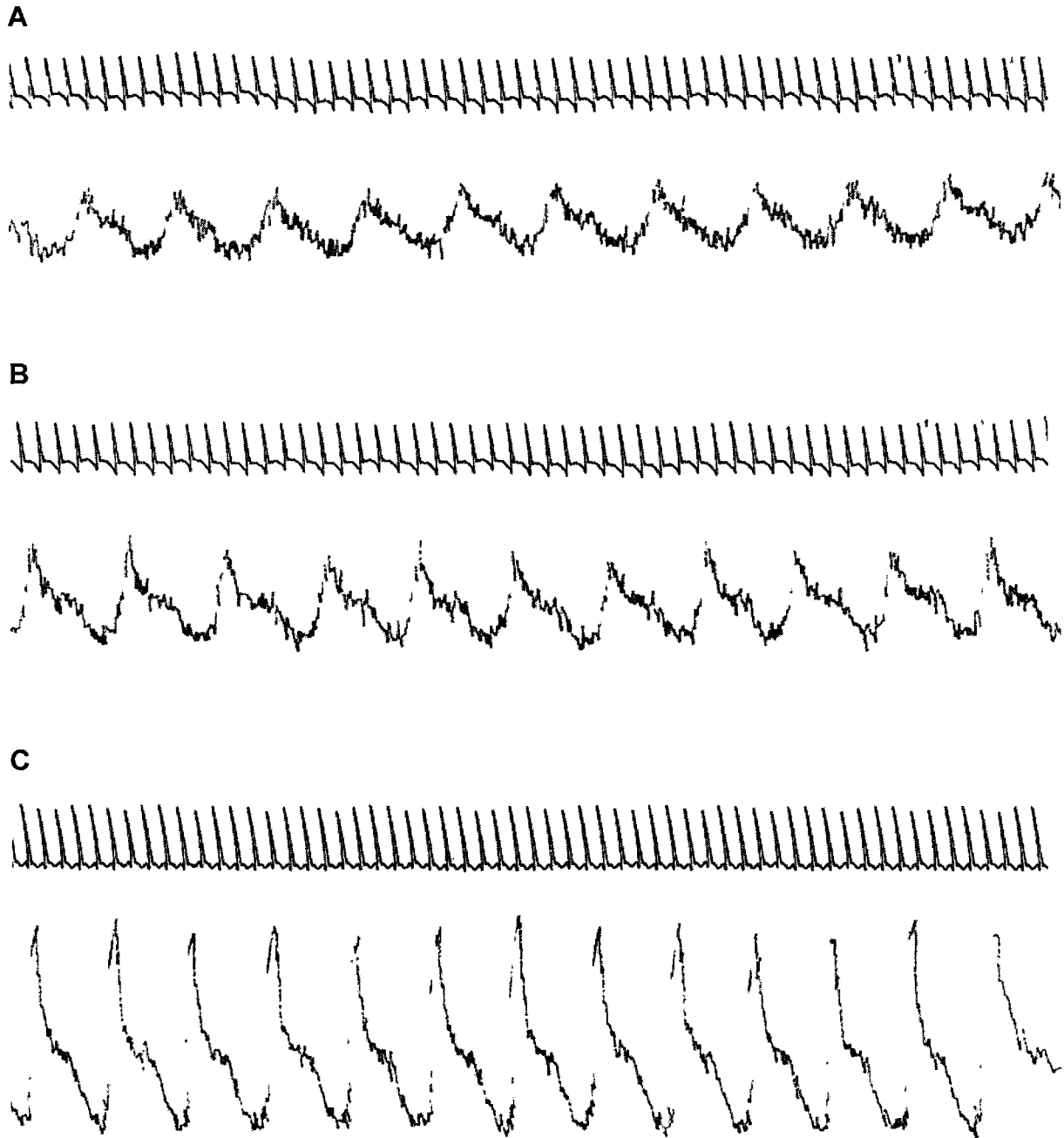


Figura 10. Registros donde se muestra la acción que ejerce el isoproterenol sobre la AOMB y la FCA (VP, 25 mm/seg; FF, 40 KHz para AOMB y 75 Hz para FCA).

A. Registro control (sin aplicación del fármaco).

B. Registro al aplicar la concentración mas baja ( $10^{-6}$  M).

C. Registro al aplicar la concentración más alta ( $10^{-3}$  M).

VII.2. Prueba de agonistas y antagonistas selectivos para receptores adrenérgicos  $\alpha$  y  $\beta$  en registros poligráficos usando diferentes concentraciones farmacológicas.

VII.2.1. Agonistas y antagonistas selectivos para receptores adrenérgicos de tipo  $\alpha$

VII.2.1.1. Agonista de tipo  $\alpha_1$

Se administró vía intraperitoneal diferentes concentraciones de fenilefrina. Pudimos observar una disminución de la FCA al aplicar concentraciones de entre  $10^{-4}$  a  $10^{-3}$  M, con respecto a los registros control. En concentraciones en el rango de  $10^{-6}$  a  $10^{-5}$  M se mantiene la FCA similar a la de los registros control. La AOMB pareció mantenerse en todas las concentraciones similar a la observada en el control, solo con un leve aumento de la actividad tónica en las concentraciones de  $10^{-6}$  a  $10^{-4}$  M, la cual regresó a su estado basal al aplicar la concentración de  $10^{-3}$  M (Figura 21). La actividad fásica se observó muy levemente disminuida en cuanto a número de oscilaciones con respecto a los registros control en las concentraciones en el rango de  $10^{-6}$  a  $10^{-4}$  M, la cual tendió a regresar a su estado basal al aplicar la concentración de  $10^{-3}$  M (Figura 22). Es importante observar algunas cuestiones cinéticas en la AOMB. Cuando se aumentó la actividad tónica en las concentraciones de entre  $10^{-6}$  a  $10^{-4}$  M, la actividad fásica se vio reducida en número de oscilaciones, pero éstas conservaron su estructura en forma descendente e irregular tal y como ocurre en registros de respiración normal (Figura 11).

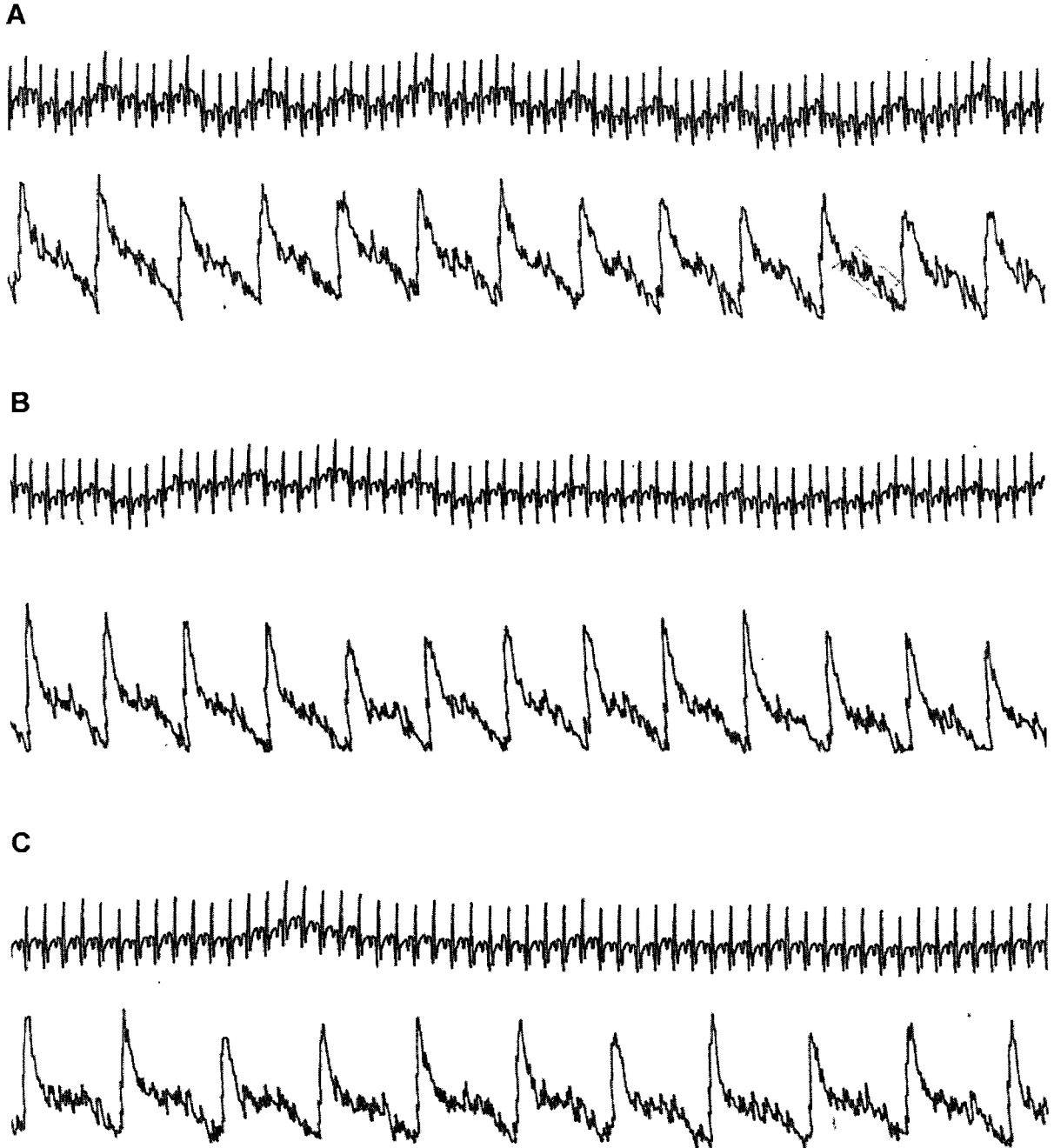


Figura 11. Registros donde se muestra la acción que ejerce la fenilefrina sobre la FCA y la AOMB (VP, 25 mm/seg; FF, 40 Khz para AOMB y 75 Hz para FCA).

- A. Registro control (sin aplicación del fármaco).
- B. Registro al aplicar la concentración mas baja ( $10^{-6}$  M).
- C. Registro al aplicar la concentración más alta ( $10^{-3}$  M).



### VII.2.1.2. Antagonista de tipo $\alpha_1$

Se administró clorhidrato de benoxathian en concentraciones de entre  $10^{-6}$  a  $10^{-3}$  M. Observamos una clara caída de la FCA al aplicar concentraciones en el rango de  $10^{-6}$  a  $10^{-3}$  M. La AOMB se vio muy modificada conforme se fue aumentando la concentración del fármaco. La actividad tónica se mantuvo con respecto al control en concentraciones de  $10^{-6}$  a  $10^{-4}$  M y ocurrió un leve pero notorio aumento en la concentración más alta (Figura 23). En cuanto a la actividad fásica, las ondas se vieron drásticamente disminuidas conforme se fue aumentando la concentración, hasta el grado de desaparecer por completo al administrar la concentración más alta (Figura 24). Si observamos la cinética de la AOMB, la estructura descendente e irregular de las oscilaciones que caracteriza a la actividad fásica se va perdiendo conforme se incrementa la concentración del fármaco, al grado de perderse por completo (Figura 12).

### VII.2.1.3. Agonista de tipo $\alpha_2$

Se administró B-HT 933 en concentraciones en el rango de  $10^{-6}$  a  $10^{-3}$  M. Con este fármaco se pudo observar en los registros una disminución de la FCA al aplicar concentraciones de  $10^{-6}$  a  $10^{-3}$  M. En cuanto a la AOMB se mostró modificada. La actividad tónica se mantuvo con respecto al control en concentraciones de  $10^{-6}$  a  $10^{-5}$  M y tuvo un leve incremento en concentraciones en el rango de  $10^{-4}$  a  $10^{-3}$  M (Figura 21). La actividad fásica disminuyó notablemente en concentraciones de  $10^{-5}$  a  $10^{-4}$  M, perdiéndose en su totalidad cuando se aplicó la concentración mas alta (Figura 22), tal y como se muestra en los registros de la figura 13. Se observó una cinética similar a la ocasionada por el benoxathian clorhidrato sobre la AOMB.

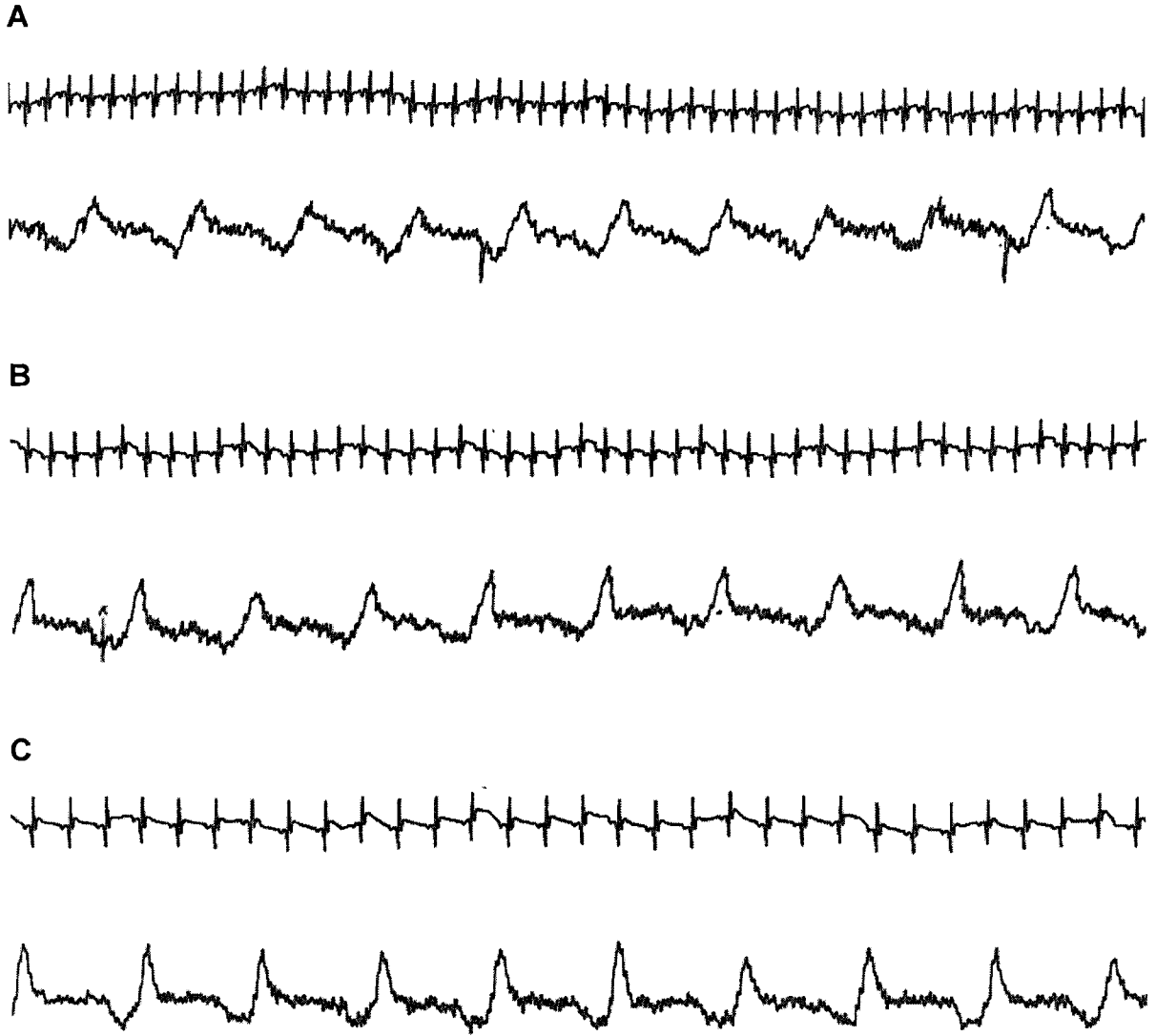


Figura 12. Registros donde se muestra la caída de la FCA y la drástica disminución de la actividad fásica al administrar dosis crecientes de clorhidrato de benoxathian llegando a desaparecer por completo al aplicar la concentración más alta. (VP, 25 mm/seg; FF, 40 Khz para AOMB y 75 Hz para FCA).

- A. Registro control (sin aplicación del fármaco).
- B. Registro al aplicar la concentración mas baja ( $10^{-6}$  M).
- C. Registro al aplicar la concentración más alta ( $10^{-3}$  M.)

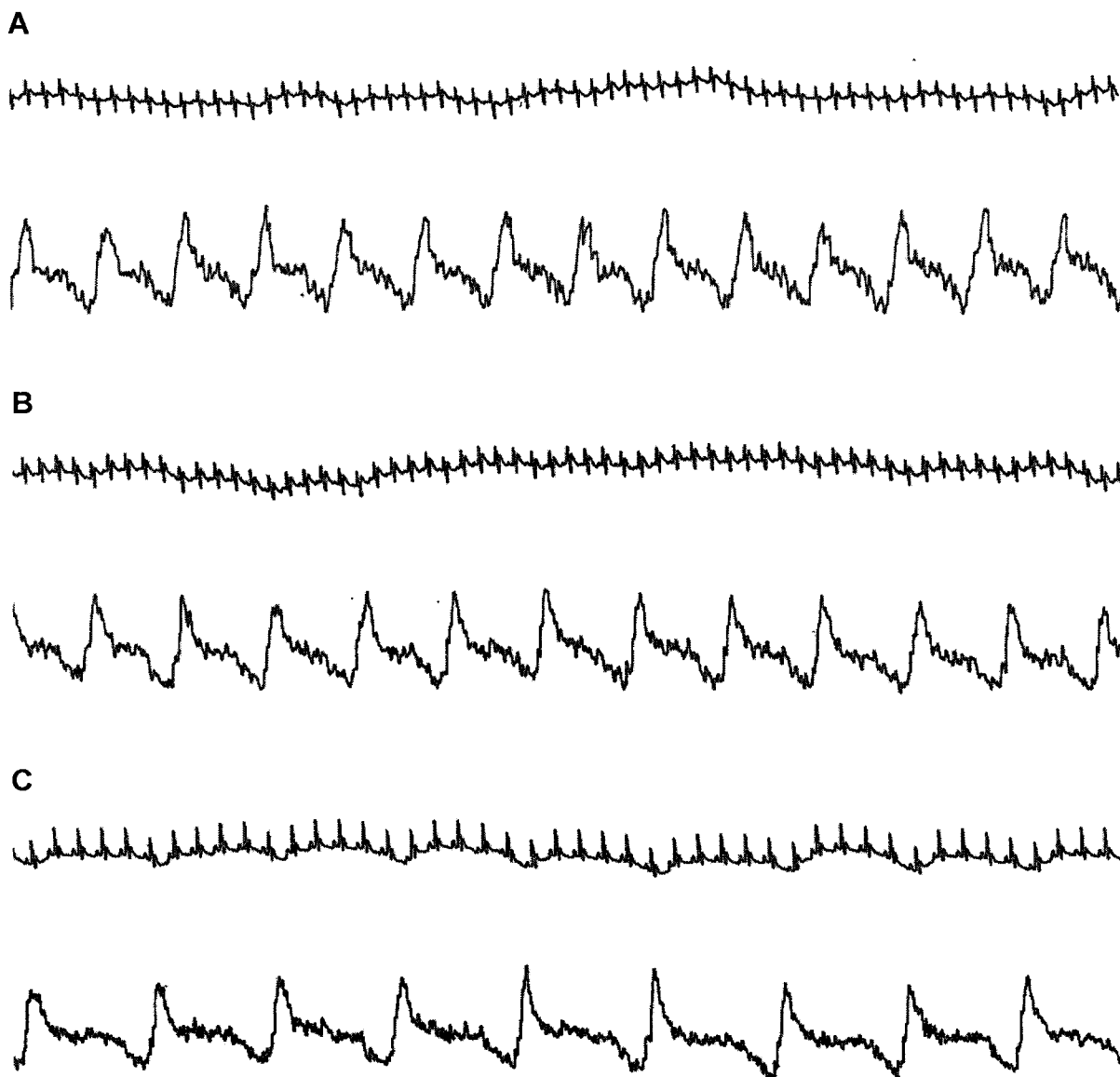


Figura 13. Registros donde se muestra la capacidad que tiene el B-HT 933 de modificar notablemente la AOMB al grado de abolir la actividad fásica a concentraciones mayores (VP, 25 mm/seg; FF, 40 Khz para AOMB y 75 Hz para FCA).

A. Registro control (sin aplicación del fármaco).

B. Registro al aplicar la concentración mas baja ( $10^{-6}$  M).

C. Registro al aplicar la concentración más alta ( $10^{-3}$  M).

#### VII.2.1.4. Antagonista de tipo $\alpha_2$

Con la administración del fármaco SKF 86466 en concentraciones de entre  $10^{-9}$  a  $10^{-3}$  M, pudimos observar en los registros una FCA constante con respecto al control a concentraciones de  $10^{-9}$  a  $10^{-4}$  M, viéndose un ligero aumento cuando se aplicó la concentración mas alta. La AOMB se vio modificada. A concentraciones de entre  $10^{-9}$  a  $10^{-3}$  M se observó un incremento en la actividad tónica (Figura 23). Conforme aumentaba la actividad tónica, la fásica (Figura 24) se notaba disminuida en cuanto a número de oscilaciones por segundo, como se observa en los registros de la figura 14. La cinética de la AOMB se asemeja a la observada y ya descrita anteriormente con la fenilefrina.

#### VII.2.2. Agonistas y antagonistas selectivos para receptores adrenérgicos de tipo $\beta$ .

##### VII.2.2.1. Agonista de tipo $\beta_1$

Se administró clorhidrato de dobutamina en concentraciones de  $10^{-6}$  a  $10^{-3}$  M. En las concentraciones en el rango de  $10^{-6}$  a  $10^{-5}$  M se obtuvo una baja en la FCA con respecto a la observada en los registros control. Al usar concentraciones mayores (de  $10^{-4}$  a  $10^{-3}$  M) comenzó a incrementarse la FCA, de tal manera que después de que se aplicó la concentración de  $10^{-3}$  M, la FCA sobrepasaba la cantidad de latidos por minuto con respecto a los registros control. En cuanto a la AOMB también se vió modificada. La actividad tónica se vió muy aumentada con respecto al control en concentraciones de  $10^{-6}$  a  $10^{-4}$  M (Figura 21). Conforme aumentaba la tónica a dichas concentraciones, la actividad fásica se vió disminuida en cuanto a número de oscilaciones por segundo (Figura 22). Al aplicar la concentración de  $10^{-3}$  M, las actividades tónica y fásica regresaron al estado observado en los registros control. La cinética de la AOMB se observó similar a la de la fenilefrina y del fármaco anterior (Figura 15).

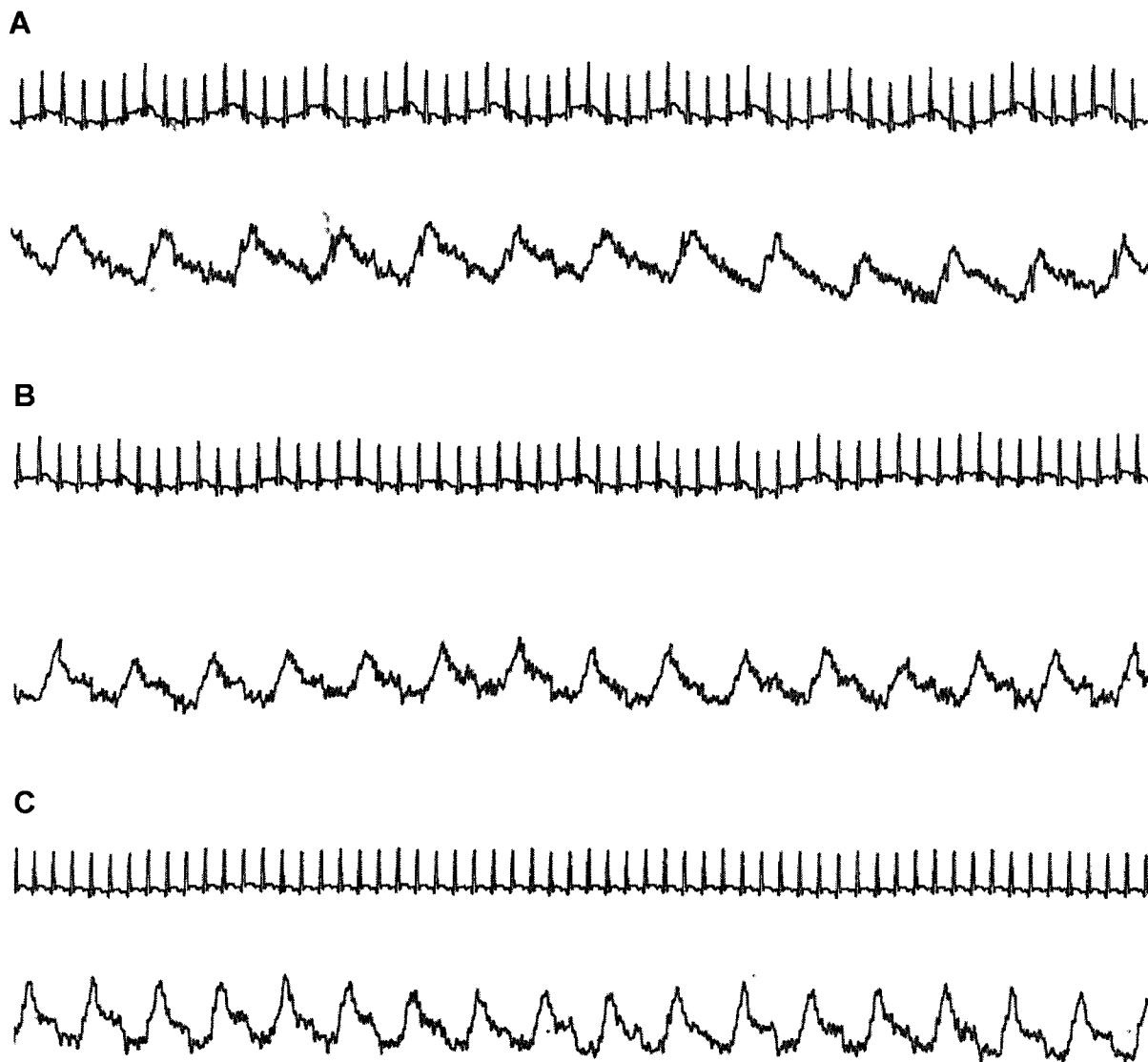


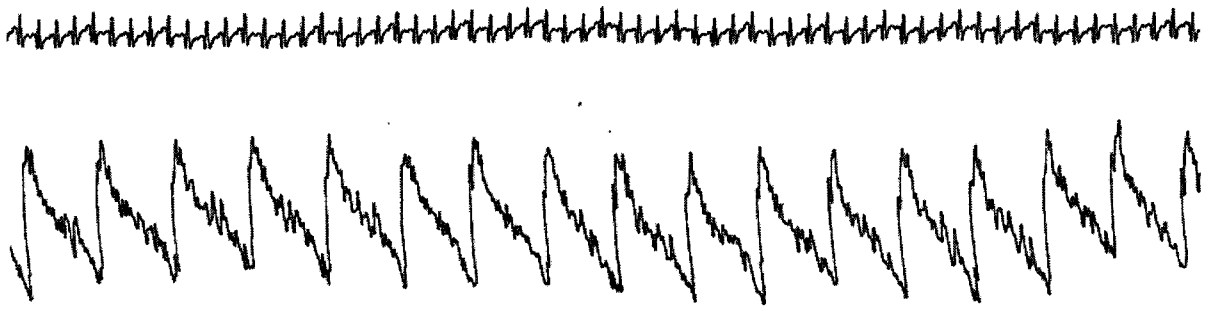
Figura 14. Registros donde se muestra la capacidad del SKF 86466 para modificar la actividad tónica y fásica de la musculatura bronquial (VP, 25 mm/seg; FF, 40 Khz para AOMB y 75 Hz para FCA).

A. Registro control (sin aplicación del fármaco).

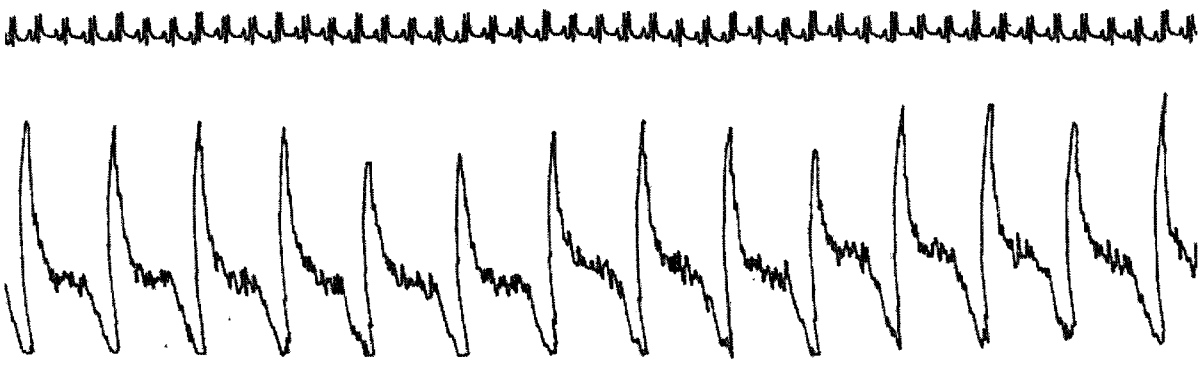
B. Registro al aplicar la concentración mas baja ( $10^{-9}$  M).

C. Registro al aplicar la concentración más alta ( $10^{-3}$  M).

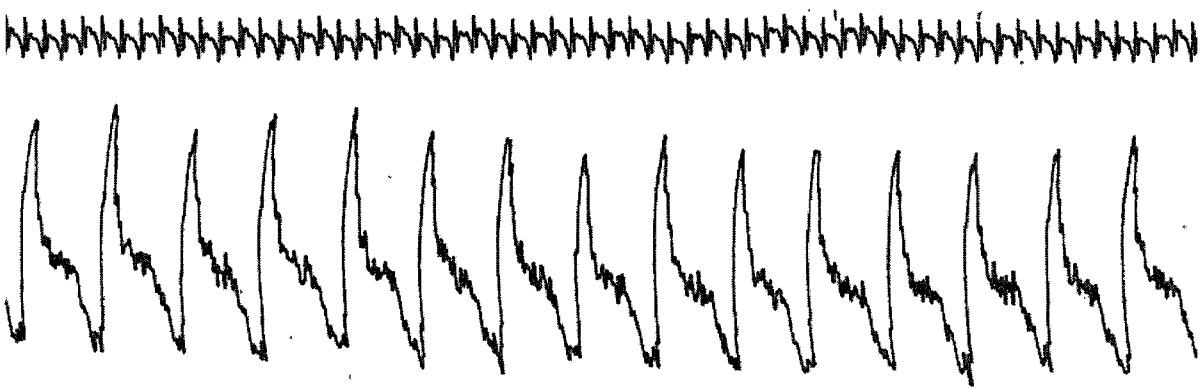
A



B



C



D

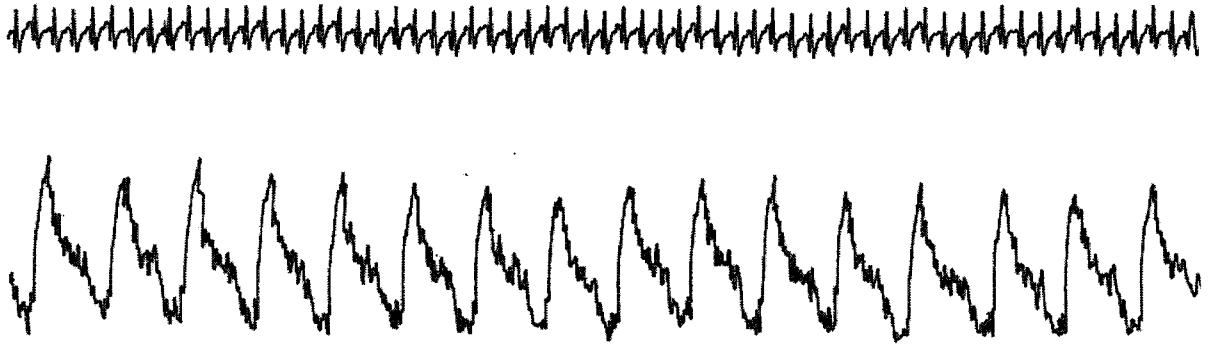


Figura 15. Registros donde se muestra la acción que ejerce la dobutamina sobre la FCA y las actividades tónica y fásica de la musculatura bronquial (VP, 25 mm/seg; FF, 40 Khz para AOMB y 75 Hz para FCA).

- A. Registro control (sin aplicación del fármaco).
- B. Registro al aplicar la concentración mas baja ( $10^{-6}$  M).
- C. Registro al aplicar la concentración  $10^{-4}$  M.
- D. Registro al aplicar la concentración más alta ( $10^{-3}$  M).

#### VII.2.2.2. Antagonista de tipo $\beta_1$

Se administró atenolol en concentraciones de entre  $10^{-6}$  a  $10^{-3}$  M. En concentraciones de  $10^{-5}$  a  $10^{-3}$  M se obtuvo una drástica baja en la FCA con respecto a la observada en los registros control, al grado de ocasionar en concentraciones más altas ( $10^{-3}$  M) una reducción de casi la mitad de latidos por segundo. La AOMB también se vió modificada. A concentraciones de entre  $10^{-5}$  a  $10^{-3}$  M se observó un incremento moderado en la actividad tónica (Figura 23). En cuanto a la actividad fásica (Figura 24), se apreció una notable baja en el número de oscilaciones a concentraciones de  $10^{-5}$  M, perdiéndose por completo dicha actividad a concentraciones de  $10^{-4}$  a  $10^{-3}$  M, tal como se muestra en los registros de la figura 16. Cabe mencionar que a concentraciones de  $10^{-6}$  M la FCA se mantuvo igual que en los registros control, así como la AOMB, solo con una muy leve reducción de las ondas fásicas. La cinética de la AOMB se observó similar a la producida por el benoxathian y el BHT 933.

#### VII.2.2.3. Agonista de tipo $\beta_2$

Se administró bromohidrato de fenoterol en concentraciones de entre  $10^{-9}$  a  $10^{-3}$  M. A concentraciones de  $10^{-9}$  a  $10^{-5}$  M se observó la misma FCA de los registros control; ocurrió una alza en concentraciones  $10^{-4}$  –  $10^{-3}$  M. La AOMB se modificó drásticamente. La actividad tónica comenzó a incrementar en concentraciones de  $10^{-9}$  M, alcanzando un gran aumento en concentraciones de  $10^{-3}$  M (Figura 21). Conforme se iba incrementando la actividad tónica, la fásica (Figura 22) iba disminuyendo en cuanto a número de oscilaciones, tal y como se muestra en los registros de la figura 17. Cuando se aumenta la actividad tónica en las concentraciones de  $10^{-9}$  a  $10^{-3}$  M, la actividad fásica se vió reducida en número de oscilaciones, pero estas conservaron su estructura en forma descendente e irregular similar a lo que ocurre en registros de respiración normal y en registros donde se aplicó dobutamina, fenilefrina y SKF 86466.



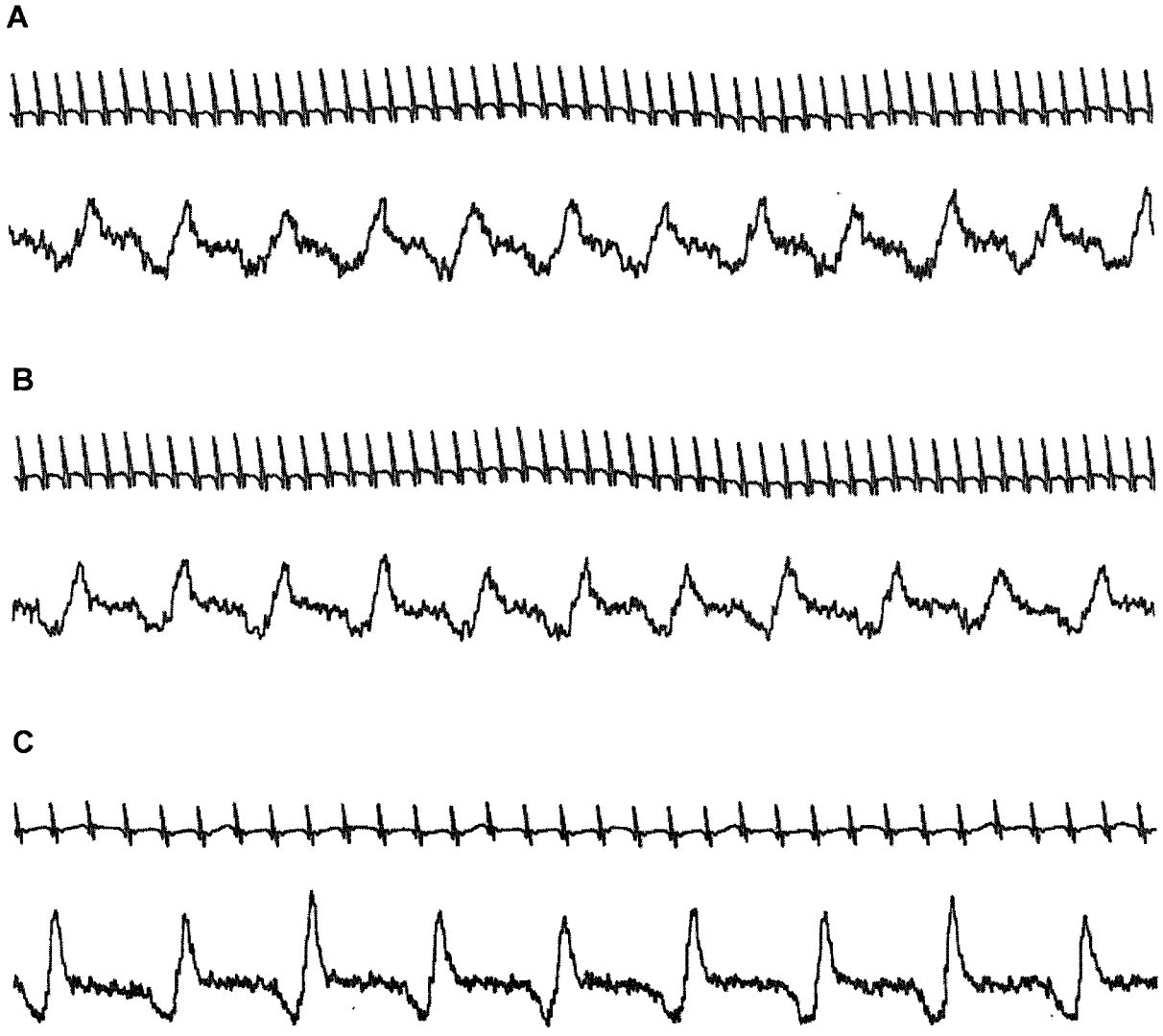


Figura 16. Registros donde se muestra la acción del atenolol sobre la FCA y las actividades tónica y fásica de la musculatura bronquial (VP, 25 mm/seg; FF, 40 Khz para AOMB y 75 Hz para FCA).

- A. Registro control (sin aplicación del fármaco).
- B. Registro al aplicar la concentración mas baja ( $10^{-6}$  M).
- C. Registro al aplicar la concentración más alta ( $10^{-3}$  M).

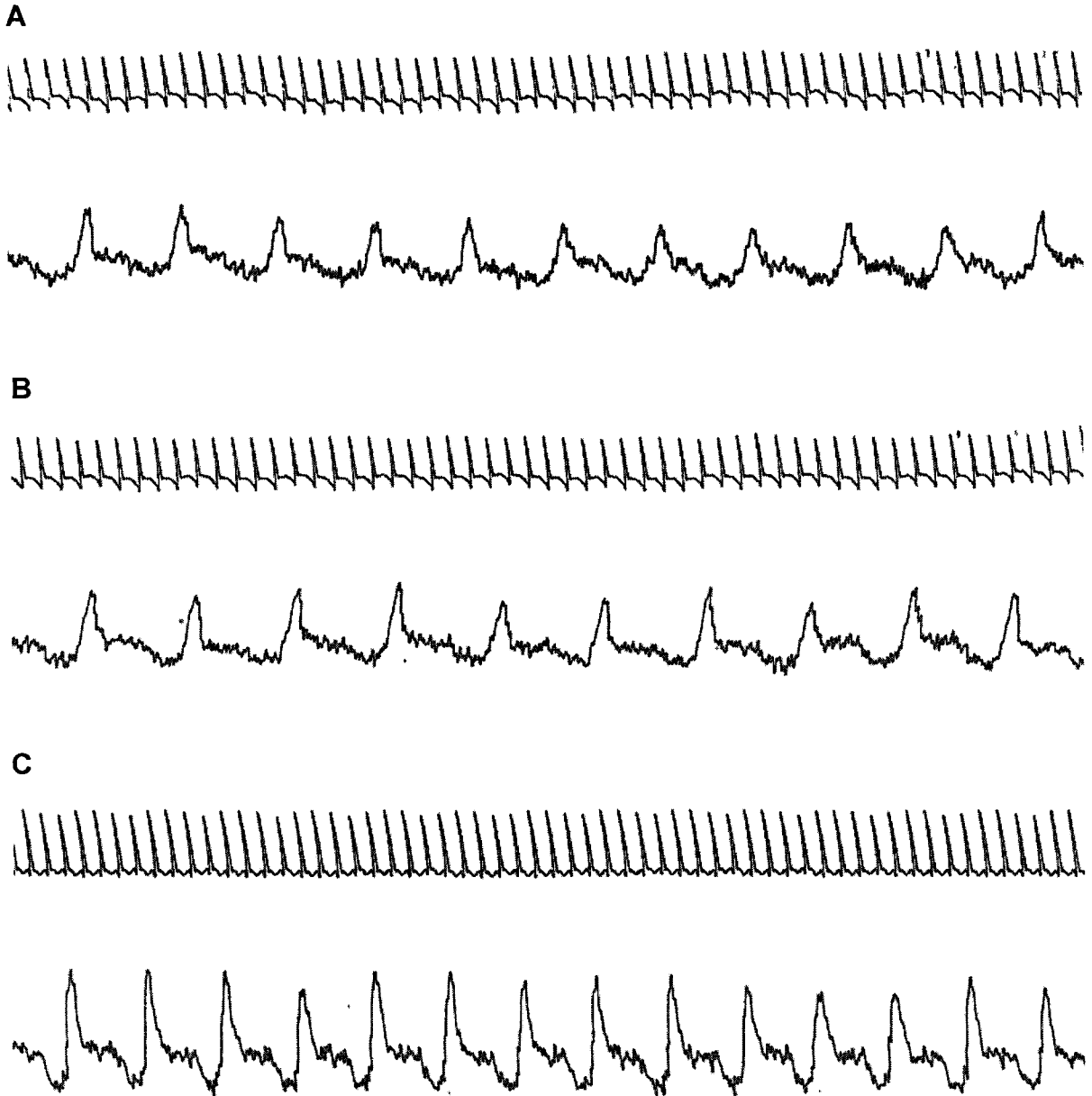


Figura 17. Registros donde se muestra el efecto provocado por el fenoterol sobre las actividades tónica y fásica de la musculatura bronquial y la FCA (VP, 25 mm/seg; FF, 40 Khz para AOMB y 75 Hz para FCA).

- A. Registro control (sin aplicación del fármaco).
- B. Registro al aplicar la concentración mas baja ( $10^{-9}$  M).
- C. Registro al aplicar la concentración más alta ( $10^{-3}$  M).

#### VII.2.2.4. Antagonista de tipo $\beta_2$

Se administró ICI 118,551 en concentraciones de entre  $10^{-6}$  a  $10^{-3}$  M. Se pudo observar una disminución de la FCA en concentraciones de  $10^{-5}$  a  $10^{-3}$  M. A concentraciones de  $10^{-6}$  M se observó una FCA similar a los registros control. La AOMB se vió modificada, especialmente la actividad fásica (Figura 24). A concentraciones de  $10^{-5}$  a  $10^{-3}$  M se mostró un ligero aumento de la actividad tónica con respecto a los registros control (Figura 23). La actividad fásica se vió drásticamente disminuida en concentraciones de  $10^{-6}$  a  $10^{-5}$  M, perdiéndose por completo en concentraciones de  $10^{-4}$  a  $10^{-3}$  M. La cinética de la AOMB se observó parecida a la del atenolol, benoxathian y el BHT 933 (Figura 18).

#### VII.2.2.5. Agonista de tipo $\beta_3$

Se administró BRL 37344 en concentraciones en el rango de  $10^{-9}$  a  $10^{-3}$  M. La FCA se vio notablemente disminuida en concentraciones de  $10^{-9}$  a  $10^{-3}$  M con respecto a los registros control. La AOMB se vio modificada, en especial la actividad fásica, donde se observó disminuida a concentraciones de  $10^{-9}$  a  $10^{-5}$  M y perdida en su totalidad en concentraciones de  $10^{-4}$  a  $10^{-3}$  M (Figura 22). La actividad tónica también presentó cambios notables (Figura 21), aumentando ésta conforme se iba incrementando la concentración del fármaco (de  $10^{-9}$  a  $10^{-3}$  M). La cinética de la AOMB se observó similar a la del atenolol, benoxathian, BHT 933 e ICI 118,551, todos ellos descritos en la literatura por presentar capacidad broncoconstrictora (Figura 19).

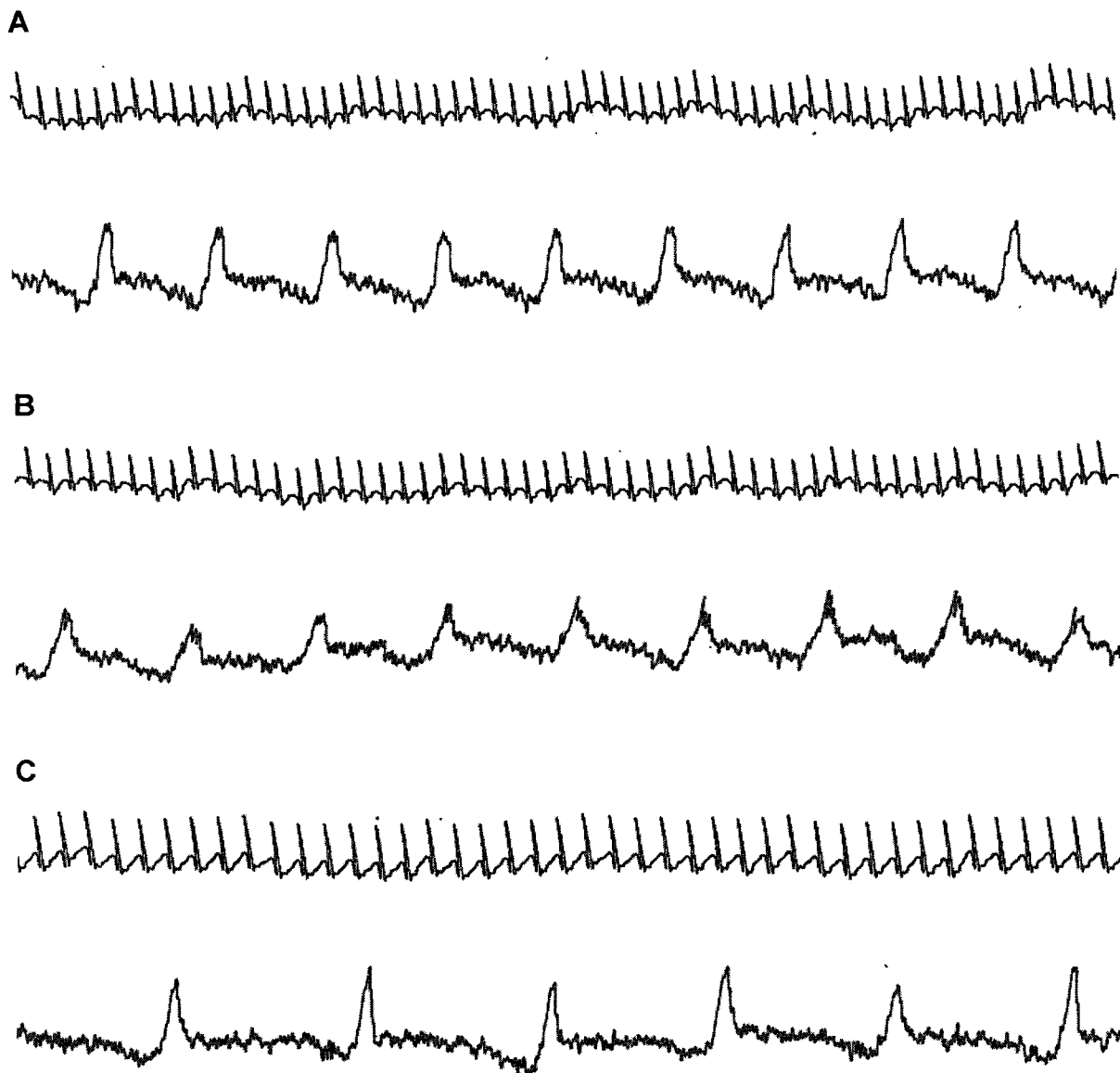


Figura 18. Registros donde se muestra el efecto provocado por el ICI 118,551, principalmente sobre la actividad fásica de la musculatura bronquial y la FCA (VP, 25 mm/seg; FF, 40 Khz para AOMB y 75 Hz para FCA).

A. Registro control (sin aplicación del fármaco).

B. Registro al aplicar la concentración mas baja ( $10^{-6}$  M).

C. Registro al aplicar la concentración más alta ( $10^{-3}$  M).

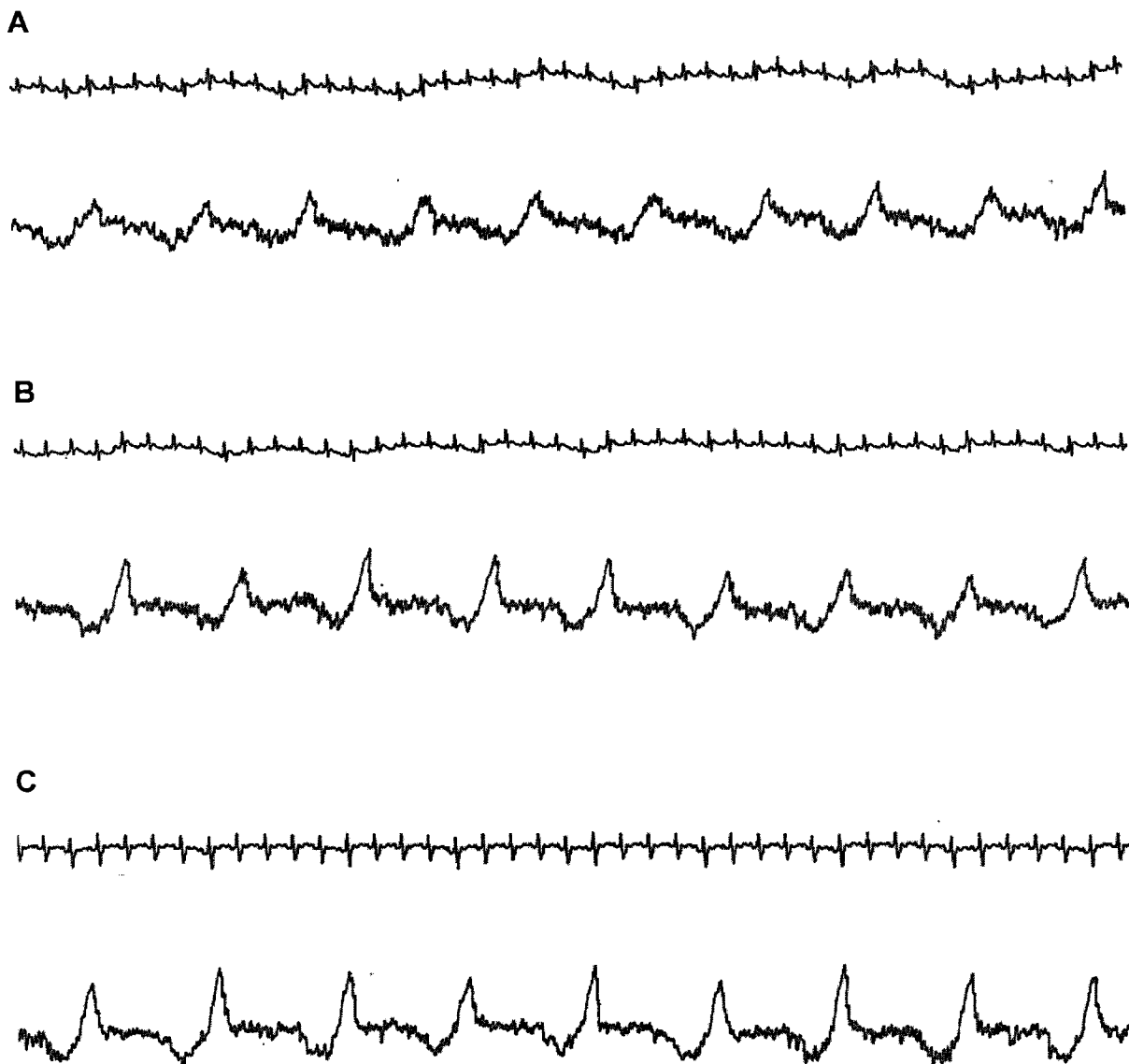


Figura 19. Registros donde se muestra la acción que ocasiona el BRL 37344 sobre la FCA y las actividades tónica y fásica de la musculatura bronquial (VP, 25 mm/seg; FF, 40 Khz para AOMB y 75 Hz para FCA).

A. Registro control (sin aplicación del fármaco).

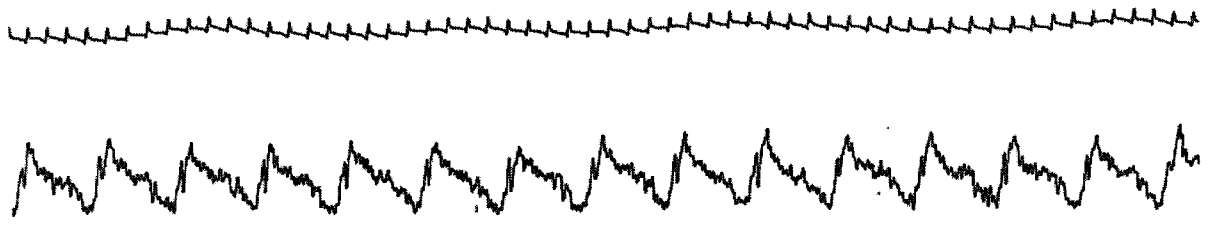
B. Registro al aplicar la concentración mas baja ( $10^{-9}$  M).

C. Registro al aplicar la concentración más alta ( $10^{-3}$  M).

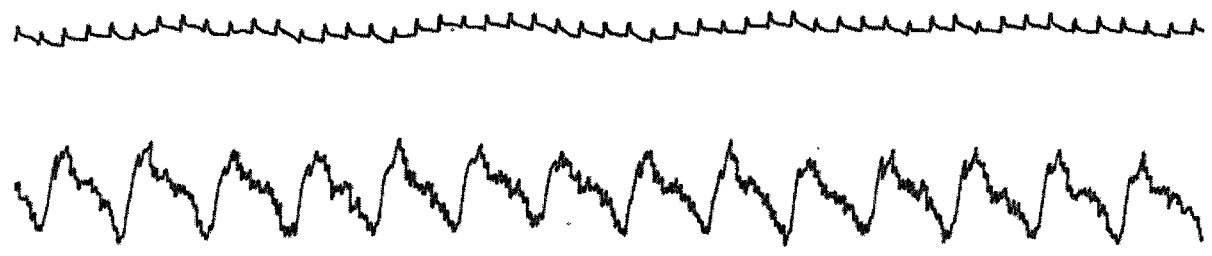
#### VII.2.2.6. Antagonista de tipo $\beta_3$

Se administró SR 59230A a concentraciones de  $10^{-9}$  a  $10^{-6}$  M. se observó un aumento de la FCA a concentraciones de  $10^{-9}$  a  $10^{-7}$  M con respecto a los registros control, y una baja de ésta al aplicar la concentración mas alta ( $10^{-6}$  M). Hubo alteraciones en la AOMB. La actividad tónica comenzó a aumentar al aplicar concentraciones de  $10^{-9}$  M alcanzando su mayor tamaño en concentraciones de  $10^{-7}$  M. Cuando se aplicó la concentración más alta ( $10^{-6}$  M), la actividad tónica se observó más reducida que la mostrada en los registros control (Figura 23). En cuanto a la actividad fásica, se redujo en concentraciones de  $10^{-9}$  a  $10^{-7}$  M, pero conservando su estructura descendente e irregular similar a lo observado con el fenoterol. Al usar la concentración de  $10^{-6}$ , se perdió totalmente la actividad fásica, tal y como ocurrió al aplicar el antagonista  $\beta_2$  (Figura 24). En concentraciones de  $10^{-5}$  M, los animales murieron por lo cual no se pudieron explorar concentraciones más altas (Figura 20).

A



B



C



D



E

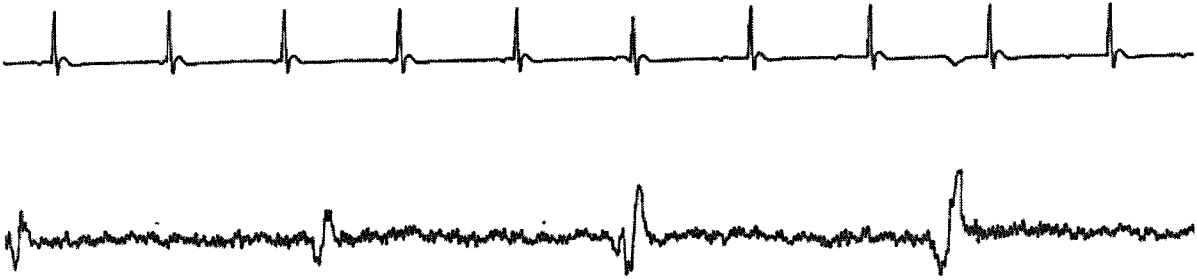


Figura 20. Registros donde se muestra la acción que ejerce el SR 59230A sobre la FCA y la actividad fásica de la musculatura bronquial.

- A. Registro control (sin aplicación del fármaco).
- B. Registro al aplicar la concentración mas baja ( $10^{-9}$  M).
- C. Registro al aplicar la concentración  $10^{-7}$  M.
- D. Registro al aplicar la concentración  $10^{-6}$  M.
- E. Registro al aplicar la concentración  $10^{-5}$  M.



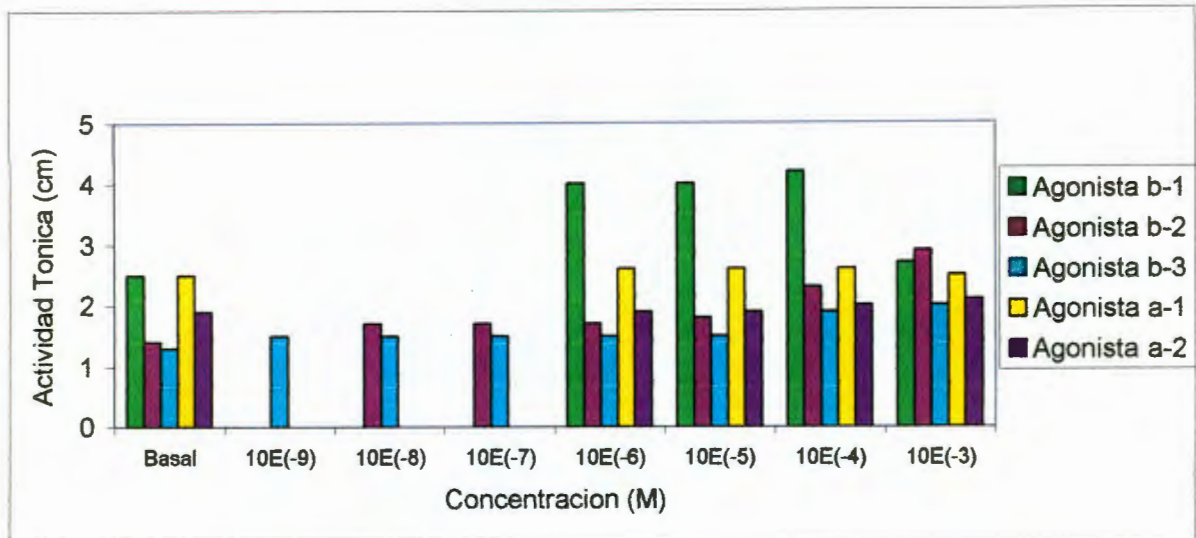


Figura 21. Gráfica donde se muestra la acción que ejercen los distintos agonistas sobre la actividad tónica de la musculatura bronquial. Se muestra la concentración usada con cada fármaco en M (de menor a mayor concentración, utilizando la notación E como exponente de los diferentes órdenes de magnitud) y la respuesta que estos generan sobre la amplitud de la primera onda (onda rápida de presión negativa) presente justo al inicio del ciclo respiratorio (correspondiente a la fase inspiratoria).

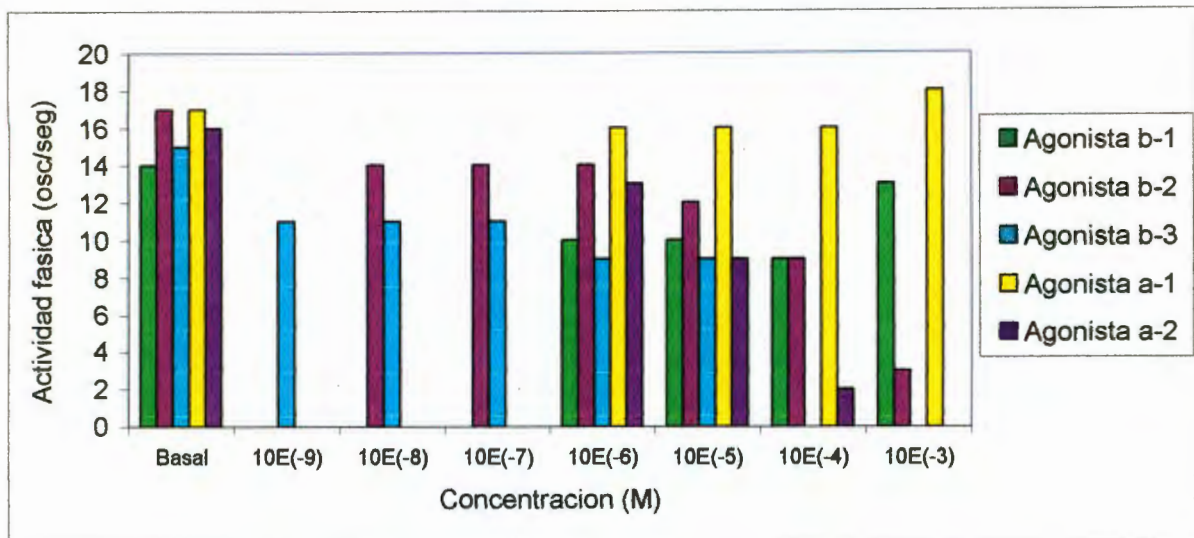


Figura 22. Gráfica donde se muestra la acción que ejercen los distintos agonistas sobre la actividad fásica de la musculatura bronquial (oscilaciones menores, descendientes e irregulares que aparecen durante la fase inspiratoria e inmediatamente seguidas de la onda de presión negativa correspondiente a la actividad tónica). Se muestra la concentración (en M) usada con cada fármaco (de menor a mayor concentración, utilizando la notación E como exponente de los diferentes órdenes de magnitud) y la respuesta que estos generan sobre el número de oscilaciones por minuto.

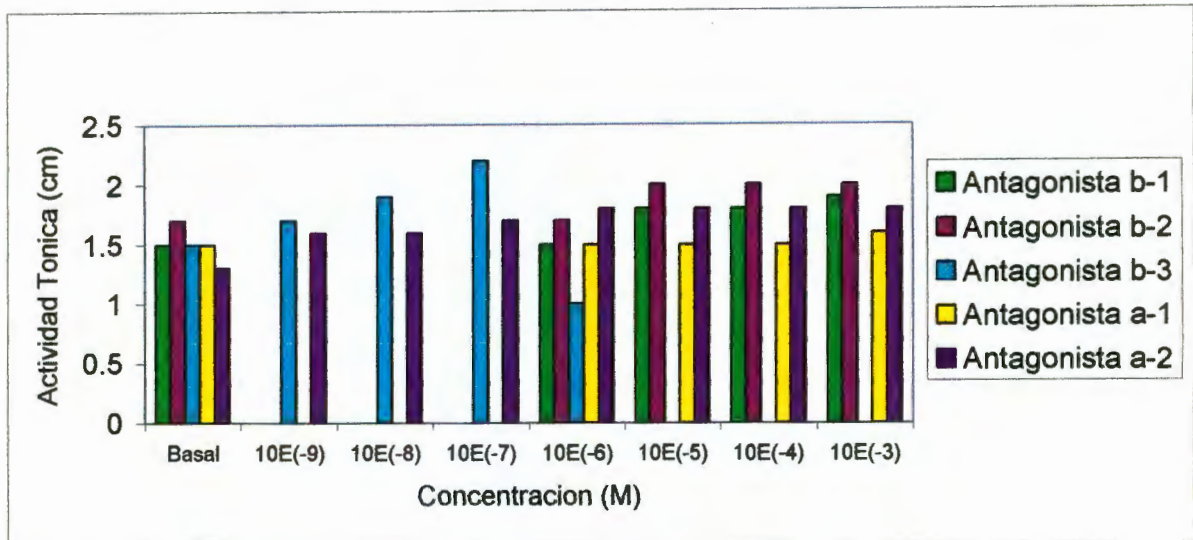


Figura 23. Gráfica donde se muestra la acción que ejercen los distintos antagonistas sobre la actividad tónica de la musculatura bronquial. Se muestra la concentración usada con cada fármaco (de menor a mayor concentración, utilizando la notación E como exponente de los diferentes órdenes de magnitud) y la respuesta que estos generan sobre la amplitud de la primera onda, presente justo al inicio del ciclo respiratorio.

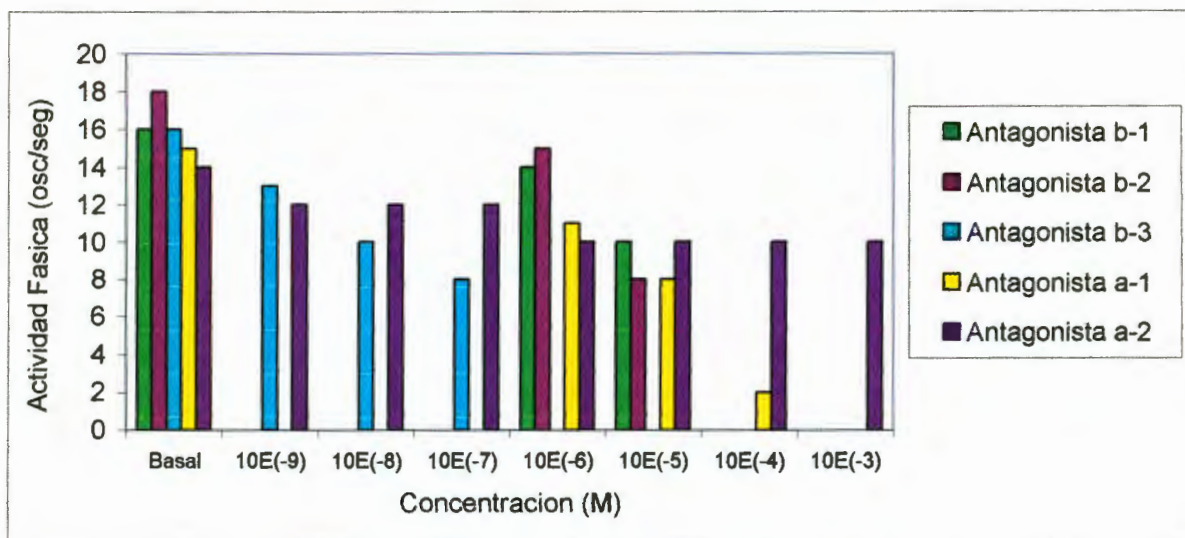


Figura 24. Gráfica donde se muestra la acción que ejercen los distintos antagonistas sobre la actividad fásica de la musculatura bronquial. Se muestra la concentración (en M) usada con cada fármaco (de menor a mayor concentración, utilizando la notación E como exponente de los diferentes órdenes de magnitud) y la respuesta que estos generan sobre el número de oscilaciones por segundo.

## VIII. DISCUSIÓN

Dado que diversos resultados experimentales obtenidos por García Ramos (1990; 1991; 1992) aportan evidencias sobre la fuerte relación que el sistema nervioso simpático tiene en la actividad de la musculatura bronquial, nos propusimos retomar su metodología experimental para realizar una valoración farmacológica de dicha actividad mediante la utilización de agonistas y antagonistas adrenérgicos.

Los resultados obtenidos en los experimentos iniciales (Figura 9 y 10), los cuales fueron presentados en el XLVIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas realizado en la ciudad de Guadalajara, Jal. (Arellano, A. y Silva, I., 2005) nos mostraron la participación farmacológica de la vía simpática sobre la AOMB, dado que al aplicar intraperitonealmente en animal experimental dosis crecientes de epinefrina (que es el neurotransmisor que utiliza dicha vía) se ocasionaba un incremento de la AOMB dependiente de la dosis. Sin embargo, este resultado no permitía diferenciar entre la posible participación de receptores adrenérgicos  $\alpha$  o  $\beta$ , dado que la epinefrina actúa sobre ambos tipos de receptores. Solo se logró obtener evidencias de la posible participación de receptores  $\beta$  adrenérgicos cuando se probó el efecto de un agonista llamado isoproterenol (el cual no muestra especificidad por ninguno de los subtipos de receptores  $\beta$ ) que produjo incremento en la AOMB conforme se aumentaba la dosis del fármaco aplicado de la misma manera en animal experimental.

Para obtener mayores evidencias de la participación de receptores de tipo  $\beta$  empezamos a probar una serie de agonistas y antagonistas selectivos para cada uno de los subtipos de receptores adrenérgicos ( $\alpha$  y  $\beta$ ).

El primer fármaco que se probó, y siguiendo el mismo orden en el que se describieron los resultados, fue la fenilefrina, que es una fenilamina adrenérgica

vasopresora con actividad simpaticomimética la cual provoca elevación de las presiones sanguíneas sistólica y diastólica al actuar directamente sobre las células efectoras uniéndose a los receptores  $\alpha_1$  fundamentalmente y producir vasoconstricción, aumento de la resistencia periférica, aumento de la actividad vagal y bradicardia refleja (Gato del Monte y Col., 2004). Por esta razón observamos en nuestros registros una baja en la FCA al usar concentraciones de  $10^{-4}$  a  $10^{-3}$  M (Figura 11). En cuanto a la AOMB, la actividad tónica aumentó muy levemente en las concentraciones de  $10^{-6}$  a  $10^{-4}$  M y la fásica disminuyó de igual manera a las mismas concentraciones conservando su estructura en forma descendente e irregular tal y como ocurre en registros de respiración normal, probablemente debido a la sugerencia de que éste fármaco también ejerce una débil actividad sobre receptores de tipo  $\beta_2$  utilizándose en algunas ocasiones como broncodilatador leve (Bowman y Rand, 1984; Timmermans, 1989).

Por otra parte, el clorhidrato de benoxathian es una droga bloqueante  $\alpha_1$  selectiva catalogada dentro del grupo de fármacos simpaticolíticos postsinápticos. Puede producir el "efecto de la primer dosis" que consiste en una caída brusca de la presión arterial y bradicardia (Malgor y Valsecia, 2001). En los experimentos realizados, pudimos observar una clara caída de la FCA conforme se aumentaba la concentración del fármaco, debido a la disminución del tono simpático y, posiblemente, una acción directa sobre la conducción cardiaca (Timmermans, 1989). La AOMB se manifestó con un pequeño aumento de la actividad tónica con respecto a los registros control al ir aumentando la dosis (Figura 12). En cuanto a la estructura descendente e irregular de las oscilaciones que caracteriza a la actividad fásica, se fue perdiendo conforme se incrementó la concentración del fármaco, al grado de eliminarse por completo en concentraciones de  $10^{-3}$  M, esto debido a que al disminuir el tono simpático, el parasimpático tiende a aumentar (Mycek y Col., 2000) incrementando la liberación de su neurotransmisor, que es la acetilcolina, la cual va a interactuar con receptores muscarínicos trayendo como resultado broncoconstricción. Estos resultados sugieren que al perderse la actividad fásica, se crea una compensación mediante un aumento ligero de la

actividad tónica y a su vez dura más la fase inspiratoria, lo que en conjunto nos reproduce el efecto de una broncoconstricción funcional.

EL BHT 933 es un agonista  $\alpha_2$  altamente selectivo (Timmermans, 1989). La simpaticolisis que generan los agonistas  $\alpha_2$  lleva a una disminución del tono vascular, lo que conlleva a una disminución de la presión arterial. La disminución de la FCA es otro efecto que acompaña al uso de agonistas  $\alpha_2$ . La disminución del tono simpático y, tal vez, una directa acción sobre la conducción cardíaca, terminan llevando a una reducción de la cantidad de latidos por minuto (Malgor y Valsecia, 2001) que será dependiente de la dosis suministrada (Timmermans, 1989). Es por eso que en nuestros registros se observa una notoria baja en la FCA conforme se aumenta la concentración del fármaco. La AOMB se manifestó un tanto similar a la del fármaco anterior, con un leve aumento de la actividad tónica apreciable a concentraciones de  $10^{-3}$  M (Figura 13). En cuanto a la estructura descendente e irregular de las oscilaciones de la actividad fásica, se fue perdiendo conforme se incrementó la concentración del fármaco, al grado de eliminarse por completo en la concentración más alta, todo esto similar a lo ocurrido con el fármaco anteriormente discutido.

El SKF 86466 es un antagonista  $\alpha_2$  con alto grado de selectividad (Timmermans, 1989; Tolentino – Silva, 2000). Al producir un bloqueo  $\alpha_2$  induce una mayor liberación de catecolaminas y un efecto simpático general (Malgor y Valsecia, 2001). Es por eso que al aplicar la concentración más alta ( $10^{-3}$  M), pudimos observar un aumento ligero en la FCA. Conforme se aumentaba la concentración del fármaco, la actividad tónica aumentaba ligeramente y la fásica disminuía en cuanto a número de oscilaciones por segundo, conservando la estructura descendente e irregular (Figura 14). Al aumentar el tono simpático, y más si es generalizado, es muy probable que se induzca la activación de receptores  $\beta_2$  adrenérgicos (Brodde, 1989). Se puede observar un incremento en la frecuencia respiratoria debido a una disminución en el tiempo de duración en la fase inspiratoria.

La dobutamina es una catecolamina sintética utilizada para incrementar la frecuencia y el gasto cardiaco con pocos efectos vasculares (Mycek y col., 2000; De la Parte - Pérez, 1996; Zabalegui – Pérez y Col., 2003). Ha sido clasificada como un agonista selectivo  $\beta_1$ , sin embargo, estudios mas recientes han demostrado que la dobutamina no solo tiene selectividad por receptores  $\beta_1$ , sino que también por los  $\beta_2$  y  $\alpha_1$  dependiendo las concentraciones en que ésta se use (Brodde, 1989). En nuestro trabajo, en las concentraciones de  $10^{-6}$  a  $10^{-5}$  M se observó una baja en la FCA con respecto a la observada en los registros control (Figura 15). Esto ocurre debido a que, tal vez, a estas concentraciones los receptores  $\alpha_1$  son activados por el fármaco, ocasionando una vasoconstricción y una consecuente activación de los baroreceptores cardioinhibidores provocando bradicardia refleja. Por otra parte, al usar concentraciones más altas (de  $10^{-4}$  a  $10^{-3}$  M), probablemente estaríamos activando receptores  $\beta_1$ , ocasionando aumento en la FCA. En concentraciones de  $10^{-6}$  a  $10^{-4}$  M estaríamos activando receptores  $\beta_2$ , ya que los registros respiratorios se observan muy parecidos a los obtenidos con el Fenoterol, que es un agonista  $\beta_2$  selectivo, y el cual se discute un poco mas adelante. Al aplicar la concentración de  $10^{-3}$  M los registros de respiración regresaron a su estado basal, esto por la posible inactivación o pérdida de afinidad de los receptores  $\beta_2$  a dicha concentración.

El atenolol es un antagonista selectivo  $\beta_1$ , casi con exclusiva acción a dosis usuales sobre los receptores  $\beta_1$  de actividad cardiaca. A dosis elevadas, la selectividad relativa por los receptores  $\beta_1$  desaparece, resultando también bloqueados los receptores  $\beta_2$  con posibilidad de broncoconstricción, vasoconstricción periférica y disminución de la gluconeogénesis (Paladino – Beninati y Col., 2004). Es por lo anterior que observamos en éste estudio una baja drástica de la FCA (Figura 16) y un fenómeno similar de la actividad tónica y fásica al observado con el antagonista  $\beta_2$ , el cual se discute mas adelante. Esto nos sugiere que al perderse la actividad fásica, se crea una compensación mediante un aumento ligero de la actividad tónica y a su vez dura más la fase inspiratoria, lo que en conjunto nos reproduce el



efecto de una broncoconstricción funcional, fenómeno anteriormente descrito con otros fármacos.

El bromohidrato de fenoterol es un broncodilatador  $\beta_2$  agonista eficaz en el tratamiento del asma bronquial (Malgor y Valsecia, 2001). Los  $\beta$  agonistas inicialmente empleados para tratar las crisis de asma bronquial, tenían acción tanto  $\beta_1$  como  $\beta_2$  por lo cual los efectos secundarios (taquicardia, temblor, ansiedad, entre otros) limitaban su uso. En la actualidad, se cuenta con drogas  $\beta_2$  más selectivas, más potentes y de acción más prolongada que les proporciona mayor utilidad y efectividad (Rodríguez – Vázquez y Col., 1998). El Fenoterol tiene mucho mayor especificidad por los receptores  $\beta_2$  que por los  $\beta_1$  ( $\beta_2 \gg \beta_1$ ) (Brodde, 1989), pero a concentraciones altas se han observado efectos de cardioestimulación de corta duración (Skorodin, 1993). Es por eso que al administrar concentraciones de  $10^{-4}$  a  $10^{-3}$  M en nuestros experimentos ocurrió una moderada pero notoria alza de la FCA (Figura 17). En cuanto a la AOMB, encontramos que conforme se iba aumentando la concentración del fármaco, la actividad tónica incrementaba y la fásica disminuía en cuanto a número de oscilaciones por minuto (pero estas conservando su estructura en forma descendente e irregular tal y como ocurre en registros de respiración normal), de tal forma que al aplicar la concentración mas alta la actividad tónica se había incrementado a mas del doble y la fásica reducido a menos de la mitad de oscilaciones de las observadas en los registros control. Con esto se sugiere que la actividad tónica del músculo bronquial llega a ser tan alta al estimular receptores  $\beta_2$ , que se superpone a la actividad fásica impidiéndonos observar adecuadamente dicha actividad en registros poligráficos. Es importante mencionar que se han hecho estudios sobre la distribución de receptores  $\beta_1$  y  $\beta_2$  en tejido aislado de varios animales, teniendo en el tejido bronquial de rata una distribución del 88% de receptores  $\beta_2$  contra tan solo un 12% de receptores  $\beta_1$  (Brodde, 1989).

Por otra parte, el ICI 118,551 es un potente antagonista selectivo de receptores  $\beta_2$  adrenérgicos (Brodde, 1989; Bilski y Col., 1983) con capacidades broncoconstrictoras (Malgor y Valsecia, 2001). En este caso observamos efectos, tanto cardiacos como respiratorios, totalmente opuestos al del fármaco anterior. Observamos una evidente disminución de la FCA debido a que aunque se ha reportado una alta selectividad para receptores  $\beta_2$ , es imposible eliminar por completo la afinidad  $\beta_1$  que esta clase de fármacos también poseen (Bilski y Col., 1983). A concentraciones de  $10^{-5}$  a  $10^{-3}$  M se mostró un ligero aumento de la actividad tónica con respecto a los registros control (Figura 18). En cuanto a la estructura descendente e irregular de las oscilaciones que caracteriza a la actividad fásica se fue disminuyendo conforme se incrementó la concentración del fármaco, al grado de perderse por completo. El fenómeno se presento de manera similar con el atenolol y otros fármacos ya discutidos.

Aunque se sabe muy poco acerca de los mecanismos farmacológicos relacionados con receptores  $\beta_3$ , se probaron también agonistas y antagonistas para dichos receptores. De estos, se sabe que son expresados en el tejido adiposo general y en grasa parda, por lo cual se ha observado en animal experimental que el uso de agonistas de receptores  $\beta_3$  inducen pérdida de peso secundaria a la lipólisis que estos provocan (Oriowo y Col., 1996; Moniotte, 2005), así como un decremento en la ingesta de alimento (Tsuji y Bray, 1998). Estos receptores han sido poco estudiados y recientemente han sido localizados también en corazón, provocando efectos inotrópicos negativos cuando estos son estimulados por agonistas selectivos (Gauthier y Col., 1998) tales como el BRL 37344. Es por eso que estudios recientes sugieren el uso de antagonistas selectivos como tratamiento de fisiopatologías de la insuficiencia cardiaca (Moniotte, 2005). Con todo lo anterior, podemos entender el porque del decremento en la FCA en nuestros registros al usar el BRL 37344 (Figura 19) y el aumento de ésta al aplicar SR 59230A (Figura 20). Lo que no queda muy claro es el fenómeno observado en los registros respiratorios. Al administrar el agonista, vemos en los registros algo similar a lo observado con los broncoconstrictores anteriormente descritos. Al usar el

antagonista, los registros muestran características muy similares a los broncodilatadores usados en el estudio. No hay reportes a cerca de la participación de receptores  $\beta_3$  en la respiración, ya que estos han sido poco estudiados. Con estos resultados se sugiere algún tipo de participación de receptores  $\beta_3$  en los mecanismos respiratorios discutidos, aunque encontramos un efecto contradictorio dado que al usar dosis crecientes del agonista BRL 37344 parecería evocar un efecto broncoconstrictor similar al ocasionado por antagonistas que actúan sobre receptores del tipo  $\beta_2$ . Mientras que el uso de dosis relativamente bajas de un antagonista  $\beta_3$  (SR 59230A) parece reproducir los efectos del uso de agonistas para receptores del tipo  $\beta_2$ . No pudimos valorar los efectos de dosis altas de este último antagonista dado que al aplicar una concentración de  $10^{-5}$  M los animales experimentales generalmente morían.

## IX. CONCLUSIONES

- A partir del uso inicial de fármacos no selectivos para receptores  $\alpha$  y  $\beta$  (epinefrina) así como para receptores  $\beta$  (isoproterenol) nos sugirieron que en la modulación de la AOMB participaban preferencialmente receptores de tipo  $\beta$
- Con lo anterior se refuerzan las observaciones realizadas acerca de la regularon simpática sobre la AOMB y dan evidencias de la participación de adrenoreceptores tipo  $\beta_2$  en dicho proceso funcional
- La actividad tónica del músculo bronquial llega a ser tan alta al estimular receptores  $\beta_2$ , que se superpone a la actividad fásica (Actividad oscilatoria) impidiéndonos observar adecuadamente dicha actividad en registros poligráficos, cosa que no ocurre al estimular receptores de tipo  $\alpha$  adrenérgicos.
- Tanto la actividad tónica como la fásica, están realizando una acción complementaria entre si, permitiendo al organismo ajustar sus mecanismos de ventilación ya que contamos con la evidencia en este estudio de que al aplicar bloqueadores de tipo  $\beta_2$  broncoconstrictores, la actividad fásica desaparece por completo. En pocas palabras, al perderse la actividad fásica, se estaría creando una compensación mediante un aumento ligero de la actividad tónica y si a esto se le suma un aumento significativo en la duración de la fase inspiratoria (que trae como consecuencia una disminución en la ventilación) nos reproduciría el efecto de lo que hemos llamado una broncoconstricción funcional.
- Se sugiere algún tipo de participación de receptores  $\beta_3$  en los mecanismos de ajuste de la respiración ya descritos, sin embargo debido a la falta de

información sobre este tipo de receptores, nuestros resultados no nos permiten aportar sugerencias para explicar su participación en este proceso funcional.

- Los datos obtenidos en esta serie de experimentos refuerzan la hipótesis planteada inicialmente y nos sugieren una mayor participación de los receptores  $\beta_2$  en la AOMB.

## X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcaraz R., V. 2001.** Estructura y Función del Sistema Nervioso: Recepción sensorial y estados del organismo. Editorial El Manual Moderno. México, D.F: 83 - 91.
- Arellano, A., Silva, I. 2005.** Modulación Farmacológica de la Actividad Oscilatoria de la Musculatura Bronquial en Ratas. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. XLVIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, Guadalajara, Jal., México: 190.
- Barbieri, A., Santagostino-Barbone, M., Zonta, F., Lucchelli, A. 1998.** Pharmacological characterization of  $\alpha$ -adrenoceptors that mediate contraction in splenic artery strips from the pig. *Naunyn-schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **357**: 654-661.
- Bilski, A., Halliday, S., Fitzgerald, J., Wale, J. 1983.** The pharmacology of a beta 2-selective adrenoceptor antagonist (ICI 118,551). *J Cardiovasc Pharmacol.*, **5**(3): 430-7.
- Booze, R., Crisostomo, E., Davis, J. 1989.** Species differences in the localization and number of CNS beta adrenergic receptors: rat versus guinea pig. *J Pharmacol Exp Ther.*, **249**(3): 911-20.
- Bristow, M., Hershberger, R., Port, J., Minobe, W., Rasmussen, R. 1989.** Beta 1- and beta 2-adrenergic receptor-mediated adenylate cyclase stimulation in nonfailing and failing human ventricular myocardium. *Mol Pharmacol.*, **35**(3): 295-303.
- Broode, O. 1989.**  $\beta$  Adrenoceptors en Receptor pharmacology and function, edited by Glennon, R. y Col. Editorial Marcel dekker, Inc.: 207 – 242.
- Bowman, W., Rand, M. 1984.** Farmacología: Bases bioquímicas y patológicas. Editorial Interamericana. México, D.F: 11.1 – 11.42.
- Brown, K., Summers, R. 2001.**  $\beta_1$  and  $\beta_3$  – adrenoceptor mediated smooth muscle relaxation in hypothyroid rat ileum. *Eur. J. Pharmacol.*, **415**: 257-263.

- Browne, S., Macrae, I. 1994.** Differential patterns of local cerebral glucose utilization associated with rilmenidine – or B-HT 933 – induced hypotension. *Brain res.*, **666**(2): 216-22.
- Crawford, A., Makowska, M., y Engel, L. 1987.** Effect of Bronchomotor Tone on Static Mechanical Properties of Lung and Ventilation Distribution. *J. appl. Physiol.*, **63**: 2278-2285.
- Cabezas, G., Graf, P., Nadel, J. 1971.** Sympathetic versus parasympathetic nervous regulation of airways in dogs. *J Appl Physiol*, **31**: 651 – 655
- Coburn, R. 1987.** Peripheral airway ganglia. *Ann Rev Physiol*, **49**: 573 – 582.
- Cooper, J., Bloom, F., Roth, R. 2003.** The biochemical basis of neuropharmacology. 8a. Ed. Oxford University Press, New York: 181 – 221
- De la Parte – Pérez, L. 1996.** Uso de inotropos y vasodilatadores en la comunicación interventricular. *Rev Cubana Pediatr.*, **68**(1): 123 – 130.
- Flórez, J. 2000.** Farmacología humana. 3ª. ed. Editorial Masson, Barcelona:
- Fox, S. I. 2006.** Human Physiology. 9a. ed. MacGraw Hill. New York, NY, USA: 226 – 248.
- García – Ramos, J. 1990.** Bronchomotor Oscillations in Breathing Records. *Acta Physiol. Pharmacol. Latinoam.* **40**: 185-196.
- García – Ramos, J. 1991.** Phasic Activity in the Airways Smooth Muscle. *APPTLA.* **41**(2): 217-228.
- García – Ramos, J. 1992.** La Actividad Fásica de la Musculatura Bronquial. *Rev Sanid Milit Méx.* **Vol. 46**(3): 81-84.
- García – Ramos, J., Silva, I. 1990.** Respuestas simpáticas simultáneas en distintos efectores, en el hombre. *ACTA MÉDICA.* **Vol. XXIV.** Nums. 95-96: 7-15.
- Gato del Monte, A., Tillan, J., Alfonso, Y., Zaldivar, L., López, B. 2004.** Desarrollo de un medicamento para el tratamiento de la hipotensión arterial y la operación de la catarata. *Rev Cubana Farm.*, **38**(3): 215 – 221.
- Gauthier, C., Leblais, V., Kobzik, L. 1998.** The negative inotropic effect of beta 3-adrenoceptor stimulation is mediated by activation of a nitric oxide synthase pathway in human ventricle. *J Clin Invest.*, **102**(7): 1377 – 1384.

- Guyton, A., Hall, J. 2001.** Tratado de Fisiología Medica. Décima edición. Editorial McGraw Hill – Interamericana. México, D.F: 841 - 854.
- Hickman, C. Jr., Roberts, L., Larson, A. 2002.** Zoología. Principios Integrales. Undécima Edición. McGraw Hill-Interamericana. Madrid, España. 895pp.
- Honner, V., and Docherty, J. 1999.** Investigation of the subtypes of  $\alpha_1$ -adrenoceptor mediating contractions of rat vas deferens. *Br. J. Pharmacol.* **128**: 1323-1331.
- Hussain, M., and Marshall, I. 2000.**  $\alpha_1$ -adrenoceptor subtypes mediating contractions of the rat mesenteric artery. *Eur. J. Pharmacol.*, **395**: 69-76.
- Kandel, E., Schwatz, J., Jessell, T. 2000.** Principles of Neural Science. 4a. ed. McGraw Hill, USA: 960 – 981.
- Kirkpatrick, C., Morrow, R., Tomita, T. 1980.** The contractile responses of smooth muscle to immersion in hypertonic solutions. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, **50**: 147 – 158.
- Malgor, L., Valsecia, M. 2001.** Farmacología Médica. Volumen 1. Universidad Nacional del Nordeste. Chaco-Corrientes, Argentina: 91 – 102, 117 – 125
- Melchiorre C, Brasili L, Giardina D, Pignini M, Strappaghetti G. 1984.** 2-[[[2-(2,6-Dimethoxyphenoxy)ethyl]amino]-methyl] -1,4-benzoxathian: a new antagonist with high potency and selectivity toward alpha 1-adrenoreceptors. *J Med Chem.*, **27**(12):1535-6.
- Mitchell, R., Herbert, D., Baker, D. 1985.** Inspiratory Rhythm in Airway Smooth Muscle Tone. *J. appl. Physiol.*, **58**: 911-920.
- Moffett, D., Moffett, S. y Schauf, C. 1993.** Human Physiology. 2a. ed. Editorial Wm. C. Brown Publishers, USA.
- Moniotte, S. 2005.** El papel del receptor  $\beta_3$  adrenérgico en la fisiopatología de la insuficiencia cardiaca. Sociedad Iberoamericana de Información Científica. [www.siic.com](http://www.siic.com).
- Mycek, M., Harvey, R., Champe, P. 2004.** Farmacología. McGraw-Hill Interamericana. México, D.F: 65 - 93.
- Nielsen, H., Mortensen, F., Pilegaard, H., Hasenkam, J., Mulvany, J. 1992.** Calcium



utilization coupled to stimulation of postjunctional alpha-1 and alpha-2 adrenoceptors in isolated human resistance arteries. *J Pharmacol Exp Ther.*, **260**(2):637-43.

**Ninomiya, J. 1991.** Fisiología Humana y Neurofisiología. Editorial El Manual Moderno. México, D.F: 326 - 341.

**Oriowo, M., Chapman, H., Kirkham, D., Sennitt, M., Ruffolo, R. Jr., Cawthorne, M. 1996.** The selectivity in vitro of the stereoisomers of the beta-3 adrenoceptor agonist BRL 37344. *J Pharmacol Exp Ther.*, **277** (1): 22-7.

Paladino Beninati, M. A., Gualdo, R., Scheffelaar, S. A. 2003. Fundamentos del Uso de Betabloqueantes en el Paciente Quirúrgico. *Rev Mex Anestes.*, 26(1): 76 – 94.

**Ramos, M. 2001.** Sistema Nervioso Autónomo. Revista de Postgrado de la Cátedra Vía Medicina, **101**: 1-7. [www.unne.edu.ar/sistnervautonomo.htm](http://www.unne.edu.ar/sistnervautonomo.htm)

**Rang, H., Dale, M., Ritter, J., Moore, P. 2004.** Farmacología. Quinta edición. Elsevier. Madrid, España: 161 – 183.

**Rodríguez – Vázquez, J., Almirall, J., Vega, R., Fernández, E. 1998.** Evaluación funcional de broncodilatadores beta 2 agonistas en pacientes asmáticos. *Rev Cubana Med.*, **34**(2): 148 – 152.

**Skorodin, M. S. 1993.** Beta – Adrenergic agonist a problem. *Chest*, **103**: 1587 – 1590.

**Stephens, N., Hoppin, F. 1986.** Mechanical properties of airway smooth muscle. Capitulo 17 Handbook of Physiology. Sec 3 Vol. III Mechanics of breathing Part I: 263 – 276. *Am Physiol Soc Bethesda Md.*

**Timmermans, P. 1989.**  $\alpha$  Adrenoceptors en Receptor pharmacology and function, edited by Glennon, R. y Col. Editorial Marcel dekker, Inc.: 173 – 197.

**Tolentino-Silva, F. 2000.** Differential cardiorespiratory control elicited by activation of ventral medullary sites in mice. *J Appl Physiol.*, **89**: 437-444.

**Tresguerres, J. 1999.** Fisiología Humana. McGraw – Hill. España: 187 - 199.

**Tsujii, S., Bray, G. 1998.** A beta-3 adrenergic agonist (BRL-37,344) decreases food intake. *Physiol Behav.*, **63**(4): 723-8.

**Zabalegui – Pérez, A., de Frutos, M., López, M. de J., Indarte, A., Saldaña, T., Alonso, F., Cordero, J. 2003.** Influencia del tratamiento con aminos en los parámetros hemodinámicos y metabólicos en el shock séptico experimental. *Electrón J Biomed.*, 1(2): 64 – 78.