



**U. N. A. M.**  
FACULTAD DE CIENCIAS

**Estudio de la Cinética de Interacción  
Fármaco-Receptor de Opiáceos en Ileo de Cobayo:  
Simulación por Métodos Numéricos  
en Computadora.**

Tesis profesional  
que para obtener el título de

**BIOLOGO**

presenta

**SILVIA L. CRUZ MARTIN DEL CAMPO**



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.

## GLOSARIO

### Nomenclatura General

- A: Agonista.  
A<sub>50</sub>: Dosis Eficaz al 50%.  
A': Dosis Equiefectiva de A.  
B: Antagonista.  
P: Agonista Parcial.  
R: Receptor Libre.  
R<sub>t</sub>: Receptores Totales.  
R': Receptor Inactivado.  
q: Fraccion de receptores que queda disponible despues de un bloqueo parcial irreversible.  
λ: Complejo fármaco-receptor = AR.  
Y: Fraccion de receptores ocupados = λ/R<sub>t</sub>.  
Z: Complejo antagonista-receptor = BR.  
E: Efecto. Respuesta.  
S: Estimulo.  
k<sub>1</sub>: Constante de tasa de asociacion fármaco-receptor.  
k<sub>2</sub>: Constante de tasa de disociacion del complejo fármaco-receptor.  
K: Constante de Equilibrio: k<sub>2</sub>/k<sub>1</sub>.  
1/k: Afinidad.  
α: Actividad Intrínseca.  
ε: Eficacia.  
e: Eficacia Intrínseca.  
pA<sub>2</sub>: Medida de la afinidad de un antagonista competitivo por su receptor = -log B = -log Kb = log(1/kb).  
p: Proteína en estado de reposo.  
p\*: Proteína específicamente perturbada.  
p#: Proteína que ha sufrido una perturbación conformacional inespecífica.  
Mp: Molécula capaz de producir una perturbación conformacional específica en la proteína.  
Mi: Molécula capaz de producir una perturbación conformacional inespecífica en la proteína.  
a: Sustrato.  
b: Producto.

Teoría de inactivación del Receptor:

- R: Receptores Inactivos  
k3: Constante de tasa de inactivación de los  
receptores ocupados.  
k4: Constante de tasa de reactivación de R'

Proposiciones:

- ARa: Complejo farmaco-receptor en estado activo.  
ARi: Complejo farmaco-receptor en estado inactivo.  
k<sub>t</sub> : Constante de tasa de transición del complejo  
activo al inactivo.  
k<sub>d</sub> : Constante de tasa de disociación del complejo  
ARi en las especies iniciales.

## INDICE GENERAL

I. INTRODUCCION	1
I.1. Justificación.	2
I.2. Modelo Experimental.	4
I.2.1. Características de la Preparación Biológica.	4
I.2.2. Extracción y Montaje de la Preparación Biológica.	6
I.3. Antecedentes Experimentales.	8
I.4. Objetivos.	10
II. REVISION DE TEORIAS	11
II.1. Teoría Clásica:	14
Postulados Generales.	
II.1.1 Ley de Acción de Masas.	14
II.1.2 Formación del complejo fármaco - receptor.	16
II.1.3 Agonismo y Antagonismo.	20
II.1.4. Implicaciones.	20
II.2. Modificaciones de Stephenson:	21
Postulados Generales.	
II.2.1 Relación entre Eficacia y Actividad Intrínseca. - Determinación de la Eficacia Relativa.	21
II.2.2 Determinación de la Fracción de Receptores Ocupados.	23

II.2.3	Agonismo y Antagonismo.	25
II.2.4.	Implicaciones.	25
II.2.5.	Determinación de la Afinidad para Agonistas Parciales. (Cálculo de $K_p$ ).	27
II.2.6.	Determinación de la Afinidad para Antagonistas Competitivos. - Ecuación Competitiva. - Cálculo de $pA_2$ .	30
II.3.	Aportaciones de Furchgott: Postulados Generales.	34
II.3.1	Determinación de la Afinidad para Agonistas por el Método de Bloqueo Parcial Irreversible.	34
II.3.2.	Implicaciones.	38
II.4.	Aplicaciones de las Teorías de Ocupación a los fenómenos de dependencia a opiáceos.	39
II.5.	Teoría de Velocidad: Postulados Generales.	40
II.5.1.	Agonismo y Antagonismo.	41
II.5.2.	Implicaciones.	42
II.6.	Teoría de Perturbación Macromolecular: Postulados Generales.	44
II.6.1.	Evidencias Experimentales.	46
II.6.2.	Implicaciones.	47
II.7.	Teoría de Inactivación del Receptor: Postulados Generales.	48
II.7.1.	Ecuaciones Principales.	50
II.7.2.	Implicaciones.	53
	Programa 1.	54

III. Proposiciones: Generalidades.	58
III.1. Tratamiento Matemático.	61
III.2. Resultados e Implicaciones	63
Programa 2.	67
IV. Discusion.	68
V. Conclusiones.	71
VI. Referencias Bibliográficas.	73
Apendice 1.	78

## I. I N T R O D U C C I O N



## 1. INTRODUCCION

### 1.1. Justificación.

La Naturaleza intenta describirse de muchas formas bajo muy diferentes aspectos. Gran parte del interés del biólogo consiste precisamente en participar de este proceso descriptivo.

Conocer la historia de la vida, quienes la conforman, de que manera interaccionan entre sí, cuáles son los mecanismos que permiten la funcionalidad y autonomía de los seres vivos, son inquietudes que modulan nuestro trabajo cotidiano.

Dentro de estas inquietudes, la Farmacología resulta una opción muy interesante. Su ingerencia particular se centra en la modulación de las funciones de los seres vivos.

De los posibles contactos con esta materia, uno que resulta muy atractivo, es el de las interacciones entre los fármacos y sus receptores.

Un fármaco, en el sentido amplio del término, es cualquier agente químico no alimenticio capaz de afectar los organismos vivientes (Levine, 1982). El campo de estudio de la Farmacología es pues, muy amplio, aunque puede simplificarse mucho si consideramos que los fármacos no crean nuevas funciones, sólo modulan las ya existentes.

Nos interesa en particular detenernos en las interacciones fármaco-receptor, porque es un campo de gran universalidad. La mayor parte de los fenómenos fisiológicos y fisiopatológicos están mediados por las interacciones que se presentan entre los ligandos y sus receptores. Es un tema además sobre el que se ha dicho mucho, y sin embargo muchas de las preguntas iniciales siguen sin contestarse.

En general, las variables involucradas en los fenómenos naturales son tan numerosas que para su descripción, recurrimos a abstracciones simplificadas, a modelos, que nos permiten acercarnos con cierta facilidad a una realidad compleja.

Un modelo es la expresión de una idea o de un grupo de ideas que pretende representar de manera simplificada una porción de la naturaleza.

En el estudio de las interacciones entre los ligandos y sus receptores, los modelos matemáticos han desempeñado un papel muy importante.

Se han hecho numerosos estudios al respecto, la mayoría de los cuales supone condiciones de equilibrio. Sin embargo, aun desde las primeras investigaciones se reconoció la existencia de fenómenos que no podían explicarse con base en estas presunciones.

Desde finales de la década de los cincuenta, se trabajó por caracterizar él, o los mecanismos por los cuales una respuesta a un agente dado disminuye aunque la concentración de ligando permanezca constante (taquifilaxis). De igual manera, se ha intentado explicar por qué en ciertos casos es necesario un aumento progresivo de la cantidad de ligando para producir los mismos efectos iniciales (tolerancia). Muchos de estos estudios se vieron obstaculizados porque no se contaba con los recursos conceptuales y técnicos suficientes para abordar el tema.

Es necesario retomar el estudio de estos temas porque la tolerancia y la taquifilaxis son fenómenos importantes en clínica. En algunos casos son deseables y en otros no.

Un caso en que la tolerancia es claramente indeseable es el de los analgésicos.

El mejor analgésico natural que se conoce es la Morfina. Es un alcaloide que se extrae del látex de cápsulas inmaduras de Papaver somniferum cuyos efectos analgésicos y sobre sistema nervioso central, se conocen hace mucho tiempo.

A pesar de su eficacia, la aplicación de la Morfina presenta varias desventajas: produce tolerancia a su efecto analgésico y dependencia física. Esto último implica que al suspenderse la administración del fármaco, se produce una serie de desórdenes importantes que en conjunto se conocen como SINDROME DE ABSTINENCIA.

Para buscar los mecanismos de producción de la dependencia física, así como para buscar analgésicos que no

la produzcan, es necesario contar con modelos experimentales adecuados.

## 1.2. Modelo Experimental.

### 1.2.1. Características de la Preparación Biológica.

La preparación experimental que ha hecho posible el presente análisis es el íleo aislado de cobayo. En esta preparación se puede desarrollar dependencia temprana a los opiáceos in vitro (Villarreal y Martínez, 1975, Villarreal, Martínez y Castro, 1977). Es una preparación de músculo liso, relativamente sencilla y constante que permite un buen control de las variables ambientales y experimentales.

En el animal íntegro, el íleo se encuentra en un medio químico donde desarrolla actividad mecánica por la contracción de los músculos longitudinales y circulares. Presenta una regulación muy fina por su inervación autónoma predominantemente parasimpática. Los plexos nerviosos de las diferentes capas que lo componen son: el submucoso o de Meissner, el circular intramuscular, el mientérico o de Auerbach, el longitudinal intramuscular y el subseroso. (Figura I.1)

En esta preparación se han encontrado receptores a un gran número de sustancias. Entre ellos se incluyen los receptores a morfina, acetil colina, histamina, nicotina, muscarina, serotonina, adrenalina y sustancia P. (Burks y col. 1983)

A pesar de su compleja inervación, cuando se trabaja con el íleo aislado se tiene un buen control de las condiciones químicas y mecánicas lo que lo convierte en un elemento de gran utilidad para el estudio de la farmacodependencia.

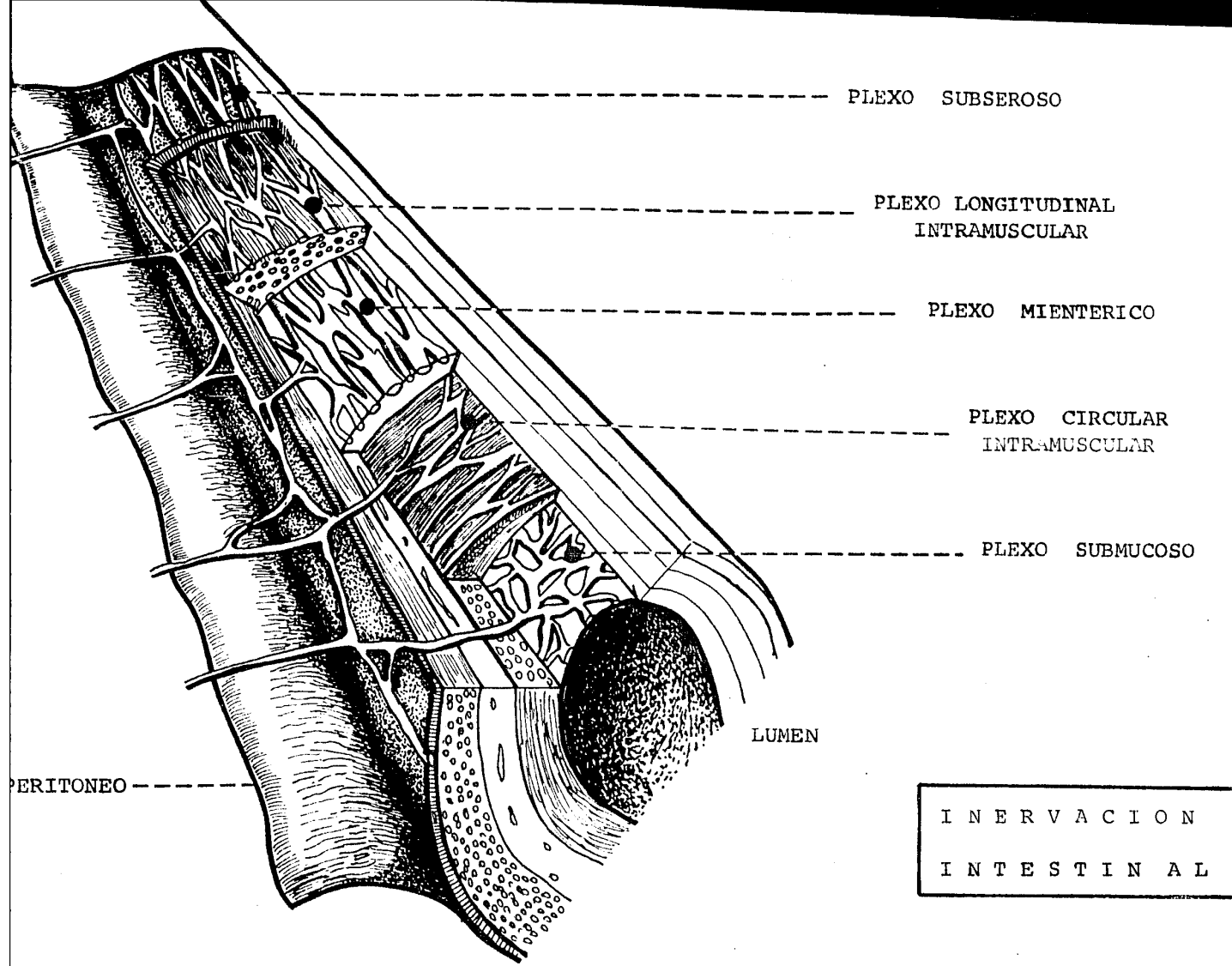


FIG. I.1. CORTE ESQUEMATICO QUE MUESTRA LA INERVACION DE LAS  
 DIFERENTES CAPAS DEL INTESTINO. (Adaptado de M.D. Thomas, 1979.)

### 1.2.2. Extracción y Montaje de la Preparación Biológica.

Para la extracción de la preparación se procede de la siguiente manera:

- Se descerebra el cobayo de un golpe en la nuca.
- Se abre abdomen dejando expuesto el intestino.
- Se localiza la valvula ileocecal. En esa porcion se hace un corte para separar el ileo.
- Se extrae un segmento de intestino delgado de aproximadamente 25 centimetros de largo procurando evitar la manipulacion con instrumentos metalicos.
- Se desechan los primeros 10 centimetros. El segmento restante se divide en 4 tiras de 2 a 2.5 cm de longitud que se colocan en cajas de Petri con solucion Krebs oxigenada a pH 7.4 y a 37 Celsius de temperatura. (Fig. 1.2. A)
- Se coloca cada tira sobre un vidrio de reloj y se procede a extraer el contenido intestinal. Un extremo se sujeta con pinzas de puntas recubiertas con algod6n y con un embolo de cristal se ejerce presion hacia abajo y hacia afuera de la tira intestinal. (Fig. 1.2. B)
- se quitan los residuos de mesenterio. (Fig. 1.2. C)
- Se ata un hilo en los extremos opuestos alternos de cada tira.

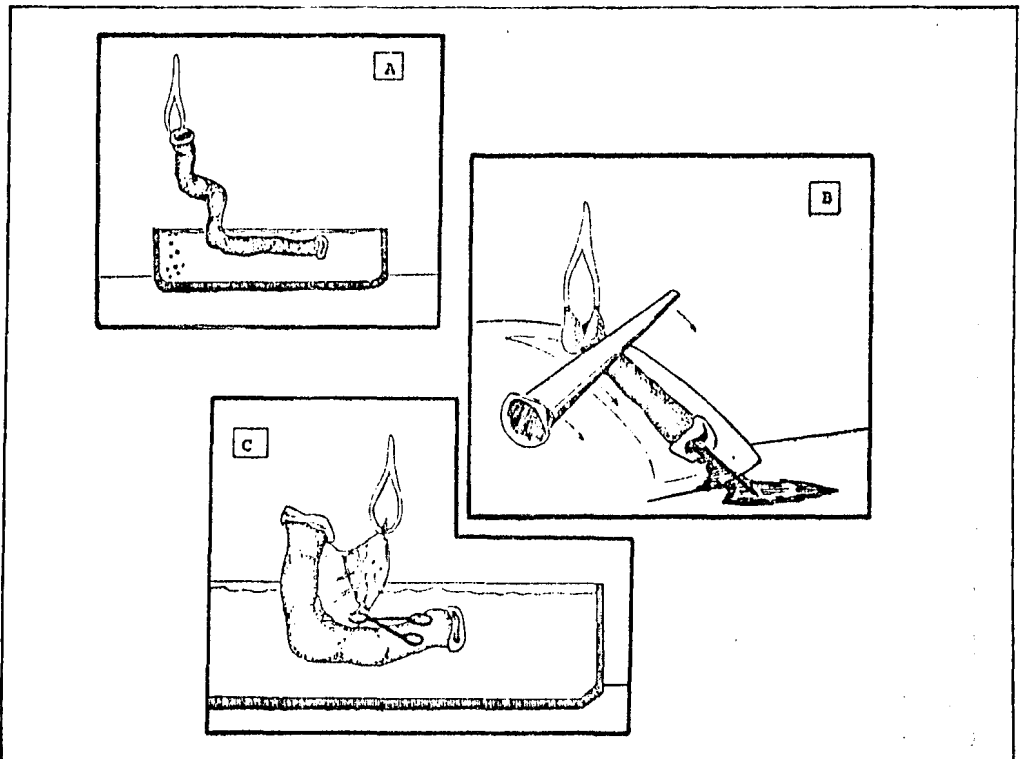


FIG. 1.2. ALGUNOS PASOS DEL MONTAJE DE ILEO AISLADO DE COBAYO.

- En dos cámaras de temperatura constante se montan las 4 tiras (dos por cada cámara) de acuerdo con lo que se encuentra esquematizado en la figura 1.3 y que describiremos a continuación:

Las cámaras tienen 2 electrodos de Nicromel sobre los cuales se montan las tiras de tal manera que la luz de cada segmento intestinal quede en contacto directo con un electrodo. Con los hilos que se ataron a los segmentos se fijan los extremos basales al tapon y los extremos superiores al transductor. Las tiras quedan inmersas en una solución Krebs que contiene: 6.906 g/l de NaCl, 0.354 g/l de KCl, 2.100 g/l de NaHCO<sub>3</sub>, 0.013 g/l de MgSO<sub>4</sub>, 2.2 g/l de Glucosa, 0.282 g/l de CaCl<sub>2</sub> y 0.006 g/l de Cloruro de Colina. La solución se mantiene a un pH de 7.4 con burbujeo constante de carbogéno (95% de O<sub>2</sub> y 5% de CO<sub>2</sub>). La estimulación es 25% supramaxima con pulsos cuadrados de 0.5 ms cada 10 segundos. La respuesta contractil se registra en un polígrafo acoplado a un transductor de tensión isométrico marca Grass modelo FT 03 C con una deformabilidad de 0.2 m/g.

La extracción y montaje de cuatro tiras se realiza en treinta minutos.

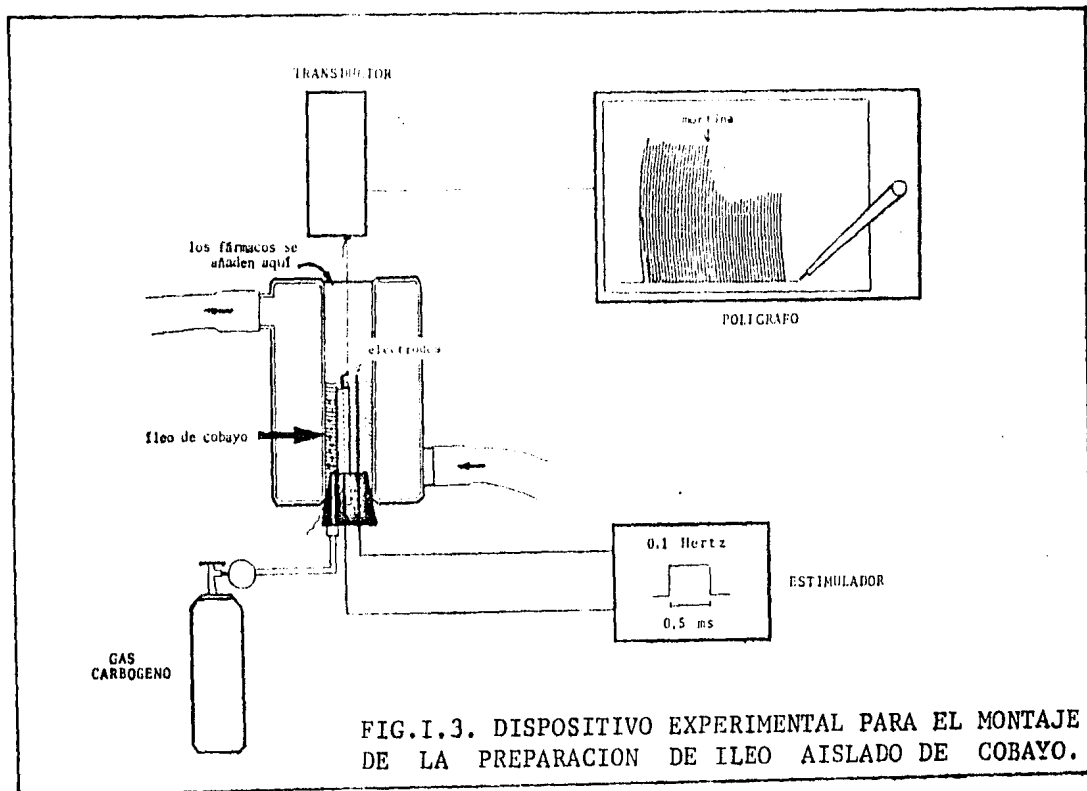


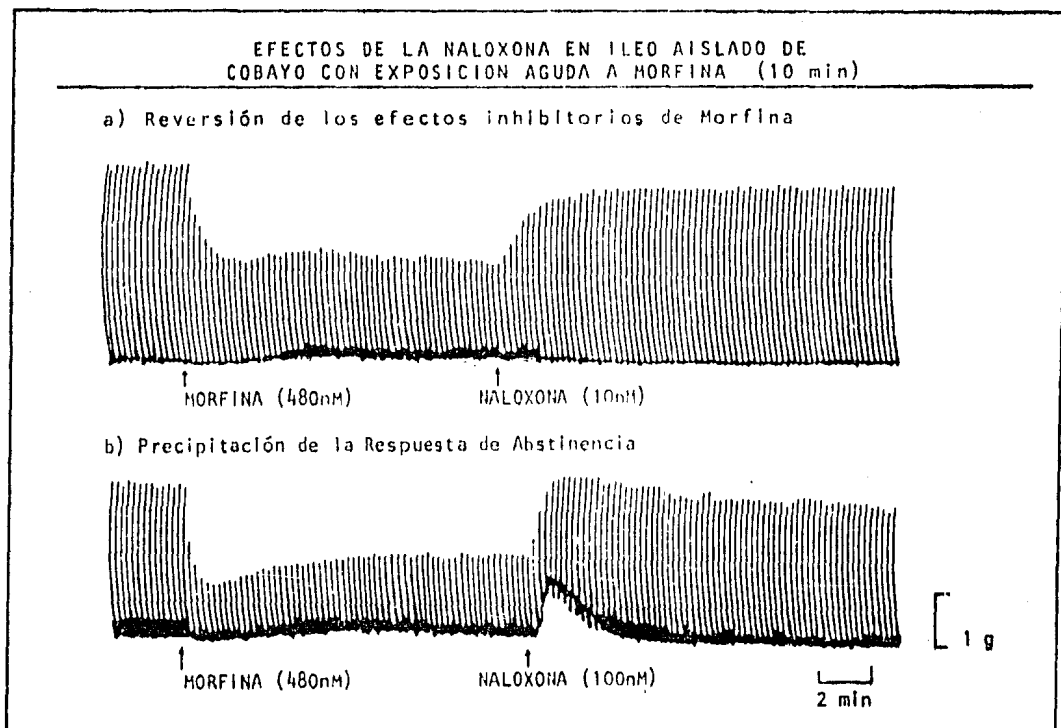
FIG.1.3. DISPOSITIVO EXPERIMENTAL PARA EL MONTAJE DE LA PREPARACION DE ILEO AISLADO DE COBAYO.

### 1.3. Antecedentes experimentales.

La preparación de íleo aislado de cobayo desarrolla hiperreactividad a los antagonistas de los opiáceos por exposición prolongada a agonistas tales como la Morfina. Este fenómeno se considera un indicador de dependencia física en organismos completos.

Para la comprensión de este fenómeno revisemos algunos de los registros experimentales que se han obtenido con esta preparación en la Sección de Terapéutica Experimental del CINVESTAV, I.P.N.

FIGURA I.4.



En la figura I.4. se muestran dos registros de la actividad mecánica de la preparación. En ambos casos la línea basal indica la contracción sostenida que permite el mantenimiento del tono muscular. Sobre ella se desarrollan sacudidas simples. Estas contracciones resultan de la estimulación eléctrica a la que está sometido el intestino.

El inicio de los registros muestra la magnitud de la

sacudida simple control. Se observa que al administrar 480 nM de Morfina la respuesta disminuye aproximadamente un 60%.

En el registro superior podemos observar que con 10 nM de Naloxona se revierten los efectos inhibitorios de la Morfina. En este sentido la Naloxona actúa como un antagonista competitivo clásico.

En el registro inferior se observa que la administración de 100 nM del mismo compuesto revierte los efectos inhibitorios de la Morfina a la vez que provoca una contractura intensa que se desvanece en el curso de unos pocos minutos. Esta contractura característica se le conoce como respuesta de abstinencia y se considera un índice de dependencia física en organismos completos.

La respuesta de abstinencia es tetaquifiláctica ya que se desvanece en el tiempo aun cuando la concentración del antagonista permanece constante, pero además presenta otra característica importante: varía en tamaño y duración en función del tiempo de exposición a la Morfina. (Fig. 1.5.)

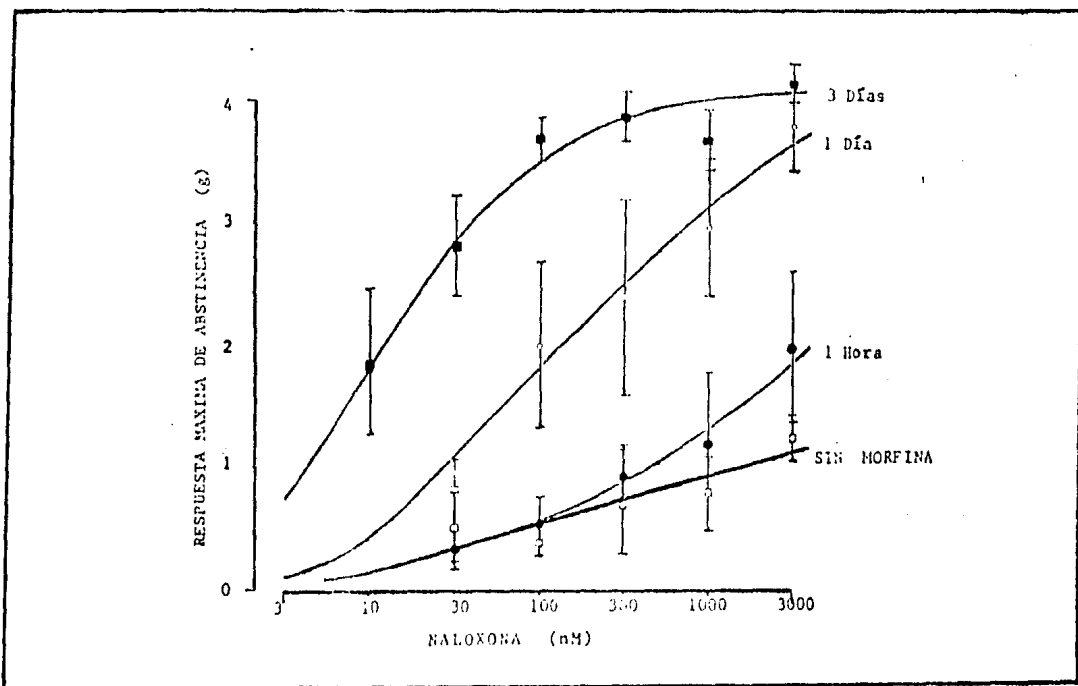


FIG. 1.5. VARIACION DE LA RESPUESTA MAXIMA DE ABSTINENCIA PRECIPITADA POR DIFERENTES DOSIS DE NALOXONA EN FUNCION DEL TIEMPO DE EXPOSICION A MORFINA. (J.E. Herrera, L.A. Salazar, J.E. Villarreal, inedita).



#### 1.4. Obietivos.

En este trabajo centramos nuestra atencion en el analisis de la respuesta de abstinencia. Nuestro objetivo es manejar una hipotesis de trabajo con la cual intentamos adentrarnos en la comprension de esta respuesta. Dicha comprension podria traducirse en la busqueda y evaluacion de nuevos farmacos que tuvieran las caracteristicas analgesicas de los opiaceos pero no produjeran dependencia ni tolerancia.

Esta inquietud nos lleva a revisar las principales proposiciones hechas para teoria de receptores. Revisamos sus postulados, su formalizacion matematica y algunas de sus implicaciones.

En este camino nos encontramos con enormes obstaculos operativos, ya que, por un lado, no se cuenta con una nomenclatura uniforme, y por otro, el manejo de las ecuaciones matematicas de las diferentes proposiciones resulta complicado y requiere de una gran inversion de tiempo. Para agilizar el trabajo, implementamos las ecuaciones basicas en una microcomputadora de 64 K de memoria central, utilizando para ello el lenguaje Basic de programacion.

El analisis de las diferentes teorias de receptores nos confirma que no se cuenta aun con los elementos necesarios para comprender los resultados experimentales derivados de trabajar con agonistas y antagonistas a opiaceos en la preparacion de ileo aislado de cobayo. Por esta razon, finalmente se presenta un planteamiento que incluye una proposicion que no se encuentra en lo revisado.

II. REVISION

DE TEORIAS

## II. REVISION DE TEORIAS

"En todas las células deben distinguirse al menos dos constituyentes, una sustancia principal que está relacionada con las funciones primordiales de la célula tales como la contracción o secreción, y las sustancias receptoras que actúan por estimulación de compuestos químicos o, en ciertos casos, por estimulación nerviosa."  
(Langley 1905)

Cuando Langley (1905) trabajaba con preparaciones sensibles a nicotina y a curare se sorprendió por la especificidad de las reacciones observadas. Esto le llevó a pensar que existía en los tejidos una "sustancia receptora" particular para cada compuesto.

Definió a las sustancias receptoras como aquellas que recibían el estímulo provocado por fármacos y hormonas para luego transferirlo a los órganos efectores.

Con esta concepción Erlich en 1919 acuñó el término receptor. Con el tiempo, se vuelve éste un término en torno al cual se desarrollan importantes consideraciones teóricas de gran repercusión hasta nuestros días.

En las diferentes teorías de receptores se proponen relaciones cuantitativas entre los efectos que produce un fármaco y la manera en que éste interactúa con su receptor.

A Clark (1926) y Gaddum se debe el primer acercamiento cuantitativo. Sus principios constituyen las bases sobre las cuales se desarrollan las Teorías de Ocupación. Lo que estas teorías tienen en común es que consideran que el efecto depende, de una u otra manera, de la cantidad de fármaco unido al receptor.

Un enfoque diferente lo constituye la Teoría de Velocidad, en la cual se considera que la respuesta no se debe a la ocupación de receptores en sí, sino al proceso de ocupación. Más recientemente contamos con nuevas aportaciones muy valiosas como las que hace Gosselin en 1977, y con los trabajos de Villarreal y colaboradores que analizaremos detenidamente al final de este trabajo.

El objeto del presente capítulo es hacer una breve revisión de las diferentes teorías de receptores desde el punto de vista cualitativo y cuantitativo para introducirnos en el manejo de algunas ecuaciones básicas.

Nuestro interés es hacer un inventario de las herramientas con las que contamos para analizar los datos experimentales de la dependencia a opiáceos.

Cada proposición se revisa desde el punto de vista de sus postulados básicos. Con base en ellos se presentan sus ecuaciones principales, y las gráficas necesarias, algunas de ellas obtenidas al implementarlas en la microcomputadora. Al final de cada sección se analizan algunas implicaciones y su posible aplicación para este trabajo.

Para dar uniformidad a la revisión se acordó el uso de una nomenclatura única la cual se seleccionó después de analizar las presentadas en artículos originales. En el apéndice I se muestra una tabla de equivalencias de nomenclatura.

## II.1 TEORÍA CLÁSICA

Por Teoría Clásica nos referimos a las proposiciones fundamentales de Clark y a su modificación y ampliación matemática por Ariens.

Básicamente lo que Clark propone (1926) es que el efecto farmacológico sigue una proporcionalidad directa con el número de receptores ocupados por el fármaco, de tal manera que si obtenemos una respuesta máxima es porque todos los receptores están ocupados. Supone además que una molécula de fármaco interactúa únicamente con una molécula de receptor de acuerdo con lo descrito por la ley de acción de masas.

En 1937 Clark reconoce que la acción de fármacos depende de dos factores:

- 1) fijación del fármaco por el receptor y
- 2) habilidad del fármaco para producir una respuesta después que se ha unido a su receptor.

Ariens formaliza estas ideas (1954) al proponer que la respuesta biológica debía dividirse en dos parámetros independientes: AFINIDAD y ACTIVIDAD INTRINSECA.

La afinidad determina el que un fármaco pueda unirse a su receptor, mientras que la actividad intrínseca se refiere a la habilidad del fármaco para producir una respuesta.

Estas ideas se ven enriquecidas por conocimientos de fisicoquímica y enzimología y poco a poco se constituye una sólida base conceptual, cuya formalización matemática veremos ahora:

Una de las proposiciones fundamentales de Clark es que la respuesta de un tejido al fármaco se debe a la formación del complejo fármaco-receptor [AR], la cual obedece a la ley de acción de masas.

### II.1.1. Ley de Acción de Masas

Se establece que en una reacción química:



la tasa de asociacion por receptor es proporcional a la concentracion de reactivos disponibles:

$$d[AR]/dt = k_1 [A] [R] \quad (2)$$

y la tasa de disociacion por receptor es proporcional a la concentracion de los productos:

$$d[A][R]/dt = k_2 [AR] \quad (3)$$

En condiciones de equilibrio la tasa de asociacion es igual a la de disociacion. De aqui que podamos igualar:

$$k_1 [A] [R] = k_2 [AR] \quad (4)$$

Tradicionalmente la relacion de constantes  $k_2/k_1$  se maneja como una constante de equilibrio ( $k_{eq}$ ) o constante de disociacion. Para definiria basta despejarla de la ecuacion anterior:

$$k_{eq} = k_2/k_1 = \frac{[A] [R]}{[AR]} \quad (5)$$

Las otras proposiciones de esta teoria son que:

1) La magnitud del efecto farmacológico (E) es directamente proporcional a la concentracion de receptores ocupados por el farmaco:

$$E = \alpha [AR] \quad (6)$$

(Nótese que la letra griega alfa se utiliza como constante, no como signo de proporcionalidad. Esto obedece a que Ariens en su trabajo original considera a esta constante como la actividad intrinseca de un farmaco. En este trabajo hemos decidido respetar este simbolo ya clásico en la farmacología)

2) La respuesta máxima se obtiene solo cuando todos los receptores están ocupados, es decir, cuando la concentracion de complejo fármaco-receptor es igual a la concentracion total de receptores ( $R_t$ )

$$E_{max} = \alpha R_t \quad (7)$$

Por comodidad de ahora en adelante llamaremos X al complejo fármaco-receptor formado en un momento determinado.

### 11.1.2. Formación del Complejo Fármaco-Receptor.

Para conocer  $X$  trabajaremos con las ecuaciones de la ley de acción de masas. En ellas se establece que:

$$T_{asoc} = k_1 [A] [R] \quad (ec.2)$$

En realidad las concentraciones de fármaco y de receptores libres, no son constantes. Inicialmente tenemos una cierta concentración de fármaco disponible para unirse con su receptor. Conforme esta unión se da, la concentración de fármaco libre disminuye. Lo mismo puede decirse de los receptores libres, su concentración disminuye conforme se van ocupando.

Si consideramos ahora esta corrección, tenemos que la concentración de fármaco disponible  $[A]$  es igual al fármaco total menos el fármaco que está ocupando los receptores:

$$[A] = (A-X) \quad (8)$$

De igual manera los receptores libres son los receptores totales menos los receptores ocupados:

$$[R] = (R_t - X) \quad (9)$$

La tasa de asociación la podemos expresar entonces como:

$$d[AR]/dt = k_1 (A-X) (R_t - X) \quad (10)$$

Y la tasa de disociación queda como:

$$d[A][R]/dt = k_2 X \quad (ec.3)$$

La formación del complejo fármaco-receptor en cada momento, está dada por la diferencia entre ambas:

$$dX/dt = T_{asoc} - T_{disoc}$$

$$dX/dt = k_1 (A-X) (R_t - X) - k_2 X \quad (11)$$

En condiciones de equilibrio el cambio neto es cero:

$$dX/dt = 0$$

Por lo tanto podemos establecer la siguiente igualdad:

$$k_1 (A - X_e) (R_t - X_e) = k_2 X_e \quad (12)$$

(el subíndice e. indica condiciones de equilibrio)

En general la proporción de fármaco que se une al receptor es despreciable comparada con la concentración total del fármaco, por lo que  $(A - X)$  es aproximadamente igual a  $A$ :

$$k_1 A (R_t - X_e) = k_2 X_e \quad (13)$$

Como lo que queremos conocer es  $X$  podemos despejarlo de la fórmula anterior:

$$X_e = \frac{AR_t}{A+k} \quad (14)$$

Recordemos que uno de los postulados de Clark establece que el efecto es directamente proporcional a la concentración  $X$  del complejo:

$$E = \alpha X \quad (\text{ec.6})$$

De aquí que podamos tener otra expresión que defina a  $X$ :

$$X = \frac{E}{\alpha} \quad (15)$$

Si trabajamos en condiciones de equilibrio podemos establecer la siguiente igualdad:

$$\frac{E}{\alpha} = \frac{R_t A}{A+k} \quad (16)$$

La constante de proporcionalidad ( $\alpha$ ) es lo que Ariens llamo actividad intrínseca. Y el inverso de la constante de disociación ( $1/k$ ) es la afinidad.

Podemos determinar la magnitud del efecto despejando de la fórmula anterior:

$$E = \frac{\alpha R_t A}{A+k} \quad (17)$$

Al hacer este despeje aparece un término que ya conocemos:  $\alpha R_t$ . Recordemos que Clark establece que la respuesta máxima ocurre cuando todos los receptores están ocupados:  $E_{\max} = \alpha R_t$



Si sustituimos:

$$E = \frac{E_{\max} A}{A+k} \quad (18)$$

( Notese la similitud de la ecuacion 18 con la ecuacion de Michaelis - Menten que describe la velocidad de reaccion enzima sustrato) (15).

Un parametro que frecuentemente se utiliza en farmacologia es la dosis eficaz al 50% ( $A_{50}$ ). Se define como la dosis necesaria para producir el 50% de la respuesta maxima. Este es un dato particularmente util porque muestra el promedio de los efectos de toda una poblacion de individuos.

Si se construye una grafica tipica logaritmo de la dosis-respuesta, se obtiene una curva sigmoidea que es simetrica alrededor del punto en que se obtiene el 50% de la respuesta maxima. Su pendiente maxima y punto de inflexion se encuentran en este punto medio. Estas caracteristicas reflejan que es una curva de frecuencia acumulada de los efectos de un fármaco en individuos pertenecientes a una poblacion de distribucion normal cuya media es precisamente la dosis eficaz al 50% (12).

Por toda la informacion que brinda, es conveniente conocer este parametro. Podemos hacerlo analiticamente a partir de algunas relaciones que ya hemos manejado:

Si:

$$E = \frac{E_{\max} A}{A+k}$$

y el efecto que queremos conocer es la mitad del efecto maximo, entonces:

$$\frac{E_{\max}}{2} = \frac{E_{\max} A}{A+k} \quad (19)$$

Despejando tenemos:

$$\frac{E_{\max}}{E_{\max}} = \frac{2A}{A+k}$$

$$1 = \frac{2A}{A+k}$$

$$A+k = 2A \quad (20)$$

La única manera de que esta igualdad se cumpla es que  $A$  sea igual a  $k$ . Como el efecto que estamos buscando es la mitad del efecto máximo, la dosis que tenemos es precisamente  $A_{50}$ .

Hemos llegado entonces a una conclusión importante:

EN LA TEORIA CLASICA LA DOSIS EFICAZ AL CINCUENTA POR CIENTO ES UNA MEDIDA DE LA CONSTANTE DE DISOCIACION

(Fig. II.1)

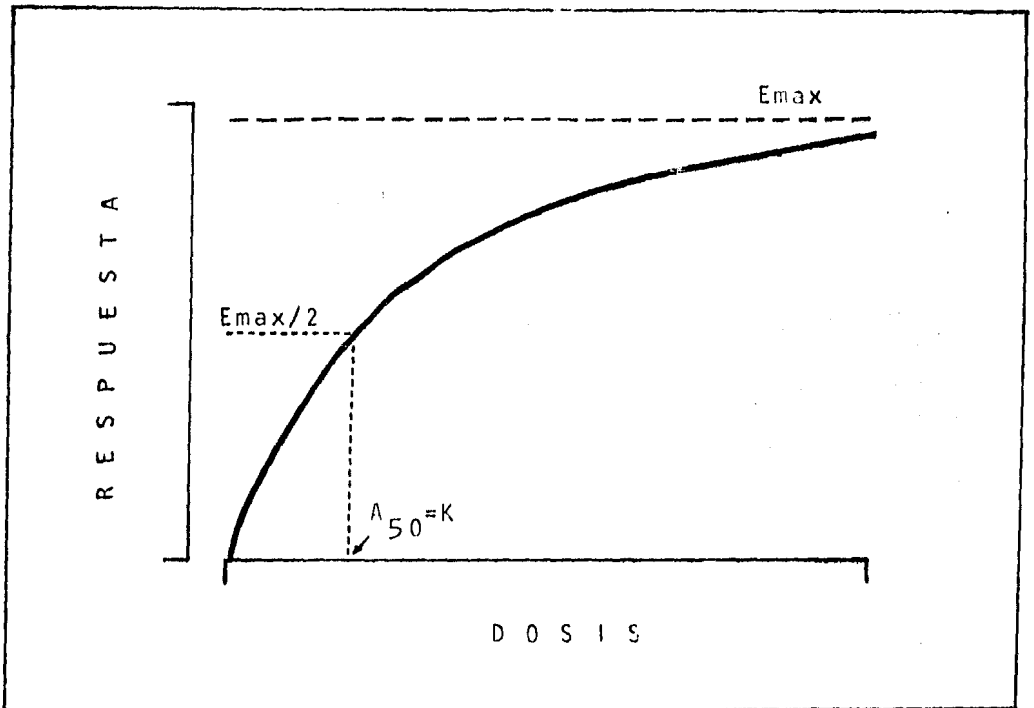


FIG II.1. EN LA TEORIA CLASICA LA DOSIS EFICAZ AL CINCUENTA POR CIENTO (A<sub>50</sub>) ES UNA MEDIDA DE LA CONSTANTE DE DISOCIACION (K).

### 11.1.3. Agonismo y Antagonismo.

Con base en los términos introducidos por Ariens se define al AGONISTA PURO como aquel compuesto que tiene afinidad y actividad intrínseca iguales a 1. El ANTAGONISTA PURO es aquel que tiene afinidad igual a 1 pero actividad intrínseca igual a 0.

Las posibilidades intermedias ayudan a caracterizar a los agonistas (antagonistas) parciales.

### 11.1.4. Implicaciones.

Con los trabajos de Clark y Ariens se abre una nueva época para la farmacología. Este primer acercamiento cuantitativo proporciona explicación al comportamiento de un buen número de fármacos al mismo tiempo que inicia la posibilidad de predicción.

Las modificaciones de Stephenson y Furchgott que a continuación exponemos van en el sentido de adaptar los conceptos clásicos a nuevos datos experimentales, pero no varían en el postulado de que la respuesta a un agente determinado es función del número de receptores ocupados.

## II.2. MODIFICACIONES DE STEPHENSON

R.A. Stephenson (1956) modificó la teoría clásica al introducir tres ideas fundamentales:

- 1) La magnitud de la respuesta es una función desconocida del número de receptores ocupados, no necesariamente una relación lineal.
- 2) Puede obtenerse una respuesta máxima sin que se ocupen todos los receptores.
- 3) Los diferentes fármacos pueden variar en su capacidad de iniciar una respuesta y consecuentemente necesitar ocupar diferentes proporciones de receptores para producir respuestas iguales. A esta propiedad de los fármacos Stephenson le llama EFICACIA ( $\xi$ ).

### II.2.1. Relación entre Eficacia y Actividad Intrínseca

Con los postulados de Stephenson, surge la inquietud de saber cómo se relacionan la eficacia y la actividad intrínseca. En realidad los dos términos se refieren a la habilidad de un fármaco para producir una respuesta después que se ha unido a su receptor, pero la eficacia tal como la describe Stephenson, y la actividad intrínseca como inicialmente la describe Ariens no son sinónimos.

#### -Determinación de la Eficacia Relativa

No puede hablarse de una eficacia absoluta, pero si trabajamos con una serie de agonistas de un mismo receptor, podemos asignar a cada uno de ellos EFICACIAS RELATIVAS.

La técnica para determinarlas fue descrita por Furchgott y Bursztyn (1967). Consiste en asignar al agonista que produce la respuesta máxima del tejido (agonista completo) la eficacia relativa máxima: 1. Después se grafican las respuestas de los diferentes agonistas en función del logaritmo de la ocupación de receptores. El número de receptores ocupados se determina por la ley de acción de masas (ecuación 14) y la respuesta máxima se registra experimentalmente.

Conviene remarcar que si bien Stephenson utiliza la ley de acción de masas, ésta no supone que el efecto máximo se logre con la ocupación de todos los receptores. Por tanto, no hay contradicción con sus postulados básicos.

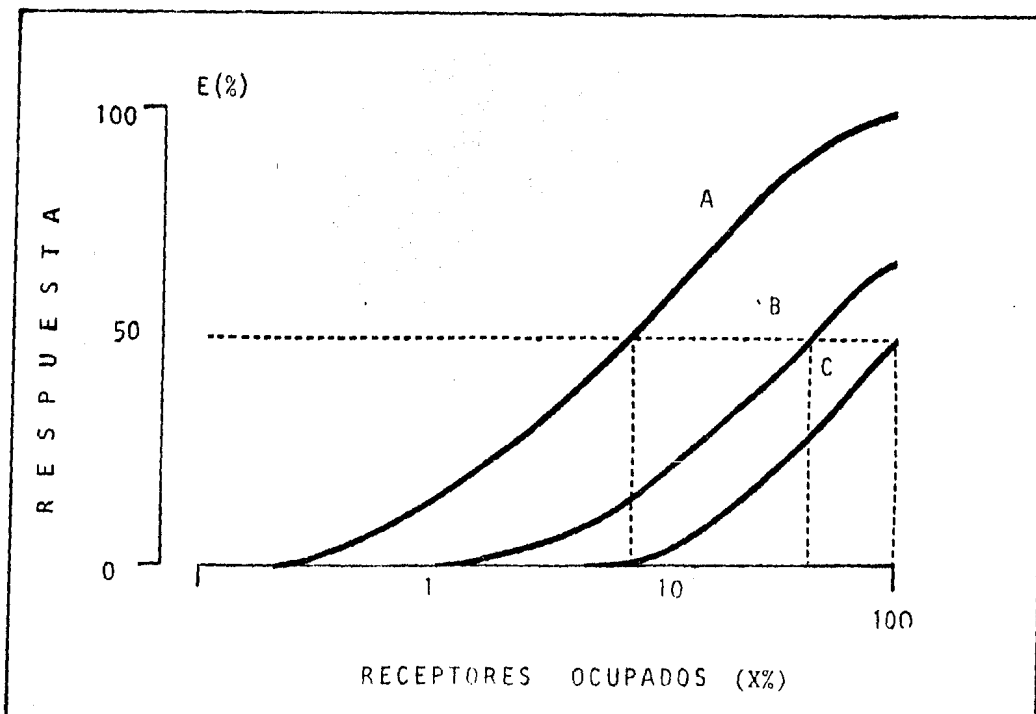


FIG 11.2. RESPUESTAS DE TRES FÁRMACOS DISTINTOS (I, II, III) EN FUNCIÓN DEL NÚMERO DE RECEPTORES OCUPADOS

Hasta este momento no hay diferencia con las proposiciones clásicas. La novedad estriba en que de acuerdo con Stephenson (1966) los diferentes fármacos pueden variar en su capacidad de iniciar una respuesta, y consecuentemente pueden necesitar ocupar diferentes proporciones de receptores para producir respuestas iguales. Por lo tanto, de acuerdo con la figura 11.2, los fármacos I, II y III producen las mismas respuestas (por ejemplo el 50% de la respuesta máxima de A) cuando han ocupado respectivamente 7, 50 y 100% de la población de receptores.

Según Furchgott y Bursztyjn la razón de los receptores ocupados por el agonista completo ( $X_a$ ) con respecto a los ocupados por el agonista parcial ( $X_b$  y  $X_c$  respectivamente) nos da la eficacia relativa de B y C.

$$E_{rel B} = \frac{X_a}{X_b} \quad (21)$$

En este sentido:

LA EFICACIA TAL COMO LA DESCRIBE STEPHENSON REEMPLAZA A LA ACTIVIDAD INTRINSECA COMO LA DESCRIBE INICIALMENTE ARIENS. ACTUALMENTE SE UTILIZAN COMO TERMINOS SINONIMOS.

El mismo Ariens en trabajos posteriores emplea el término actividad intrínseca dándole el sentido de eficacia.

### II.2.2. Determinación de la fracción de receptores ocupados.

Si los fármacos, en virtud de su eficacia relativa, necesitan ocupar diferente cantidad de receptores para producir una misma respuesta, entonces el número de receptores ocupados, por sí sólo, no es un dato importante. La fracción de receptores ocupados refiere el número absoluto a la población total y por lo tanto brinda mayor información.

Otra consideración que hace Stephenson es que entre la unión fármaco-receptor y la manifestación de un efecto observable, median varios procesos. Es por esto que propone trabajar con un evento más inmediato: el estímulo.

El postulado clásico: "La respuesta de un tejido es directamente proporcional al número de receptores ocupados" se transforma en un enunciado más prudente: "El estímulo es directamente proporcional a la fracción de receptores ocupados":

$$S = \xi Y \quad (22)$$

donde: S = estímulo

Y = fracción de receptores ocupados definida como:

$$Y = \frac{X}{R_t} \quad (23)$$

Y el efecto se considera una función del estímulo:

$$E = f(S) \quad (24)$$

$$E = f(\xi Y) \quad (25)$$

Para condiciones de equilibrio conocemos el valor de X:

$$X = \frac{ARt}{A+K} \quad (ec.14)$$

En esta expresion encontramos tambien a Rt . Podemos hacer un rearrreglo para obtener la fraccion de receptores ocupados:

$$\frac{X}{Rt} = Y = \frac{A}{A+K} \quad (26)$$

Sustituyendo esta expresion en la ecuacion 22 tenemos:

$$S = \frac{E A}{A+K} \quad (27)$$

Stephenson adopto la unidad como el estimulo que produce una respuesta igual a la mitad de la respuesta maxima del tejido.

cuando  $S = 1$ ,  $E = 1/2 E_{max}$

$$1 = \frac{E A}{A+K} \quad (28)$$

Puesto que hablamos de la mitad del efecto maximo, en este caso A es la dosis eficaz al 50% :

$$1 = \frac{E A_{50}}{A_{50}+K}$$

Despejando tenemos:

$$E = \frac{A_{50}+K}{A_{50}} \quad (29)$$

Cuando el fármaco es un agonista fuerte, se alcanza la mitad de la respuesta maxima con una dosis mucho menor de la necesaria para ocupar la mitad de los receptores. Es decir, A es mucho menor que K.

Si  $A_{50}$  es  $\ll K$ , entonces es valido afirmar que  $A_{50} + K$  es prácticamente K, por lo que ahora podemos expresar la eficacia de una manera mas simple:

$$E = \frac{K}{A_{50}} \quad (30)$$

Por otro lado sabemos que cuando  $S=1$ :

$$Y = 1/2 \quad (31)$$

Por lo tanto Y también es igual a:

$$Y = \frac{A_{50}}{K} \quad (32)$$

En el caso de que el estímulo sea diferente de 1, no hablamos de la dosis eficaz al 50%, sino de cualquier otra dosis. Por lo que en general:

$$Y = \frac{A}{K} \quad (33)$$

### II.2.3. Agonismo y Antagonismo.

Un AGONISTA COMPLETO es el que necesita ocupar menos receptores para obtener la respuesta máxima. Dado que el estímulo es directamente proporcional a la fracción de receptores ocupados ( $S = \xi Y$ ), si la fracción (Y) es muy pequeña, entonces el agonista tendrá una gran eficacia, es decir,  $\xi$  será grande.

Los AGONISTAS PARCIALES son aquellos que aún ocupando gran cantidad, o incluso la totalidad de receptores, producen un efecto menor al que podría dar el tejido.

Los ANTAGONISTAS COMPETITIVOS son aquellas sustancias que tienen afinidad por el receptor pero no son eficaces.

### II.2.4. Implicaciones.

Stephenson establece que el efecto es función del estímulo (ec.24) y que el estímulo es directamente proporcional a la fracción de receptores ocupados (ec.22). De acuerdo con la ecuación 33, la fracción de receptores ocupados es directamente proporcional a la dosis y a la afinidad del fármaco por el receptor. Por tanto, el estímulo depende de cualidades específicas del fármaco.

Se introduce un nuevo concepto: la eficacia. Los fármacos pueden necesitar ocupar diferentes proporciones de receptores para producir respuestas iguales. Utilizando un agonista fuerte, puede lograrse una respuesta máxima sin ocupar todos los receptores. Este nuevo concepto se deriva de observaciones experimentales. Con él, se abre la puerta a la proposición de Nickerson (1956) en el sentido de que pueden existir "Receptores de Reserva" en los tejidos.



Si por una parte la magnitud de la respuesta no es necesariamente una función lineal del número de receptores ocupados, y por otra parte se postula la posible existencia de receptores de reserva, entonces es claro que no puede tomarse la dosis eficaz al cincuenta por ciento ( $A_{50}$ ) como una medida de la constante de disociación. En consecuencia la afinidad no puede conocerse a partir de una curva de Dosis-Respuesta.

Por otro lado estos postulados consideran que los diferentes fármacos pueden variar en su capacidad de iniciar una respuesta en función de su eficacia relativa. De esta manera se acepta la posibilidad de variaciones en respuesta a diferentes fármacos en un mismo tejido pero al mismo tiempo se acepta que un fármaco debe dar siempre la misma respuesta en diferentes tejidos.

Desde hace muchos años se tienen evidencias experimentales que contradicen este último punto.

Analizando el desarrollo de las teorías de receptores se evidencia una clara tendencia hacia el abordamiento de los fenómenos de interacciones fármaco - receptor desde un punto de vista biológico integral. Con Stephenson se inicia la consideración formal de las variaciones en respuesta a fármacos observadas experimentalmente. Sin embargo logra sólo una explicación parcial del fenómeno ya que no considera las variaciones de respuesta de un mismo fármaco en diferentes tejidos.

En las teorías revisadas hasta ahora se considera que la respuesta depende de una u otra manera de la cantidad de receptores ocupados. Sin embargo los primeros autores consideran sólo a uno de los participantes del proceso: el fármaco. Este análisis parcial deja de lado la posibilidad de que sean las entidades fármaco-receptor las que varían en su capacidad de iniciar una respuesta.

No es de sorprender que como después veremos en ese mismo año Furchgott redefiniera el término eficacia en función de cualidades específicas del fármaco y de la concentración de receptores del tejido.

Quedaba pendiente desarrollar nuevos métodos de determinación de la afinidad. El mismo Furchgott y Waud hicieron valiosas contribuciones en ese campo que revisaremos a continuación.

11.2.5. Determinación de la Afinidad para Agonistas Parciales. (Cálculo de  $1/p$ )

Waud (1969) propuso un método de determinación de  $K$  (inverso de la afinidad) que se aplica únicamente a los agonistas parciales.

Ya hemos dicho que de acuerdo a lo propuesto por Stephenson, un agonista parcial es aquel que necesita ocupar una cantidad grande de receptores y puede o no alcanzar la respuesta máxima del tejido.

El método propuesto es el siguiente:

- Se construye la curva dosis-respuesta de un agonista completo y un agonista parcial. (FIG. 11.3.)

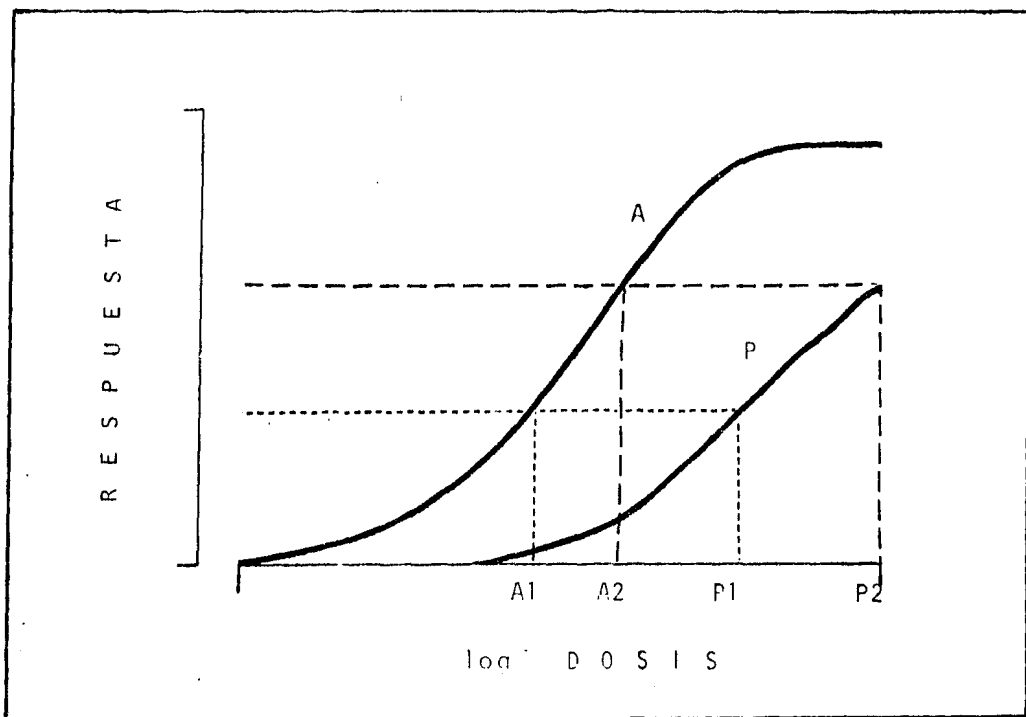


FIG 11.3. CURVA  $\log$  DOSES-RESPUESTA PARA UN AGONISTA FUERTE (A) Y UN AGONISTA PARCIAL (P)  
A1 - P1: dosis equiefectivas del agonista fuerte y el agonista parcial.

- Se determinan las concentraciones que producen las mismas respuestas para ambas. Para el agonista completo  $A_1 \dots A_n$ , para el agonista parcial  $P_1 \dots P_n$

Para el agonista completo  $Y_a$  está dado por:

$$Y_a = \frac{A}{K_a} \quad (\text{ec. 33})$$

Para el agonista parcial tenemos que considerar que por definición, la dosis  $P$  necesaria para alcanzar la mitad de la respuesta máxima no es mucho menor que la cantidad necesaria para ocupar la mitad de los receptores, por lo cual  $P+K_p$  no es aproximadamente igual a  $K_p$ . Entonces:

$$Y_p = \frac{P}{P+K_p} \quad (\text{ec. 26})$$

Ya habíamos mencionado que el efecto de un fármaco es función del estímulo (por lo tanto de  $\xi Y$ ):

$$E = f(\xi Y) \quad (\text{ec. 25})$$

El efecto del agonista completo está dado por:

$$E_a = f(\xi Y_a)$$

Y el del agonista parcial:

$$E_p = f(\xi Y_p)$$

Para respuestas iguales:

$$\begin{aligned} E_a &= E_p \\ \xi Y_a &= \xi Y_p \end{aligned}$$

Sustituyendo los valores de  $Y_a$  y  $Y_p$ :

$$\frac{\xi_a A}{K_a} = \frac{\xi_p P}{P+K_p} \quad (34)$$

Si sacamos inversos podemos obtener la ecuación de una recta:

$$\frac{K_a}{\xi_a} \cdot \frac{1}{A} = \frac{1}{\xi_p} + \frac{K_p}{\xi_p} \cdot \frac{1}{P} \quad (35)$$

O bien:

$$\frac{1}{A} = \frac{a}{K_a} \left[ \frac{1}{A_P} + \frac{K_P}{\epsilon_P} \cdot \frac{1}{P} \right]$$

Esto ya es la ecuación de una recta.

$$\frac{1}{A} = \frac{\epsilon_a}{\epsilon_P K_a} + \frac{\epsilon_a K_P}{\epsilon_P K_a} \cdot \frac{1}{P} \quad (36)$$

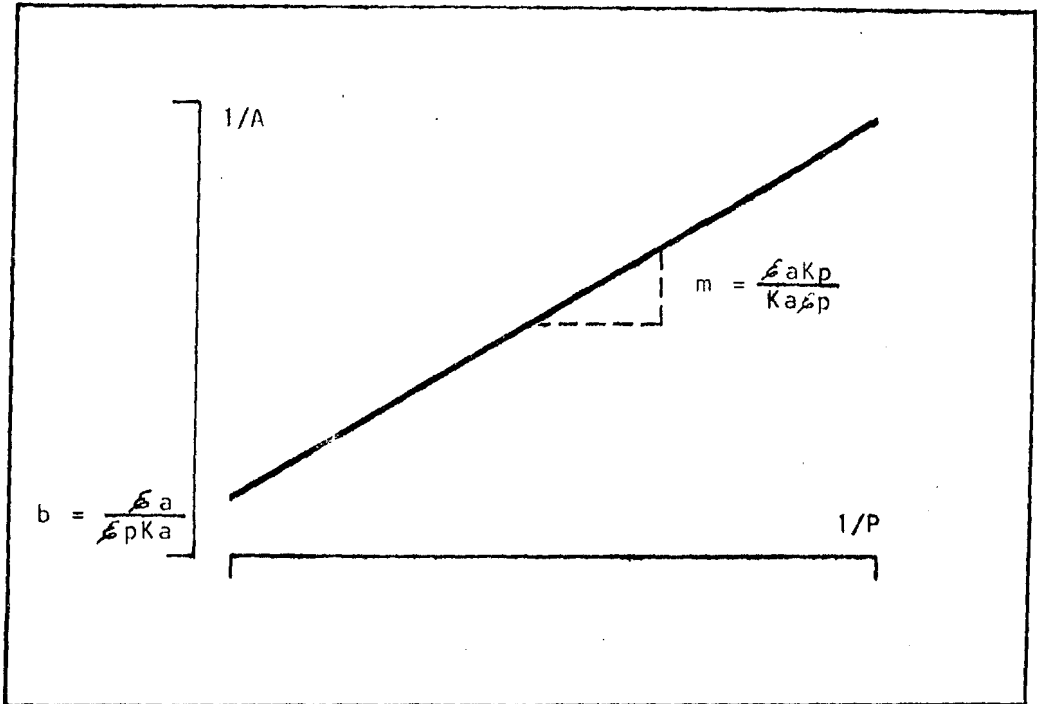


FIG II.4. RECÍPROCOS: DOSIS AGONISTA FUERTE (1/A) - DOSIS AGONISTA PARCIAL (1/P). De acuerdo con los postulados de Stephenson, la afinidad de un agonista parcial ( $K_P$ ) se determina a partir de una gráfica como esta dividiendo la pendiente entre el intercepto.

Si dividimos la pendiente entre la ordenada al origen, vemos que el resultado es justamente  $K_P$  : (FIG. II.4)

$$\frac{\frac{\epsilon_a K_P}{K_a \epsilon_P}}{\frac{\epsilon_a}{\epsilon_P K_a}} = \frac{(\epsilon_a K_P) (\epsilon_P K_a)}{(\epsilon_a) (K_a \epsilon_P)} = K_P \quad (37)$$

Podemos concluir entonces que:

DE ACUERDO CON LOS POSTULADOS DE STEPHENSON SI GRAFICAMOS LOS RECÍPROCOS DE UN AGONISTA FUERTE Y UN AGONISTA PARCIAL, BASTA CONOCER EL VALOR DE SUS PARÁMETROS PARA CONOCER  $K_p$ .

$$K_p = \frac{\text{pendiente}}{\text{intercepto}}$$

### II.2.6. Determinación de la Afinidad para Antagonistas Competitivos. (Cálculo de $pA_2$ )

La presencia de un antagonista competitivo con una concentración  $B$ , produce un desplazamiento a la derecha de la curva  $A-R$ . Conforme aumenta  $B$ , aumenta también el desplazamiento (FIG. 5.)

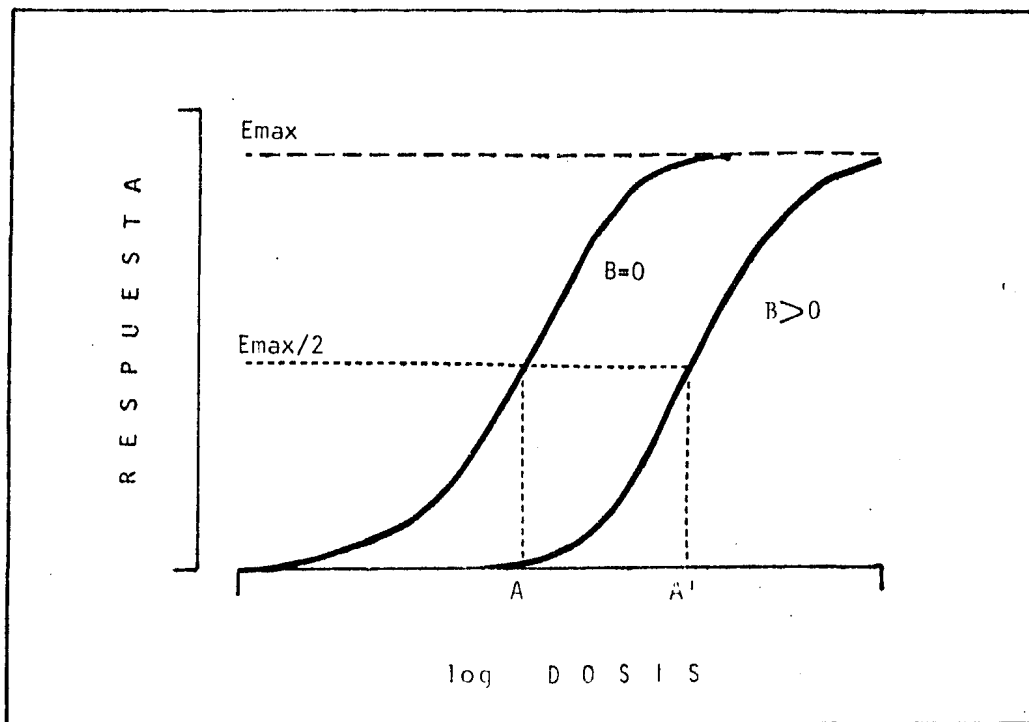


FIG II.5. DESPLAZAMIENTO HACIA LA DERECHA DE LA CURVA  $\log$  DOSIS - RESPUESTA EN PRESENCIA DE UN ANTAGONISTA COMPETITIVO ( $B$ ). ( $A'$ : dosis equiefectiva de  $A$ )

La ecuación que nos relaciona estas variables se conoce como la ecuación de competencia.

- Ecuación de Competencia.

Antes de revisar la manera de deducirla, recordemos el significado de las variables con las que hemos trabajado:

- A = dosis agonista
- B = dosis antagonista
- X = complejo [AR]
- Z = complejo [BR]

La formación de los complejos está dada por:



De acuerdo con la ley de acción de masas:

$$dX/dt = k_1 A(Rt - X - Z) - k_2 X \qquad dZ/dt = k_1 B(Rt - X - Z) - k_2 Z$$

en el equilibrio no hay cambio neto:

$$dX/dt = 0 = dZ/dt$$

por lo cual podemos igualar:

$$k_1 A(Rt - X - Z) = k_2 X \qquad k_1 B(Rt - X - Z) = k_2 Z$$

despejando nos queda:

$$\frac{A(Rt - X - Z)}{X} = \frac{k_2}{k_1} \qquad \frac{B(Rt - X - Z)}{Z} = \frac{k_2}{k_1}$$

$$X = \frac{A(Rt - Z)}{A + k_2/k_1} \qquad Z = \frac{B(Rt - X)}{B + k_2/k_1}$$

Se sustituye el valor de Z en la definición de X y al reorganizarlo queda:

$$X = \frac{ARt}{A + k_2/k_1 [1 + (B/k_2/k_1)]} \qquad (38)$$

En ausencia del antagonista, B=0, obtenemos la ecuación que ya conocíamos:

$$X = \frac{ARt}{A + k_2/k_1} \qquad (ec. 14)$$

Es importante hacer notar que de acuerdo con la ecuación 38, para cualquier valor de A, X toma valores más pequeños de los que tomaría en ausencia del bloqueador (calculada con la ecuación 14)

De aquí que para obtener respuestas iguales, es necesario incrementar la concentración de A hasta A'. A' entonces, es la concentración de fármaco que en presencia del antagonista, produce los mismos efectos que la concentración A en ausencia del antagonista.

Habiendo hecho esta consideración, podemos establecer la siguiente igualdad:

$$\frac{ARt}{A+Ka} = \frac{A'Rt}{A'+Ka[1+(B/Kb)]}$$

Simplificando nos queda:

$$\frac{A'}{A} = 1 + \frac{B}{Kb}$$

(39)

A esta expresión se le conoce como ECUACION DE COMPETENCIA.

#### - Calculo de pAZ

Para trabajar con la ecuación de competencia necesitamos conocer el valor de las variables. Se grafica entonces la curva A-R del agonista solo; se usan diferentes dosis del antagonista y para cada una se hace su curva.

De esta manera se determina la razón de dosis A/A'. B es un dato experimental que estamos manejando, y lo único desconocido es Kb.

Es muy útil conocer la constante de disociación de un antagonista (Kb) porque brinda información sobre el receptor. Por ejemplo si un agonista produce dos efectos distintos y el antagonista inhibe los dos por igual, esto se considera una fuerte evidencia de que se trata de un mismo receptor. Si en cambio se obtienen dos diferentes valores de Kb para los dos efectos, puede pensarse que se trata de dos receptores.

Kb es muy útil, pero por los valores que alcanza no se usa como tal sino como el logaritmo negativo de kb que es precisamente pA2.

PA2 ES UNA MEDIDA DE LA AFINIDAD DE UN ANTAGONISTA COMPETITIVO POR SU RECEPTOR

De acuerdo con la ecuación 39:

$$A'/A = 1 + B/kb$$

para el caso particular cuando  $A'/A = 2$

$$1 = B/kb$$

Sacando logaritmos a ambos miembros:

$$\log 1 = \log (B/kb)$$

$$0 = \log B - \log kb$$

$$-\log B = -\log kb = pA2$$

de aquí que pA2 pueda expresarse de diferentes maneras:

$$-\log B = -\log kb = \log (1/kb)$$

como  $1/kb$  es la afinidad, pA2 es una medida de la afinidad.



## II.3. APORTACIONES DE FURCHGOTT

Furchgott (1956) modificó la teoría de receptores al proponer que la eficacia tal como la describe Stephenson, no es una cualidad exclusiva del fármaco, sino que depende también del tejido. Es por eso que puede expresarse como el producto de dos factores: la EFICACIA INTRINSECA ( $\epsilon$ ) y la concentración de receptores activos del tejido:

$$\epsilon = e[Rt]$$

Esta distinción es importante porque permite explicar por qué la eficacia de un fármaco puede variar de tejido en tejido.

En la práctica, Furchgott hace una contribución importante al proponer métodos para la determinación de constantes de disociación (y por lo tanto de la afinidad) de agonistas.

### II.3.1. Determinación de la Afinidad para Agonistas (Método de Bloqueo Parcial Irreversible)

El método se basa en algunos fundamentos teóricos que ya conocemos.

Hemos visto que podemos determinar la fracción de receptores ocupados por una droga si conocemos su concentración y el valor de su constante de disociación:

$$Y = \frac{[A]}{K+[A]} \quad (\text{ec. 26})$$

Por otra parte, sabemos por Stephenson que la respuesta es función del estímulo:

$$E = f(S) \quad (\text{ec. 24})$$

Y que el estímulo a su vez depende de la eficacia del fármaco y de la fracción de receptores ocupados:

$$S = \epsilon Y \quad (\text{ec. 23})$$

Sustituyendo el valor de Y tenemos que:

$$S = \frac{\epsilon [A]}{K+[A]} \quad (40)$$

Por lo cual el estímulo es:

$$E = f \left\{ \frac{[A]}{K+[A]} \right\} \quad (41)$$

Furchgott, por su parte, nos dice que la eficacia de Stephenson es el producto de la eficacia intrínseca de la droga y la cantidad de receptores activos del tejido:

$$\mathcal{E} = e[Rt] \quad (42)$$

Por lo cual podemos definir al efecto en los siguientes términos:

$$E = f \left\{ \frac{e[Rt] [A]}{K + [A]} \right\} \quad (43)$$

Utilizando un bloqueante irreversible podemos reducir el número total de receptores a una fracción ( $q$ ) de la población original. Si esto sucede, entonces la respuesta que produce un agonista después del bloqueo ( $E'$ ) deberá estar descrita por las siguientes relaciones:

$$E' = f(S') \quad (\text{ec.24})$$

$$E' = f \left\{ \frac{eq[A']}{K + [A']} \right\} \quad (44)$$

Para determinar la afinidad, hacemos una gráfica de las curvas dosis-respuesta del agonista, antes y después del bloqueo (Fig.11.6.).

Tomamos las dosis equiefectivas (las que producen los mismos efectos) y las ordenamos por pares:  $(A1, A1')$ ,  $(A2, A2')$ ...  $(An, An')$ .

Si tomamos dosis equiefectivas, entonces:

$$E = E'$$

Y por lo tanto:

$$f(S) = f(S')$$

Sustituyendo los valores de  $S$  y  $S'$  :

$$f \left\{ \frac{e[Rt] [A]}{K + [A]} \right\} = f \left\{ \frac{eq[A']}{K + [A']} \right\} \quad (45)$$

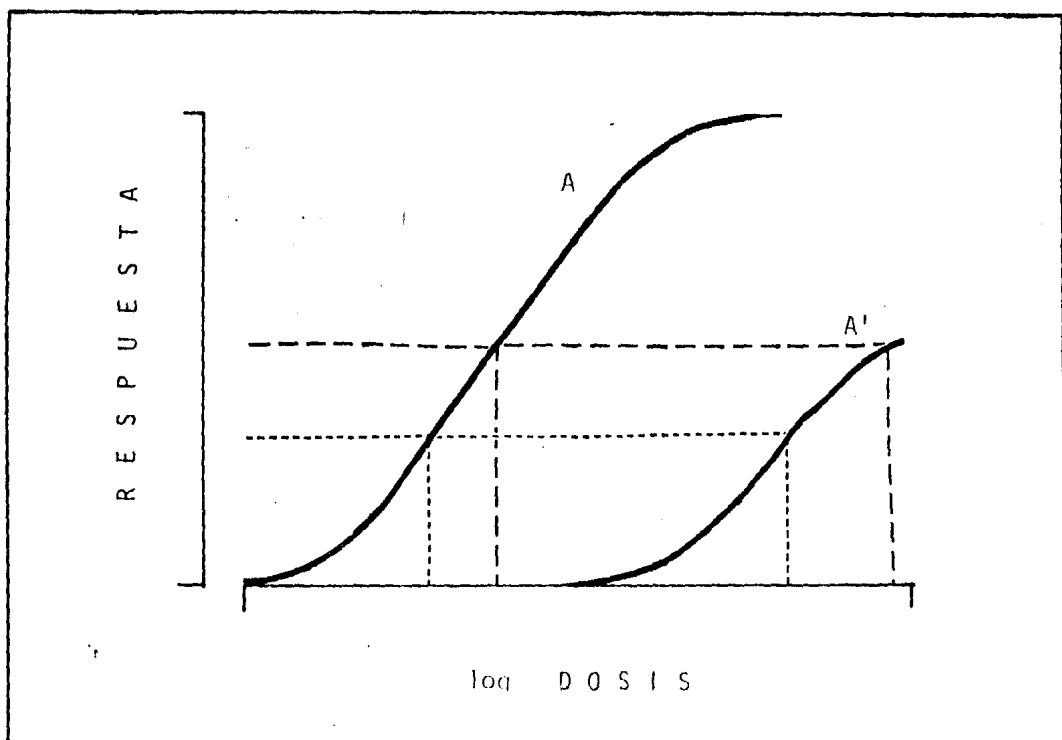


FIG II.6. CURVAS log DOSIS - RESPUESTA. A: Agonista antes del bloqueo irreversible de una fracción de la población total de receptores. A': Agonista después del bloqueo.

Rt es nuestro máximo de referencia, y por comodidad le asignaremos el valor de 1:

$$f \left\{ \frac{e[A]}{K + [A]} \right\} = f \left\{ \frac{eq[A']}{K + [A']} \right\} \quad (46)$$

Como la función en los dos casos es la misma:

$$\frac{e[A]}{K + [A]} = \frac{eq[A']}{K + [A']} \quad (47)$$

Esta relación puede trabajarse algebraicamente para expresarla como la ecuación de una línea recta (Fig. II.7.)

$$\frac{1}{[A]} = \frac{1}{q[A']} + \frac{1-q}{qK} \quad (48)$$

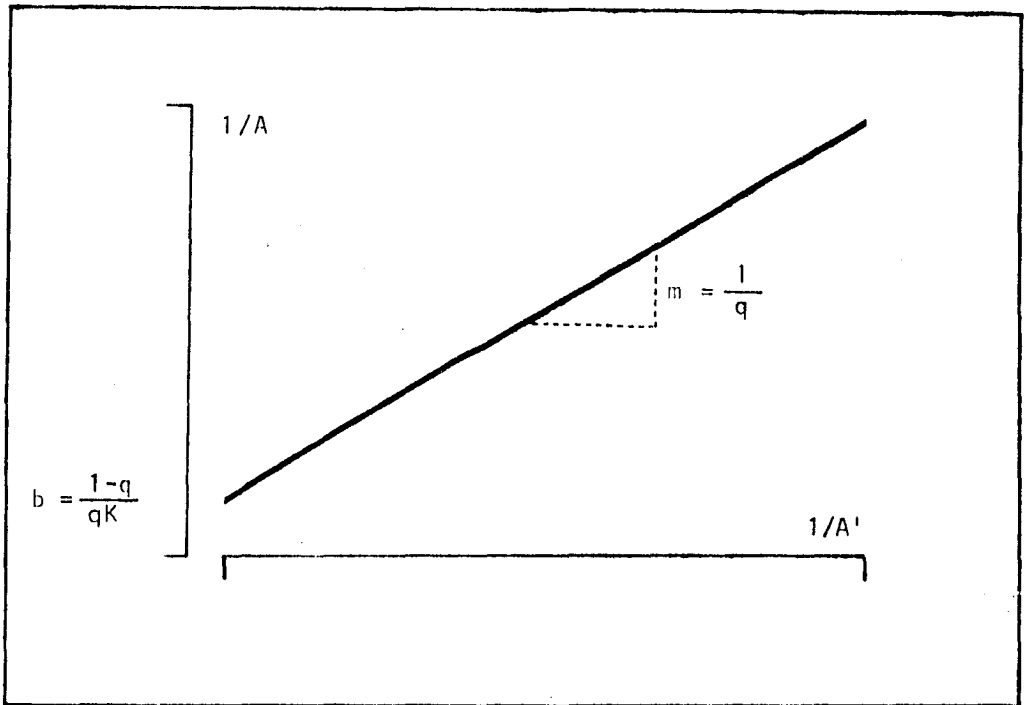


FIG II.7. RECÍPROCOS:  $(1/A)$ : DOSIS DE AGONISTA ANTES DEL BLOQUEO PARCIAL IRREVERSIBLE DE UNA FRACCIÓN DE LA POBLACION TOTAL DE RECEPTORES -  $(1/A')$ : DOSIS DE AGONISTA DESPUES DEL BLOQUEO. De acuerdo con los postulados de Furchaott la afinidad de un agonista cualquiera se determina a partir de una grafica como esto dividiendo la pendiente - 1 entre el intercepto.

Para una mejor comprensión desglosaremos la transformación algebraica de la ecuación 47 en la ecuación 48:

$$\frac{e[A]}{K + [A]} = \frac{eq[A']}{K + [A']}$$

quitando denominadores:

$$e[A] (K + [A']) = eq[A'] (K + [A])$$

efectuando el producto:

$$e[A]K + e[A][A'] = eq[A']K + eq[A'][A]$$

se agrupan términos semejantes:

$$e[A]K + e[A][A'] - eq[A'][A] = eq[A']K$$

se saca el factor común:

$$[A] (eK + e[A'] - eq[A']) = eq[A']K$$

despejando tenemos:

$$\frac{1}{[A]} = \frac{eK + e[A^*] - eq[A^*]}{eq[A^*]K}$$

se simplifica:

$$\frac{1}{[A]} = \frac{eK}{eq[A^*]K} + \frac{e[A^*]}{eq[A^*]K} - \frac{eq[A^*]}{eq[A^*]K}$$

$$\frac{1}{[A]} = \frac{1}{q[A^*]} + \frac{1}{qK} - \frac{1}{K}$$

y se obtiene la ecuación 48:

$$\frac{1}{[A]} = \frac{1}{q[A^*]} + \frac{1-q}{qK}$$

o bien:

$$\frac{1}{[A]} = \frac{1}{q[A^*]} + \frac{1/q-1}{K}$$

Trabajando con la ecuación 48 podemos ver que la constante de disociación se obtiene al dividir la pendiente-1 entre el intercepto. De esto se concluye que:

DE ACUERDO CON LOS POSTULADOS DE FURCHGOTT PODEMOS CONOCER LA AFINIDAD DE UN AGONISTA A PARTIR DE LA GRAFICA DE LOS RECIPROCOS DE LAS DOSIS EQUIEFECTIVAS PARA ANTES Y DESPUES DEL BLOQUEO PARCIAL DE RECEPTORES:  
 $K = \frac{\text{pendiente} - 1}{\text{intercepto}}$

o en terminos algebraicos:

$$K = \frac{1/q - 1}{(1/q - 1) 1/K}$$

### II.3.2 Implicaciones.

Furchgott hace un llamado a considerar otros factores que intervienen en las interacciones fármaco-receptor. La diferenciación entre eficacia y eficacia intrínseca revela una preocupación por abordar el tema con un enfoque más cercano a los fenómenos biológicos.

Por otro lado, conviene recordar que los métodos de determinación de la afinidad, sólo son válidos cuando se trabaja con sistemas que en general cumplen con los postulados que les dieron origen.

#### II.4. APLICACIONES DE LAS TEORIAS DE OCUPACION A LOS FENOMENOS DE DEPENDENCIA A OPIACEOS.

Hasta aquí las teorías de ocupación.

Antes de continuar esta revisión, analicemos nuevamente los datos que la motivaron. Sabemos que la Naloxona revierte los efectos de la Morfina sobre la sacudida simple en ileo aislado de cobayo y precipita la respuesta de abstinencia. (Fig. I.3.)

Si sólo consideramos los efectos sobre la sacudida simple, podemos hacer una análisis satisfactorio con lo descrito por las Teorías de Ocupación.

La Morfina es un agonista fuerte que deprime la intensidad de la sacudida simple en virtud de su afinidad y actividad intrínseca. Al unirse con su receptor (afinidad) produce una hiperpolarización que reduce la excitabilidad de las células nerviosas de los plexos que inervan la preparación (actividad intrínseca). El resultado final es una inhibición de la liberación de Acetilcolina y por lo tanto una disminución de la sacudida simple producida por estimulación eléctrica. (R.A. North y cols. 1977). La Naloxona es un antagonista competitivo que tiene afinidad por el receptor pero no actividad intrínseca.

Si ahora nos centramos únicamente en la respuesta de abstinencia, la situación podría considerarse opuesta. La Naloxona precipita una respuesta que es intensa en sus inicios pero decae en el tiempo y que varía en forma y duración en función del tiempo de exposición previa a la Morfina. Mientras más dependiente es la preparación, más intensa es la respuesta. Este comportamiento no puede explicarse con las teorías de ocupación. Por ello se hace necesario revisar con cuidado las proposiciones que abordan desde otro enfoque las interacciones fármaco-receptor.

## II.5. TEORIA DE VELOCIDAD

En un estudio de taquifilaxis Croxatto y Huidobro (1956) desarrollaron una analogía entre la incorporación de una molécula a un cristal y la incorporación de una molécula de fármaco a su receptor. La energía se libera únicamente en el momento de la cristalización; el fármaco produce un quantum de excitación justo en el momento de su encuentro con el receptor.

En 1959 Pardo propone que la respuesta a un fármaco es función de la cantidad de receptores ACTIVOS y no de la cantidad de receptores ocupados.

Estas ideas novedosas, reflejan la preocupación por encontrar respuestas a ciertos fenómenos que como hemos visto no pueden explicarse con los postulados de las teorías de ocupación. Un caso claro es el de la taquifilaxis. Si la concentración de la fármaco permanece constante, por qué varía la respuesta?

Basándose en el postulado de Croxatto y Huidobro, Paton y colaboradores desarrollan en 1961 la teoría de velocidad. Sus principales proposiciones son:

1. La asociación de un fármaco con su receptor, resulta en un quantum de excitación. El número de asociaciones por unidad de tiempo, y por lo tanto el número de quanta, determina la magnitud de la respuesta.

2. El efecto de un fármaco no depende del número de receptores ocupados, sino de la TASA DE OCUPACION. Mientras mayor número de asociaciones fármaco-receptor se produzcan por unidad de tiempo, mayor será la respuesta.

3. Las características de un fármaco dependen de dos constantes:

-  $k_1$  = constante de tasa de asociación del complejo fármaco-receptor.

-  $k_2$  = constante de tasa de disociación del complejo fármaco-receptor.

### II.5.1 Agonismo y Antagonismo.

En el caso de los AGONISTAS, las velocidades, tanto de asociación como de disociación, son altas (la última más alta que la primera) con lo que se producen varios impulsos por unidad de tiempo.

Tratándose de ANTAGONISTAS, la velocidad de asociación es alta pero la de disociación es baja, por lo cual permanecen mucho tiempo ligados a su receptor evitando nuevas asociaciones.

EN LA TEORIA DE VELOCIDAD LA OCUPACION DE RECEPTORES NECESARIAMENTE IMPLICA LA EXISTENCIA DE ANTAGONISMO
---

Paton decía que con esta teoría se podían explicar los efectos persistentes de los antagonistas y los efectos relativamente transitorios que frecuentemente se observan con los agonistas. También argumentó que con su teoría podría explicarse a nivel molecular la razón de que algunos fármacos fueran agonistas y otros antagonistas. Además debería predecir, aun en los antagonistas competitivos alguna actividad agonista residual, ya que al menos inicialmente deberían generarse algunos quanta de excitación.

Finalmente, la teoría de velocidad predeciría el fenómeno de decaimiento en el cual la respuesta inicial es un pico que decae gradualmente hasta que llega al equilibrio. La explicación para este fenómeno es que la tasa inicial de interacciones fármaco-receptor, debe ser mayor al principio cuando todos los receptores están vacíos, que en el estado de equilibrio.

Esta teoría fue muy criticada porque no podía explicar algunos hechos experimentales. Se conocen algunos casos de antagonistas clásicos que presentan vestigios de acción estimulante, por ejemplo la Succinilcolina, pero esto no ha podido demostrarse para la mayoría de los antagonistas competitivos. Por otra parte, hay muchos casos en que no se ha observado ningún decaimiento.



### 11.5.2. Implicaciones.

Las aportaciones de Paton son de gran riqueza conceptual, sin embargo la falta de corroboración experimental en muchos casos le valió el descrédito como teoría general. La actitud adoptada frente a las nuevas proposiciones fue considerar a la teoría de velocidad como una posición opuesta a las teorías de ocupación. Ninguna de las dos podía considerarse válida para todos los casos, pero ninguna podía desecharse por completo.

Además de una actitud de desaliento general que valió el abandono de la teorización por muchos años, se generalizó la posición de considerar como independientes a los sistemas que se comportan de acuerdo con lo descrito por las teorías de ocupación, y a los sistemas que se comportan de acuerdo con lo descrito por la Teoría de Velocidad.

Después de revisar esta teoría, podemos hacer un nuevo análisis de los registros experimentales de la figura 1.4, y la variación de la respuesta de abstinencia en función del tiempo de exposición previa a Morfina.

Sabemos que la respuesta de abstinencia decae en el tiempo a pesar de que la concentración de Naloxona permanece constante. Las aportaciones de Paton podrían constituir una explicación de este fenómeno. Si aceptamos la proposición de que la respuesta es función del número de asociaciones fármaco-receptor por unidad de tiempo, entonces podría pensarse que esto es lo que se modifica en la dependencia. Se cuenta, sin embargo con suficiente evidencia experimental que demuestra lo contrario. Las constantes  $k_1$  y  $k_2$  no se modifican en los procesos de dependencia a opiáceos.

Como vemos, aun con las nuevas aportaciones, no contamos con una explicación clara del proceso. Sin embargo es conveniente remarcar que con la Teoría de Velocidad se intenta por primera vez dar una explicación formal a los fenómenos de decaimiento: se analizan de manera independiente las constantes de tasa de asociación y disociación,  $k_1$  y  $k_2$ , y se hace un llamado a centrar la atención sobre procesos dinámicos y a analizarlos en condiciones fuera del estado de equilibrio. La gran aportación de esta teoría es que abre la posibilidad de un acercamiento nuevo y dinámico a los fenómenos de interacciones fármaco-receptor.

En esta teoría hay algunos aspectos que quedan abiertos a discusión. Al hablar de los agonistas se menciona que las velocidades de asociación y disociación son altas, en particular la última. De esta manera el receptor queda disponible para una nueva asociación con lo cual se producen varios impulsos por unidad de tiempo. No se precisa si una misma molécula puede actuar varias veces o si es la frecuencia de impulsos proporcional a la concentración del fármaco. Este postulado debiera retomarse y analizar las consecuencias de trabajar con las dos posibilidades.

## II.6. TEORÍA DE PERTURBACIÓN MACROMOLECULAR

Las teorías de ocupación y la de Paton no analizan los eventos moleculares que están involucrados en las interacciones farmaco-receptor.

Belleau en 1964 propone la Teoría de Perturbación Macromolecular como un intento de explicar a nivel molecular la acción de los agonistas, antagonistas y agonistas parciales.

Se propone que los receptores, al igual que las enzimas son de naturaleza proteica y por lo tanto presentan algunas características importantes:

- 1) Las posibilidades de combinación están dadas por la estructura tridimensional.
- 2) La secuencia de aminoácidos desempeña un papel fundamental en la determinación de la estructura tridimensional.
- 3) Sólo una pequeña fracción de los residuos de aminoácidos está comprometida con la especificidad de las interacciones aunque algunos aa distantes del centro activo también influyen en la determinación de su geometría.

Las proposiciones de Belleau son básicamente cualitativas, y tienen una estrecha relación con el tratamiento que hace Koshland para el análisis de las interacciones enzima-sustrato.

Koshland (1958) considera que el sitio activo de una enzima es flexible, por lo cual su conformación es diferente cuando está sola y cuando interactúa con su sustrato. La interacción con el sustrato provoca en la enzima un cambio conformacional. El efecto biológico resultante no depende de la firmeza de unión enzima-sustrato, sino de la alteración conformacional. Esta alteración será favorable siempre que se induzca una orientación enzimáticamente activa de los sitios catalíticos.

Belleau se apoya en estas ideas para sugerir una explicación a nivel molecular de las interacciones fármaco-receptor.

Sus proposiciones son las siguientes:

1) La interacción de un fármaco con su receptor induce en éste un cambio conformacional.

2) El cambio conformacional dependerá de la naturaleza del fármaco, de su afinidad por el receptor y de su eficacia.

3) Pueden producirse dos tipos generales de perturbaciones:

- perturbación conformacional específica
- perturbación conformacional no específica

La específica produce un estímulo biológico, y en última instancia una respuesta. La no específica no se traduce en una respuesta.

4) Los AGONISTAS son aquellas sustancias que producen cambios conformacionales específicos.

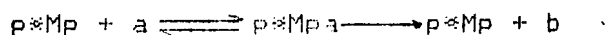
Los ANTAGONISTAS producen cambios conformacionales no específicos.

Los AGONISTAS PARCIALES producen lo que Belleau llamó una "mezcla de equilibrio", es decir, una proporción similar de perturbaciones conformacionales específicas y no específicas.

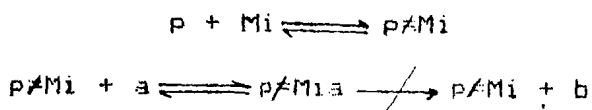
La teoría de perturbación macromolecular desarrollada por Belleau en un artículo posterior (1965) sugiere que cuando una molécula pequeña (Mp) estructuralmente emparentada al sustrato natural, se une al sitio regulador del receptor, la proteína sufre una alteración; pasa de un estado de reposo (p) a un estado activo conformacionalmente perturbado (p\*):



Esta forma, específicamente perturbada, cataliza eficientemente la transformación de una molécula de sustrato (a) a un producto (b), siendo este último esencial para el inicio del estímulo:

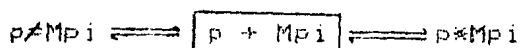


Lo contrario ocurrirá si otra molécula (Mi), en razón de su estructura química provoca la formación de una estructura desfavorable p\*. En este caso el catalizador no funcionará eficientemente para promover la transformación de a en b:



La molécula (Mi) será entonces un antagonista competitivo.

Si probamos diferentes compuestos, la transición conformacional de una disposición ordenada hacia una desordenada puede ser abrupta (cuando las estructuras de los compuestos son muy diferentes), o gradual (cuando se trata de series homólogas). En este último caso es posible que algunas moléculas (Mpi) transformen p en una mezcla de equilibrio de p\* y p\* :



Tales compuestos se comportarían como agonistas parciales.

### II.6.1 Evidencias Experimentales.

La teoría de perturbación macromolecular fue utilizada por Belleau para explicar la interacción de los iones alquil-trimetil-amonio  $R-N-(CH_3)_3$  con su receptor muscarínico.

Consideró al receptor como una acetilcolinesterasa acetilada y supuso que en esta serie homóloga las fuerzas más importantes para establecer la unión con el receptor eran las interacciones hidrofóbicas y la formación de pares iónicos. El grupo R de los compuestos varió de 1 a 12 átomos de carbono.

En esta experiencia se observó que los iones con grupos R de 1 a 6 átomos de C estimulaban al receptor muscarínico debido a la posibilidad de ligarse a las regiones no polares del receptor a través de uniones hidrofóbicas, provocando perturbaciones específicas en su estructura (compuestos agonistas).

Los iones con 9 a 12 átomos de C en el grupo R

provocaron una perturbación conformacional inespecífica probablemente porque se asociaban con un segmento adicional de la proteína cercano al sitio activo (compuestos antagonistas).

Los iones con 7 y 8 átomos de C en el grupo R se comportaron como agonistas parciales.

#### II.6.2. Implicaciones.

La teoría de Perturbación Macromolecular traslada los conocimientos de las interacciones enzima-sustrato al terreno de los fármacos y sus receptores, al tiempo que hace énfasis en el carácter macromolecular de estos últimos. Sin embargo, este conocimiento no nos permite avanzar demasiado en la interpretación de los datos experimentales que nos ocupan.

## II.7. TEORIA DE INACTIVACION DEL RECEPTOR.

En 1977 R.E. Gosselin hace una presentación formal de la Teoría de Inactivación del Receptor propuesta en 1968. Esta teoría surge como una respuesta al interés del autor por algunos aspectos termodinámicos.

Gosselin comparte la idea de Stephenson de que el efecto de un fármaco depende del estímulo que se genera al interactuar con el receptor. Su principal preocupación estriba en los procesos energéticos que subyacen la formación del estímulo.

De acuerdo con este punto de vista existen dos posibilidades:

- a) Se requiere un gasto continuo de energía química para mantener la intensidad del estímulo.
- b) La energía se gasta únicamente al inicio o término del estímulo.

La primera posibilidad correspondería a la Teoría de Velocidad. La respuesta depende del número de uniones fármaco-receptor que se presente en un cierto tiempo. En este caso se requiere de un gasto continuo de energía porque para que se produzca un estímulo tiene que haber una interacción.

La otra posibilidad, corresponde a las Teorías de Ocupación, una vez que se alcanza un cierto número o una cierta fracción de receptores ocupados, se desencadena una respuesta específica que está determinada por características intrínsecas del fármaco y del tejido.

Gosselin centra sus trabajos en el análisis de alternativas dentro de la primera posibilidad, sin embargo toma elementos conceptuales de las Teorías de Ocupación.

Podemos partir de la aceptación de que el estímulo depende del disparo de energía generado por la formación o inactivación del complejo fármaco-receptor, y de que la intensidad del estímulo es proporcional a la tasa de inactivación del complejo. En este sentido, la inquietud de Gosselin está encaminada a conocer de que manera se origina la energía de estímulo. Lo más probable es que en última

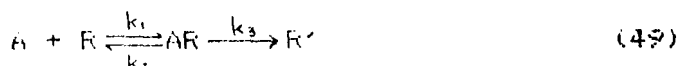
instancia. proviene de la degradación de ATP o de moléculas afines. pero en este caso. el interés está centrado en los eventos moleculares a nivel de las interacciones fármaco-receptor.

Puede suponerse que la energía de estímulo se deriva de algunos cambios químicos irreversibles dentro del "generador de estímulos". principalmente un cambio en la estructura química de la molécula del fármaco. del receptor o de ambos.

Como su nombre lo indica. esta teoría. supone que el cambio sucede en el receptor. Sus postulados generales son los siguientes:

- 1) Los receptores pueden existir en tres formas diferentes:
  - libres (R)
  - ocupados (AR)
  - inactivos (R')

2) La manera en que se relacionan es la siguiente: Una molécula de fármaco se asocia con una molécula de receptor para formar un complejo. Los receptores se inactivan. es decir. pueden estar o no asociados con un fármaco. pero son incapaces de reaccionar con nuevas moléculas:



3) La energía necesaria para producir el estímulo se produce en la reacción de inactivación del receptor.

4) La intensidad del estímulo. y por lo tanto de la respuesta. depende del número de receptores ocupados (AR) y de la tasa de inactivación del receptor (k3).

$$S = k_3 AR \quad (50)$$

5) Los receptores activos se regeneran a partir de los inactivos siguiendo una cinética de primer orden. Esta reacción puede ser espontánea o requerir del aporte de energía metabólica:

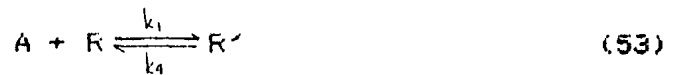


La secuencia de reacciones puede resumirse de la siguiente manera:





Cuando la constante de inactivación  $k_3$ , es mucho menor que  $k_2$  y  $k_4$  ( $k_2 \gg k_3 \ll k_4$ ) esta proposición se vuelve idéntica a las Teorías de Ocupación. Cuando  $k_3$  es mucho mayor que las otras tres constantes, ( $k_3 \gg k_1, k_2, k_4$ ) prácticamente sólo existen receptores libres e inactivos. Gosselin considera esta situación formalmente equivalente a la Teoría de Velocidad:



### II.7.1. Ecuaciones Principales.

Gosselin establece que las propiedades cinéticas de su teoría están caracterizadas completamente por el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\frac{dAR/Rt}{dt} = k_1 A \left[ \frac{1-AR-R'}{Rt Rt} \right] - k_2 AR - k_3 AR \quad (54)$$

$$\frac{dR'/Rt}{dt} = k_3 AR - k_4 R' \quad (55)$$

En esta sección se verbalizan las ideas contenidas en las ecuaciones anteriores:

La proporción de complejo AR presente en cada instante, depende de varios factores: El primero de ellos es la cantidad de reactantes disponibles y la constante de velocidad de asociación:

$$k_1 A R$$

Los receptores disponibles en cada momento son los receptores totales menos la proporción de receptores ocupados e inactivos. En términos de proporciones, los receptores totales son 1:

$$R = \frac{1-AR-R'}{Rt Rt} \quad (56)$$

Sustituyendo obtenemos la siguiente expresión:

$$k_1 A \left[ \frac{1-AR-R'}{Rt Rt} \right]$$

Otro factor a considerar, es la cantidad de complejo que se disocia:

$$- k_2 AR$$

Así como también la cantidad de receptores que se inactiva:

$$- k_3 AR$$

De tal manera que si consideramos todos los factores que intervienen:

$$\frac{dAR/Rt}{dt} = k_1 A \left[ \frac{1-AR-R'}{Rt Rt} \right] - k_2 AR - k_3 AR \quad (\text{ec.54})$$

Es decir que la proporción de complejo presente en cada instante, depende de cuanto se forma, cuanto se disocia, y cuántos receptores se inactivan por unidad de tiempo.

De manera similar podemos establecer la proporción de receptores inactivos que existe en cada momento,  $(dR'/Rt)/dt$  está dado por los receptores ocupados y la constante de velocidad con que se inactivan:

$$k_3 AR$$

Restando de estos los receptores que se reactivan y pasan a formar parte de la población de receptores disponibles:

$$- k_4 R'$$

De tal manera que la ecuación completa queda:

$$\frac{dR'/Rt}{dt} = k_3 AR - k_4 R' \quad (\text{ec.55})$$

Para conocer el curso temporal de los procesos descritos por Gosselin, debemos integrar las ecuaciones diferenciales. El método seguido por este autor, es la integración analítica. En adelante seguiremos el reporte que en 1977 presenta a este respecto.

Para la integración de las ecuaciones 54 y 55 son útiles las siguientes sustituciones:

$$\begin{aligned}
 J &= k_3 k_1 A / (k_3 k_1 A + k_4 k_1 A + k_2 k_4 + k_3 k_4) \\
 W &= k_1 A + k_2 + k_3 - k_4 - 4k_3 k_1 A \\
 a &= -(k_1 A + k_2 + k_3 + k_4) / 2 \\
 a_1 &= a + W / 2 \\
 a_2 &= a - W / 2 \\
 b &= -W / 2 \\
 V &= a/b + a \cdot k_4 + b \cdot k_4
 \end{aligned}$$

El resultado de la integracion para cuando  $W \neq 0$  es:

$$\begin{aligned}
 \frac{AR}{R_t} &= -\left[\frac{k_4+a_1}{k_3}\right] \left[\frac{a_2}{a_2-a_1}\right] J e^{a_1 t} + \left[\frac{k_4+a_2}{k_3}\right] \left[\frac{a_1}{a_2-a_1}\right] J e^{a_2 t} + \frac{k_4}{k_3} \cdot J \\
 \frac{R'}{R_t} &= -\left[\frac{a_2}{a_2-a_1}\right] J e^{a_1 t} + \left[\frac{a_1}{a_2-a_1}\right] J e^{a_2 t} + J
 \end{aligned}$$

Trabajando con estas ecuaciones se obtiene la figura II.8.

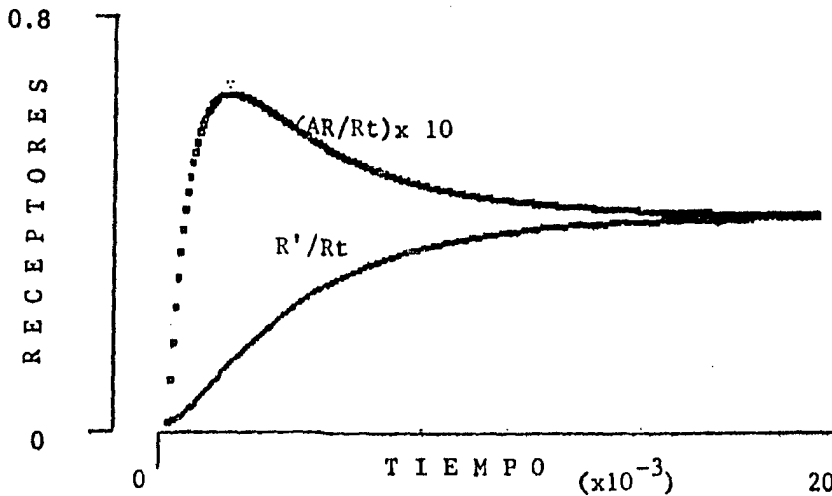


FIG. II.8. CURSO TEMPORAL DE LA FRACCION DE RECEPTORES ACTIVOS E INACTIVOS ( $AR/R_t$  y  $R'/R_t$  respectivamente). Para las curvas se asignaron los siguientes valores:  $A=0.001$ ;  $k_1=0.01$ ;  $k_2=0.0001$ ;  $k_3=0.001$ ;  $k_4=0.0001$ .

Las unidades de tiempo y receptores son arbitrarias.

La integración analítica requiere de un tratamiento matemático más laborioso del que hasta ahora hemos revisado. Por esta razón y otras que después veremos, planteamos la integración de las ecuaciones 54 y 55 por métodos numéricos.

En este caso la aproximación a la integral se obtuvo por sumación consecutiva de áreas rectangulares. Ciertamente este método de aproximación es el más burdo, pero también el más sencillo. Procuramos minimizar el error sumando intervalos sumamente pequeños. De esta manera logramos obtener gráficas idénticas a las obtenidas con la integración analítica.

### II.7.2. Implicaciones.

La Teoría de Inactivación del Receptor retoma el estudio normal de los fenómenos de decaimiento. Esto resulta valioso porque es el primer estudio teórico importante después de los trabajos de Pardo y Fatou de principios de la década de los sesentas. Estamos además frente a un modelo conciliatorio que presenta la posibilidad de coexistencia de postulados clásicos y de la teoría de velocidad.

Con sus trabajos Gosselin presenta una nueva caracterización de lo que significa el estímulo. Para Stephenson, el estímulo que produce un fármaco al unirse con su receptor es directamente proporcional a la fracción de receptores ocupados:  $S = y$  (ec. 22), mientras que para Gosselin el estímulo depende del número de receptores ocupados y de la tasa de inactivación del receptor. Lo que estaba en función de un término adimensional y relativo, se transforma en una ecuación que involucra una constante cinética que podría ser caracterizable.

Dado que esta teoría contempla la posibilidad de análisis de fenómenos que decaen en el tiempo, la respuesta de abstinencia (fig. 1.4.) podría trabajarse con las ecuaciones de Gosselin. Sin embargo los conceptos que les dieron origen, nacen de una preocupación termodinámica alejada de la inquietud por conocer las bases fisiológicas de la dependencia a opiáceos. Por tanto, aunque pueda trabajarse con estas ecuaciones, difícilmente pueden sacarse conclusiones acerca de los fenómenos que nos ocupan.

PROGRAMA 1

TEORIA DE INACTIVACION DEL RECEPTOR

Se asigna el caracter ASCII No. 4 a una variable alfa numerica.

D\$ = CHR\$ (4)

Se asignan valores a las variables que intervienen en las ecuaciones.

k1 = 0.1  
k2 = 0.0001  
k3 = 0.001  
k4 = 0.0001  
A = 0.001

Se cargan los programas necesarios para graficar.

```
PRINT D$: "BLOAD SHAPES"  
PRINT D$: "BLOAD SUBGR"  
POKE 232,0  
POKE 233,128  
POKE 234,0  
POKE 24685,32  
POKE 24687,32
```

Se presenta el programa.

```
HOME  
PRINT "TEORIA DE INACTIVACION DEL RECEPTOR"  
PRINT
```

Entra al programa.

```
INPUT " EJEMPLO? (S/N) ":R$  
IF R$ = "N" THEN INPUT "TECLEE UD. K1,K2,K3,K4,A"  
:K1,K2,K3,K4,A
```

Se presenta la pagina de graficas de alta resolucion No.1

```
350 HGR  
POKE 49234,0  
HCOLOR = 3  
SCALE = 1
```

Se dibujan las marcas de los ejes de coordenadas.

```
FOR I = 0 TO 180 STEP 18
DRAW 2 AT 3.1 + 1
NEXT
FOR I = 8 TO 8 + 270 STEP 27
DRAW 2 AT 1.191 - 4
NEXT
```

Se establecen algunas constantes utiles para la integracion.

```
470 J = K3*K1*A/((K3*K1*A) + (K4*K1*A) + (K2*K4) + (K3*K4)
W = (((K1*A) + K2 + K3 - K4)^2) - (4*K3*K1*A)
a = - ((K1*A) + K2 + K3 + K4)/2
IF W = 0 THEN G10
IF W < 0 THEN b = SQR (-W)/2
V = (a/b) + ((a^2) / (b*K4)) + (b/K4)
GOTO 610
a1 = a + SQR (W) / 2
a2 = a - SQR (W) / 2
b1 = ((K4 + a1) / K3) * (a2 / (a2 - a1)) * J
b2 = ((K4 + a2) / K3) * (a1 / (a2 - a1)) * J
b3 = (K4 / K3) * J
b4 = -(a1 / (a2 - a1)) * J
b5 = (a1 / (a2 - a1)) * J
```

Se establecen e integran las ecuaciones diferenciales. Se muestra en la pantalla la grafica resultante.

```
610 FOR I = 0 TO 270
T = I * 100
IF W = 0 THEN GOSUB 1400
GOTO 710
IF W < 0 THEN GOSUB 1460
GOTO 710
E1 = EXP (a1 * T)
E2 = EXP (a2 * T)
PA = (b1 * E1) + (b2 * E2) + b3
PI = (b4 * E1) + (b5 * E2) + J
710 YI = 1 + 180 - PI * 180
YA = 1 + 180 - PA * 180
IF YI < 0 THEN YI = 0
PRINT ""
IF YA < 0 THEN YA = 0
PRINT ""
DRAW 2 AT 8 + I, YI
```

```
DRAW 4 AT 8 + I.YA
NEXT
```

Se calcula el tiempo al pico (TP), el valor pico (VP) y el porcentaje de receptores activos e inactivos. Estos valores, junto con los de las constantes k1, k2, k3, k4 y A, se muestran en la pantalla.

```
TP = 0
VP = 0
IF NOT (K4 < - a1 AND K4 < - a2) THEN 860
TP = (1 / (a1 - a2)) * LOG ((K4 + a2) / (K4 + a1))
VP = (b1 * EXP (a1 * TP)) + (b2 * EXP (a2 * TP)) + b3
DRAW 3 AT 8 + TP / 100.1 + 180 - VP * 180 - 4
860 PRINT ""
GET R$
TEXT
HOME
PRINT "% RECEPTORES ACTIVOS= ": (100*PA)
PRINT "% RECEPTORES INACTIVOS = ": (100*PI)
PRINT "K1 = ":K1:", K2= ":K2:",K3= ":K3:", K4= ":K4:",
A= ":A
IF TP THEN PRINT "TP= ":TP:"" VP= ":VP
```

Se ofrece la oportunidad de modificar parametros o de terminar.

```
940 INPUT "SE MODIFICA ALGUN PARAMETRO? (S/N) ":R$
IF R$ <> "N" THEN 990
INPUT "FIN? (N/S) ":R$
IF R$ <> "S" THEN 1090
PRINT D$: "RUN A.D1"
990 INPUT "CUAL? (K1=1, K2=2, K3=3, K4=4, A=5) ":O
ON O GOTO 1340, 1350, 1360, 1370, 1380
1010 INPUT "OTRO? (N/S) ":R$
IF R = "S" THEN 990
INPUT "SE BORRA LA GRAFICA ANTERIOR? (N/S) ":R$
IF R$ = "S" THEN 350
POKE -16304,0
POKE -16300,0
POKE -16297,0
GOTO 470
```

Se ofrece la oportunidad de imprimir en la impresora de la Apple II o de la Franklin 1200.

```

1090 INPUT "SE IMPRIME? (S/N) ":R#
    IF R# = "N" THEN 940
    INPUT "APPLE O FRANKLIN? (A/F) ":R#
    IF R# = "F" THEN 1190
    POKE -16304.0
    POKE -16300.0
    POKE -16297.0
    CALL 24576
    TEXT
    GOTO 940
1190 INPUT "NORMAL O DOBLE? (N/D) ":R#
    POKE -16304.0
    POKE -16300.0
    POKE -16297.0
    IF R# <> "D" THEN 1290
    PRINT D#: "PR#1"
    PRINT CHR# (9): "GRE"
    PRINT D#: "PR#0"
    TEXT
    GOTO 940
1290 PRINT D#: "PR#1"
    PRINT CHR# (9): "GR"
    PRINT D#: "PR#0"
    TEXT
    GOTO 940

```

Se modifican parametros.

```

1340 INPUT "K1= ":K1: GOTO 1010
1350 INPUT "K2= ":K2: GOTO 1010
1360 INPUT "K3= ":K3: GOTO 1010
1370 INPUT "K4= ":K4: GOTO 1010
1380 INPUT " A= ":A: GOTO 1010

```

Subrutina para  $W = 0$

```

1400 E2 = a * T
    E1 = EXP (E2)
    PI = J * (1 - E1 * (1 - E2))
    PA = (K4 / K3) * PI
    RETURN

```

Subrutina para  $W < 0$

```

1460 E1 = 1 - EXP (a * T)
    BT = b * T
    CB = COS (BT)
    SB = SIN (BT)
    PA = (K4 / K3) * J * (E1 * (CB - V * SB))
    PI = J * (E1 * (CB - (a / b) * SB))
    RETURN

```



III. PROPOSICIONES

### III. PROPOSICIONES

Al principio de este trabajo presentamos algunos datos experimentales que no pueden analizarse con las proposiciones de las teorías revisadas. Estos datos forman parte de los resultados obtenidos por J.E. Herrera, L.A. Salazar y J.E. Villarreal, de la Sección de Terapéutica Experimental del Departamento de Farmacología y Toxicología del CINVESTAV, IPN.

En este grupo trabajamos en un proyecto que pretende caracterizar los mecanismos fisiológicos de la dependencia a opiáceos. Con este objetivo en mente se inició la revisión que hemos presentado. Tras reconocer los elementos conceptuales y operativos con los que contamos, hemos tomado algunos aspectos de las teorías revisadas junto con algunos aspectos novedosos para presentar el siguiente conjunto de proposiciones:

1) La unión de la Naloxona con el receptor de Morfina se traduce en la liberación de entidades discretas de energía. A los eventos evocados por la unión del antagonista con el receptor opiáceo se denominan EVENTOS ELEMENTALES DE ABSTINENCIA (EEAs).

2) Se requiere de un umbral para que se presente la respuesta de abstinencia. Teóricamente el umbral puede alcanzarse por dos mecanismos:

- Aumento del número de EEAs por unidad de tiempo.
- Aumento de la duración de los EEAs (Fig. III.1).

La primera posibilidad implica cambios en dosis o en la constante de asociación del complejo fármaco-receptor. Sabemos que estos cambios no suceden. Esto nos lleva a la siguiente proposición:

3) La duración de los EEAs puede variar.

Finalmente de acuerdo con estos postulados:

LA DEPENDENCIA IMPLICA UN CAMBIO EN LA DURACION DE LOS EVENTOS ELEMENTALES DE ABSTINENCIA
--

Trataremos de desglosar los conceptos contenidos en estas proposiciones:

Partimos de la suposición de que opera el siguiente esquema de interacciones fármaco-receptor:

- Una molécula de fármaco se asocia con una molécula de receptor para formar un complejo activo (AR<sub>a</sub>).
- El complejo activo se transforma en un complejo inactivo (AR<sub>i</sub>) siguiendo una cinética de primer orden.
- El complejo fármaco-receptor, activo o inactivo, se disocia en las especies originales (Fig. III.1).

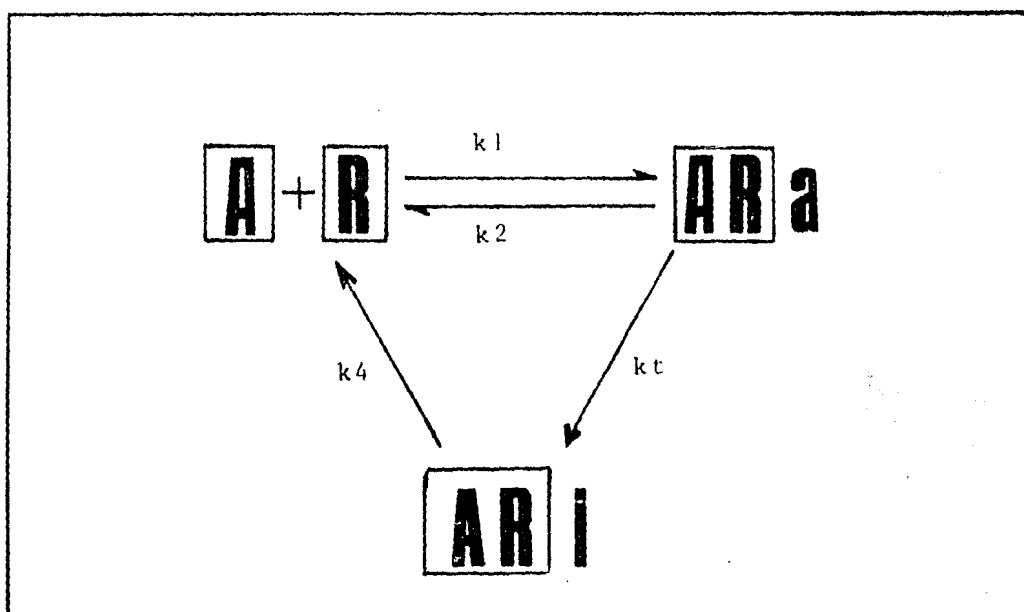


FIG. III.1. MODELO PROPUESTO PARA LAS INTERACCIONES FÁRMACO RECEPTOR. A:fármaco; R:receptor; AR<sub>a</sub>: complejo activo; AR<sub>i</sub>:complejo inactivo; k<sub>1</sub>:cte. de tasa de asociación; k<sub>2</sub>:cte. de tasa de disociación; k<sub>t</sub>:cte. de tasa de transición del complejo activo al inactivo; k<sub>4</sub>:cte. de tasa de disociación de AR<sub>i</sub>.

De acuerdo a este modelo la respuesta de un tejido a un fármaco, (vg. del ileo a la Naloxona) depende de la concentración de receptores que se encuentran en estado activo y no de la concentración de receptores ocupados.

Al hablar de activación, nos referimos a la evocación de eventos elementales de abstinencia.

### III.1. Tratamiento Matemático.

Si se observa la figura III.1. se encontrara una enorme similitud con el modelo de Gosselin. Los conceptos de este autor y nuestras proposiciones son totalmente diferentes. sin embargo los modelos son formalmente equivalentes. Esta coincidencia nos permite adaptar las ecuaciones de la teoria de inactivacion del receptor a la descripcion de los fenomenos de dependencia.

Conviene remarcar aqui algo sobre nomenclatura. Las constantes  $k_1$  y  $k_2$  conservan el significado clasico.  $k_t$  es la constante de tasa de formacion del complejo activo en inactivo y  $k_4$  es la constante de tasa de disociacion del complejo inactivo en las especies originales.

El significado de  $k_t$  es de gran importancia para nuestros propositos ya que su valor determina la duracion del estado activo y en ultima instancia, la respuesta. Es decir, la duracion de los EEA depende del valor de  $k_t$ .

Como ya hemos mencionado, puede hacerse una adaptacion de las ecuaciones de Gosselin a nuestro modelo. Haciendo el cambio de nomenclatura obtenemos el siguiente sistema de ecuaciones:

$$\frac{d \text{ARa}}{dt} = k_1 [A] [R] - k_2 [\text{ARa}] - k_t [\text{ARa}]$$

$$\frac{d \text{ARi}}{dt} = k_t [\text{ARa}] - k_4 [\text{ARi}]$$

Para conocer el curso temporal del proceso, debemos integrar. Podriamos hacerlo por un metodo analitico analogo al de la Teoria de Inactivacion del Receptor pero hemos preferido emplear la integracion por metodos numericos.

Este metodo es mas versatil y ha resultado mas eficiente para nuestros propositos. Con el podemos analizar

respuestas a infusiones continuas de dosis, ya que es posible modificar el valor de este parametro en cada paso de la integracion. El analisis de estos procesos seria imposible con la integracion analitica.

El trabajo matematico y grafico se hizo con una microcomputadora de 8 bits de ancho de palabra y 64 K de memoria central.

En nuestro modelo la constante que determina la duracion de los EEAs es  $kt$ . La mayor parte de los resultados se obtuvieron modificando este parametro. Para las graficas utilizamos algunas medidas estandarizadas. El criterio utilizado ha sido con el fin de igualar las condiciones de los ejemplos de Gosselin.

Se mantienen fijos los siguientes valores:  $k1 = 0.1$ ,  $k2 = 0.0001$  y  $k4 = 0.0001$ . Se varia el valor de  $kt$  y de  $A$ . El valor de referencia de ambos parametros es  $0.001$ . Para fines practicos les llamaremos "x" y "y" respectivamente. Es decir,  $kt = 0.001 = x$ ;  $kt = 0.0005 = 0.5x$ , etc.

## III.2 RESULTADOS E IMPLICACIONES

### 1) Respuesta de Abstinencia.

En la figura III.2 se muestra la comparacion entre los datos experimentales y la prevision analitica. El registro superior es el resultado grafico de integrar la ecuacion 58.

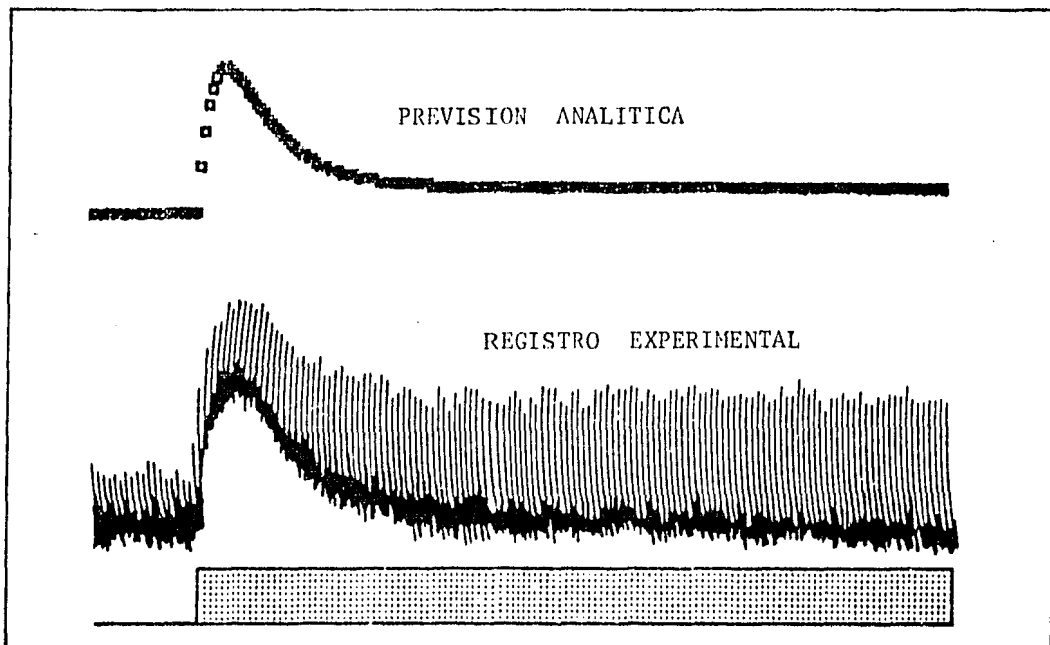


FIG. III.2. SIMULACION DE LA RESPUESTA DE ABSTINENCIA PRECIPITADA POR NALOXONA. La simulacion se hizo integrando la ecuacion 58. Se muestra la comparacion con el registro experimental.

### 2) Efecto del cambio de $kt$ en la prevision analitica.

Se integro la ecuacion 58 utilizando una dosis de  $8\gamma$  con diferentes valores de  $kt$ . El resultado grafico se muestra en la figura III.3. Observese que cuando el valor de  $kt$  tiende a cero, la respuesta llega a un máximo en el que se estabiliza. En ese caso se trata con una situacion equivalente a las descritas por la teoria de ocupacion.

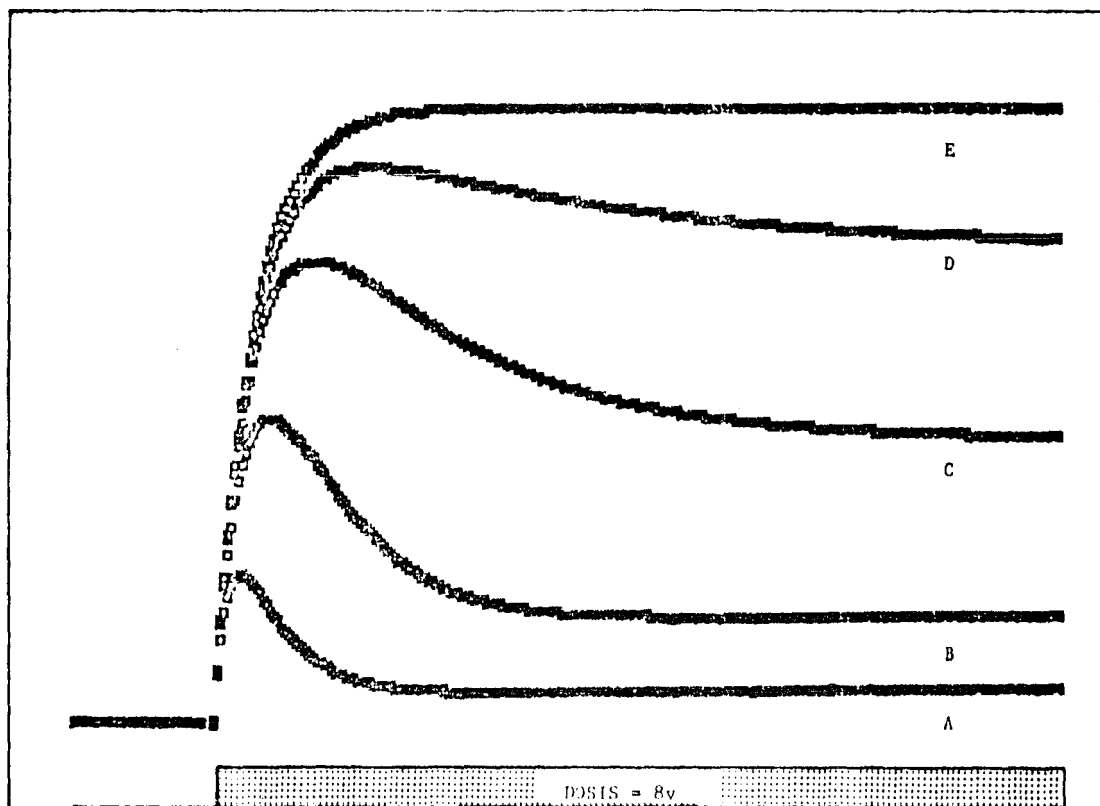


FIG. III.3. EFECTO DEL CAMBIO EN  $kt$  EN LA PREVISION ANALITICA. El valor de  $kt$  para la curva A, es cuatro veces mayor que para B, ocho para C, doce para D y 16 para E.

3) Variacion de la respuesta de abstinencia en funcion del tiempo de exposicion previa a morfina.

Se recordara que en la figura 1.5 se observa un desplazamiento hacia la izquierda de las curvas Dosis de Naloxona - Respuesta de Abstinencia. Este comportamiento es reproducible en nuestro modelo. Se hicieron 11 curvas dosis respuesta para valores progresivamente menores de  $kt$ . El resultado se muestra en la figura III.4. Observese que las curvas se desplazan hacia la izquierda conforme disminuye el valor de  $kt$ . Esto es equivalente a decir que puede darse una misma respuesta con una dosis menor porque ha aumentado la duracion del estado activo. Para los seis primeros valores de  $kt$  el desplazamiento parece ser uniforme. Conforme el valor de  $kt$  tiende a cero las curvas tienden a una posicion asintotica que estaria dada por la respuesta a diferentes dosis para  $kt = 0$ .

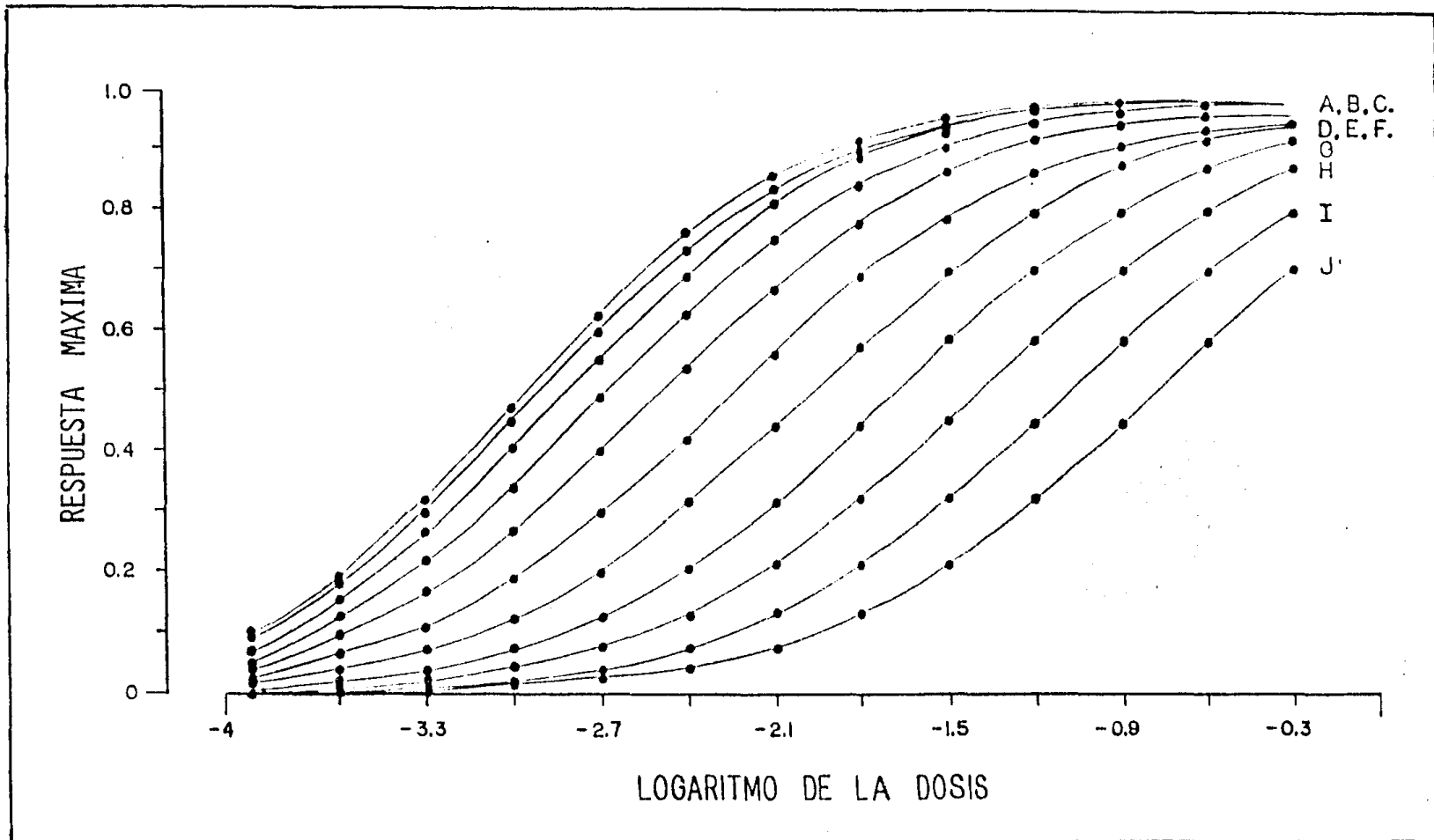


FIG. III.4. SIMULACION DE LA VARIACION DE LA RESPUESTA DE ABSTINENCIA PRECIPITADA POR DIFERENTES DOSIS DE NALOXONA EN FUNCION DEL TIEMPO DE EXPOSICION A MORFINA. A la respuesta maxima se le asigna el valor de 1, por lo tanto las unidades de respuesta son proporciones del maximo. El valor de  $kt$  para A es la mitad de B, la cuarta parte de C, y así sucesivamente, de tal manera que el valor de  $kt$  para la curva J es aproximadamente mil veces mayor que el valor para la curva A.



4) Efecto del cambio de  $kt$  sobre el valor teórico de la dosis eficaz al cincuenta por ciento.

A partir de la figura III.4. se tomaron las  $A_{50}$  para diferentes valores de  $kt$ . Estos datos se muestran en la figura III.5. Puede observarse que cuando se grafican los logaritmos de ambos parámetros se encuentra una relación lineal para un amplio rango de valores de  $kt$  (línea continua). Conforme esta constante toma valores progresivamente menores, se pierde la linealidad (línea punteada). La fase no lineal nuevamente muestra el límite dado por  $kt = 0$ .

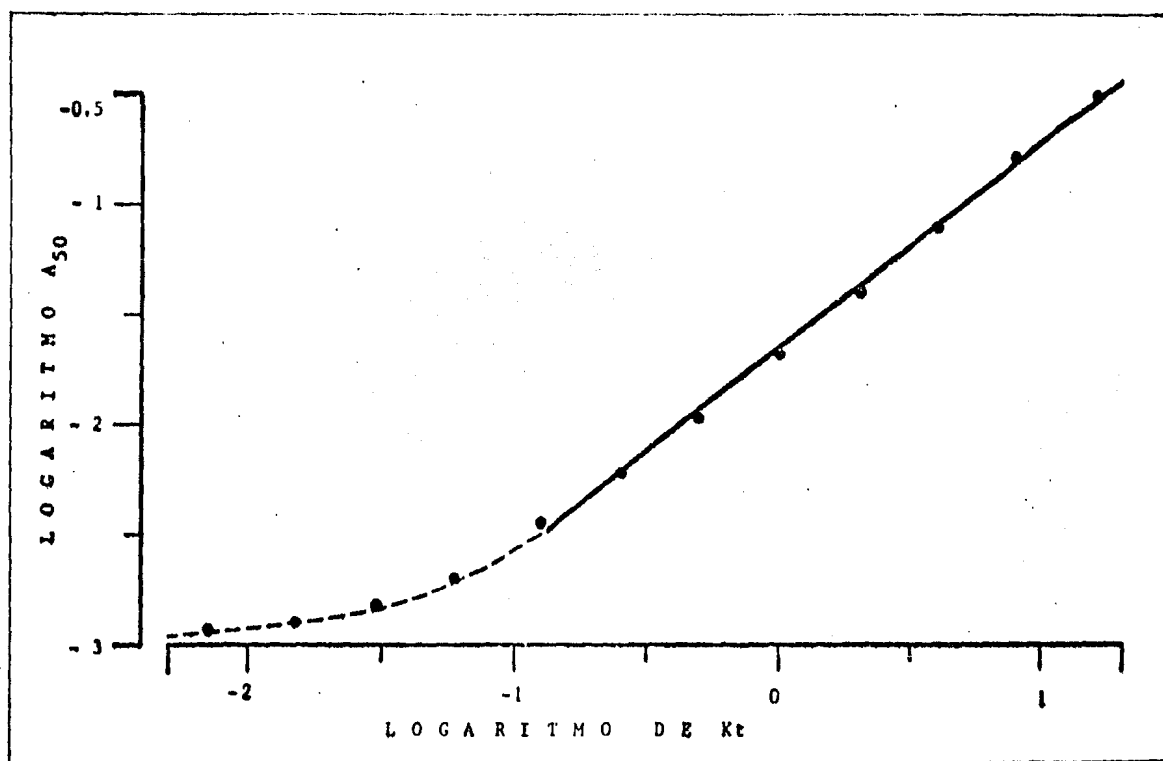


FIG. III.5. EFECTO DEL CAMBIO DE  $kt$  SOBRE EL VALOR TEÓRICO DE LA DOSIS EFICAZ AL CINCUENTA POR CIENTO.

PROGRAMA 2.

INTERACCIONES FARMACO RECEPTOR:  
INTEGRACION POR METODOS NUMERICOS.

Para la realizacion de este programa se siguió exactamente el mismo esquema del programa 1. Se modificó únicamente el lazo correspondiente a los calculos matematicos:

```
FOR I = 1 TO 100  
RA = (RA + (K1 * D * R)) - (KT * RA) -  
  (K2 * RA)  
RI = (RI + (KT * RA)) - (K3 * RI)  
NEXT
```

#### IV. D I S C U S I O N

#### IV. DISCUSION

De los resultados presentados se derivan algunas consideraciones que valdría la pena analizar.

1) El modelo de interacciones fármaco-receptor que presentamos resulta una herramienta de gran utilidad para el análisis de los fenómenos que nos ocupan. El cuerpo de suposiciones que lo sustenta es relativamente simple y se adecúa a los antecedentes teóricos y experimentales con los que contamos. No dudamos que el continuar con esta línea pueda arrojar información sobre los mecanismos de producción de los fenómenos de dependencia y abstinencia.

2) El empleo de una microcomputadora para implementar las ecuaciones que describen la cinética de interacciones fármaco-receptor resulta de enorme utilidad. Dada la laboriosidad del trabajo matemático, creemos que este método es el más viable para abordar de manera eficiente los estudios cinéticos.

3) La integración por métodos numéricos es un procedimiento que nos abre nuevas posibilidades de análisis y predicción. Con este método es posible simular diferentes modos de aplicación de fármacos tales como dosis única, infusión, intervalos repetidos de dosis, etc. lo cual sería imposible con la integración analítica.

4) Con este método puede simularse y analizarse la respuesta de abstinencia. (fig. III.2). Se obtuvieron registros en computadora muy similares a los observados experimentalmente. Esto nos lleva a pensar que podrían encontrarse equivalencias entre ellos, abriéndose así las posibilidades de predicción.

5) Los resultados que muestran el efecto del cambio de  $kt$  en la previsión (fig. III.3) nos llevan a una actitud nueva frente a las teorías de receptores. De acuerdo con nuestro modelo podemos entender a las teorías clásica y de velocidad como puntos extremos de un mismo rango continuo. En el caso particular cuando  $kt$  tiende a cero, la ocupación es igual a la activación y tratamos con fenómenos tradicionalmente descritos por la teoría clásica. Conforme el valor de  $kt$  crece, la duración del estado activo es cada vez menor y tratamos con fenómenos tradicionalmente descritos por la teoría de velocidad.

6) El efecto del cambio de  $kt$  sobre el valor teórico de la dosis eficaz al cincuenta por ciento (fig. III.5) nos permitió encontrar una relación precisa. Cuando se grafica el logaritmo de  $ASO$  en función del logaritmo de  $kt$ , se obtiene una relación lineal para un amplio rango de valores. Este resultado nos indica que la dependencia puede entenderse como un cambio en la  $kt$  del sistema.

V. CONCLUSIONES.

## V. CONCLUSIONES

1. En la dependencia no hay ningun cambio en la afinidad quimica de los antagonistas por sus receptores.
2. La respuesta de abstinencia no puede explicarse con las proposiciones de las teorias que hemos revisado.
3. Se propone una modificacion que considera algunos aspectos de la teoria clasica, otros de la teoria de velocidad, y algunos aspectos novedosos:
  - La respuesta depende de la liberacion de quanta (entidades discretas) de energia.
  - En ciertas circunstancias el tamaño del quantum puede variar.
  - La magnitud del quantum determina la magnitud de la respuesta.
4. En la simulacion matematica, cambios sistematicos en la magnitud del quantum (cambios en  $Kt$ ) produjeron cambios en respuesta muy similares a los observados experimentalmente con la farmacodependencia.
5. En el modelo propuesto, la dependencia puede entenderse como un cambio en la  $Kt$  del sistema.

VI. REFERENCIAS  
BIBLIOGRAFICAS.



## VI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1) ARIENS. E.J. (1964)  
A molecular basis for drug action.  
J. Pharm. (Lond.)  
16. 289-312
- 2) ARIENS. E.J. (1979)  
Receptors: from fiction to fact.  
North-Holland Biomedical Press.
- 3) ARIENS. E.J. (1983)  
Intrinsic Activity: partial agonists and partial  
antagonists.  
J. Cardiovasc. Pharm.  
5. S8-S15
- 4) ARIENS. E.J., A.M. SIMONIS, J.M. VAN ROSSUM (1957)  
Affinity, Intrinsic Activity and Drug Interactions.  
Pharmacol. Rev.  
9. 218-236
- 5) BELLEAU. B. (1964)  
A molecular theory of drug action based on induced  
conformational perturbations of receptor.  
J. Med. Chem.  
7. 776-784
- 6) CHANGEAUX. J.P., T.R. PODLESKI (1968)  
On the excitability and cooperativity of the  
electroplax membrane.  
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.)  
57. 335-341
- 7) CLARK. A.J. (1933)  
The mode of action of drugs and cells.  
Edward Arnold & Co. London.
- 8) DEL CASTILLO. J., B. KATZ (1955)  
On the localization of acetylcholine receptors.  
J. Physiol. (Lond.)  
128. 157-181
- 9) FURCHGOTT. R.F. (1955)  
The pharmacology of vascular smooth muscle.  
Pharmacol. Rev.  
7. 183-265

- 10) FURCHGOTT, R.F. (1964)  
Receptor Mechanisms.  
Ann. Rev. Pharmacol.  
4. 21-50
- 11) GADDUM, J.H. (1926)  
The action of adrenalin and ergotamine on the uterus of  
the rabbit.  
J. Physiol.  
61. 141-150
- 12) GOLDSTEIN, A., L. ARONOW, S.M. KALMAN (1979)  
Farmacologia.  
Edit. Limusa. Mexico.  
97-131
- 13) GOSSELIN, R.E. (1977)  
Drug-Receptor Inactivation: A new kinetic model.  
Hand. Exp. Pharm.  
47. 323-356
- 14) KOTTEGODA, S.R. (1970)  
Peristalsis of the small intestine.  
Smooth Muscle.  
Edward Arnold Publishers, Ltd. (London)
- 15) LEHNINGER, A.  
Biochemistry  
Worth Publishers, Inc.  
183-216
- 16) MACKAY, D. (1963)  
A flux-carrier hypothesis of drug action.  
Nature (Lond.)  
197. 1171-1173
- 17) MACKAY, D. (1977)  
A critical survey of receptor theories of drug action.  
Hand. Exp. Pharm.  
47. 255-321
- 18) NETTER, F.H. (1979)  
The Ciba Collection of Medical Illustrations.  
Vol 3: Digestive System. Part II  
Published by CIBA

- 19) NICKERSON, M. (1956)  
Receptor occupancy and tissue response.  
Nature (Lond.)  
178, 697-698
- 20) NORTH, R.A., M. TONINI (1977)  
The Mechanism of Action of Narcotic  
Analgesics in the Guinea-Pig Ileum.  
Brit. J. Pharmacol.  
61, 541-549
- 21) PARDO, E.G. (1959)  
Contribucion al estudio de la taquifilaxis  
Gaceta Medica de Mexico  
89, 981-997
- 22) PARDO, E.G., J.L. MABAÑA  
Theoretical considerations regarding the nature of  
dose-response relations.
- 23) PATON, W.D.M. (1961)  
A theory of drug action based on the rate of drug-  
receptor combination.  
Proc. Roy. Soc. B.  
154, 21-69
- 24) RUFFOLO, R.R. (1982)  
Review. Important concepts of receptor theory.  
J. Auton. Pharmacol.  
2, 277-295
- 25) RUTHERFORD, D. (1913)  
Radioactive substances and their radiations.  
Cambridge University Press  
cap 11, 410-443
- 26) SCHILD, H.D. (1947)  
PA, a new scale for the measurement of drug antagonism.  
Brit. J. Pharmacol.  
2, 189-206
- 27) STEPHENSON, R.P. (1956)  
A modification of receptor theory.  
Brit. J. Pharmacol.  
11, 379-393

- 28) TALLARIDA, R.J., L.S. JACOB (1979)  
The dose-response relation in pharmacology.  
Springer-Verlag, New York.
- 29) VAN DEN BRINK, F.G. (1977)  
General Theory of Drug-Receptor Interactions. Drug-  
receptor interaction models. Calculation of drug  
parameters.  
Hand. Exp. Pharm.  
47. 169-254
- 30) WAY, E.J., H.N. BHARGAVA (1976)  
Role of Acetylcholine in Morphine Analgesia,  
Tolerance and Physical Dependence,  
on Tissue Responses to Addictive Drugs.  
237-253.
- 31) WAUD, D.R. (1968)  
Pharmacological receptors.  
Pharmacol. Rev.  
20. 49-88
- 32) WAUD, D.R. (1969)  
On the measurement of the affinity of partial agonists  
for receptors.  
J. Pharmac. Exp. Ther.  
170. 117-122
- 33) WEIDMANN, S. (1955)  
The effect of the cardiac membrane potential on the  
rapid availability of the sodium carrying system.  
J. Physiol.  
127. 213-224

A P E N D I C E

A P E N D I C E

EQUIVALENCIAS DE NOMENCLATURA EN LAS TEORIAS REVISADAS

	CLARK (1933)	FURCHGOTT (1955)	PARDO (1959)	PATON (1961)	ARIENS (1964)	WAUD (1968)	GOSELIN (1977)	REVISION
Agonista	x	D	x	x	A	$\begin{matrix} [A] \\ \searrow \\ D \end{matrix}$	$\begin{matrix} A \\ \searrow \\ D \end{matrix}$	A
Antagonista	—	I	—	—	B	$\begin{matrix} [B] \\ \searrow \\ D \end{matrix}$	$\begin{matrix} B \\ \searrow \\ D \end{matrix}$	B
Receptor	—	R	—	—	R	—	R	R
Receptores Totales	—	Rt	r	l	r	$[R]_t$	r=l	Rt
Efecto, Respuesta	y	A	y	y	E	E	E	E
Respuesta Máxima	A=100	Amax	y <sub>max</sub>	—	Em	—	E <sub>max</sub>	E <sub>max</sub>
Complejo Fármaco-Receptor	—	RD	—	p	RA	DR	DR	AR
Estímulo	—	—	—	—	S=T	S	s	S
Eficacia	—	—	—	—	e	e	—	$\epsilon$
Fracción de Receptores Ocupados.	—	—	—	—	—	y	—	Y
Tasa de Asociación Fármaco-Receptor	—	—	—	A	—	A	—	Tasoc