



*Universidad Nacional Autónoma
de México*

Facultad de Ciencias

ESTUDIO FARMACOLOGICO DE CATABOLITOS
DERIVADOS DE LA DOPAMINA SOBRE LA
CONTRACTILIDAD MIOCARDICA.

T E S I S

Que para obtener el Título de:

B I O L O G O

p r e s e n t a

MARIA TERESA PONCE LOPEZ



FALLA DE ORIGEN

México, D. F.

1989



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

RESUMEN

Con el propósito de investigar los efectos farmacológicos de catabolitos de dopamina sobre el miocardio, se realizó el análisis experimental de la acción de tetrahidroisoquinoleinas (TIQs) sobre el músculo papilar aislado de cobayo. El catabolismo de la dopamina, bajo ciertas circunstancias, puede divergir de sus vías metabólicas normales; a través de una condensación de la dopamina con los aldehídos se producen alcaloides TIQs, tales como; la tetrahidropapaverolina (THP), el salsolinol y sus derivados O-metilados salsolina e isosalsolina. Las TIQs se han propuesto como neuromoduladoras. Ellas se sintetizan, se captan, se almacenan y se liberan en el sistema nervioso central y periférico, manifestando diversas acciones farmacológicas. Se estudió su acción farmacológica así como su posible acción moduladora sobre la respuesta contractil del miocardio a la adrenalina. Se aislaron músculos papilares de ambos ventrículos y se registró su tensión isométrica mediante un transductor de tensión (GRASS-FT03) conectado a un polígrafo (GRASS P-7). Se aplicó estimulación constante de 1 Hz. Las sustancias utilizadas se administraron disueltas en la solución de Tyrode con que se perfundió a la preparación mantenida a 37 °C. La THP (2×10^{-6} M), el salsolinol (4×10^{-5} M) y la salsolina (3×10^{-8} M) incrementaron la fuerza de contracción del músculo papilar sus efectos fueron bloqueados con propranolol (3×10^{-7} M), comportándose como neurotransmisores agonistas β -adrenérgicos. Desde el punto de vista de la relación estructura-actividad de las TIQs, los grupos funcionales requeridos para una mayor potencia como agonistas β -adrenérgicos, en base a los resultados obtenidos, son el grupo metoxilo de la salsolina (7-OCH₃) y el anillo arimetil del carbono 1 del núcleo isoquinoleínico de la THP. También se hizo presente su efecto modulador: la salsolina bloqueó el efecto inotrópico positivo de la adrenalina y se comportó como un agonista parcial. La THP potenció el efecto inotrópico positivo de la adrenalina comportándose como agonista puro. El salsolinol no produjo efecto sobre la respuesta a la adrenalina. En conclusión las TIQs poseen importancia biológica en razón de que son catabolitos activos farmacológicamente, actuando como agonistas, agonistas parciales y moduladores de los efectos adrenérgicos.

INDICE

1.- INTRODUCCION

I.- FACTORES QUE DETERMINAN LA CONTRACTILIDAD CARDIACA.

II.- ASPECTOS FUNCIONALES DEL SISTEMA ADRENERGICO.

III.- NEURORREGULADORES Y PRODUCTOS DE CONDENSACION DE
CATECOLAMINAS (TETRAHIDROISQUINOLEINAS).

2.- OBJETIVO Y HIPOTESIS

3.- MATERIAL Y METODO

4.- RESULTADOS

5.- DISCUSION

6.- CONCLUSION

7.- REFERENCIAS

INTRODUCCION

I-FACTORES QUE DETERMINAN LA CONTRACTILIDAD CARDIACA

Es necesario hacer una revisión acerca de la importancia de los diversos factores que afectan la contractilidad del músculo cardiaco y los posibles mecanismos involucrados en los cambios de contractilidad (1).

El concepto de contractilidad implica la manifestación mecánica de los procesos químicos que se llevan a cabo en el interior de las células musculares y que permiten que las proteínas contractiles generen tensión y se acorten. Es decir, la contractilidad, o el estado inotrópico del músculo reflejan el número de proteínas contractiles, así como la cantidad de calcio que se libera y activa a estas y las características de los diversos procesos enzimáticos involucrados en la contracción.

Los factores que pueden producir cambios en la contractilidad del corazón, en condiciones fisiológicas son, la frecuencia cardiaca, los factores neurohumorales, las características intrínsecas y la masa muscular, siendo los dos últimos las condiciones basales del estado inotrópico del músculo.

Las características intrínsecas del músculo incluyen la cantidad de proteínas contractiles existentes así como los niveles de energía y la cantidad de calcio que se utiliza en la contracción. La combinación de dichos factores y la masa muscular será la que establezca, en un momento dado las condiciones basales de la contractilidad.

Los otros dos elementos que modulan este parámetro en condiciones fisiológicas serán la frecuencia y los factores neurohumorales. Dentro del rango fisiológico de frecuencia sus aumentos producen un incremento en la contractilidad, mientras que la bradicardia la reduce. Este efecto inotrópico de la frecuencia parece estar mediado por cambios en el calcio accesible al proceso contractil. Los factores neurohumorales más importantes en la relación con la contractilidad son el resultado de la estimulación del simpático que produce una liberación de noradrenalina de las terminaciones nerviosas y secreción de adrenalina de la médula suprarrenal.

El mecanismo inotrópico de las catecolaminas parece tener por lo menos dos componentes; uno que consiste en un aumento en la entrada de calcio con el potencial de acción y otro, que depende de la liberación de energía iniciada por la estimulación y la formación de AMP cíclico. El músculo ventricular es aeróbico, cuando hay una deficiencia en el aporte de oxígeno hipoxia dis-

minuira la producción de fosfatos de alta energía y en consecuencia se reducirá la contracción. La acidosis parece actuar por medio de una disminución en el calcio accesible a la contracción, pero el mecanismo íntimo de tal efecto aun no es claro. La alteración más frecuente en la contractilidad es su depresión que resulta en un estado de insuficiencia cardíaca (4).

La diferencia más importante que se encuentra entre los dos tipos de músculos estriados; esquelético y cardíaco, está en los mecanismos por los que ellos regulan su función. El músculo liso utiliza dos formas para modular su actividad: la suma de los impulsos o tetanización y el reclutamiento de las fibras, que es el proceso por el cual se aumenta el número de neuronas motoras activas que determina la actividad de los estímulos sinápticos que llegan del cerebro y médula espinal. Mientras que el corazón no utiliza ninguno de estos dos mecanismos. El corazón regula su función por medio de cambios en la longitud inicial de la fibra y modificando su actividad intrínseca, o sea su contractilidad.

El músculo esquelético no utiliza los mecanismos de regulación del miocardio porque la longitud inicial de la fibra está predeterminada por la inserción del músculo en los tendones de las articulaciones, por lo que éste no es un mecanismo efectivo y además contiene un sistema de retículo sarcoplásmico y cisternas terminales muy bien organizado y muy abundante, el cual determina que la fracción de Ca^{+2} accesible en la contracción sea superior al que se requiere para saturar todas las moléculas de troponina involucradas en la contracción por lo que es muy sensible a cambios en la entrada de Ca^{+2} , por el contrario, el músculo cardíaco no utiliza estos mecanismos ya que en lo que se refiere a la suma de los impulsos, la duración tan prolongada del potencial de acción cardíaco impide la tetanización. En cuanto sea un sincicio funcional determina que en cada latido se activen todas las células, por lo que no puede haber cambios en el número de unidades que participan en cada contracción.

Musculo cardíaco

Desde el punto de vista funcional el músculo cardíaco se divide en tres masas principales: auricular, ventricular y tejido muscular especializado adaptado para conducir la excitación a través del miocardio, en lugar de contraerse. No hay continuidad funcional entre las masas auricular y ventricular, excepto en el sistemas de conducción o tejido de marcapaso, formado por el nodo aurículo ventricular (NAV), el haz de His y sus ramificaciones de Purkinje.

Los músculos auricular y ventricular funcionan cada uno como un conjunto coordinado. Las fibras musculares se anastomosan, de tal forma que se disponen como una red, las fibras separan unas células de otras y contienen los discos intercalares, que son

regiones formadas por las membranas plasmáticas adyacentes; dichos discos funcionan como vías de baja resistencia eléctrica (400 veces menor que la del resto de la membrana) a través de las cuales pasa corriente de una célula a otra permitiendo que el músculo se excite como una sola unidad, por lo que se le ha llamado sincicio. Las células cardíacas se encuentran rodeadas de una membrana plasmática, llamada sarcolema, poseen un núcleo dispuesto en el centro, retículo sarcoplásmico y contienen organelos como cualquier otra célula.

El músculo cardíaco presenta estriaciones tanto longitudinales como transversales debido a la presencia de filamentos gruesos y delgados compuestos por las proteínas miosina y actina respectivamente. En un músculo en reposo; los filamentos están parcialmente interdigitados, lo que determina que haya segmentos longitudinales de la miofibrilla en que solo hay un tipo de filamentos, mientras que en otros segmentos están los dos tipos. En los primeros, la miofibrilla presenta isotropía óptica, porque cuando las atraviesa un haz de luz polarizada lo desvía en una sola dirección por lo que se les llama bandas I (isotropas), mientras que en los segundos, la miofibrilla presenta anisotropía óptica, desvía la luz polarizada en dos formas distintas y por esto se denominan bandas A (anisotropas). Los filamentos se encuentran dispuestos en sarcómeros (fig. 1) al igual que en el músculo esquelético.

En un extremo de los filamentos delgados se encuentran unidos a la banda Z. La banda A incluye la región de superposición con los filamentos de miosina y actina. La banda I está dividida por la banda Z y contiene solamente filamentos delgados de actina. La banda H es la región de la banda A donde los filamentos de miosina no se combinan con los de actina (fig. 1).

Entonces, el segmento de miofibrilla comprendido entre dos membranas Z es lo que forma una sarcómera y se considera la unidad básica del sistema contractil (2).

Proceso de contracción

Durante la tracción pasiva y la contracción activa de una fibra muscular, la anchura de la banda A sigue constante; el cambio de longitud proviene de cambios en la anchura de las bandas I y H.

El acortamiento de la fibra muscular se provoca no por cambios de longitud de los filamentos, sino porque los filamentos se deslizan unos sobre otros. La contracción depende del incremento de la interdigitación de los filamentos, mientras que al estirar el músculo la interdigitación disminuye (fig.1).

El proceso de la contracción se supone que depende de la formación de puentes cruzados entre las cabezas globulosas de los filamentos de actina y miosina. El acortamiento activo depende de

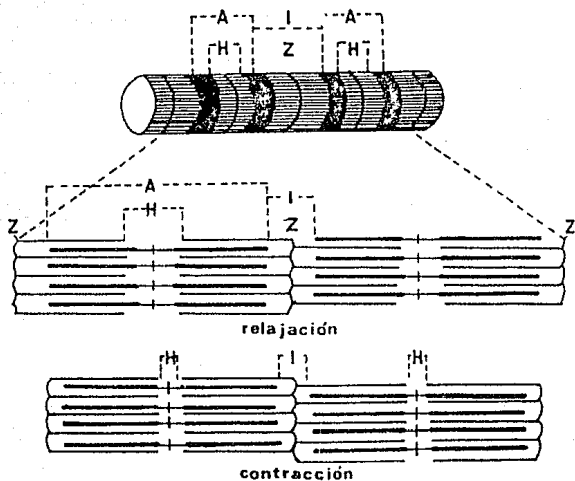


FIG.1 TIPOS DE BANDAS EN UNA MIOFIBRILLA (PARTE DE ARRIBA) SEGUN LA POSICION DE LOS MIOFILAMENTOS DE MIOSINA (GRUESOS) Y ACTINA (DELGADOS) EN LAS SARCOMERAS. EN ESTADO DE CONTRACCION (PARTE DE ABAJO), LOS MIOFILAMENTOS GRUESOS Y DELGADOS SE DESLIZAN UNOS SOBRE OTROS SIN PERDER DIMENSION, LO QUE PRODUCE UN ESTRECHAMIENTO DE LAS BANDAS H, PERO SIN PRODUCIR NINGUN CAMBIO EN LAS BANDAS A QUE REFLEJAN UNA LONGITUD CONSTANTE.

una rápida producción y desintegración de puentes cruzados sucesivos, cada uno se separa y se vuelve a unir en otro nivel del filamento delgado, es decir, el filamento delgado se desliza a lo largo del filamento grueso. A medida que tiene lugar el acortamiento se van formando más puentes cruzados al incrementarse la superposición.

La relajación de la longitud hasta la de reposo tiene lugar porque los puentes cruzados se rompen y permiten que los filamentos se reajusten al grado de interdigitación. En reposo, la cantidad de calcio libre en el sarcoplasma es baja y el complejo de troponina-tropomiosina, junto con magnesio y ATP intacto, impide la formación de puentes cruzados entre filamentos gruesos y delgados de manera que persiste la relajación. Cuando se ha liberado calcio, por el retículo sarcoplásmico; la ATPasa de miosina es activada, el ATP es hidrolizado y tiene lugar la interdigitación de filamentos con la formación de puentes cruzados (2).

Acoplamiento entre excitación-contracción-relajación

Uno de los factores que más influyen en la determinación de las características de la fisiología de la contracción, es el contenido celular de calcio que es relativamente bajo. Esto es debido a la estructura de las células miocárdicas. La fig. 2 (A) resalta algunos de los puntos sobresalientes como son; el gran diámetro de los tubulos T, la escasez relativa de retículo sarcoplásmico longitudinal y el tamaño reducido de las cisternas sarcoplásmicas. También se señala la abundancia de mitocondrias y la proximidad de las cisternas a los tubulos T.

En el corazón de mamífero, el acoplamiento entre excitación-contracción-relajación mantiene la siguiente secuencia:

- 1.- La célula se despolariza y desarrolla un potencial de acción que se propagará a todo lo largo del sarcolema.
- 2.- Dicho potencial de acción conducirá hasta el interior de las células a través de los tubulos T.
- 3.- Tal despolarización de los tubulos T determina que las cisternas sarcoplásmicas liberen calcio que se encuentra depositado en su interior.
- 4.- El calcio se combina con las proteínas contractiles, que se activarán bloqueando su acción inhibitoria y se formaran puentes cruzados entre la actina y la miosina, llevándose a cabo la contracción.
- 5.- La ATPasa de miosina, que desdobra el ATP ligado, suministrado la energía necesaria para el movimiento de los puentes.

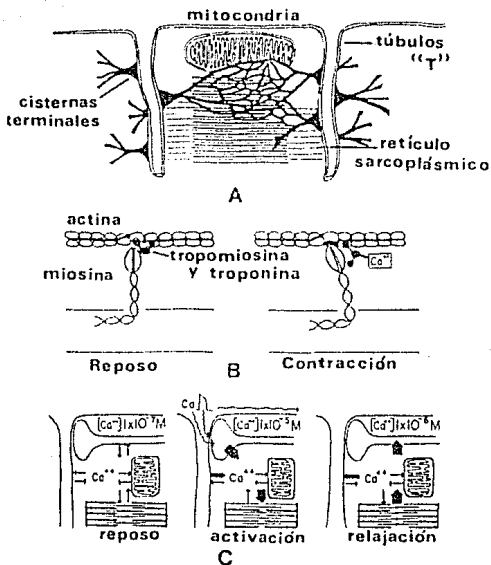


FIG.2 (A) PORCIÓN DE LA CELULA MIOCÁRDICA QUE INCLUYE EL SISTEMA DE TUBULOS T, TUBULOS LONGITUDINALES, LAS CISTERNAS TERMINALES, LAS MITOCONDRIAS Y LAS MIOFIBRILLAS. (B) PROTEÍNAS CONTRACTILES Y SUS INTERRELACIONES EN CONDICIONES DE REPOSO O DE ACTIVACION. (C) MOVIMIENTOS DE Ca^{2+} EN CONDICIONES DE REPOSO, ACTIVACION Y EN EL INICIO DE LA RELAJACION.

- 6.- El retículo sarcoplásmico transporta calcio a su interior y así disminuye la cantidad de calcio libre citoplásmico.
- 7.- Esta disminución del calcio libre determina que el calcio se desprenda de las proteínas contractiles.
- 8.- La relajación se lleva a cabo.

La porción intermedia de la fig. 2 B, muestra las proteínas contractiles e ilustra los cambios que sufren en la contracción. El diagrama central izquierdo representa las condiciones de reposo; el derecho, la contracción. En ambos puede verse el filamento grueso y delgado. El filamento grueso solo contiene una proteína, la miosina. Esta molécula consiste de dos partes principales: una cola que va formar la estructura del filamento grueso y que está compuesta de dos cadenas alfa helicoidales enrolladas una en la otra y, una cabeza globular doble, que contiene cuatro subunidades ligeras, que son las que parecen tener la actividad enzimática. Los puentes cruzados estarán formados por las cabezas de esta molécula, que se proyectan en ángulo recto al eje del filamento.

El filamento delgado esta formado por la actina, que es una proteína globular con una forma ligeramente ovoidal. La actina se encuentra en el musculo como un polímero de actina-F, que forma el esqueleto de filamento delgado. La estructura básica del filamento delgado es la de una doble espiral enrollada. Como se muestra en la porción central de la fig. 2 B.

Otro de los componentes del filamento delgado es la tropomiosina, una proteína que contiene dos cadenas peptídicas en forma de espiral enrollada. Como se muestra en la figura, cada molécula de esta proteína se encuentra en cada uno de los surcos longitudinales que se hallan entre los dos polímeros de actina-F en el filamento. Su función es la de modular, junto con la troponina, las interacciones entre la miosina y la actina.

La troponina es la última proteína contractil que se descubrió y se sabe que está compuesta por tres tipos de proteínas, cada una con características propias. La troponina junto con la tropomiosina regulan las interacciones entre la actina y la miosina.

Los tres componentes de la troponina son las troponinas "I", "T" y "C". La troponina "I", es la que ejerce el efecto inhibitorio y modulador sobre la interacción entre actina y miosina y se encuentra unida a la troponina "C". Esta última se combina con el calcio, y se ha demostrado que cada molécula contiene cuatro sitios de combinación con el calcio, dos de afinidad baja y dos de muy alta afinidad. La troponina "C" esta unida por un lado a

la troponina "I" y por otro lado a la "T". Este último componente tiene como función principal unir al complejo de troponina con la tropomiosina.

Se observa las relaciones de las proteínas contractiles tanto en reposo como en actividad (fig.2). La izquierda señala la interacción entre la cabeza de miosina y el monómero de actina no se puede llevar a cabo porque la troponina "I" impide la reacción. Al aumentar la concentración de calcio libre, éste se combina con la troponina "C" y, una vez que se satura, produce un cambio conformacional tanto en la troponina "I" como en la tropomiosina lo que permite, ahora, que la cabeza de miosina reaccione con la actina y que la contracción se lleve a cabo. El esquema central derecho incluye asimismo la flexión de la cabeza de la miosina, que da la propulsión al filamento delgado.

En la parte inferior de la fig. 2 representan: a la izquierda, las condiciones de reposo; al centro, la activación y a la derecha, el principio de la relajación. Los diagramas resumen los puntos más importantes con respecto a los movimientos de calcio durante el ciclo de excitación, contracción y relajación (1).

En estado de reposo, se puede ver como el calcio libre intracelular está en concentraciones de alrededor de 1×10^{-7} M; en condiciones de equilibrio, con las estructuras afines al calcio: la membrana celular, el retículo sarcoplásmico, las mitocondrias y las proteínas contractiles. Cuando la célula se activa, el calcio libre intracelular aumenta de manera muy notable, fundamentalmente gracias a dos mecanismos: el calcio que entra a través de la membrana y, más importante aún, el que se libera de las cisternas sarcoplásmicas. Se han propuesto dos hipótesis para explicar el mecanismo que induce a la liberación del catión de las cisternas. La primera sugiere que la despolarización de los tubulos "T", cambia el potencial del interior de la cisterna lo cual produce la liberación de calcio. La otra hipótesis plantea que el calcio que entra con el potencial de acción sirve como gatillo y produce la liberación del ion contenido en las cisternas. Se ha sugerido recientemente que es posible que los dos mecanismos descritos coexistan tanto en el músculo cardíaco como en el músculo esquelético pero que el primero es predominantemente en el músculo esquelético mientras que el segundo es más importante en el cardíaco.

Independientemente de cuál sea el mecanismo responsable de esta liberación, el aumento en el calcio libre promueve la combinación del ion con la troponina y la contracción se lleva a cabo (1).

Probablemente, como resultado de este gran aumento en la fracción de calcio libre, la ATPasa sensible al calcio que se encuentra en el retículo sarcoplásmico se activa y se transporta el catión al interior del retículo longitudinal, lo que produce la

inversión en los movimientos del ion que se muestra en el esquema inferior derecho de la figura 2 B. La disminución en la concentración producida por la actividad de la bomba hace ahora que el calcio se desprege de la troponina "C" y pase la fracción libre, para intentar conservar un estado de equilibrio. Esto traera como consecuencia la relajación. El calcio que entro con el potencial de acción, saldra de la célula, para conservar asimismo concentraciones estables (1).

Inervacion del corazon.

El sistema nervioso autónomo (SNA) regula la actividad del corazon, musculo liso vascular, bronquial, visceral, secreciones, algunos mecanismos reguladores de la temperatura, etc. Algunos organos, como el corazon y los intestinos, tienen un ritmo propio que esta influido pero no iniciado por la actividad nerviosa.

El SNA se compone de axones eferentes que dejan el sistema nervioso central (SNC), aparte de los que inervan el musculo esquelético (motoneuronas). Dichos axones establecen sinapsis con neuronas periféricas las cuales, a su vez, inervan las células efectoras. Los cuerpos celulares de muchas neuronas se acumulan y forman ganglios en los troncos nerviosos. Las células que forman sinapsis con las células ganglionares se llaman fibras autónomas preganglionares; los axones que inervan las células efectoras se llaman fibras posganglionares (fig.3).

El SNA se ha dividido en dos: el simpático y el parasimpático. La distinción entre los dos parte inicialmente en base a su anatomía, según el lugar donde esta localizado el ganglio del axón autónomo preganglionar en el sistema nervioso (fig.3).

El corazon esta inervado por fibras de ambos tipos, simpáticas y parasimpáticas. La actividad nerviosa autónoma nerviosa modifica continuamente el ritmo básico del corazon, que es iniciado por el tejido de conducción o marcapaso del nodo senoauricular (3).

El SNA posee neuronas con una diferenciación química entre ellas, que regula las actividades del sistema circulatorio y de una variedad de organos y glandulas. Su organización química es relativamente simple: las neuronas post-sinápticas parasimpáticas secretan acetilcolina y las simpáticas secretan noradrenalina; ellas son las terminales llamadas colinérgicas o adrenergicas respectivamente, fig. 3. En las células musculares del corazon las cuales se contraen espontáneamente y rítmicamente, son iner-

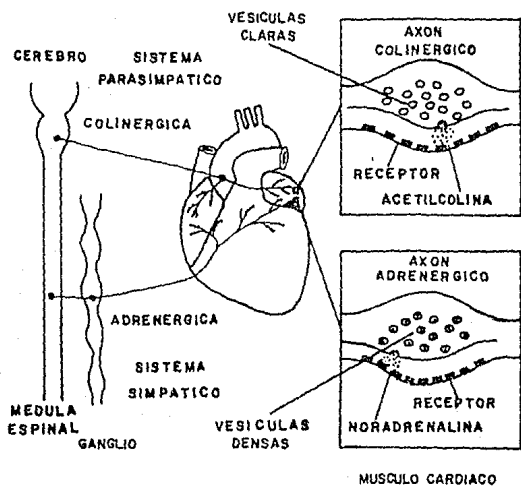


FIG. 3. INERVACION SIMPATICA (TERMINALES ADRENERGICAS) Y PARASIMPATICA (TERMINALES COLINERGICAS) EN EL CORAZON.

vadas por ambos sistemas . En situaciones de tensión los nervios simpáticos secretan noradrenalina, la cual hace que los latidos del corazón sean más frecuentes y fuertes. En periodos de calma e inactividad los nervios parasimpáticos secretan acetilcolina, la cual hace que los latidos del corazón sean menos frecuentes (4).

II.- ASPECTOS FUNCIONALES DEL SISTEMA ADRENERGICO

El sistema adrenergico o simpático incluye todo el conjunto de formaciones del sistema cromafin. Este sistema es parte del sistema nervioso autónomo encargado de la regulación de las funciones vitales y para ello utiliza a las catecolaminas como mediadores humorales entre las células nerviosas y las células del órgano efector.

El sistema nervioso simpático comprende las formaciones neurosimpáticas que emergen de la cadena paravertebral, la médula adrenal, el cuerpo carotideo, el órgano de Lushka y otros conjuntos celulares distribuidos en varias partes del organismo, por ejemplo, algunos vasos, en el riñón y en el corpúsculo glomerular (5).

Las catecolaminas son compuestos hormonales o neurohormonales de bajo peso molecular derivadas del aminoácido fenilalanina. Su estructura química está constituida por un núcleo aromático catecólico y por una cadena alifática de dos átomos de carbonos y un grupo amigeno: $R: CH_2 - NH_2$. Las principales catecolaminas naturales son la adrenalina, la noradrenalina y la dopamina. La adrenalina es la hormona de la médula adrenal de las glándulas suprarrenales. La noradrenalina y la dopamina, son neurohormonas producidas en las terminaciones nerviosas y posiblemente en pequeñas formaciones del tejido cromafin, incluidas en el corazón, el cuerpo carotideo y posiblemente el riñón. Estas tres catecolaminas naturales se encuentran en relación con importantes procesos fisiológicos y fisiopatológicos en el sistema cardiovascular, en el sistema nervioso y en otros sistemas de igual importancia (6).

Neurotransmisión

La unidad adrenergica se centraliza en la neurotransmisión, es decir, la transmisión química natural que une a los centros vitales del sistema nervioso a través de neurosecreciones con los órganos efectores que pueden ser vasos sanguíneos, músculo liso, glándulas exocrinas o endocrinas.

La neurotransmisión incluye las siguientes estructuras: a) la célula nerviosa, con su prolongación cilindroaxil y sus dendritas que llegan hasta la intimidad del tejido inervado. En el caso de la médula adrenal está integrada por células sin prolongación cilindroaxil y vierten su contenido al torrente circulatorio; b) la hendidura sináptica, el sitio donde se vierte el contenido vesicular de la neurona, que libera sus catecolaminas; c) el órgano efector, es una o varias células simultáneamente que responden a un estímulo adrenergico, que

pueden ser una glándula sudorípara, un músculo liso, miocardio o vasos sanguíneos.

A la unidad adrenergica se le atribuyen las funciones en el recambio de catecolaminas: síntesis, almacenamiento, liberación e inactivación. Los sistemas enzimáticos que catalizan la formación de catecolaminas existen en neuronas adrenergicas simpáticas, en neuronas del sistema nervioso central, y las células de la médula adrenal de las glándulas suprarrenales y las cromafines en otros tejidos. La vía sintética llega hasta noradrenalina en los nervios simpáticos y en algunas neuronas del sistema nervioso central; en otras neuronas centrales la síntesis se interrumpe con la formación de dopamina, el transmisor de los llamados nervios dopaminérgicos. En las células cromafines la síntesis prosigue hasta la formación de adrenalina. La síntesis de catecolaminas inicia con los aminoácidos esenciales fenilalanina y tirosina, que provienen de la dieta (fig 4)

Las catecolaminas sintetizadas se almacenan dentro de la célula nerviosa o de la médula adrenal, integradas en las vesículas del citoplasma o axoplasma. El estímulo fisiológico del sistema nervioso determina que las catecolaminas se liberen de las vesículas y migren hacia la periferia en la hendidura sináptica por exocitosis. En este proceso intervienen el calcio y el ATP regulados por un mecanismo de contrabalance relacionado a la misma síntesis y captación. Una vez realizado esto, se inicia el mecanismo de la inactivación de la acción biológica; tal efecto se realiza en parte por la propia neurona al reincorporar a las catecolaminas libres dentro de su citoplasma (5).

Receptor adrenergico.-

Las hormonas viajan para interactuar con sus células blanco, en las cuales se encuentran los sitios receptores. Un receptor es una substancia capaz de reconocer e interactuar con el mensajero y como el resultado de tal interacción con el mensajero se produce la respuesta de la célula. Los receptores son proteínas grandes de peso molecular elevado, tienen estructura tridimensional. Su superficie es el sitio de reconocimiento al que se une el mensajero. La superficie del receptor y del mensajero se adaptan perfectamente una a la otra y es la base de la alta selectividad de los receptores. El sitio receptor también tiene cierta afinidad, esto es, la medida de la facilidad de interacción o de acoplamiento entre el mensajero y receptor.

Otra característica importante en la comunicación celular es la de actividad, es decir, la capacidad del mensajero para producir el efecto. Dicho efecto puede ser agonista o antagonista. Cuando es agonista; el compuesto es capaz de interactuar con el receptor y producir una respuesta en la célula; cuando el efecto es antagonista (anti-agonista), la substancia

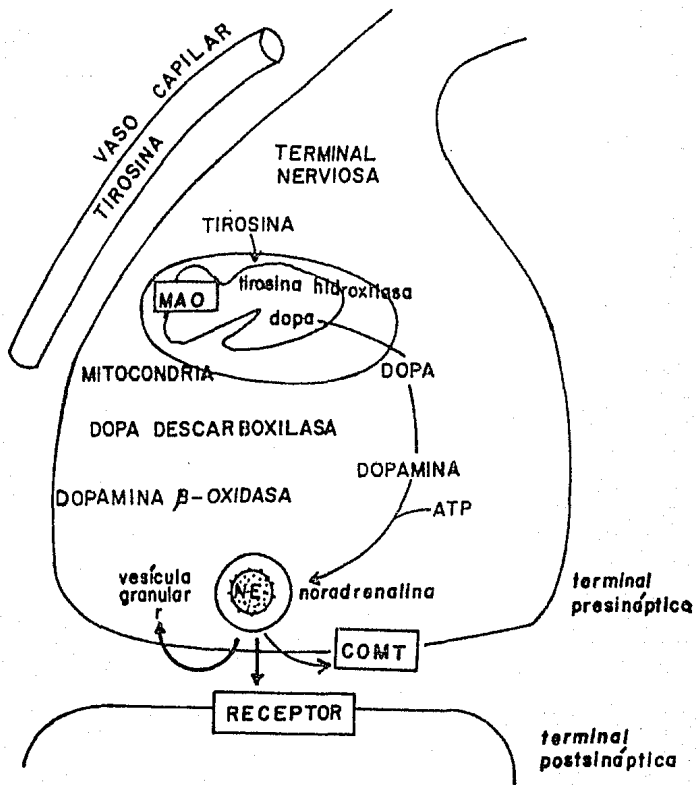


FIG.4 UNION NEUROEFECTORA Y SINTESIS DE NORADRENALINA.

no produce efecto en la célula (no tiene actividad), pero es capaz de interactuar con el receptor, ya que si tiene una buena afinidad por él. Al interactuar con el receptor ocupa el sitio que pudiera ocupar el mensajero natural u otro agonista, es decir, inhibe o antagoniza el acoplamiento mensajero receptor y así bloquea el efecto (7).

Transducción y formación de segundos mensajeros

Para que actúen los mensajeros (hormonas o neurotransmisores) es necesaria la presencia de sus receptores específicos en la membrana plasmática de las células. El factor importante para desencadenar el efecto es la interacción hormona-receptor, la cual ocurre en el exterior de la célula y los efectos se llevan a cabo en el interior por medio de la transducción que implica el mensajero y la señal intracelular que sería el segundo mensajero, es decir, es el proceso que se lleva a cabo desde el momento de la activación del receptor hasta la formación del segundo mensajero, ya que es la transformación de un tipo de señal en otra y posteriormente la propagación de la señal intracelular (7).

El sistema adenilato ciclasa

La adenilato ciclasa produce AMP cíclico que es parte de un sistema general de regulación funcional cuya actividad es iniciada por acción de hormonas y neurotransmisores. El sistema se compone de tres unidades funcionales (fig. 5): 1) el receptor localizado en la superficie de la membrana el cual se une a la hormona o neurotransmisor; 2) la unidad catalítica de la adenilato ciclasa, en el interior de la membrana; y 3) la proteína reguladora nucleótido de guanina o guanosina trifosfato (GTP). Dos tipos de unidades se han distinguido funcionalmente, las que actúan estimulando (Ns) y las que inhiben la enzima (Ni) por la GTP (8).

Al acoplarse un agonista con su receptor este último sufre una modificación conformacional, siendo capaz de interactuar con su respectiva proteína Ni; si activa a la adenilato ciclasa el receptor interactúa con Ns, y si inhibe a la ciclasa será Ni. Finalmente son estas proteínas quienes regulan la actividad de la adenilato ciclasa, ya sea activándola o inhibiéndola.

Las señales hormonales se producen en segundos y desaparecen rápidamente. La separación del agonista de su receptor hace que gran parte del proceso se revierta y cese el efecto. El mismo segundo mensajero, el AMP cíclico, se transforma a AMP no cíclico por una enzima llamada fosfodiesterasa, y de este modo se

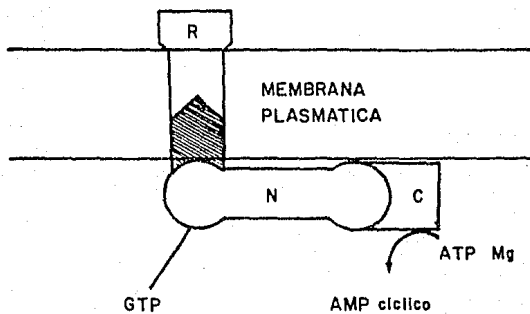


FIG.5 REPRESENTACION ESQUEMATICA DE LOS COMPONENTES Y ORGANIZACION DE LA HOLOENZIMA ADENILATO CICLASA RESPONSABLE DE LA REGULACION POR HORMONAS Y GTP.

suspende la señal intracelular (7).

La acción de las catecolaminas es iniciada por su interacción con los receptores, posteriormente la información traducida y generada por un segundo mensajero el cual media los efectos intracelulares. Recientes avances en la farmacología de la acción hormonal indican que existen varios tipos de receptores para una sola hormona o neurotransmisor. Cuatro clases de receptores han sido reconocidos para las aminas adrenérgicas; α_1 , α_2 , β_1 y β_2 que fueron clasificados por Alquist (44) según sus respuestas a seis aminas simpaticomiméticas. Se ha observado que estos receptores adrenérgicos se asocian con tres sistemas efectores o amplificadores los cuales generan señales intracelulares o segundos mensajeros.

Los receptores beta-adrenérgicos (β_1 y β_2) estimulan a la adenilato ciclasa, es decir, tienen el mismo mecanismo para la señal de transducción. Los receptores alfa-adrenérgicos (α_1 y α_2) poseen diferentes mecanismos para su señal de transducción. Se sugiere que al incrementarse la concentración en el Ca^{+} intracelular en el citoplasma puede actuar como un segundo mensajero intracelular o factor acoplante. A su vez, el fosfatidilinositol incluye, mecanismos de acción de hormonas y neurotransmisores que actúan a través de señales de calcio incluyendo a las aminas adrenérgicas α_1 . Los adrenoreceptores α_2 actúan inhibiendo a la adenilato ciclasa. Los subtipos de receptores α y β pueden coexistir en la misma célula (9).

Receptor dopaminérgico

Las acciones de la dopamina se parecen a las de la noradrenalina, pero son mucho más débiles, y carecen del grupo β -hidroxilo de manera que no pueden combinarse con la parte de los receptores de noradrenalina que corresponden a tal grupo. La dopamina actúa sobre receptores que son diferentes de los receptores α y β adrenérgicos y que, de hecho, son receptores específicos para dopamina que causan vasodilatación.

Existen datos que indican la existencia de receptores específicos para dopamina. Algunos invertebrados marinos poseen fibras dopaminérgicas que inervan el tejido receptor; éste responde específicamente a la dopamina. Hay neuronas dopaminérgicas en el sistema nervioso de mamíferos y la dopamina liberada por ellas como transmisor actúa sobre receptores para dopamina con los cuales tales neuronas establecen conexiones simpáticas. La presencia específica de receptores específicos para dopamina similares a los descubiertos a los mencionados anteriormente se ha demostrado en músculo liso o vascular de riñones e intestinos. La dopamina produce vasodilatación en estos órganos y la respuesta no es bloqueada ni por antagonistas α ni β

riñones e intestinos. La dopamina produce vasodilatación en estos órganos y la respuesta no es bloqueada ni por antagonistas alfa ni beta adrenérgicos (41).

Activación y bloqueo de los receptores adrenérgicos

Los efectos de los fármacos simpaticomiméticos reproducen las respuestas de la estimulación de los nervios simpáticos con algunas diferencias en la intensidad de su acción. Sus acciones se dividen en cinco grupos (10):

- 1.- Acción excitatoria periférica; en algunas formas de músculo liso, como la de los vasos sanguíneos de la piel y de las mucosas y en la secreción de las glándulas salivales.
- 2.- Acción inhibitoria periférica; en músculo liso como en intestino, el árbol bronquial y los vasos sanguíneos que irrigan los músculos esqueléticos.
- 3.- Acción excitatoria cardíaca; que aumentan la frecuencia y fuerza de contracción.
- 4.- Acciones metabólicas; como aumento en la glucogenólisis en el hígado y los músculos, y la liberación de ácidos grasos del tejido adiposo.
- 5.- Acciones excitatorias en el sistema nervioso central como estimulación respiratoria, intensidad del estado de vigilia y disminución del apetito.

La adrenalina se considera como el prototipo de amina simpaticomimética capaz de activar los receptores alfa y beta. La adrenalina sobre músculo cardíaco es un potente estimulador. Su acción es directamente en los receptores beta del miocardio, de las células del marcapaso y de los tejidos de conducción. La frecuencia cardíaca aumenta y el ritmo se altera (42).

La metoxamina es la amina considerada como activadora específica de los receptores alfa. Así como la fenilefrina, la noradrenalina y el metaraminol o aramina, activan los receptores alfa. Son llamadas aminas presoras y son empleadas en el tratamiento de ciertos estados hipotensivos y en ciertos tipos de shock cardiogénico.

La activación de los receptores beta produce efectos motores cardíacos sobre la frecuencia y fuerza de contracción, dilatación

bajo la administración de isopropilarterenol, llamado también isoproterenol o isoprenalina, siendo el prototipo activador específico de los receptores simpáticos B. Ni aun a dosis fuertes produce activación de los receptores α (10).

Bloqueadores adrenergicos

Los bloqueadores adrenergicos entran en la categoría del llamado bloqueo por competencia, es decir, de competencia entre dos compuestos quimicos (con grupos estructurales parecidos) por la misma población de receptores. Se llama también bloqueo por ocupación, sujeto a equilibrio. Cuando la ocupación es total en una misma población es mucho más difícil romper el bloqueo. Cuando no es total se puede romper el bloqueo aumentando la concentración del activador.

Hay bloqueadores adrenergicos de dos tipos: los que bloquean los receptores α y los que bloquean los receptores B. Los bloqueadores α no bloquean los receptores B y viceversa. La especificidad de los bloqueadores es mucho más selectiva que la especificidad de las aminas simpaticomiméticas, pues hay aminas con acciones sobre ambos tipos de receptores y algunas a dosis terapéuticas activan solo un tipo de receptor y pueden activar el otro tipo de receptor aumentando su concentración en los tejidos.

Bloqueo de los receptores α

La adrenalina activa tanto los receptores α como los B. Al suprimir, por bloqueo de los receptores α , la acción presora de la adrenalina, se exhibe sólo la acción hipotensora causada por activación de los receptores B.

El bloqueo de los receptores α da lugar a la inhibición de las respuestas de las aminas que son capaces de activarlos. Dicho bloqueo se ejerce naturalmente sobre las estructuras que poseen receptores α , las estructuras que poseen receptores B no son afectadas por los bloqueadores α . Dichos bloqueadores no tienen acción sobre la estimulación del simpático cardiaco o bronquial ni sobre los efectos de las catecolaminas sobre el corazón o sobre los bronquios.

Algunos bloqueadores α adrenergicos son los alcaloides del cornezuolo de centeno como la ergotamina y la mezcla de alcaloides de ergotoxina (constituida por ergocristina, ergocriptina y ergocorina), la dibenamina y la fenoxibenzamina o dibencilina, la fentolamina o regitina y la tolasolina o priscoлина.

Bloqueo de los receptores β

El dicloroisopropilarterenol (DCI), es capaz de suprimir la activación de los receptores β producida por la adrenalina y el isopropilarterenol, antagoniza las acciones del simpático y de aminoras simpaticomiméticas en el corazón. Este compuesto antagoniza también la activación de los receptores β en los bronquios y en los vasos de los músculos esqueléticos. El propranolol, otro bloqueador de los receptores β , no tiene la fuerte acción simpaticomimética del DCI.

Con los bloqueadores de los receptores simpáticos β se han podido antagonizar las siguientes acciones adrenergicas atribuidas a la activación de dichos receptores: vasodilatación adrenergica; aumento de la frecuencia cardiaca, de la fuerza de contracción del corazón y de las acciones sobre la circulación coronaria por las catecolaminas o por la estimulación simpática; broncodilatación; relajación del útero en la mujer y la relajación intestinal que persiste después del bloqueo de los receptores α (11).

III.- NEURORREGULADORES Y PRODUCTOS DE CONDENSACION DE CATECOLAMINAS (TETRAHIDROISOQUINOLEINAS)

En la actualidad, la distinción entre neurotransmisor y neurohormona se ha venido perdiendo. Se ha encontrado que el cerebro contiene también numerosos compuestos que solían considerarse presentes en las glándulas endocrinas. Además, los mecanismos de acción de la mayoría de los neurotransmisores con los de las hormonas a nivel de sus receptores, son notablemente parecidos; ambos grupos de compuestos producen una interacción con su receptor que ocasionan cambios iónicos, o químicos involucrando en la mayoría de las veces al AMP o al GMP cíclicos, de tal manera que tanto el neurotransmisor como la neurohormona al activar el receptor provocan reacciones en cascada con activaciones sucesivas que amplifican la magnitud total de la respuesta a partir de una mínima cantidad del mensajero.

Se ha propuesto una clasificación de las sustancias que participan en las funciones del sistema nervioso y del sistema endocrino tomando en cuenta el papel que desempeñan, ya sea, como neurotransmisores, neurohormonas o neuromoduladores, todos son sintetizados, almacenados y liberados activamente por las neuronas (12,13):

Neurotransmisores.-son compuestos que tienen la capacidad de interactuar "in-situ" con un receptor específico post-sináptico y ocasionar cambios en la excitabilidad de la membrana neuronal (dopamina, noradrenalina, adrenalina, serotonina, histamina).

Neurohormonas.- se consideran compuestos muy parecidos a los neurotransmisores, son transportadas por el líquido extracelular o por la sangre hasta el órgano blanco, en donde se combinan con sus propios receptores y ejercen su acción. Su respuesta puede ser estimulación o inhibición de la liberación de otra sustancia activa a su vez. La neurohormona, es muy semejante a cualquier otra hormona, solo que su origen es neuronal y usualmente actúa dentro del mismo sistema nervioso (dopamina, endorfina, encefalina, neurotensina, angiotensina II, hormona corticotrófica y neurotróficos).

Neuromoduladores.- serían una categoría intermedia, compuestos que no modifican directamente la conductancia o el potencial de la membrana neuronal, sino que alteran o modulan los mecanismos de activación del receptor a otros compuestos, tales como los mismos neurotransmisores. De hecho ellos requieren de la presencia de un neurotransmisor. Y no presentan un receptor específico. (tiramina, octopamina, triptamina, taurina, purinas, pirimidinas, tetrahidroisoquinoleinas (TIQS) y betacarbolinas.

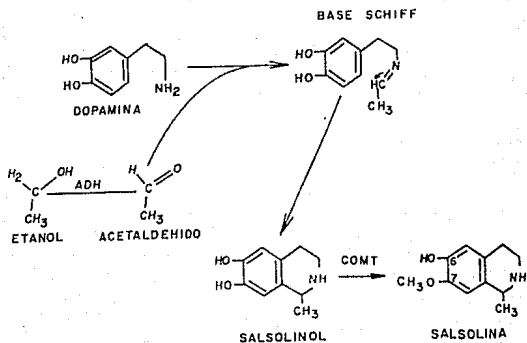
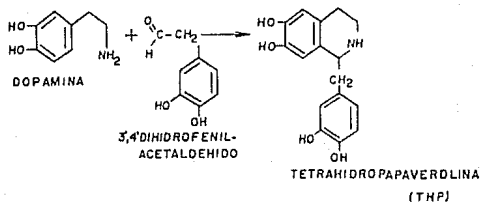
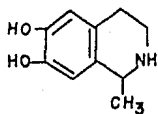
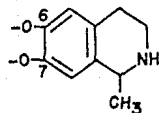


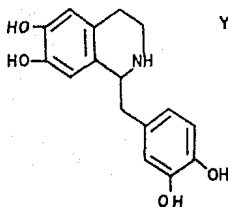
FIG.6 REACCIONES DE CONDENSACION DE LA TETRAHROPAPAVEROLINA, SALSOLINOL Y SALSOLINA.



SALSOLINOL



ISOSALSOLINA (6-OCH₃)
Y SALSOLINA (7-OCH₃)



TETRAHIDROPAPAVERDINA

FIG. 7 PRINCIPALES TIPOS (SALSOLINOL, ISOSALSOLINA Y SALSOLINA, TETRAHIDROPAPAVEROLINA) AISLADAS DE SUJETOS HUMANOS EN CASOS DE ALCOHOLISMO, FENICELTONURIA Y ENFERMEDAD DE PARKINSON (13).

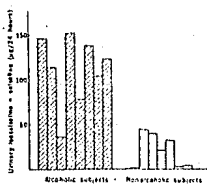
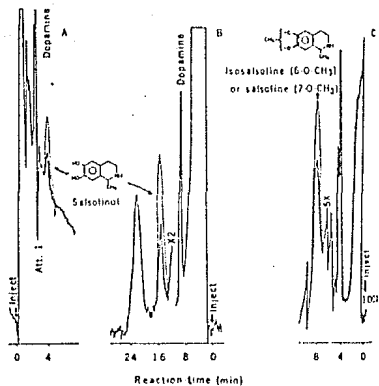


FIG.8 CUANTIFICACION DE SALSOLINOL Y SUS PRODUCTOS O-METILADOS POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA PRESION (ARRISA) Y EXCRECION TOTAL DE ISOSALSOLINA Y SALSOLINA (ARAJO) DURANTE EL PERIODO DE DESINTOXICACION DURANTE EL TRATAMIENTO CON EL ALCOHOL EN 0 SUJETOS ALCOHOLICOS (15).

Tetrahidroisoquinoleinas

De los neurotransmisores catecolaminérgicos sus derivados las tetrahidroisoquinoleinas (TIQs), han sido clasificados como neuromoduladores (12,13). La acción neurotransmisora de las catecolaminas liberadas termina en la neurona presináptica mediante sus posteriores caminos metabólicos. Los dos caminos principales en la terminación de catecolaminas son por recaptura de la propia neurona simpática y por el ataque enzimático de la monoamino oxidasa (MAO) y de la catecol-O-metiltransferasa (COMT) (14). Sin embargo, una fracción de catecolaminas, particularmente la dopamina, bajo ciertas circunstancias, puede divergir de las vías metabólicas normales a través de una condensación de aldehídos o alfacetoácidos. Esta ruta metabólica produce tetrahidroisoquinoleinas (TIQs) (15).

Los alcaloides TIQs han alcanzado recientemente actualidad por sus propiedades biológicas. En el caso de la dopamina, da lugar a productos cíclicos de catecolaminas: tetrahidropapaverolina (THP) y los derivados alcohólico y metilado, salsolinol y salsolina respectivamente (13). La THP es el producto de la condensación de la dopamina con el 3', 4' dihidroxifenilacetaldehído (16). El salsolinol es el producto de la condensación de la dopamina con el aldehído derivado de la conversión enzimática (alcohol deshidrogenasa) del etanol (17), fig. 6. La salsolina es un derivado del salsolinol, cuando el salsolinol formado endógenamente es catalizado por la COMT, esta le transfiere un grupo metilo en el C-7 y se transforma en 7-metoxisalsolinol o salsolina (14).

Estos derivados poco conocidos, son elaborados normalmente en pequeñas cantidades y tal parece que tienen un papel importante en la neuropatología de ciertas enfermedades neurodegenerativas, en las que su concentración aumenta, tales como el alcoholismo, en el que los aldehídos se producen a partir de la degradación del alcohol; la fenilcetonuria, en la que los alfacetoácidos que se encuentran elevados se condensan con la dopamina, y en la enfermedad de Parkinson, durante el tratamiento con la L-dopa. La fig. 7 muestra los catabólitos TIQs derivados de dopamina, que han sido aislados de fluidos de sujetos humanos, en casos de alcoholismo, fenilcetonuria y enfermedad de Parkinson (13).

Con respecto al alcoholismo, el salsolinol y sus compuestos O-metilados ha llamado mucho la atención por su formación endógena durante el periodo de desintoxicación durante el tratamiento con alcohol. Collins (15) demostró por cromatografía líquida de alta presión, la excreción total de salsolinol y de sus productos O-metilados (isosalsolina y salsolina) que en el cromatograma (fig. 8) se muestra en un solo componente. También

se muestra la concentración total de salsolina e isosalsolina colectada en la orina de sujetos alcohólicos y no alcohólicos, durante las 24 hrs. de desintoxicación. Los alcohólicos secretaron cantidades significativamente grandes de los compuestos a comparación de los sujetos control. Esto demuestra que el acetaldehído derivado de la ingestión de etanol secuestra las catecolaminas endógenas en humanos.

La tetrahidropapaverolina (o norlaudanosolina) es un intermediario en la biosíntesis de una variedad de complejos alcaloides incluyendo la apomorfina, los alcaloides del tipo de la morfina, tetrahidroberberina y papaverina (20). Entre este complejo grupo de alcaloides está la morfina el cual produce dependencia física. Se ha sugerido que la THP da el punto de inicio para la elaboración completa del esqueleto de la morfina por la amapola *Papaver somniferum*, (21).

La posibilidad de que los sistemas animales puedan también llevar a cabo estas reacciones específicas dan las bases de una hipótesis para la concepción bioquímica para la adicción al alcohol como una consecuencia de una persistente inhibición de la oxidación del 3,4-dihidroxifenilacetaldehído el cual ocurre con el consumo prolongado de alcohol, y por lo tanto se promueve la biosíntesis de la THP y esta a su vez promueve las reacciones subsiguientes para la formación de alcaloides del tipo de la morfina (20). Esta hipótesis relaciona la modificación del metabolismo de aminas biogénicas, dopamina, con la resultante formación de alcaloides parecidos a la morfina como una base para la dependencia al alcohol. Es decir, la biotransformación de alcohol (etanol) a un metabolito activo (acetaldehído) induce alteraciones en el metabolismo de una neuroamina (dopamina) teniendo una única actividad farmacológica (alcaloides TIQs) fig. 9. Estos alcaloides permiten la formación endógena de compuestos adictivos (22).

Síntesis de TIQs

La primera TIQ sintetizada artificialmente fue la THP, que mediante una reducción y desmetilación de la papaverina se logró este compuesto. Otros investigadores obtuvieron alcaloides TIQ por condensación de las catecolaminas con los aldehídos mediante la reacción de Pictet-Spenger. Posteriormente se demostró la formación de la THP por incubación de dopamina con la enzima MAO. Desde entonces se ha reportado la formación no enzimática de alcaloides TIQs por condensación de derivados de catecolaminas bajo condiciones fisiológicas de pH y de temperatura, con varios aldehídos, tales como: formaldehído, acetaldehído, 3,4-

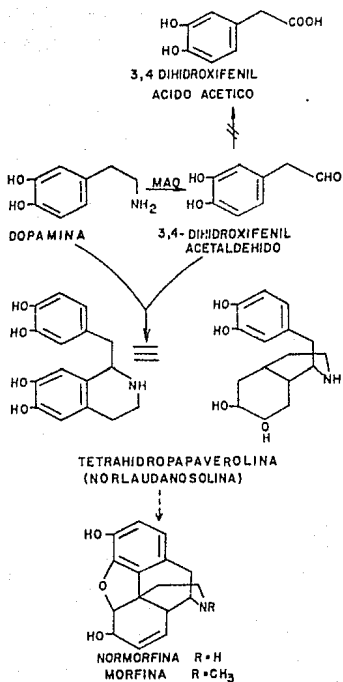


FIG. 9. REPRESENTACION DE LA HIPOTESIS QUE DESCRIBE LA ALTERACION DEL METABOLISMO DE DOPAMINA POR EL ALCOHOL, FORMANDO COMO RESULTADO ALCALOIDES DEL TIPO DE LA MORFINA COMO UNA BASE BIOQUIMICA PARA LA ADICION Y DEPENDENCIA AL ALCOHOL.

dihidroxifenilacetaldehído, fosfato piridoxal y aldehído glioxálico (18). La fig 10, muestra el núcleo isoquinoleínico en el cual se enumera cada posición en donde se pueden llevar a cabo diferentes sustituciones y las estructuras de las más comunes TIQs (19).

Propiedades farmacológicas de las TIQs

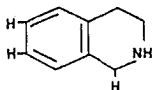
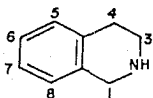
Se ha postulado que la producción endógena de estos alcaloides TIQs tiene lugar en el sistema adrenérgico central y periférico. En tales sitios pueden manifestar algunas de sus diversas acciones farmacológicas modificando la acción de las catecolaminas (14):

- 1.- Actuando como falsos transmisores.
- 2.- Interfiriendo en los sistemas enzimáticos responsables del metabolismo.
- 3.- Compitiendo por los receptores de catecolaminas
- 4.- Actuando como agonistas B-adrenérgicos.

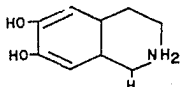
Efectos de las TIQs sobre la captación, almacenaje y liberación de aminas biogénicas

Se ha sugerido que las similitudes estructurales entre las TIQs y las catecolaminas de las cuales ellas se derivan pueden dar las bases moleculares que les confieren actividad como falsos transmisores (23). Un falso transmisor es una sustancia que se parece al neurotransmisor natural, es almacenada en un nervio y liberada por el mismo. Su acción es más débil sobre los receptores posunción que los neurotransmisores naturales; por lo tanto producen trastorno de la neurotransmisión. Los que más se han estudiado son los que substituyen la noradrenalina en los nervios simpáticos adrenérgicos (10).

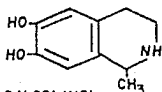
Existen bastantes evidencias para apoyar este punto de vista. Se ha demostrado en animales de experimentación, que las TIQs son biosintetizadas de catecolaminas en tejido cerebral y médula adrenal, secretadas activamente y liberadas de las ter-



TETRAHIDROISOQUINOLEINA

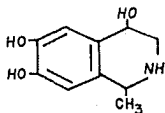


6,7-DIHIROXITETRAHIDROISOQUINLEINA

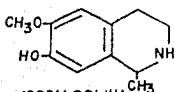


SALSOLINOL

1-METIL-6,7-DIHIROXI-TIQ

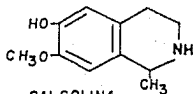


1-METILTRIHIROXI-TIQ



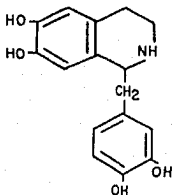
ISOSALSOLINA

6-METOXISALSOLINOL

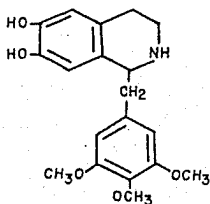


SALSOLINA

7-METOXISALSOLINOL



TETRAHIDROPAPAVEROLINA (THP)



TRIMETOQUINOL (TMQ)

FIG. 10. ESTRUCTURAS QUIMICAS DE LAS TIQS QUE HAN SIDO SINTETIZADAS.

minaciones nerviosas simpáticas y pueden modular o interferir en la neurotransmisión adrenergica. Dichas evidencias se resumen en los siguientes puntos:

- 1.- Captación y almacenaje de la $[H^3]$ 6,7-dihidroxi-TIQ in vitro e in vivo por las terminales nerviosas simpáticas que inervan el corazón de ratón (28) iris y glándulas submaxilares de rata (25,26,27,28).
- 2.- Captación y almacenaje de saisolinol ($[H^3]$) y 1-metil-4,6,7-trihidroxi-TIQ $[H^3]$ e inhibición de la captación de noradrenalina $[H^3]$ y dopamina $[H^3]$ por el saisolinol in vitro por sinaptosomas en homogenados de cerebro de rata (29) y captación en el hipotálamo y hipófisis del cerebro de rata (30).
- 3.- Almacén en vesículas de saisolinol y 6,7-dihidroxi-TIQ in vitro e in vivo (médula adrenal y nervios simpáticos) donde normalmente se almacena y se libera el neurotransmisor natural (15,18,31,32).
- 4.- Liberación de TIQs almacenadas por estimulación con acetilcolina o carbacol en médula adrenal (32) o por la estimulación preganglionar del ganglio cervical superior del iris de rata (26).

Con respecto a la captación de las TIQs por la inervación simpática cardiaca, Locke (28) demuestra la captación y almacenaje de la $[H^3]$ -6,7-dihidroxi-TIQ (producto de la condensación de la dopamina con el formaldehído) por la inervación simpática del corazón de ratón. Para comprobar que la captación fue efectivamente por la inervación nerviosa simpática, la captación fue bloqueada con bloqueadores específicos de la captación de la noradrenalina: desmetilimipramida (DMI) y cocaína, y por la desnervación química con 6-hidroxi-dopamina (6-OHDA).

La fig. 11, muestra la captación de la 6,7-dihidroxi-TIQ por la inervación simpática cardiaca de ratón en desintegraciones (DPM) para un grupo de seis experimentos. Cuando los animales fueron tratados con DMI o con cocaína, la captación de la $[H^3]$ -TIQ fue marcadamente disminuida. La DMI la disminuyó en los experimentos 1 (71%), 2 (79%) y 3 (48%). La cocaína disminuyó la captación en los experimentos 5 (67%) y en el 6 (61%). Cuando los animales fueron tratados con 6-OHDA, la captación de la $[H^3]$ -TIQ por la inervación fue también disminuida en los experimentos 3 (52%) y 4 (53%).

Lo anterior nos indica que la mayor captación de la fracción de la $[H^3]$ -6,7-dihidroxi-TIQ fue por las terminales nerviosas adrenergicas cardiacas.

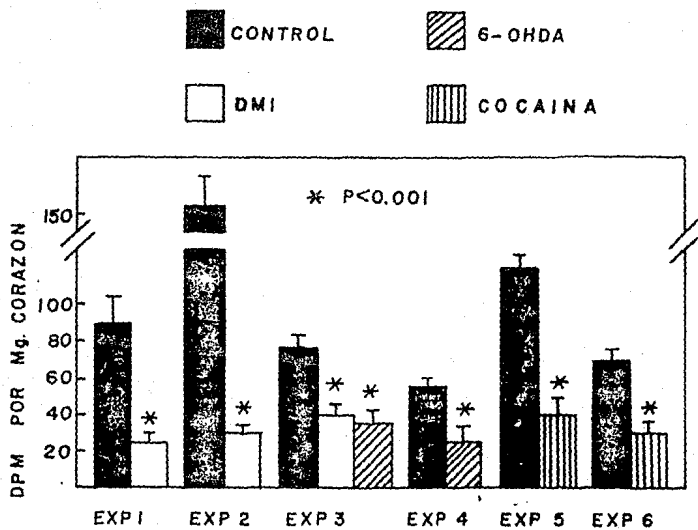


FIG.1) CAPTACION Y ALMACENAJE DE LA $[^3\text{H}]-6,7\text{-DIHIDROXI-TIO}$ POR LAS TERMINALES NERVIOSAS SIMPATICAS QUE INERVAN EL CORAZON DE RATON (26).

Interacción de las TIQs con enzimas

Por otra parte algunas de las acciones farmacológicas de las TIQs son posiblemente reflejadas al aumentar los niveles sinápticos de los neurotransmisores catecolaminérgicos (14). Se ha demostrado que tanto la THP como el salsolinol inhiben la actividad de las enzimas MAO y COMT, enzimas que participan en el catabolismo de las catecolaminas. Dicha inhibición se ha determinado en homogéneos de hígado, cerebro y en neuronas adrenérgicas periféricas aisladas (19). Estos alcaloides al interferir con dichos mecanismos enzimáticos generalmente prolongan o aumentan la actividad de catecolaminas endógenas o exógenas (14).

Las TIQs también inhiben otros sistemas enzimáticos, tales como las ATPasas de Na^+ y K^+ y la de Mg^{2+} , así como la tirosina hidrolasa (19).

Competencia de las TIQs por receptores de catecolaminas

La mayor parte de los estudios sobre interacción de TIQs con los receptores de catecolaminas, tales como noradrenalina y dopamina, son en músculo liso vascular (aorta) y han permitido estudiar la competencia que establecen las TIQs con sus receptores.

Se ha demostrado la acción de el salsolinol, la isosalsolina y la salsolina sobre los receptores adrenérgicos y dopaminérgicos en arteria aislada de conejo. El salsolinol (0.1-10 μM) produjo una inhibición de la respuesta vasoconstrictora por la estimulación eléctrica de los nervios simpáticos periarteriales, es decir, inhibió la liberación de noradrenalina, pero no inhibió la vasoconstricción al aplicar noradrenalina exógena. La inhibición fue bloqueada con yohimbina (α -bloqueador) pero no con propranolol, lo que sugiere que el salsolinol actúa como un agonista débil de los receptores α -adrenérgicos preunion.

La isosalsolina y la salsolina no afectaron la respuesta de la estimulación nerviosa (liberación de noradrenalina) o la de la administración exógena de noradrenalina. Sin embargo, al interactuar con la dopamina actuaron como antagonistas competitivos de los receptores dopaminérgicos de la arteria de conejo al inhibir la neurotransmisión producida por la dopamina (33).

Se ha demostrado en aorta aislada de conejo (depletada de noradrenalina) el salsolinol produjo una ligera contracción actuando sobre receptores α -adrenérgicos, pero al interactuar con el salsolinol con la noradrenalina presenta una actividad bloqueadora α -adrenérgica. Según dichos autores a estas dosis, el antagonismo que ejerció el salsolinol sobre la respuesta de la noradrenalina fue de tipo competitivo (23).

Sobre aorta aislada se estudio la acción del THG y del 1-bencil-6,7-dihidroxi-TIG. Ninguno de los dos compuestos presentaron efecto sobre la contracción. Sin embargo, al interactuar con noradrenalina, antagonizaron las contracciones inducidas por la noradrenalina, el antagonismo fue de tipo competitivo (34).

Acción agonista β -adrenérgica de las TIGs sobre miocardio

Se ha aceptado como un principio general, que cuando una amina a sido deaminada, ella no posee gran actividad biológica, mas sin embargo, existen algunas excepciones de esta generalización (16). Una de ellas es la THP, catabolito de la dopamina. Sus acciones farmacológicas sobre miocardio son de naturaleza β -adrenérgica. Esto se basa principalmente por las estrechas similitudes de acción que presentan la isoprenalina y la THP, y por el antagonismo de sus acciones que producen los agentes bloqueadores β -adrenérgicos.

Sobre preparaciones de aurícula aislada de cobayo. la THP a concentraciones de 5×10^{-6} , 1×10^{-7} y 5×10^{-7} g/l, incrementaron la fuerza y frecuencia de contracción. La THP fue 20 veces menos potente que la isoprenalina. Los efectos de la THP y de la isoprenalina fueron bloqueados con pronetanol (1×10^{-7} g/l) y dicloroisoprenalina (1×10^{-7} g/l) o propranolol (1×10^{-7} g/l), (35,36).

Los efectos de otros tres derivados TIGs: 1-bencil-6,7-dihidroxi-TIG (I), 1-(3',4'-etilandioxibencil) 6,7-dihidroxi-bencil-TIG (II) y (3',4',5'-trimetoxibencil)-6,7-dihidroxi-bencil o trimetoquinol (III), sobre ventriculo aislado de cobayo, son estrechamente similares de aquellos de la THP. De los tres compuestos el III fue el más potente (0.5 μ g), seguido por el II y luego el I (10 μ g). Sus acciones fueron comparadas con el isoproterenol que fue el más potente de los tres (0.1 μ g). Los efectos de los cuatro compuestos fueron bloqueados con pronetanol, lo que sugiere que estos compuestos actúan como β -simpaticomiméticos (37).

En un estudio comparativo entre los isómeros levógiro (L) y dextrógiro (D) del trimetoquinol (THG), tetrahidropapaverolina (THP) y salsolinol, se observaron los efectos en las curvas dosis-respuesta sobre los receptores β -adrenérgicos de aurícula aislada de cobayo, fig. 12. El THG y la THP demostraron una respuesta cronotrópica positiva. El salsolinol mostro un ligero efecto estimulatorio, siendo un débil β -adrenérgico (38).

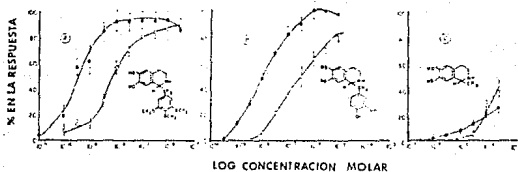


FIG.12 CURVAS LOG DOSIS-RESPUESTA PARA LOS ISOMEROS DE TRIMETOQUINOL (A), TETRAHIDROPAPAVEROLINA (B) Y SALSOLINOL (C), SOBRE LA FRECUENCIA CARDIACA EN AURICULA AISLADA DE COBAYO. ISOMERO LEVOGIRO (●---●) Y DEXTROGIRO (○---○). n: 4-5, (34).

Relación estructura-actividad de las TIGs

Es generalmente aceptado que la relación estructura-actividad de catecolaminas como estimulantes β -adrenérgicos, el grupo catecólico con los grupos hidroxilos en posición 3 y 4 son esenciales para la manifestación de la actividad β -adrenérgica. El grupo β -hidroxil alcoholico en la cadena lateral de catecolaminas posiblemente contribuye a la formación de la unión del hidrógeno en ciertos sitios receptores y posiblemente facilita la aproximación de los grupos catecol y nitrógeno a los sitios receptores (39). Entonces los grupos funcionales importantes para la actividad β -adrenérgica incluyen el grupo catecol, grupo hidroxilo alcoholico (β -hidroxil) y la presencia de un sustituyente en el nitrógeno de la amina, fig. 13.

El núcleo TIG carece del grupo hidroxilo alcoholico que tiene una potente actividad β -adrenérgica. Se sugiere que el grupo funcional de las TIGs importante para una interacción con los receptores β , incluye el grupo catecol, el nitrógeno y un grupo arilmetil en posición uno del núcleo TIG.

La presencia de un grupo apropiado 1-arilmetil en los compuestos TIGs es requerida para una máxima actividad β -adrenérgica. La ausencia de un grupo hidroxilo en la posición 4 del núcleo TIG (el cual corresponde al grupo β -hidroxil en catecolaminas) puede ser compensado por la presencia de un sustituyente en posición del carbono uno (34,39).

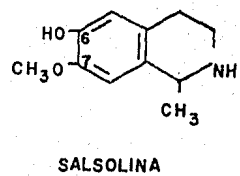
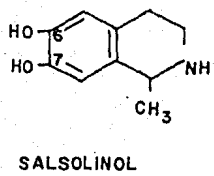
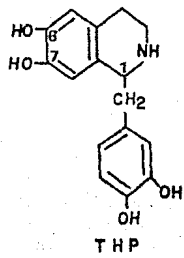
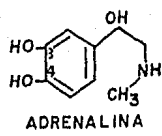


FIG.13 COMPARACION DE LA RELACION ESTRUCTURA ACTIVIDAD ENTRE LAS CATECOLAMINAS Y LAS TIGB.

OBJETIVOS

La presente tesis reúne los objetivos de:

- 1.- Estudiar la acción farmacológica de los catabolitos derivados de la dopamina; tetrahidropapaverolina, salsolinol y -salsolina sobre el estado inotrópico del músculo papilar aislado de corazón de cobayo.
- 2.- Analizar la interacción de dichas sustancias con el efecto inotrópico positivo de las catecolaminas en el músculo papilar aislado de cobayo.
- 3.- Estudiar los cambios de acción farmacológica de los compuestos en estudio que inducen los sustituyentes de los grupos químicos en los carbonos 1 y 7 del anillo isoquinoleínico.

HIPOTESIS

Se cuenta con evidencias que demuestran la relativa facilidad con que se forman los alcaloides TIGs al condensarse los aldehídos con las aminas, en tejido adrenal, en las fibras nerviosas simpáticas y en cerebro. Las TIGs afectan la captación, el almacenaje, la liberación y el metabolismo de las aminas biogénicas, satisfaciendo con esto el criterio de falsos transmisores (25-32). Ellas también presentan actividad biológica en los sistemas receptores de neuroaminas (23,34-39). Por lo tanto es posible suponer que deben ejercer acción sobre órganos inervados por fibras nerviosas simpáticas como el corazón.

Esta suposición encuentra cierta afirmación en algunos trabajos experimentales. En aurícula aislada de corazón de cobayo el trimetoquinol y la tetrahidropapaverolina actúan como neurotransmisores agonistas beta-adrenérgicos incrementando la fuerza y frecuencia de contracción, el salsolinol actúa solo como un débil beta-agonista (35-38). En ventrículo aislado de cobayo solo existen estudios con trimetoquinol, que también actúa sobre los receptores beta-adrenérgicos incrementando la fuerza de contracción (37). En vista de que no existe una completa caracterización farmacológica de estas sustancias se decidió emprender el presente estudio tomando también en consideración que se trata de compuestos fisiológicamente importantes, de producción endógena y cuyos niveles plasmáticos y urinarios se elevan ante varias situaciones como la ingestión de alcohol, ya que se producen al condensarse los aldehídos (derivados del metabolismo del alcohol) con las catecolaminas endógenas.

Para determinar algunos de los sitios y mecanismos específicos de modulación de la respuesta de catecolaminas cardíacas se decidió estudiar la interacción de la adrenalina con la THP, el salsolinol y la salsolina en el músculo papilar aislado de corazón de cobayo.

El efecto inotrópico positivo (incremento en la fuerza de contracción) o inotrópico negativo (decremento en la fuerza de contracción) del miocardio, en condiciones fisiológicas esta dado por varios factores, pero los que mantienen las condiciones basales son la cantidad de proteínas contractiles existentes así como los niveles de energía y los cambios en el almacén de calcio del retículo sarcoplásmico. Dicho estado puede verse aumentado o disminuido por los factores neurohumorales del sistema nervioso adrenérgico y colinérgico regulados por el simpático y el parasimpático respectivamente (1). Si los alcaloides TIQs, como la tetrahidropapaverolina, el salsolinol y la salsolina endógenos se captan y se almacenan tal y como ocurre con la 6,7-dihidroxi-TIQ (25,26), al secretarse activamente de las terminaciones simpáticas que inervan el corazón, es posible que se comporten como neuromoduladores del mecanismo inotrópico positivo de las catecolaminas.

Por otro lado, se pretende estudiar la relación entre la actividad biológica y la naturaleza de los grupos funcionales del C-1 y el C-7 del núcleo isoquinoleínico. Los substituyentes del C-1; el anillo arilmetil de la THP y el grupo metilo del salsolinol, confieren a estas sustancias propiedades agonistas β -adrenérgicas en aurícula de cobayo. Sin embargo se desconoce si la salsolina posee propiedades beta-adrenérgicas. La salsolina guarda estrecha relación con la estructura química del salsolinol, fig. 13. Ambas presentan el núcleo isoquinoleínico y un grupo metilo (CH_3) en posición del C-1 y se diferencian en que el salsolinol presenta dos grupos hidroxilos (OH) en las posiciones 6 y 7 mientras que la salsolina presenta un grupo hidroxilo en la posición 6 y un grupo metoxilo (OCH_3) en la posición 7 del núcleo isoquinoleínico. Es probable que la influencia del grupo metoxilo de la salsolina le confiera características farmacológicas diferentes de las que presentaba antes de metilarse, ya que la salsolina se produce cuando el salsolinol es catalizado por la catecol-O-metiltransferasa (COMT), la cual ataca el grupo OH del C-7 del núcleo TIQ adquiriendo el metoxilo al sufrir una O-metilación para convertirse en 7-metoxi-salsolinol o salsolina (14).

MATERIAL Y METODO

Compuestos.- Se utilizaron para este trabajo los alcaloides tetrahidropapaverolina (THP) HBr, salsolinol HCl y salsolina HCl que fueron donados por el Dr. Michel Collins, sintetizados en el Departamento de Bioquímica y Biofísica de la Escuela de Medicina de la Universidad de Loyola en Maywood Illinois. Adrenalina (mg/ml), L-isoproterenol D-bitartrato y el propranolol se obtuvieron de Sigma.

Soluciones.- La solución fisiológica que se empleo para los experimentos fue la solución de Tyrode con la composición siguiente: NaCl 137 mM, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.9 mM, NaCOH_3 12 mM, dextrosa 5.5 mM, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.8 mM, KCl 4.5 mM y MgCl_2 2.7 mM, gaseada con una mezcla de O_2 95 % y CO_2 5 %, con pH: 7.3.

METODO

La función ventricular del impulso hemodinámico es el resultado del balance de una serie de factores de muy distinta naturaleza. Uno de ellos es la contracción. El estudio de la mecánica de la contracción en el corazón intacto es muy complicado. Una buena proporción de la información con que se cuenta se ha obtenido en tiras aisladas de músculo cardíaco, sobre todo músculo papilar. El empleo de esta preparación ha permitido el estudio de las características intrínsecas del tejido en diferentes condiciones mecánicas, lo que ha servido en parte para entender la función del corazón como bomba y ha aportado información sobre los procesos de transducción involucrados en la utilización de energía química para generar energía mecánica. La preparación que más frecuentemente se emplea es la del músculo papilar aislado, ya que presenta varias ventajas sobre todo en lo que se refiere al paralelismo de sus fibras, su relativa homogeneidad y su tamaño, que permite una buena oxigenación. Estas preparaciones también permiten la medida fácil y exacta de su longitud, la tensión que desarrollan y su velocidad de acortamiento, así como el uso de protocolos que incluyen estiramiento o acortamiento rápido. Este modelo presenta varias posibilidades para estudiar los diversos tipos de contracción muscular. Estos ayudan a formar un marco para estudiar la función del corazón intacto (1).

Los músculos papilares se encuentran en las paredes y parte de la punta de los ventrículos izquierdo del corazón. Ellos se encuentran unidos a las hojuelas de las válvulas auriculares por las cuerdas tendinosas fig. 14. Los músculos papilares se contraen cuando las paredes ventriculares lo hacen, ellos no ayudan a cerrar las válvulas, simplemente sostienen haciendo tensión en dirección de los ventrículos, impidiendo así que se eleven hacia las aurículas durante la contracción. Si se rompe una cuerda ten-

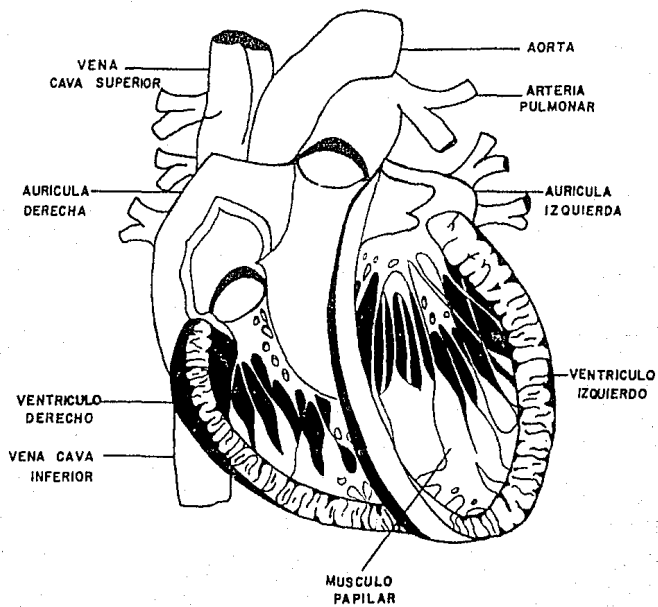


FIG.14 ANATOMIA INTERNA DEL CORAZON.

diosa, o si uno de los musculos papilares se paraliza a consecuencia de una isquemia u otro trastorno, las válvula se elevara hacia la auricula, en ocasiones hasta el punto de permitir un reflujo considerable de sangre hacia la auricula, originando una alteración funcional del corazón muy grave, incluso mortal (3).

Para la realización de este proyecto experimental se eligió trabajar con musculo papilar aislado de corazón de cobayo. El cobayo es un mamífero roedor de la familia de los cavidos (Cavia cutleri) que mide aproximadamente 25 cm de largo, tiene el cuerpo recogido, patas cortas y carecen de cola. Es muy prolijo y se adaptan muy bien a las condiciones de cautiverio; a los cuatro meses es apto para reproducirse, y la gestación dura unos 70 días. El cobayo es originario del Peru donde era utilizado para la alimentación indígena; en Europa fue introducido en el siglo XVII y se utiliza en gran escala como animal de laboratorio en la investigación biológica (40).

Se utilizaron cobayos de la cepa Hartley de aproximadamente 500gr. Por disección del torax se extrajo el corazón completo colocándose en un vaso de precipitados con solución de Tyrode equilibrada con una mezcla de 95 % de O₂ y 5 % de CO₂ a una temperatura de 37 °C. Para facilitar la disección de los ventriculos se eliminaron el pericardio, los restos de venas y arterias, y las auriculas. Por medio de un corte longitudinal (fig. 14) se abrieron los ventriculos, generalmente el ventriculo izquierdo contiene de 4 a 6 musculos papilares y el ventriculo derecho contiene de 2 a 3 musculos papilares pequeños. Los musculos papilares se extrajeron cortando una pequeña base dejando gran parte de las cuerdas tendiosas unidas a ellos.

El musculo papilar se colocó en la cámara de lucita de aproximadamente 5 ml de capacidad ésta se encuentra sobre un baño maria' para mantener a 37 °C el liquido de perfusión que llega a la cámara a una velocidad de 20 ml/min. por medio de un capilar en espiral sumergido en el baño.

Para llevar a cabo el registro de la contracción isométrica fue necesario fijar los dos extremos del musculo papilar para impedir su acortamiento, ya que el musculo en condiciones isométricas solo genera tensión sin cambiar de longitud. La base del musculo papilar se fijó al fondo de la cámara cubierta con un trozo de madera de balsa, a través de pequeños fragmentos de alambre de acero inoxidable. El extremo superior del musculo papilar se sujetó por medio de las cuerdas tendiosas con un hilo delgado a un transductor de tensión isométrica GRASS FT-3 que sirve para medir los cambios de tensión en la preparación y que fueron registrados por medio de un poligrafo GRASS 7 que se encuentra conectado al transductor (fig. 15) el registro de las curvas de concentración se tomo a una velocidad de 25 mm/seg.

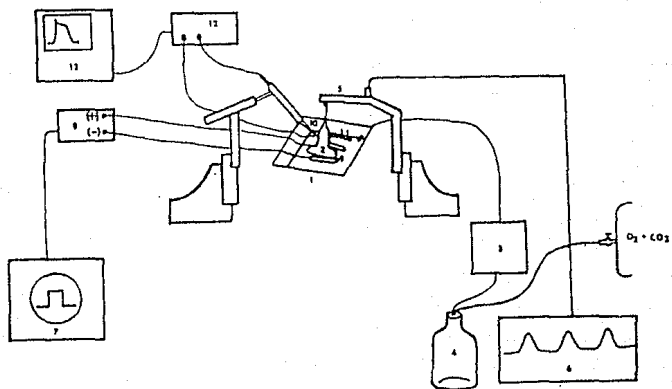


FIG.15 ESQUEMA DEL MODELO EXPERIMENTAL. (1) CAMARA DE LUCITA, (2) MUSCULO PAPILAR, (3) BOMBA DE PERFUSION, (4) SOLUCION DE TYRODE, (5) TRANSDUCTOR DE TENSION ISOMETRICA, (6) POLIGRAFO, (7) ESTIMULADOR, (8) UNIDAD DE AISLAMIENTO, (9) ELECTRODOS PARA ESTIMULACION, (10) MICROELECTRODO, (11) ELECTRODO INDIFFERENTE, (12) PREAMPLIFICADOR, (13) OSCILOSCOPIO.

El proceso de la contracción va precedido de la generación de potenciales bioeléctricos que se generan en las células cuando estas son estimuladas. La estimulación artificial se lleva a cabo por medio de un generador de pulsos (estimulador) que pasa corriente a través de las células por un periodo muy breve de tiempo (41). Se utilizó un estimulador GRASS S88, para producir pulsos cuadrados con intensidad de 20 Volts, con una frecuencia de 1 Hertz y una duración de 1 ms. El estimulador se encuentra conectado a una unidad de aislamiento SUI 5 y ésta a dos electrodos de plata que se colocan directamente a cada lado de la preparación. El aislamiento de las señales de los estímulos reduce las grandes corrientes entre la preparación que se está estimulando y el sistema de registro, además de que da seguridad para quien está trabajando en caso que reciba una estimulación directa (41).

El registro celular de los potenciales de acción se llevó a cabo con la técnica convencional de microelectrodos del tipo de Ling y Gerard. Los microelectrodos consisten en un capilar de vidrio de aproximadamente $0.6 \mu\text{m}$ y con un diámetro interno de $0.2 \mu\text{m}$. En el microelectrodo se inyecta una solución conductora de KCl 3M como electrolito. El microelectrodo fue insertado al músculo papilar para el registro del interior celular y un electrodo indiferente que se coloca dentro de la cámara. El microelectrodo se encuentra sujeto mediante un manipulador. Las señales eléctricas captadas por el microelectrodo se derivaron hacia un preamplificador Medistor M701 y un osciloscopio Textronix en donde se inscriben las señales electrofisiológicas obtenidas del músculo aislado. Una característica del preamplificador es el escaso ruido introducido de modo que pueden ser amplificadas incluso señales muy débiles sin excesivos deterioros. El osciloscopio permite estudiar la variación de las señales eléctricas periódicas en función del tiempo (41).

Plan de trabajo

Se realizaron curvas concentración-efecto sobre la contractilidad del miocardio. Se exploró la concentración mínima a la que el compuesto TIG mostrara actividad inotrópica. el tejido se perfundió en una solución de Tyrode y tetrahidropapaverolina (THP) a concentraciones de 1×10^{-9} , 1×10^{-8} , 1×10^{-7} y 1×10^{-6} M. Cada solución fue preparada para un volumen de 100 ml, suficiente para una perfusión de 10 minutos. Las cinco soluciones se perfundieron una seguida de otra y posteriormente se perfundió el tejido con Tyrode solo durante 30 a 60 min. hasta llegar a una recuperación del músculo a sus valores de control. El registro de la contractilidad fue tomado con el poligrafo a una velocidad de 25 mm/seg. cada que vez se cambiaba de concentración. En otras series de experimentos se realizaron curvas concentración-efecto de salsolinol y salsolina y al igual que con la THP se buscaron las concentraciones que presentarían actividad sobre la contrac-

tilidad del miocardio.

Para determinar si existe algun mecanismo mediante el cual las TIGs bloqueen o modulen la acción de la adrenalina en el miocardio. Se realizaron curvas concentracion-efecto de adrenalina sola a concentraciones de 4×10^{-8} , 1×10^{-7} , 2×10^{-7} , 4×10^{-7} , 8×10^{-7} M y en presencia de THP (3×10^{-6} M), sal-solinol (3×10^{-6} M) y salsolina (3×10^{-8} M).

Para comparar el efecto entre la interacción de las TIGs y la adrenalina y la interacción de dos aminas agonistas beta-adrenérgicas, se estudio el efecto del isoproterenol sobre la curva de adrenalina.

Analisis estadístico

Los resultados están expresados como el promedio de cuando menos 5 experimentos \pm el error estandar. La significancia estadística se valoró con la prueba de "t" de student comparando con las curvas dosis-efecto de adrenalina sola.

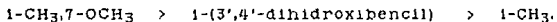
RESULTADOS

ACCION DE LAS TIGs SOBRE LA CONTRACTILIDAD DEL MIOCARDIO

La fig. 16, muestra los trazos obtenidos del efecto de las TIGs sobre la contractilidad del músculo papilar aislado de cobayo. La salsolina (A) a concentraciones de 8×10^{-9} y 3×10^{-8} incrementó la fuerza de contracción. El salsolinol (B) a concentraciones de 5×10^{-6} y 4×10^{-5} M, incrementó la fuerza de contracción en menor proporción que la salsolina. La THP (C) a concentraciones de 4×10^{-7} y 2×10^{-6} incremento notablemente la fuerza de contracción.

Los efectos de la salsolina, el salsolinol y la THP fueron comparados con los del isoproterenol (fig. 16 D.). El salsolinol y la THP son 30 y 20 veces menos potentes respectivamente, mientras que la salsolina actúa en el mismo orden de potencias, pero la eficacia del isoproterenol, está por encima de la THP, la salsolina y el salsolinol.

La fig. 17, muestra las curvas log concentración-efecto de la salsolina (A), la THP (B) y el salsolinol (C) sobre la fuerza de contracción del músculo papilar aislado de cobayo. Los tres compuestos mostraron una respuesta inotrópica positiva. De los tres, la salsolina resultó ser la más potente (10^{-9} M), le sigue la THP (10^{-7} M) y luego el salsolinol (10^{-6} M). Sin embargo, el máximo efecto alcanzado por la THP es mayor que el alcanzado por la salsolina y el salsolinol, es decir, la THP fue la más eficaz de las tres. La relación entre la actividad biológica y la naturaleza de los sustituyentes del C-1 y el C-7 del núcleo isoquinoleínico fue de:



Los efectos de la salsolina y el salsolinol fueron bloqueados con propranolol 3×10^{-7} M, lo que nos sugiere que estos compuestos actúan al igual que la THP (35,36) y el isoproterenol (10) como beta-simpaticomiméticos.

Registro intracelular

Ninguno de los tres compuestos TIGs produjeron algún cambio en los registros del potencial de acción.

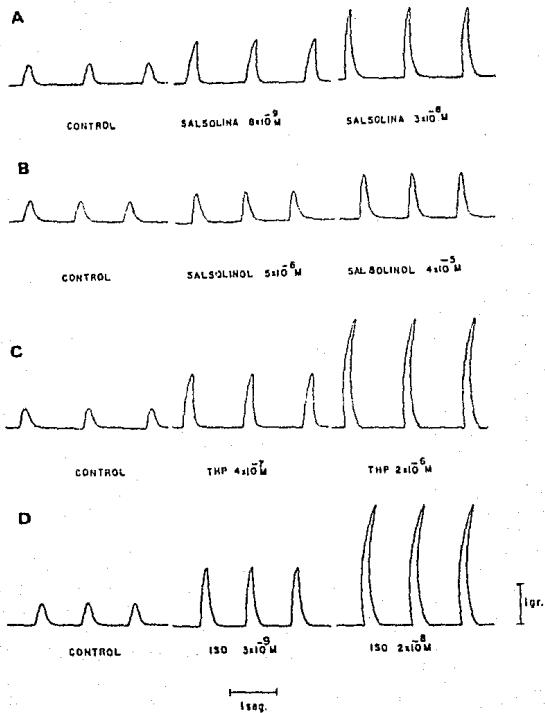


FIG. 16 REGISTRO DE LA SALSOLINA (A), SALSOLINOL (B), TETRAHIDROPAPAVEROLINA (C) E ISOPROTERENOL (D), SOBRE LA CONTRACTILIDAD DEL MUSCULO PAPILAR AISLADO DE COBAYO.

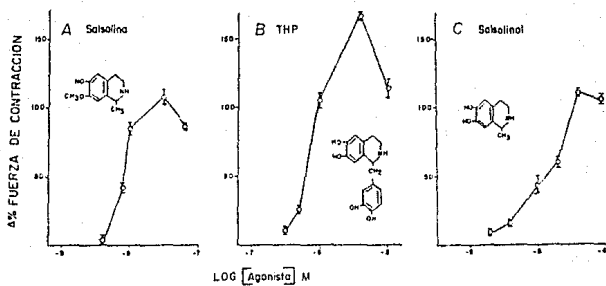


FIG.17 CURVA LOG CONCENTRACION-EFECTO DE LA SALSOLINA n=5 (A), SALSOLINOL n=5 (B) Y THP n=5 (C), SOBRE LA FUERZA DE CONTRACCION DEL MUSCULO PAPILAR AISLADO DE COBAYO.

ACCION DE LAS TIQS SOBRE LAS CATECOLAMINAS

Interacción de la salsolina con la adrenalina

La fig. 18 (A) muestra los trazos obtenidos del efecto de la adrenalina a diferentes concentraciones sobre la contractilidad del músculo papilar aislado de cobayo. La fig. 18 (B) muestra el efecto de 3×10^{-8} M de salsolina sobre la misma curva de adrenalina; se observa cómo la salsolina ejerció un efecto bloqueador de la acción de la adrenalina sobre la fuerza de contracción sobre todo a concentraciones de 3×10^{-7} y 6×10^{-7} M de adrenalina.

La fig. 19 (A) muestra las curvas log concentración-efecto de la adrenalina más la salsolina. La salsolina antagonizó el efecto inotrópico positivo de la adrenalina. El análisis de las dobles recíprocas en la gráfica de Lineweaver-Burk, fig. 19 (B), demostró que el antagonismo que ejerció la salsolina sobre la respuesta de la adrenalina a estas concentraciones fue de tipo no competitivo. En la gráfica se observa la intersección en el eje de las abscisas de las curvas de adrenalina en ausencia y en presencia de salsolina en un mismo punto con una constante de afinidad de $-1/K_D = 5 \times 10^{-7}$ M, esto significa que no se modificó la afinidad, ni la potencia pero el efecto máximo (eficacia) es menor en presencia de 3×10^{-8} M de salsolina.

Interacción del salsolinol con la adrenalina

El salsolinol no ocasionó el mismo efecto bloqueador de la salsolina sobre la respuesta de la adrenalina en el músculo papilar. La fig. 20 muestra las curvas log concentración-efecto de la adrenalina en ausencia y en presencia de salsolinol a una concentración de 3×10^{-6} M. El salsolinol no modificó la curva de adrenalina.

Interacción de la THP con la adrenalina

La fig. 21 (A), muestra la curva log concentración-efecto de la adrenalina sobre la fuerza de contracción del músculo papilar en ausencia y en presencia THP a 3×10^{-6} M. El THP a esta concentración ocasionó un aumento máximo en la fuerza de contracción del 50 % con respecto a los valores control. Dicha curva se desplaza hacia arriba y hacia la izquierda, lo que nos sugiere que la THP está ejerciendo un efecto de sinergia de potenciación sobre el efecto inotrópico positivo de la adrenalina.

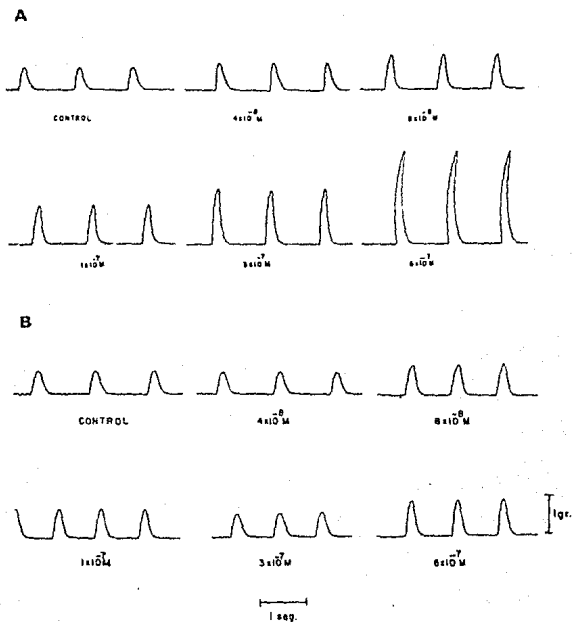


FIG. 1A EFECTO DE LA ADRENALINA (A) Y EFECTO DE LA SALSOLINA (3×10^{-6}) (B) SOBRE LA CURVA DE ADRENALINA, EN LA CONTRACTILIDAD DEL MUSCULO PAPILAR AISLADO DE COBAYO.

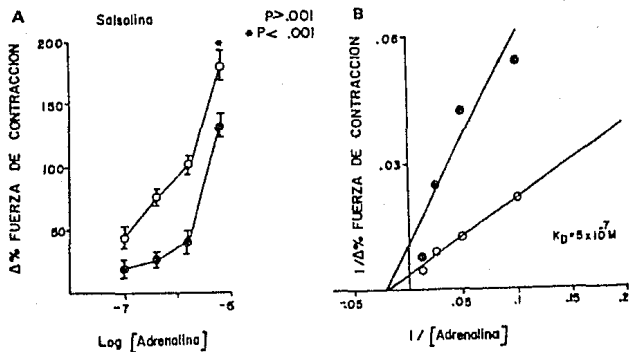


FIG.19 (A) CURVAS LOG CONCENTRACION-EFECTO DE LA ADRENALINA EN AUSENCIA (O) (n=5) Y EN PRESENCIA DE $3 \times 10^{-6} M$ DE SALSOLINA (●) (n=5). (B) GRAFICA DE LINEWEAVER-BURK: ADRENALINA (O); ADRENALINA + SALSOLINA (●).

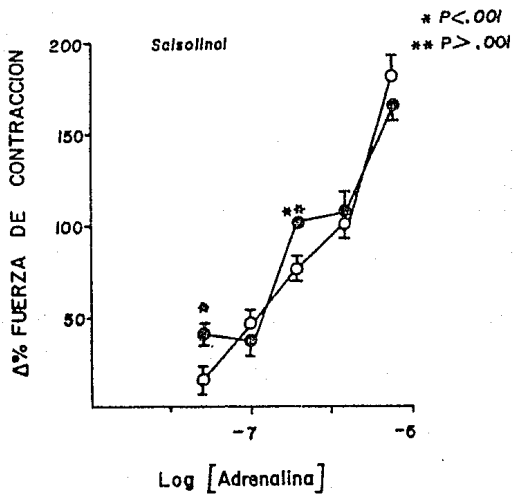


FIG.20 (A) CURVAS LOG CONCENTRACION-EFECTO DE LA ADRENALINA EN AUSENCIA (○) (n=5) Y EN PRESENCIA DE 3×10^{-6} M DE SALSOLINOL (●) (n=5).

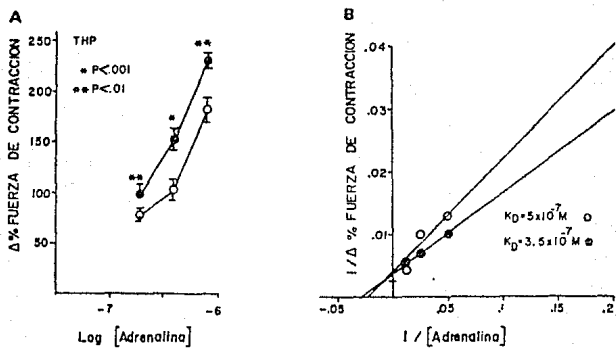


FIG. 21 (A) CURVAS LOG CONCENTRACION-EFECTO DE LA ADRENALINA EN AUSENCIA (○) (n=5) Y EN PRESENCIA DE $3 \times 10^{-6} M$ DE THP (●) (n=5). (B) GRAFICA DE LINEWEAVER-BURK: ADRENALINA (○); ADRENALINA + THP (●).

La gráfica de las dobles recíprocas (fig. 21 B) indicó el valor de la $-1/K_D = 5 \times 10^{-7}$ M para la curva de adrenalina sola y para la adrenalina en presencia de THP fue de 3.5×10^{-7} M. La afinidad de la adrenalina en presencia de THP se modificó y en consecuencia tendió a ser ligeramente más eficaz, ya que el efecto máximo es diferente.

ACCION DE DOS AMINAS AGONISTAS

Interacción del isoproterenol con la adrenalina

El efecto del isoproterenol (ISO) sobre la curva de adrenalina en el músculo papilar aislado de cobayo se muestra en la fig. 22 (A). La curva log concentración-efecto de la adrenalina sola y en presencia de 3×10^{-9} M de ISO. El ISO a esta concentración ocasionó un incremento máximo en la fuerza de contracción del 30 % con respecto a los valores control. La curva se desplaza hacia arriba y hacia la izquierda con una muestra evidente de sinergismo de potenciación sobre el efecto inotrópico positivo de la adrenalina.

Los valores para la K_D fueron obtenidos en la gráfica de Lineweaver-Burk con las dobles recíprocas fig. 22 (B). Para la adrenalina sola se obtuvo una $-1/K_D = 5 \times 10^{-7}$ M y para la adrenalina en presencia de ISO $-1/K_D = 2 \times 10^{-7}$ M. La afinidad de la adrenalina se modificó y el efecto máximo fue diferente siendo más eficaz.

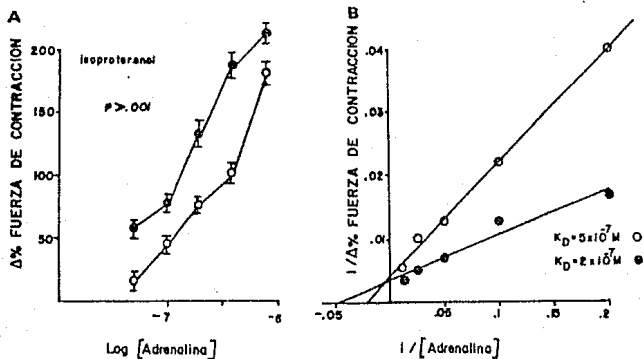


FIG.22 CURVAS LOG CONCENTRACION-EFECTO DE LA ADRENALINA EN AUSENCIA (○) (n=5) Y EN PRESENCIA DE $3 \times 10^{-9} M$ DE ISOPROTERENOL (●) (n=5). (B) GRAFICA DE LINEWEAVER-BURK: ADRENALINA (○); ADRENALINA + ISOPROTERENOL (●).

DISCUSION

EFFECTO INOTROPICO POSITIVO DE LAS TIQS

La tetrahidropapaverolina, el salsolinol y la salsolina presentaron un efecto inotropico positivo sobre el musculo papilar aislado de corazon de cobayo. Sus acciones farmacologicas son de naturaleza agonista beta-adrenergica. Esto se basa por las estrechas similitudes que presentan sus acciones con el THP (36) y el isoproterenol (10) y por le bloqueo de sus respuestas con el propranolol.

La salsolina resulto ser mas potente que el salsolinol y la THP. La accion de los farmacos guarda intima relacion con su estructura quimica, dicha relacion puede ser muy estricta, y con pequenas modificaciones en la molecula del farmaco pueden producirse importantes cambios en sus cualidades farmacologicas (42). En la fig. 17, se incluyen a cada lado de las curvas log concentracion-efecto A,B y C, su estructura quimica correspondiente, donde se observa la importancia de los sustituyentes presentes en el C-1 y en el C-7 del nucleo isoquinoleinico en relacion a las propiedades agonistas beta-adrenergicas. La THP posee un anillo arilmetyl (dihidroxibencenico) en el C-1, requerido para una maxima actividad agonista beta-adrenergica (34,39). El salsolinol y la salsolina carecen del anillo arilmetyl en el C-1 en su lugar poseen un grupo metilo (CH_3), sin embargo, presentaron accion agonista beta-adrenergica en el musculo papilar aislado de cobayo.

La salsolina se relaciona con la estructura quimica del salsolinol (fig. 6) se diferencian en que la salsolina presenta un grupo metoxilo (OCH_3) en el C-7 en lugar del grupo hidroxilo (OH) del salsolinol. El grupo metoxilo es adquirido cuando el salsolinol endogeno se convierte en sustrato de la catecol-O-metil-transferasa (COMT) transformandose en 7-metoxisalsolinol o salsolina (14). La presencia del metoxilo le confiere a la salsolina una mayor potencia ya que a concentraciones de 8×10^{-9} M presento una ligera actividad agonista mientras que el salsolinol actuo con 4×10^{-6} M (fig. 17), es decir, el salsolinol al metilarse en la posicion C-7 del nucleo TIQ da origen a un derivado, salsolina, 20 veces mas potente.

Tal parece que la presencia de metoxilos en el nucleo TIQ les confiere una mayor capacidad para combinarse con los receptores B-adrenergicos. Esto concide con los resultados obtenidos por Feller y colaboradores (35) para el trimetoquinol (TMQ), la THP y el salsolinol en auricula aislada de cobayo (fig. 12). Las estructuras quimicas del TMQ y de la THP estan estrechamente relacionadas, ambas presentan el anillo arilmetyl en el C-1 y se diferencian en que el TMQ presenta tres grupos metoxilos (3', 4', 5'-trimetoxi-bencil) en el anillo arilmetyl, mientras que la THP

presenta dos grupos hidroxilos (3', 4'-dihidroxibencil). Los grupos metoxilos confieren al THQ una mayor potencia siendo 20 veces más potente que la THP.

EFFECTO ANTAGONISTA DE LA SALSOLINA SOBRE ADRENALINA

Se ha reportado el efecto alfa-antagonista así como el bloqueo dopaminérgico de algunas TIQs actuando todas como antagonistas competitivos sobre músculo liso vascular. Se sabe que el salsolinol en aorta aislada de conejo antagoniza la respuesta de las contracciones inducidas por noradrenalina, actuando como antagonista alfa-adrenérgico (23). El trimetoquinol y el 1-bencil-6,7-dihidroxi-TIQ también bloquean la respuesta de la noradrenalina en aorta aislada de cobayo (39). También se ha reportado que la isosalsolina (6-OCH₃) y la salsolina (7-OCH₃) actúan como antagonistas de la liberación de dopamina en arteria de conejo (33).

En el presente trabajo las graficas de las dobles reciprocas indicaron que la salsolina (3×10^{-8} M) ocasionó un antagonismo de tipo no competitivo (fig. 19 B) sobre el efecto inotrópico positivo de la adrenalina en el músculo papilar aislado de corazón de cobayo. Un antagonista no competitivo impide que el agonista produzca cualquier efecto en un sitio receptor determinado. Disminuye el efecto máximo posible, pero el agonista puede actuar normalmente en las unidades receptor-efector que no están modificadas de esta manera. La afinidad del agonista hacia el receptor y la potencia en consecuencia, no se modifican (fig. 23). Si la inhibición puede vencerse al aumentar la concentración del agonista y alcanza el mismo efecto máximo, el antagonista es superable o competitivo (fig. 23) (10). La K_D de las curvas de adrenalina en ausencia y en presencia de salsolina (5×10^{-7} M) no se modificó (fig. 19 B); esto significa que no se alteró la afinidad del receptor hacia la adrenalina, ni la potencia pero el efecto máximo (eficacia) es menor en presencia de salsolina.

Es posible que la conformación estructural que posee la salsolina le confiera mayor capacidad para combinarse con los receptores beta-adrenérgicos, estableciendo una mayor disposición por ellos que la adrenalina, impidiendo que esta produzca su máximo efecto, es decir, que el grupo metoxilo (7-OCH₃) es requerido para presentar actividad como agonista parcial beta-adrenérgico.

Salsolina como agonista parcial

Algunos miembros de una serie de agonistas relacionados, actúan sobre los mismos lugares receptores, no producen la misma respuesta que los miembros más activos de la serie. A dichos miembros se les ha denominado agonistas parciales, ya que tienen

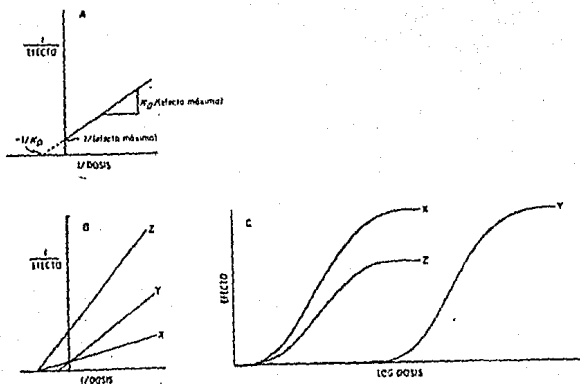


FIG.23 (A) GRAFICA DE DOBLE RECIPROCA DEL EFECTO FARMACOLOGICO QUE DEPENDE DE LA CONCENTRACION. (B) GRAFICAS CARACTERISTICAS DE DOBLES RECIPROCAS. Y (C) CURVAS LOG DOSIS-EFECTO.

CURVAS X Y Z. ANTAGONISMO NO COMPETITIVO. LA GRAFICA DE DOBLES RECIPROCAS NUESTRA INTERSECCION DEL AGONISTA EN UN SOLO PUNTO SOBRE EL EJE DE 1/DOSIS A $-1/K_D$. NO SE MODIFICA LA AFINIDAD Y EL EFECTO MAXIMO ES DIFERENTE. LA CURVA LOG DOSIS-EFECTO MUESTRA POTENCIA NO MODIFICADA Y EFICACIA DISMINUIDA.

CURVAS X Y Y. ANTAGONISMO COMPETITIVO. LA GRAFICA DE DOBLES RECIPROCAS DEL AGONISTA SOBRE EL AGONISTA MAS ANTAGONISTA COMPETITIVO DEBE UNIRSE EN EL EJE 1/EFFECTO DONDE LA CONCENTRACION DEL AGONISTA ES INFINITA. LA CURVA LOG DOSIS-EFECTO PARA EL AGONISTA SE DESPLAZA HACIA LA DERECHA. NO SE MODIFICA LA EFICACIA MAXIMA, PERO EL AGONISTA ES MENOS POTENTE.

acción agonista, pero también actividad antagonista, por cuanto disminuían la respuesta a agonistas más activos (42). La respuesta máxima de la salsolina sola (fig. 17 A) fue menor que la producida por la curva de adrenalina sola (fig. 19 A) actuando esta sobre la misma serie de receptores, lo que nos sugiere que la salsolina se está comportando como un agonista parcial (10,42,43). Ya que cuando un agonista parcial está produciendo su respuesta máxima se hallan ocupados todos los receptores pero la eficacia es tal que el estímulo producido no basta para obtener la respuesta máxima posible de lograr en el sistema. Como el agonista parcial ocupa receptores, los ocuye compitiendo por la ocupación con agonistas más activos; por lo tanto un agonista parcial (salsolina) disminuirá la respuesta del agonista más activo, es decir, que manifiesta una propiedad antagonista (con la adrenalina) al mismo tiempo que una propiedad agonista (salsolina sola), (42).

EFFECTO DEL SALSOLINOL SOBRE LA ADRENALINA

EL efecto que ocasionó el salsolinol a esta concentración (3×10^{-6} M) sobre el efecto inotrópico positivo de la adrenalina no fue tan evidente como el que ocasionó la salsolina, a pesar de ser dos compuestos estrechamente relacionados. Pero el salsolinol carece de grupos metoxilos en los carbonos 6 y 7, lo que nos sugiere que para presentar actividad como agonistas parciales beta-adrenérgicos en el miocardio, es necesaria la presencia de grupos metoxilos en el núcleo isoquinoleínico.

EFFECTO DE POTENCIACION DE LA RESPUESTA DE LA ADRENALINA

La gráficas de dobles recíprocas indicaron que la K_D de la adrenalina se presentó una ligera tendencia a disminuir de 5×10^{-7} M a 3.5×10^{-7} M en presencia de THP (fig. 21 B), además la curva log concentración-efecto de adrenalina en presencia de THP se ve desplazada hacia arriba y hacia la izquierda, lo que significa que la afinidad de la adrenalina hacia el receptor aumenta y es más potente ya que se requiere de menos concentración. Es conveniente resaltar que este efecto de potenciación entre la THP y la adrenalina sobre la contractilidad miocárdica no ha sido reportado.

El isoproterenol también causó un efecto de sinergismo de potenciación sobre la respuesta de la adrenalina. La curva log concentración-efecto de la adrenalina en presencia de 3×10^{-9} M de isoproterenol también se vio desplazada hacia arriba y a la izquierda. Las gráficas dobles recíprocas indicaron que la constante de afinidad disminuyó (fig. 22 A y B).

El isoproterenol es una amina agonista simpaticomimética que actúa específicamente sobre receptores beta-₁ en el miocardio in-

crementando la fuerza y frecuencia de contracción, es la más activa de las aminas simpaticomiméticas, su acción agonista radica en los grupos funcionales substituyentes en el grupo N-isopropilo; dos grupos metilos. La adrenalina es otra amina simpaticomimética que actúa sobre los receptores alfa y beta adrenérgicos, sobre miocardio actúa directamente sobre los receptores beta-aumentado la fuerza y frecuencia de contracción. Los grupos funcionales importantes para la actividad beta-adrenérgica incluyen el grupo catecol, el grupo hidroxilo alcoholico y el substituyente (CH₃) en el grupo amino (10).

El isoproterenol es más potente que la adrenalina, es decir, tiene mayor afinidad por los receptores beta, por lo tanto tiene mayor probabilidad de unión a ellos que la adrenalina. El efecto de potenciación observado en la fig. 22, posiblemente fue debido a que el isoproterenol tiene mayor disposición por los receptores beta, ya que la conformación estructural del isoproterenol le permite combinarse con mayor facilidad con los receptores que la adrenalina (es más afin) expresándose principalmente el efecto que cause el isoproterenol.

La THP se comporto como un agonista puro, ya que mostro un efecto semejante al del isoproterenol con la adrenalina, es muy probable que la conformación estructural de la THP le permita actuar en la misma serie de receptores, ya que su anillo arilmetil en el C-1 que es el requerido para una máxima actividad beta-adrenérgica puede compensar la ausencia del grupo beta-hidroxilo presente en las catecolaminas. Es decir, como un agonista beta con gran eficacia y al interaccionar las dos aminas agonistas beta se potencian sus efectos, ya que actúan en la misma serie de receptores, pero se está expresando principalmente la respuesta de la THP.

CONCLUSION

Los resultados obtenidos nos permiten concluir dos funciones farmacológicas importantes de la THP, el saisolinol y la saisolina en la contractilidad del miocardio; 1) actuando como neurotransmisores agonistas beta-adrenérgicos y 2) actuando como neuromoduladores, alterando o modulando la acción de las catecolaminas cardíacas.

1.- actuando como neurotransmisores agonistas beta-adrenérgicos en el miocardio de cobayo. Los tres compuestos presentaron un efecto inotrópico positivo. Sus efectos fueron comparados con los del isporotereno y se bloquearon en presencia de propranolol, lo que nos sugiere que su acción fue semejante a la de los neurotransmisores catecolaminérgicos, es decir, como agonistas adrenérgicos.

2.- actuando como neuromoduladores, alterando o modulando la acción de las catecolaminas cardíacas. Se demostró también su acción moduladora sobre la adrenalina en el músculo papilar aislado de cobayo. Se estudió la interacción de las TIQs con la adrenalina sobre los receptores post-sinápticos del miocardio. La THP (3×10^{-6} M) y la saisolina (3×10^{-6} M) a las concentraciones estudiadas modularon la respuesta de la adrenalina. Sin embargo las dosis utilizadas para el saisolinol (3×10^{-6} M) no fueron suficientes para modificar la respuesta de la adrenalina.

Las TIQs se han propuesto como neuromoduladores (12,13). Los neuromoduladores son compuestos que no modifican directamente la conductancia o el potencial de acción, sino que alteran o modulan los mecanismos de activación del receptor de un neurotransmisor, de hecho ellos requieren de la presencia de un neurotransmisor, no presentan un receptor específico, se sintetizan se almacenan y se captan en el sistema nervioso central y terminales nerviosas y se liberan por despolarización, se encuentran presentes en concentraciones activas en líquidos fisiológicos y tienen múltiples sitios de acción (12,13). Las TIQs estudiadas no presentaron acción sobre el potencial de acción. Es muy probable que durante la ingestión crónica del alcohol, sean sintetizadas en tejido neuronal, se capturen y se liberen activamente por las terminales nerviosas simpáticas que inervan el corazón modulando la neurotransmisión de las catecolaminas cardíacas adrenérgicas (adrenalina y noradrenalina) actuando sobre los receptores beta, estableciendo una competencia o una mayor disposición por la ocupación con catecolaminas, tal y como lo demuestran la 6,7-dihidroxi-TIQ y el saisolinol (20-24,28,35,40).

El estudio farmacológico indicó que la saisolina se comportó como un agonista parcial puesto que presentó acción agonista (el efecto máximo fue menor que el de la adrenalina) y al interac-

cionar con la adrenalina se mostro como antagonista bloqueando su respuesta aproximadamente un 50 % en el incremento de la fuerza de contracción. El antagonismo que ocasiono la saisolina fue de tipo no competitivo. Es muy probable que la presencia del grupo metoxilo en posición C-7 del nucleo TIQ tenga que ver con la mayor potencia como agonista y además requerido para una actividad como agonista parcial, ya que ni la THP ni el saisolinol tuvieron efecto antagonista en el musculo papilar y ambos carecen de grupos metoxilos.

La tetrahidropapaverolina se comporto como un agonista puro, potenciando el efecto inotrópico positivo de la adrenalina semejante al que presento el isoproterenol con la adrenalina. Lo que nos sugiere que la conformación estructural de la THP, que radica en el anillo arilmetil (requerido para una maxima actividad beta-adrenérgica) le de mayor afinidad, semejante al grupo N-isopropil del isoproterenol, para que se combine con los receptores beta, estableciendo una mayor disposición por la ocupación de los receptores beta.

En conclusión, los alcaloides TIQs poseen importancia biológica por ser catabolitos de las catecolaminas farmacologicamente activos. ellos pueden manifestar diversas acciones farmacológicas en el miocardio tales como: neuromoduladores, agonistas parciales, bloqueadores y agonistas beta-adrenérgicos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Peón, J. y Kabela, E. (1981). Analisis de los factores que determinan la contractilidad cardiaca y su insuficiencia en la regulacion de la función ventricular. Arch. Inst. Cardiol. Méx. 51: 571-589.
- 2.- Harris, P. and Opie, L. (1971). Calcium and the heart. Academic Press. London. 115 pp.
- 3.- Guyton, A.C. (1971). Tratado de Fisiología Médica. Ed. Interamericana. Cuarta edición. México. pp.
- 4.- Patterson, P., Potter, D. and Fushrpan, E. (1978) The chemical different of nerve cell. Sci. Am, 239: 50-59.
- 5.- Chavez-Dominguez, R. (1973). Aspectos funcionales del sistema adrenérgico. Editado por el Instituto Nacional de Cardiología de México y editorial Interamericana. Vol. I. p. 67-93.
- 6.- Serrano, P. (1969). Biosíntesis y metabolismo de catecolaminas: consideraciones cardiovasculares. Arch. Inst. Cardiol. Méx. 38: 721-737.
- 7.- Garcia-Sainz, A. (1987). Hormonas: mensajeros químicos y comunicación celular. Editado por Fondo de Cultura Económica, la SEP y CONACYT. 108 pp.
- 8.- Rodbell, M. (1980). The role of hormone receptores and GTP-regulatory proteins in membrane transduction. Nature. 284: 17-21.
- 9.- Garcia-Sainz, A. (1982). Regulation or adipose tissue metabolism by catecholaminas: roles of alpha₁, alpha₂ y beta-adrenoceptores. Trends. Pharmacol. Sci. 3: 201.
- 10.- Goodman, L.S. y Gilman, A. (1978) Bases farmacológicas de la terapéutica. Ed. Interamericana. Quinta edición. 1412 pp.
- 11.- Mendéz, R. (1973). Catecolaminas: activación y bloqueo de los receptores adrenérgicos en los vasos y el corazón. Vol. I. Editado pr el Instituto Nacional de Cardiología de México y Ed. Interamericana. p. 67-93.
- 12.- Barchas, J.D., Akil, H. Elliot, G.R., Holman, R.B. and Watson, S.J. (1978). Behavioral Neurochemistry: neuroregulators and states. Science. 2000: 964-973.
- 13.- Collins, M. y Serrano, P. (1981). Catecolaminas conceptos actuales: Neuroreguladores y productos de condensación de

aminas (tetrahidroisoquinoleinas). Editado por el Instituto Nacional de Cardiología y la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. Vol. II. p 119-129.

- 14.- Collins, A.C., Cashaw J.L. and Davis, V. (1973). Dopamine-derived tetrahydroisoquinoleines alkaloids-inhibitors of neuroamine metabolism. *Biochem. Pharmacol.* 22: 2337-2348.
- 15.- Collins, M. and Num, W.P. (1979). Dopamine-related tetrahydroisoquinoleines: significant urinary excretion by alcoholics after alcohol consumption. *Science.* 206: 1184-1186
- 16.- Walsh, M., David, V. and Yasumutu. (1970). tetrahidropapaveroline: an alkaloid metabolite of dopamine in vitro. *J. Pharmacol. Exp. Therp.* 174: 388-400.
- 17.- Yamanaka, Y., Walsh, M. and Davis, V. (1970). Salsolinol an alkaloid derivative of dopamine formed in vitro during alcohol metabolism. *Nature.* 227: 1143-1144.
- 18.- Cohen, G. and M. Collins. (1970). Alkaloids from catecholamines in adrenal tissue: possible role in alcoholism. *Science.* 167: 1749-1751.
- 19.- Deitrich, A. and Erwin, V. (1980). Biogenic amine-aldehyde condensation products; tetrahydroisoquinoleines and triptolines (beta-carbolines) *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 20: 55-80.
- 20.- Davis, V., Walsh, M. and Yamaka, Y. (1970). Augmentation of alkaloid formation from dopamine by alcohol and acetaldehyde in vitro. *J. Pharmacol. Exp. Therp.* 174: 401-402.
- 21.- Kirby, G.W. (1961). Biosynthesis of morphine alkaloids. *Science.* 155: 170-173.
- 22.- Davis, V., Walsh, M. (1970). Alcohol, amines and alkaloids: possible biochemical basis for alcohol addiction. *Science.* 167:1005- 1007.
- 23.- Hamilton, M. and Hirst, M. (1976). Effects of salsolinol on smooth muscle responses to various biogenics amines. *Eur. J. Pharmacol.* 39: 237-243.
- 24.- Walsh, M., Davis, V. and Yamanaka, Y. (1974). Tetrahidropapaveroline: an alkaloid metabolite of dopamine in vitro. *J. Pharmacol. Exp. Therp.* 174: 388-400.
- 25.- Cohen, G., Mytilineou, C., Barret, R. (1972). 6,7-dihidroxitig: uptake and storage by peripheral sympathetic nerve of rat. *Science.* 175: 1269-1272.

- 26.- Mytilineou, C. , Cohen, G. and Barret, R. (1973). Uptake, storage and release in vivo of dopamine-derived tetrahydroisoquinoleine (TIGs) alkaloid by sympathetic nerves of iris. *Fed. Proc.* 32: 739 Abs.
- 27.- Mytilineou, C., Cohen, G., and Barret, R. (1974). Tetrahydroisoquinoleina alkaloids: uptake and release by adrenergic nerves in vivo. *Eur. J. Pharmacol.* 25: 390-401.
- 28.- Locke, S., Cohen, G. Deimbec, D. (1973). Uptake and accumulation of H^3 -6,7-dihidroxi-TIG by peripheral sympathetic nerves in vivo. *J. Pharmacol. Exp. Therp.* 167: 56-67.
- 29.- Heikkila, R., Cohen, G., and Deimbec, A. (1971). Tetrahydroisoquinoleines alkaloids: uptake by rat brain homogenates and inhibition of catecholamine uptake. *J. Pharmacol. Exp. Therp.* 179: 250-256.
- 30.- Panula, P., Partanen, S., and Kaakkola, S. (1979). Observations on the distribution of exogenous dihydroisoquinoleines in the rat brain. *Exp. Brain. Res.* 34: 155-164.
- 31.- Greenberg, R., and Cohen, G. (1972). Tetrahydroisoquinoleines and the catecholamines-binding granules of the adrenal medulla. *Eur. J. Pharmacol.* 18: 291-294.
- 32.- Greenberg, R. and Cohen, G. (1973). Catecholamines-derived tetrahydroisoquinoleines : stimulated secretion from adrenal medulla. *J. Pharmacol. Exptl. Therp.* 164: 119.
- 33.- Sharon, H.N. and Steinsland, O.S. (1983). Interactions of salsolinol and its mono-O-methylated analogs with adrenergic and dopaminergic receptors in the rabbit ear artery. *J. Pharmacol. Exp. Therp.* 224: 193-198.
- 34.- Lee, O.S., Hears, J.A., Miller, D. and Feller. (1974). Evaluations of the optical isomers of tetrahydroisoquinoleines in rat adipose tissue and guinea pig aorta. *Eur. J. Pharmacol.* 28: 225-229
- 35.- Santi, R., Ferrari, G., Bruni, A. and Luciani, S. (1967). Pharmacological properties of tetrahydropapaveroline. *J. Pharm. Pharmacol.* 19: 45-51.
- 36.- Santi, R., Bruni, A., Luciani, S., Thoth, C. Ferrari, M. and Contesa, A. (1964). Pharmacological properties of tetrahydropapaveroline and their relation to the catecholamines. *J. Pharm. Pharmacol.* 16: 287-289.
- 37.- Sato, M., Yamaguchi, I. and Kiyomoto A. (1967). Studies of tetrahydroisoquinoleines (THI) (II): Pharmacological actions on cardiovascular systems. *Jap. J. Pharmacol.* 17: 153-163.

- 38.- Feller, D., Venkataraman, R. and Miller, D. (1975). Comparative actions of trimetoquinol, tetrahydropapaveroline and salsolinol isomers in beta-receptors systems. *Biochem. Pharmacol.* 24: 1357-1359.
- 39.- Iwasawa, Y. and Kiyomoto, A. (1967). Studies of tetrahydroisoquinoline (I): Broncodilator activity and structure activity relationship. *Jap. J. Pharmacol.* 17: 143-152.
- 40.- Enciclopedia Britanica: Hombre, Ciencia y Tecnologia. (1983). Ed. Danae S.A., Barcelona, Espana. Tomo 2, pp 697.
- 41.- Strong, P. (1970). Biophysical Measurements. *Elektronix INC.* Oregon, U.S.A. pp. 499.
- 42.- Bowman, W.C. y Rand M.J. (1984). *Farmacologia: bases bioquímicas y patológicas. Aplicaciones clinicas.* Ed. Interamericana. Segunda edición. México.
- 43.- KenanKin, T. (1987). *Trends. Pharmacol. Sci.* (8);II, 423-426.
- 44.- Alquist, R.P. (1966). The adrenergic receptor. *J. Pharmac. Sci.* 155:359-367.