

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO

Instituto de Investigaciones Químico Biológicas

Laboratorio de Farmacología

“Efecto de la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina sobre las respuestas presoras mediadas por la activación de los receptores α_{1A} - y α_{1D} - adrenérgicos en la rata anestesiada”

Tesis que presenta el:

Q. F. B. Cristian Adrián Márquez Ramírez

Para obtener el grado de

Maestro en Ciencias en Biología Experimental

Directores de la Tesis:

M. en C. Héctor Urquiza Marín

UMSNH

D. en C. José Antonio Terrón Sierra

CINVESTAV

Morelia, Michoacán

Agosto 2008

El presente trabajo fue realizado con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por medio de la beca No. 199267.

DEDICATORIA

A MIS PAPÁS: **Guillermina Ramírez y Gregorio Márquez**, por todo el apoyo que me han brindado durante toda mi vida y en todas mis decisiones.

A MI ESPOSA Y A MI HIJO: **Ruth y Gael** Porque en todo momento han sabido entenderme y por todo el amor que me han dado.

A MIS HERMANOS: **Memo, Nery, Obeth y Omar**, porque siempre me han extendido la mano sin condiciones.

A MIS ASESORES: El Dr. **Terrón** y el Maestro **Urquiza**, por su apoyo incondicional durante todo este tiempo.

AGRADECIMIENTOS

Al M. en C. Héctor Urquiza Marín y al Dr. en C. José Antonio Terrón Sierra, por la asesoría y disponibilidad brindada durante la realización del trabajo.

Al Dr. Alfredo Saavedra Molina, Dr. Rosalío Mercado Camargo y Dr. Zurisaddai Hernández Gallegos por sus comentarios para mejorar el presente trabajo y su participación en el comité de sinodales.

Al Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas y a su personal académico por el conocimiento brindado.

A mis compañeros de maestría por su amistad.

A las personas que laboran en el laboratorio de Farmacología del CINVESTAV-Norte, México D. F., por su tiempo, amistad y comprensión.

A la Srita. Carolina Maldonado, por su disponibilidad y asesoría técnica.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	I
INDICE DE TABLAS Y FIGURAS	III
LISTA DE ABREVIATURAS	V
ABSTRACT	VI
RESUMEN	1
ANTECEDENTES GENERALES	3
Regulación de la función cardiovascular	3
Aspectos generales	3
Regulación nerviosa de la función cardiovascular	4
Síntesis y liberación de noradrenalina	6
El sistema nervioso simpático en el control de la presión arterial sistémica	8
Receptores adrenérgicos	10
Clasificación de receptores adrenérgicos	12
Papel y distribución de los subtipos de receptores α_1 adrenérgicos	13
Mecanismo de transducción de señales en la contracción	18
El sistema renina-angiotensina-aldosterona en el control de la función cardiovascular	21
Inhibición de la enzima convertidora de angiotensina	25
Localización de receptores a angiotensina II	26
ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	27
Interacción entre el sistema nervioso simpático y el sistema renina-angiotensina-aldosterona	27
PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA	32
JUSTIFICACIÓN	33
HIPÓTESIS	35

OBJETIVO GENERAL Y OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
MATERIALES Y MÉTODOS	36
Protocolo experimental	36
Fármacos empleados	39
Análisis estadístico	40
RESULTADOS	41
Curvas D-R a Noradrenalina	41
Efecto de los tratamientos farmacológicos sobre la presión arterial diastólica basal	41
Efecto del captopril sobre las respuestas presoras a la noradrenalina mediadas por los receptores α_{1A} - y α_{1D} -adrenérgicos	42
Efecto del captopril sobre las respuestas presoras a la noradrenalina	46
Curvas D-R al A-61603	47
Efecto de los tratamientos farmacológicos sobre la presión arterial diastólica basal	47
Efecto del captopril sobre las respuestas presoras al A-61603 mediadas por los receptores α_{1A} - y α_{1D} -adrenérgicos	48
Efecto del captopril sobre las respuestas presoras al A-61603	51
DISCUSIÓN	54
RESUMEN DE RESULTADOS	59
CONCLUSIÓN	59
PERSPECTIVAS	60
REFERENCIAS	61

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Figura 1 Sistema nervioso autónomo	6
Figura 2 Ruta de biosíntesis de noradrenalina	8
Figura 3 Sinápsis a nivel vascular	9
Figura 4 Nomenclatura de los receptores adrenérgicos	13
Figura 5. Mecanismo general de transducción α_1 -adrenérgica	18
Figura 6 Efecto del captopril sobre las respuestas presoras inducidas por la noradrenalina y la estimulación eléctrica de la cadena simpática preganglionar	29
Figura 7 Efecto del captopril sobre las respuestas presoras mediadas por la activación de los receptores adrenérgicos α_1	30
Figura 8 Efecto de la infusión continua de una dosis subpresora de angiotensina II sobre la respuesta presora producida por la administración de fenilefrina	31
Figura 9 Efecto de BMY-7378 y RS-100329 sobre las respuestas presoras producidas por la noradrenalina	44
Figura 10 Efecto del captopril sobre las respuestas presoras a noradrenalina	46
Figura 11 Efecto de BMY-7378 y RS-100329 sobre las respuestas presoras producidas por el A-61603	49
Figura 12 Efecto del captopril sobre las respuestas presoras al A-61603	53
Tabla 1 Receptores adrenérgicos en la vasculatura	17
Tabla 2 Efecto de los tratamientos farmacológicos sobre los valores basales de presión arterial diastólica previo a la construcción de la curva D-R a noradrenalina	42

Tabla 3 Valores de eficacia y potencia de noradrenalina en ausencia y presencia de antagonistas	45
Tabla 4 Valores de eficacia y potencia de noradrenalina tratados con SAL ó CAP.	46
Tabla 5 Efecto de los tratamientos farmacológicos sobre los valores basales de PAD previo a la construcción de la curva D-R al A-61603	48
Tabla 6 Valores de eficacia y potencia de A-61603 en ausencia y presencia de antagonistas	52
Tabla 7 Valores de eficacia y potencia de noradrenalina tratados con SAL ó CAP	52

LISTA DE ABREVIATURAS

A-61603	Agonista α_{1A} -adrenérgico	PIP ₂	Fosfatidilinositol bisfosfato
ANG II	Angiotensina II	PKA	Proteína Cinasa A
AT ₁ y AT ₂	Receptores a ANG II	PKC	Proteína cinasa C
BMY	BMY-7378	PLA ₂	Fosfolipasa A ₂
CAP	Captopril	PLC	Fosfolipasa C
CMD	Calmodulina	PLD	Fosfolipasa D
COMT	Catecol-o-metil transferasa	PRP	Propranolol
DAG	Diacilglicerol	PSN	Sistema nervioso periférico
DBH	Dopamina β -Hidroxilasa	RAW	Rawolscina
ECA	Enzima convertidora de angiotensina	RS	RS-100329
FC	Frecuencia Cardiaca	SAL	Solución salina
FNMT	Feniletanolamina-N- metiltransferasa	SHR	Rata espontáneamente hipertensa
IECA	Inhibidores de la ECA	SN	Sistema nervioso
IP ₃	Inositol trifosfato	SNC	Sistema nervioso central
L-DOPA	L-Dihidroxifenilalanina	SNP	Sistema nervioso parasimpático
MAO	Monoaminoxidasa	SNS	Sistema nervioso simpático
MLCK	Miosina cinasa de cadena ligera	SRAA	Sistema Renina Angiotensina Aldosterona
NA	Noradrenalina	TH	Tirosina Hidroxilasa
PAD	Presión arterial diastólica	WKY	Wistar Kyoto

ABSTRACT

Available evidence supports a synergistic interaction between the sympathetic nervous and the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) both centrally and peripherally. At peripheral level, it has been shown that inhibition of angiotensin II (ANG) synthesis (e.g. with captopril; CAP) decreases α_1 -adrenoceptor-mediated pressor responses induced by noradrenaline (NA) in pithed rats. However, the specific α_1 -adrenoceptor subtype involved in this interaction remains unknown. The analysis of the above interaction seems to be relevant as the α_{1D} -adrenoceptor has been proposed to play a key role in the pathogenesis and/or maintenance of genetic hypertension. The purpose of the present study was to analyze the effect of captopril on responses pressor mediated by α_{1A} - and α_{1D} -adrenoceptors in anesthetized rats. Male Wistar rats (250-300 g body weight) were anesthetized and prepared for mechanical ventilation through the trachea; PE50 and PE10 tubing was inserted into the carotid artery and both femoral veins for recording of blood pressure, and administration of drugs and anesthetic, respectively; both vagus nerves were cut. Different groups of animals received physiological saline or captopril; subsequently, a dose-response (D-R) curve to NA or the α_{1A} -adrenoceptor agonist, A61603, was built in the presence of vehicle, BMY-7378 (α_{1D} -adrenoceptor antagonist) or RS-100329 (selective α_{1A} -adrenoceptor antagonist); the animals that received NA were pretreated with propranolol and rauwolscine to prevent interaction of NA with β - and α_2 - adrenoceptors, respectively. The results indicate that NA exerts its effects by activating α_{1D} - and α_{1A} -adrenoceptors whereas A-61603 acts exclusively through α_{1A} -adrenoceptors in this model. Captopril decreased the ability of BMY-7378 and that of RS-100329 to block NA-induced pressor responses. In line with these observations, captopril pretreatment increased the pressor responses evoked by A-61603. Taken together, the results support the hypothesis that ANG II differentially modulates pressor responses mediated by α_{1D} - (facilitation) and α_{1A} -adrenoceptors (inhibition). These data appear to be in accordance with the reported ability of ANG II to promote expression of α_{1D} -adrenoceptors in the vasculature of spontaneously hypertensive rats.

Palabras clave: *Adrenoceptors, angiotensin II, captopril, noradrenaline, A-61603*

RESUMEN

Se tienen evidencias de la interacción sinérgica entre el sistema nervioso simpático y el sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) tanto a nivel central como periférico. A nivel periférico, se ha reportado que la inhibición farmacológica de la síntesis de angiotensina II (ANG II) con captopril promueve una disminución de las respuestas presoras a la noradrenalina mediadas por la activación de receptores α_1 adrenérgicos en la rata descerebrada y desmedulada. Sin embargo, a la fecha se desconoce la participación relativa de los subtipos de receptores α_1 adrenérgicos en esta interacción. El análisis de este aspecto parece relevante ya que se ha involucrado al receptor α_{1D} como un factor asociado a la génesis y/o el mantenimiento de la hipertensión arterial. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del captopril sobre las respuestas presoras mediadas por la activación de los subtipos de receptores α_{1A} - y α_{1D} - adrenérgicos en la rata anestesiada. Se utilizaron ratas Wistar macho (250-300 g de peso corporal) anestesiadas, traqueotomizadas y ventiladas mecánicamente; se insertaron cánulas de polietileno en la arteria carótida y ambas venas femorales para el registro de la presión arterial, la administración de fármacos y una infusión continua con pentobarbital sódico diluido, respectivamente, ambos nervios vagos fueron cortados. Los animales recibieron solución salina fisiológica o captopril. Posteriormente, se construyeron curvas dosis-respuesta a los agonistas, NA y al A61603 en presencia de vehículo, BMY-7378 (antagonista selectivo de los receptores α_{1D}) ó RS-100329 (antagonista selectivo de los receptores α_{1A}); los animales que recibieron NA fueron previamente tratados con propranolol y rawolscina (antagonistas) para evitar el efecto de la interacción de NA con los receptores β y α_2 , respectivamente. Los resultados indican que la NA ejerce sus efectos mediante la activación de receptores α_{1D} y α_{1A} adrenérgicos; por su parte, el A-61603 se comportó como un agonista altamente selectivo de los receptores α_{1A} en este modelo. El tratamiento con captopril promueve una disminución de la capacidad de BMY-7378 y un aumento en la del RS-100329 para bloquear las respuestas presoras a la NA; en concordancia con estos resultados, el tratamiento con captopril promueve un aumento de las respuestas presoras al A-61603 (agonista selectivo α_{1A}). Los resultados apoyan la hipótesis de que la ANG II promueve una modulación diferencial de las respuestas presoras mediadas por los receptores α_{1D} (facilitación) y α_{1A} (inhibición). Estas observaciones coinciden con reportes sobre la

capacidad de la ANG II para promover la expresión de receptores α_{1D} adrenérgicos en la vasculatura de ratas espontáneamente hipertensas.

Palabras clave: *Receptores, angiotensina II, captopril, noradrenalina y A-61603.*

ANTECEDENTES GENERALES

Regulación de la función cardiovascular

Aspectos generales

La función cardiovascular está regulada por una gran cantidad de mecanismos cuya interacción permite mantener el aporte de nutrientes, oxígeno y purificación de todos los aparatos y sistemas del organismo. A nivel anatómico varios órganos participan en este sistema de control, entre los que se encuentran el corazón, los riñones, el hígado, los pulmones, las glándulas suprarrenales y los vasos sanguíneos; estos tejidos son regulados de manera importante por el sistema nervioso central (SNC) y periférico (PSN). Estos órganos son productores de una infinidad de sustancias promotoras de cambios cardiovasculares que actúan de manera directa e indirecta.

Para el estudio del control de la presión arterial, los mecanismos implicados son divididos considerando la rapidez y duración de su efecto. Así, existen mecanismos rápidos (nerviosos y químicos), mecanismos intermedios (físicos y hormonales) y mecanismos lentos (riñón y líquidos corporales). Estos mecanismos trabajan de manera coordinada para mantener los niveles de presión arterial dentro de los límites fisiológicos, los cuales se consideran normales con cifras de 120-80 mm Hg para la presión sistólica y diastólica, respectivamente (High Blood Pressure, 2005).

Regulación nerviosa de la función cardiovascular

El sistema nervioso (SN) afecta fundamentalmente a funciones globales como la redistribución del flujo sanguíneo a las diferentes áreas del cuerpo, el aumento de la actividad de bombeo del corazón y, sobre todo, el control rápido de la presión arterial. El sistema nervioso autónomo (SNA) se caracteriza por regular de manera integrada un gran número de funciones viscerales de forma autónoma, sin requerir el control de la conciencia. El SNA parte del sistema nervioso central hacia el resto del cuerpo; morfológicamente se divide en tres secciones: sistema nervioso entérico, sistema nervioso simpático (SNS) y sistema nervioso parasimpático (SNP). El primero es suficientemente integrativo y no requiere la participación del sistema nervioso central, pero el SNS y SNP no pueden funcionar sin el control del SNC. Los principales procesos que son regulados a través del SNA son:

- Contracción y relajación del músculo liso vascular y visceral
- Todas las secreciones exócrinas y ciertas endócrinas
- Pulso cardiaco
- Metabolismo energético, particularmente en el hígado y músculo esquelético

La principal diferencia entre las rutas eferentes autónomas y somáticas es que la primera consiste de dos neuronas arregladas en serie, mientras que en la última solo una neurona conecta el SNC y las fibras del músculo esquelético. Las dos neuronas en las rutas autonómicas son conocidas respectivamente como preganglionares y posganglionares (Rang y col., 2007).

El SNP actúa sobre el corazón y su acción es mediada por la acetilcolina que disminuye la frecuencia cardíaca y la fuerza de contracción del miocardio, pero este solo desempeña un papel menor en la regulación de la presión arterial sistémica, mientras que el SNS inerva la mayoría de los vasos sanguíneos y el corazón promoviendo un sistema de control sobre la actividad de éstos (Fig. 1). La NA es el neurotransmisor liberado en las terminales nerviosas simpáticas; se encuentra abundantemente en el hipotálamo y en la formación reticular del tallo cerebral. La secreción de adrenalina también se efectúa de forma autónoma y, al igual que la NA, actúa en el músculo liso vascular (Rang y col., 2007). La actividad de la NA y de la adrenalina es modulada a nivel presináptico por una gran variedad de sustancias, incluyendo la propia NA que al actuar sobre receptores presinápticos puede autoinhibir su liberación, lo que representa un mecanismo de retroalimentación negativa. Este mecanismo de autoinhibición es operado a través de la activación de receptores α_2 adrenérgicos acoplados negativamente a la adenilato ciclasa con la consecuente reducción de los niveles intracelulares de AMP cíclico, de la activación de la proteína cinasa A (PKA) y de la apertura de canales de calcio dependientes de voltaje en la terminal nerviosa. Además, la NA liberada termina su acción a través de su recaptura dentro de las terminales nerviosas ó por su degradación enzimática; en este último caso, el proceso ocurre a través de enzimas intracelulares y extracelulares, como son la monoaminoxidasa (MAO) y la catecol-O-metil transferasa (COMT), respectivamente (Rang y col., 2007).

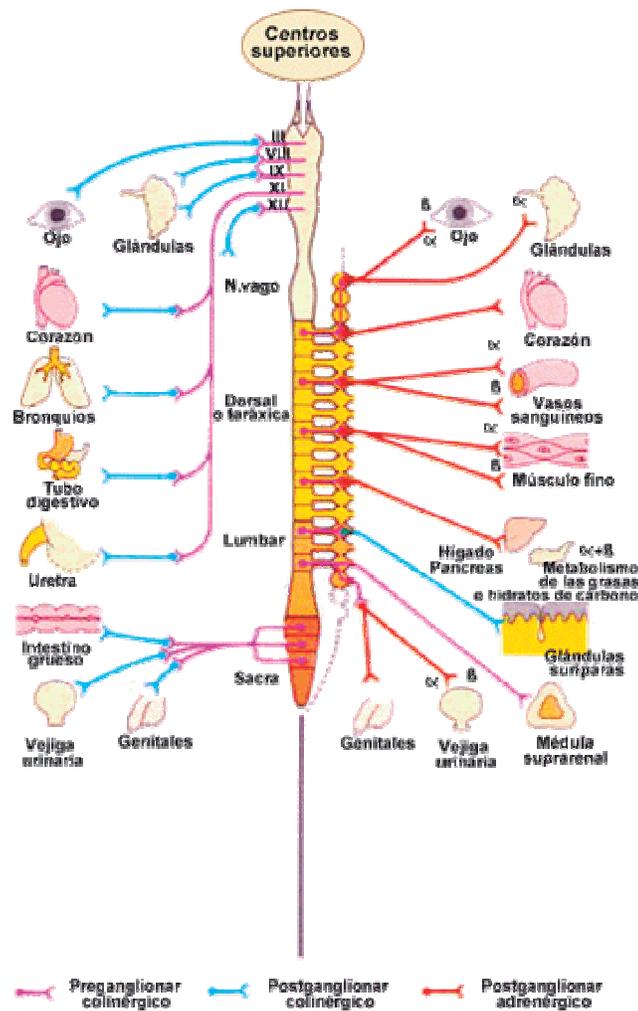


Figura 1 Sistema nervioso autónomo, 2007.

Síntesis y liberación de noradrenalina

La ruta biosintética para la NA se muestra en la Fig. 2. El precursor metabólico de la NA es la L-Tirosina, un aminoácido aromático presente en los fluidos corporales. El primer paso consiste en la hidroxilación del anillo fenólico de la L-Tirosina mediante la tirosina-hidroxilasa (TH) dando origen a la L-dihidroxifenilalanina (L-Dopa); el segundo paso consiste en la descaboxilación

de la L-Dopa en dopamina mediante la dopa-descarboxilasa; este proceso se lleva a cabo en el citoplasma; finalmente, la dopamina sufre una hidroxilación en la posición beta de la cadena lateral que la convierte en NA, paso que es llevado a cabo por la enzima dopamina- β -hidroxilasa (DBH). La DBH es una enzima intravesicular y, por consiguiente, la dopamina sintetizada ha de ser transportada al interior vesicular para allí convertirse en NA. Finalmente, la NA puede recibir un grupo metilo por acción de la enzima, feniletanolamina-N-metiltransferasa (FNMT), para ser transformada en adrenalina. El paso limitante en esta ruta biosintética es la conversión de L-Tirosina en L-Dopa, de ahí la importancia que reviste la regulación de la TH. Esta enzima aumenta su actividad cuando se estimula el SNS, y se inhibe cuando los niveles tisulares de las catecolaminas son elevados.

Las catecolaminas sintetizadas se almacenan en vesículas de núcleo denso en concentraciones muy elevadas (~ 1 M). La liberación de catecolaminas al espacio sináptico se lleva a cabo mediante exocitosis (Fig. 3). El estímulo secretor es la despolarización, que ocasiona la apertura de canales de calcio dependientes de voltaje; la entrada de calcio por estos canales da lugar a la fusión de la membrana de la vesícula con la membrana celular, formándose un pozo de fusión por el que se libera en pocos milisegundos todo el contenido vesicular.

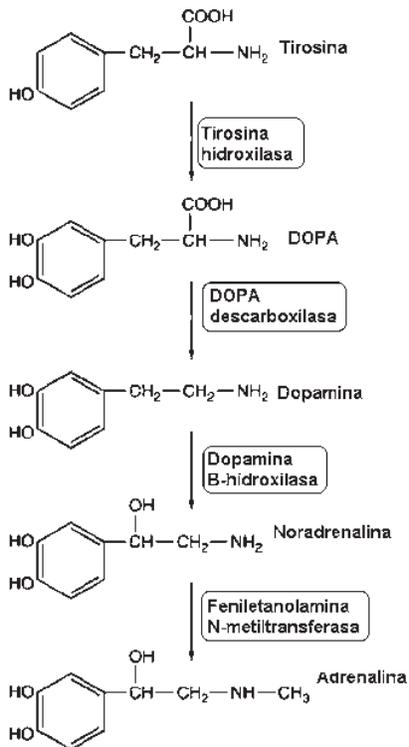


Figura 2 Ruta de biosíntesis de noradrenalina. Tomado y modificado de Rang y Dale's, 2006

El sistema nervioso simpático en el control de la presión arterial sistémica

Las fibras nerviosas simpáticas que inervan los vasos sanguíneos de resistencia abandonan la médula espinal en forma de neuronas preganglionares que salen a nivel de los segmentos torácicos y lumbares (Fig. 1). Después pasan a las cadenas simpáticas paravertebrales situadas a ambos lados de la columna vertebral y desde ahí siguen dos rutas hasta la circulación: 1) a través de nervios simpáticos específicos que inervan principalmente el corazón; y 2) a través de los nervios raquídeos que inervan principalmente la vascularización de las zonas periféricas. La inervación de las arterias pequeñas y de las arteriolas

permite que la estimulación simpática aumente la resistencia al flujo sanguíneo y de esta forma disminuya el flujo sanguíneo a través de los tejidos, mientras que la inervación de los grandes vasos, especialmente de las venas, hace posible que la estimulación simpática disminuya la capacitancia de estos vasos y, de este modo, aumente el retorno venoso. Esto puede desplazar más sangre al corazón y modificar, por lo tanto, la contractilidad y el consumo de oxígeno (Guyton y Hall, 1997).

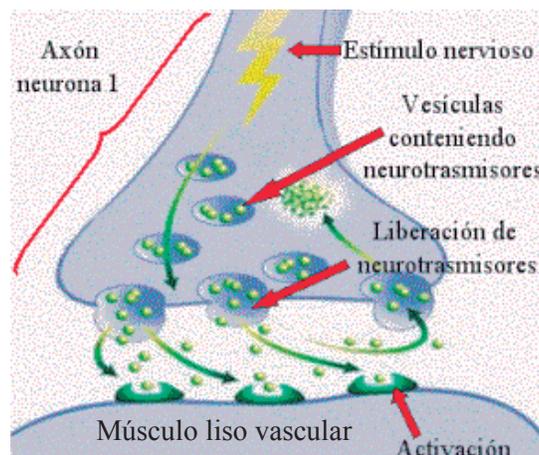


Figura 3 Sinápsis a nivel vascular. Proceso de liberación de un neurotransmisor, 2005.

La regulación de la actividad vasoconstrictora se da en una zona llamada centro vasomotor situada a ambos lados de la sustancia reticular del bulbo y del tercio inferior de la protuberancia. Este centro transmite impulsos parasimpáticos al corazón a través de los nervios vagos e impulsos simpáticos que recorren la médula espinal y los nervios simpáticos periféricos para llegar a casi todos los vasos sanguíneos del cuerpo. Se han reconocido tres áreas importantes de este centro que son: un área vasoconstrictora bilateral, un área vasodilatadora y un área sensorial bilateral; las neuronas de ésta última reciben señales nerviosas

procedentes principalmente de vías sensoriales que se incorporan a los nervios vagos y glossofaríngeos, mientras que las señales eferentes de esta área ayudan a controlar las áreas vasoconstrictoras y vasodilatadores, permitiendo así el control, por ejemplo, del reflejo baroreceptor de control de la presión arterial (Guyton y Hall, 1997).

Una de las funciones más importantes del control de la circulación por el sistema nervioso consiste en producir elevaciones rápidas de la presión arterial. El SNS, que inerva la mayoría de los vasos sanguíneos, desempeña su papel en la regulación de la presión arterial sistémica mediante la liberación de NA de las terminales nerviosas simpáticas, la cual se une y activa a receptores específicos que se encuentran en la membrana de las células del músculo liso vascular, produciendo a su vez una cascada de señalización intracelular que da como resultado modificaciones en el tono vascular (Fig. 5). Estos receptores son conocidos como receptores adrenérgicos (Guyton y Hall, 1997).

Receptores adrenérgicos

Los receptores adrenérgicos son un grupo heterogéneo de receptores que se encuentran situados en la membrana de las células del músculo liso vascular; constan de siete segmentos transmembranales con el extremo amino terminal en la parte extracelular y el extremo carboxilo terminal en la parte intracelular. Estos receptores son estimulados por la adrenalina y la NA que actúan como neurotransmisores y hormonas tanto en la periferia como en el sistema nervioso central. El conocimiento puntual de la participación de los

receptores adrenérgicos en la regulación de la presión arterial proporciona herramientas para contrarrestar enfermedades cardiovasculares, ya que éstos son blanco en la terapéutica de varias enfermedades de este tipo y para ello ha sido de crucial importancia la caracterización y clasificación de éstos, para lo cual se han utilizado técnicas de biología molecular y de farmacología.

En 1948, Raymond P. Ahlquist propuso una clasificación de estos receptores con base en la capacidad de algunos agonistas simpaticomiméticos de producir respuestas específicas. Estudiando seis aminas simpaticomiméticas, observó sus potencias para relajar o contraer diferentes preparaciones arteriales proponiendo la existencia de 2 tipos de receptores diferentes: los receptores alfa y los receptores beta (contracción y relajación, respectivamente); posteriormente, ésto fue confirmado con el uso de antagonistas farmacológicos (Powell and Slater, 1958; Black y col., 1964). Una década más tarde, Langer (Langer, 1974) dividió los receptores α en presinápticos (α_2) y posinápticos (α_1) basándose en su localización anatómica y diferencias farmacológicas (Minneman, 1988; García Sáinz, 1995). Sin embargo, el uso de drogas más selectivas y técnicas de clonación molecular permitieron posteriormente el descubrimiento de al menos nueve subtipos de receptores adrenérgicos clonados y caracterizados farmacológicamente (Alexander y Peters, 1999).

Clasificación de receptores adrenérgicos

Actualmente, se conocen nueve receptores adrenérgicos clasificados con base en sus características moleculares y farmacológicas (Fig. 4). Inicialmente los receptores α_1 adrenérgicos fueron clasificados en α_{1A} y α_{1B} basándose en la sensibilidad a la cloroetilclonidina y al WB-4101 (Morrow y Creese, 1986), designando al sitio de alta afinidad por el WB 4101 como receptor α_{1A} -adrenérgico y al de baja afinidad como receptor α_{1B} -adrenérgico. Posteriormente, fue clonado un tercer tipo de receptor adrenérgico del cerebro de rata (Lomasney y col., 1991) que mostraba afinidad por varios antagonistas que difería de los otros subtipos. Observaciones posteriores con otros fármacos antagonistas demostraron que este receptor representaba un nuevo subtipo de receptor α_1 -adrenérgico siendo designado como α_{1D} -adrenérgico. Con la disponibilidad y variedad de agentes selectivos de los subtipos de receptores adrenérgicos para estudios funcionales, ensayos de unión con radioligandos y el empleo de la biología molecular, se demostró la presencia de subtipos adicionales adrenérgicos. Así, dentro de las familias de los receptores α_2 - y β -adrenérgicos, al menos tres genes de cada tipo han sido clonados (Fig. 4); tres genes α_2 (α_{2A} , α_{2B} y α_{2C}) y tres genes β (β_1 , β_2 y β_3) (Lefkowitz y col., 1996).

Los genes que codifican para los receptores adrenérgicos α_{1A} , α_{1B} y α_{1D} en humanos, se encuentran en los cromosomas 8, 5 y 20, respectivamente (Hieble y col. 1995; Michel y col., 1995).

Con base en criterios farmacológicos, que incluyen baja afinidad por la prazosina, se ha sugerido la existencia de un cuarto subtipo de receptor α_1 -

adrenérgico denominado como α_{1L} (Holck y col., 1983; Flavahan y Vanhoutte, 1986; Muramatsu y col., 1990). Este receptor α_{1L} -adrenérgico parece mediar respuestas constrictoras en humano (Ford y col., 1996) y el conejo (Van der Graaf y col., 1997; Kava y col., 1998) en tracto urinario bajo, aorta de cobayo (Muramatsu y col., 1990) y en arteria mesentérica (Stam y col., 1999). Sin embargo este cuarto receptor no ha sido identificado por técnicas bioquímicas o moleculares.

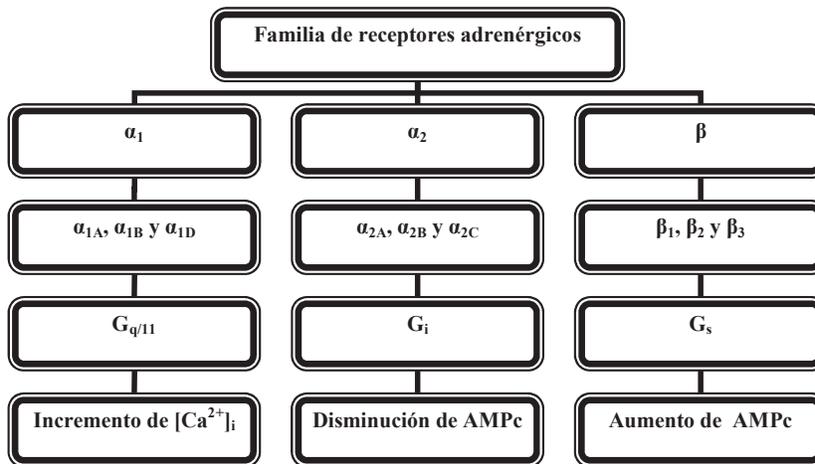


Figura 4 Nomenclatura de los receptores adrenérgicos con las proteínas G a las que se encuentran acoplados y los segundos mensajeros involucrados en la traducción de la señal hormonal.

Papel y distribución de los subtipos de receptores α_1 adrenérgicos

Los receptores α_1 -adrenérgicos son importantes mediadores de las respuestas del SNS involucradas en la homeostasis cardiovascular, tales como la contracción cardíaca y del músculo liso vascular. Al igual que los otros receptores adrenérgicos, los receptores α_1 adrenérgicos son activados por las catecolaminas, NA y adrenalina. Con base en estudios funcionales, bioquímicos

y de unión de radioligandos, actualmente se sabe que los receptores constituyen un grupo heterogéneo de proteínas que se localizan en el SNC y en el SNP.

Estudios *in vitro* han revelado que la contracción del músculo liso vascular inducida por la noradrenalina y otros agonistas adrenérgicos en preparaciones vasculares de varias especies de mamíferos, es mediada predominantemente por los receptores α_1 -adrenérgicos. Por ejemplo, en el perro la contracción de la arteria aorta, la femoral, la mesentérica, la renal y la esplénica está mediada exclusivamente por la activación de los receptores α_1 -adrenérgicos (Polonia y col., 1985; Shi y col., 1989; Daniel y col., 1999). Por su parte, en la rata, la arteria aorta (Han y col., 1990; Aboud y col., 1993), la carótida, la mesentérica, la renal y la caudal (Han y col., 1990; Villalobos-Molina e Ibarra, 1996) también se encuentra involucrado este receptor en la contracción, además, también se ha encontrado que en diversas arterias de humanos el receptor involucrado en la contracción es el α_1 -adrenérgico (Flavahan y col., 1987). Aunque también se ha demostrado la participación de los receptores α_2 -adrenérgicos en este proceso, así como en la modulación de la liberación de NA a nivel presináptico en las terminales nerviosas simpáticas (De Mey y Vanhoutte, 1981; McGrath, 1982; Timmermans y van Zwieten, 1982).

Se debe tener presente, sin embargo, que el músculo liso vascular está dotado de una mezcla de subtipos de receptores α_1 -adrenérgicos (Miller y col., 1996) y que en la mayoría de los casos las respuestas a los agonistas son probablemente mediadas por la activación de más de un subtipo de receptor (Van der Graaf y col., 1996; Zhong y Minneman, 1999). El ARNm para el

receptor α_{1A} -adrenérgico es expresado en muy altos niveles en las arterias periféricas (Guarino y col., 1996), pero en la mayoría de los casos esto no correlaciona con la cantidad de proteína presente (Hrometz y col., 1999; Ohmi y col., 1999). Un ejemplo claro de esta discrepancia se da en la arteria mesentérica, en la arteria pulmonar y en la aorta, donde han sido encontrados los ARNm que codifican para los tres subtipos de receptores α_1 -adrenérgicos (Xu y col., 1997), y en las cuales la contracción es mediada por la activación del receptor α_{1D} -adrenérgico y, de manera secundaria, por el α_{1B} (Hussain y Marshall. 2000). Además, en términos de los niveles de ARNm, el receptor α_{1A} es el más abundante, seguido del α_{1B} y, en menor proporción, el α_{1D} ; no obstante, solo se ha confirmado la participación funcional del receptor α_{1B} en la arteria mesentérica, mientras que el adrenoceptor α_{1D} fue implicado en la contracción de las arterias, aorta, femoral, iliaca y mesentérica superior (Piascik y col., 1997). De manera similar, se ha reportado que el receptor involucrado en la contracción a NA de la arteria iliaca y femoral del conejo es el α_{1D} (Sato y col., 1998, 1999).

De acuerdo con los resultados de estudios funcionales parece ser que los subtipos de receptores α_{1A} - y α_{1D} -adrenérgicos regulan la contracción de los vasos grandes, mientras que los receptores α_{1B} median la contracción de vasos de resistencia pequeños (Leech y Faber, 1996; Piascik y col., 1997; Gisbert y col., 2000). En la Tabla 1 se enlistan los subtipos de receptores involucrados en las respuestas contráctiles en diferentes lechos vasculares. Resulta interesante el hallazgo de que los receptores α_1 -adrenérgicos también se expresan en el

endotelio vascular de células de arteria coronaria en cultivo en donde median la síntesis de óxido nítrico (Mendez y col., 2006). Estudios *in vivo* también han demostrado de manera contundente la participación de los subtipos de los receptores α_1 -adrenérgicos en la regulación de la función cardiovascular (McGrath, 1982; Minneman, 1988; Bylund y col., 1995b). La evidencia disponible sugiere un papel importante de los receptores α_{1A} y α_{1D} en la regulación del tono del músculo liso vascular (tabla 1). Por ejemplo, experimentos en ratas descerebradas y desmeduladas han demostrado que las respuestas presoras inducidas por estimulación eléctrica de las fibras simpáticas posganglionares a nivel torácico son mediadas por la activación de receptores α_{1A} (Vargas y col., 1994), y que los receptores α_{1A} - y α_{1D} -adrenérgicos desempeñan un papel importante en las respuestas presoras inducidas por el agonista α_1 -adrenérgico, fenilefrina (Zhu y Vargas, 1996). Así, los incrementos de presión producidos por este agonista fueron bloqueados en forma efectiva por el antagonista selectivo de los receptores α_{1D} , BMY-7378, mientras que el agonista selectivo de los receptores α_{1A} -adrenérgicos, A-61603, se comportó como un potente agonista para producir respuestas presoras en estos animales (Vargas y col., 1994; Guarino y col., 1996; Zhou y Vargas, 1996).

Tabla 1 Receptores adrenérgicos en la vasculatura

Species and Vessel	Receptor Subtype		Reference
	mRNA or Protein	Functional	
<i>Mouse</i>			
AC01 cells ^a		α_{2D}	Olami et al., 1999
<i>Rat</i>			
Aorta	$\alpha_{1A}, \alpha_{1B}, \alpha_{1D}$ [*]	α_{2D} ^{***}	Hrometz et al., 1999 [†] ; Komiy et al., 1995 ^{††} ; Piascik et al., 1995 ^{‡‡} ; Testa et al., 1995 ^{§§} ; Van der Graaf et al., 1996a ^{¶¶}
Carotid artery		$\alpha_{2A}, \alpha_{2B}, \alpha_{2D}$ ^{***}	Villalobos-Molina and Ibarra, 1996
Mesenteric artery	$\alpha_{1A}, \alpha_{1B}, \alpha_{1D}$ [*]	α_{2D}	Hrometz et al., 1999 [†] ; Villalobos Molina and Ibarra, 1996 ^{††} ; Lachnait et al., 1997 ^{‡‡} ; Piascik et al., 1997 ^{§§}
Tail artery	$\alpha_{1A}, \alpha_{1B}, \alpha_{1D}$ [*]	α_{2A} ^{***}	Hrometz et al., 1999 [†] ; Lachnait et al., 1997 ^{††} ; Piascik et al., 1997 ^{‡‡}
Renal artery	$\alpha_{1B}, \alpha_{1D}, \alpha_{2A}$ [*]	α_{2A}, α_{2D} ^{***}	Hrometz et al., 1999 [†] ; Han et al., 1990 ^{††} ; Piascik et al., 1997 ^{‡‡}
Iliac artery	$\alpha_{1A}, \alpha_{1B}, \alpha_{1D}$ [*]	α_{2D} ^{***}	Hrometz et al., 1999 [†] ; Piascik et al., 1997 ^{‡‡}
Femoral artery	$\alpha_{1B} > \alpha_{1A} > \alpha_{1D}$ [*]	α_{2D} ^{***}	Hrometz et al., 1999 [†] ; Piascik et al., 1997 ^{‡‡} ; Hrometz et al., 1999 ^{§§}
Pulmonary artery		α_{2D}	Hussain and Marshall, 1997
Mesenteric resistance arteries	$\alpha_{1A}, \alpha_{1B}, \alpha_{1D}$ [*]	α_{2B} ^{***}	Hrometz et al., 1999 [†] ; Van der Graaf et al., 1996b ^{¶¶} ; Piascik et al., 1997 ^{§§}
Skeletal muscle arteries		$\alpha_{2D} (\alpha_{2D})$	Leech and Faber, 1996
Skeletal muscle veins		α_{2B}, α_{2D}	Leech and Faber, 1996
Vena cava		α_{2B}	Sayet et al., 1993
<i>Guinea pig</i>			
Aorta		α_{2L}	Yamamoto and Koike 1999
Nasal mucosa vasculature		$\alpha_{2A} (\alpha_{2L})$ (?)	Tanimitsu et al., 2000
<i>Rabbit</i>			
Thoracic aorta		$\alpha_{2A}, \alpha_{2D}, \alpha_{2B}, \alpha_{2L}$	Takayanagi et al., 1991; Fagura et al., 1997; Muramatsu et al., 1998
Carotid artery		α_{2L}	Muramatsu et al., 1990
Abdominal aorta		α_{2A}, α_{2B}	Satih et al., 1999
Iliac artery		$\alpha_{2D}, \alpha_{2A}, \alpha_{2B}$	Satih et al., 1999
Mesenteric artery		α_{2L}, α_{2D}	Van der Graaf et al., 1997; Satoh et al., 1999
Renal artery		$\alpha_{2D}, \alpha_{2A}, \alpha_{2B}$	Satih et al., 1999
Ear artery		α_{2A}, α_{2D} (?)	Fagura et al., 1997
Cutaneous resistance arteries		α_{2B}, α_{2L}	Smith et al., 1997
<i>Dog</i>			
Aorta		α_{2B}	Low et al., 1998
Lingual artery		α_{2A}	Skrbic and Chiba, 1992
Mesenteric artery		α_{2A}	Daniel et al., 1999
Subcutaneous resistance arteries		α_{2A}/α_{2L}	Argyle and McGrath, 2000
Saphenous vein		α_{2A}	Hicks et al., 1991
<i>Pig</i>			
Coronary artery		α_{2A}	Yan et al., 1998
<i>Human</i>			
Aorta	α_{1D}		Rudner et al., 1999
Carotid artery	α_{1A}		Rudner et al., 1999
Femoral artery	$\alpha_{1A} > \alpha_{1D}$		Rudner et al., 1999
Iliac artery	α_{1A}		Rudner et al., 1999
Mammary artery	$\alpha_{1A} > \alpha_{1B} > \alpha_{1D}$		Rudner et al., 1999
Celiac artery	$\alpha_{1A} > \alpha_{1B}$		Rudner et al., 1999
Hepatic artery	α_{1A}		Rudner et al., 1999
Mesenteric artery	$\alpha_{1A} > \alpha_{1B}$		Rudner et al., 1999
Splenic artery	$\alpha_{1A} > \alpha_{1B}$		Rudner et al., 1999
Omental artery	$\alpha_{1A} > \alpha_{1B}, \alpha_{1D}$		Rudner et al., 1999
Renal artery	$\alpha_{1A} > \alpha_{1B}$		Rudner et al., 1999
Pulmonary artery	$\alpha_{1A} > \alpha_{1B}, \alpha_{1D}$		Rudner et al., 1999
Right coronary artery	α_{1A}		Rudner et al., 1999
Left coronary artery	α_{1A}		Rudner et al., 1999
Circumflex artery	α_{1A}		Rudner et al., 1999
Lingual artery		α_{2A}, α_{2B}	Skrbic and Chiba, 1992
Iliac vein	$\alpha_{1A}, \alpha_{1B}, \alpha_{1D}$		Rudner et al., 1999
Vena cava	$\alpha_{1A} > \alpha_{1D}$		Rudner et al., 1999
Saphenous vein	α_{1A}, α_{1B}		Rudner et al., 1999
Omental vein	α_{1A}		Rudner et al., 1999
Renal vein	None		Rudner et al., 1999
Pulmonary vein	$\alpha_{1A} > \alpha_{1B} > \alpha_{1D}$		Rudner et al., 1999
Prostate vessels		$\alpha_{2A} (\alpha_{2L})$ (?)	Marshall et al., 1995

^a A novel vascular smooth muscle cell line cloned from p63 knockout mice (Olami et al., 1999).

Tomado y modificado de Graham y col., 1996.

Mecanismo de transducción de señales en la contracción

Posterior a la activación de los receptores α_1 -adrenérgicos (y también de AT1 (receptor para ANG II)) se da una serie de eventos que resulta de la interacción inicial del receptor con una proteína G; tales eventos incluyen la generación de segundos mensajeros y reacciones de fosforilación de proteínas (Fig. 5).

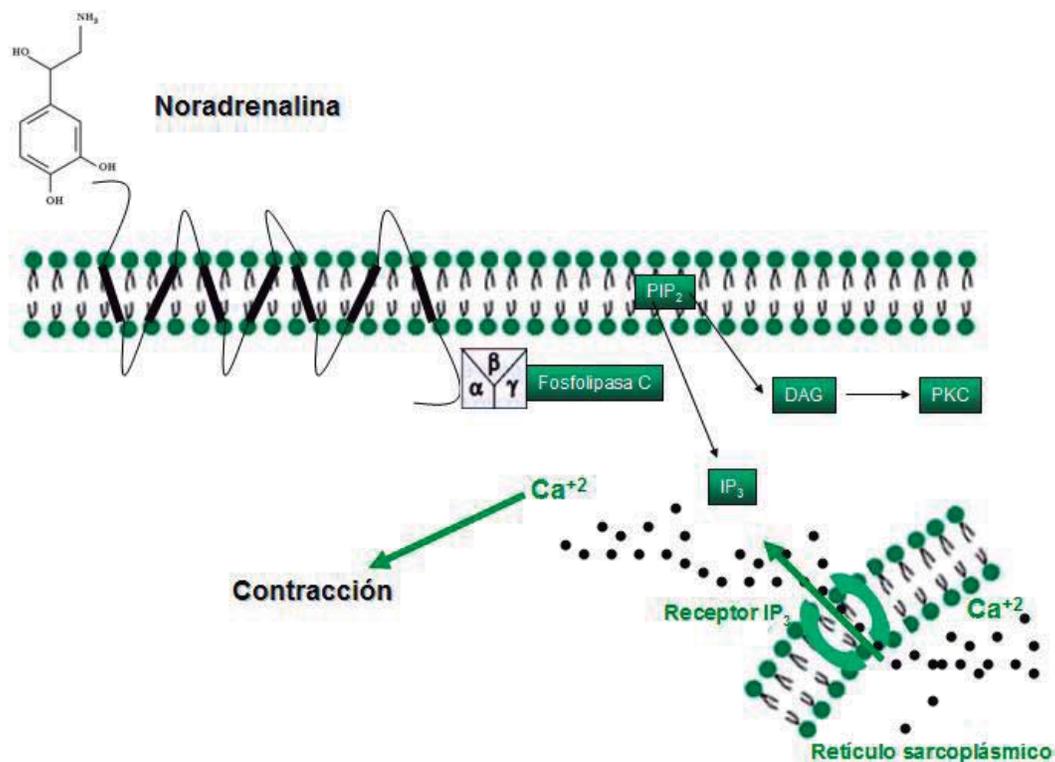


Figura 5. Mecanismo general de transducción α_1 -adrenérgica, el aumento de Ca⁺² citosólico favorece la contracción en el músculo liso vascular. PIP₂, fosfatidilinositol bisfosfato; IP₃, inositol trisfosfato; DAG, diacilglicerol; PKC, proteína cinasa C. Tomado y modificado de Molina y col., 2004.

Las proteínas G son heterotriméricas y desempeñan un papel muy importante en los procesos de señalización transmembranal; estas proteínas constituyen la parte central de un sofisticado mecanismo molecular el cual es

capaz de recibir, integrar y procesar información del ambiente extracelular. Las proteínas G heterotriméricas consisten de una subunidad α , la cual une e hidroliza GTP, y un complejo no dissociable $\beta\gamma$ que interactúa con proteínas efectoras (Hepler and Gilman, 1992; Gudermann y col., 1996; Hamm and Gilchirst, 1998). En el estado basal, el complejo $\beta\gamma$ y la subunidad α unida a GDP se encuentran asociados; de esta forma la proteína G puede ser reconocida por un receptor activado y esta interacción da como resultado la disociación de GDP de la subunidad α y es remplazado por GTP; a su vez, esto promueve un cambio conformacional dando como resultado la disociación del complejo $\beta\gamma$; por lo tanto, la subunidad α y el complejo $\beta\gamma$ son capaces de interactuar con proteínas efectoras. Finalmente, la actividad de GTPasa inherente a la subunidad α de la proteína G termina por hidrolisar el GTP a GDP terminando así con la conformación activa de esta subunidad, quedando una vez más las subunidades de la proteína G ensambladas.

La estimulación de los subtipos de receptores α_1 -adrenérgicos da como resultado la activación de varias enzimas efectoras, incluyendo la fosfolipasa C (PLC), la fosfolipasa A2 (PLA2) y la fosfolipasa D (PLD), así como la activación de canales de Ca^{2+} y K^+ .

La complejidad de las vías de señalización a las que se acoplan los receptores α_1 -adrenérgicos se debe en parte a la capacidad de éstos para acoplarse a distintas proteínas G y, consecuentemente, a diferentes efectores. De estas proteínas G existen varias, pero presentan selectividad por algún tipo de receptor y efector; así, G_s y G_i producen estimulación e inhibición de la

enzima adenilato ciclasa, respectivamente. Mientras que la proteína $G_{q/11}$ interactúa con la fosfolipasa C (Lefkowitz y col., 1996); la activación de la PLC media a su vez la liberación de fosfolípidos de la membrana y su consecuente transformación a trifosfato de inositol (IP_3) y diacil glicerol (DAG), el primero interactúa con receptores específicos localizados en el retículo sarcoplásmico para inducir la liberación de Ca^{2+} (Fig. 5). El incremento de la concentración intracelular de Ca^{2+} se deriva también de la apertura de canales de Ca^{2+} localizados en la membrana celular. Por su parte, el DAG activa la proteína cinasa C (PKC), la cual fosforila una gran variedad de sustratos celulares, incluyendo a los canales de Ca^{2+} .

Como está bien establecido, el aumento de la concentración intracelular de Ca^{2+} conduce a la activación de la maquinaria contráctil y al consecuente acortamiento de las fibras musculares para generar tensión. El músculo liso posee un aparato contráctil constituido básicamente por dos proteínas, actina y miosina, de estructura filamentosa como se ha demostrado con estudios de microscopía electrónica y difracción de rayos X (Lowy y col., 1970; Shoenbergz y Haselgrove, 1974). La actina es una proteína contráctil globular de cadena única y peso molecular de 42 KDa dispuesta en forma helicoidal en dos filamentos alrededor de la tropomiosina. La miosina es una proteína hexamérica formada por dos subunidades de alto peso molecular (cadenas pesadas) y cuatro subunidades de bajo peso molecular (cadenas ligeras). Las cadenas ligeras forman una cola en espiral con dos regiones protuberantes o “cabezas” que contienen las zonas de unión con la actina (Adelstein y Hathaway, 1979;

Somlyo, 1980; Somlyo, 1985). Para que se desencadene todo el proceso de contracción es necesaria la unión de 4 átomos de Ca^{2+} a una proteína denominada calmodulina (CMD); este complejo Ca^{2+} -CMD ahora formado se une a la unidad catalítica de la enzima miosina cinasa de cadena ligera (MLCK), formando un complejo holoenzimático activo, Ca^{2+} -CMD-MLCK, que cataliza la transferencia de grupos fosfato del complejo Mg^{2+} -ATP a la cadena ligera (Stull y col., 1982; Harstorne, 1987; Ikebe y Reardon, 1989; Means y col., 1991; Schulman y Hanson, 1993); este proceso genera la formación de puentes cruzados de actina-miosina. Cuando el nivel de Ca^{2+} intracelular es menor de 10^{-6} M, aparece la relajación como consecuencia de la desactivación del complejo Ca^{2+} -CMD-MLCK.

El sistema renina-angiotensina-aldosterona en el control de la función cardiovascular

A finales del siglo XIX Tiegerstedt y Bergman demostraron la existencia de una sustancia presora contenida en extractos salinos brutos de riñón que denominaron renina. Posteriormente, investigadores argentinos y estadounidenses reportaron que la renina es una enzima que actúa sobre un sustrato de proteína plasmática denominada angiotensinógeno para catalizar la formación del material presor real, un péptido ahora denominado angiotensina. A mediados del decenio de 1950 se reconocieron dos formas de angiotensina, un decapeptido y un octapeptido, éste último proveniente del primero en donde participa la enzima convertidora de angiotensina (ECA). Más tarde se demostró

que el octapéptido es la forma más activa. Posteriormente, en 1958, Gross sugirió que el sistema renina-angiotensina participaba regulando la excreción de aldosterona. El sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) llegó a reconocerse como un importante mecanismo fisiológico en la regulación homeostática de la presión arterial y la composición de electrolitos de los líquidos corporales. A principios del decenio de 1970, se descubrieron polipéptidos que inhiben la formación de angiotensina II o que bloquean a su receptor, dando lugar a la creación de una clase útil de agentes hipotensores, los ahora llamados inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA). Tomando como base estos hallazgos, se elaboraron investigaciones que proporcionaron información sobre la participación del SRAA en enfermedades cardiovasculares tales como la hipertensión arterial, la insuficiencia cardiaca, la enfermedad vascular periférica y la insuficiencia renal (Goodman y col., 1996).

El SRAA participa en la regulación de la presión arterial a corto y a largo plazo. Los factores que disminuyen la presión arterial, como la hipovolemia o la disminución de la resistencia periférica total, activan la liberación de renina a partir de los riñones. La renina es una enzima que actúa sobre el angiotensinógeno para catalizar la formación del decapeptido angiotensina I; la cantidad de esta enzima liberada por los riñones es el punto principal de regulación de la síntesis de angiotensina II. La renina es sintetizada, almacenada y secretada por las células yuxtglomerulares que se encuentran en las paredes de las arteriolas aferentes conforme entran a los glomérulos. La renina es una aspartil proteasa cuyo principal sustrato es una α_2 globulina, el

angiotensinógeno. La renina rompe el enlace peptídico entre los residuos 10 y 11 en el amino terminal de ésta proteína para generar angiotensina I. Esta enzima se sintetiza como una preproenzima que posteriormente se procesa a prorenina, la cual se encuentra en la circulación en una concentración 10 veces mayor que la enzima activa, la renina, cuya vida media es de 15 minutos. La secreción de renina está controlada por dos mecanismos intrarenales y un mecanismo que funciona a través del SNS. En el primero, denominado vía de la mácula densa, los incrementos del flujo de NaCl a través de la mácula densa inhiben la liberación de renina, y las disminuciones, la estimulan. En el segundo, denominado vía del barorreceptor intrarrenal, los incrementos y decrementos de la presión de perfusión en los vasos preglomerulares bloquean y estimulan la liberación de renina, respectivamente. Por último la denominada vía del receptor β -adrenérgico, está mediado por la liberación de noradrenalina a partir de terminales nerviosas simpáticas posganglionares; la activación de los receptores β_1 adrenérgicos sobre las células yuxttaglomerulares aumenta la secreción de renina (Goodman y col., 1996.)

Una vez formada la angiotensina I esta da lugar a la formación de angiotensina II por la acción de la enzima convertidora de angiotensina; esta enzima es más bien inespecífica y, entre sus sustratos se encuentra la bradicinina, un potente vasodilatador que por acción de la ECA (similar a la cinasa II) se inactiva. La angiotensina III, también denominada [des-Asp¹] angiotensina II ó angiotensina (2-8), puede formarse por efecto de la aminopeptidasa sobre la angiotensina II, o por el de la ECA sobre la [des-Asp¹]

angiotensina I. La angiotensina I, y en menor grado la II, también pueden metabolizarse hacia angiotensina (1-7) la cual no causa vasoconstricción, liberación de aldosterona, sed ni facilitación de la transmisión noradrenérgica. Sin embargo, al igual que la angiotensina II la (1-7) libera vasopresina, estimula la síntesis de prostaglandinas y desencadena respuestas depresoras cuando se inyecta en ciertos núcleos del tallo encefálico (Goodman y col., 1996).

Los efectos de la angiotensina II, principal agente vasoactivo del SRAA, ejerce sus efectos por medio de receptores específicos, denominados AT1 y AT2 (Bumpus y col., 1991). El primero tiene alta afinidad por el losartán, y baja afinidad por el PD-123177 y el CGP-42112A, mientras que el segundo posee gran afinidad por el PD-123177 y el CGP-42112A, pero baja por el losartán. Ambos tipos de receptores han sido clonados (Sasaki y col., 1991; Murphy y col., 1991; Mukoyama y col., 1993). Ambos forman parte de la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G con siete segmentos transmembranales, aunque el receptor AT2 no se encuentra estrechamente acoplado a proteína G, además, se encuentra ampliamente distribuido en la vida fetal, pero su distribución es más restringida en los adultos.

Estudios farmacológicos usando antagonistas específicos han determinado que la mayoría de las acciones fisiológicas de la ANG II son mediadas por el receptor AT1 (Timmermans y col., 1993), del cual se han identificado 2 subtipos denominados como AT1a y el AT1b (producto de genes distintos) en la rata (Iwai e Inagami, 1992) y el ratón (Sasamura y col., 1992); solo el AT1b ha sido identificado en humanos (Konishi y col., 1994). Por otra

parte, la función del receptor AT2 no ha sido completamente determinada, pero se ha sugerido que éste se opone a los efectos mediados por la activación del receptor AT1 con respecto a la presión sanguínea y la proliferación celular (Carey y col., 2000). La estimulación del receptor AT1 conduce a la activación, vía la proteína Gq, de la fosfolipasa C, la cual hidroliza fosfatidil inositol-4,5-bisfosfato para generar IP3 y DAG. El IP3 causa la liberación de Ca^{2+} intracelular, la entrada de Ca^{2+} extracelular debido a la apertura de canales de Ca^{2+} y por ende la activación de la maquinaria contráctil de la célula. Además, la angiotensina II también activa fosfolipasa D, la cual hidroliza fosfatidilcolina para generar colina y ácido fosfatídico (convertido en DAG). Se ha sugerido que esta ruta juega un papel muy importante en la activación de la PKC en la fase sostenida de la contracción inducida por la angiotensina II (Kamaide y col., 2003).

Inhibición de la enzima convertidora de angiotensina

Se han desarrollado varios inhibidores específicos de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), siendo el primero de ellos el captopril. La ECA rompe el enlace peptídico del par de aminoácidos en el extremo carboxilo terminal del péptido que actúa como sustrato. Su sitio activo contiene un átomo de zinc. El captopril contiene un grupo sulfhidrilo colocado adecuadamente para unir el átomo de Zn acoplado a un residuo de prolina que se une al sitio de la enzima para promover la ruptura. El captopril es un poderoso inhibidor de los efectos de la ANG II en el animal íntegro. Éste causa solamente una pequeña

disminución en la presión arterial en animales normales, mientras que en animales hipertensos la disminución de la presión es aún más notoria, afectando la capacitancia, los vasos de resistencia, reduce el llenado cardiaco así como la presión arterial (Rang y col., 2007).

Localización de receptores a angiotensina II

Como ya se mencionó, se ha determinado que la mayoría de las respuestas fisiológicas de la ANG II son mediadas por la activación del receptor AT1, y que de éste se han identificado dos subtipos, AT1a y AT1b en rata y ratón, siendo el AT1a el receptor predominante en la mayoría de los órganos, mientras que el AT1b se encuentra en mayor proporción en la glándula pituitaria y la adrenal (Gasc y col., 1994). Por otra parte se ha sugerido que el receptor AT1a tiene un papel en la regulación del tono vascular, en ciertas funciones del SNC, y en la reabsorción renal de sodio.

ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Interacción entre el sistema nervioso simpático y el sistema renina-angiotensina-aldosterona

La ANG II y la NA son sustancias endógenas que promueven el aumento del tono del músculo liso vascular y que desempeñan un importante papel en la regulación de la función cardiovascular. Además, hay una gran cantidad de evidencias que sugieren que la ANG II tiene un efecto marcado sobre las respuestas simpáticas en el sistema cardiovascular. Por ejemplo, la ANG II potencia la respuesta a la estimulación eléctrica de nervios simpáticos a través de la activación de receptores a angiotensina ubicados sobre las terminales nerviosas, dando como resultado un aumento en la liberación del neurotransmisor adrenérgico (Boke y Malik, 1983; Duckles 1981; Zimmerman 1978). La ANG II también incrementa la liberación de catecolaminas de la médula adrenal (Peach, 1977; MacLean y Ungar, 1986) y de las terminales nerviosas simpáticas en el cerdo, la rata y en el ratón (Ziogas y col., 1984; Mian y col., 1989 y Musgrave y Majewski, 1989).

Por otra parte, se ha reportado que la ANG II estimula la síntesis de DNA y la hipertrofia, pero no la proliferación en células de músculo liso vascular, sugiriendo posibles efectos indirectos a través del incremento de la presión sanguínea y de la actividad del SNS (Ellen y col., 1992). Adicionalmente, se reportó que la transcripción del gen que codifica para el receptor AT1 y la expresión de la proteína son regulados por los niveles de NA, y que ésta promueve una regulación negativa del ARNm y la proteína del receptor AT1

mediada, al menos en parte, por la activación del receptor α_1 -adrenérgico (Du y col., 1997).

Por otra parte se tienen evidencias de que en la interacción entre la ANG II y el sistema nervioso simpático, el receptor a ANG II que interactúa de manera predominante es el AT1. De hecho, se ha reportado que el receptor AT2 no se encuentra involucrado en el efecto potenciador del tráfico simpático en estudios *in vitro* (Alexander y col., 2003).

Además, se ha reportado que ANG II sensibiliza el sistema cardiovascular amplificando la respuesta a la administración exógena de NA y por otra parte bloquea la recaptura de NA por las terminales nerviosas presinápticas (Khairallah, 1972; Panisset y Bourdois, 1968).

El presente trabajo comprende el análisis de la interacción entre la ANG II y la NA a nivel postsináptico de la cual existen evidencias provenientes de experimentos *in vitro* (Dunn y col., 1991) e *in vivo* (De Jonge y col., 1981). Específicamente, se demostró que el tratamiento con captopril, un IECA, inhibe las respuestas presoras a la NA y a la estimulación eléctrica de la cadena simpática preganglionar en ratas normotensas descerebradas y desmeduladas (Fig. 6), las cuales son mediadas por los receptores adrenérgicos α_1 y α_2 (De Jonge y col., 1981).

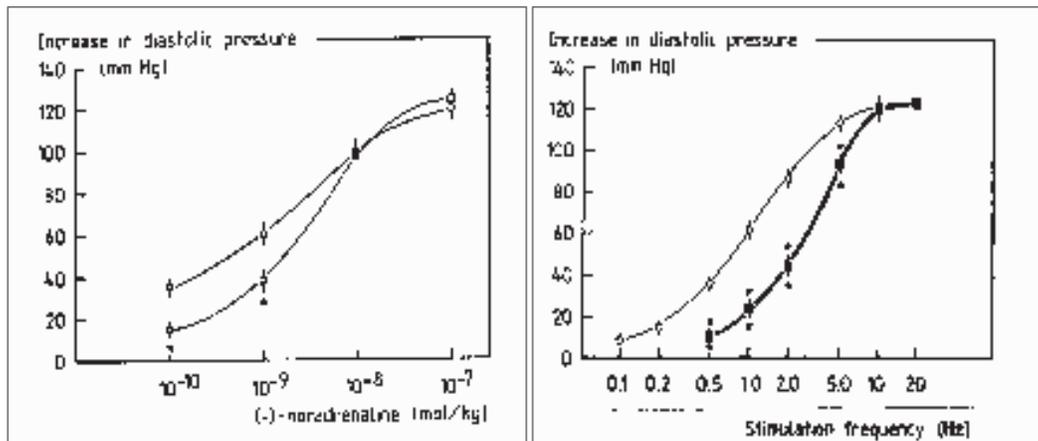


Figura 6 Efecto del captopril sobre las respuestas presoras inducidas por la noradrenalina (izquierda) y la estimulación eléctrica de la cadena simpática preganglionar (derecha) en la rata descerebrada y desmedulada. ○ Control □ Captopril. (De Jonge y col., 1982).

Para comprobar la participación de estos receptores, De Jonge y col. (1982) construyeron curvas dosis-respuesta a agonistas selectivos de cada receptor, observando que la magnitud de las respuestas presoras producidas por la cirazolina (un agonista α_1 -adrenérgico) y el BHT-920 (un agonista α_2 -adrenérgico) disminuyó en animales que habían sido tratados con captopril (Fig. 7), sugiriendo que la ANG II incrementa las respuestas mediadas por la activación de los receptores α_1 y α_2 adrenérgicos (De Jonge y col., 1982).

Para evaluar la participación de la concentración de ANG II sobre su efecto potenciador α_1 -adrenérgico, Marano y Argiolas (1994) evaluaron el efecto potenciador de la ANG II en ratas intactas y en ratas simpatectomizadas, administrando una dosis subpresora de 10 ng/kg/min. El resultado fue que la ANG II amplifica la respuesta presora a la fenilefrina vía la activación de

receptores AT1, ya que el antagonista AT1, valsartán, inhibió dicho efecto (Fig. 8).

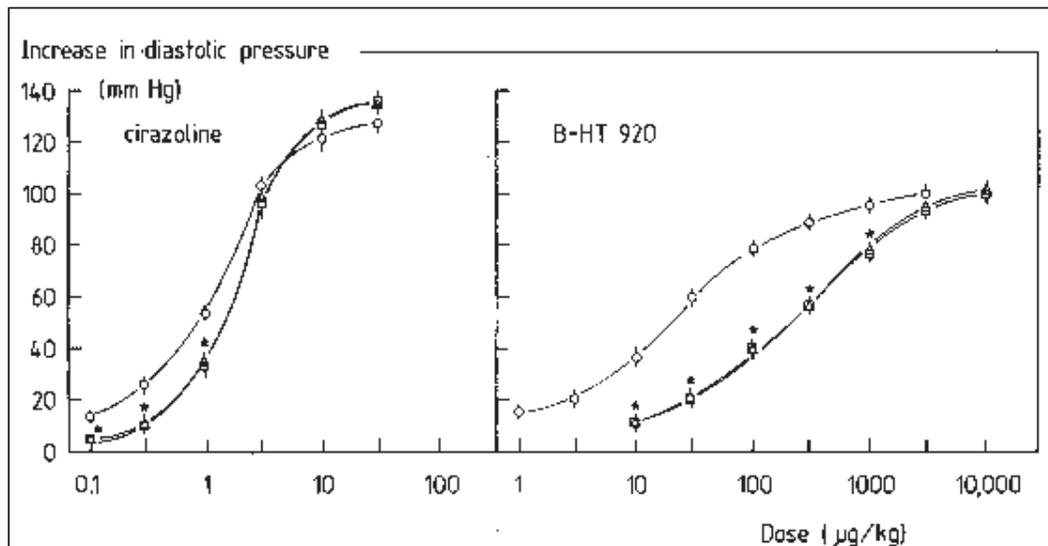


Figura 7. Efecto del captopril sobre las respuestas presoras mediadas por la activación de los receptores adrenérgicos α_1 (cirazolina, panel izquierdo) y α_2 (BHT 920, panel derecho) en la rata descerebrada y desmedulada. ○ Salina; □ captopril (5 mg/kg, i.v.); y △ captopril (100 mg/kg, i.v.) (De Jonge y col., 1982).

Además, nuestra hipótesis de que la ANG II modula de manera distinta los receptores α_{1A} - y α_{1D} - adrenérgicos, se ve apoyada con los datos generados por Hu (1995) en donde la ANG II promueve un aumento en la tasa de síntesis de mRNA que codifica para los receptores adrenérgicos α_{1A} y α_{1D} en células de músculo liso vascular (aorta) en cultivo (tratadas 24hrs con ANG II). Sin embargo, Li (1997) en experimentos con células cardiacas en cultivo sugiere que la ANG II no promueve cambios en la síntesis de ARNm de los receptores α_{1D} y α_{1B} -adrenérgicos, mientras que el ARNm que codifica para el subtipo α_{1A} disminuyó de manera dependiente del tiempo de exposición y de la dosis de

ANG II. Por otra parte, y en este mismo contexto, existen datos surgidos de experimentos *in vivo* con ratas SHR que sugieren que la expresión del receptor α_{1D} -adrenérgico es promovida por la ANG II, incluso antes de la aparición del proceso hipertensivo (Godínez-Hernández y col., 2006).

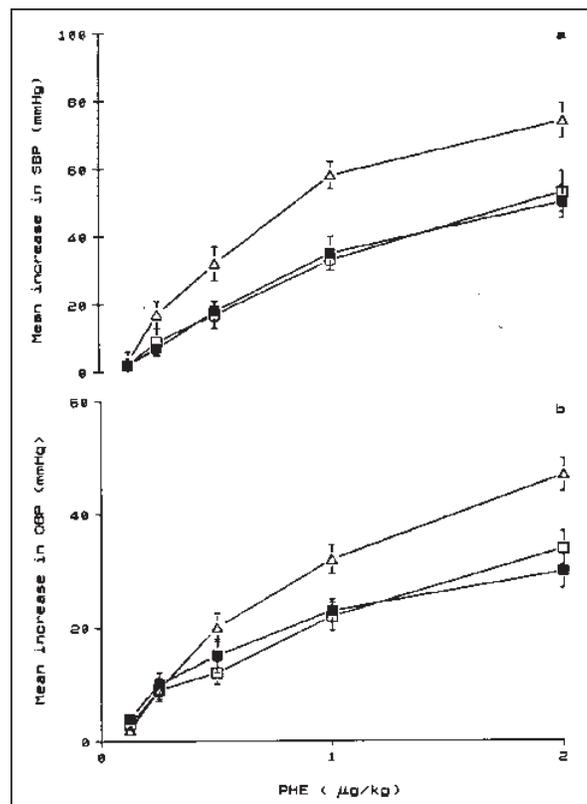


Figura 8 Efecto de la infusión continua de una dosis subpresora de angiotensina II sobre la respuesta presora producida por la administración de fenilefrina y su antagonismo con valsartán en ratas intactas (a) y en ratas simpatectomizadas (b). ■ Control; Δ Ang II (10 ng/kg/min, i.v.); y □ Valsartán (1 mg/kg, i.v.) + Ang II (10 ng/kg/min, i.v.) (Marano y Argiolas, 1994).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En conjunto con las ya descritas acciones facilitadoras de la ANG II sobre la transmisión simpática, la interacción sinérgica de este octapéptido con los receptores α -adrenérgicos vasculares a nivel posináptico, constituye un mecanismo mediante el cual el aumento del tono vascular y la resistencia periférica producidos por estimulación del sistema nervioso simpático pueden verse amplificadas. Tal mecanismo puede ser relevante en el mantenimiento de la presión arterial y de la integridad estructural de los vasos sanguíneos, así como en el desarrollo y mantenimiento de la hipertensión arterial y de otros desórdenes del sistema cardiovascular que involucran alteraciones de la perfusión sanguínea y de la estructura de los vasos sanguíneos y del músculo cardíaco. No obstante, a la fecha se desconoce el o los subtipos de receptores α_1 -adrenérgicos involucrados en la citada interacción amplificadora con la ANG II. Este aspecto resulta de particular interés, dado que recientemente se ha atribuido un papel importante a los receptores α_{1D} -adrenérgicos en la fisiopatología de la hipertensión arterial.

JUSTIFICACIÓN

La dilucidación del subtipo de receptor α_1 -adrenérgico involucrado en el fenómeno de interacción sinérgica con la ANG II puede proporcionar información útil para entender la relevancia fisiológica de dicha interacción en la regulación del flujo sanguíneo a nivel local y sistémico. Un mayor entendimiento de esta interacción puede, adicionalmente, proporcionar información útil que ayude a dilucidar los mecanismos, aún poco entendidos, de la hipertensión arterial y a mejorar su tratamiento. De hecho, el aumento de la resistencia vascular periférica es el factor de riesgo más importante para las enfermedades cardiovasculares (Marín, 1993), siendo estas últimas uno de los problemas de salud pública más importante en las naciones industrializadas (Williams y Braunwald, 1994). A pesar de la gran cantidad de investigaciones, hasta ahora se desconoce con exactitud el papel que desempeñan el sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) y el SNS en la patogénesis de la hipertensión arterial. En este sentido, se ha reportado que los componentes del SRAA, la actividad de la renina plasmática, el angiotensinógeno plasmático y la liberación renal de renina pueden estar aumentados en ratas SHR jóvenes y pueden contribuir a la patogénesis de la hipertensión genética (Henrich y Levi, 1991; Hu y col., 1995; Zicha. y Kuneš, 1999). También se ha sugerido una hipersensibilidad en respuesta a la NA en ratas SHR como un elemento involucrado en la elevación y el mantenimiento de la presión arterial alta (Villalobos Molina y col., 1999). En este mismo contexto, existen datos que sugieren que la expresión del receptor α_{1D} -adrenérgico es promovida por la ANG

II, incluso antes de la aparición del proceso hipertensivo (Godínez-Hernández y col., 2006), y que la interacción sinérgica de la ANG II con las respuestas presoras producidas por la estimulación eléctrica simpática y la administración de NA exógena es mayor en ratas hipertensas (SHR) (Clough y col., 1982). La probable relevancia de la mencionada interacción en la fisiopatología de la hipertensión arterial fue sugerida por la capacidad del captopril para reducir la presión arterial en ratas SHR, pero no en ratas WKY, siendo las primeras en las que la facilitación de las respuestas adrenérgicas por la ANG II fue más importante (Clough y col., 1982). El tratamiento con captopril también disminuyó la presión arterial en ratas Alderley Park Wistar (APW) normotensas, las cuales son especialmente sensibles al efecto facilitador adrenérgico de la ANG II (Clough y col., 1982). Así, estos datos sugieren una correlación entre el efecto facilitador adrenérgico de la ANG II con la capacidad del captopril para reducir la presión arterial. El papel de los receptores α_{1A} y α_{1D} -adrenérgicos en la contracción vascular ha sido sólidamente demostrado, por lo que es muy probable que la interacción de la ANG II con las respuestas α_1 -adrenérgicas involucre la participación de alguno de estos subtipos de receptores.

HIPÓTESIS

La ANG II facilitará las respuestas presoras mediadas por la activación de los receptores α_{1D} -adrenérgicos, e inhibirá las que son mediadas por los receptores α_{1A} -adrenérgicos en la rata anestesiada.

OBJETIVO GENERAL

Analizar el efecto de la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina sobre las respuestas presoras mediadas por la activación de los receptores α_{1A} - y α_{1D} -adrenérgicos en la rata anestesiada.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar mediante el uso de antagonistas selectivos de los receptores adrenérgicos α_{1A} (RS-100329) y α_{1D} (BMY-7378) las respuestas presoras producidas por la NA (agonista preferencial α_{1D}) y el A-61603 (agonista selectivo α_{1A}) en ratas anestesiadas.
2. Analizar el efecto del inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, captopril, sobre las respuestas presoras inducidas por la NA y el A-61603 en ausencia y presencia de los fármacos antagonistas (RS-100329 y BMY-7378).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas Wistar macho de 250-300g de peso corporal, las cuales fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (50mg Kg^{-1} , i. p.). Posteriormente, se colocó una cánula de polietileno en la traquea con el fin de proporcionar respiración asistida mediante una bomba de presión positiva (Harvard apparatus; 60 ciclos/min.; volumen de 20 ml Kg^{-1}). Se colocaron cánulas de polietileno en la arteria carótida izquierda (PE-50) y en ambas venas femorales (PE-10) para el registro de la presión arterial, mediante un analizador de presión de la marca Digi-Med acoplado a una computadora, la administración de fármacos y una infusión continua de pentobarbital sódico (20 mg/kg/h), respectivamente. Ambos nervios vagos fueron seccionados.

Protocolo experimental

Después de un periodo de estabilización de 10 min., se administraron los tratamientos como se indica en cada uno de los grupos que se definen en la siguiente sección, y se construyó una curva dosis-respuesta (D-R) a la NA y al A-61603. En el caso particular de los experimentos con NA los animales fueron tratados sistemáticamente con propranolol (PRP; 1 mg/kg , i.v.) y rauwolscina (RAW; 1 mg/kg , i.v.) para prevenir la acción del agonista sobre los receptores adrenérgicos β y α_2 , respectivamente.

Grupos de animales tratados con solución salina (SAL)

Experimentos con noradrenalina

Grupo 1. Se administró SAL (1ml Kg⁻¹, i. v.), PRP (1mg Kg⁻¹, i. v.; 15 min después de SAL), RAW (1mg Kg⁻¹, i. v.; 15 min después de PRP) y SAL (1ml Kg⁻¹, i. v.; 15 min después de RAW). Después de 15 min se construyó una curva D-R a la NA (0.01, 0.031, 0.1, 0.31, 1, 3.1, 10, 31, 100, 310, 1000 ó 3100 µg Kg⁻¹, i. v.; hasta alcanzar el efecto máximo).

Grupo 2. Se administró SAL (1ml Kg⁻¹, i. v.), PRP (1mg Kg⁻¹, i. v.; 15 min después de SAL), RAW (1mg Kg⁻¹, i. v.; 15 min después de PRP) y BMV (1mg Kg⁻¹, i. v.; 15 min después de RAW). Después de 15 min se construyó una curva D-R a la NA (0.01, 0.031, 0.1, 0.31, 1, 3.1, 10, 31, 100, 310, 1000 ó 3100 µg Kg⁻¹, i. v.; hasta alcanzar el efecto máximo).

Grupo 3. Se administró SAL (1ml Kg⁻¹, i. v.), PRP (1mg Kg⁻¹, i. v.; 15 min después de SAL), RAW (1mg Kg⁻¹, i. v.; 15 min después de PRP) y RS (0.5mg Kg⁻¹, i. v.; 15 min después de RAW). Después de 15 min se construyó una curva D-R a la NA (0.01, 0.031, 0.1, 0.31, 1, 3.1, 10, 31, 100, 310, 1000 ó 3100 µg Kg⁻¹, i. v.; hasta alcanzar el efecto máximo).

Experimentos con A-61603

Grupo 1. Se administró SAL (1ml Kg⁻¹, i. v.) y, 15 min después, se administró nuevamente SAL (1ml Kg⁻¹, i. v.). Después de 15 min, se construyó una curva D-R al A-61603 (0.0031, 0.01, 0.031, 0.1, 0.31, 1, 3.1, 10, 31, 100, 310, 1000 ó 3100 µg Kg⁻¹, i. v.; hasta alcanzar el efecto máximo).

Grupo 2. Se administró SAL (1ml Kg⁻¹, i. v.) y, 15 min después se administró BMY (1mg Kg⁻¹). Después de 15 min, se construyó una curva D-R al A-61603 (0.0031, 0.01, 0.031, 0.1, 0.31, 1, 3.1, 10, 31, 100, 310, 1000 ó 3100 µg Kg⁻¹, i. v.; hasta alcanzar el efecto máximo).

Grupo 3. Se administró SAL (1ml Kg⁻¹, i. v.) y, 15 min después se administró RS (0.5mg Kg⁻¹). Después de 15 min, se construyó una curva D-R al A-61603 (0.0031, 0.01, 0.031, 0.1, 0.31, 1, 3.1, 10, 31, 100, 310, 1000 ó 3100 µg Kg⁻¹, i. v.; hasta alcanzar el efecto máximo).

Grupos de animales tratados con captopril (CAP)

Experimentos con noradrenalina

Grupo 1. Se administró CAP (5mg Kg⁻¹, i. v.), PRP (1mg Kg⁻¹, i. v.; 15 min después de SAL), RAW (1mg Kg⁻¹, i. v.; 15 min. después de PRP) y SAL (1ml Kg⁻¹, i. v.; 15 min después de RAW). Después de 15 min se construyó una curva D-R a la NA (0.01, 0.031, 0.1, 0.31, 1, 3.1, 10, 31, 100, 310, 1000 ó 3100 µg Kg⁻¹, i. v.; hasta alcanzar el efecto máximo).

Grupo 2. Se administró CAP (5mg Kg⁻¹, i. v.), PRP (1mg Kg⁻¹, i. v.; 15 min después de SAL), RAW (1mg Kg⁻¹, i. v.; 15 min. después de PRP) y BMY (1mg Kg⁻¹, i. v.; 15 min después de RAW). Después de 15 min se construyó una curva D-R a la NA (0.01, 0.031, 0.1, 0.31, 1, 3.1, 10, 31, 100, 310, 1000 ó 3100 µg Kg⁻¹, i. v.; hasta alcanzar el efecto máximo).

Grupo 3. Se administró CAP (5mg Kg⁻¹, i. v.), PRP (1mg Kg⁻¹, i. v.; 15 min después de SAL), RAW (1mg Kg⁻¹, i. v.; 15 min después de PRP) y RS (0.5mg

Kg^{-1} , i. v.; 15 min después de RAW). Después de 15 min se construyó una curva D-R a la NA (0.01, 0.031, 0.1, 0.31, 1, 3.1, 10, 31, 100, 310, 1000 ó 3100 $\mu\text{g Kg}^{-1}$, i. v.; hasta alcanzar el efecto máximo).

Experimentos con A-61603

Grupo 1. Se administró CAP (5mg Kg^{-1} , i. v.) y, 15 min después, se administró SAL (1ml Kg^{-1} , i. v.). Después de 15 min, se construyó una curva D-R al A-61603 (0.0031, 0.01, 0.031, 0.1, 0.31, 1, 3.1, 10, 31, 100, 310, 1000 ó 3100 $\mu\text{g Kg}^{-1}$, i. v.; hasta alcanzar el efecto máximo).

Grupo 2. Se administró CAP (5mg Kg^{-1} , i. v.) y, 15 min después BMY (1mg Kg^{-1}). Después de 15 min, se construyó una curva D-R al A-61603 (0.0031, 0.01, 0.031, 0.1, 0.31, 1, 3.1, 10, 31, 100, 310, 1000 ó 3100 $\mu\text{g Kg}^{-1}$, i. v.; hasta alcanzar el efecto máximo).

Grupo 3. Se administró CAP (5mg Kg^{-1} , i. v.) y, 15 min después RS (0.5mg Kg^{-1}). Después de 15 min, se construyó una curva D-R al A-61603 (0.0031, 0.01, 0.031, 0.1, 0.31, 1, 3.1, 10, 31, 100, 310, 1000 ó 3100 $\mu\text{g Kg}^{-1}$, i. v.; hasta alcanzar el efecto máximo).

Fármacos empleados

Aparte de los anestésicos, los fármacos utilizados en el presente trabajo (obtenidos de las fuentes que se indican) fueron los siguientes: noradrenalina, A-61603, BMY-7378 y RS-100329 (Tocris), Rawoscina y Propranolol (Sigma-Aldrich).

Análisis estadístico

Los datos son la media \pm EE de 6 ó más experimentos y la diferencia significativa fue analizada mediante ANOVA de dos vías de medidas repetidas con el paquete estadístico *SigmaStat*.

RESULTADOS

Curvas D-R a Noradrenalina

Efecto de los tratamientos farmacológicos sobre la presión arterial diastólica basal

Antes de analizar los resultados se evaluó el efecto de los tratamientos farmacológicos sobre la presión arterial diastólica (PAD ~ 100 mmHg) y la frecuencia cardíaca (FC ~ 338 latidos/minuto) basales (tabla 2), observando que el tratamiento con solución salina no produce ningún cambio sobre dichos parámetros. Por el contrario, el tratamiento con CAP produjo una disminución de la PAD (Δ PAD ~ 16 mmHg) sin cambios significativos sobre la FC. Posteriormente, el tratamiento con los antagonistas α_2 y β -adrenérgicos (propranolol y rawolscina, respectivamente) no promovieron cambios significativos sobre la PAD, sin embargo la FC disminuyó (Δ FC ~ 91 latidos/min). El tratamiento posterior con BMY (Δ PAD ~ 13 mmHg) y RS (Δ PAD ~ 30 mmHg) disminuyó significativamente la PAD, sin consecuencias en la FC, tanto en el grupo de animales tratados con CAP como en el grupo de animales tratados con SAL.

Estos resultados sugieren una fuerte implicación de los receptores α_{1A} -adrenérgicos en el mantenimiento del tono vascular en el modelo de la rata anestesiada, ya que la administración del antagonista selectivo para estos receptores produjo un efecto hipotensor aún más marcado que el observado con la administración del antagonista de los receptores α_{1D} -adrenérgicos (BMY).

Para determinar la participación de los receptores adrenérgicos α_{1A} - y α_{1D} -adrenérgicos en la respuesta presora a la NA se construyeron curvas D-R a este agonista en ausencia y presencia de los fármacos antagonistas (Fig. 9).

Tabla 2. Efecto de los tratamientos farmacológicos sobre los valores basales de presión arterial diastólica previo a la construcción de la curva D-R a noradrenalina.

PAD y (FC) INICIAL	GRUPO	PRP(β)+RAW(α_2)	ANTAGONISTA	PAD y (FC)FINAL	n
	SALINA				
98 \pm 3 (329 \pm 19)	99 \pm 3 (328 \pm 19)	91 \pm 3 (256 \pm 10) ^{&}	Vehículo	87 \pm 2 (256 \pm 10)	6
102 \pm 4 (356 \pm 12)	104 \pm 4 (354 \pm 12)	105 \pm 2 (264 \pm 7) ^{&}	BMY-7378 (α_{1D})	93 \pm 4 [#] (254 \pm 7)	7
105 \pm 4 (360 \pm 26)	105 \pm 4 (367 \pm 26)	99 \pm 6 (271 \pm 22) ^{&}	RS-100329 (α_{1A})	68 \pm 2 [#] (256 \pm 21)	6
	CAPTOPRIL				
91 \pm 5 (329 \pm 17)	77 \pm 4* (322 \pm 14)	71 \pm 3 (246 \pm 9) ^{&}	Vehículo	70 \pm 3 (243 \pm 9)	6
98 \pm 4 (303 \pm 54)	82 \pm 3* (341 \pm 37)	85 \pm 3 (233 \pm 27) ^{&}	BMY-7378 (α_{1D})	71 \pm 6 [#] (223 \pm 21)	6
105 \pm 4 (351 \pm 25)	86 \pm 5* (348 \pm 25)	85 \pm 7 (245 \pm 10) ^{&}	RS-100329 (α_{1A})	57 \pm 4 [#] (226 \pm 10)	9

Presión arterial diastólica (PAD en mmHg) y frecuencia cardiaca (FC en latidos/min).
* P < 0.05 vs PAD inicial; # P < 0.05 vs PRP + RW (antes del antagonista); & p < 0.05 vs FC inicial.

Efecto del captopril sobre la participación relativa de los receptores α_{1A} - y α_{1D} -adrenérgicos en respuesta a noradrenalina

En ambos grupos de animales se obtuvieron curvas D-R de tipo sigmoidal (dosis dependientes) en respuesta a la administración de las dosis crecientes de NA. Tanto el BMY como el RS promovieron un desplazamiento de la curva D-R a NA hacia la derecha, observándose un desplazamiento mayor en el grupo de

animales tratados con BMY que con RS dentro del grupo tratado con SAL (Fig. 9a) mientras que en el grupo de animales tratados con CAP (Fig. 9b), se observa un mayor desplazamiento de la curva D-R a NA provocada por la administración de RS que con BMY.

Nuestros resultados sugieren la participación de los receptores α_{1A} y α_{1D} -adrenérgicos en respuesta a NA, una disminución de la participación de los receptores α_{1D} - y un aumento de la participación de los receptores α_{1A} -adrenérgicos en respuesta a NA por efecto del CAP (Fig. 9).

Para evaluar la participación de los receptores adrenérgicos en respuesta a NA en términos numéricos se calculó el efecto máximo (E_{max}), la dosis efectiva 50 (DE50) y la relación de dosis, con la finalidad de comparar los resultados obtenidos en los animales tratados con SAL y los tratados con CAP. Los datos se muestran en la tabla 3, donde se puede apreciar una clara participación de los receptores α_{1D} - y α_{1A} -adrenérgicos en ambos grupos (SAL y CAP), ya que se observa un aumento en la dosis necesaria para producir el 50% del efecto máximo y una relación de dosis mayor a 1 tanto en los animales tratados con BMY como en los animales tratados con RS.

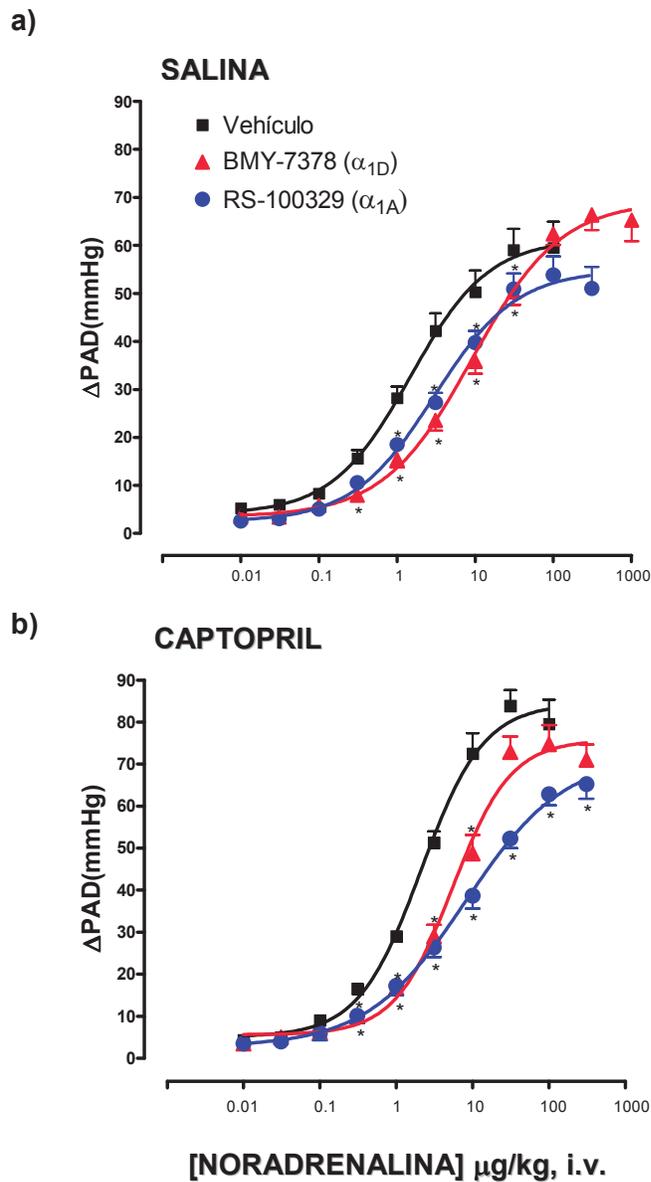


Figura 9. Efecto de BMY-7378 y RS-100329 sobre las respuestas presoras producidas por la noradrenalina en animales tratados con solución salina (a) o captopril (b). * $p < 0.05$ vs. vehículo.

Además, se puede observar una disminución de la potencia de NA en los animales a los que se les administró BMY del grupo con CAP, comparado con el

grupo con SAL, y por el contrario el CAP promueve un aumento de la capacidad del RS para antagonizar las respuestas a NA. Sin embargo, no se observa una disminución en la eficacia de NA para alcanzar el efecto máximo en presencia de ambos antagonistas,

El CAP promueve una disminución del desplazamiento de la curva hacia la derecha provocado por la administración de BMY, siendo de forma contraria cuando el antagonista fue RS, en otras palabras, la ausencia de ANG II (grupo con CAP) promueve un aumento en la activación de los receptores α_{1A} -adrenérgicos por NA, y una disminución en la activación de los receptores α_{1D} -adrenérgicos por este mismo agonista.

Tabla 3. Valores de eficacia y potencia de noradrenalina en ausencia y presencia de antagonistas.

Grupo	Antagonista	E _{max}	DE ₅₀ (µg/kg)	Relación de dosis
1. SALINA (1 ml/kg, i.v.)	VEHICULO	61.8±4.7	2.0±0.7	-
	BMY-7378 (α_{1D})	72±3.8	10.7±2.1 ⁺	5.3
	RS-100329 (α_{1A})	59.1±5	3.8±0.4 ⁺	1.9
2. CAPTOPRIL (5 mg/kg, i.v.)	VEHICULO	89.5±4.7*	2.5±0.3	-
	BMY-7378 (α_{1D})	80.5±5.1	6.8±1.0 ⁺	2.7
	RS-100329 (α_{1A})	69±3.6 ⁺	7.8±1.9 ⁺	3.1

*p<0.05 vs salina-vehículo; +p<0.05 vs vehículo.

Relación de dosis= DE₅₀ de NA con antagonista (BMY o RS) / DE₅₀ de NA sin antagonista (vehículo).

Efecto del captopril sobre las respuestas presoras a noradrenalina

Es evidente el aumento de la eficacia de NA en el grupo de animales tratados con CAP comparado con el grupo de animales tratados con SAL. Tal efecto se ve reflejado de manera más acentuada si comparamos directamente estas dos gráficas, y si valoramos la eficacia y la potencia de NA en ausencia de los antagonistas (tabla 4; Fig. 10).

Tabla 4. Valores de eficacia y potencia de noradrenalina tratados con SAL ó CAP.

Grupo	DE50 (µg/kg)	E _{max}
SALINA (1ml/kg, i.v.)	2.0 ± 0.7	61.8 ± 4.7
CAPTOPRIL (5 mg/kg, i.v.)	2.5 ± 0.3	89.5 ± 4.7 *

*p<0.05 vs salina.

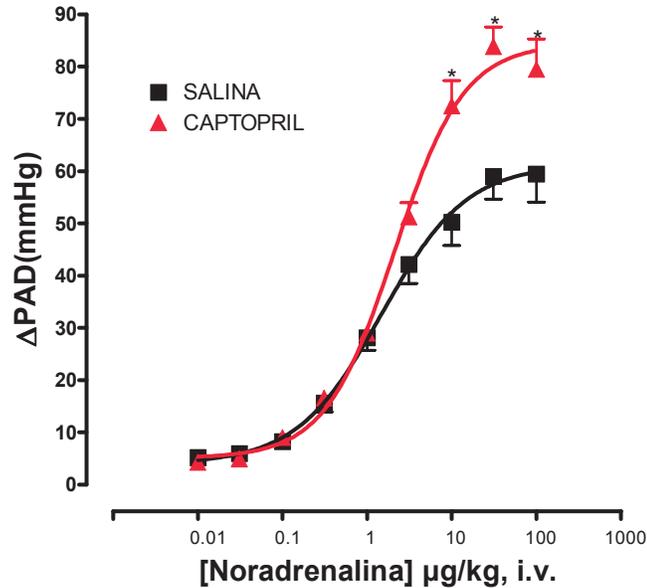


Figura 10. Efecto del captopril sobre las respuestas presoras a noradrenalina. *p<0.05 vs. salina.

Observamos un aumento estadísticamente significativo del efecto máximo en respuesta a NA comparado con el grupo de animales tratados con SAL. Estos resultados sugieren que la ANG II promueve una disminución de las respuestas presoras a NA en este modelo.

Curvas D-R al A-61603

Efecto de los tratamientos farmacológicos sobre la presión arterial diastólica basal

En la tabla 5 se encuentra tabulado el efecto de los tratamientos farmacológicos sobre la presión arterial diastólica basal. Cabe mencionar que no se muestran los resultados de los valores de FC ya que ninguno de los tratamientos promovió cambios significativos en este parámetro. Podemos observar una PAD, en promedio, de 100 mmHg antes de cualquier tratamiento y una FC de 340 latidos/min (datos no mostrados).

Por otra parte, el tratamiento con captopril (Δ PAD ~ 18 mmHg), BMY (Δ PAD ~ 22 mmHg) y el RS (Δ PAD ~ 38 mmHg) promueven una disminución significativa de la PAD en todos los casos en donde se administraron, con una mayor acentuación del efecto en el grupo de animales tratados con RS dejando una PAD basal en valores que oscilan entre los 60 mmHg, lo cual sugiere que tanto el receptor α_{1D} - como el receptor α_{1A} -adrenérgicos juegan un papel muy importante en el mantenimiento de la presión arterial normal en este modelo, al igual que la angiotensina II.

Tabla 5. Efecto de los tratamientos farmacológicos sobre los valores basales de PAD (mm Hg) previo a la construcción de la curva D-R al A-61603.

PAD INICIAL	GRUPO	ANTAGONISTA	PADFINAL	n
	1. SALINA			
98±4	98±3	Vehículo	99±4	6
102±3	103±4	BMY-7378 (α_{1D})	81±3+	7
97±5	98±6	RS-100329 (α_{1A})	58±3+	6
	2. CAPTOPRIL			
108±3	89±7*	Vehículo	88±7	6
103±4	87±3*	BMY-7378 (α_{1D})	65±4+	8
94±6	76±4*	RS-100329 (α_{1A})	41±3+	6

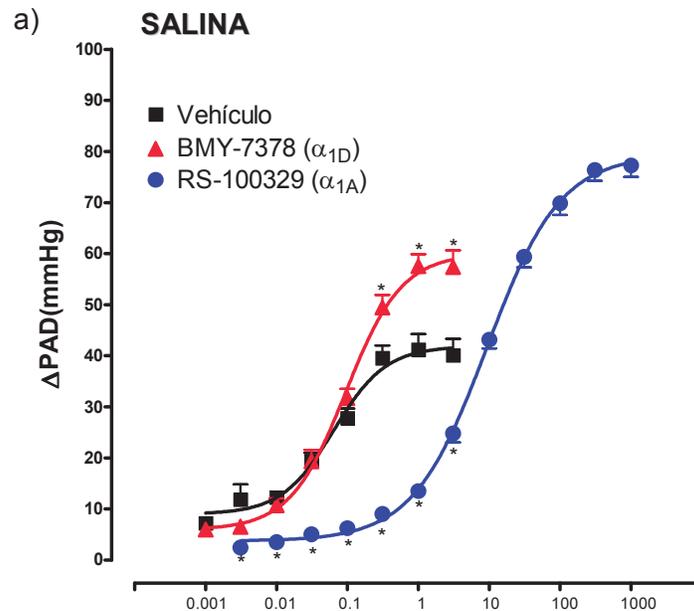
* P < 0.05 vs. PAD inicial; + p<0.05 vs. Salina ó Captopril (antes del antagonista).

Efecto del captopril sobre las respuestas presoras al A-61603 mediadas por los receptores α_{1A} - y α_{1D} -adrenérgicos

En los experimentos con el agonista A-61603 se observa una curva (tipo sigmoidal) cuya respuesta es dependiente de la dosis administrada del agonista (Fig. 11). Observamos que el tratamiento con el antagonista selectivo de los receptores α_{1D} -adrenérgicos (BMY) no produce desplazamiento de la curva D-R hacia la derecha por lo que podemos dilucidar que este subtipo de receptor no está involucrado en la respuesta al agonista. Sin embargo, la administración de este antagonista promueve un aumento de las respuestas al A-61603, lo cual se hace notar solo en el grupo de animales tratados con SAL ya que en el grupo de

animales tratados con CAP se observa un incremento de la curva D-R al A-61603 *per se*.

Se observa de manera contundente que el RS promueve un desplazamiento de la curva hacia la derecha en respuesta a la administración de dosis crecientes de A-61603, lo que sugiere que las respuestas al A-61603 son mediadas por la activación de los receptores α_{1A} -adrenérgicos y no por los α_{1D} . También es evidente un aumento de la eficacia del A-61603 cuando los animales fueron tratados con RS (Fig. 11 a y b), lo cual puede ser debido, en parte, a la participación de los receptores α_{1D} - y α_{1A} -adrenérgicos ubicados en el endotelio cuya activación promueve un control sobre las respuestas mediadas por los receptores α_{1D} - y α_{1A} -adrenérgicos ubicados en el músculo liso vascular (Méndez y col., 2006).



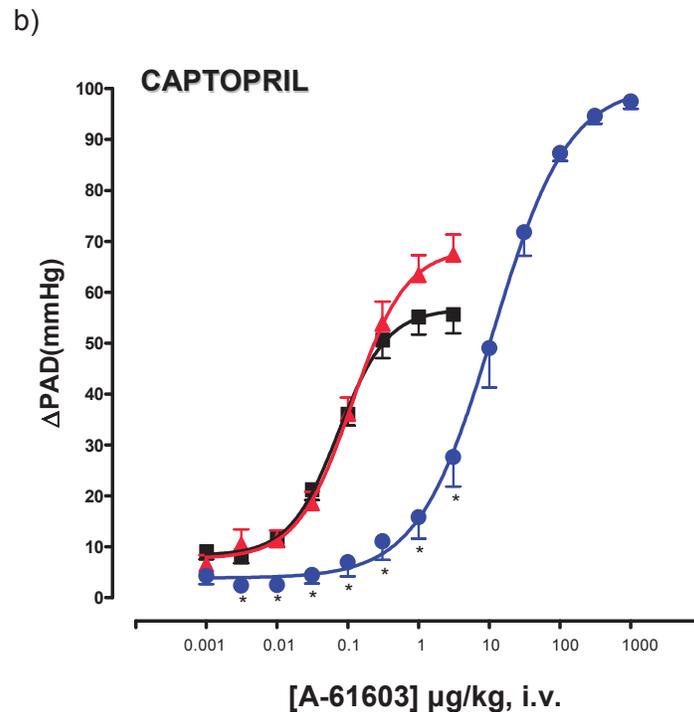


Figura 11. Efecto de BMY-7378 y RS-100329 sobre las respuestas presoras producidas por el A-61603 en animales tratados con sol. salina o captopril. * $P < 0.05$ vs. vehículo.

Para evaluar la participación de los receptores adrenérgicos en presencia y en ausencia de ANG II, se utilizaron los antagonistas respectivos. Se calcularon los valores de eficacia y potencia del A-61603 tanto en el grupo de animales tratados con SAL como en el grupo de animales tratados con CAP. Los resultados obtenidos fueron tabulados en la tabla 6, los cuales muestran una clara evidencia de la capacidad del RS para antagonizar las respuestas promovidas por la administración de A-61603, aumentando ~ 130 veces la DE50 requerida en los animales a los que solo se les administró solo el vehículo del antagonista. Tal efecto resultó despreciable para los casos en los que se administró BMY.

Además, también se hace evidente un mayor desplazamiento de la curva, promovido por el RS en el grupo de animales tratados con CAP (relación de dosis = 188) comparado con el grupo con SAL (relación de dosis = 136). Nuestros resultados sugieren que la ANG II atenúa las respuestas mediadas por la activación de los receptores α_{1A} -adrenérgicos.

Efecto del captopril sobre las respuestas presoras al A-61603

Para evaluar de forma directa el efecto del CAP sobre las respuestas mediadas por la activación de los receptores α_{1A} -adrenérgicos, y aprovechando la selectividad del agonista A-61603, en la Fig. 12 (y tabla 7) se muestra una comparación de las curvas D-R a este agonista, con un tratamiento previo con SAL ó CAP. Se obtuvo un efecto potenciador de las respuestas al A61603 cuando se administró CAP, de esta forma estos resultados sugieren un efecto modulador negativo de ANG II sobre las respuestas α_{1A} -adrenérgicas.

Tabla 6. Valores de eficacia y potencia de A-61603 en ausencia y presencia de antagonistas.

Grupo	Antagonista	E _{max}	DE50 (µg/kg)	Relación de dosis
SALINA (1ml/kg)	VEHICULO	41.8±3.1	0.07±0.01	-
	BMY-7378 (α1D)	57.9±3.3+	0.1±0.01	1.5
	RS-100329 (α1A)	78.5±2.3+	9.5±1.3+	136.0
CAPTOPRIL (5mg/kg, i.v.)	VEHICULO	56.5±3.5*	0.08±0.03	-
	BMY-7378 (α1D)	68.1±4.1	0.1±0.02	1.8
	RS-100329 (α1A)	98.0±3.7+	13.2±3.3+	188.9

*p<0.05 vs. salina-vehículo; +p<0.05 vs. vehículo.

Tabla 7. Valores de eficacia y potencia de noradrenalina tratados con SAL ó CAP.

Grupo	DE50 (µg/kg)	E _{max}
SALINA (1 ml/kg, i.v.)	0.07 ± 0.01	42 ± 3
CAPTOPRIL (5 mg/kg, i.v.)	0.08 ± 0.03	57 ± 4 *

*p<0.05 vs. salina.

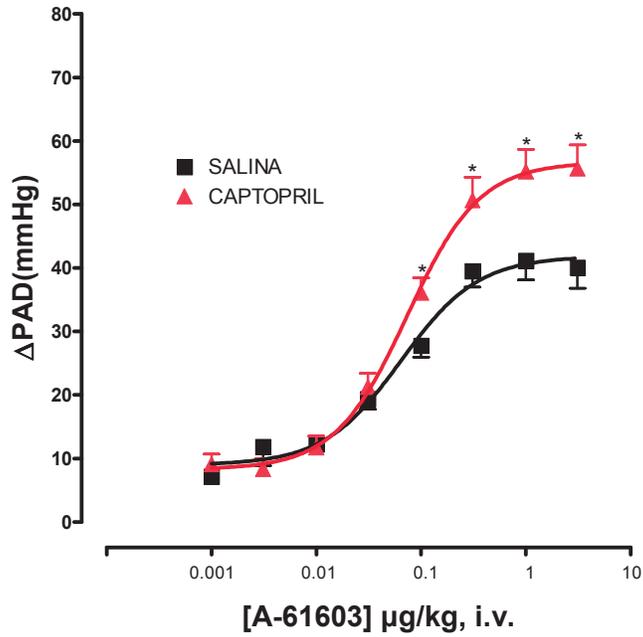


Figura 12. Efecto del captopril sobre las respuestas presoras al A-61603. * p<0.05 vs. salina.

DISCUSIÓN

La interacción de la ANG II con las respuestas α_1 -adrenérgicas adquiere relevancia considerando que los receptores α_{1D} -adrenérgicos han sido implicados en el origen y/o el mantenimiento de la hipertensión arterial. Por lo tanto, el entendimiento de esta interacción puede ser relevante para dilucidar los mecanismos fisiopatológicos involucrados en la génesis de esta enfermedad. La NA es un agente vasoconstrictor ampliamente conocido, sin embargo, la interacción de la ANG II con las respuestas producidas por la NA aun no se conoce con claridad, y en específico con las respuestas mediadas por la activación de los subtipos de receptores α_1 -adrenérgicos. Se ha propuesto que la ANG II promueve un aumento de las respuestas presoras mediadas por la activación de estos receptores pero no se conoce si existe una respuesta diferencial por los subtipos. En el presente trabajo se observa claramente que las respuestas al agonista NA son mediadas por la activación de los receptores α_{1A} y α_{1D} -adrenérgicos en la rata anestesiada puesto que los antagonistas selectivos BMY y RS bloquearon significativamente la respuesta presora (Fig. 9). Además, se observó que la propia administración del BMY y del RS promovieron una disminución significativa de la PAD basal (tabla 2), observándose un efecto hipotensor más pronunciado en el grupo con RS (resultados apoyados con los resultados en el grupo de animales a los que se les administró A-61603), lo que sugiere un papel importante tanto del receptor α_{1D} - como del α_{1A} -adrenérgico en el mantenimiento del tono vascular basal. El caso contrario fue observado en los

grupos de animales tratados con PRP y RAW cuyos efectos no promovieron un cambio significativo de la PAD basal.

En este mismo sentido se observó que el CAP promovió un efecto hipotensor a la dosis de 5 mg/Kg i. v., tanto en el grupo de animales a los que se les administró NA como a los que se les administró A-61603 (tablas 2 y 5), sugiriendo la participación de ANG II como un agente involucrado en el mantenimiento de la PAD en este modelo.

El efecto de la inhibición de la ECA sobre las respuestas presoras mediadas por la activación de los receptores α_{1D} - y α_{1A} -adrenérgicos fue en realidad diferencial ya que nuestros resultados muestran un aumento en la capacidad del RS para bloquear las respuestas presoras inducidas por la administración de NA y una aparente disminución de la del BMY para bloquear las respuestas a este mismo agonista, cuando los animales fueron tratados previamente con CAP (5mg/kg) (Fig. 9 a y b). Lo anterior sugiere un efecto potenciador de la ANG II sobre las respuestas presoras mediadas por la activación del receptor α_{1D} -adrenérgico y una modulación negativa sobre las respuestas dependientes de la activación del receptor α_{1A} -adrenérgico. En este mismo sentido, el CAP promueve un aumento de las respuestas presoras a NA, pero cabe destacar que tal efecto solo es evidente a dosis mayores de NA, y teniendo en cuenta que la NA es un agente que se une preferencialmente al subtipo α_{1D} -adrenérgico, probablemente a dosis mayores la relativa selectividad de la NA se pierde con lo cual el agonista estimularía también a los receptores α_{1A} -adrenérgicos (Fig. 10). Esto concuerda con los resultados con el uso de

antagonistas, en donde se observa que el CAP promueve un aumento en la participación de los receptores α_{1A} -adrenérgicos en respuesta a NA y una disminución en la participación de los receptores α_{1D} -adrenérgicos.

El A-61603 es un agonista altamente selectivo de los receptores α_{1A} -adrenérgicos, siendo por este, aproximadamente 100 veces más selectivo que por los otros dos subtipos, por lo que cabría esperar que el antagonismo de los receptores α_{1D} -adrenérgicos por el BMY no produzca cambios significativos en la curva D-R al agonista. Esta premisa no se cumplió en su totalidad, ya que la administración previa de BMY produjo un inesperado aumento de la eficacia del A-61603 para alcanzar el efecto máximo, sin embargo este efecto se vió enmascarado en el grupo tratado con CAP, ya que su administración promovió un aumento de las respuestas presoras al agonista (Fig. 11 a y b).

Nuestros resultados con A-61603 en el grupo de animales a los que se les administró RS (Fig. 11 a y b) sugieren la existencia de un mecanismo hipotensor, que se contrapone a los efectos presores producidos por este agonista. Tal mecanismo podría incluir la existencia de receptores α_{1A} - y α_{1D} -adrenérgicos ubicados en el endotelio y cuya activación, se ha demostrado, promueve la síntesis de un potente agente hipotensor, el óxido nítrico (Méndez y col., 2006). En nuestra propuesta, estos receptores podrían ser susceptibles a los agentes antagonistas y con ello entorpecer el mecanismo de síntesis de NO, promoviendo un aumento de la respuesta al agonista, sin embargo, esto queda como una hipótesis y/o perspectiva del presente trabajo.

Sin embargo, el incremento de la respuesta presora al A-61603 en animales tratados con RS puede ser debido, también, en parte a la marcada reducción de la presión arterial basal en este grupo de animales, la cual fue de alrededor de 40 mmHg (tabla 5). No obstante, tal incremento no se observó en las respuestas presoras a la NA en animales tratados con RS, en los cuales, también se observó una fuerte disminución de los valores basales de la presión arterial (tabla 2).

Por otra parte, algo evidente es que la administración de BMY minutos antes de la construcción de la curva a A-61603 no produjo ningún bloqueo de la respuesta al agonista, por lo que podemos concluir que la respuesta a la administración del A-61603 es mediada por la activación de los receptores α_{1A} -adrenérgicos, apoyándonos en los resultados con el antagonista selectivo de los receptores α_{1A} -adrenérgicos, cuyo efecto fue notable, desplazando la curva D-R hacia la derecha (Fig. 11; tabla 6).

El tratamiento con CAP promovió un aumento de la potencia del RS (aumento del valor DE50) para antagonizar las respuestas presoras al A-61603 (tabla 6), lo cual sugiere que en ausencia de ANG II las respuestas mediadas por la activación de los receptores α_{1A} -adrenérgicos se ven potenciadas, es decir que ANG II promueve una regulación negativa sobre dichas respuestas. Estos resultados apoyan nuestros resultados previos con NA, en donde el CAP aumentó la potencia del RS como antagonista de NA.

Dado que la respuesta presora producida por la administración de A-61603 es mediada por la activación de los receptores α_{1A} -adrenérgicos, basta

con comparar las respuestas presoras al agonista A-61603 en ausencia de fármacos antagonistas (Fig. 12), para apreciar el efecto potenciador de CAP, sugiriendo y apoyando la hipótesis de que ANG II disminuye las respuestas presoras mediadas por la activación de los receptores α_{1A} -adrenérgicos.

RESUMEN DE RESULTADOS

- Noradrenalina ejerce sus efectos contráctiles mediante su unión y activación a los receptores α_{1A} - y α_{1D} -adrenérgicos, mientras que el A-61603 lo hace activando a los receptores α_{1A} -adrenérgicos.
- La inhibición de la enzima convertidora de angiotensina con captopril promueve un aumento en la participación de los receptores α_{1A} -adrenérgicos en respuesta a noradrenalina y al A-61603.
- La inhibición de la enzima convertidora de angiotensina con captopril promueve una disminución en la participación de los receptores α_{1D} -adrenérgicos en respuesta a noradrenalina.

CONCLUSIÓN

Los resultados con captopril apoyan la hipótesis de que la ANG II ejerce una modulación opuesta de las respuestas presoras adrenérgicas α_{1D} (facilitación) y α_{1A} (inhibición).

PERSPECTIVAS

- Evaluar esta interacción sinérgica de ANG II sobre las respuestas α_{1D} -adrenérgicas con un agonista que sea altamente selectivo por este subtipo de receptor.
- Investigar la participación que pudieran tener los receptores α_{1B} -adrenérgicos en esta interacción, con el uso de herramientas farmacológicas (agonistas y antagonistas).
- Dilucidar el papel que desempeñan los tipos de receptores a la ANG II (AT1 y AT2) en esta interacción, cuya activación se ha demostrado promueve la síntesis de agentes vasoactivos tales como prostaglandinas, óxido nítrico y bradicinina.
- Establecer un modelo experimental para dilucidar la participación de los receptores α_1 -adrenérgicos ubicados en el endotelio.
- Investigar si esta interacción se ve modificada en un modelo patológico como lo son las ratas con hipertensión arterial genética.

REFERENCIAS

- Aboud R., Shafi M. y Docherty J.R. Investigation of the subtypes of α_1 -Adrenoceptor mediating contraction of rat aorta, vas deferens and spleen. *Br. J. Pharmacol* 109:80–87. 1993.
- Ahlquist R. F. A study of the adrenotropic receptors. *Am J Physiol* 153:586-600. 1948.
- Aldelstein R. S., y Hathaway D. R. Role of calcium and cycle adenosine 3, 5 monophosphate in regulating smooth muscle contraction. Mechanism of excitation contraction coupling in smooth muscle. *Am. J. Cardiol.* 44: 783-787. 1976.
- Black J. W., Crowther A. F., Shanks R. G., Smith L. H. y Dornhorst A. C. A new adrenergic beta-receptor antagonist. *Lancet*, I: 1080–1081. 1964.
- Boke T. y Malik K. Enhancement by locally generated angiotensina II of release of the adrenergic transmitter in the isolated rat kidney. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*; 226: 900-907. 1983
- Bumpus F. M., Catt K. J., Chiu A. T., DeGasparo M., Goodfriend T., Husain A., Peach M. J., Taylor D. G. Jr. y Timmermans P. B. Nomenclature for angiotensin receptors. A report of the nomenclature committee of the council for high blood pressure research. *Hypertension.* 17:720-721. 1991.

-
- Bylund D. B., Regan J. W., Faber J. E., Hieble J. P., Triggle C. R. y Ruffolo R. R. Jr. Vascular α -adrenoceptors: from the gene to the human. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 73:533–543. 1995.
 - Carey R. M., Wang Z. Q., Siragy H. M. Role of the angiotensin type 2 receptor in the regulation of blood pressure and renal function. *Hypertension*, 35: 155–163. 2000.
 - Clough D. P., Hatton R., Keddie J. R. y Collis M. G. Hypotensive action of captopril in spontaneously hypertensive and normotensive rats. Interference with neurogenic vasoconstriction. *Hypertension*; 4, 764-772, 1982.
 - Daniel EE, Brown R. D., Wang Y. F., Low A. M., Lu-Chao H. y Kwan C. Y. α -Adrenoceptors in canine mesenteric artery are predominantly α_{1A} -subtype: pharmacological and immunochemical evidence. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 291:671–679. 1999.
 - De Jonge Adriaan, Bob Wilffert, Kalkman Hans O., Jacques C. A. Van Meel, Martin J. M. C. Thoolen, Pieter B. M. W. M. Timmermans y Pieter A. Van Zwieten. Captopril impairs the vascular smooth muscle contraction mediated by postsynaptic α_2 -adrenoceptors in the pithed rat. *J. Pharmacol.* 74; 385-386. 1981.
 - De Jonge A., Knape J. Th. A., Van Meel J. C. A., Kalkman H. O., Wilffert B., Thoolen M. J. M. C., Timmermanns P. B. M. W. M. y Van Zwieten P. A. Pre- and postganglionic stimulation-induced noradrenaline overflow is markedly facilitated by a prejunctional β_2 -adrenoceptor-mediated control

mechanism in the pithed rat. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 321: 309-313. 1982.

- De Mey J. y Vanhoutte P. M. Uneven distribution of postjunctional α_1 - and α_2 -like adrenoceptors in canine arterial and venous smooth muscle. *Circ. Res.* 48:875–884. 1981.
- Duckles S. P. Angiotensin II potentiates responses of the rabbit basilar artery to adrenergic nerve stimulation. *Life Sci.* 28: 635-640. 1981
- Dunn W. R., McGrath J. C. y Wilson V. G. Influence of angiotensin II on the α -adrenoceptors involved in mediating the responses to sympathetic nerve stimulation in the rabbit isolated distal saphenous artery. *J. Pharmacol.* 102:10-12. 1991.
- Flavahan N. A., Cooke J. P. Shepherd J. T. y Vanhoutte P. M. Human postjunctional α_1 and α_2 adrenoceptors: differential distribution in arteries of the limbs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 241:361–365. 1987.
- Flavahan N. y Vanhoutte P. M. α_1 -Adrenoceptor subclassification in vascular smooth muscle. *Trends Pharmacol. Sci.* 7:347–349. 1986.
- Ford A. P. D. W., Arredondo N. F., Blue D. R., Bonhaus D. W., Jasper J., Kava M. S., Lesnick J., Pfister J. R., Shieh I. A., Vimont R. L., Williams J. T., McNeal J. E., Stamey T. A. y Clarke D. E. RS-17053 (N-(2-(cyclopropylmethoxy) ethyl)-5-chloro- α , α -dimethyl-1H-indole-3-ethanamine hydrochloride), a selective α_1 -adrenoceptor antagonist, displays low affinity for functional α_1 -adrenoceptors in human prostate:

implications for adrenoceptor classification. *Mol. Pharmacol.* 49:209–215. 1996.

- Gabella G. Structural apparatus for force transmission in smooth muscles. *Physiol. Rev.* 64, 455-477. 1984.
- Garcia-Sáinz J. A. Adrenaline and its receptors: One hundred years of research. *Arch. Med. Res.* 26: 205-212. 1995.
- Gasc J-M, Shanmugam S., Sibony M. y Corvol P. Tissue-specific expression of type 1 angiotensin II receptor subtypes: an in situ hybridization study. *Hypertension*, 24:531–537. 1994.
- Gisbert R., Noguera M. A., Ivorra M. D. y D'Ocon P. Functional evidence of a constitutively active population of α_1D -adrenoceptors in rat aorta. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 295:810–817. 2000.
- Godínez-Hernández D., Gallardo-Ortiz J. A., López-Sánchez P. y Villalobos-Molina R. Captopril therapy decreases both expression and function of α_1D -adrenoceptors in prehypertensive rat aorta. *Autonomic and Autocoid Pharmacol.* 26: 21-29. 2006.
- Goodman Gilman A., Ruddon R. W., Molinoff P. B., Limbird L. E. y Hardman J. G. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Novena edición. McGraw-Hill Interamericana. Vol. I. Capítulo 31. pp 785-790. 1996.
- Graham Robert M., Perez Dianne M., Hwa Johan y Piascik Michael T. α_1 -adrenergic receptor subtypes. *Molecular Structure, Function and Signaling. Circ. Res.* 78:737-749. 1996.

-
- Guarino R. D., Perez D. M. y Piascik M. T. The α 1-adrenenergic receptors. *Cell Signal* 8:323–333. 1996.
 - Gudermann T., Kalkbrenner F., Schultz G. Diversity and selectivity of receptor-G-protein interaction. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 36, 429–460. 1996.
 - Guyton A. C. y Hall J. E. *Tratado de Fisiología Médica*. 9ª Edición. Edit. McGraw Hill Interamericana. México. Capítulo 18. pp 223-225. 1997.
 - Hamm H. E., Gilchrist A. Heterotrimeric G-proteins. *Curr. Oper. Cell. Biol.* 8, 189–196. 1998.
 - Han C., Li J. y Minneman K. P. Subtypes of α 1-adrenoceptors in rat blood vessels. *Eur. J. Pharmacol.* 190:97–104. 1990.
 - Harstorne D. J. Biochemistry of the contractile process in smooth muscle. *Physiology of the gastrointestinal tract*. Ed. Johnson L. R. New York. Raven Press. pp. 423-482. 1987.
 - Henrich W. L., y Levi M. Ontogeny of renal rennin release in spontaneously hypertensive rat and Wistar-Kyoto rat. *Am. J. Physiol.* 260: F530-F535. 1991.
 - Hepler J. R. y Gilman A. G. G proteins. *Trends. Biochem. Sci.* 17: 383–387. 1992.
 - Hieble J. P., Bylund D. B., Clarke D. E., Eikenburg D. C., Langer S. Z., Lefkowitz R. J., Minneman K. P. y Ruffolo B. B. International Union of Pharmacology. X. Recommendation for nomenclature of α 1-adrenoceptors: consensus update. *Pharmacol. Rev.* 47:267–270. 1995.

-
- High Blood Pressure. <http://www.healthinfotranslations.com/pdfDocs/High-Blood-Pressure-Sp-Fin.pdf>. 2005
 - Holck M. I., Jones C. H. M. y Haeusler G. Differential interactions of clonidine and methoxamine with the postsynaptic α -adrenoceptor of rabbit main pulmonary artery. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 5:240-248. 1983.
 - Hong-Tai Li, Long Carlin S., Gray Mary O., Rokosh D. Gregg, Honbo Norman Y., Karliner Joel S. Cross Talk between angiotensin AT₁ and α ₁-adrenergic receptors. Angiotensin II downregulates α _{1a}-adrenergic receptor subtype mRNA and density in neonatal rat cardiac myocytes. *Cir. Res.* 81: 396-403. 1997.
 - Hrometz S. L., Edelman S. E., McCune D. F., Olges J. R., Hadley R. W., Perez D. M. y Piascik M. T. Expression of multiple α 1-adrenoceptors on vascular smooth muscle; correlation with the regulation of contraction. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 290:452–463. 1999.
 - Hu Z. W., Shi X. Y., Okazaki M. y Hoffman B.B. Angiotensin II induces transcription and expression of alpha-1 adrenergic receptors in vascular smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.* 268: H1006-1014. 1995.
 - Hussain M. B. and Marshall I. α 1-Adrenoceptor subtypes mediating contractions of the rat mesenteric arteries. *Eur. J. Pharmacol.* 395:69–76. 2000.
 - Ikebe M. y Reardon S. Phosphorylation of smooth myosin light chain kinase by smooth muscle Ca²⁺/calmolulin dependent multifunctional protein kinase. *J. Biolog. Chemistry*, 265: 8975-8978. 1989.

-
- Iwai N, Inagami T. Identification of two subtypes in the rat type I angiotensin II receptor. *FEBS Lett.* 298:257–260. 1992.
 - Kamaide H., Ichiki T., Nishimura J. y Hirano K. Cellular mechanism of vasoconstriction induced by angiotensina II. *Circ. Resch.* 93: 1015-1017. 2003.
 - Kava M. S., Blue D. R., Vimont R. L., Clarke D. E. y Ford A. P. D. W. α 1L-Adrenoceptor mediation for lower urinary tract tissues of man. *Br. J. Pharmacol.*, 123:1359–1366. 1998.
 - Khairallah P. A. Action of angiotensin on adrenergic nerve endings: inhibition of norepinephrine uptake. *Fed. Proc.* 31: 1351-1357. 1972.
 - Konishi H., Kuroda S., Inada Y., Fujisawa Y. Novel subtype of human angiotensin II type 1 receptor: cDNA cloning and expression. *Biochem, Biophys, Res, Commun*, 199:467–474. 1994,
 - Langer S. Z. Presynaptic regulation of catecholamine release. *Biochem. Pharmacol.* 23:1793–1800. 1974.
 - Leech C. J. y Faber J. E. Different α -adrenoceptor subtypes mediate constriction of arterioles and venules. *Am. J. Physiol.*, 270:H710–H722. 1996.
 - Lefkowitz R. J., Hoffman B. B. And Taylor P. Neurotransmission (eds) Hord J. G., Limbird L. E., Molinoff P. B., Ruddon R. W. and Gilman A. G. In Goodman & Gilman's. *The Pharmacological basis of therapeutics* pp: 113-145. 1996.

-
- Lomasney J. W., Cotecchia S., Lorenz W., Leung W-Y, Schwinn D. A., Yang-Feng T. L., Brownstein M., Lefkowitz R. J. y Caron M. Molecular cloning and expression of the cDNA for the α_1A -adrenergic receptor. *J. Biol. Chem.* 266:6365–6369. 1991.
 - Lowy J., Poulsen F. R. y Vicbert P. J. Miosyn filaments in vertebrate smooth muscle. *Nature* 225: 1053-1054. 1970.
 - MacLean M. R. y Ungar A. Effects of the renin-angiotensin system on the reflex response of the adrenal medulla to hypotension in the dog. *J. physiol.* 373: 343-352. 1986.
 - Marano G. y Argiolas L. Postjunctional regulation by angiotensin II of α_1 -adrenoceptor-mediated pressor responses in the rat. *Eur. J. Pharmacol.* 261: 121-126. 1994.
 - Marín J. Mechanisms involved in the increased vascular resistance in hypertension. *J. Auton. Pharmacol.* 13: 127-176. 1993.
 - McGrath J. C. Evidence for more than one type of postjunctional α -adrenoceptor. *Biochem. Pharmacol.* 31:467–484. 1982.
 - Means A. T., Vanberkum F. A., Bagchi I., Lu K. P. Rasmussen C. D. regulatory functions of calmodulin. *Pharmacol. Ther.* 50: 255-270. 1991.
 - Mendez E., Calzada C., Ocharan E., Sierra A., Castillo C., Ramírez I., Meaney E., Meaney A., Asbun J., Miliar A., Herrera J. y Ceballos G. Differential expression of α_1 -adrenergic receptor subtypes in coronary microvascular endothelial cells in culture. *Eur. J. Pharmacol.* 546:127–133. 2006.

-
- Mian M. A., Majewski H., Rand M. J. Facilitation of noradrenaline release by isoprenaline in rat isolated atria does not involve angiotensin II formation. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 16: 905-911. 1989.
 - Michel M. C., Kenny B. y Schwinn D. A. Classification of the α 1-adrenoceptor subtypes. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 352:1–10. 1995.
 - Miller J. W., Hu Z. W., Okazaki M., Fujinaga M. y Hoffman B. B. Expression of alpha 1 adrenergic receptor subtype mRNAs in the rat cardiovascular system with aging. *Mech. Ageing Dev.* 87:75–89. 1996.
 - Minneman K. P. α 1-adrenergic receptor subtypes, inositol Phosphates and Sources of Cell Ca^{2+} . *Pharmacol. Rev.* 40:87-119, 1988.
 - Morrow A. L. y Creese I. Characterization of α 1-adrenergic receptor subtypes in rat brain: a reevaluation of 3H-WB 4101 and 3H-prazosin binding. *Mol. Pharmacol.* 29:321–333. 1986.
 - Mukoyama M., Nakajima M., Horiuchi M., Sasamura H. Pratt R. E. y Dzau V. J. Expression cloning of type-2 angiotensin II receptor reveals a unique class of seven-transmembrane receptors. *J. Biol. Chem.* 268: 24539-24542. 1993.
 - Muramatsu I., Ohmura T., Kigoshi S., Hashimoto S. y Oshita M. Pharmacological subclassification of α 1-adrenoceptors in vascular smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.* 99:197–201. 1990.
 - Murphy R. A. Contraction in smooth muscle cells. *Annu. Rev. Physiol.* 51, 275-283. 1989.

-
- Murphy T. J., Alexander R. W., Griendling K. K., Runge M. S. y Bernstein K. E. Isolation of a cDNA encoding the vascular type-1 angiotensin II receptor. *Nature*. 351: 233-236. 1991.
 - Musgrave I. F. y Majewski H. Effect of phorbol ester and pertussis toxin on the enhancement of noradrenaline release by angiotensin II in mouse atria. *Br. J. Pharmacol.* 96:609-616. 1989.
 - Nap Alexander, Balt Jippe C., Pfaffendorf Martín y Van Zwieten Pieter A. No involvement of the AT₂-receptor in angiotensin II-enhanced sympathetic transmission in vitro. *JRAAS*; 4: 100-5. 2003.
 - Ohmi K., Shinoura H., Nakayama Y., Goda N. y Tsujimoto G. Characterization of alpha 1-adrenoceptors expressed in a novel vascular smooth muscle cell line cloned from p53 knockout mice, P53LMAC01 (AC01) cells. *Br. J. Pharmacol.* 127: 756–762. 1999.
 - Panisset J-C, Bourdois P. Effect of angiotensin on the response to noradrenaline and sympathetic nerve stimulation and on 3H-noradrenaline uptake in cat mesenteric blood vessels. *Can. J. physiol. Pharmacol.* 46: 125-131. 1968.
 - Peach M. J. Renin-angiotensin system: biochemistry and mechanism of action. *Physiol. Rev.* 57:313-370. 1977.
 - Piascik M. T., Hrometz S. L., Edelman S. E., Guarino R. D., Hadley R. W. y Brown R. D. Immunocytochemical localization of the alpha-1B adrenergic receptor and the contribution of this and the other subtypes to

vascular smooth muscle contraction: analysis with selective ligands and antisense oligonucleotides. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 283:854–868. 1997.

- Polónia J., Paiva M. Q. y Guimaraes S. Pharmacological characterization of postsynaptic α -adrenoceptor subtypes in five different dog arteries in vitro. *J. Pharm. Pharmacol.* 37:205–208. 1985.
- Powell C. E. y Slater I. H. Blocking of inhibitory adrenergic receptors by a dichloro analog of isoproterenol. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 122:480–488. 1958.
- Rang H. P., Dale M. M., Ritter J. M. y Flower R. J. *Pharmacology*. Ed. Churchill Livingstone Elsevier. Sexta edición. Capítulo 9, 11 y 19. Pp: 132, 172-175 y 303-305. 2007.
- Sasaki K., Yamano Y., Bardhan S., Iwai N., Murria J., Hasegawa M., Matsuda Y. y Inagami T. Cloning and expression of a complementary DNA encoding a bovine adrenal angiotensin II Type 1 receptor. *Nature.* 351: 230-233. 1991.
- Sasamura H., Hein L., Krieger J. E., Pratt R. E., Kobilka B. K., Dzau V. J. Cloning, characterization, and expression of two angiotensin receptor (AT-1) isoforms from the mouse genome. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 185:253–259. 1992.
- Satoh M., Enomoto K., Niwano H., Fujimura H., Toyama Y., Takayanagi I. y Koike K. Regional differences in α 1-adrenoceptor subtypes in rabbit arteries. *Eur. J. Pharmacol.* 350:67–73. 1998.

-
- Satoh M., Enomoto K., Takayanagi I. y Koike K. Analysis of α 1-adrenoceptor subtypes in rabbit aorta and arteries: regional difference and co-existence. *Eur. J. Pharmacol.* 374:229–240. 1999.
 - Schulman H. y Hanson P. I. Multifunctional Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase. *Neurochem. Res.* 18: 65-67. 1993.
 - Shi A. G., Kwan C. Y. y Daniel E. E. Relation between density (maximum binding) and alpha adrenoceptor binding sites and contractile response in four canine vascular tissues. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 250:1119–1124. 1989.
 - Shoenbergz C. F. y Haselgrove J. C. Filaments and ribbons in vertebrate smooth muscle. *Nature.* 249: 152-154. 1974.
 - Sinápsis a nivel vascular. <http://iibce.edu.uy/uas/neuronas/sinap.gif>. 2005.
 - Sistema nervioso autónomo. <http://fundacionannavazquez.wordpress.com> 2007.
 - Somlyo A. P. Ultrastructure of vascular smooth muscle. *The handbook of physiology. The cardiovascular system, Vol. II, Vascular Smooth muscle.* Eds. Bhor D. F., Somlyo A. P. y Sparks H. V. Washington D. C. Am. Physiol. Soc. pp. 33-67. 1980.
 - Somlyo A. P. Excitation-contraction coupling and ultrastructure of smooth muscle. *Circ. Res.* 57: 497-508. 1985.
 - Stam W. R., Van der Graaf P. H. y Saxena P. R. Analysis of α 1L-adrenoceptor pharmacology in rat small mesenteric artery. *Br. J. Pharmacol.* 127:661–670. 1999.

-
- Stephen P. H. Alexander y John A. Peters. Receptor and Ion Channel Nomenclature Supplement, 10th ed, Trends in Pharmacological Sciences, Cambridge, UK. of alpha-2 adrenergic receptor subtypes on pig vascular endothelium. *J. Pharmacol.* 1999.
 - Stull J. T., Blumenthal D. K., Miller J. R. y Disalvo J. Regulatio of myosin phophorylation. *J. Mol. Cell. Cardiovasc.* 14: 105-110. 1982.
 - Timmermans P. B. M. W. M. y Van Zwieten P. A. α_2 -Adrenoceptors: classification, localization, mechanisms and target for drugs. *J. Med. Chem.* 25:1389–1401. 1982.
 - Timmermans P. B., Wong P. C., Chiu A. T., Herblin W. F., Benfield P., Carini D. J., Lee R. J., Wexler R. R., Saye J. A., Smith R. D. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacol. Rev.* 45:205–251. 1993.
 - Van der Graaf P. H., Deplanne V., Duquenne C. y Angel I. Analysis of α_1 -adrenoceptors in rabbit lower urinary tract and mesenteric artery. *Eur. J. Pharmacol.* 327:25–32. 1997.
 - Van der Graaf P. H., Shankley N. P. y Black J. W. Analysis of the activity of α_1 -adrenoceptor antagonists in rat aorta. *Br. J. Pharmacol.* 118:299–310. 1996.
 - Van Kleef Ellen M., Smits Jos F. M., De Mey Jo G. R., Cleutjens Jacques P. M., Lombarda Donna M., Schwartz Stephen M. y Daemen Mat J. A. P. α_1 -adrenoceptor blockade reduces the angiotensin II-induced vascular

smooth muscle cell DNA synthesis in the rat thoracic aorta and carotid artery. *Circ. Res* 70: 1122-1127. 1992.

- Vargas H. M. Zhou L. y Gorman A. J. Role of vascular alpha-1 adrenoceptor subtypes in the pressor response to sympathetic nerve stimulation in the pithed rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 271:748–754. 1994.
- Villalobos-Molina R. y Ibarra M. Alpha 1-adrenoceptors mediating contraction in arteries of normotensive and spontaneously hypertensive rats are of the alpha 1D or alpha 1A subtypes. *Eur. J. Pharmacol.* 298:257–263. 1996.
- Villalobos-Molina R., López-Guerrero J. J. e Ibarra M. Functional evidence of α_{1D} -adrenoceptors in the vasculature of young and adult spontaneously hypertensive rats. *Br. J. Pharmacol.* 126: 1534-1536. 1999.
- Williams G. H. y Braunwald E. Harrison's Internal Medicine McGraw-Hill, PP. 1024-1037. 1994.
- Xu K. M., Tang F. y Han C. Alterations of mRNA levels of alpha1-adrenoceptor subtypes with maturation and ageing in different rat blood vessels. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 24:415–417. 1997.
- Yong Du, Qiu Jingxin, Nelson Sharon H., y Wang H. Donna. Regulation of type 1 ANG II receptor in vascular tissue: role of α_1 -adrenoreceptor. *Am. J. Physiol.* 273 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 42): R1224–R1229, 1997.
- Zhong H. y Minemann K. P. α_1 -Adrenoceptor subtypes. *Eur. J. Pharmacol.* 375:261–276. 1999.

-
- Zhou L. y Vargas H. M. Vascular α_1 D-adrenoceptors have a role in the pressor response to phenylephrine in the pithed rat. *Eur. J. Pharmacol.* 305:173–176. 1996.
 - Zicha J. y J. Kuneš. Ontogenetic aspects of hypertension development: analysis in the rat. *Physiol. Rev.* 79 (4):1227-1282. 1999.
 - Zimmerman B. G. Action of angiotensin on adrenergic nerve endings. *Fed. Proc.* 37: 199-202. 1978.
 - Ziogas J, Story D. F., Rand M. J. Effects of locally generated angiotensin II on noradrenergic transmission in guinea-pig isolated atria. *Eur. J. Pharmacol.* 106:11-18. 1984.