



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



“EFECTO DE LA MELATONINA SOBRE LA  
ACTIVIDAD DEL MUSCULO LISO  
VASCULAR “IN SITU” E “IN VITRO”

TESIS MANCOMUNADA  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
(BIOQUIMICO - MICROBIOLOGO)  
P R E S E N T A N :  
MARIA EUGENIA | ALEGRIA MAZON  
MARICELA | CONCHA RIOS

MEXICO, D. F.

VERANO DE 1994

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



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.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
**FACULTAD DE QUIMICA**



**"EFECTO DE LA MELATONINA SOBRE LA ACTIVIDAD DEL  
MUSCULO LISO VASCULAR "IN SITU" E "IN VITRO"**

**T E S I S**

**Mancomunada**

**Que para obtener el título de:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
(BIOQUIMICO-MICROBIOLOGO)**

**PRESENTAN :**  
**MARIA EUGENIA ALEGRIA MAZON .**  
**MARICELA CONCHA RIOS.**

**ASESORES:**  
**Dr. en C. Cruz Reyes Vázquez.**  
**Facultad de Medicina**  
**Dra. en C. Elia Naranjo Rodríguez.**  
**Facultad de Química.**

México, D.F., 29 de Junio de 1994.

Verano, 1994

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

*A Dios por darnos la vida ,  
inteligencia, salud y por  
habernos permitido  
terminar una de nuestras  
metas.*

*A la facultad de Química  
por habernos acogido en  
su seno y habernos dado  
una formación académica.*

*A los profesores que estuvieron  
involucrados en nuestros años  
de estudio, por su tiempo,  
dedicación, ejemplo,  
motivación, entusiasmo y  
ánimo para poder seguir con  
la culminación de la carrera.*

*A todo nuestros compañeros  
que compartieron alegrías y  
tristezas con nosotras.*

*Ruih Martín F.*

*José E. Estrada Z.*

*Ma. del Carmen Melgar P.*

*Ma. del Carmen Santamaría*

*Andrea Munguía S.*

*Mónica Gutiérrez F.*

*Adriana Romero C.*

*Por la enseñanza, dedicación,  
motivación, asesoramiento de  
este trabajo y sobre todo la  
grandiosa amistad que nos  
brindan y tener siempre una  
amable respuesta y sincera y  
constante sonrisa. sonrisa:*

*Dr. en C. Cruz Reyes Vazquez.*

*Dra. en C. Elia B. Naranjo Rodríguez.*

*A nuestro jurado por la dedicación  
y comentari os hechos durante la  
revisión de este trabajo:*

*Profra. Andrea Gabayet M.*

*Prof. Homero Hernández M.*

*Prof. Elia B. Naranjo R.*

*A los compañeros de tesis por  
sus motivaciones y ánimos  
para lograr la culminación  
de este trabajo.*

*Victor Mendoza F.*

*Mónica Mendez D.*

*Maribel L. Herrera R.*

*Miguel A. Vargas.*

*Patricia Pérez A.*

*Felipe Vargas R.*

*Marcos Solis L.*

*Federico.*



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUÍMICA

### JURADO ASIGNADO

- Presidente : Profra. Andrea Gabayet Martín.  
Vocal : Prof. Homero Hernández Montes.  
Secretario : Prof. Elia Brosla Naranjo Rodríguez.  
1er Suplente : Prof. Jesús Hernández Falcón.  
2do. Suplente : Prof. Raquel Ortega Muñoz.

### Sitio donde se desarrollo la tesis :

Sección de Neurofarmacología. Facultad de Medicina.  
Departamento de Farmacología. Facultad de Química

### Asesores :

Dr. en C. Cruz Reyes Vazquez.

Dra. en C. Elia Brosla Naranjo Rodríguez.

### Sustentantes :

Alegría Mazón María Eugenia.

Concha Ríos Maricela.

*A mis padres por brindarme cariño,  
amor, ejemplo, esfuerzo y por la  
dedicación completa, de su vida  
para lograr mi formación  
academica y personal.*

*Jóse Marcos Concha Gómez.  
Estela Ríos Velazquez.*

*A mis hermanos por brindarme  
su apoyo, cariño, comprensión  
durante todos estos años:*

*Ana Lilia Concha R.  
Andrés Concha R.  
José Luis Concha R.*

*A mi tía por su apoyo, consejos,  
palabras de ánimo y su  
maravilloso ejemplo que me da:*

*Ma. Angelica Concha Gómez.*

*A mis abuelitos por darme su  
ejemplo de como poder resolver  
problemas y no darme por vencida.*

*Hermelinda Gómez Argumedo.  
Andrés Concha Alvarez.*

*A mis primos (as) por hacerme  
gratos los momentos de mi  
vida y por inyectarme ánimos  
y esperanzas.*

*Maribel, Norma, Miriam, Karina  
Juan Manuel, Salomón.*

*A mis compañeros de Promeco por  
brindarme su amistad, alegría y  
consejos durante mi estancia y por  
ayudarme en mi formación profesional.*

*A todo mis amigos por brindarme  
su agradable presencia, alegría,  
ánimos y consejos.*

*A mis cuatachas que siempre  
recordare toda mi vida por  
darme cariño, apoyo, consejos  
y sobre todo su compañía en mis  
momento felices y tristes:*

*Ma. Eugenia Alegria Mázón  
Ana María Lara A.*

## CONTENIDO

Capítulo	Página
Introducción .....	3
Antecedentes .....	8
I. Melatonina .....	8
i) Historia .....	8
ii) Biosíntesis .....	9
iii) Efectos Fisiológicos .....	12
II. Sistema Vasculat .....	19
III. Noradrenalina.....	22
IV. Propranolol .....	24
Objetivos .....	26
Hipótesis .....	27
Material y Métodos .....	27
i) Estudios "in vivo" .....	29
ii) Estudios "in vitro" .....	31
Resultados .....	34
i) Estudios "in vivo".....	34
ii) Estudios "in vitro" .....	47
Discusión y Conclusiones .....	57
Conclusiones .....	67
Referencias .....	68

## INTRODUCCION

En un lapso de cincuenta años, la información relacionada con el estudio de la Glándula Pineal (GP) o *Epfisis cerebri* ha provocado una transición de una etapa de escepticismo y perplejidad a otra en la que esta glándula es objeto de múltiples estudios científicos, y como consecuencia surge un verdadero Interés en descifrar su actividad fisiológica (17). La descripción anatómica de la glándula pineal precedió a la de casi todos los órganos endocrinos; así en el siglo III A. C., el griego Herófilo le atribuyó funciones valvulares, las cuales regulaban el flujo de la memoria. Esta idea persistió hasta el siglo XIX, en que Matenidie, aunque también consideró a la pineal como una válvula, estimó que su función residía en regular el flujo del líquido cefalorraquídeo. Entretanto, Galeno, en el siglo II, al describir la anatomía de la pineal en detalle, la denominó Konarium (piña, en griego); este autor sugirió que además de su acción sobre el flujo de memoria, la pineal daba sostén a la masa de venas cerebrales que recorren la cara posterior y dorsal del diencefalo; tal idea fue apoyada también por Vesalio algunos siglos más tarde (fig.1).

Algunas de las concepciones más difundidas sobre la glándula pineal se originaron en la India y fueron popularizadas en el occidente por científicos de la talla de Descartes (1596 - 1650). Este autor en su doctrina de los arcos reflejos, consideró a la pineal como parte del sistema que transporta a los espíritus animales desde la sangre hacia los ventrículos cerebrales. De esta premisa surgió la idea de que el alma se ubicaba en la glándula pineal (37). Los mamíferos, poseen una GP

única y parenquimatosa, la cual se deriva ontogénicamente del techo de la porción posterior del diencéfalo y se sitúa en un lugar profundo del cerebro como parte del epitálamo fig. 1.

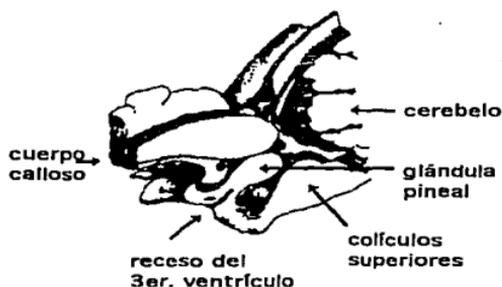


Fig. 1. Ubicación anatómica de la glándula pineal en los seres humanos.

En los vertebrados inferiores la GP está constituida por varias estructuras que en su conjunto forman los sistemas pineales; por ejemplo, en los reptiles se encuentra

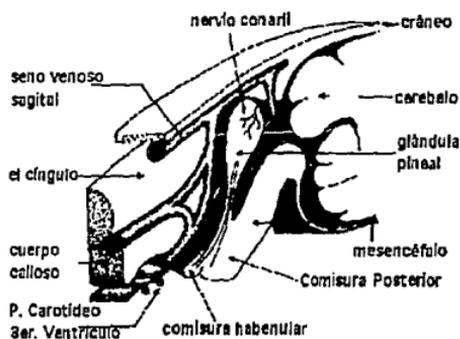


Fig. 2 Esquema que representa un corte logintudinal del cerebro de la rata que muestra la glándula pineal de la rata.

estructura en el órgano parapineal el cual es una estructura altamente diferenciada que forma un pequeño órgano semejante a un ojo, con cristalino y retina, localizado por debajo de un adelgazamiento óseo del cráneo que recibe el nombre de "tercer ojo". Este órgano parapineal es sensible a la luz, pero no está implicado en la visión discriminativa (13).

En la pineal, de todos los animales incluyendo al hombre se encuentran células similares a los receptores de la retina (19) con polos receptores y polos emisores. Sin embargo estas células son funcionales solo en los reptiles y animales inferiores. La respuesta de estos fotorreceptores esta en función de la intensidad, composición espectral y de acción de la luz (71). Aunque los pinealocitos de los mamíferos no responden en forma directa a la luz; éstos reciben información luminosa a través de un circuito neuronal, que implica a la retina, el hipotálamo, y el simpático cervical. De tal manera que la información luminosa regula la actividad de la GP en todas las especies de animales hasta ahora estudiadas. Debido a esta relación esta glándula se considera un órgano neuroendocrino, la cual ejerce un papel esencial en la sincronización fotoperiódica de los ritmos biológicos (13).

Quizá la característica fundamental en las funciones de la GP, sea su variabilidad funcional, es decir, sus acciones dependen de la especie animal, de la época del año y de la hora del día. Por ejemplo, en los vertebrados inferiores actúa sobre la respuesta cromática dérmica a los cambios de la luz ambiental; en los roedores, interviene en la regulación de la función gonadal (58), mientras que en animales superiores, incluyendo

al hombre, la glándula está vinculada con procesos de conducta (20,24,26), consecuencia de algunos cambios en la actividad eléctrica del sistema nervioso central (SNC) que son provocados por hormonas. Así en los mamíferos, las hormonas provocan efectos anticonvulsivos (12,57), hipnogénicos (10,20), sedativos (62), ansiolíticos (29); además de que también modulan la producción y liberación de varias hormonas (42,47).

La relación existente entre el fotoperíodo y la GP constituye una ventaja evolutiva que permite a los individuos adaptarse en una forma mas eficiente a su entorno ambiental (71). Entonces, no es de extrañarse que las especies con pineales voluminosas y complejas, sean aquellas que habitan las zonas templadas y polares; donde las condiciones ambientales son muy variables y extremosas, mientras que las especies con pineales pequeñas y de organización simplificada, habitan regiones circutropicales. Además, en los animales polares la pineal participa en la termorregulación, en la entrada y salida del estado letárgico del sueño y también en la hibernación (27).

Quizá la función más estudiada de la pineal sea su participación en la reproducción, sobre todo de tipo estacional, la cual está subordinada a la duración diaria de la iluminación. Los mejores estudios sistemáticos sobre este tópico han sido efectuados en el hamster y en el carnero (26). En estos animales la pinealectomía conduce a una desincronización de la actividad reproductora en relación al ciclo anual del entorno. Como resultado de ello, la sobrevivencia de las crías se compromete,

puesto que las crías nacen en una época del año desfavorable para su supervivencia. La administración de melatonina (MEL) en estos animales restaura el ciclo estacional de la reproducción (33).

En términos generales, es posible que las variaciones diarias y estacionales de la secreción de melatonina en todas las especies constituya un mensaje que sincroniza las funciones propias de la estación, incluyendo la sexual. Los efectos sobre la reproducción ejercidos por la MEL parecen ser consecuencia de una reducción en la secreción de las hormonas hipofisarias (gonadotropinas) implicadas en el control de la reproducción. Esto explica la regresión gonadal que se observa en animales que son mantenidos en oscuridad total o bajo tratamiento con MEL exógena (58).

Desde un punto de vista económico, los conocimientos adquiridos de la pineal y en particular de la melatonina en los mamíferos han permitido proyectar importantes aplicaciones. En días largos, la administración vespertina de MEL, tiene un efecto estimulante sobre la iniciación de la actividad sexual de la oveja; lo que incrementa la biodisponibilidad de carne de cordero, la producción de leche e incluso el alargamiento del tiempo de crecimiento antes del sacrificio (5).

Debido a estas acciones relacionadas con la iluminación ambiental: la pineal ha sido considerada como un transductor capaz de convertir los estímulos neurales provenientes de la retina en una respuesta endócrina, productora de hormonas (6).

## ANTECEDENTES

### I.- MELATONINA

1) HISTORIA : Las acciones provocadas por la glándula pineal son mediadas por hormonas, que desde un punto de vista químico, son indoles o péptidos (55). Todos los indoles pineales se derivan del aminoácido esencial triptófano. La hormona indólica más importante, tanto por su producción como por sus efectos, es la melatonina (MEL) (5-metoxi-N-acetiltriptamina), esta hormona fue aislada de la pineal de bovinos en 1958 por Lerner y cols (45). Debido a que esta hormona provoca un aclaramiento de la piel de los renacuajos, lo cual implica una acción sobre los melanoforos y melanina cutánea, estos autores la denominaron MEL.

Esta acción sobre la piel de anfibios fue utilizada como un bioensayo extremadamente sensible para la determinación de MEL hasta el advenimiento del radioinmunoanálisis (8). La MEL pertenece a un grupo de compuestos biológicamente activos y denominados 5-metoxi-indoles. Los cuales son producto de secreción de la glándula pineal en los vertebrados hasta ahora estudiados, incluyendo al hombre (7). Entre los compuestos más estudiados se encuentran los 5-metoxi-triptofoles y, los 5 metoxi-indoles asociados al ácido acético, todos ellos con actividad fisiológica importante (72). La MEL es altamente liposoluble y muy poco hidrosoluble, por lo que se disuelve en propilen glicol o en etanol. Posee un enorme margen de seguridad ya que para ejercer efectos tóxicos se requiere de dosis mayores a 800 mg/Kg, cuando las dosis fisiológicas oscilan en picogramos.

ii) BIOSINTESIS: La síntesis de MEL se inicia con la captación de triptófano por los pinealocitos (35). Una vez en el retículo endoplásmico, se produce una hidroxilación del triptófano para transformarlo en 5-hidroxitriptófano (5-HTP). Esta reacción ocurre en presencia de la enzima triptófano - hidroxilasa; y requiere de oxígeno, hierro 2+ y pteridina reducida (63) (fig. 3).

Posteriormente el 5-HT es descarboxilado y transformarlo en 5-hidroxitriptamina (5-HT), mejor conocida como serotonina, por acción de la 5-hidroxitriptófano descarboxilasa (63) (fig. 3). La serotonina es un neurotransmisor que se localiza en altas concentraciones en los tejidos periféricos como el intestino (16), el sistema vascular, el riñón (41) y el hígado (65) entre otros. En el SNC, la serotonina interviene en funciones como el sueño, la regulación motora, el dolor y algunos procesos psicológicos elevados como los sentimientos, el razonamiento y sus motivaciones. Existen receptores específicos a la serotonina en múltiples tejidos, los cuales aparentemente median todos los efectos de este neurotransmisor.

Actualmente se describen más de ocho receptores para esta sustancia (36). A pesar de la similitud estructural entre la serotonina y la melatonina, no existe algún receptor a la serotonina que muestre algún grado de afinidad por la melatonina (24). Las concentraciones de serotonina en la GP son las más elevadas del organismo y muestran un ritmo circadiano inverso al de la melatonina, con valores máximos durante la fotofase y menores en la escotofase (59) (fig4). Una vez sintetizada, la serotonina es transformada en N-acetil-5-hidroxitriptamina (N-Ac-5-HT) ó N-acetilserotonina (63), por acción de la enzima N-acetiltransferasa (NAT). Este último compuesto carece de actividad biológica, y su importancia fisiológica consiste en ser el precursor de la melatonina (63).

Finalmente, otra enzima la hidroxindol-o-metiltransferasa (HIOMT), al transferir un grupo metilo, donado por la S-adenosilmetionina, en la posición orto para dar como resultado el 5-hidroxi-Indol-acético a varios derivados metilados, puede dar como productos finales a la 5-metoxi-N-acetil-triptamina (MEL); el 5-metoxitriptófol (5-MLT) o al ac-5-metoxi-Indolacético (5-MIAA), dependiendo del sustrato sobre el que actúe la enzima (fig. 3). Todos estos compuestos poseen actividad hormonal (63).

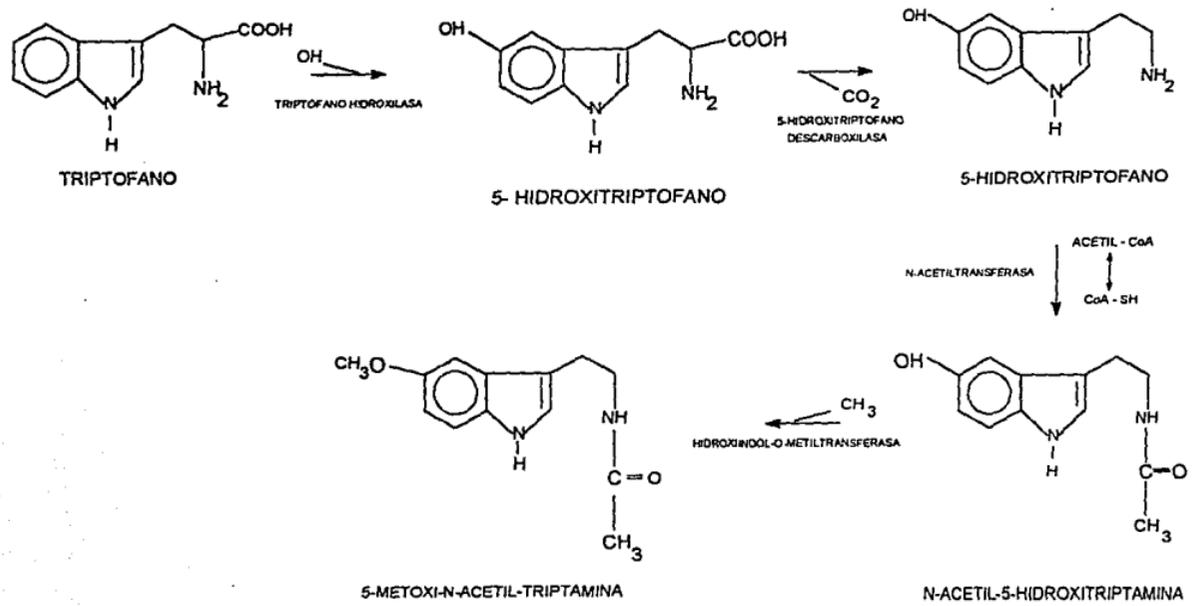


FIGURA 3 . SINTESIS DE MELATONINA

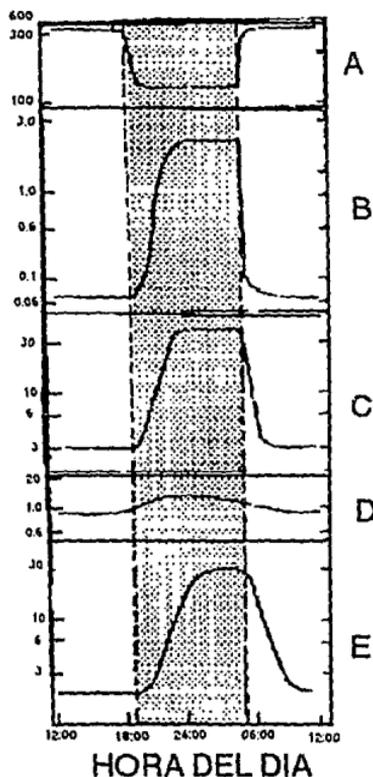


Fig. 4. Diagrama esquemático representativo de las variaciones en las concentraciones de los sustratos involucrados en la síntesis de la melatonina, y sus enzimas con respecto al fotoperíodo. En A) se muestran las variaciones de serotonina ( $\mu\text{moles/mg}$ ), en B) N-acetiltransferasa (nmoles/producción/mg/hr), C) N-acetilserotonina ( $\mu\text{moles producción/mg/hr}$ ), D) Hidroxindol-o-metiltransferasa (nmoles producción/mg/hr), E) melatonina (pmoles/mg).

## **EFFECTOS FISIOLÓGICOS.**

La MEL alcanza a sus órganos blancos por la vía sanguínea, siendo el cerebro el órgano blanco principal. La administración de MEL provoca cambios importantes en la síntesis y liberación de varios neurotransmisores cerebrales (25). Como resultado de esta acción la aplicación de MEL induce el sueño en gatos (21), gallinas jóvenes y en humanos (21). Además de poseer una acción potenciadora sobre el sueño provocado por hexobarbital, en el ratón (10) y por pentobarbital en la rata macho (11). También inducen sueño los metoxi-indoles como el 5-metoxitriptófano, cuya aplicación, en ratas pretratadas con barbitúricos, provoca un estado hipnótico característico(21).

Por otro lado los estudios realizados por Verne sugieren que la MEL ejerce una acción sedante en ratas (66). Kovacs y cols. mostraron que la MEL en dosis de 100 µg/rata deprime la respuesta simpática a un agente estresor y aún en ausencia de éste, las ratas disminuyen su actividad (43). Por su parte Datta y King (18) en estudios de aprendizaje muestran que la MEL actúa como inhibidor de la memoria en procesos de atención lo que incrementa el fenómeno de extinción (21). Este efecto puede ser resultado de una secreción de ACTH/MSH, hormonas que facilitan la retención de respuesta en el aprendizaje (51).

Otro efecto cerebral de la MEL, son sus acciones anticonvulsivas; así Bindoni y Rizzo en 1965 mostraron que los conejos con pinealectomía sufren de convulsiones

después de estimular al hipocampo, esta acción no se observó en conejos con falsa pinealectomía (12).

También la actividad depresora y poder anticonvulsivo de la difenilhidantoína, diazepam, clordiazepóxido y pentobarbital se reduce significativamente en ratas pinealectomizadas (57). Finalmente la aplicación de MEL, y de los extractos pineales acuosos de bovinos, ejercen efectos anti-convulsivos (57). Varios estudios muestran que la MEL modifica la respuesta de neuronas epilépticas a los estímulos sensoriales, reduciendo como consecuencia, los efectos de los reflejos sensoriales los cuales pueden desencadenar la epilepsia (23).

Las acciones hipnóticas, sedantes y anticonvulsivas descritas, son resultado de la acción depresora que la MEL ejerce sobre la actividad eléctrica del SNC (48); y puntualiza el importante papel que esta hormona ejerce en algunos procesos conductuales (21).

En el campo de la endocrinología, desde los años 50 Kitay y Altschule mostraron que la administración de 100 mg de extractos pineales, durante 14 días, deprimen el crecimiento ovárico e inhiben la ovulación en ratas. Hallazgos similares fueron reportados por Relter, quien además mostró que la pinealectomía provoca la hipertrofia del ovario y de los órganos accesorios en ratas maduras (56); mientras que este procedimiento quirúrgico en ratas jóvenes provoca una maduración sexual prematura (13). La inyección de extractos de la pineal revierten este efecto (56) .

La relación entre el fotoperíodo y la función gonadal de la pineal, se estableció desde la década de los años 60 cuando se mostró que los animales jóvenes expuestos a iluminación continua, desarrollan una maduración precoz y los adultos un aumento en su peso gonadal. Estas respuestas se revierten con el tratamiento a base de extractos pineales (56). Por estos hallazgos Reiter y cols. sugirieron que la GP es un órgano neuroendocrino productor de varias hormonas antigonadotrópicas, entre las cuales la más importante es la MEL (56).

Esta hormona también ejerce efectos endocrinos no relacionados con la reproducción; por ejemplo, en los roedores esta hormona provoca una disminución tanto en el peso de la tiroides como en la secreción de tiroxina; mientras que los animales pinealectomizados muestran el efecto opuesto (47). Bailey y Matty describieron que la MEL reduce ligeramente la liberación de insulina basal; y provoca un decremento significativo de la secreción inducida por la glucosa en los islotes de Langerhans aislados, provenientes de ratones normales e hiperglucémicos; lo que sugiere que la GP ejerce una regulación tónica sobre la secreción de insulina en el páncreas (9). Además en los animales pinealectomizados los niveles de la hormona estimulante de los melanocitos (MSH) en la pituitaria son más altos con respecto a sujetos sometidos a una falsa pinealectomía (39). También las inyecciones de MEL originan una rápida disminución del contenido de esta hormona (39); lo que modifica la pigmentación de la piel y las características del plumaje de aves y del pelaje de varios animales (71). Otras acciones endócrinas de la MEL incluyen su tono inhibitor

sobre la pituitaria posterior productora de oxitocina y hormona antidiurética cuya secreción se reduce por el tratamiento con MEL (71) .

La MEL también inhibe la transformación de progesterona hacia cortisol y aldosterona (50). En los animales con pinealectomía crónica se observa un incremento en la secreción hormonal adrenocortical, el cual puede traducirse en un incremento de la presión arterial observado en animales pinealectomizados (34). Son varios los estudios que muestran que la GP restringe y modula la esteroidogénesis adrenal bajo condiciones normales y de estrés , lo cual fue descrito por Binkley y cols. También existe una relación entre la GP y la temperatura corporal, por ejemplo cuando el gorrion doméstico es pinealectomizado el ritmo circadiano normal de temperatura corporal desaparece, este efecto observado en otros animales sugiere que la GP también es un sincronizador de la temperatura (12).

Por otra parte investigaciones recientes han mostrado que la MEL inhibe las contracciones espontáneas e inducidas del músculo liso de algunos tejidos como el útero, el duodeno, el conducto deferente de rata y la tráquea del gato (18,22,44)

Estos efectos se detectan en condiciones "in vitro": así, en experimentos que registran las contracciones de tiras de útero de ratas se observa que al adicionar MEL se produce una disminución de la contractilidad espontánea, la cual es dependiente de la concentración de MEL añadida. También las contracciones inducidas por la serotonina y por oxitocina son bloqueadas por la adición de MEL. Es probable que la MEL ejerza una respuesta similar en condiciones "in vivo" (22).

El duodeno también disminuye su contractilidad espontánea en presencia de MEL a concentraciones que oscilan entre 1.25, 5.0, 20, 40, 80, 160  $\times 10^{-9}$  moles/ml, con esta última concentración se observa una inhibición completa de la contractilidad; además, la contracción inducida por la serotonina es inhibida con concentraciones de MEL de 40 a  $160 \times 10^{-9}$  (53). Una situación similar se observa en el músculo liso de la tráquea precontraída con serotonina (44). Se desconoce aún el mecanismo por el cual MEL ejerce una acción inhibitoria sobre la contracción muscular lisa (44).

Estudios bioquímicos recientes han caracterizado un tipo especial de sitios de unión para la MEL solo en la región del hipotálamo y la eminencia media. Fuera del SNC éstos se localizaron únicamente en la vasculatura de la arteria caudal y las arterias que forman el polígono de Willis de la base del cerebro de rata (69). La localización de estos receptores se realizó con técnica de autorradiografía "in vitro"; utilizando la  $^2$ -I- $^{125}$ melatonina. Estos receptores mostraron estabilidad, saturabilidad y reversibilidad con una alta afinidad ya que su constante de disociación en la arteria cerebral anterior es de  $3.4 \times 10^{-11}$  M y en la arteria caudal es de  $1.05 \times 10^{-10}$  M (72).

La relación entre la GP y la presión arterial surgió cuando se mostró que la pinealectomía tiende a provocar un incremento leve y pasajero de la presión arterial (34); aunque estos resultados no necesariamente han sido reproducidos por todos los autores (32). La calidad de leve y pasajero puede ser resultado del muy activo sistema de regulación de la presión arterial que poseen todos los animales (60). Así,

un incremento o decremento de la presión arterial genera en poco tiempo un cambio ya sea en la resistencia periférica vascular, en la actividad cardíaca o incluso en el volumen circulante, el cual tiende a restituir el nivel de la presión arterial basal (60).

Cualquier cambio en la presión arterial provocado por la administración de indoles de la pineal puede ser consecuencia de una acción directa de estas sustancias sobre el sistema vascular o por una acción indirecta. Por ejemplo, la MEL puede ejercer efectos sobre las hormonas de la corteza suprarrenal; estas hormonas, participan en la regulación de los minerales y líquidos de la economía (46). Por lo tanto se observará un incremento o decremento plasmático como consecuencia a los cambios en la presión arterial y se traducirá en cambios en las concentraciones de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{H}^+$  y agua (60).

Las acciones de los indoles de la pineal sobre las concentraciones de tiroxina, hormona antidiurética, estrógenos y andrógenos, explicarían por sí mismos algún cambio en la presión arterial, a la vez que cada una de estas hormonas es capaz de modificar su valor (60).

Por otro lado la MEL ejerce efectos directos sobre la musculatura lisa de la traquea, duodeno, íleon, vaso deferente y útero, los cuales sustancialmente no son muy diferentes al músculo liso vascular. Lo que sugeriría que la MEL es también capaz de afectar en forma directa a este tipo de músculo liso. Sobre el mecanismo de acción utilizado a nivel de la musculatura lisa, solo se pueden sugerir algunas

probabilidades, como se mencionó, a excepción de las arterias del polígono de Willis no se ha detectado algún tipo de receptor a la MEL en algún otro tipo de músculo liso por lo que su efecto parece no depender de su asociación con receptores típicos a la MEL. Además los efectos inhibidores sobre la musculatura lisa solo ocurren cuando se agregan dosis farmacológicas las cuales son miles de veces mayores que las fisiológicas. Esto podría sugerir algún tipo de interacción entre la MEL y alguna de las sustancias que fisiológicamente están modulando la contractilidad lisa vascular. Así por ejemplo en las arterias del polígono de Willis, la MEL potencia la acción de la noradrenalina (NOR), incrementando con ello el tono arterial (67). Por lo tanto cabe la probabilidad de una interacción entre la NOR y la MEL a nivel de otros grupos arteriales.

## SISTEMA VASCULAR

En términos generales el sistema vascular sanguíneo está constituido por un órgano generador de un gradiente de presión el cual es el corazón y un sistema vascular que transporta la sangre y que está constituido por tres tipos de vasos: arterias, venas y capilares. La actividad cardiaca consta de 2 fases con repeticiones cíclicas una de contracción (sístole) y otra de relajación (diástole). Las funciones del corazón son la generación de un gradiente de presión entre las arterias y venas. Se le describen cuatro propiedades al músculo cardiaco que son automatismo, excitabilidad, conductibilidad y contractilidad y a dichas propiedades puede agregarse el tono cardiaco (28,60).

Los vasos sanguíneos que reciben el aporte del corazón son las arterias. La principal es la aorta, la cual sale del ventrículo izquierdo, y la arteria pulmonar misma que se origina en el ventrículo derecho. Estas arterias sufren repetidas divisiones cuyas sucesivas ramificaciones disminuyen gradualmente en tamaño. Las arterias más cercanas al corazón son vasos de paredes gruesas capaces de resistir la fuerza pulsátil de la contracción cardiaca (31,60). La función de estos vasos consiste en transformar el flujo sanguíneo pulsátil del corazón en un flujo continuo a nivel capilar.

Para este motivo las arterias tienen paredes resistentes formadas por tres capas o tunicas arteriales que son la íntima, media y adventicia. De estas tres capas la más importante es la media la cual está constituida por tejido conjuntivo elástico y

músculo liso, cuya actividad da origen al tono arterial (60). Esta fuerza arterial, al interactuar con la presión que el flujo sanguíneo le imprime, da origen a la presión arterial; a su vez la presión del flujo sanguíneo, es consecuencia de la acción contráctil del corazón. De esta manera una modificación en la actividad del músculo liso vascular o del músculo estriado cardíaco se traducirá como un cambio en la presión arterial. Parte de la energía que se genera durante la contracción ventricular se utiliza para inyectar sangre a las arterias y el resto en distender el tejido elástico de las paredes de ellas.

Durante la fase diastólica del ciclo cardíaco el tejido elástico arterial distendido, al recuperar su estado primitivo, ejerce presión sobre la sangre que contiene el vaso, la cual empuja la sangre a través de las arterias (60). Entonces la energía potencial acumulada en la distensión de las paredes de estos vasos durante la contracción cardíaca, es empleada para la recuperación elástica de la pared vascular durante el período en que el corazón está inactivo. Esta relajación de la tensión de la pared arterial sirve como una bomba auxiliar, que empuja la sangre hacia adelante durante la diástole cuando el corazón no ejerce ninguna presión (60). Como consecuencia, el tejido elástico de las arterias convierte en un flujo continuo el flujo intermitente proveniente del corazón. De esta forma la relación hemodinámica entre el corazón y las arterias es tal, que la actividad cardíaca es fundamental para la generación de la presión sistólica, mientras que la actividad arterial se manifiesta básicamente en el mantenimiento de la presión diastólica (60).

En condiciones experimentales el músculo liso vascular de las arterias puede ser estimulado mediante varios tipos de señales nerviosas que pueden ser, hormonales y de otra clase. Mientras que en condiciones fisiológicas son dos sustancias químicas las que interactúan con la membrana del músculo liso, a través de proteínas receptoras modulan el proceso contráctil arterial con lo cual modifican y mantienen en un nivel a la presión arterial (60).

El músculo liso arterial esta inervado por fibras nerviosas autónomas, las cuales ejercen un efecto tónico sobre los vasos sanguíneos aumentando la resistencia vascular. La sustancia que participa en esta estimulación es la noradrenalina (NOR). Por el contrario la vasodilatación ocurre como consecuencia de una inhibición del tono simpático a nivel del SNC (60).

## NORADRENALINA.

Los efectos de la NOR se realizan a través de receptores clasificados como  $\alpha$  y  $\beta$ . En términos generales la activación de receptores  $\alpha$  provocan vasoconstricción, lo cual tiende a aumentar la presión arterial, mientras que las acciones mediadas por los receptores  $\beta$  se asocian con una vasodilatación. Los sistemas adrenérgicos son regulados por el tallo cerebral, por lo que la inhibición del tono simpático a este nivel también produce una vasodilatación (40). Esta acción fisiológica juega un importante papel en la regulación de la presión arterial.

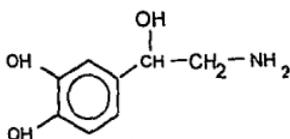


Fig 5. Estructura química de la noradrenalina, la catecolamina más importante del sistema nervioso periférico, localizada en las terminales nerviosas simpáticas.

El resultado del efecto de una sustancia adrenérgica en determinado órgano dependerá de la densidad y de la ubicación de receptores ya sea  $\alpha$  ó  $\beta$ ; por ejemplo; los vasos sanguíneos cutáneos poseen casi exclusivamente receptores  $\alpha$  por lo que la NOR y la adrenalina (noradrenalina metilada) provocan una vasoconstricción pronunciada, mientras que el músculo liso de los vasos sanguíneos que irrigan los

músculos esqueléticos tiene receptores  $\beta$  y  $\alpha$ . La activación de los receptores  $\beta$  produce vasodilatación y la estimulación de los receptores  $\alpha$  contrae estos vasos (40).

En 1946 Von Euler aisló e identificó a la NOR (fig. 5) en el sistema nervioso simpático y más tarde se desarrollaron métodos sensitivos para determinar está catecolamina en los tejidos. En 1954 Axelrod trabajó en la investigación del metabolismo de las anfetaminas y de compuestos relacionados con la estructura de las catecolaminas, identificó a la noradrenalina como la sustancia transmisora liberada en las terminaciones nerviosas simpáticas postganglionares (30). Cuando un impulso nervioso alcanza las terminaciones nerviosas, las vesículas sinápticas liberan sincrónicamente al neurotransmisor, el cual alcanza la hendidura sináptica, de este sitio las catecolaminas se asocian a sus diferentes receptores localizados en la membrana postsináptica (30,40).

La NOR ejerce un menor efecto en el corazón en comparación con la adrenalina, pero su acción periférica es tal, que incrementa en gran manera la resistencia periférica total. Esto, a su vez conduce a una marcada elevación en las presiones sanguíneas sistólica, diastólica y media además de esta hipertensión arterial, la NOR ocasiona una aceleración cardíaca, e inhibición de la musculatura intestinal. También aumenta el ritmo y la profundidad de la respiración, la corriente de aire por minuto y como consecuencia disminuye la concentración de  $\text{CO}_2$  alveolar (30).

## PROPRANOLOL

Existen una gran cantidad de fármacos que actúan a nivel de alguno de los receptores adrenérgicos, modificando la respuesta de las catecolaminas. Un ejemplo de ellos es el propranolol (PRNL) (fig. 6). Esta sustancia utilizada como un fármaco antihipertensor, es un bloqueador  $\beta$ , el cual reduce la demanda cardíaca de oxígeno al bloquear los aumentos de frecuencia cardíaca, presión arterial y la fuerza de contracción del miocardio, provocados por las catecolaminas; además de que disminuye la secreción de renina y evita la vasodilatación de arterias cerebrales (30).

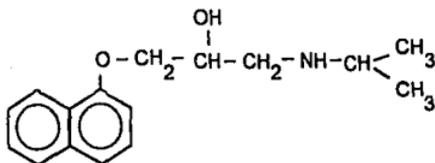


Fig. 6. Representación esquemática de la fórmula química del PRNL, un antagonista típico de los receptores  $\beta$  adrenérgicos, sin especificidad sobre receptores  $\beta_1$  ó  $\beta_2$ .

Existe una relación entre la GP y las catecolaminas, esta glándula recibe únicamente inervación de neuronas postganglionares noradrenérgicas cuyos cuerpos celulares constituyen el ganglio cervical superior (38). Los efectos de estas catecolaminas son mediados en los pinealocitos por el AMPc, esta estimulación es bloqueada por antagonistas  $\beta$  (30). En lo que respecta a este efecto en la pineal la adrenalina y la NOR son equipotentes como  $\beta$  agonistas.

Al adicionar a cultivos de GP, se elevan los niveles de AMPc, con lo que se provoca un incremento en la actividad de la enzima N-acetiltransferasa de la serotonina y un incremento en la síntesis de MEL. La estimulación del nervio simpático y la administración de precursores de catecolamina (68), también produce un aumento en la actividad de la N-acetiltransferasa de la serotonina .

Con base en los antecedentes antes mencionados, el presente trabajo persigue los siguientes objetivos:

## **2.1 Objetivos**

**2.1.1** Describir el efecto provocado por la administración endovenosa de diferentes dosis de MEL sobre la presión arterial sistémica de ratas Wistar machos mantenidas en condiciones de anestesia general.

**2.1.2** Analizar comparativamente entre los efectos desencadenados por la administración de la MEL, con aquellos provocados por la aplicación de NOR en el mismo modelo experimental.

**2.1.3** Describir el efecto inducido por la adición de diferentes concentraciones de melatonina sobre la tensión de la arteria aorta aislada mantenida en un baño de tejido; calculando las curvas dosis-respuesta correspondientes.

**2.1.4** Realizar un análisis farmacológico comparativo de los efectos desencadenados en la administración de MEL, NOR y PRNL en el mismo modelo experimental.

**2.1.5** Determinar los posibles interacciones entre estos 3 fármacos MEL, NOR y PRNL, sobre la presión arterial y la tensión muscular vascular, a través de su aplicación conjunta y simultánea.

### 3.1 Hipótesis

Si la MEL disminuye la actividad contráctil espontánea del útero, intestino, conducto deferente y tráquea, entonces esta hormona de la pineal también mostrará un efecto semejante sobre la arteria de rata, la cual está constituida por músculo liso análogo al de los otros tejidos.

La fase experimental fue dividida en 2 grandes secciones; aquella que incluyó el registro de la presión arterial por el método directo en el animal íntegro y la correspondiente al registro de la tensión arterial de aorta de rata "*in vitro*".

### 4.1 Material

#### I Registro de presión arterial

Polígrafo GRASS 7D de 4 canales  
2 Preamplificadores GRASS 7PIE D.C.  
2 Transductores de presión GOULD P23XL  
Material Quirúrgico y de Sutura  
1 Estereoscopio CARL ZEISS AM 48343  
Papel y tinta para Polígrafo  
Jeringas  
Fármacos correspondientes  
1 manómetro  
1 Computadora Mc Datos, para análisis de datos y graficación

## II Registro de tensión arterial

Polígrafo GRASS 7D de 4 canales  
2 Preamplificadores GRASS 7 PIE D.C.  
2 Transductores de tensión GRASS FT03  
Material Quirúrgico y de Sutura  
Solución de Krebs-Henseleit  
Cámaras de baño

1 Bote (para el agua)  
1 Recirculador de agua B&T Circon  
1 Tanque de con una composición de 95% de O<sub>2</sub> y 5% de CO<sub>2</sub> INFRA  
12 cánulas intra-arteriales para rata marca REDCO  
Cajas Petri  
Jeringas  
Fármacos correspondientes  
Papel y tinta para polígrafo  
1 Computadora Mc Datos, para análisis de datos y graficación

### 4.2 Reactivos

Bicarbonato de sodio  
Cloruro de sodio  
Cloruro de potasio  
Cloruro de calcio dihidratado  
Sulfato de magnesio  
D(+) glucosa monohidrata  
Fosfato de sodio monobásico  
Agua destilada  
Uretano  
Noradrenalina  
Propranolol  
Melatonina.

### 4.3 Equipos

Polígrafo Grass 7D de 4 canales

## 4.4 METODOLOGIA

### 4.4.1 Estudio "in vivo"

Utilizamos ratas Wistar macho con peso corporal entre 250 - 300g, mantenidas en condiciones de luz y temperatura controladas. El período de luz se iniciaba a las 6:00 y finalizaba a las 20:00 hrs, la temperatura ambiental siempre fue de  $25 \pm 1$  °C. Los animales tenían acceso directo a los depósitos de comida y agua por lo que su ingesta fue "ad libitum".

Para la sesión de registro, las ratas se anestesiaron con Uretano (Sigma) (1.25 g/kg de peso). La aplicación de uretano indujo un efecto anestésico con una duración mayor a seis horas, tiempo suficiente para realizar el experimento, por lo que en muy pocas ocasiones fue necesario agregar dosis de mantenimiento del mismo. Ya en etapa quirúrgica, se fijó en una tabla de disección donde procedimos a rasurar la porción anterior del cuello. A través de una incisión, de 3 cm de longitud en la porción antero-lateral del mismo, y después de disecar la tráquea se introdujo una cánula de polietileno de 4 mm de diámetro y de 4 a 8 cm de longitud, a través de una traqueotomía. Posteriormente se localizó y disecó la vena yugular izquierda en la cual se introdujo un tubo de polietileno de 1 mm de diámetro externo y 7 - 10 cm de longitud. Este catéter se continuaba con una jeringa de 3 ml por la cual se administraban los siguientes fármacos:

- \* MEL a dosis de 0.1, 0.2, 0.4 0.8, 1.6, 3.2 y 6.4 mg/Kg
- \* NOR a dosis de 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2, y 6.4  $\mu\text{g}/\text{Kg}$
- \* PRNL a dosis de 6.5, 12.5, 25, 100, 200, y 400  $\mu\text{g}/\text{Kg}$
- \* El grupo que recibió la administración de 1 ml de Polietilenglicol al 20% (vehículo para la disolución de MEL), se consideró como grupo control.

Para registrar la presión arterial por el método directo se localizaba y disecaba la arteria carótida del lado derecho y se introducía un catéter calibre no. 19 conectado en línea con un tubo de plástico rígido de 10 mm de diámetro y de 10 - 15 cm de largo. Este procedimiento quirúrgico ocupaba de 10 a 15 min. El catéter intra-arterial se conectó a través de una llave de tres vías con un transductor de presión arterial marca Goul P23XL; el cual a su vez se conecta a un preamplificador de corriente directa marca GRASS modelo 7P1F, el cual es parte integral de un polígrafo GRASS modelo 79D.

En estas condiciones, cualquier cambio en la presión arterial fue detectado por el transductor y transmitido hacia el preamplificador. Finalmente el polígrafo se encarga de graficarlos en papel por un galvanómetro reproductor. El sistema de registro está calibrado de tal manera que un desplazamiento de 2 cm de la plumilla correspondía a 100 mmHg. Con esta calibración se calculaba en forma directa la presión sistólica y presión diastólica; así como sus variaciones posteriores a la

administración de los diferentes fármacos, para efectos de graficación, estadística y descripción, las acciones de los diferentes fármacos fueron expresadas como un cambio porcentual en relación al valor de la presión arterial registrada en condiciones basales. Así, la presión arterial basal sistólica o diastólica correspondía a un valor de 100 mmHg y si el fármaco incrementaba en 10 mmHg la presión; entonces el valor correspondía al 110 %, es decir un incremento del 10 % . Esta transformación matemática nos permitió unificar los valores de presión arterial basal y hacer comparativos los efectos de los diferentes fármacos.

#### 4.4.2 | Estudio "in vitro"

Se utilizaron segmentos de 0.5 cm de la porción inmediata posterior al cayado aórtico provenientes de ratas Wistar machos entre 250-300 g. Las ratas fueron mantenidas en un fotoperíodo de 14 a 10 h (luz-obscuridad) por al menos 15 días antes del registro, con acceso libre al agua y alimento. Para la sesión de registro los animales fueron sacrificados por desnucamiento e inmediatamente se precedió a la extirpación de la arteria. Para ello se realizó un corte a nivel toraco-abdominal de 6 cm, entonces se localizaba y disecaba la aorta torácica y se colocaba en una solución de Krebs - Henseleit. a 37 °C mantenida con un burbujeo constante de una mezcla gaseosa de 95% O<sub>2</sub> y 5% CO<sub>2</sub>; todo el procedimiento quirúrgico nunca tomó más de 2 min. La solución de Krebs-Henseleit contenía en mM:

119 NaCl, 4.6 KCl, 11 C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>, 1.2 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2 NaHCO<sub>3</sub>, 1.5 CaCl<sub>2</sub>, 1.2 MgSO<sub>4</sub>. Uno de los extremos del segmento arterial se fijó a un gancho (alambre de acero inoxidable de grosor 0.05 mm) en forma de S insertado en un tapón de hule que formaba la parte inferior de una cámara de tejido aislado (15 ml de capacidad). El otro borde se fijó a la porción sensible de un transductor de fuerza marca Grass modelo FT03, conectado a un preamplificador 7 PIE de corriente directa.

El polígrafo consta de transductor, preamplificador, reproductor y canal de información, la calibración fue realizada de tal manera que una fuerza de 2 g equivalía a un desplazamiento de 2 cm de papel. Tal calibración fue suficiente para registrar el tono basal, las contracciones espontáneas y los cambios de tensión provocados por los fármacos utilizados.

Al inicio del registro las porciones arteriales permanecieron al menos 45 min en la solución del baño sin ninguna maniobra experimental con la finalidad de permitir un equilibrio entre la preparación y la solución. Posterior a este período se inició un registro control de al menos 30 min para después proceder a la aplicación de los diferentes fármacos.

Se realizó el estudio en tiras de arteria a concentraciones variables de los diferentes fármacos a concentraciones variables :

\* NOR a concentraciones de  $5.88 \times 10^{-7}$ ,  $11.76 \times 10^{-7}$ ,  $23.52 \times 10^{-7}$ ,  
 $47.05 \times 10^{-7}$ ,  $94.11 \times 10^{-7}$ ,  $188.23 \times 10^{-7}$ ,  $376.47 \times 10^{-7}$  M

- \* En arterias precontraídas con NOR ( $11.76 \times 10^{-6}$  M) se adicionó MEL a concentraciones de  $4.30 \times 10^{-4}$ ,  $8.61 \times 10^{-4}$ ,  $17.22 \times 10^{-4}$ ,  $34.44 \times 10^{-4}$ ,  $68.88 \times 10^{-4}$ ,  $137.77 \times 10^{-4}$ ,  $275.54 \times 10^{-4}$  M
- \* En arterias precontraídas con NOR ( $11.76 \times 10^{-6}$  M) se adicionó PRNL  $1.54 \times 10^{-3}$ ,  $3.08 \times 10^{-3}$ ,  $6.16 \times 10^{-3}$ ,  $12.33 \times 10^{-3}$  M

Las posibles interacciones farmacológicas entre estos fármacos las analizamos con la aplicación simultánea de varias concentraciones de NOR y una dosis de MEL ( $274 \times 10^{-4}$  M), finalmente realizamos la interacción simultánea de dosis variables de PRNL y una de MEL ( $274 \times 10^{-4}$  M).

Una vez analizados los registros se determinaron las curvas dosis-respuesta de ambas variables fisiológicas registradas, es decir, presión arterial y contracción del músculo liso vascular, para cada uno de los fármacos utilizados; como las curvas que indican las figuras 20 y 22.

Se calcularon las concentraciones efectivas 50 ( $CE_{50}$ ) para cada uno de los fármacos analizados utilizando un programa de computación Kalidographic en una computadora Macintosh IIvx. El análisis estadístico aplicado a los resultados experimentales fué la  $t$  <sub>estudent</sub>.

## RESULTADOS

### l) Estudio "in vivo"

La aplicación de uretano indujo un efecto anestésico con una duración mayor a seis horas, tiempo suficiente para realizar el experimento, por lo que en muy pocas ocasiones fue necesario agregar dosis de mantenimiento del mismo. Poco tiempo después de aplicado el uretano, se observó la erección del pene, miosis y calosfríos. Cuando el sujeto mostró una ausencia de respuesta a los estímulos externos, entonces procedíamos a la realización del acto quirúrgico.

Utilizamos 44 animales, divididos en cuatro grupos dependiendo del tratamiento administrado. Los valores basales de presión arterial en todos los individuos fueron variables. En promedio con su error estandar fueron de  $97.88 \pm 3.9381$  para la presión sistólica y de  $55.79 \pm 4.0051$  para la presión diastólica con un rango de oscilación entre 150.00 mm Hg y 50.64 mm Hg para la presión sistólica y de 120.00 mm Hg y 21.45 mm Hg para la presión diastólica. La figura 7 muestra la distribución de ambas presiones en todos los animales utilizados.

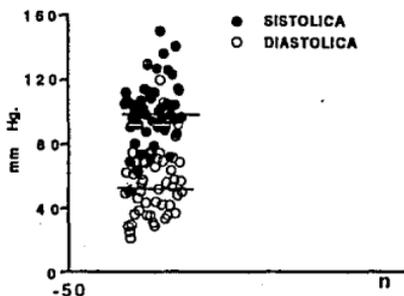


Fig7. Valores promedio de las presión sistólica y diastólica en ratas macho Wistar de peso de 250 a 300 g. La media sistólica es  $97.88 \pm 3.93$  mm Hg, mientras que la diastólica es  $55.79 \pm 4.005$  mm Hg.

Los cuatro grupos utilizados son:

- a) Polietilenglicol al 20% (n= 5)
- b) Noradrenalina (NOR)( n = 12 )
- c) Propranolol (PRNL)(n= 12 )
- d) Melatonina (MEL) (n = 15)

El grupo de Polietilenglicol no se observó alguna alteración en la presión arterial atribuida al fármaco en las concentraciones utilizadas. La figura 8 muestra un registro representativo de tal maniobra experimental.



Fig 8. Registro de la presión arterial en el grupo control, al administrar el polietilenglicol como indica la flecha. En este registro no huboalgún cambio en la presión arterial.

La aplicación endovenosa de NOR a cualquier dosis se asoció Invariablemente con un aumento de la presión arterial tanto sistólicas como diastólicas; siendo mayor el efecto en la presión diastólica que en la presión sistólica. Los resultados obtenidos muestran un tipo de gráfica dosis - respuesta típica con una relación proporcional, es decir, conforme aumenta la dosis aumenta la respuesta, fig 9. La curva de la presión diastólica muestra una forma parecida a la de una relación simple de Michaelis - Menten; mientras que la curva de presión sistólica es más difusa y su respuesta a la última dosis es menor. En la tabla 1 se muestra el promedio de la presión tanto sistólica como diastólica obtenido experimentalmente. Inicialmente, la presión diferencial (presión sistólica - presión diastólica) es pequeña, pero conforme se incrementa la dosis de NOR, ésta se incrementa significativamente.

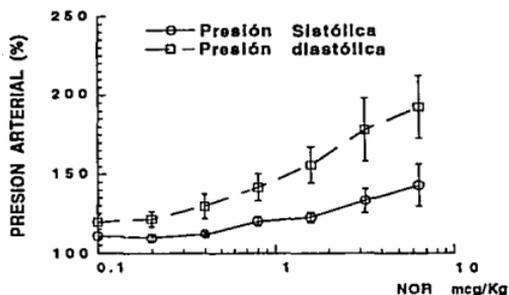


Fig 9. Representación gráfica de los efectos provocados por la administración de NOR., en las ratas macho Wistar. Observando una elevación de la presión arterial, presentando mayor efecto con la dosis de 6.4  $\mu$ g/Kg sobre la presión diastólica que sobre la sistólica.

Tabla 1. Datos obtenidos experimentalmente en el método de medición de presión arterial 'in situ' administrando como fármaco a la noradrenalina.

D O S I S $\mu$ g/Kg	P. Diastólica % mm Hg *	P. Sistólica % mm Hg *
0.1	119.2541 $\pm$ 4.446	110.6676 $\pm$ 2.10
0.2	121.5870 $\pm$ 4.9	109.5824 $\pm$ 1.66
0.4	130.6524 $\pm$ 7.8	112.0375 $\pm$ 1.20
0.8	141.6490 $\pm$ 8.6	119.9789 $\pm$ 2.70
1.6	156.0927 $\pm$ 1.2	122.7054 $\pm$ 3.20
3.2	178.3277 $\pm$ 19.8	133.3645 $\pm$ 7.6
6.4	192.8267 $\pm$ 19.9	152.0031 $\pm$ 13.3

\* Los valores que se encuentran en la tabla son valores promedios de una n = 12.

La respuesta a la administración de la NOR se presentó en forma inmediata con una clara elevación de la presión arterial con una duración de dos a tres minutos aproximadamente y con las primeras dosis la presión arterial retornaba rápidamente a la situación basal, mientras que conforme aumentaba la dosis la recuperación ocurría en un lapso mayor (fig 10).



Fig 10. Registro de la presión arterial a la administración de NOR. en el No. 1) se administró 0.1  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ , 2) 3.2  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ , 3) 6.4  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ; se observa mayor efecto con la última dosis. Este efecto fue proporcional a la dosis administradas.

También con el empleo de dosis altas, se incrementó la presión diferencial en una forma muy significativa.

La administración de PRNL a esta preparación se asoció con un descenso de a presión arterial la cual se relacionó en forma directa y proporcional con la dosis utilizadas del fármaco. El efecto del PRNL sobre la presión arterial se presentó 30 s después de su aplicación y en términos generales mostró una duración de aproximadamente 3 min (fig 12). El efecto del PRNL se hizo más evidente sobre la presión diastólica que sobre la sistólica (fig 11), situación que provocó un incremento de la presión diferencial. El descenso de la presión arterial se acompañó de un incremento de la frecuencia cardíaca. La tabla 2 muestra los resultados obtenidos con la administración del PRNL. Con dosis menores de PRNL la presión arterial

mostró una reducción del 10 al 20 % de la presión arterial mientras que a dosis mayores ( 100, 200  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  de peso corporal) se observó una disminución del 30 al 40 % de este parámetro vascular.

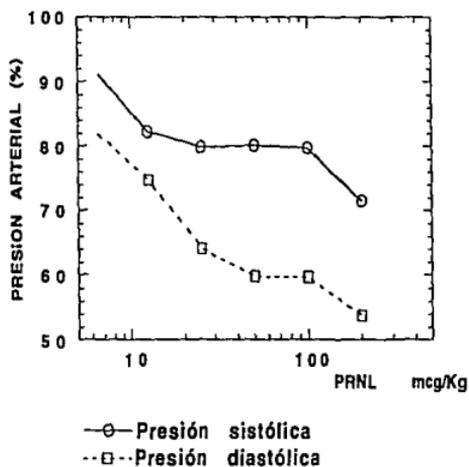


Fig 11. Representación gráfica de los efectos del PRNL sobre la presión arterial, su mayor efecto hipotensor fue sobre la presión diastólica; siendo este efecto proporcional a la dosis utilizadas.

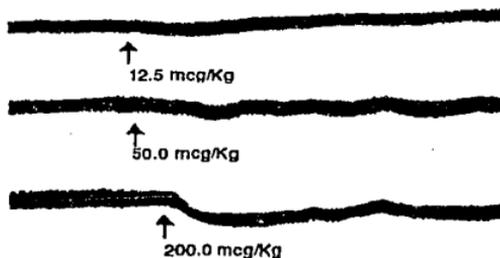


Fig 12. Efecto sobre la presión arterial del PRNL. La aplicación de este fármaco (indicada por la flecha) provoca una disminución de esta presión, la cual es proporcional a la dosis administrada.

**Tabla 2.** Valores de presión arterial obtenidos después de la administración de PRNL a las dosis referidas. Los valores de presión corresponden a la media  $\pm$  errores estándar.

PROPRANOLOL $\mu\text{g/Kg}$	% P. DIASTOLICA mmHg *	% P. SISTOLICA mmHg *
6.5	81.81157 $\pm$ 5.4646	91.156 $\pm$ 4.2473
12.5	74.82392 $\pm$ 5.5071	82.4237 $\pm$ 4.2789
25.0	64.11337 $\pm$ 4.3384	79.51101 $\pm$ 4.1991
50.0	59.86392 $\pm$ 5.3684	80.14973 $\pm$ 5.3931
100.0	59.70944 $\pm$ 7.3466	79.16196 $\pm$ 5.3796
200.0	53.76247 $\pm$ 5.3454	71.49223 $\pm$ 4.1553

\* Todos los datos son promedios de una  $n = 12$ . Los valores de presión corresponden a la media  $\pm$  errores estándar.

Las alteraciones en la presión arterial provocadas por la administración endovenosa de dosis bajas de PRNL desaparecieron en pocos minutos, al final de los cuales, la presión arterial se mantuvo constante en los mismos niveles preadministración. Cuando se aplicaron dosis mayores aumentaba también el tiempo de recuperación (fig 12).

La aplicación endovenosa de MEL invariablemente se asoció con un decremento de la presión arterial. Sin embargo, las dosis necesarias para modificar esta presión arterial fueron mucho mayores en comparación equimolar con la NOR y el PRNL, además de que el efecto fue menor y fue más importante para la presión diastólica que para la sistólica (fig 14).

La dosis mayor de MEL utilizada fue de 6.4  $\mu\text{g/Kg}$  provocando una caída del 34.1% de la presión diastólica. Mientras que en el caso de la presión sistólica el cambio fue solo el 12.1%. Las diferencias entre la primer dosis y la última dosis son muy poco representativas en la presión sistólica (5,85%) en comparación con la presión diastólica que tiene un valor del 22.32%. Estas observaciones se resumen en la tabla 3.

En el caso del PRNL en la tabla 2 la diferencia entre la primer y la última dosis es para la presión diastólica de 28.05% y para la presión sistólica es de 19.66% mostrando un efecto similar en ambas presiones.

La respuesta provocada por la MEL, muestra una dinámica muy similar a la inducida por el PRNL; así, el efecto se inicia rápidamente y permanece de dos a tres minutos. Con las dosis menores utilizadas, la presión arterial se restableció en sus valores basales, mientras que con las dosis mayores la recuperación solo alcanza un nivel ligeramente menor que la presión normal; tal actuación se observa en la fig 13.

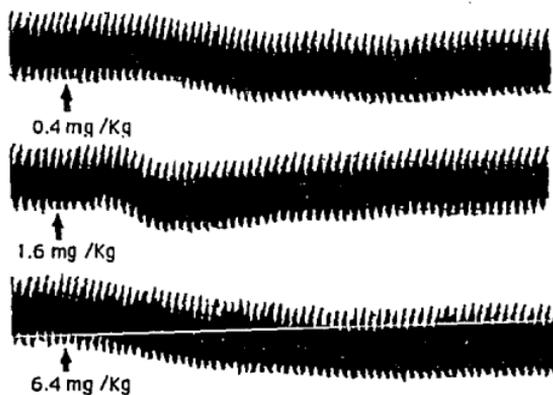


Fig. 13. Registro de la presión arterial, durante y después de administrar MEL. Se observa una disminución de la presión arterial proporcional a la dosis administrada.

**TABLA 3.** Valores porcentuales de la presión arterial registrados en ratas a las cuales se les administró MEL a diferentes dosis.

D O S I S µg/Kg	P. DIASTOLICA % mm Hg *	P. SISTOLICA % mm Hg *
0.1	88.2808 ± 4.446	93.8223 ± 2.1026
0.2	84.0873 ± 4.9597	93.3243 ± 1.6605
0.4	79.4234 ± 7.8561	94.9280 ± 1.2122
0.8	76.1427 ± 8.6400	92.7766 ± 2.7774
1.6	75.4247 ± 11.2825	89.2528 ± 3.2166
3.2	69.0000 ± 19.8946	91.3700 ± 7.6034
6.4	65.9600 ± 19.9196	87.9727 ± 13.3210

\* Valores promedios de los porcentajes de la presión arterial ± E.S.

La figura 14 muestra la curva dosis-respuesta de MEL, en la cual se observa que ambas presiones, diastólica y sistólica, tienden hacia la disminución, con un patrón dependiente de la dosis, en la dosis de 0.8 a 1.6 la respuesta es constante y en la dosis de 3.2 disminuye más que la anterior, en el caso de la presión sistólica se ve que entre la dosis de 0.1 y 0.2 la disminución no es muy notoria y en la dosis de 0.4 se observa que la presión se eleva y en las dos siguientes dosis se observa una clara disminución de la presión arterial, en la dosis de 3.2 nuevamente la presión vuelve a aumentar para nuevamente disminuir con la siguiente dosis de 6.4. En la fig. 15 del lado derecho correspondiente a la presión sistólica las curvas de dosis-respuesta del PRNL y la MEL se encuentran muy juntas y ambas no están muy inclinadas mas bien se encuentran muy parejas a la curva control, en la presión diastólica (lado izquierdo), las curvas de PRNL y de MEL estan muy separadas y presentan una inclinación conforme aumenta la dosis. En el caso de la NOR se ve que a dosis pequeñas manifiesta su efecto en comparación con la MEL que necesita de cantidades más elevadas para manifestar su efecto, observando que la NOR aumenta la presión arterial, el PRNL la disminuye y la MEL el fármaco de estudio la disminuye. Comparando la MEL con el PRNL podemos decir que para observar un efecto de hipotension necesitamos menor dosis de PRNL que de MEL y que el PRNL es capaz de disminuir más la presión arterial que la MEL, indicandonos que es más potente el PRNL.

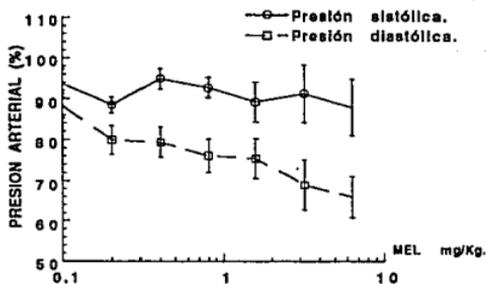
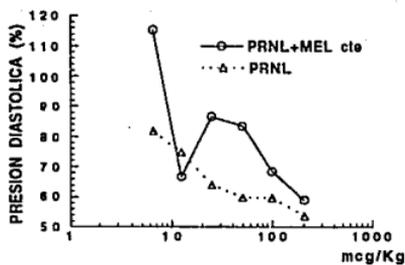


Fig 14. Representación gráfica del efecto de la MEL sobre la presión arterial, se observa un mayor efecto sobre la presión diastólica. Hay una relación proporcional entre el efecto y las dosis administradas.

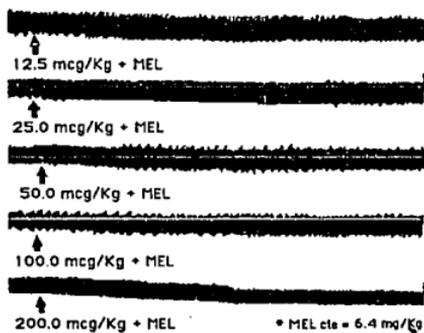
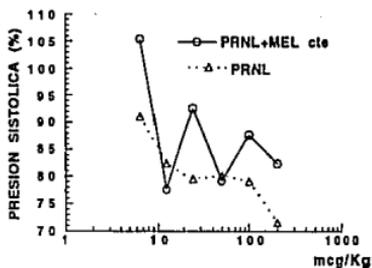
Sin embargo, la hipotensión provocada por MEL es de mayor duración que la del PRNL.

La diferencia en la intensidad del efecto entre la MEL y el PRNL es mayor en la presión diastólica que en la sistólica, en la presión sistólica se encuentra muy separadas y conforme va aumentando la dosis las curvas se van acercando más y en la dosis más alta la diferencia entre ambas es muy poca. La curva de interacción no disminuye más la presión arterial en comparación con la del PRNL pero sigue existiendo una acción hipotensora de ambos fármacos, estos valores se pueden ver en la tabla 4. Se puede ver en la misma tabla que en la presión sistólica la curva de la interacción y la del PRNL el inicio de la primer dosis como en la última las curvas mantienen una separación constante entre ambas y observamos que la curva de la interacción está por encima de la del PRNL.



→ Fig.A

Fig .B →



→ Fig .C

Fig 17. Efecto de la interacción de PRNL+MEL. Fig. A Sobre la presión diastólica. Fig. B Sobre la presión sistólica. Fig. C Registro de la presión arterial, solo se observa un leve efecto hipotensor.

En la tabla 4, tanto en la presión sistólica como diastólica se observa un mayor efecto hipotensor de PRNL+MEL en comparación con los valores obtenidos de PRNL, por lo que suponemos que es debido a una suma de los efectos individuales.

**Tabla 4.** Tabla de valores porcentuales correspondientes de la presión sistólica diastólica de la curva dosis-respuesta del PRNL y la interacción de PRNL y MEL.

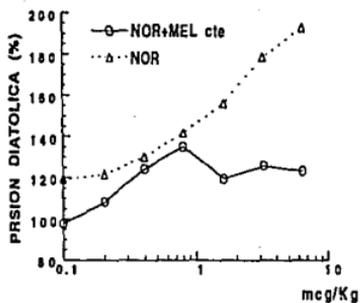
DOSIS µg/Kg	PRESION SISTOLICA		PRESION DIASTOLICA	
	PROPRANOLOL % mm Hg *	PRNL+MEL % mm Hg *	PROPRANOLOL % mm Hg *	PRNL+MEL % mm Hg *
6.5	91.156	105.3971	81.8115	115.3525
12.5	82.4237	77.6112	74.8239	66.7214
25.0	79.5110	92.5826	64.1133	86.6339
50.0	80.1497	79.1914	59.8639	83.4566
100.0	79.1619	87.703	59.7094	68.5326
200.0	71.4922	82.3688	53.7624	59.0154

\*Datos experimentales promedios de la presión diastólica dados en porcentaje.

El efecto bloqueador de la MEL se manifestó no solo para la presión sistólica sino que también fue evidente para la presión diastólica como lo muestra la fig 17 y la tabla 4.

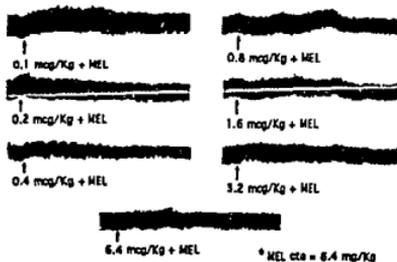
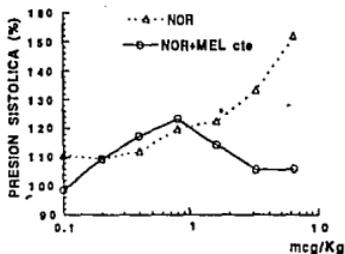
Por otra parte al realizar la interacción farmacológica entre la NOR y la MEL (fig.18), se mostró que la MEL provocó una reducción del efecto hipertensor de la NOR tanto en los registros de la presión sistólica como en los de la presión diastólica. Los efectos de la MEL, sin embargo fueron mayores cuando se aplicaron las dosis más altas de noradrenalina tal como lo muestra la fig 18 y la tabla 5.

En la tabla 5, además de aparecer los valores registrados se muestra la regresión lineal de los valores promedios de las dosis. Estas curvas indican de una forma más directa los efectos de la MEL sobre las acciones hipertensoras de la NOR.



→ Fig. A

→ Fig. B



→ Fig. C

Fig. 18. Efecto de la Interacción de NOR+MEL, sobre la presión arterial, al administrar varias dosis de NOR sobre una dosis constante (6.4 mg/Kg) de MEL. Fig. A sobre la presión diastólica. Fig. B sobre la presión sistólica. Fig. C Registro de la presión arterial, donde se observa el efecto bloqueador de la MEL sobre la acción de la NOR.

**TABLA 5.** Valores porcentuales correspondientes a las curvas dosis-respuesta de NOR y la curva de interacción de la NOR + MEL de la presión sistólica y diastólica.

DOSIS µg/Kg	PRESION SISTOLICA		PRESION DIASTOLICA	
	NORADRENALINA % mm Hg *	NOR+MEL % mm Hg *	NORADRENALINA % mm Hg *	NOR+MEL % mm Hg *
0.1	110.6676	98.62	119.2541	97.54
0.2	109.5624	109.45	121.587	108.21
0.4	112.0375	117.32	130.0524	124.24
0.8	119.9789	123.51	141.649	135.10
1.6	122.7054	114.42	156.0927	119.45
3.2	133.3645	105.82	178.3277	125.85
6.4	152.0031	105.88	192.8267	123.35

\*Valores promedios de las dosis que se encuentran en %.

La tabla 6 muestra los valores de las dosis efectivas 50 (DE<sub>50</sub>) correspondientes a la MEL, NOR, PRNL, y los cambios que sufrieron los efectos de estos dos últimos fármacos, cuando se agregó MEL a su administración.

**TABLA 6** Valores correspondientes a la DE<sub>50</sub> de la presión arterial sistólica y diastólica.

DE <sub>50</sub> (M)	MEL. X 10 <sup>-4</sup>	NOR. X 10 <sup>-7</sup>	PRNL. X 10 <sup>-3</sup>	NOR+MEL x10 <sup>-7</sup>	PRNL+MEL x 10 <sup>-3</sup>
SIST.	3.2863	3.054	100.3673	3.4089	97.6449
DIAS.	2.990	3.054	103.16	4.020	103.1656

MEL. = melatonina. NOR. =noradrenalina. PRNL. =propranolol.

SIST.= sistólica DIAS.= diastólica

Como puede observarse la DE<sub>50</sub> de NOR se incrementa en presencia de MEL, tanto para la presión sistólica como para la presión diastólica. Mientras que en el caso del PRNL la adición de MEL fue un efecto en la presión sistólica sin mostrar modificación alguna en el caso de la diastólica como lo muestra la tabla 6.

## II Registros "In vitro"

Después de calibrar a nuestro sistema de registro de tal manera que la aplicación de una fuerza de 2 g. produjera un desplazamiento de 2 cm. Colocamos las tiras arteriales en el baño a 37 °C, permitiendo que el tejido se equilibrará con esta solución en un lapso mínimo de 45 min. En el estado basal las tiras arteriales mantuvieron un nivel del tono sin cambio. El registro se observó como una línea continua que no presentó oscilaciones sugestivas de oscilaciones espontáneas. El tono basal se mantuvo con una tensión de 2g, ajustándolo con un tornillo tensómetro.

En este modelo experimental analizamos el efecto de la adición al baño de tres fármacos: NOR; PRNL y MEL (fig. 19).

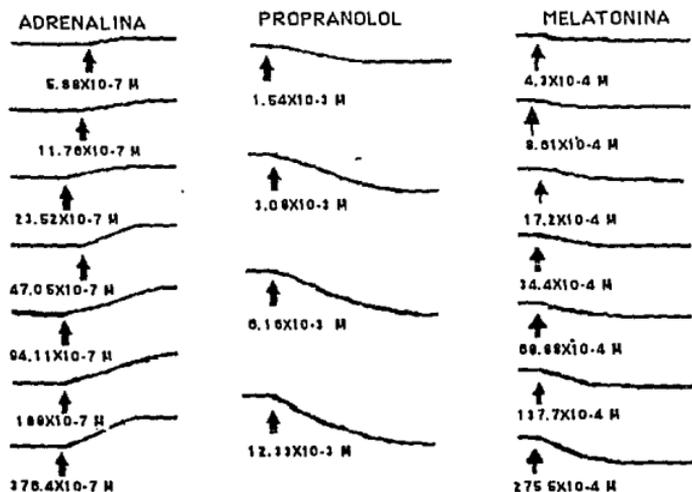


Fig. 19 Respuesta de los anillos aislados de aorta de ratas macho Wistar, a la adición de NOR, PRNL y MEL; observando que la NOR aumento la tensión arterial mientras que PRNL y MEL provocaron una disminución de la tensión arterial.

En el caso de la NOR utilizamos 59 tiras arteriales en las cuales observamos un incremento del tono arterial, el cual estuvo en función de las concentraciones utilizadas (fig. 19). El incremento provocado por la NOR se observó casi inmediatamente después de su adición al baño y permaneció durante todo el tiempo que permanecía el fármaco (20-25 min) Posteriormente a esto, se observó una estabilidad de la respuesta del tejido a la NOR. Cuando se lavaba el tejido la tensión regresaba a su condición basal (control). Para analizar estas respuestas del tejido se cuantificó el desplazamiento de la contracción a partir del estado basal y se calculó, de acuerdo al valor de la calibración, la fuerza ejercida por la preparación.

Por ejemplo un desplazamiento de 0.4236 cm. equivaldría a:

$$\begin{aligned}
 2\text{g} & \text{ ----- } 2.000 \text{ cm} & \text{ ..... Calibración} \\
 X & \text{ ----- } 0.4263 \text{ cm} & \text{ ..... Desplazamiento} \\
 X = 0.4263 \text{ cm} \times 2 \text{ g/2 cm} & = 0.4263 \text{ g fuerza.}
 \end{aligned}$$

Para el valor de la fuerza ejercida por cada uno de los segmentos arteriales, se elaboró la tabla 6.

**TABLA 6** Resultados experimentales obtenidos al adicionar NOR a diferentes concentraciones.

CONCENTRACION	gramos fuerza	± E.S	n
$5.88 \times 10^{-7}$	0.42631	0.0679	19
$11.76 \times 10^{-7}$	0.6000	0.0757	19
$23.52 \times 10^{-7}$	0.7842	0.0746	19
$47.05 \times 10^{-7}$	0.9343	0.0796	16
$94.11 \times 10^{-7}$	1.0687	0.0778	16
$188.23 \times 10^{-7}$	1.135	0.107509	10
$376.47 \times 10^{-7}$	1.235	0.10056	10

n = número de datos

Cada valor corresponde a la media ± E.S.

La representación gráfica de estos resultados se muestra en la fig. 20

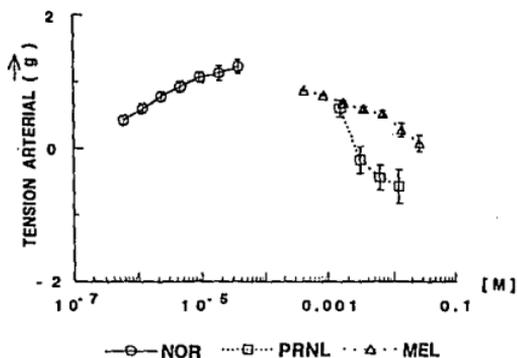


Fig. 20. Representación gráfica de los efectos provocados por la de NOR, PRNL Y MEL sobre la tensión arterial. El efecto de la NOR es mayor que la de las otras sustancias. Esta catecolamina provocó un aumento de la tensión arterial, y las otras dos provocan una disminución de la tensión arterial.

En la figura 20 se muestra la relación entre la dosis aplicada con la respuesta obtenida. Esta respuesta constituye una curva dosis respuesta típica. Por medio de esta gráfica se calculó la concentración efectiva 50 (CE<sub>50</sub>). La cual para NOR y en estas condiciones fue de  $3.34 \times 10^{-7}$  M.

Para analizar el efecto del PRNL sobre el tono arterial utilizamos 37 tiras arteriales. Debido a la carencia de una actividad contráctil espontánea la adición del fármaco se realizó después de incubar al tejido con una concentración de NOR de  $11.76 \times 10^{-6}$  M en el baño. La adición del PRNL se realizó hasta que la contracción inducida por la NOR se estabilizaba en un punto determinado, lo cual ocurría después de 10 a 15 minutos. La adición del PRNL se asoció invariablemente con una disminución de la tensión arterial, la cual se observó en promedio de 30 a 60 segundos después de su adición. Al igual que con la NOR, el efecto del PRNL siempre dependió de las concentraciones del fármaco utilizado como muestra en la fig. 19.

Los efectos del PRNL se cuantificaron determinando el desplazamiento a partir del tono basal del galvanómetro asociado a la adición de la NOR, al punto de menor contracción provocado por la adición del PRNL. En esta situación el valor correspondiente al efecto inducido por el PRNL resultaba de restar el efecto provocado por la NOR y, la disminución de la tensión provocado en el tejido arterial por el PRNL. Por ejemplo, si el efecto de la NOR fue de 1.29 g/cm y al agregarle el PRNL la tensión se reducía a 0.68 g/cm, entonces el efecto del PRNL sobre la tensión del músculo arterial fue 0.605 g/cm.

Con estos resultados se elaboró la tabla 7.

TABLA 7. Resultados obtenidos experimentalmente después de la adición de 4 concentraciones del PRNL

CONCENTRACION	gramos fuerza	± E.S.	n
$1.5423 \times 10^{-3}$	0.605	0.1277	10
$3.0847 \times 10^{-3}$	-0.17	0.20236	9
$6.1695 \times 10^{-3}$	-0.4382	0.1865	9
$12.339 \times 10^{-3}$	-0.5741	0.2581	9

n= número de datos

Cada valor corresponde al promedio ± E.S.

Estos resultados se representan en forma gráfica en la fig. 20. Esta gráfica muestra una interacción farmacológica típica la cual sigue una perfecta relación con las concentraciones utilizadas. A través de esta gráfica se calculó la  $CE_{50}$ , que para este fármaco y en estas condiciones fue igual a  $6.089 \times 10^{-3}$  M.

Lo relacionado respecto a los experimentos que analizamos en el papel de la MEL, utilizamos 95 tiras arteriales las cuales se registraron con el mismo procedimiento que las preparaciones del grupo del PRNL. Así, estas tiras fueron pretratadas con una concentración de NOR ( $11.76 \times 10^{-6}$  M) para provocar una contracción, con un tiempo de estabilización de la respuesta a esta concentración de

10 a 15 minutos; al final de la cual se adicionó la MEL. La adición de este fármaco provocó invariablemente una disminución de la tensión arterial. Este efecto se observó aproximadamente entre 1 y 2 minutos después de la adición del indol. También en este caso los efectos observados fueron dependientes de las concentraciones utilizadas (fig. 19).

El análisis de los resultados, también implicó la cuantificación de los efectos de NOR, MEL y su relación matemática, con la finalidad de calcular, no solo la relajación del tejido si no su tono final posterior a la adición de MEL.

Los resultados así obtenidos se resumen en la tabla 8.

**TABLA 8.** Se muestran los valores de la tensión arterial obtenidos después de la adición de MEL  $\pm$ E.S al baño de tejido.

CONCENTRACION	gramos fuerza	$\pm$ E.S.	n
$4.3053 \times 10^{-4}$	0.8833	0.00615	15
$8.61 \times 10^{-4}$	0.7958	0.0139	15
$17.22 \times 10^{-4}$	0.6916	0.0228	14
$34.44 \times 10^{-4}$	0.5949	0.0364	15
$68.88 \times 10^{-4}$	0.5275	0.0526	12
$137.77 \times 10^{-4}$	0.28	0.10186	12
$275.54 \times 10^{-4}$	0.079	0.11598	12

n = número de datos

Además, con estos resultados se elaboró la gráfica de la fig. 20, la cual muestra el efecto depresor de la tensión arterial provocada por la MEL en una forma dependiente de la concentración.

El cálculo de la  $CE_{50}$  resultó en un valor igual a  $135.81 \times 10^{-4}$  M. Tal situación también se observó en los experimentos realizados "in vivo", en donde las dosis efectivas 50 ( $DE_{50}$ ) están cercanas a las dosis más altas utilizadas. Cuando comparamos las  $CE_{50}$  de los tres fármacos utilizados observamos que la potencia farmacológica es de la siguiente forma:

NOR >>> PRNL >> MEL.

Como se muestra en el tabla 9.

**TABLA 9** Valores correspondientes de las  $CE_{50}$  de las tres sustancias utilizadas.

FARMACO	NORADRENALINA	PROPRANOLOL	MELATONINA
$CE_{50}$ [M]	$194.18 \times 10^{-7}$	$60.80 \times 10^{-4}$	$135.8 \times 10^{-4}$

Debido a lo opuesto de sus acciones y en intento de describir el mecanismo de acción de la MEL. Realizamos experimentos en los cuales buscamos una interacción farmacológica entre las tres sustancias.

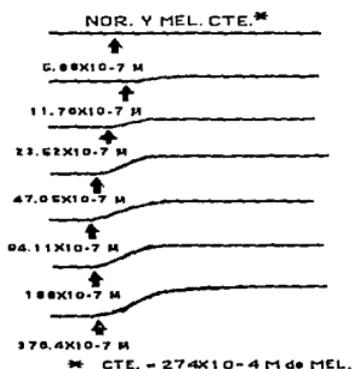


Fig. 21. Registro de la tensión arterial en la interacción de NOR +MEL, aplicando al baño cada una de las dosis de NOR más a una concentración constante de  $274 \times 10^{-4}$  de MEL. En este se observó una disminución del efecto de la NOR (como se puede observar en fig. 15 se respuesta era mayor).

Inicialmente realizamos una interacción entre la NOR y la MEL. En estas preparaciones se adicionó una dosis constante de MEL ( $274 \times 10^{-4} M$ ) 5 minutos antes de adicionar alguna de las concentraciones de NOR. En tal situación la NOR mostró un efecto significativamente menor que cuando se aplicó solo. El efecto de la MEL fue mucho más evidente cuando se aplicaron concentraciones bajas de NOR; ya que los efectos inducidos provocados por concentraciones más altas de NOR prácticamente no fueron modificadas, esta situación se muestra en la fig. 21 y la tabla 10..

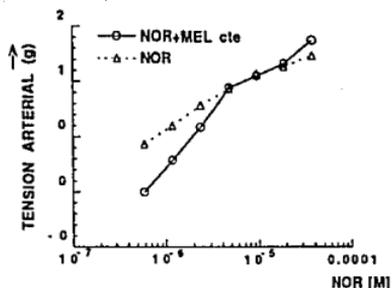


Fig 22. Representación gráfica de la interacción entre la NOR y la MEL sobre la tensión arterial. En esta se observa que el efecto de la NOR fue menor al estar presente la MEL.

### 1.- Interacción entre NOR y MEL.

En la fig. 22, muestra las curvas dosis-respuesta que relacionan el efecto de la interacción ésta se observa el efecto depresor que la MEL ejerce sobre la acción de la NOR. Esta curva muestra que las  $CE_{50}$  para NOR fue de  $194.1 \times 10^{-7} M$  mientras que en presencia de MEL tal  $CE_{50}$  se desplaza hacia un valor de  $156 \times 10^{-7} M$ . Los resultados se obtuvieron midiendo el desplazamiento a partir del tono basal de la calibración. Obteniendo la tabla 10.

TABLA 10. Valores del desplazamiento a la aplicación de NOR y de la interacción de NOR+MEL.

D O S I S [ M ]	NOR+MEL( $275.54 \times 10^{-4}$ ) Tensión arterial	NOR Tensión arterial
$5.88 \times 10^{-7}$	0.000	0.4263
$11.76 \times 10^{-7}$	0.2888	0.6000
$23.52 \times 10^{-7}$	0.5833	0.7842
$47.05 \times 10^{-7}$	0.9437	0.9343
$94.11 \times 10^{-7}$	1.05	1.0687
$188.23 \times 10^{-7}$	1.1625	1.135
$376.47 \times 10^{-7}$	1.375	1.235

En la tabla 10, se muestra que con las 3 primeras concentraciones de NOR, en la interacción de NOR+MEL bajo su respuesta desde un 47 a un 100 %, en comparación a los resultados obtenidos a la aplicación de NOR.

En la primera concentración de  $5.88 \times 10^{-7}$  M de NOR +  $275 \times 10^{-4}$  M de MEL bajo un 100% ya que no se obtuvo ninguna respuesta al adicionar la NOR sobre el tejido aislado, probablemente a que a esa concentración de MEL se obtuvo el mayor efecto relajante en el experimento.

En la segunda concentración de  $11.76 \times 10^{-7}$  M de NOR +  $275 \times 10^{-4}$  M de MEL bajo un 47 % y con la tercera concentración  $23.52 \times 10^{-7}$  M de NOR +  $275 \times 10^{-4}$  M de MEL bajo un 75 %. En la 4o, 5o y 6o concentración de NOR no se observó modificación y en la última concentración de NOR  $376.47 \times 10^{-7}$  M aumento un 11.1 %. Con esto se muestra que la MEL disminuyó su efecto en las concentraciones bajas de NOR, mientras que al aumentar las concentraciones no modificó su efecto de la NOR la MEL.

Al comparar estadísticamente los valores de tensión obtenidos con ambos tratamientos, utilizando una prueba t de student obteniendo un valor de  $t = 0.5093$ , el cual le corresponde con una  $p > 0.03757$ .

## 2.- Interacción entre el PRNL y la MEL.

En esta interacción después de un pretratamiento con MEL ( $274 \times 10^{-4} M$ ) se adicionó PRNL en diferentes concentraciones. Tal maniobra experimental se asoció con un importante efecto relajante. Este efecto fue mayor cuando los dos fármacos se aplicaron conjuntamente. Estos efectos fueron máximos 30 - 45 segundos después

de la adición de estos fármacos, lo cual se observa en la fig. 23.

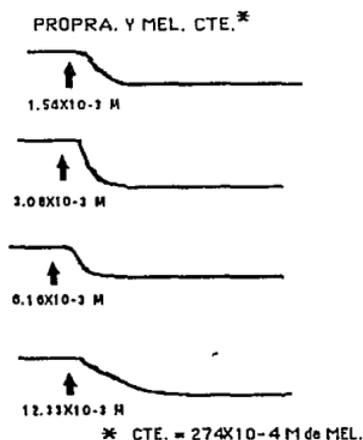


Fig. 23. Respuesta de las arterias a la adición de PRNL y MEL. En este registro se observa una adición del efecto relajante de las dos sustancias.

La cuantificación de estos resultados dió origen a los valores que se muestran en la tabla 11, la cual muestra que el efecto relajante combinado de los dos fármacos; es máximo con las concentraciones más pequeñas de PRNL, mientras que el efecto es mínimo a la concentración mayor. En la fig. 24 de la interacción de PRNL + MEL se obtiene una  $CE_{50} = 51.64 \times 10^{-4} M$ . Mientras que este mismo valor para la aplicación de solo el PRNL fue de  $60.89 \times 10^{-4} M$ .

**TABLA 11.** Valores de desplazamiento de PRNL y de la interacción de PRNL+MEL.

D O S I S [ M ]	PRNL+MEL 275X10 <sup>-4</sup> Tensión arterial	PRNL Tensión arterial
1.54X10 <sup>-4</sup>	-0.4223	0.605
3.09X10 <sup>-4</sup>	-0.5608	-0.17
6.16X10 <sup>-4</sup>	-0.5903	-0.4382
12.33X10 <sup>-4</sup>	-0.5242	-0.574117

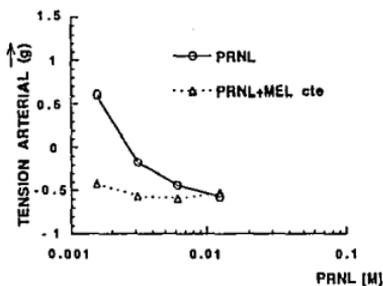


Fig 24. Gráfica en la cual se comparan los efectos de adicionar la interacción de PRNL + MEL y la aplicación de PRNL.

En el análisis estadístico de esta interacción se obtuvo un valor de  $t$  de 1.4286, lo cual significa una  $p > 0.03778$ . La tabla 12 resume las  $CE_{50}$  de las interacciones, en éste se observan cambios provocados por la MEL sobre los efectos inducidos por la NOR y el PRNL.

**TABLA 12.** Valores de  $CE_{50}$  con la aplicación de Noradrenalina, Propranolol y de las interacciones entre NOR-MEL, PRNL+MEL.

FARMACO	NOR .	NOR+MEL	PRNL .	PRNL+MEL
$CE_{50}$ [ M ]	194.1X10 <sup>-7</sup>	1.55X10 <sup>-5</sup>	60.89X10 <sup>-4</sup>	51.64X10 <sup>-4</sup>

## DISCUSION

En los vasos sanguíneos de todas las partes del cuerpo existen células musculares las cuales poseen receptores  $\alpha$  y  $\beta$  adrenérgicos. Las fibras que inervan estas células son noradrenérgicas y poseen una función básicamente vasoconstrictora. Sin embargo, además de esta inervación vasoconstrictora, algunos vasos que contribuyen a generar la resistencia periférica están inervados por fibras vasodilatadoras (28). Los nervios que terminan en los músculos lisos no forman sinapsis típicas como las del SNC, sino que el neurotransmisor llega a los receptores por difusión. De igual forma, otras sustancias que viajan a través de la sangre pueden alcanzar estos receptores y provocan un aumento o disminución de la presión arterial según sea el caso (28).

Los resultados de este trabajo mostraron que la aplicación sistémica de diferentes dosis de noradrenalina en el animal íntegro, provocaba un importante incremento de la presión arterial en todos los casos. A dosis pequeñas y medias, este fármaco provocó no solo aumento de la presión arterial sistólica sino también de la diástolica. Este efecto sobre la presión arterial se explica por la contracción sostenida de las fibras musculares de los vasos y por el aumento de la resistencia periférica secundaria a ésta. También se observó un ligero incremento de la frecuencia cardíaca.

Este efecto fue pobre, quizá porque los presorreceptores del seno carotídeo y del cayado aórtico se estimulan por el aumento de la presión arterial y dan origen a una descarga parasimpática a través del vago (28).

Este efecto presor, el cual fue de aparición inmediata, es mediado por la activación de los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos (30), que se encuentran modulando en forma sostenida e invariable el tono vascular, constituyendo el mecanismo de regulación de la presión arterial (60), resultado de la acción de los centros vasoconstrictores del bulbo raquídeo (28). Es pertinente aclarar que existe la posibilidad de que un fármaco incremente la presión arterial, por un efecto en varios niveles de integración funcional. Así, éste podría tener un efecto central a nivel del bulbo raquídeo; o en cualquier punto de la transmisión de la cadena simpática; o finalmente en el efector mismo; es decir en el músculo liso arterial (60). Este mismo mecanismo podría implicarse para un fármaco cuya acción sea la de reducir la presión arterial.

Desde un punto de vista fisiológico la estimulación simpática origina un aumento del tono del músculo liso de las paredes vasculares, lo que provoca una elevación de la presión para cada volumen arterial; en tanto que la inhibición simpática disminuye esta presión para cada volumen. Este control vascular del sistema simpático, es muy útil para disminuir o aumentar las dimensiones de un determinado segmento de la circulación, transfiriendo sangre de una parte a otra del mismo. Como consecuencia, el tono vascular del sistema circulatorio muchas veces origina desplazamientos de grandes volúmenes de sangre, desde la gran circulación hacia el corazón (retorno venoso), el cual es un mecanismo importante que modula la función de bomba del corazón. En el tejido arterial el proceso contráctil es activado por la noradrenalina, en receptores  $\alpha$ ,  $Ca^{++}$  y ATP. Las células arteriales dependen críticamente del ingreso de

calcio, el cual induce y regula la contracción muscular (31). La descripción de este mecanismo permite analizar observaciones modificando algunos de estos parámetros para determinar el mecanismo de acción de las sustancias que se adicionen al sistema "in vitro". En nuestro estudio solo observamos el efecto de estas sustancias y sus interacciones sobre la función desarrollada por estas células musculares (31).

El efecto de la noradrenalina ha sido documentado con amplitud (28,31,60), su acción preponderante es un efecto a nivel del músculo liso, actuando directamente sobre los receptores  $\alpha$ . Aunque esta catecolamina también posee algunos efectos centrales (40), se considera que su acción periférica es la de mayor importancia farmacológica. En nuestros registros "in vitro" de los anillos arteriales la administración de todas las concentraciones de noradrenalina utilizadas provocó un incremento de la tensión desarrollada. Este efecto fue de inmediata aparición y mostró una  $CE_{50}$  de  $194.18 \times 10^{-7} M$ ; la cual es muy cercana a la descrita por otros autores. Tal similitud de los efectos sugiere que nuestra preparación está en buenas condiciones para analizar los efectos desconocidos de otro fármaco.

Probablemente el mecanismo de acción que utilizó la NOR para provocar este efecto, mediado por receptores de la membrana del músculo liso es la apertura de canales de sodio y calcio con lo cual se despolariza la membrana celular, situación similar a la que ocurre durante la estimulación nerviosa. En ocasiones, el resultado es un potencial de acción o bien un aumento de los potenciales rítmicos que ya estaban instaurados (31), la entrada de iones calcio durante la despolarización promueve la

contracción. Existe otro tipo de receptores en la membrana, los cuales al ser activados por un fármaco o neurotransmisor específico inhiben la contracción, ello sucede gracias a la apertura de canales. Otros iones como el potasio, promueven su salida de la célula, o bien de cloruro con su consiguiente entrada a la misma. En ambos casos se produce una hiperpolarización, que se traduce en una reducción de la excitabilidad celular (31).

La aplicación sistémica de PRNL en el mismo modelo de presión arterial en animal íntegro, provocó una caída en los niveles de presión arterial. El efecto del PRNL es inmediato, de 15 a 25 segundos y con una duración de aproximadamente 2 a 4 minutos. Esta dinámica de la respuesta puede deberse a la vía de aplicación (endovenosa) y que este fármaco es rápidamente metabolizado por el hígado con una biodisponibilidad del 25% por lo que a pequeñas dosis, su efecto puede ser de corta duración debido a que los reflejos simpáticos activan los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos vasculares en un intento de regresar la presión arterial nuevamente a su valor inicial. Por ejemplo en las dosis de 25 y 50  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ , en las cuales se observó claramente el efecto hipotensor, el cual mostró una duración proporcional a la vida media plasmática del PRNL (3 a 5 horas). Por sus acciones hipotensoras el PRNL es utilizado en la terapéutica médica como un medicamento para tratar la hipertensión arterial; aunque este efecto hipotensor es debido a sus acciones sobre la actividad cardíaca. El PRNL actúa a nivel de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos como un bloqueador, mostrando afinidad tanto para los receptores  $\beta_1$  como para los  $\beta_2$  es decir no es un fármaco

selectivo. Aunque los receptores  $\beta$  causan vasodilatación en algunas estructuras, su acción a nivel de corazón implican un incremento tanto de la actividad contráctil, como de la velocidad y la excitabilidad cardíaca, (31,40); por lo tanto, si el PRNL es un potente bloqueador  $\beta$ -adrenérgico éste suprimirá, los efectos simpáticos cardíacos (30); lo que traerá como consecuencia una disminución importante de la actividad cardíaca y por ende de la presión arterial. Si recordamos que la presión arterial depende en forma directa del gasto cardíaco y la resistencia periférica, entonces una reducción de la actividad cardíaca, como la que provoca el PRNL, promueve una caída en la presión arterial.

En nuestros registros, los efectos provocados por el PRNL fueron decrementos importantes de la presión arterial. Este efecto fue más significativo sobre la presión sistólica que sobre la presión diastólica, lo que probablemente se explique por la distribución topográfica de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos en el sistema cardiovascular. La mayoría de estos receptores se localiza básicamente a nivel del corazón y no en los vasos arteriales. El efecto hipotensor observado en el presente estudio fue de corta duración y se acompañó de una ligera disminución de la frecuencia cardíaca.

Los resultados obtenidos en tejido aislado son difíciles de comparar con aquellos observados en animales íntegros. Es necesario tomar en cuenta que en los animales íntegros, existen sistemas reflejos que los cuales mantienen los niveles de presión arterial dentro de límites muy estrechos (60). En el animal íntegro existen varios circuitos nerviosos de regulación de la presión arterial; como un mecanismo de

regulación rápida, además de existir un sistema de regulación a largo plazo como el riñón (27, 28).

Así, la administración de un fármaco hipotensor provoca un incremento en la descarga simpática  $\alpha$  y con ello se observa un enmascaramiento del efecto farmacológico neto (30). Probablemente esto se observó después de administrar el PRNL por vía endovenosa; ya que su efecto hipotensor, muestra una duración muy corta (1 a 3 min) dependiendo de la dosis administrada. Por lo tanto, cuando se administra PRNL la respuesta es un aumento del tono vagal, el cual lentifica la frecuencia cardíaca como se observó en el presente estudio; aunque el gasto cardíaco mostró una ligera disminución ya que el incremento en el retorno venoso provocado por la misma descarga vagal, puede aumentar el volumen diastólico final, lo que desencadena una acción inotrópica positiva. En el mismo sistema el PRNL provocó una reducción significativa de la tensión del músculo arterial aislado, el efecto se presentó en poco tiempo y mostró una  $CE_{50}=60.89 \times 10^{-4}$  M; este último efecto en la arteria aorta aislada, la cual carece de receptores  $\beta$ -adrenérgicos (60), puede explicarse por una acción de anestésico local potente, que poseen todos los agentes antagonistas  $\beta$ -adrenérgicos (40). Esta acción es el resultado de un bloqueo típico de anestésico local de los canales de sodio y se puede demostrar en las membranas de las neuronas y tejido muscular. De todos los antagonistas  $\beta$ -adrenérgicos, el PRNL es más eficaz como anestésico local, de hecho se considera que el PRNL es tan potente como la procaína en el bloqueo de los potenciales de acción de los nervios (40).

En los efectos de NOR y PRNL se observa la respuesta típica de sustancias  $\alpha$ -adrenérgicas y  $\beta$ -bloqueadoras sobre un tejido aislado, con los cuales podemos comparar la respuesta que se provocó con la administración de MEL.

La interacción que existe entre la GP, y la presión arterial, se sugirió a través de varios estudios. Por ejemplo, se describió la presencia de 2 tipos celulares en porciones del tallo cerebral, los cuales muestran peculiaridades características. Se trata de neuronas adrenérgicas que utilizan noradrenalina como neurotransmisor y que están rodeadas por neuronas que contienen melatonina y sus precursores; aunque se desconoce si estos indoles son producto de secreción de estas neuronas o provienen del líquido extracelular. Se sugiere que estas células participan en el control de la presión arterial (52). Por otro lado, la pinealectomía es una maniobra experimental, la cual induce un incremento de la presión arterial, mismo que es revertido por la aplicación sistémica de MEL (73).

Otra observación indirecta que asocia a la MEL con la regulación de la presión arterial son los resultados de Oxenkrug y et. al., (49), estos autores observaron que la inhibición selectiva de la enzima monoamino oxidasa A ( $MAO_A$ ) pero no de  $MAO_B$ , estimula la síntesis de MEL de la pineal y disminuye la presión arterial en animales intactos; mientras que la pinealectomía atenúa el efecto hipotensor provocado por la inhibición de  $MAO_A$ .

Otros estudios también mostraron que la administración diaria de MEL en ratas produce una reducción significativa en la presión sanguínea con un ligero pero

significativo decremento en la frecuencia cardiaca. Este efecto cardiovascular provocado por la melatonina se desarrolla gradualmente y se acompaña de una disminución en la concentración plasmática de renina (28).

Bosman H. and et. al., (14) midieron parámetros cardiovasculares en el babuino, tales como el volumen del ventrículo izquierdo al final de la diástole y sístole, el volumen expulsado, el rendimiento cardiaco y la fracción del volumen sistólico expulsado del ventrículo izquierdo, después de la aplicación intravenosa de MEL y dimetil-sulfóxido. Estos autores mostraron que la MEL incrementó el rendimiento cardiaco y la fracción de expulsión del ventrículo izquierdo; este incremento en el rendimiento cardiaco implica una acción inotrópica positiva en el corazón provocado por la MEL.

En otros estudios, el pretratamiento con MEL tiende a disminuir el efecto vasopresor de la NOR. Aunque este efecto solo se observa en ratas pinealectomizadas (32).

En el presente estudio observamos que la administración de MEL en el animal íntegro, provoca una disminución tanto de la presión sistólica como diastólica, con un mayor efecto sobre esta última. Esto sugiere un efecto neto sobre la musculatura lisa vascular; mientras que la disminución en la presión sistólica pudo ser consecuencia de la disminución de la presión diastólica, ya que al disminuir ésta (por reducción de la resistencia periférica) se presenta una reducción del retorno venoso y con ello una disminución de la actividad cardiaca, principal contribuyente de esta presión sistólica (60). Este estudio se complementa con el experimento realizado por A. Zanoboni (73) en ratas pinealectomizadas, las cuales presentaron un aumento de la presión sanguínea.

Cuando se realizó la aplicación conjunta de NOR y la MEL se observó una disminución del efecto hipertensor de la NOR cuyo principal sitio de acción es el músculo liso vascular además, en la interacción de PRNL y MEL se observó también una disminución del efecto hipotensor del PRNL. Este último efecto que aparentemente pareciera contradictorio puede ser ocasionado por activar a los sistemas reflejos vasculares ante la aplicación de 2 fármacos hipotensores, lo que desencadenaría una descarga simpática generalizada.

El efecto de este indol sobre el tejido arterial, apareció en poco tiempo y mostró una disminución de la tensión muscular lisa en concentraciones desde  $10^{-4}M$ . Obteniendo una  $CE_{50}=135.8 \times 10^{-4}M$ .

Este efecto del indol lo mostraron otros investigadores como Rahamimoff (54), Quastel (53), Bruderman (15), Robert H. Davis (22); en otros tejidos que contienen otros tipos de músculo liso, como el útero, duodeno, conducto deferente de rata y traquea de gato. En todos ellos la MEL mostró el mismo efecto consistente en una reducción de la tensión muscular en una forma concentración-respuesta. El mecanismo de acción por el cual se lleva al cabo este efecto es aún desconocido. Weekley L. B. y Satake (70) mostraron un efecto similar de la MEL en aorta de rata, y en aorta de conejo indicándoles que la MEL es capaz de relajar el músculo liso vascular y que a dosis bajas la MEL deteriora la respuesta adrenérgica en músculo liso vascular. En todos los experimentos se mostró una respuesta dependiente de las concentraciones utilizadas. Sin embargo, no mostraron alguna evidencia de interacción con los sistemas adrenérgicos correspondientes

En otros estudios realizados por M. Viswanathan (67), se encontró sitios de unión a un análogo de la melatonina la 2-<sup>125</sup>Iodo-melatonina los cuales fueron localizados y caracterizados en las arterias involucradas en la termorregulación. La expresión de estos

sitios de unión fueron restringidos a la arteria caudal y arterias que forman parte del polígono de Willis en el cerebro.

Analizando en general el efecto presentado por la MEL tanto "in vitro" como "in situ" deducimos que su acción es periférica puesto que se produce el mismo efecto en tejido aislado en donde no interviene el sistema nervioso central, lo que nos lleva a pensar que su acción reguladora ocurre a través de una acción vasodilatadora directa.

Cuando se analizó la interacción entre NOR y MEL en nuestros experimentos "in vitro" se mostró un efecto de atenuación de la respuesta a la NOR, lo cual indica que la MEL ejerce su efecto relajante sobre el músculo liso vascular aún en presencia de NOR. La aplicación de NOR en presencia de MEL, mostró una  $CE_{50}=155 \times 10^{-7}$  M siendo esta menor a la  $CE_{50}$  de la NOR. Esto indica una acción antagonista de la MEL sobre NOR; aunque de acuerdo a la dinámica de la respuesta (efecto mayor a dosis pequeñas y casi nulo a dosis altas de NOR) este antagonismo puede no ser de índole farmacológico.

En la interacción de PRNL y MEL se mostró que la suma de los dos efectos relajantes en el músculo liso vascular, la dinámica de esta respuesta sugieren también que no existe interacción farmacológica entre las dos sustancias. La MEL no presenta un efecto bloqueador  $\beta$ -adrenérgico, ya que en presencia de dosis elevadas de NOR no disminuye la hipertensión producida por este fármaco.

## CONCLUSIONES

- 1.- La MEL ejerce un efecto inhibitor de la presión arterial y del tono de la musculatura lisa vascular de la rata.
- 2.- Los efectos antagonistas de la MEL sobre las acciones ejercidas por la NOR, son de índole fisiológico y no farmacológico.
- 3.- La MEL en particular, y la GP en general, participan en la regulación a largo plazo de la presión arterial de la rata.

## BIBLIOGRAFIA

1. Arendt, J. Role of the pineal gland and melatonin in seasonal reproductive function in mammals. *Oxf.Rev.Reprod.Biol.* 8:266-320, 1986.
2. Axelrod, J. The pineal gland: a neurochemical transducer. *Science* 184:1341-1348, 1974.
3. Axelrod, J. and Wurtman, R.J. The formation, metabolism and some actions of melatonin, a pineal gland substance. *Res.Publ.Assoc.Res.Nerv.Ment.Dis.* 43:200-211, 1966.
4. Bagnara, J.T. and Hadley, M.E. The control of bright colored pigment cells of fishes and amphibians. *Am.Zool.* 9:465-478, 1969.
5. Bailey, C.J., Atkins, T.W. and Matty, A.J. Melatonin inhibition of insulin secretion in the rat and mouse. *Horm.Res.* 5:21-28, 1974.
6. Barchas, J. Studies on the relation of melatonin to sleep. *Proc.West.Pharmacol.Soc.* 11:22, 1968.
7. Barchas, J., DaCosta, F. and Spector, S. Acute pharmacology of melatonin. *Nature* 214:919-920, 1967.
8. Bindoni, M. and Rizzo, R. Hippocampal evoked potentials and convulsive activity after electrolytic lesions of the pineal body, in chronic experiments on rabbits. *Arch.Sci.Div.(Bologna).* 49:223-233, 1965.
9. Booth, F.M. The human pineal gland: a review of the "third eye" and the effect of light. *Aust.N.Z.J.Ophthalmol.* 15:329-336, 1987.
10. Bosman, H., Domehl, I.C., Hugo, N., Redelinghuys, I.F. and Theron, J.J. The effect of intravenous administration of melatonin on cardiovascular parameters of the baboon (*Papio ursinus*). *J.Pineal Res.* 11:179-181, 1991.
11. Bruderman, I. and Rahamimoff, R. Alterations in tracheobronchial smooth muscle activity following melatonin. *J.Appl.Physiol.* 23:938-943, 1967.

12. Bubenik, G.A. The effect of serotonin, N-acetylserotonin, and melatonin on spontaneous contractions of isolated rat intestine. *J.Pineal Res.* 3:41-54, 1986.
13. Cardinali, D.P. Melatonin. I A mammalian pineal hormone. *Endocr.Rev.* 2:327-346, 1981.
14. Carneiro, R.C., Cipolla Neto, J. and Markus, R.P. Diurnal variation of the rat vas deferens contraction induced by stimulation of presynaptic nicotinic receptors and pineal function. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 259:614-619, 1991.
15. Collin, J.P., Voisin, P., Falcon, J., Faure, J.P., Brisson, P. and Defaye, J.R. Pineal transducers in the course of evolution: molecular organization, rhythmic metabolic activity and role. *Arch.Histol.Cytol.* 52 Suppl:441-449, 1989.
16. Cramer, H., Rudolph, J., Consbruch, U. and Kendel, K. On the effects of melatonin on sleep and behavior in man. *Adv.Biochem.Psychopharmacol.* 11:187-191, 1974.
17. Datta, P.C. and King, M.G. Effects of alpha-MSH and melatonin on passive avoidance and on PA- induced defecation and plasma 11-OHCS in hypophysectomized rats. *Peptides* 1:147-153, 1980.
18. Datta, P.C. and King, M.G. Melatonin: effects on brain and behavior. *Neurosci.Biobehav.Rev.* 4:451-458, 1980.
19. Davis, R.H., McGowan, L. and Uroskie, T.W. Inhibition of pitocin-induced contractility by melatonin. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 138:1002-1004, 1971.
20. De Azevedo, B.A. and Fontana Junior, P. Audiogenic seizures and the pineal gland. *Biol.Psychiatry* 23:734-740, 1988.
21. Dubocovich, M.L. Pharmacology and function of melatonin receptors. *FASEB.J.* 2:2765-2773, 1988.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

22. Dubocovich, M.L. and Hensler, J.G. Modulation of [3H]-dopamine released by different frequencies of stimulation from rabbit retina. *Br.J.Pharmacol.* 88:51-61, 1986.
23. Fitzgerald, J.A. and Stellflug, J.N. Effects of melatonin on seasonal changes in reproduction of rams. *J.Anim.Sci.* 69:264-275, 1991.
24. Florant, G., Green, R., Abel, T., Hartzell, S., Tamarkin, L. and Brainard, G. Melatonin profile in marmots: the influence of catecholamines, hibernation, and light. *J.Pineal.Res.* 7:105-113, 1989.
25. Ganon, W.B. *Fisiología, México, D.F.:El Manual Moderno.*, 1988. Ed. 11 pp. 324-356.
26. Golombek, D.A., Martini, M. and Cardinali, D.P. Melatonin as an anxiolytic in rats: time dependence and interaction with the central GABAergic system. *Eur.J.Pharmacol.* 237:231-236, 1993.
27. Goodman, A.G. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, Mexico,D.F.:Panamericana*, 1991. Ed. 8 pp. 733-851.
28. Guyton, A.C. *Tratado de Fisiología Médica, España:Interamericana*, 1991. Ed. 8 pp. 101-280.
29. Harlow, H.J. Influence of the pineal gland and melatonin on blood flow and evaporative water loss during heat stress in rats. *J.Pineal Res.* 4:147-159, 1987.
30. Hastings, M.H., Vance, G. and Maywood, E. Some reflections on the phylogeny and function of the pineal. *Experientia* 45:903-909, 1989.
31. Hoffman, R.A. Seasonal reproductive cycles in golden hamsters: speculations on data and dogma. *Prog.Clin.Biol.Res.* 92:153-166, 1982.
32. Holmes, S.W. and Sugden, D. Proceedings: The effect of melatonin on pinealectomy-induced hypertension in the rat. *Br.J.Pharmacol.* 56:360P-361P, 1976.

33. Huether, G., Poeggeler, B., Reimer, A. and George, A. Effect of tryptophan administration on circulating melatonin levels in chicks and rats: evidence for stimulation of melatonin synthesis and release in the gastrointestinal tract. *Life.Sci.* 51:945-953, 1992.
34. Humphrey, P.P., Hartig, P. and Hoyer, D. A proposed new nomenclature for 5-HT receptors. *Trends.Pharmacol.Sci.* 14:233-236, 1993.
35. Kahn, R.S., Davidson, M., Siever, L., Gabriel, S., Apter, S. and Davis, K.L. Serotonin function and treatment response to clozapine in schizophrenic patients. *Am.J.Psychiatry* 150:1337-1342, 1993.
36. Kappers, J.A. The mammalian pineal gland, a survey. *Acta Neurochir.(Wien).* 34:109-149, 1976.
37. Kappers, J.A. Localization of indoleamine and protein synthesis in the mammalian pineal gland. *J.Neural.Transm.Suppl.* 13-24, 1978.
38. Kastin, A.J., Miller, M.C., Ferrell, L. and Schally, A.V. General activity in intact and hypophysectomized rats after administration of melanocyte-stimulating hormone (MSH), melatonin, and PRO-LEU-GLY- NH<sub>2</sub>. *Physiol.Behav.* 10:399-401, 1973.
39. Katzung, G.B. *Farmacología Básica y Clínica*, México, D.F.:El Manual Moderno., 1986. Ed. 2 pp. 61-67.
40. Kaumann, A.J., Parsons, A.A. and Brown, A.M. Human arterial constrictor serotonin receptors. *Cardiovasc.Res* 27:2094-2103, 1993.
41. Keele, C.A. and Neil, E. *Fisiología Aplicada*, Barcelona:Editorial Marin., 1965. Ed. 11 pp. 452-471.
42. Kinson, G.A., MacDonald, N.E. and Liu, C.C. The effects of melatonin and serotonin on blood flow fraction and testosterone metabolism in selected organs of the male rat. *Can.J.Physiol.Pharmacol.* 51:313-318, 1973.

43. Kinson, G.A. and Robinson, S. Gonadal function of immature male rats subjected to light restriction, melatonin administration and removal of the pineal gland. *J.Endocrinol.* 47:391-392, 1970.
44. Kitay, J.I. and Altschule, M.D. Effects of pineal extract administration on ovary weight in rats. *Endocrinol.* 55:782-784, 1954.
45. Kovacs, L., Telegdy, G. and Lissak, K. Effect of pineal principles on avoidance and exploratory activity in the rat. *Prog.Brain Res.* 42:327, 1975.
46. Legris, G.J., Will, P.C. and Hopfer, U. Inhibition of amiloride-sensitive sodium conductance by indoleamines. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 79:2046-2050, 1982.
47. Lerner, A.B., Case, J.D., Takahasi, Y., Lee, T.H. and Mori, W. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightnes melanocytes. *J.Am.Chem.Soc.* 80:2587-2589, 1958.
48. Mehdi, A.Z. and Sandor, T. The effect of melatonin on the biosynthesis of corticosteroids in beef adrenal preparations in vitro. *J.Steroid.Biochem.* 8:821-823, 1977.
49. Narang, G.D., Singh, D.V. and Tumer, C.W. Effect of melatonin on thyroid hormone secretion rate and feed consumption of female rats. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 125:184-188, 1967.
50. Naranjo Rodriguez, E.B., Prieto Gomez, B. and Reyes Vazquez, C. Melatonin modifies the spontaneous multiunit activity recorded in several brain nuclei of freely behaving rats. *Brain Res.Bull.* 27:595-600, 1991.
51. Oxenkrug, G.F., McCauley, R.B., Fontana, D.J., McIntyre, I.M. and Commssaris, R.L. Possible melatonin involvement in the hypotensive effect of MAO inhibitors. *J.Neural.Transm.* 66:271-280, 1986.
52. Paccotti, P., Terzolo, M., Piovesan, A., Torta, M., Vignani, A. and Angeli, A. Effects of exogenous melatonin on human pituitary and adrenal secretions. Hormonal responses to specific stimuli after acute administration of different doses at two opposite circadian stages in men. *Chronobiologia.* 15:279-287, 1988.

53. Piva, F., Schiaffini, O., Motta, M. and Martini, L. The role of pineal principles in the control of ACTH secretion. pp. 231-6.  
*In: Lissak, K., ed. Hormones and brain function. New York, Plenum Press, 1971.:1973.*
54. Poskov, B.I., Kvetnoi, I.M., Kulchitski, V.A. and Nurmatov, A.A. Chemosensitive structures of the medulla oblongata participate in blood pressure regulation and belong to APUD-system. *Biol.Med.* 94:8-10, 1982.
55. Quastel, M.R. and Rahamimoff, R. Effect of melatonin on spontaneous contractions and response to 5-Hydroxytryptamine of rat isolated duodenum. *Brit.J.Pharmacol.* 24:455-461, 1965.
56. Rahamimoff, R., Bruderman, I. and Golshani, G. Effect of melatonin on 5-hydroxytryptamine induced contraction of isolated cat trachea. *Life.Sci.* 4:2281-2287, 1965.
57. Reiter, R.J. Involvement of pineal indoles and polypeptides with the neuroendocrine axis. *Prog.Brain Res.* 39:281-287, 1973.
58. Reiter, R.J. Neuroendocrine effects of light. *Int.J.Biometeorol.* 35:169-175, 1991.
59. Reiter, R.J., Morgan, W.W. and Talbot, J.A. Seizures in rats induced by pinealectomy: influence of diazepam, chlordiazepoxide, diphenylhydantoin and pineal substances. *Arch.Int.Pharmacodyn.Ther.* 202:219-230, 1973.
60. Reiter, R.J. and Vaughan, M.K. Pineal antigonadotrophic substances: polypeptides and indoles. *Life Sci.* 21:159-171, 1977.
61. Reppert, S.M., Perlou, M.J., Tamarkin, L. and Klein, D.C. A diurnal melatonin rhythm in primate cerebrospinal fluid. *Endocrinology* 104:295-301, 1979.
62. Rushmer, R.F. *Structure and function of the cardiovascular system*, Philadelphia.:Saunders W.B. Company., 1976. Ed. 2 pp. 132-171.
63. Satake, N., Oe, H., Sawada, T. and Shibata, S. The mode of vasorelaxing action of melatonin in rabbit aorta. *Gen.Pharmacol.* 22:219-221, 1991.

64. Satake, N., Oe, H. and Shibata, S. Vasorelaxing action of melatonin in rat isolated aorta; possible endothelium dependent relaxation. *Gen.Pharmacol.* 22:1127-1133, 1991.
65. Sugden, D. Psychopharmacological effects of melatonin in mouse and rat. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 227:587-591, 1983.
66. Sugden, D. Melatonin biosynthesis in the mammalian pineal gland. *Experientia* 45:922-932, 1989.
67. Takagi, M., Atarashi, K., Matsuoka, H. and Sugimoto, T. A biphasic effect of noradrenaline on renin release from rat juxtaglomerular cells in vitro is mediated by alpha 1- and beta-adrenoceptors. *J.Endocrinol.* 132:133-140, 1992.
68. Tyce, G.M., Flock, E.V. and Owen, C.A., Jr. Uptake and metabolism of 5-hydroxytryptamine by the isolated perfused rat liver. *Am.J.Physiol.* 215:611-619, 1968.
69. Vermes, I., Dull, G., Telegdy, G. and Lissak, K. Possible role of serotonin in the monoamines-induced inhibition of the stress mechanism in the rat. *Acta Physiol.Acad.Sci.Hung.* 42:219-223, 1972.
70. Viswanathan, M., Laitinen, J.T. and Saavedra, J.M. Expression of melatonin receptors in arteries involved in thermoregulation. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 87:6200-6203, 1990.
71. Volkman, P.H. and Heller, A. Pineal N-acetyltransferase activity effect of sympathetic stimulation. *Science* 173:839-840, 1971.
72. Weaver, D.R., Stehle, J.H., Stopa, E.G. and Reppert, S.M. Melatonin receptors in human hypothalamus and pituitary - implications for circadian and reproductive responses to melatonin. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 1993.Feb;76(2):295-301. 1993.
73. Weekley, L.B. Melatonin-induced relaxation of rat aorta: interaction with adrenergic agonists. *J.Pineal Res.* 11:28-34, 1991.
74. Wurtman, R.J. The effects of light on man and other mammals. *Annu.Rev.Physiol.* 37:467-483, 1975.

75. Wurtman, R.J. The pineal as a neuroendocrine transducer. *Hosp.Pract.* 15:82-6, 91-2, 1980.
76. Wurtman, R.J. Melatonin in humans. *J.Neural.Transm.Suppl.* 21:1-8, 1986.
77. Zanobono, A. and Zanoboni-Muciaccia, A. Experimental hypertension in pinealectomized rats. *Life Sci.* 6:2327-2331, 1967.