

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**RECEPTORES ALFA ADRENERGICOS EN
MUSCULO LISO TRAQUEAL DE MONO
*ERITROCEBUS PATAS***

T B S I S

**PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A**

MARIO ARTURO BERMUDEZ GORDILLO

ASESORES: M. V. Z. LUIS OCAMPO CAMBEROS

M. V. Z. LUIS M. MONTAÑO RAMIREZ

MEXICO. D. F.,

1980



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 esta 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.

I N D I C E

RESUMEN	Pág. 1
INTRODUCCION	2
OBJETIVOS	7
MATERIAL Y METODOS	8
RESULTADOS	10
DISCUSION	18
CONCLUSIONES	21
LITERATURA CONSULTADA	22

RESUMEN

Se realizó un estudio para determinar la presencia de alfa receptores adrenérgicos y su importancia en la broncoconstricción en el músculo liso traqueal de mono Eritrocabua patas.

Se tomaron registros de 16 tráqueas a las que se estimuló con metoxamina a dosis de 0.1, 1.0, y 10.0 mcg / ml obteniendo una contracción media del músculo liso traqueal como sigue: 0.142, 0.835, y 1.842 gramos de tensión por centímetro respectivamente, las cuales fueron antagonizadas por un bloqueador específico de los alfa receptores adrenérgicos como la zolartina.

Se concluye que en el muestreo de los órganos traqueales, los alfa receptores están presentes y son importantes en la broncoconstricción del músculo liso traqueal del mono Eritrocabua patas.

INTRODUCCION

El sistema nervioso autónomo (SMA) está formado por los nervios, ganglios y plexos que se encargan de la inervación del corazón, vasos sanguíneos, glándulas, vísceras y — musculatura lisa, además gobierna las funciones llamadas — automáticas o vegetativas. El SMA, a su vez se subdivide en dos grandes sistemas: simpático y parasimpático (8).

En el sistema nervioso simpático, las fibras nerviosas nacen en las porciones torácica y lumbar de la médula espinal, las fibras que dejan estas neuronas reciben el nombre — de colinérgicas o preganglionares; por otro lado, reciben el nombre de fibras postganglionares, aquellas que forman la cadena ganglionar vertebral y plexos que inervan a las vísceras, cuyo mediador químico es la noradrenalina, por lo que — reciben el nombre de adrenérgicas (11, 13).

El sistema nervioso parasimpático, tiene sus núcleos en el encéfalo y en la porción sacra de la médula espinal. Las fibras preganglionares de esas neuronas salen por los nervios craneales (tercero, quinto, séptimo, noveno y décimo) y por los nervios sacros; por esto se conoce al sistema como

cráneo sacro. Con frecuencia las fibras preganglionares — están situadas en el interior de los órganos efectores o muy cerca de ellos, como ocurre en la pared del estómago e intestino; en estos casos, las fibras preganglionares penetran — en los órganos y ahí establecen sinapsis con la segunda neurona de la cadena. El mediador químico liberado por las terminaciones nerviosas preganglionares y postganglionares del parasimpático es la acetilcolina y se les denomina colinérgicas (10, 11, 13).

Estudios realizados recientemente por Richardson en — 1979 (19) han demostrado la existencia de una tercera división del SMA, primero descrita en el tracto gastro intestinal y después en el músculo liso traqueal. Esta inervación — fue demostrada en la tráquea de los cobayos, más tarde en la tráquea de los humanos y en el músculo liso traqueal de mono *Rhesus*, y es conocido como sistema nervioso purinérgico y — hay evidencias que el trifosfato de adenosin es el mediador químico. También se le llama sistema inhibitorio no adrenérgico; no se ha podido caracterizar más el sistema, debido — que el transmisor no es conocido con precisión (19).

En general los sistemas simpático y parasimpático se —

consideran fisiológicamente antagonicos: cuando un sistema — inhibe una función, el otro la aumenta. La mayor parte de — las vísceras están inervadas por ambas divisiones del sistema nervioso autónomo y el grado de actividad en cualquier momento es la suma de los dos componentes. No obstante a pesar del concepto común del antagonismo entre las dos porciones — del sistema nervioso autónomo, las actividades de uno y otro según se manifiestan en algunos órganos, pueden ser diferentes e independientes o guardar una relación sinérgica (8, — 11).

Los mediadores químicos adrenérgicos secretados en las terminaciones nerviosas, estimulan a los receptores de la célula efectora. Ahlquist en 1948 (1) propuso llamar receptores alfa y beta a los sitios adrenoceptivos del músculo liso donde las catecolaminas producen excitación e inhibición — respectivamente (1).

Las células sensibles a la acción de la noradrenalina, — adrenalina y otras catecolaminas, contienen en su membrana — receptores específicos alfa y beta, con los cuales aquellas sustancias se combinan para ejercer sus efectos, lo cual depende principalmente de la localización de el músculo liso —

y en menor grado, de la dosis. La noradrenalina excita principalmente los receptores alfa y en grado mucho menor a los beta. La adrenalina excita ambos tipos de receptores por igual. Los receptores alfa y beta no están asociados necesariamente con la excitación o inhibición, sino simplemente con la afinidad de la hormona por los receptores en un órgano -- efector determinado (8, 10, 11).

Esta clasificación de los receptores ha sido corroborada por medio de la aplicación de ciertos fármacos, como por ejemplo la fenoxibenzamina la cual produce un bloqueo selectivo de los receptores alfa. Por otro lado, otros fármacos los estimulan, como la metoxamina, mientras otros como el -- propanolol, causan bloqueo selectivo de los receptores beta adrenérgicos en el músculo liso bronquial (8).

Todo lo mencionado anteriormente nos demuestra la existencia de receptores alfa y beta en diferentes tipos de músculo liso. Sin embargo, la presencia de alfa receptores en el músculo liso de la tráquea y bronquios y su posible participación en el control del tono muscular es dudosa. Knauss y Richardson (14) demostraron la presencia de alfa receptores en tejido traqueobronquial de humanos y caninos, pero

sus evidencias son de dudosa validez ya que para demostrarlos utilizó histamina, la cual por si sola produce broncoconstricción. Por otro lado Ewartt y Cairncross en 1969 — (5) trabajaron sobre receptores adrenérgicos en la tráquea de cobayo y sugieren que la contracción que ellos observaron fue debida a la estimulación de los alfa receptores. — Castro de la Mata y Aviado en 1962 (4) demuestran la existencia de alfa receptores responsables de la broncoconstricción en perros anestesiados. Más adelante, en 1970 Fleisch, Malig y Brodie (6) sugieren la evidencia de alfa receptores en músculo liso traqueal de mamíferos. Sin embargo, ——— otros autores afirman que estos receptores no existen. ——— Foster en 1966 (7) y Cabezas, Graf y Madal en 1971 (3) — no comprueban la existencia de alfa receptores y sugieren — que la broncoconstricción está dada principalmente por el — sistema nervioso parasimpático (7, 3).

OBJETIVOS

Con base en estudios establecidos por los diferentes -- investigadores y por la controversia que existe sobre los -- receptores alfa en músculo liso traqueal, el principal objetivo en este trabajo es demostrar la existencia de alfa receptores en músculo liso traqueal de mono Eximocabus patas y por lo tanto, ver si tienen un papel importante en la ---- broncoconstricción del mismo.

MATERIAL Y METODOS

El tejido traqueal fue obtenido de 16 monos Eritrocibus patas con peso de 5 a 7 Kg promedio, las cuales fueron proporcionadas por el Instituto Nacional de Virología. Una vez obtenido el tejido traqueal, se suspendió en una solución de Krebs modificada (5, 6) la cual está compuesta de: Na Cl - 7.03, K Cl 0.35, KH_2PO_4 0.16, $\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.29, Na HCO_3 - 2.1, Ca Cl_2 0.28 y glucosa 2.0 gramos/litro, todo en agua -- destilada. La solución debe estar previamente oxigenada con una mezcla de 95% de oxígeno y 5% de dióxido de carbono a -- una temperatura de 37.5°C, posteriormente se eliminó todo el tejido que rodea a la tráquea dejando libre el músculo liso traqueal. Después, se cortó la tráquea en forma longitudinal sobre el cartilago y luego en forma transversal de manera -- que la tráquea quede dividida en cinco partes. Una vez sec-- cionada, se unen por los extremos libres y se monta en la cá-- mara de órganos aislados, con previa calibración del fisió-- grafo a una tensión de un gramo por cada dos centímetros. La respuesta de el tejido fue obtenida por medio de un miógra-- fo* y registradas y amplificadas por el fisiógrafo* Una vez

* Miógrafo A 691 E, & M. y Miógrafo MK - IV

** Fisiógrafo - six - E, & M. Instrument C O., inc. Houston, Texas. y Physiograph - R - MK - IV

que el tejido traqueal está montado en la cámara de órganos aislados, éste deberá adaptarse a la solución de Krebs y a la tensión establecida durante una hora y media. Después se procedió a la obtención de un registro basal, dando margen a observar contracción o relajación. Para demostrar la presencia o ausencia de los alfa receptores se estimuló inicialmente al sistema simpático con un fármaco específico de los receptores alfa (metoxamina*) a tres dosis diferentes; 0.1, 1.0, y 10.0 mcg/ml, con intervalos de 15 minutos entre cada estimulación. Posteriormente se procedió a lavar la preparación del tejido durante tiempos de 30, 60, y 90 minutos y se volvió a aplicar las mismas tres dosis de metoxamina, para descartar los fenómenos de taquifilaxia y determinar el tiempo de recuperación del músculo liso traqueal. Por medio de la metoxamina se determinó el efecto de contracción de los alfa receptores, y esta respuesta fue evaluada y comparada mediante la línea basal establecida. Cuando se logró la contracción se utilizó un bloqueador específico de los alfa receptores (zolartina**) y se determinó la dosis mínima bloqueadora; para esto se utilizaron dos dosis de 0.01, y 0.1 mcg/ml respectivamente.

* Donada por los Laboratorios Burroughs Wellcome de México

** Donada por los Laboratorios Miles de México

RESULTADOS

En el presente trabajo se utilizaron 16 tráqueas de mo-
no Eritrocabus patas, las cuales se dividieron en dos grupos:
El primer grupo constó a su vez de tres subgrupos de tres --
tráqueas cada uno. Estas tráqueas fueron sometidas a diferen
tes dosis de metoxamina, variando el tiempo de reposo del --
músculo liso traqueal en cada subgrupo. El tiempo de reposo
del músculo liso fue de 30, 60, y 90 minutos respectivamente
(Fig. 1, 2, y 3).

El segundo grupo constó de 7 tráqueas a las que se esti
muló con metoxamina a diferentes dosis, en presencia de un -
bloqueador alfa (solertina) (Fig. 4).

En el primer grupo se tomó una curva testigo en cada --
uno los subgrupos, variando el tiempo de reposo como se seña
ló anteriormente; esto fue con el objeto de precisar el tiep
po de recuperación del músculo liso, después de una estimula
ción. Se demostró que el tiempo optimo de recuperación entre
una estimulación y otra fue de 90 minutos. Cuando el tiempo
es de 30, o de 60 minutos entre cada estimulación, las res
puestas de contracción observadas no son verdaderas puesto --

que están mediadas por reacciones de taquifilaxia. Además, - la curva de contracción no sigue una curva ascendente conforme se aumenta la dosis, como es el caso de la curva testigo. (Fig. 1, y 2). A diferencia de las respuestas de contracción que se observan en la Figura 3, ambas curvas siguen un orden creciente similar al ir aumentando las dosis e incluso la curva testigo de 90 minutos de reposo más metoxamina, — siendo estas mayores que la curva testigo (Fig. 3).

Una vez determinado el tiempo de recuperación del músculo liso, fue de 90 minutos después de la administración de - metoxamina, se formó un segundo grupo de siete tráqueas a - las cuales se les estimuló con metoxamina a diferentes dosis (Fig. 4). La curva de contracción inicial registrada fue - tomada como curva testigo y los resultados fueron expresados como la media $\pm$ desviación estándar, siendo estos: a una --- dosis de 0.1 mcg/ml, 0.142 gramos $\pm$ 0.081; a dosis de 1.0 - mcg/ml, fue de 0.835 gramos $\pm$ 0.148; y a dosis de 10.0 mcg - por ml, fue igual a 1.842 gramos $\pm$ 0.622. Después se determi - nó el efecto de la zolertina como bloqueador alfa específico utilizando dosis de 0.01, y 0.1 mcg/ml. A continuación se -- repitieron las mismas dosis de metoxamina y el bloqueo en --

gramos de contracción fue a dosis de 0.1 mcg/ml, de 0.0 gramos $\pm$ 0.0; a 1.0 mcg/ml, de 0.042 gramos $\pm$ 0.020; a 10.0 mcg por ml, de 0.621 gramos $\pm$ 0.257. Al aumentar 10 veces más la dosis de zolertina se obtuvieron respuestas de contracción - igual a 0.0 gramos $\pm$ 0.0; 0.0 gramos $\pm$ 0.0; y 0.121 gramos $\pm$ 0.093 respectivamente (Fig. 4).

Para determinar el grado de significancia, se utilizó - la prueba estadística " t " de Student (12). Los resultados de la prueba estadística en la comparación de la curva - testigo contra las curvas de diferentes dosis de zolertina - 0.01 y 0.1 mcg/ml más la estimulación con metoxamina (Se muestran en el Cuadro 1).

Fig. 1 Efecto del tiempo sobre la respuesta contractil en el músculo liso traqueal a diferentes dosis de metoxamina

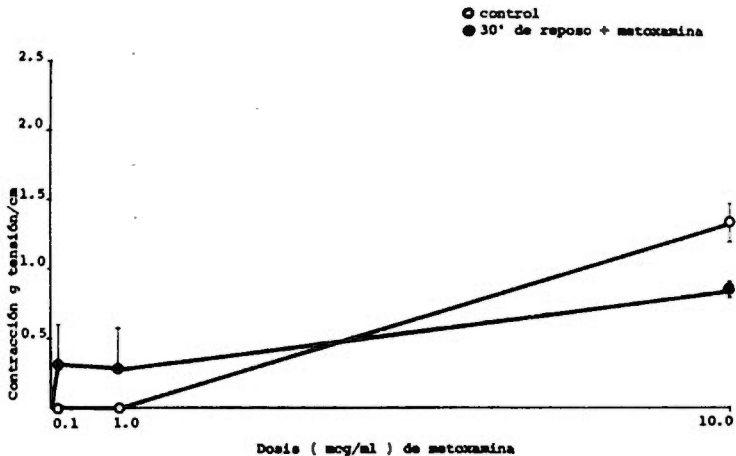


Fig. 2 Efecto del tiempo sobre la respuesta contractil en el músculo liso traqueal a diferentes dosis de metoxamina

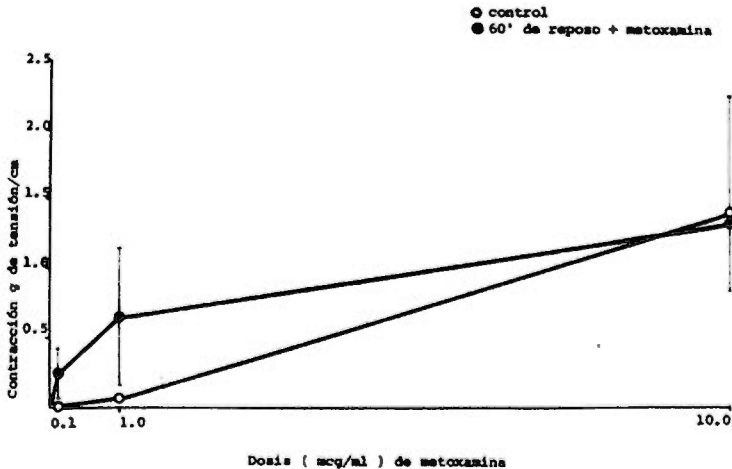


Fig. 3 Efecto del tiempo sobre la respuesta contractil en el músculo liso traqueal a diferentes dosis de metoxamina

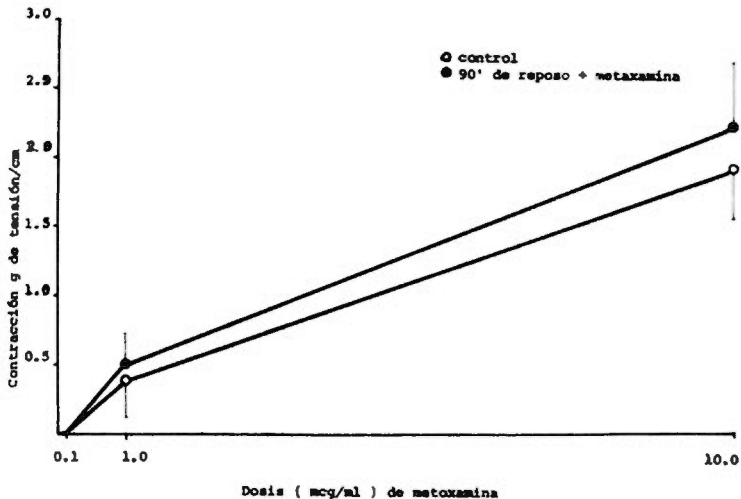
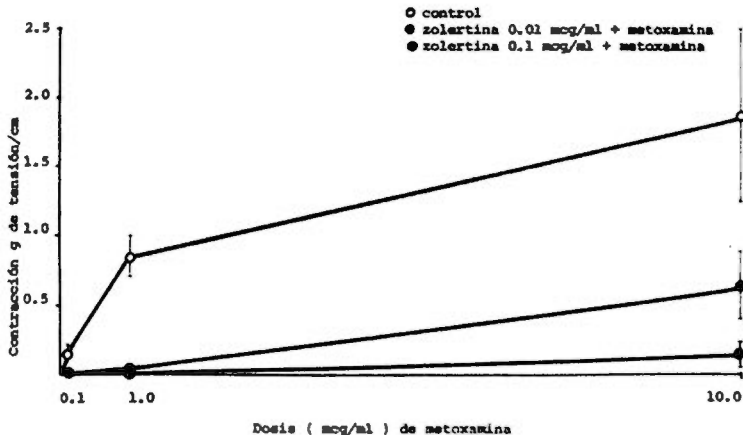


Fig. 4 Contracciones del músculo liso traqueal a diferentes estímulos, en presencia de un bloqueador alfa + metoxamina



Cuadro No. 1

Significancia estadística utilizando la prueba
" t " de Student

COMPARACION		GRADOS de LIBERTAD	" t " CALCULADA	SIGNIFICANCIA
metoxamina 0.1 mcg/ml	zolertina 0.01 mcg/ml + metoxamina 0.1 mcg/ml	6	1.560	P = < 0.05
metoxamina 0.1 mcg/ml	zolertina 0.1 mcg/ml + metoxamina 0.1 mcg/ml	6	1.560	P = < 0.05
metoxamina 1.0 mcg/ml	zolertina 0.01 mcg/ml + metoxamina 1.0 mcg/ml	6	2.169	P = > 0.05
metoxamina 1.0 mcg/ml	zolertina 0.1 mcg/ml + metoxamina 1.0 mcg/ml	6	2.082	P = > 0.05
metoxamina 10.0 mcg/ml	zolertina 0.01 mcg/ml + metoxamina 10.0 mcg/ml	6	3.810	P = > 0.05
metoxamina 10.0 mcg/ml	zolertina 0.1 mcg/ml + metoxamina 10.0 mcg/ml	6	4.058	P = > 0.05

" t " Tabular = 1.943

DISCUSION

Actualmente existen evidencias farmacológicas, sobre la clasificación de los receptores adrenérgicos a nivel de músculo liso traqueal de algunas especies animales, incluyendo al músculo liso de las vías aéreas de los humanos (1, 2, 3, 5, 6, 7, 14, 15). Algunos estudios han demostrado la presencia de alfa receptores en músculo liso traqueobronquial, tales como el de Castro de la Mata en 1962 (4), Ahlquist en 1966 (1), Evertt y Cairncross en 1969 (3), Fleich en 1970 (6), Kneussel y Richardson en 1978 (14). Todos estos autores usaron diferentes modelos experimentales y con distintas especies animales, demostraron que hay una broncoconstricción al hacer una estimulación de los receptores alfa -- (noradrenalina), variando la intensidad de la respuesta dependiendo de la especie (4, 1, 3, 6, 14).

Sin embargo otros estudios farmacológicos como el de Foster en 1965 (7) y Cabezas en 1971 (3) no encuentran variación significativa cuando estimulan receptores alfa -- (noradrenalina), por lo tanto existe una discrepancia en cuanto a la presencia de alfa receptores en mamíferos (7, -

3). Este trabajo demuestra la existencia de alfa receptores y que son importantes en la contracción del músculo liso traqueal del mono *Eritrocebus patas*.

Krell en 1979 (5) estudió la caracterización farmacológica del músculo liso traqueal de mono *Rhesus* y hace una evaluación de agentes broncoconstrictores, como son el carbacol, que fue más potente que la acetilcolina; después probó noradrenalina más prostaglandina F_2 alfa en presencia de propranolol y la contracción fue muy pequeña; por último observó una pequeña contracción con la prostaglandina F_2 alfa. Estas investigaciones sugieren que el músculo liso traqueal de mono *Rhesus* es cualitativamente similar a los tejidos traqueales de humanos (15). Con base en lo anterior se está de acuerdo que el comportamiento farmacológico de los receptores alfa del músculo liso traqueal del mono *Rhesus* es cualitativamente similar al del mono *Eritrocebus patas*. Aunque en el presente trabajo y tratándose del mismo género pero diferente especie a la estudiada por Krell, existe diferencia en forma cuantitativa al estimular los alfa receptores, ya que la respuesta contractil fue estadísticamente significativa ($P = > 0.05$) (Cuadro No. 1) no siendo así la

encontrada por Krell.

En el presente estudio se demuestra que los resultados obtenidos durante la estimulación de los receptores alfa por medio de la metoxamina, fue dada por el efecto de la estimulación de los alfa receptores del músculo liso traqueal de mono Eritrocibus patas, siendo esta contracción antagonizada por la presencia de un bloqueador alfa específico como la -- solertina, la cual ejerce un efecto antagónico competitivo -- dependiendo de la dosis, ya que al incrementar la dosis de -- metoxamina se obtiene una respuesta contractil similar a la obtenida en los registros testigos.

CONCLUSIONES

El estudio farmacológico del músculo liso traqueal de mono Eritrocebus patas, demuestra que las contracciones que se obtuvieron, durante la estimulación alfa fue debido a la presencia de alfa receptores y que son importantes en la contracción del músculo liso traqueal, siendo esta contracción antagonizada por la presencia de un bloqueador alfa.

El comportamiento farmacológico del músculo liso traqueal es cualitativamente similar en otras especies estudiadas, aunque existe variación en la intensidad de la respuesta.

Se espera que la presente disertación abra nuevas perspectivas para investigación sobre la contractilidad del músculo liso traqueal en esta especie.

LITERATURA CONSULTADA

1. Ahlquist R. P.: A study of adrenotropic receptors. Am. J. Physiol., 153: 586 - 600, (1948).
2. Anthracite R. P., Vachon L., and Knapp.: Alpha adrenergic receptors in the human lung. J. Am. Psychosomat. Med. 13: 481 - 489, (1979).
3. Cabezas G. A., Graf and Madel J. A.: Sympathetic versus parasympathetic nervous regulation of airways in dogs. J. Appl. Physiol. 5: 651 - 655, (1971).
4. Castro de la Mata., Penna., y Aviado.: Citado por Evertt B. J., and Cairncross K. D.: Adrenergic receptors in the guinea pig trachea. J. Pharmacol. 21: 97 - 102, (1969).
5. Evertt B. J., and Cairncross K. D.: Adrenergic receptors in the guinea pig trachea. J. Pharmacol. 21: 97 - 102, --- (1969).
6. Fleisch J. H., Malig H. M., and Brodie B. B.: Evidence — for existence of alpha adrenergic receptors in the mammalian trachea. Am. J. Physiol. 218: 596 - 599, (1970).
7. Foster R. W.: The nature of the adrenergic receptors of the trachea of the guinea pig. J. Pharm. Pharmacol. 18: -

(1966).

8. Goodman L. S., y Gilman A.: Base farmacológicas de la -
terapeutica. Editorial Interamericana, cuarta edición: -
329 - 363, (1970).
9. Guirgis H. M., and Mc Meill R. S.: The nature of the ---
adrenergic receptors in isolated human bronchi. Thorax.-
24: 613 - 615, (1969).
10. Guyton A. C.: Fisiología humana. Editorial Interamerica-
na, cuarta edición: 317 - 324, (1975).
11. Guyton A. C.: Tratado de la Fisiología Médica. Editorial
Interamericana, quinta edición: 769 - 779, (1976).
12. Hinchey J. D.: Estadística práctica para la investiga-
ción química. Editorial El Manual Moderno, S. A., primer-
a edición en español: 23 - 46, (1976).
13. Junqueira L. C., y Carneiro J.: Histología básica. -----
Salvat Editores, S. A. edición primera: 157 - 163, -----
(1973).
14. Kaneussel M. P., anda Richardson J. B.: Alpha adrenergic
receptors in human and canine tracheal and bronchial ---
smooth muscle. J. Appl. Physiol. 45: 307 - 311, (1978).
15. Krell R. D.: Pharmacologic characterization of isolated

- Rhesus monkey bronchial smooth muscle. J. of Pharmacol. and experimental therapeutics. 211: 436 - 443, (1979).
16. Murray R. S.: Teoría y problemas estadísticos. Libros — Mc Graw - Hill. primera edición: 49 - 53, (1961).
17. Pearson E. S., and Hartley H. A.: Biometrical tables for statistics. vol 1, Cambridge. Cambridge, University — press (1958).
18. Prime P. J., Bianco J., Griffin J. P., Kamburoff P. L.: The effects on airways conductance of alpha adrenergic - stimulation and blocking. Bull. Physiol. Pathol. Respirat. on. 8: 99 - 109, (1972).
19. Richardson J. B., and Ferguson C. C.: Neuro muscular — structure and function in the airways. Federation Proc. - 38: 202 - 208, (1979).