

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS



IDENTIFICACION DE RECEPTORES ALFA-ADRENERGICOS EN LA GLANDULA  
SUBMAXILAR DE LA RATA

JUAN CARLOS ELVERDIN

Tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Veterinarias

Director de Tesis: Dr. Carlos José PEREC

Lugar de Trabajo: Cátedra de Fisiología, Facultad de Odontología  
Universidad de Buenos Aires

1 9 8 2

A MIS PADRES

## Agradecimiento

Al Dr. Carlos José PEREC, por haberme dirigido en la concreción de esta Tesis y por haberme brindado la oportunidad de formarme a su lado, mi más profundo agradecimiento.

## Agradecimientos

A la Comisión de Investigaciones Científicas (CIC), por haberme otorgado las becas que me permitieron realizar este trabajo.

Al Dr. Francisco José Evaristo STEFANO, por su apoyo y estímulo.

Al Dr. Jorge E. ERRECALDE y al Dr. Modesto C. RUBIO, por sus respectivas colaboraciones en el presente trabajo.

A la Cátedra de Fisiología de la Facultad de Odontología (UBA) y al Instituto De Investigaciones Farmacológicas (CONICET), lugares donde siempre encontré el medio adecuado para poder desarrollar esta investigación.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

AUTORIDADES

RECTOR

Prof. Dr. GUILLERMO G. GALLO

SECRETARIO GENERAL

Odont. TOMAS FUCINI

SECRETARIO DE ASUNTOS ACADEMICOS

Dr. JORGE BOLZAN

SECRETARIO DE SUPERVISION ADMINISTRATIVA

Cdor. JUAN A. AREVALO

SECRETARIO DE EXTENSION CULTURAL Y DIFUSION

Arq. JOSE MARIA MARQUINEZ

GUARDA SELLOS

Dr. FEDERICO ENRIQUE CHISTMANN

---

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

AUTORIDADES

DECANO

Prof. Dr. José H. FERNANDEZ DE LIGER

DECANO SUSTITUTO

Dr. Néstor Angel MENENDEZ

SECRETARIO DE ASUNTOS ACADEMICOS

Dr. Jorge Eugenio LED

SECRETARIO ADMINISTRATIVO

Sr. Omar Hugo RAMIREZ

DIRECTORA DE ENSEÑANZA

Sra. Haydee C. R. DE PERETTO

DIRECTORA DE BIBLIOTECA

Srita. Hebe D. PEDERNEIRA

---

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

NOMINA DEL PERSONAL DOCENTE

PROFESOR TITULAR "DEDICACION EXCLUSIVA"

<u>APELLIDO Y NOMBRE</u>	<u>CATEDRA</u>	<u>CATEGORIA</u>
ANGULO, Eusebia	Investigadora	Titular
CARROZA, Jesús S.W.	Int. a la Biofísica	Titular 1/s/s
DEMARCHI, Raúl S.	Inmun.Gral y Aplic.	Reemplazante
ERRECALDE, Jorge E.	Microbiología	Interino
ETCHEVERRIGARAY, María E.	Virología	Reemplazante
GALLO, Guillermo G.	Clín.Grand.Animales	Titular 1/s/s
MENENDEZ, Néstor A.	Anat.y Fisiolo.Patolog.	Interino
QUINTEROS, Indalecio R.	Genét. y Biometría	Titular
ZACCARDI, Eduardo M.	Fisiología	Titular

PROFESOR ASOCIADO "DEDICACION EXCLUSIVA"

MARTIN, Alcides A.	Anat.y Fisiol. Pat	Interino
--------------------	--------------------	----------

PROFESOR ADJUNTO "DEDICACION EXCLUSIVA"

BOCCIA, Francisco O.	Clín.Pequeños Anim.	Reemplazante
IDIART, Julio R.	Anat.y Fisiol.Pat.	Interino
LAGRECA, Liliana	Zotec.Gral.y Agrost.	Interino 1/c/
L/ TA, Jorge A.	Higiene Epid.y S.Púb.	Interino 1/c/
M/ INA, Marta Inés	Clín.Grand.Animales	Interino

PROFESOR TITULAR "DEDICACION TIEMPO PARCIAL"

AGUIRRE, Walter G.	Microb.Especial	Titular
ALBERDI, Cecilio	Tec.y Sanid.Aliment.	Interino

///

///

ANDREATTA, Jorge N.	Semiología y Proped.	Interino
ARGERI, Nelson J.	Análisis Clín.I y II	Reemplazante
BERTOLINI, José M.	Anatomía Comparada	Interino
DELPATO, Ismael O.	Anat.Descript.y Top.	EMERITO
GODOY, Juan C.	Zootec.Espec.I Pte.	Interino
JENSEN, Alicia D.	Bioestadística	Interino
LED, Jorge E.	Parasit.y Enf.Parasit.	Interino
OCHOA, Mario E.	Director Inst.Sta.Cat.	Interino
OTTINO, Julio F.	Histología Normal	Interino
PRACCA, Lydia C.	Clín.Pequeños Anim.	Titular
RODRIGUEZ, Benjamín R.	Zootec.Espec.II Pte.	Interino
TESORIERO, Catalina	Física y Quím.Aplic.	Reemp. 1/s/s
TORRES, Jorge F.	Int. a la Bioquímica	Interino

PROFESOR ADJUNTO "DEDICACION TIEMPO PARCIAL"

BRANDETTI, Eugenio	Anat.y Fisiol.Pat.	Interino
CHAMPREDONDE, Hugo N.	Patología General	Interino
DURANTE, Eduardo J.	Patolog.Quirúrg.y Pod.	Interino 1/c/s
ERRECALDE, Jorge O.(h)	Farmacol.Farm.y Terap.	Interino 1/c/s
FERNANDEZ, Enrique J.	Microbiología	Interino
GOMEZ, Carlos M.	Inmunología II	Interino
MAGGI, Nilda B.	Serv.Central de Cirug.	Reemplazante
MAROTTA, Eduardo G.	Zootec.Espec.I Pte.	Interino 1/c/s
MARTINO, Juan J.	Microbiología	Titular
MERLINI, José C.	Patol.Reprod.y Obst.	Interino
NOIA, Miguel A.	Introd.a la Biofísica	Interino
ORTEGA, César F.	Semiología y Proped.	Interino
PENNIMPEDE, María T. del A.	Tecnolog.y Sanid.Alim.	Interino
PIOVANO, Nicolas M.	Introd.a la Bioquímica	Interino
REINOSO, Enso M.	Micol.Médica e Indust.	Reemplazante
RUAGER, Jorge	Anat.y Fisiol.Patolog.	Interino

PROFESOR TITULAR " DEDICACION SIMPLE "

AGUIRRE, Walter G.	Microbiol.Aplicada	Titular
ALBERDI, Cecilio	Tecnol.y Sanid.Aliment.	Interino
CARROZA, Jesús S.W.	Introd.a la Biofísica	Titular

///

///

ERRECALDE, Jorge E.	Enfermed.Infecciosas	Interino
GIMENO, Emilio J.	Higiene Epid.y S.Púb.	Titular
HARISPE, Carlos M.	Enfermedades Infecc.	EMERITO
ISEAS, Fortunato B.	Patología Médica	Interino
MALIANDI, Florestán S.	Parasitol.Comparada	Interino
MANZULLO, Alfredo	Inmunología I	EMERITO
MANZULLO, Alfredo	Inmunología II	EMERITO
MARTINO, Olindo A.L.	Salud Pública	Interino
OSTROWSKI, Jorge E.B.	Patol.Reprod.y Obst.	Interino
PANZONI, Erico E.	Economía Agraria	Titular
PENNIMPEDE, Enrique F.F.	Inmunol.Gral.y Aplic.	Interino
PEROTTI, Rodolfo M.	Zotec.Espec.III Pte.	Titular
RUAGER, Jorge	Patología General	Interino
SARACHU, Alberto N.	Genética Microbiana	Interino 1/c/s
SCIAMMARELLA, Alfredo M.	Medicina Operatoria	Interino
TORRES, Jorge F.	Física y Química Apl.	Reemplazante
TOUCEDO, Guillermo A.	Patolog.Quirúrg.y Pod.	Titular

PROFESOR ADJUNTO "DEDICACION SIMPLE"

BACIGALUPO, Néstor R.	Tecnol.y Sanid.Aliment.	Interino
BAIGUN, Roberto	Patolog.Reprod.y Obst.	Interino
BRANDETTI, Eugenio	Parasit.y Enferm.Paras.	Interino
DIBBERN, Alberto R.	Zotec.Espec. II Pte.	Interino
FERNANDEZ DE LIGER, José	Clín.Grandes Anim.	Titular
FINOCHIETTO, Héctor D.	Patología Médica	Interino
GAMBOA, Rogelio A.	Clín.Grandes Anim.	Interino
GRILLO, Virginia E.	Zoot.Especial III PTE.	Interino
LASTA, Jorge A.	Microbiolog. Aplicada	Interino
MALIANDI, Florestán S. (h)	Higiene Epid.y S.Púb.	Interino
MOISO, Alejandro C.	Microbiología	Titular
MORELLI, Héctor A.	Zotec.Espec.III Pte.	Titular
NOVARINI, Miguel A.	Farmacolog.Farm.y Terap.	Interino
OLIVA, Graciela A.	Virología	Interino
PENNIMPEDE, Enrique F.F.	Inmunología I Pte.	Interino
ROJAS, Edmundo R.	Fisiología	Interino
RUTTER, Bruno	Patolog.Reprod.y Obst.	Interino
TARSIA, Elba E.	Introduc.a la Biofísica	Interino
VENTURINI, Lucila M.	Parasit.y Enferm.Paras.	Interino

///

///

VILLAR, Marta E.	Análisis Clin I Pte.	Interino
VILLAR, Marta E.	Análisis Clin II Pte.	Interino

JEFES DE TRABAJOS PRACTICOS "DEDICACION EXCLUSIVA"

BASCHAR, Héctor O.	Clín.Grandes Animales	Interino
FONROUGE, Reinaldo	Hig.Epidem.y S.Púb.	Interino
RONSIÑO, Roberto O.	Sección Radioisótopos	Interino
TEJEDOR, Eugenio D.	Genét. y Biometría	Interino

JEFES DE TRABAJOS PRACTICOS "DEDICACION TIEMPO PARCIAL"

ALIVERTI, Héctor M.	Zootec.Espec.II Pte.	Interino
ALLEVATO, Hugo L.	Hig. Epidem.y S.Públ.	Interino
AMASINO, Carlos F.	Enfermedades Infecciosas	Interino
AULICINO, Oscar O.	Tecnol.y Sanid.Aliment.	Interino
BABUSCI, Máximo	Fisiología	Interino
BAMBILL, Emilia G.	Zoot.Esp.II Pte.	Interino
BARDON, Juan C.	Patología Médica	Interino
BARRENA, Javier E.	Anatomia Descrip.y Top.	Interino
BERNAGOZZI, Jorge A.	Inmunol.Gral.y Aplic.	Interino
BISCHOFF, Jorge R.	Genét. Y Biometría	Interino
BUGALLO, Antonio	Patología General	Interino
BUGALLO, Antonio	Farm.Farm.y Terap.	Interino
BUSTOS, Enrique F.	Inmunol.Gral.y Aplic.	Interino 1/s/
CARBONE, Cecilia	Animales de Laboratorio	Interino
CASTUMA, María E.	Introd.a la Bioquímica	Interino
COLL CARDENAS, Ernesto F.	Introd.a la Biofísica	Interino
DE ANTONI, Graciela L.	Genética Microbiana	L/s/s
del CASTILLO, Federico C.	Histología Normal	Interino
DRAGONETTI, Ana María	Clín.Anim.Pequeños	Interino
FELDMAN, Raquel E.	Parasitol.Comparada	Interino
FERNANDEZ DE LIGER, José H.(h)	Patología Médica	Interino
FORMER, Jesús J.A.	Tecnol.y Sanidad Alim.	Interino
FREGOSI, Mario O.	Anat.Descrip.y Top.	Interino
FRIGOLI, Alicia E.	Introduc. a la Biofísic.	Interino
FUENTES, Leticia S.	Introduc.a la Biofísica	Interino
GARCIA VALENTI, Horacio N.	Zootec.Espec.II Pte.	Interino
GIANOTTI, Ricardo S.	Tecnolog.y San.Alim.	Interino
GIMENO, Eduardo J.	Anatom. y Fisiol.Pat.	Interino
GIMENO, Eduardo J.	Patología General	Reemplazante

///

///		
GOITIA, Oscar F.	Patolog.Reprod.y Obst.	Reemplazante
GRIGERA, Fernando	Fisiología	Interino
GUAJARDO, Margarita H.	Introd.a la Bioquím.	Interino
GUGLIELMETTI, Elda M.C.	Introd.a la Biofísica	Interino
HERRERA CANALES, Félix E.	Anatomía Comparada	Interino
LESTCHINSKY, Eva	Anál.Clín.I Pte.	Interino
LINZITTO, Oscar R.	Histología Normal	Interino
MASSONE, Raúl A.	Clín.Grandes Animales	Reemplazante
MILLAN, Margarita D.	Anatom.Descrip.y Top.	Interino
MONTESINO RAMOS, Ignacio G.	Clín.de Grandes Anímal.	Interino
MUNARD, Carlos J.	Patolog.Reprod.y Obst.	Reemplazante
MURO, Alicia M.	Clín.de Pequeños Anim.	Interino
NOSETTO, Edgardo M.	Clín. de Grandes Anim.	Interino L/s/s
ORELLANA, Jorge	Histología Normal	Interino
PASSIUCO, Mabel N.	Introduc.a la Bioquím.	Interino
PELLON, Horacio S.	Tecnolog.y San.Alim.	Interino
PEREZ AZUMENDI, Rodolfo E.	Patología General	Lic. s/s/
PEREZ CASTILLO, Nelly E.	Física y química Apl.	Interino
PERFUMO, Carlos J.	Anat.y Fisiolog.Patol.	Interino
PIACENTINI, Enrique	Tecnolog.y San. Alim.	Interino
PIAZZA, Delia D.	Microbiología Especial	Reemplazante
POLI, Mario A.	Genética y Biometría	Interino
PONS, Eduardo E.	Clín.Grandes Anim.	Reemplazante
RADMAN, Nilda E.	Parasit.y Enfer.Parasit.	Interino
RAMIREZ, Luis E.	Anato.Descrip.y Topog.	Reemplazante
REPETTO SANCHEZ, Olindo	Medicina Operatoria	Interino
RODRIGUEZ TOLEDO, Jorge A.	Medicina Operatoria	Interino
SARA, Raúl Carlos	Patolog.Reprod.Obst.	Interino
SCAVIA, Ricardo C.	Anatomia Comparada	Interino
TARABUSO, Ricardo	Semiología y Proped.	Reemplazante
TOBIA, Marta B.	Microbiología Espec.	Interino 1/s/s
TREBUCQ, Rubén A.	Inmunolog.Gral.y Aplic.	Interino
VOCOS GIMENEZ, Sara	Zootec.Espec.II Pte.	Interino

JEFES DE TRABAJOS PRACTICOS "DEDICACION SIMPLE"

ARMENAULT, Roberto R.	Semiología y Proped.	Interino 1 s/s/
AVILA, Silvia M.	Microbiología Esp.	Interino
BRAVO BARDALES, Tomás	Economía Agraria	Interino
BUTLER, Eduardo A.	Patolog.Quirurg.y Pod.	Interino
CALONGE, Carlos A.	Clín.Grandes Animales	Interino

///

///

CASTAÑEDA, Alberto G.	Clín. Pequeños Anim.	Interino
CESAR, Norberto	Patología Médica	Reemplazante
CATALA, Gustavo G.	Patolog. Reprod. y Obst.	Reemplazante
CONTRERAS, Ricardo R.	Zootec. Esp. I Pte.	Reemplazante
CHIARAVALLI, Juan C.	Zootec. Gral. y Agrost.	Interino
CHILLON, Diana Z.	Microbiología Aplic.	Interino
DELGADO CAFFE, Osvaldo L.	Higiene Epid. y S. Púb.	Interino
GALAN, Jorge E.	Enferm. Infecciosas	Interino
GALLO, Guillermo F.	Fisiología	Interino
GRAMIGNA, Tomás F.	Taller de Educación	Interino
GIMENEZ, Mabel A.	Zootec. Espec. I Pte.	Interino
HERNANDEZ, Zulma H.	Salud Pública	Interino
INCHAUSTI, Agustín S.	Patología Médica	Interino L/s/s
LACCHINI, Raúl A.	Zootec. Gral. y Agrost.	Interino
LOJO, María E.	Genética Microbiana	Interino
MELANI, Gustavo H.	Patología Médica	Interino
MILLAN, Roberto E.	Histología Normal	Interino
MORRIS, Marta R.	Micolog. Médica e Ind.	Reemplazante
NICODEMO, María del C.	Zootec. Esp. III Pte.	Interino
NOSETTO, Edgardo O.	Patología Médica	Interino
OCAMPO, Jesús M.P.	Introducción a la Biof.	Interino
PALACIO, Laura I.	Zootec. Esp. I Pte.	Interino L/s/s
PRILO LOFEUDO, Graciela E.	Zootec. Esp. III Pte.	Interino
RONCINO, Roberto O.	Fisiología	Interino
SALAS, Laura V.	Semiología y Prop.	Reemplazante
SANCHO, José J.I.	Medicina Operatoria	Interino
SIMPSON, María I.	Introd. a la Biofísica	Interino
TOBIA, Marta B.	Microbiolog. Aplicada	Interino
TREBUCQ, Rubén A.	Inmunología I.	Interino
TUNES, María del L.	Microbiología	Interino
VARELA, Juan A.H.	Microbiología	Interino
WALKER, Alberto E.	Medicina Operatoria	Interino
WARD, Miguel V.	Farmac. Farm. y Terap.	Interino
CERRUTI, Augusto S.	Fisiología	Interino
COLOCCIA PAYBA, Liliana G.	Anat. y Fisiol. Patolog.	Interino
CORTEZ, Guillermo F.	Higiene Epid. y S. Púb.	Interino
COURREGES, Marta M.	Anat. y Fisiol. Patolog.	Interino
CREDARO, Cristina N.	Anál. Clin. II Pte.	Interino
D'AGOSTINO, Liliana E.	Introd. a la Bioquím.	Interino
DE LUCA, Mirtá G.	Zootec. Esp. I Pte.	Interino
DELGADO CAFFE, Osvaldo L.	Bioestadística	Interino

///

///

DOMINELLI, Heraldo A.	Patol.Quirúrg.y Pod.	Interino
ELSO, Liliana E.	Patol.Reprod.y Obst.	Interino
FARINA, Carlos M.	Enfermedades Infeccios.	Interino
FORMENTI, Liliana E.	Microbiología Aplicada	Interino
FRIGOLI, Alicia E.	Introd.a la Biofísica	Interino
GARCIA FRONTINI, María V.	Parasit.y Enf. Parasit.	Reemplazante
GONZALEZ, Ester T.	Microbiología Aplic.	Interino
GORDILLO, Carlos E.	Farmac.Farm.y Terap.	Interino
GUILLEN, Griselda	Análisis Clin.I Pte.	Interino
IRIGOYEN, Isabel A.	Introd.a la Bioquim.	Interino
KNAVERHASE, Federico L.	Patol.Reprod.y Obst.	Interino
LASTA, Gregorio	Semiolog.y Proped.	Reemplazante
MEZZERA, Ana M.	Clín.Pequeños Anim.	Interino
PENSA, Daniel A.	Micol.Médica e Indust.	Interino
ROMERO, Jorge E.	Parasit.y Enf.Parásit.	Interino
SANGUINETTI, Héctor R.	Anatomía y Fisiol.Pat.	Interino
SEILLANT, Carlos A.	Patología Médica	Reemplazante

---

## INDICE

### INTRODUCCIÓN

1.- Glándulas Salivales. Generalidades	1 - 3
- Microscopía Electrónica	4 - 8
A) Funciones de la saliva	9 - 12
B) Características de la secreción en los animales domésticos.	13 - 14
2.- Inervación de las glándulas Salivales	14 - 16
A) Receptores y vías aferentes	17
B) Centros salivales	17
C) Vías eferentes	18 - 19
D) Receptores de membrana	19
1) Teoría de ocupación de los receptores	19 - 20
2) Actividad de receptores adrenérgicos	20 - 23
3.- Regulación nerviosa de la secreción salival	23 - 25

### OBJETIVOS:

26 - 27

### MATERIALES Y METODOS:

1.- Determinación de las respuestas secretorias / en glándula submaxilar	28 - 30
2.- Desnervación simpática	31 - 32
3.- Curvas dosis-respuestas	32
A) a agonistas y antagonistas adrenérgicos	32 - 33
B) a agonistas y antagonistas colinérgicos	34
C) a la sustancia P	34

4.- Análisis estadístico de los resultados ( $\bar{p}A_2$ y $DE_{20}$ )	34 - 35
--	---------

5.- Drogas empleadas	36
----------------------	----

## RESULTADOS

### A) ANIMALES NORMALES

1. Introducción	37 - 38
-----------------	---------

2.- Acción de los bloqueantes	38
Efectos de fentolamina	38 - 40
Efectos de prazosín	40 - 41
Efectos de yohimbina	41

3.- $DE_{20}$ ul	42
------------------	----

4.- $\bar{p}A_2$ = animales normales	42
--------------------------------------	----

FIGURAS Nos. 1 a 12	43 - 54
---------------------	---------

TABLA No. 4	55
-------------	----

### B) EFFECTOS DE LA DENERVACION SIMPATICA

1.- Acción del prazosín	56 - 57
-------------------------	---------

2.- $\bar{p}A_2$ ; glándulas desnervadas vs. controles	57
--	----

FIGURAS 13 a 16	58 - 61
-----------------	---------

<u>DISCUSION</u>	62 - 68
------------------	---------

CONCLUSIÓN

69 - 70

RESUMEN

71 - 72

BIBLIOGRAFIA

73 - 88

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

## GLANDULAS SALIVALES

### 1) GENERALIDADES

La saliva es el fluido que baña los tejidos de la cavidad oral, y es el resultado de la mezcla de las secreciones de todas las glándulas salivales. Estas constituyen un grupo especial de órganos que, como el páncreas, segregan enzimas digestivas (63; 79) y al igual que el riñón, eliminan sustancias presentes en el plasma (57).

Consideradas desde el punto de vista anatómico, las glándulas salivales han sido clasificadas en mayores y menores. Estas últimas están constituidas por grupos pequeños de células epiteliales secretoras dispersas, formando túbulos ramificados que yacen en la mucosa o submucosa de: la lengua, paladar, encías, etc. y que descargan su secreción en la cavidad bucal por medio de conductos excretorios cortos (24; 90).

Las glándulas salivales mayores están también formadas por células epiteliales secretoras, dispuestas en complejos túbulo-acinares que se continúan con un complicado sistema excretor. Ellas son las parótidas, las submaxilares y las sublinguales. Todas se encuentran fuera de la pared muscular de la boca en forma de pares y sus conductos tubulares convergen en forma de conducto simple y largo que se abre en la cavidad bucal lejos de la glándula. En la porción acinar se pueden diferenciar por medio de reacciones de coloración dos tipos celulares específicos: células mucosas y células serosas (62). Las primeras son responsables de la secreción de compuestos orgánicos que hacen que la saliva por ellas producidas, sea un líquido viscoso. Estas células existen en variada proporción en las distintas glándulas salivales, lo que determina que la viscosidad relativa de la saliva parotídea, que es una glándula predominantemente serosa (aunque no pura) sea de 1,5; la saliva submaxilar que es una glándula mixta a predominio serosa, presenta una viscosidad relativa de 3,4 y de 13,4 para la saliva sublingual, glándula

también mixta pero a predominio mucoso (96).

La unidad funcional de las glándulas salivales recibe el nombre de adenómero y consta de tres porciones, (ESQUEMA No. 1)

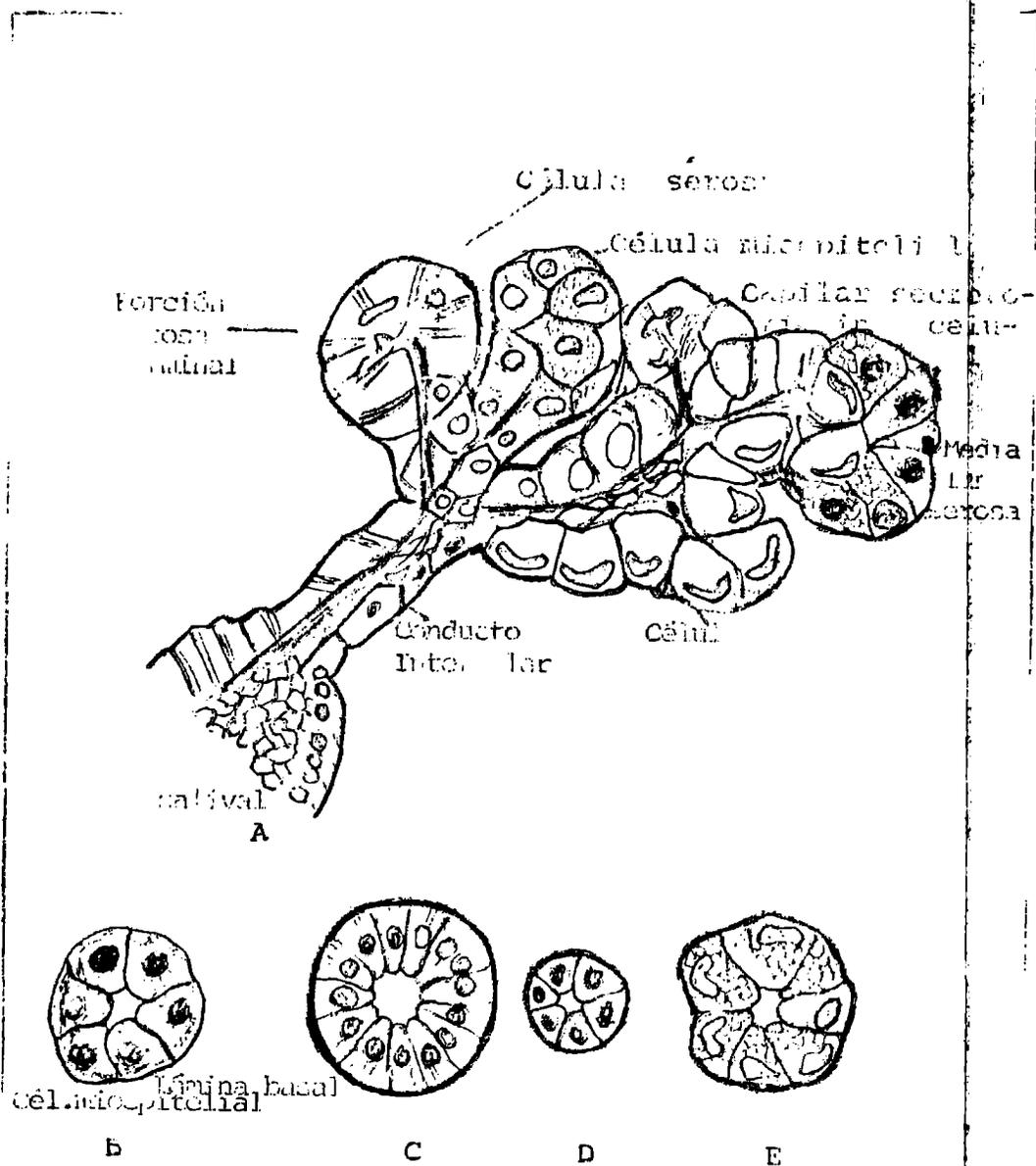
a) acino: la observación microscópica muestra que los acinos poseen una gran variedad de forma, tamaño y número de células que lo componen. Su forma varía desde ovoide hasta circular ó poligonal. El número de células que lo componen es de 1 a 16 ó 17. Su citoplasma es basófilo y esta característica aumenta cerca de la base celular, donde se halla el núcleo. Se colorean débilmente con el mucicarmín ó alcian - blue. Estas células drenan en un lumen de pequeño tamaño. Como no todas ellas llegan con su borde apical a la luz, se forman espacios alargados, que no se hallan bordeando al lumen, donde drenan estas células y que reciben el nombre de canalículos secretorios.

Existe además otro tipo celular, las denominadas células mio-epiteliales que poseen la propiedad de contractilidad, ubicándose alrededor del acino secretor y los conductos excretores. Al contraerse, facilitan la excreción principalmente de las glándulas de secreción viscosa (34).

b) conducto intercalar: son conductos cortos que parten desde la luz acinar, pero de mayor diámetro, formado por células cúbicas, achatadas, de núcleo central grande y eosinófilas, tomando una forma de "Y". En general son muy difíciles de observar en glándulas adultas porque son comprimidas por las estructuras abombadas de los acinos, alrededor de los cuales ellos generalmente se curvan.

c) conducto estriado: también formado por células columnares altas, pero de núcleo central ó ubicado hacia apical; tienen una pronunciada estriación por debajo del mismo. El paso de conducto granular a estriado es gradual, dándose generalmente en 2 a 4 células. Posteriormente, estos conductos son muchos más rectos en su recorrido, con lo cual presentan en el corte una imagen circular y de luz regular.

Su estructura sin gránulos y sus estriaciones basales, indicarían su función en la absorción y excreción de electrólitos y agua. Los túbulos estriados de varios acinos confluyen en los conductos interlobulares, los que van a constituir el conducto excretor principal de la glándula, tapizado por epitelio pseudoestratificado en su porción distal ó terminal.



ESQUEMA No 1.

A. Reconstrucción de la porción terminal de una glándula submaxilar.  
 B. Acino seroso ; C. Corte de un ducto estriado; D. Corte de un conducto intercalado; E. Corte de un acino mucoso. (tomado de Bloom y Fawcett).

## MICROSCOPIA ELECTRONICA:

a) acino: los acinos están compuestos por células piramidales de núcleo grande y esférico. Por debajo del mismo, poseen un retículo endoplásmico rugoso sumamente abundante que forma estructuras paralelas (ESQUEMA No. 2). En la misma ubicación y lateralmente al núcleo pueden encontrarse algunas mitocondrias. La zona apical celular está poblada de gránulos secretorios. En cuanto a la composición química de estos gránulos se supone que es una glicoproteína la cual no pudo ser totalmente clasificada, dado que, si bien es un componente hialuronidasa sensitivo es diferente del ácido siálico y no detectable por los métodos bioquímicos conocidos.

Sus superficies laterales se pliegan e interdigitan básicamente en forma de S itálica. Este tipo de interrelación celular es común entre las células de los ductos estriados e intercalares, pero no han sido vistos en ningún otro tipo de acino salival. El retículo endoplásmico, adopta una forma laminar orientada, con muchos gránulos de RNA, ubicado en toda la zona inferior al núcleo y rodea como nidos a algunos de los gránulos de secreción. El aparato de Golgi se encuentra disperso, fundamentalmente en forma de microvesículas.

Los canalículos secretorios del acino difieren de las luces mayores solo en que su diámetro es menor y que se extiende cerca de la perifería del acino. Desde el punto de vista estructural, estos canalículos son parte del lumen acinar. La presencia de numerosas proyecciones e invaginaciones en la superficie la proximidad de gránulos a la membrana plasmática, permiten asociarlos a procesos de secreción.

b) conducto intercalar: Estos conductos están formados por células cúbicas de núcleo grande, con una zona ocupada por el aparato de Golgi bien definida. La lámina externa del núcleo está poblada de ribosomas. Las mitocondrias de estas células ductales son pequeñas y

y mucho más densas que las halladas en las células acinares. En la zona apical se observan cuerpos multivesiculares. Algunos de los mismos, recubiertos por una membrana, son de menor densidad electrónica y se ubican cercanas al lumen. Es muy frecuente distinguir los centríolos.

Estas células poseen pocos pliegues de la membrana celular, aunque las células que se continúan con los conductos granulares pueden presentarlos.

La unión más común con sus células vecinas se da por desmosomas y uniones fuertes.

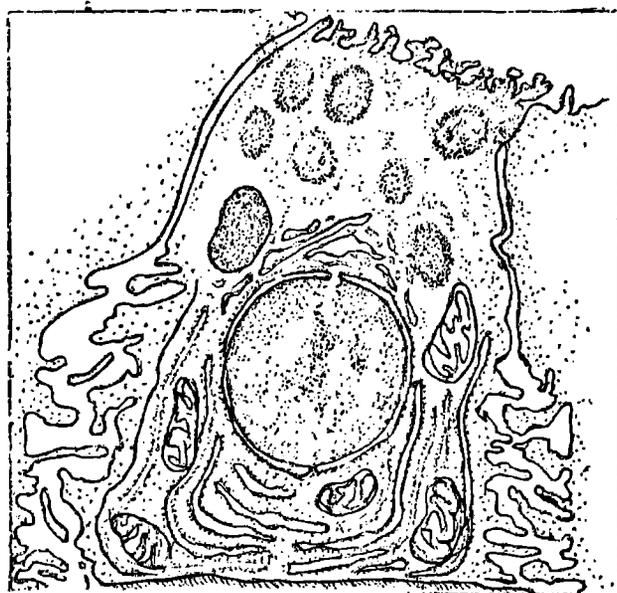
c) conductos estriados: el elemento más llamativo de la ultraestructura de estos conductos, son las mitocondrias. Las mismas se hallan concentradas en la porción basal de la célula, entre los pliegues de la membrana celular (ESQUEMA no 2). Esta membrana muestra claramente sus invaginaciones paralelas entre sí y a su vez, al eje celular. Estas interdigitaciones están separadas por citoplasma cargado de mitocondrias sumamente densas.

El retículo endoplásmico liso está confinado a un pequeño sector cercano al núcleo.

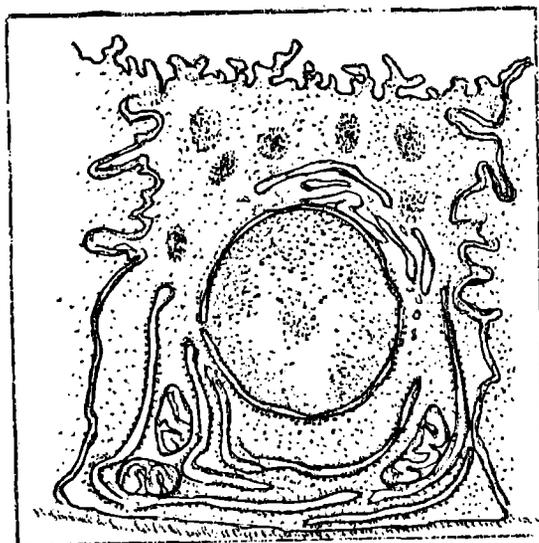
El núcleo es grande, oval y ubicado en el centro de la célula. Estas células no presentan ese abombamiento de la membrana apical. Su luz es regular. Sus membranas laterales presentan ondulaciones con algún desmosoma, rodeado de citofilamentos.

En cuanto a las células mioepiteliales solo están asociadas a los acinos y a los conductos intercalares. Las membranas basales de estos elementos se continúan sobre las células mioepiteliales, envolviéndolas. La membrana plasmática, está en estrecha relación con la membrana basal de las células acinares, pero no interdigitan. Su citoplasma es muy denso, conteniendo una gran cantidad de material filamentoso, dispuesto paralelamente al eje mayor de la célula. Posee pocas mitocondrias de pequeño tamaño.

Las estructuras descritas participan en la formación de saliva(19).

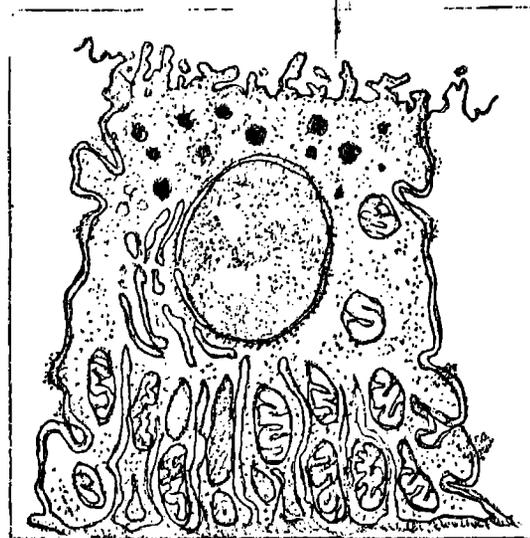


Célula acinar



Célula de un ducto intercalar.

ESQUEMA No 2.



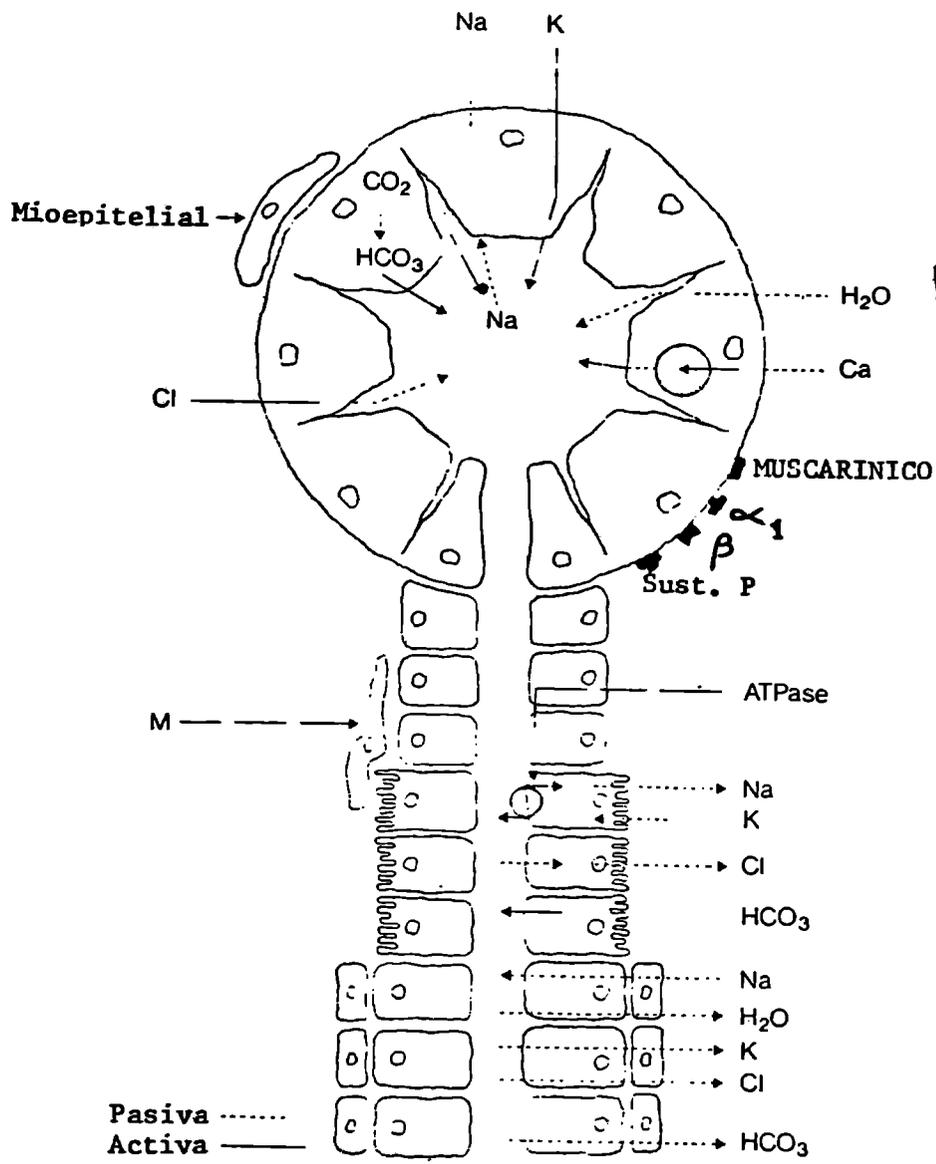
Célula de un ducto estriado.

Representación esquemática de la ultraestructura de los distintos tipos celulares de la glándula submaxilar. (Tomado de Bloom y Fawcett)

Se ha demostrado que la saliva elaborada por las células acinares sufre una serie de modificaciones a su paso por los conductos excretores; ésto se ha podido comprobar mediante el empleo de micro punción de varias partes del sistema ductal y posterior análisis de las pequeñas cantidades de fluido recogido durante cinco minutos. Esta técnica ha sido aplicada a los acinos de las tres glándulas en la rata, en la submaxilar y sublingual del gato y en la parótida humana. Los resultados muestran que el fluido secretado por los acinos es isotónico o débilmente hipotónico, siendo el sodio ( $\text{Na}^+$ ) y el cloro ( $\text{Cl}^-$ ) los iones más concentrados. Su composición es independiente de la magnitud del fluido ó de la estimulación parasimpática o simpática. De acuerdo a la composición del líquido extracelular y del líquido intracelular, se ha demostrado que el  $\text{Na}^+$  y el  $\text{Cl}^-$  difunden hacia las células en el lado seroso, siendo bombeadas activamente hacia el lumen. (GRAFICO No. 1).

Cuando se perfunden glándulas no estimuladas, las concentraciones de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  disminuyen en el líquido del conducto excretor, mientras que el bicarbonato ( $\text{CO}_3\text{H}^-$ ) y el potasio ( $\text{K}^+$ ) aumentan, aunque en menor grado, por lo que la osmolaridad disminuye. Ello estaría evidenciando que los túbulos absorben  $\text{Na}^+$  (activamente) y  $\text{Cl}^-$  (pasivamente), que son muy impermeables al agua y secretan activamente  $\text{CO}_3\text{H}^-$  y  $\text{K}^+$ , de manera tal que las concentraciones de estos últimos en la saliva exceden a la plasmática. Estos constituyen cambios netos ya que algo de  $\text{Na}^+$  puede ser secretado aunque en cantidades más pequeñas que las absorbidas. El transporte activo requiere la presencia de ATPasa. La absorción de  $\text{Na}^+$  es proporcional al flujo y se ha postulado que depende del control nervioso, de manera tal que el flujo y la secreción de estos iones aumentan en respuesta al estímulo nervioso. Cuando el flujo es pequeño, la concentración de  $\text{Na}^+$  tiende a aumentar, posiblemente debido a que la porción distal del túbulo excretor no posee mecanismos absorptivos y el contenido de los túbulos tiende a equilibrarse con el plasma. Por la misma razón, la concentración de los constituyentes que son más elevados en saliva que en el plasma tiende a disminuir (14; 64; 77).

GRAFICO No. 1; Diagrama de algunos movimientos activos y pasivos de iones postulados que van hacia el acino de las glándulas salivares y a través de varias partes de las paredes de los conductos. (Tomado de "Fisiología y Bioquímica Oral", G.N. Jenkins, 4a.Ed.,1978).



## A) Funciones de la saliva

### 1.- Digestivas

La única enzima digestiva en la saliva es la ptialina o amilasa salival. Esta enzima digiere al almidón siempre que haya sido previamente cocido. El calor rompe la cubierta externa de los gránulos, luego de lo cual el contenido forma una solución coloidal que la enzima puede atacar. Es dudoso si la acción de la amilasa salival es suficientemente prolongada en boca, esófago y estómago, para que se alcance la degradación final. De cualquier manera se considera que esto es irrelevante, ya que la digestión de los glúcidos es completada por enzimas pancreáticas e intestinales. El pH óptimo de la amilasa en la boca es de 7. (26).

Los alimentos permanecen en la boca un tiempo demasiado breve como para que se produzca digestión del almidón. Sin embargo, luego de una comida abundante el pH del alimento que ingresa al estómago, permanece casi neutro durante 30 minutos en los cuales la actividad amilásica continúa; cuando el pH desciende debido al ácido clorhídrico (ClH) gástrico, la actividad amilásica termina, siendo digerida la enzima por la pepsina.

Es posible que la acción principal de la amilasa salival sea digerir el almidón de residuos de alimentos que quedan en la boca, más que contribuir a la digestión como un todo. Esta acción junto a la propiedad de la saliva en la preparación del bolo alimenticio, son consideradas las funciones digestivas más importantes (24).

### 2.- Antibacterianas

A pesar de la existencia constante de bacterias, las heridas de la boca raramente se infectan. Este hecho sugiere que la saliva posee algún mecanismo que controla a las bacterias mas peligrosas y que los organismos normalmente presentes en la boca son aquellos que se han hecho resistentes a la inhibición salival (91).

La saliva posee alguna acción mecánica de remoción de bacterias de la cavidad bucal y su traslado al estómago donde la mayoría muere por acción del jugo gástrico.

Han sido descritas dos propiedades de la saliva que estarían relacionadas con su poder antibacteriano: 1) la saliva aumenta la permeabilidad capilar y 2) la saliva mixta posee acción leucotóxica (poder de atraer los polimorfonucleares) (28). Esto no se observa en la saliva obtenida de los túbulos; evidentemente, la leucotaxina es producida por enzimas proteolíticas bacterianas que actúan sobre proteínas salivales.

Los leucocitos lavados, libres de plasma y suspendidos en solución fisiológica, no fagocitan bacterias pero si se agrega algo de plasma, la fagocitosis comienza; las sustancias que hacen más palatable las bacterias son llamadas opsoninas, siendo las inmunoglobulina G (IgG), inmunoglobulina M (IgM) y ciertos constituyentes del complemento, las más representativas. La saliva contiene opsoninas que siendo inmunoglobulinas, son menos activas que en el plasma (56).

En 1922 Fleming (44), descubrió en lágrimas, secreción nasal y en muchos tejidos y líquidos corporales, una sustancia que elimina a muchas especies de bacterias. Esta sustancia es llamada lisozima, una enzima que rompe las uniones 1-4 entre el ácido N-acetilmuránico y N-acetilglucosamina, uniones presentes en la pared de ciertas bacterias, cuya ruptura produce muerte y desintegración.

El líquido gingival posee concentraciones de lisozima más altas que el plasma (58). Además de la lisozima, existe por lo menos otro factor antibacteriano como constituyente normal de la saliva parotídea y submaxilar en concentraciones variables, consistente en un ión (tiocianato) y una molécula grande (la enzima peroxidasa), con el peróxido de hidrógeno presente en saliva como producto del metabolismo bacteriano; estas sustancias reaccionan para formar un factor antibacteriano inestable, posiblemente, ácido cianosulfuroso (29).

La concentración de inmunoglobulinas, principalmente inmunoglobulina A (IgA) en saliva es 1-3 % de la plasmática, no existiendo complemento. El fluido gingival contiene IgA, IgG e IgM en relación al plasma, pero en un tercio de su concentración (99).

### 3.- Acción sobre la coagulación

Cuando sangre fresca es diluida con saliva, el tiempo de coagulación es reducido; esto es debido a que las tres glándulas mayores contienen los factores de coagulación normalmente presentes en el plasma (75).

### 4.- Poder amortiguador del pH:

El pH de la saliva, en la mayoría de las especies, oscila en un rango que va de 6,5 a 8,5 con un valor promedio de 7,5. Varios son los factores que afectan el pH y la capacidad amortiguadora de la saliva: 1) el más importante es la duración del estímulo; 2) el bicarbonato excretado, componente de mayor importancia en la acción buffer, seguido en importancia por los fosfatos (72). Los buffers trabajan convirtiendo un ácido o base fuerte que tiende a alterar el pH de la solución en una sustancia menos ionizada (débil). Cuando se agrega un ácido al sistema bicarbonato se genera más ácido carbónico, que se descompone en  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ . El  $\text{CO}_2$  deja la solución, siendo el resultado final, no la acumulación de ácido carbónico en la solución (como ocurre en la mayoría de los buffers), sino la completa remoción del ácido. El sistema bicarbonato es, por lo tanto, muy efectivo siendo importante en la atenuación de los cambios de pH en la placa después de la alimentación. La saliva de reposo con menor contenido de bicarbonato que la estimulada, tiene mucho menor poder amortiguador (42).

### 5.- Poder lubricante

Claude Bernard en 1864 (8) fué el primero en observar en un caballo con fístula parotídea, la gran dificultad que éste presenta

ba para tragar los alimentos. Luego se comprobó que son las glucoproteínas las principales proteínas de la saliva que le confieren su carácter viscoso. La lubricación del alimento es importante para la formación del bolo y para el proceso de la deglución.

#### 6.- Saliva y balance acuoso

Cannon (16), observó que la sequedad oral es debida a la excesiva evaporación de saliva, actuando como estímulo para la secreción de saliva, la sequedad de la cavidad oral (sed). Una de las teorías sobre el mecanismo de la sed explica que ésta se origina por la sequedad de las mucosas oral y faríngea. Si la boca se seca y opera el reflejo citado, el flujo salival corrige la sequedad y desaparece la sensación de sed. Si el organismo necesita agua, el reflejo no ocurre y en esta circunstancia el individuo tiene sed.

#### 7.- Saliva y gusto

La sensación del gusto sólo es producida por sustancias en solución. Algunos alimentos contienen tal proporción de agua, que su gusto es percibido ni bien las sustancias son liberadas durante la masticación. Otros tienen tan poca agua, que deben ser disueltos en la saliva para que su sabor sea apreciado. Las ratas sin glándulas salivales muestran mayor ingesta de agua y falta de discriminación al sabor (17).

#### 8.- Factor de crecimiento nervioso

Extractos de glándula submaxilar de ratón aumentan enormemente el crecimiento de los ganglios simpáticos y nervios sensoriales. La sustancia activa es una proteína de peso molecular 29.000. Está presente en muchos órganos y suero de varias especies, pero la más rica es la submaxilar de ratón macho adulto. La administración de antisuero contra el factor de crecimiento nervioso (NGF) en ratones recién nacidos, reduce el crecimiento de los ganglios que contiene el 1% de las células existentes en animales no inyectados (70).

B) Características de la secreción salival en los animales domésticos.

En los rumiantes la secreción salival es continua no sólo, para las glándulas menores, sino también para las glándulas parótidas, independientemente de la prehensión de los alimentos y de la rumiación. La explicación de esta particularidad, estaría en que las glándulas de secreción continua están sometidas a control reflejo fuera de los períodos de prehensión y de la rumiación y la excitaciones procedentes de determinadas zonas de la reddecilla, el rumen y el esófago, pueden estimular la secreción salival de las glándulas menores, parótidas y submaxilares (35).

La estimulación o estímulo táctil del esófago inmediatamente antes del cardias o a nivel del propio cardias, provoca en ovinos adultos sin anestesia, no sólo contracciones de la reddecilla, sino que es origen también de un incremento de la secreción parotídea. De la misma manera actúa la distensión de la zona de comunicación con la reddecilla y libro y del pliegue rumino-reticular.

En investigaciones realizadas con carneros y terneras anestesiados, se ha podido comprobar que tras la ligadura del esófago en la región cervical, la insuflación del rumen con aire hasta una presión de 20 mm Hg, incrementaba la secreción parotídea de 2 a 10 veces sobre la habitual en estado de reposo, mientras que un aumento mayor de dicha presión, producía una inhibición de la actividad secretora.

Si la ligadura se practica inmediatamente por encima del cardias, el aumento de la presión en el rumen conduce a una supresión neta de la secreción.

También se ha encontrado que los ácidos grasos producidos durante el proceso digestivo, no juegan ningún papel en el desencadenamiento de la secreción. Es muy importante de destacar, la actividad buffer de la saliva en los rumiantes debido al contenido en álcalis, que facilita la neutralización de los ácidos grasos volá-

tiles que se producen durante la degradación de los hidratos de carbono y de las proteínas en el rumen y en la redécilla (66).

Una particularidad importante de destacar, es la presencia de urea en la saliva de los rumiantes, que es un hecho fisiológico de significación ya que representa un aporte de nitrógeno a los preestómagos que servirá para la resíntesis protéica bacteriana. En estos animales la uréa difunde pasivamente de la sangre a la saliva primaria, enseguida que ésta abandona el acino, o sea, en las primeras porciones del sistema tubular y su concentración final, es similar a la plasmática ya que está en relación directa con ésta. De manera que la uréa es la forma más importante de excreción nitrogenada a nivel salival en los rumiantes. (19)

La secreción salival de los perros ha demostrado poseer una potente acción antibacteriana, propiedad que le confiere la capacidad de inhibir a una gran cantidad de bacterias en forma más efectiva que la saliva humana; se piensa que ésta sería una razón que explique la mayor resistencia a la producción de caries en esta especie (92).

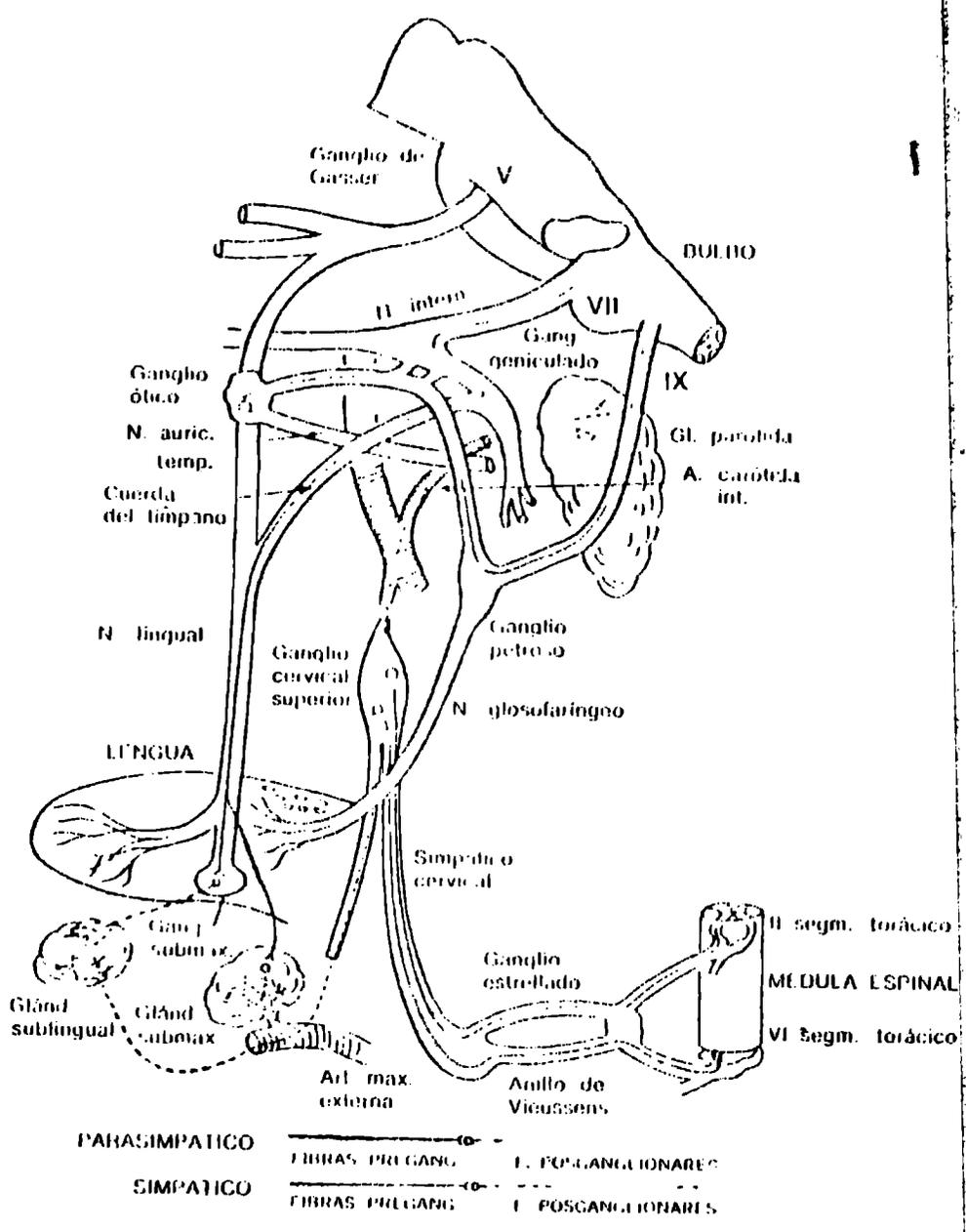
## 2) INERVACIÓN DE LAS GLANDULAS SALIVALES

La producción de saliva (respuesta) ante la acción de distintos estímulos, es el resultado de un acto reflejo. Como todo acto reflejo, requiere la integridad del mismo, es decir, receptores sensoriales, vías aferentes, centros, vías eferentes y órgano efector (glándulas). Los reflejos salivales son "autonómicos" ya que su innervación está dada por nervios pertenecientes a ambas ramas del sistema nervioso autónomo: parasimpático y simpático. (GRAFICO No.2).

El neurotransmisor de todas las fibras autonómicas preganglionares, de todas la fibras parasimpáticas postganglionares y de algunas fibras simpáticas postganglionares, es la acetilcolina (15; 21; 108).

El neurotransmisor de la mayoría de las fibras simpáticas es la noradrenalina (NA) (13; 22). Estos neurotransmisores se liberan al espacio sináptico como resultado de la llegada del impulso nervioso y ejercen su acción sobre los receptores postsinápticos.

GRAFICO No. 2: Inervación simpática y parasimpática de las glándulas salivales. (Tomado de Houssay y col., 4a. ed., (1976).



Pasaremos a analizar los distintos componentes del arco reflejo

### Estímulos eficaces

Los estímulos eficaces para inducir secreción salival son:

- a) mecánicos: movimientos masticatorios, estimulación de la mucosa oral (alimentos, parafina, instrumentos, arena, etc.).
- b) físicos: calor, frío, sequedad del alimento.
- c) químicos: sensación gustativa agradable, ácidos, álcalis, sustancias amargas, etc.
- d) psíquicos: actúan por medio de los reflejos condicionados.

El más conocido es el de la sensación "agua en la boca" al ver, oler u pensar en un alimento. En un animal con una fístula salival se obtiene saliva cuando se coloca en su boca un alimento o una sustancia sávida. Esta secreción depende de un reflejo innato y ocurre sin intervención de la corteza cerebral. Si al acto de proporcionar alimentos a este animal, se asocia otro estímulo cualquiera, incapaz por sí mismo de producir secreción salival (por ejemplo, el sonido de una campana) y durante cierto tiempo (período de acondicionamiento) se aplican simultáneamente ambos estímulos (la comida, que provoca secreción salival por estímulo mecánico o químico y el sonido de la campana, que de por sí no lo hace) lleva a que en un momento determinado bastará el sonido de la campana para que se produzca secreción salival. El animal habrá adquirido un nuevo reflejo que Pavlov (87) denominó "reflejo condicionado". Este para llevarse a cabo, requiere la integridad de la corteza cerebral.

- e) extralocales: distensión del estómago, descenso del pH plasmático, presencia de alimento en estómago(62).

### A) Receptores y vías aferentes

El campo receptor de los reflejos salivales está integrado por un gran número de receptores diseminados en su mayoría en las cavidades oral y faríngea, tales como:

1.- Extéreoceptores de la mucosa oral, inervados por el trigémino, estando las neuronas sensoriales ubicadas en el ganglio de Gasser.

2.- Receptores gustativos de la lengua, los que están ubicados en la porción posterior y base; están inervados por el nervio glossofaríngeo (células sensoriales ubicadas en el ganglio petroso), mientras que los ubicados en la porción anterior son inervados por el nervio lingual. Las neuronas sensoriales se encuentran en el ganglio geniculado del intermediario de Wrisberg y llegan al lingual (rama del trigémino) a través de la cuerda del tímpano.

3.- Extereoreceptores de epiglotis y faringe, inervados por la rama laríngea superior del nervio vago. Sus neuronas sensoriales están ubicadas en el ganglio yugular.

4.- Propioceptores de la articulación temporomandibular, músculos masticatorios y periodonto, inervados por el trigémino (receptores de poca importancia) (50).

### B) Centros salivales

1.- Parasimpático: pertenece a la división parasimpática craneal y son dos: núcleo salival superior o anterior y el núcleo salival inferior o posterior. El primero corresponde al núcleo visceral del nervio facial y el segundo, al núcleo visceral del nervio glossofaríngeo.

2.- Simpático: está representado por neuronas ubicadas en el asta lateral de la médula espinal, variando los segmentos vertebrales involucrados para las distintas especies (55).

### C) Vías eferentes

#### 1.- Parasimpáticas

a) Las fibras preganglionares que se originan en las neuronas del núcleo salival superior o anterior, siguen el trayecto del intermediario de Wrisberg y llegan al ganglio geniculado, donde no establecen sinapsis. Continúan por el tronco del nervio facial y penetran en la cuerda del tímpano, cuyo trayecto recorren. La cuerda del tímpano se une al nervio lingual, rama del trigémino, en las cercanías de la cavidad oral.

Las fibras parasimpáticas preganglionares penetran en el nervio lingual, al que abandonan en el piso de la boca para dirigirse al hilio de la glándula submaxilar, donde existen pequeños ganglios (submaxilares) con cuyas neuronas hacen sinapsis. De allí parten las fibras postganglionares que se dirigen hacia las células secretoras y vasos sanguíneos de las glándulas submaxilar y sublingual.

b) Las fibras preganglionares que se originan en el núcleo salival inferior o posterior, recorren un breve trayecto del nervio glossofaríngeo. Se separan de él para ingresar en el nervio de Jacobson, recorren luego el nervio petroso superficial menor y llegan al ganglio ótico, donde hacen sinapsis con neuronas ganglionares. Las fibras postganglionares emergen del nervio maxilar inferior del trigémino, para alcanzar las células secretoras y vasos sanguíneos de la parótida (36).

#### 2.- Simpática

Las fibras preganglionares ortosimpáticas se originan en las neuronas que constituyen el centro salival simpático. Emergen de la médula por las raíces anteriores de los nervios raquídeos correspondientes, a los que abandonan ingresando en las "ramas comunicantes blancas" que los conducen a la cadena ganglionar paravertebral. Por ella descienden siempre como fibras preganglionares, hasta el ganglio cervical superior donde hacen sinapsis con neuronas

ganglionares. De éstas parten las fibras postganglionares, que forman el plexo pericarotídeo que rodea a la carótida externa y sus ramas, alcanzando así a las distintas glándulas salivales.

#### D) Receptores de membrana

Las drogas están constituidas por moléculas y sus acciones resultan de la interacción entre las mismas y ciertas moléculas de la membrana celular que constituyen los receptores, cuya existencia fué postulada por Ehrlich en 1910, refiriéndose a drogas de acción específica. Con el nombre de receptores se designan las estructuras moleculares situadas en la superficie o en el interior de la célula efectora, con las cuales reacciona la droga para producir una respuesta determinada (32; 46; 71).

Los receptores son secciones especializadas de las moléculas proteicas de las células (53). Para que una droga de acción específica produzca su efecto, el proceso debe transcurrir por tres etapas: a) el primer paso asegura la llegada del fármaco a la inmediata vecindad de los receptores o biofase, lo que incluye los procesos de absorción, distribución, transformación y excreción de la droga y que reciben en su conjunto el nombre de transferencia; b) el segundo paso consiste en la interacción entre la droga y el receptor específico, que da lugar a la generación de un estímulo; c) el tercer paso se refiere a la producción del efecto o respuesta celular por dicho estímulo (2). Un claro ejemplo del conjunto de estos pasos son las curvas dosis-respuesta a fármacos que se describe más adelante (Pág. 31).

#### 1.- Teoría de ocupación de los receptores

La teoría de ocupación de los receptores postula que la respuesta a una droga depende del número de receptores ocupados por la misma (2; 20).

Todas las drogas capaces de unirse con los receptores y de dar lugar a respuestas farmacológicas, se denominan agonistas y po

seen dos características: a) afinidad, que es la capacidad de combinarse con los receptores; dependiendo de la estructura química espacial de ambos (droga y receptor). Los grupos reaccionantes, droga-receptor son varios. Cualquier desviación en los mismos provocará un desajuste o una imposibilidad de la unión de ambos elementos; b) la actividad intrínseca o eficacia, que es la propiedad de inducir estímulos al unirse con los receptores, lo que a su vez dará origen a las respuestas (2).

## 2.- Actividad de los receptores adrenérgicos

La inducción de la actividad en los receptores adrenérgicos es un fenómeno rápido, transitorio y reversible que genera una serie de eventos los cuales culminan con la respuesta de la célula efectora. La noradrenalina se comporta como un agonista endógeno y por lo tanto posee las dos propiedades que caracterizan a tales sustancias: a) afinidad química por los receptores; b) actividad intrínseca o eficacia, es decir, capacidad de promover respuestas como consecuencia de la interacción con el receptor.

En 1906, Henry Dale (23), describe una de las observaciones más trascendentes de farmacología autonómica: la inversión de la acción hipertensiva de la adrenalina por medio de los alcaloides del cornezuelo de centeno. Actualmente se conoce tal hallazgo como "Fenómeno de Dale". Aquel experimento ponía en evidencia que determinados efectos simpaticomiméticos (vasoconstricción) podían ser antagonizados y otros no (vasodilatación) por los mencionados alcaloides.

Recién en 1948, Ahlquist (1) basándose en las distintas acciones de un grupo de aminas simpaticomiméticas y en los clásicos trabajos de Dale, postula la existencia de dos tipos de receptores adrenérgicos:

a) alfa: que se caracterizan por tener alta afinidad por sustancias como la fenilefrina y metoxamina y porque en general, su activación desencadena respuestas estimulantes (contracción de múscu-

lo liso, aumento de secreción glandular exócrina). Hacen excepción las respuestas alfa inhibitorias de la musculatura lisa gastrointestinal y de la secreción de insulina por las células beta del páncreas (6).

b) beta: con gran afinidad por compuestos como el isoproterenol; caracterizados por desencadenar respuestas inhibitorias (relajación del músculo liso, disminución de secreción en glándulas exócrinas). Hacen excepción las respuestas beta estimulantes del corazón, la glucogenólisis, la lipólisis y la secreción de insulina (111).

A los receptores alfa adrenérgicos, por mucho tiempo se los creyó constituídos por un solo tipo de receptores. Sin embargo, en la última década se ha evidenciado que al menos existen dos subtipos de alfa receptores, el alfa<sub>1</sub> y el alfa<sub>2</sub>, diferenciados entre sí por la afinidad relativa de agonistas y antagonistas (41), ejemplificados en la siguiente tabla, basada en trabajos realizados por distintos autores (9; 18; 65; 93).

TABLA No. 1 FARMACOS AGONISTAS DE LOS RECEPTORES ALFA

<u>alfa<sub>1</sub></u>	<u>alfa<sub>2</sub></u>
Metoxamina	Clonidina
Fenilefrina	Azepina (B.HT.920)
Noradrenalina	Azepexole (B.HT.933)
Adrenalina	Noradrenalina
	Adrenalina

En la Tabla No. 1 se describen una serie de drogas agonistas de los receptores alfa adrenérgicos según la afinidad con los distintos receptores y que se clasifican en selectivos de los alfa<sub>1</sub> (ej: fenilefrina), de los alfa<sub>2</sub> (ej: clonidina) y no-selectivos (ej: noradrenalina)

TABLA No. 2 : FARMACOS ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES ALFA

<u>alfa<sub>1</sub></u>	<u>alfa<sub>2</sub></u>
Prazosín	Yohimbina
Fenoxibenzamina	Rawolscina
W.B. 4101	Fentolamina
Corinantina	Dihidroergocriptina
Fentolamina	
Dihidroergocriptina	

En la Tabla No. 2 se detallan una serie de drogas antagonistas de los receptores alfa adrenérgicos clasificándolos según el mecanismo de acción, al igual que para las drogas agonistas (ver Tabla No. 1), en selectivos de los receptores alfa<sub>1</sub> (ej. prazosín), de los alfa<sub>2</sub> (ej: yohimbina) o no-selectivos (ej: fentolamina), tomando como referencia trabajos de distintos autores (9; 18; 30; 93; 106).

Luego del desarrollo de los distintos fármacos agonistas y antagonistas y de las combinaciones que se han realizado en distintos experimentos, ha permitido tener una idea de las características del sub-tipo de receptor alfa adrenérgico presente en distintos tejidos, detallados en la Tabla No. 3, según Ruffolo (93).

TABLA No. 3:

	ADRENOCEPTOR ALFA <sub>1</sub>	ADRENOCEPTOR ALFA <sub>2</sub>
T	Corazón de rata	Corteza cerebral de rata
E	Aorta de conejo	Utero de conejo
J	Corteza cerebral de rata	Neuroblastoma de células gliomas
I	Utero de conejo	Arteria pulmonar de conejo
D	Arteria pulmonar de conejo	Conducto deferente de rata
O	Conducto deferente de rata	Ileón de cobayo
S	Mesenterio de rata	Adipocitos humanos
	Bazo de conejo	

Para los receptores beta adrenérgicos, un grupo de trabajo dirigido por Lands y Arnold en 1967 (67), postularon la existencia de dos subtipos de receptores beta adrenérgicos. La fundamentación de tal decisión, se debió a la observación de diferentes potencias de una serie de catecolaminas para producir distintas respuestas beta adrenérgicas.

Es así que se clasificaron a los receptores beta en: 1) beta<sub>1</sub>, su estimulación provoca incremento de las cuatro propiedades cardíacas (cronotropismo, inotropismo, dromotropismo y batmotropismo), lipólisis e inhibición de la motilidad intestinal; 2) beta<sub>2</sub>, su estimulación produce vasodilatación, inhibición de la motilidad uterina y glucogenólisis muscular.

### 3) REGULACION NERVIOSA DE LA SECRECION SALIVAL

La secreción salival es el resultado de la activación nerviosa autonómica, constituyendo uno de los pocos ejemplos donde ambas ramas del sistema nervioso autónomo, simpático y parasimpático, ejercen acción sinérgica, es decir que su activación produce incremento en la secreción de saliva (14).

Una de las características fundamentales de las glándulas salivales mayores, parótidas y submaxilar, para el estudio de los fenómenos que ocurren a nivel de las sinapsis, tanto colinérgicas como noradrenérgicas, lo constituye el hecho de que las respuestas de estos órganos efectores no es inducida, sino por acción nerviosa. Además, la propiedad de no poseer actividad basal, favorece la interpretación de los efectos inducidos por estimulación tanto nerviosa como por agentes secretagogos (27; 61).

El segundo grupo de glándulas salivales, las glándulas menores, tanto las de talla mediana como las de talla reducida, de menor importancia secretora, al igual que la glándula sublingual (mayor), son de secreción continúa, no dependiendo tanto de la regula-

ción nerviosa, siendo su función la de mantener un determinado grado de humedad en la cavidad oral (83).

El sistema nervioso autónomo por medio de las ramas simpáticas y parasimpáticas regulan la función glandular a través de receptores colinérgicos muscarínicos y adrenoceptores alfa y beta, además de los receptores a la sustancia P. De la activación de estos receptores dependerá la cantidad y calidad de la secreción salival (110).

Es común encontrar en la bibliografía, que la estimulación colinérgica produce abundante secreción de saliva, otorgándose poca importancia sobre la acción secretora al sistema simpático involucrando a la estimulación adrenérgica sobre la porción enzimática de la secreción salival elaborada.

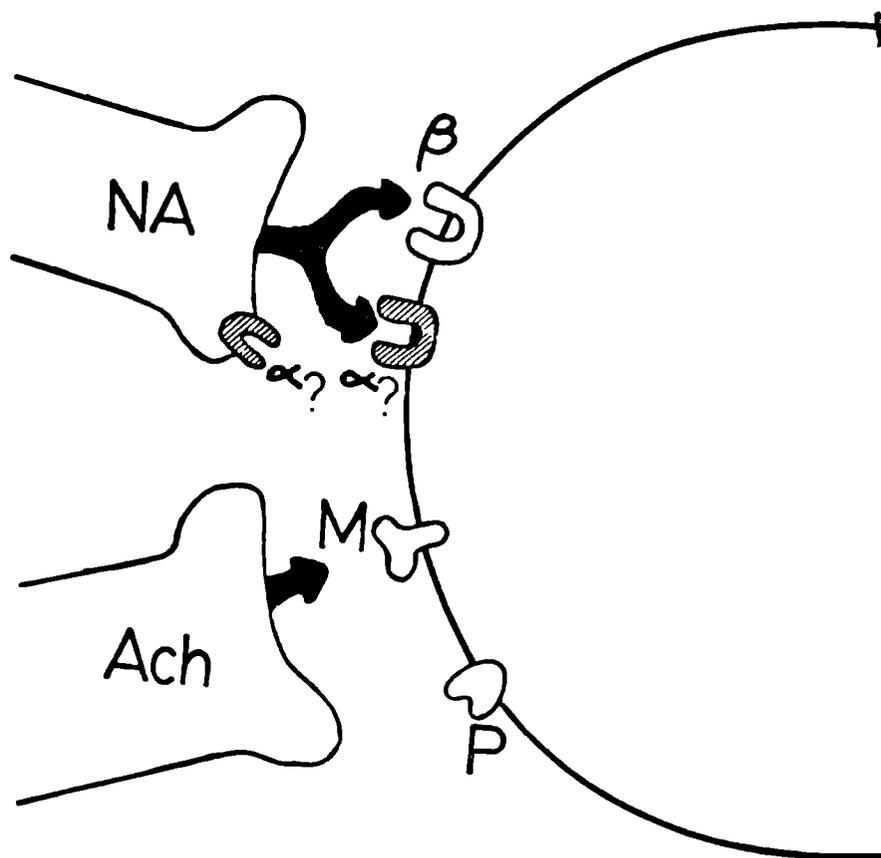
En la actualidad se ha concluido que la estimulación tanto de los receptores muscarínicos como alfa adrenoceptores, inducen la producción de una saliva abundante y rica en electrolitos (102).

En cambio, los beta adrenoceptores son los responsables, luego de su activación, de producir una saliva con abundante contenido enzimático, principalmente de amilasa (5). Además de los receptores alfa secretorios, se han descrito alfa adrenoceptores de las células mioepiteliales, cuya activación está relacionada con el desplazamiento del fluido salival, tanto del acino como de los conductos excretores (37).(GRAFICO No. 3).

En el presente trabajo, por medio de la combinación de fármacos agonistas y antagonistas para los receptores alfa adrenérgicos, será nuestra intención la de determinar el subtipo de adrenoceptor alfa involucrado en la secreción salival.

GRAFICO No. 3

Características de la sinapsis neuroefectora en la glándula submaxilar de rata. (Tomado de Stefano y Ferec, 1931).



O J E T I V O S

De acuerdo a lo descrito en el capítulo anterior el objetivo principal es el de caracterizar el subtipo de receptor alfa adrenérgico responsable en la mediación de la secreción de saliva por parte de la glándula submaxilar de rata. Para ello se decidió estudiar en primer lugar las respuestas secretorias mediadas por:

- 1) receptores colinérgicos, analizando la acción sialagoga inducida por el agonista muscarínico, metacolina.
- 2) adrenoceptores, para lo cual se determinarán los efectos secretagogos inducidos por agentes simpaticomiméticos alfa y beta, tales como la noradrenalina y el isoproterenol, respectivamente.
- 3) determinar que la administración del endecapéptido, sustancia P, ejerce su acción sialagoga "in vivo" por una acción directa sobre las células glandulares.

Luego de verificar por el empleo de antagonistas (atropina, como bloqueante muscarínico, fentolamina como bloqueante alfa y propranolol como bloqueante beta) de que la actividad secretoria en submaxilar es mediada por estos receptores y con el fin de identificar el subtipo de alfa adrenoceptor involucrado, se determinarán curvas dosis respuestas inducidas por el agonista mixto (neurotransmisor), la noradrenalina en presencia de distintas concentraciones de:

- a) antagonistas no selectivos (Ej.: Fentolamina)
- b) antagonistas selectivos alfa<sub>1</sub> (Prazocin).
- c) antagonistas selectivos alfa<sub>2</sub> (Yohimbina).

En función de las respuestas secretorias obtenidas a noradrenalina en presencia de las distintas concentraciones de antagonistas, se determinará:

- 1) la dosis efectiva, expresada en microlitros de saliva.
- 2) pA<sub>2</sub>, con el objeto de analizar la cinética de las curvas dosis respuestas en base al grado de desplazamiento.

Todos los parámetros mencionados (curvas dosis respuesta a noradrenalina, cálculo de la dosis efectiva y del  $PA_2$ ) se estudiarán en glándulas con desnervación crónica simpática y los resultados obtenidos serán comparados con los valores hallados en submaxilares controles.-

La identificación de los receptores alfa y sus subtipos en glándulas salivales aportará el conocimiento necesario para el diseño de agonistas y antagonistas para los distintos tipos de receptores adrenérgicos, constituyendo un buen modelo experimental para la posterior transferencia al campo terapéutico.

M A T E R I A L E S   Y   M E T O D O S

En todos los experimentos realizados, se utilizaron ratas hembras adultas, cepa Wistar, alimentadas con una dieta balanceada (Nutrimentos Purina S.A.).

Los animales recibieron comida y agua "ad libitum". El peso de las ratas al comienzo de los experimentos osciló entre los 180 y 220g correspondiendo a una edad de 2 a 3 meses. Las mismas en su integridad provinieron del Instituto de Farmacología y Bromatología dependiente de la Secretaría de Estado de Salud Pública, mantenidas luego en el bioterio de la Cátedra de Fisiología de la Facultad de Odontología (U.B.A.), lugar donde se realizó el presente trabajo.

#### 1.- Determinación de las respuestas secretorias en glándula submaxilar

Para evaluar las respuestas secretorias de la glándula submaxilar se empleó la técnica descrita en 1971 por Perec y Bramuglia (88), (Foto No 1, 2 y 3):

A) Luego de pesar la rata, se la preanestesia con éter en una campana de vidrio.

B) Se fijó al animal sobre la mesa de operaciones e inmediatamente se disecó la vena femoral, introduciendo en ella un cateter de plástico (Foto No 1). Esta cánula fué empleada como vía de administración tanto para el anestésico como para los distintos fármacos empleados. Se administro una solución de cloralosa a la dosis de 100 mg por kg/peso, suprimiéndose la anestesia etérea. El empleo de cloralosa, combinación de cloral con glucosa, fué seleccionado debido fundamentalmente a que se trata de un anestésico con poca acción depresora sobre el sistema nervioso autónomo (7); así, se sabe que no solamente no deprime la respiración ni muchos de los reflejos circulatorios sino que además tiene poca acción inhibitoria sobre los centros responsables de la secreción salival.

La cloralosa, fué diluída en agua destilada llevada luego a ebullición, para obtener una perfecta disolución.

C) Con el animal así anestesiado se practicó la traqueotomía. Para ello se realizó una incisión de un centímetro en la línea media del cuello, desde el extremo superior del esternón en dirección al hueso hioides; se aisló la tráquea y se procedió, previa incisión en uno de sus anillos, a insertar un tubo de plástico tipo PE 205, el cual se mantuvo durante todo el experimento.

D) Se practicó una segunda incisión cutánea en un plano que va desde el hueso hioides hasta el borde de la sínfisis del maxilar inferior. Se procedió a continuación a la disección de los conductos excretores de las glándulas submaxilares. Ambos conductos corren en forma paralela a las caras internas del maxilar inferior. Para su localización, se separaron los músculos cutáneos del cuello y se divulsionaron ambos músculos digástricos. En un plano inferior y alejados del nervio lingual, se procedió a separar ambos conductos con un hilo tipo cadena 00000 y bajo microscopio quirúrgico Zeiss (modelo 35.333), se realizó una cuidadosa incisión con una tijera oftálmica del tipo S M I C en el lateral interno de cada conducto. Con ayuda de un dilatador se introdujo una cánula fina de vidrio en cada conducto. El diámetro interno de la cánula está calibrado de manera tal que un mililitro de agua destilada corresponde a la liberación de 91 gotas (83).

En algunos experimentos para estimar las respuestas secretorias, se conectó la cánula a través de un catéter de polietileno a una micropipeta graduada de 50 microlitros de capacidad. Este procedimiento se realizó también bajo microscopio quirúrgico.

En ambos casos, fracciones de gotas al cabo de las respuestas inducidas por fármacos, fueron pesadas en papel de aluminio pre-tarado en una balanza Mettler modelo H 20 T, con una precisión de 0.1 mg (97).

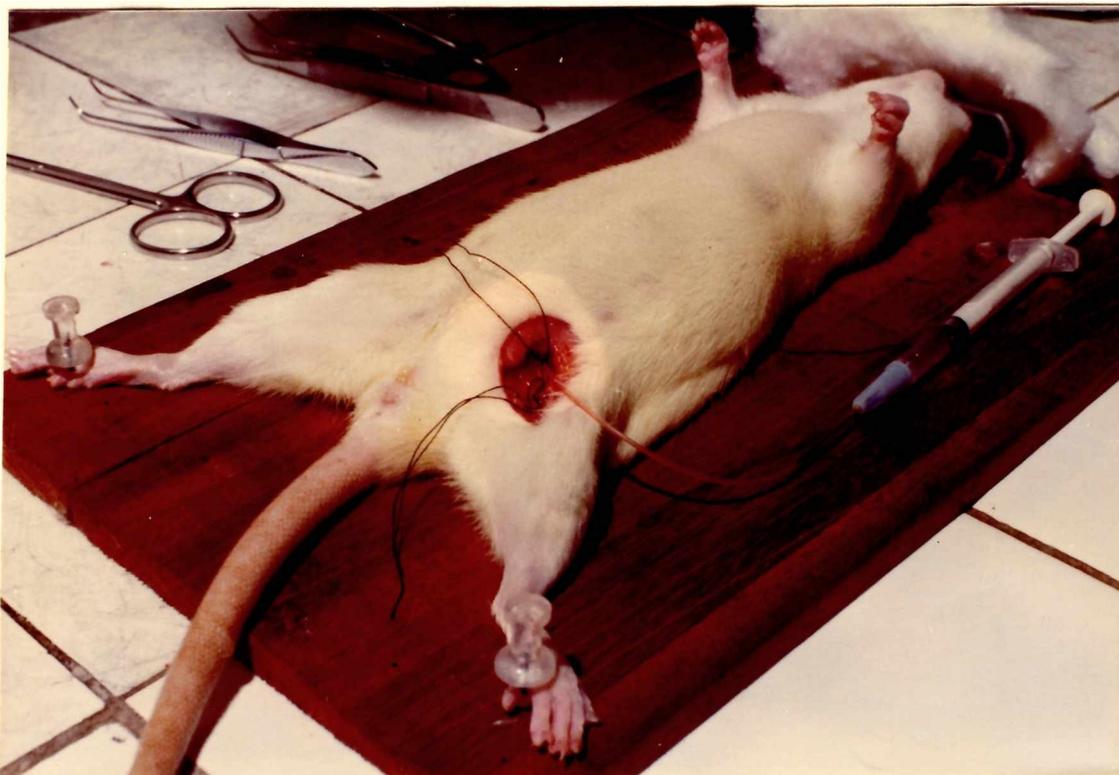


FOTO No. 1 CATETERIZACION DE LA VENA FEMORAL.

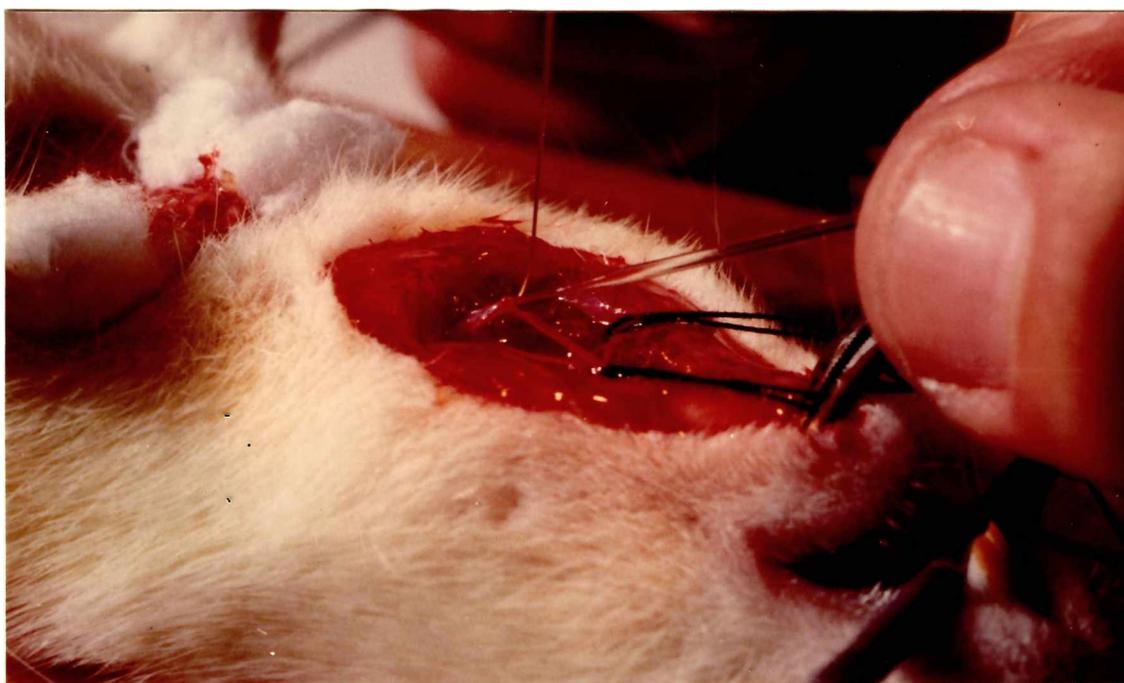


FOTO No. 2 DILATACION Y CANALIZACION DEL CONDUCTO SUBMAXILAR.



FOTO No. 3: RESPUESTA SECRETORIA DE LA GLANDULA SUBMAXILAR.

## 2.- Desnervación simpática

Como las fibras nerviosas medulares simpáticas que van a inervar las glándulas submaxilares hacen sinapsis en el ganglio cervical superior (ver Introducción), con la resección de dichos ganglios se asegura la interrupción de la conducción postganglionar (desnervación). En los presentes experimentos se procedió en todos los casos a una simpatectomía unilateral. Para ello se desnervó la glándula submaxilar derecha, empleándose la glándula contralateral no desnervada como control.

La técnica quirúrgica para la resección del ganglio cervical superior empleada fué la siguiente:

A) Se anestesió al animal con éter en una campana de vidrio. Luego de fijarlo sobre una mesa de operaciones, manteniendo la anestesia con un algodón embebido en éter, se practicó una incisión en la línea media del cuello, desde el extremo superior del esternón hasta el hueso hioides.

B) Para llegar al ganglio cervical superior se realizó una división de las capas musculares del cuello. Lateralmente a la tráquea y en un plano más profundo, se localizó el ganglio adherido a los vasos sanguíneos, tomando la precaución de no lesionarlos. A este nivel se encuentran dos ganglios (que no deben ser confundidos) el ganglio nudoso, perteneciente al vago y el otro que es el ganglio cervical superior, perteneciente al simpático.

Se separan cuidadosamente las fibras de una y otra rama y con una pinza de disección de punta muy fina, se extrae en su totalidad siempre cuidando de no lesionar la arteria carótida.

C) Finalmente se suturó con hilo común a punto continuado. La eficiencia de la desnervación fué controlada a los pocos minutos basándose en la caída del párpado superior del mismo lado intervenido (ptosis).

Los animales gangliectomizados fueron empleados luego de los

21 días de la gangliectomía. En todos los casos las operaciones fueron realizadas bajo las más estrictas normas de asepsia.

### 3.- Curvas dosis-respuesta

Las curvas dosis-respuesta (C.D.R.) son realizadas para tratar de establecer el mecanismo de acción de una droga. Para analizar dicha acción, es indispensable determinar primero las relaciones de magnitud entre las dosis del fármaco y la intensidad de los efectos producidos o respuestas. Esta relación corresponde a una expresión matemática. Dicha curva puede establecerse mediante estudios efectuados tanto en animales enteros, en órganos aislados o en células únicas (52, 73).

Al determinarse la curva se representa en la abscisa la concentración de la droga (dosis) y en la ordenada, la magnitud de la respuesta obtenida. Si en lugar de colocar en la abscisa la concentración de la droga, consignamos su logaritmo, la curva toma la forma de "S" itálica, que tiene la ventaja de evidenciar notablemente los fenómenos que ocurren con concentraciones intermedias lográndose además, un trazado prácticamente lineal desde el 20% al 80% de la actividad máxima, lo que permite predecir con facilidad los valores intermedios (6; 73)

En el presente trabajo se determinaron las dosis umbrales y las respuestas secretorias a distintas dosis de los agonistas simpáticos tanto simpáticos como parasimpáticos.

#### A) Curvas dosis-respuesta a agonistas y antagonistas adrenérgicos.

El agonista alfa adrenérgico utilizado en dosis acumulativas (1-3-10-30-60-100-300 y 1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) fué la noradrenalina (NA).

Como agonista beta adrenérgico se empleó el isoproterenol (Iso), también en dosis acumulativas (0,3-1-3-10-30-60-100 y 300  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso).

Las diluciones de ambas drogas fueron siempre preparadas

en el momento de su utilización a partir de soluciones madres.

Luego de inyectada cada dosis del agonista, se midió la respuesta secretoria. La respuesta al agonista fué medida para los 3 minutos iniciales, esperando un minuto, antes de proceder a inyectar la dosis siguiente. Es de recalcar nuevamente que cuando se secretó menos de una gota, la cantidad de saliva fué pesada en un papel de aluminio previamente tarado (83). Como segundo paso y luego de concluída la curva dosis-respuesta inicial, se procedió a la administración endovenosa de los antagonistas alfa y beta-adrenérgicos seleccionados.

Los antagonistas alfa-adrenérgicos empleados fueron, el prazosín, bloqueante selectivo de los receptores del subtipo alfa<sub>1</sub>, en las siguientes concentraciones: 0,024; 0,24; y 2,4 micromoles/kg. Como bloqueante selectivo subtipo alfa<sub>2</sub>, se utilizó la yohimbina en concentraciones de: 2,6; 7,7 y 15,3 micromoles por kilogramo de peso. Como bloqueante no-selectivo de los receptores alfa-adrenérgicos, se utilizó la fentolamina a 3,4; 7,7 y 15,3 micromoles por kilogramo de peso. Para los beta-adrenoceptores, se utilizó el propranolol como bloqueante no-selectivo de dichos receptores a la dosis de 1 mg por kilogramo de peso. Es de destacar que en todos los casos luego de administrados los antagonistas, se esperó 15 minutos antes de determinar la segunda curva dosis-respuesta al agonista.

En los animales desnervados, el agonista utilizado fue la noradrenalina y el antagonista investigado, fue el prazosín (selectivo alfa<sub>1</sub>), en concentraciones similares a las mencionadas para los experimentos realizados en animales no desnervados (0,024; 0,24 y 2,4 micromoles por kilogramo de peso).

B) Curvas dosis-respuesta a agonistas y antagonistas colinérgicos.

El agonista colinérgico utilizado en los presentes experimentos, fue la metacolina dada su particularidad de ser agonista de los receptores muscarínicos (45), en dosis acumulativas 0,1-1-3-10-30 y 60  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

Como antagonista de los receptores colinérgicos, la droga seleccionada fue el sulfato de atropina en la concentración de 1 mg/kg.

Todos los pasos para la elaboración de las curvas dosis-respuesta para las drogas colinérgicas fueron seguidas, de acuerdo a los procedimientos descritos para los agonistas y antagonistas adrenérgicos (punto 3A).

C) Curvas dosis-respuesta a la sustancia P.

Para la determinación de las C.D.R. correspondientes para la sustancia P, fueron administradas dosis acumulativas de 0,3-1-3-10 y 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso según procedimientos descritos en el punto 3A.

4.- Análisis estadístico de los resultados

La media y el error standard de la media de los resultados fué calculado para todos los grupos. La significancia entre las medias fué evaluada por medio del estudio del test "t" y la probabilidad fué determinada por la tabla de Fisher y Yates (43),  $p < 0.05$  fué reconocido como significativo

$pA_2$  y Dosis efectiva<sub>20</sub>

El cálculo estadístico seleccionado para la expresión de los resultados fué el  $pA_2$ , método ámpliamente utilizado en Farmacología tanto en experimentos "in vitro" como "in vivo" (94). El valor aparente del  $pA_2$  representa el logaritmo negativo de una do-

sis de antagonista capaz de reducir la potencia de un agonista a la mitad. Por lo que es lo mismo de hacer que una dosis doble de agonista sea reducida a la de una dosis simple (12, 31).

En los presentes experimentos el  $PA_2$  fue calculado a partir de la serie de curvas dosis-respuesta en animales que recibieron administraciones del antagonista en ausencia y en presencia de concentraciones crecientes de antagonistas.

Las graficaciones del  $PA_2$  se realizaron calculando las relaciones de dosis ó dosis efectiva 50 ( $DE_{50}$ ) del agonista en presencia del antagonista sobre la  $DE_{50}$  del agonista en ausencia del antagonista:

$$-\log \left( \frac{DE_{50} \quad C + I}{DE_{50} \quad C} - 1 \right)$$

Esta relación corresponde al eje de las ordenadas y se representa como relación dosis-1); contra el logaritmo negativo de las concentraciones del antagonista expresada en moles por kg:

$$\log (I) = \text{moles/kg}$$

Cuando se refiere  $DE_{50}$ , se expresa la dosis del fármaco necesario para producir una determinada intensidad de efecto en el 50% de la población a los que se denomina dosis efectiva media ( $DE_m$ ). Las dosis necesarias para producir el efecto enunciado en otros porcentajes de población, se expresa en forma parecida; por ej.  $DE_{30}$ ,  $DE_{20}$ ,  $DE_{10}$ , etc. El porcentaje de la DE es un parámetro que se determina luego de haber obtenido las respuestas secretorias al agonista previa y posterior a la administración del antagonista. Este parámetro debe ser un valor recuperable tanto en la C.D.R. previa, como en la C.D.R. posterior al antagonista. (95).

Este valor se expresa en microlitros ( $\mu l$ ) de saliva excretada. Para satisfacer estas exigencias se empleó la  $DE_{20} \mu l$  de saliva, valor que nos va a indicar si la dosis del agonista empleada para obtener una determinada respuesta secretoria se ve modificada o no por la administración de un antagonista.

5-DROGAS UTILIZADAS EN LOS EXPERIMENTOS

alfa-Cloralosa (Sigma Chemical Company, U.S.A.)

Atropina, sulfato (Sigma Chemical Company, U.S.A.)

Fentolamina, clorhidrato (Dr. Carvanolli, CIBA, Buenos Aires)

(+)-Isoproterenol, clorhidrato (Sigma Chemical Company, U.S.A.)

Metacolina, clorhidrato (Sigma Chemical Company, U.S.A.)

(-)-Noradrenalina, bitartrato monohidrato (Sterling Research Institute, N.Y., U.S.A.)

Prazosín, clorhidrato (Pfizer, Argentina)

(-)-Propranolol (Imperial Chemical Industries)

Sustancia P. (Sigma Chemical Company, U.S.A.)

Yohimbina, clorhidrato (Sigma Chemical Company, U.S.A.)

R E S U L T A D O S

A) ANIMALES NORMALES

Introducción

En ratas hembras adultas, cuyo peso fué de 220,30 ± 38,5 g, para un total de 120 animales, luego de canalizar ambos conductos excretorios de las glándulas submaxilares, se procedió a determinar las curvas dosis-respuesta a agonistas clásicos de acuerdo a los receptores de membrana descritos en las células secretoras de dicha estructura (Figura 1).

En la Figura 1A, se presenta el volumen de saliva excretado luego de la administración de sucesivas dosis del agonista adrenérgico no selectivo de los receptores alfa adrenérgicos, la noradrenalina (NA). Las dosis administradas fueron acumulativas: 1 - 3 - 10 - 30 - 60 y 100 µg/kg, siendo representadas en las abscisas (Figura 1); las respuestas secretorias se representan en ordenadas. La respuesta máxima fue obtenida a las dosis de 30 y 60 µg/kg y su valor aproximadamente fue de 60 µl (Figura 1A), la respuesta salival disminuye a 100 µg/kg de NA.

La Figura 1B presenta la actividad secretoria inducida por la metacolina, droga parasimpaticomimética con predominio de acción sobre los receptores muscarínicos. Las dosis empleadas de este sialagogo fueron de 0,3 - 1 - 3 - 10 - 30 y 60 µg/kg, obteniéndose la respuesta secretoria máxima, luego de la administración de 30 µg/kg siendo el valor aproximado de la respuesta de 60 µl de saliva. Luego, a dosis mayores, la saliva secretada por acción de dicho agonista fué menor.

La curva dosis-respuesta correspondiente al isoproterenol, fármaco que posee la propiedad de ser no selectivo para los beta adrenoceptores, se presenta en la Figura 1C. Las dosis empleadas para este agonista fueron de 1 - 10 - 100 y 1000 µg/kg de peso. A diferencia de lo observado tanto para la NA como para la metacolina, donde la actividad secretoria que se midieron eran las correspondientes a la respuesta secretoria total producida durante los pri-

meros 3 minutos (Figuras 1A y 1B), para el isoproterenol fue necesario determinar la respuesta total, durante un período de tiempo más largo (de 10 a 30 minutos), de acuerdo a las dosis empleadas. La respuesta máxima obtenida se encontró en valores cercanos a los 60  $\mu$ l de saliva para dosis de 1000  $\mu$ g/kg del agonista beta selectivo (Figura 1C).

La Figura 1D presenta las respuestas secretorias obtenidas luego de la administración de dosis acumulativas 0,3 - 1 - 3 - 10 y 30  $\mu$ g/kg de la sustancia P. La respuesta máxima fue obtenida luego de la dosis de 10  $\mu$ g/kg, el volumen de saliva secretado correspondió a 30  $\mu$ l, valor correspondiente a la mitad de los valores obtenidos para las respuestas secretorias inducidas por los agonistas anteriormente descritos (ver Figuras 1A, B, C).

#### Acción de los bloqueantes

Las respuestas secretorias inducidas por los agonistas recientemente descritos (ver Figura 1), fueron modificadas cuando dichos agonistas fueron administrados en presencia de sus antagonistas clásicos, tales como la fentolamina, el propranolol, la atropina, etc.

#### Efectos de la fentolamina

En la Figura 2A se presenta la curva dosis-respuesta a la NA, previa a la administración del antagonista seleccionado (●—●), la fentolamina y la curva al mismo agonista en los mismos animales (n=10), luego de la administración de 1 mg/kg intravenoso de fentolamina (▲---▲). Se observa claramente que las respuestas secretorias en presencia de la fentolamina disminuyen marcadamente cuando son comparadas con las obtenidas en la primera C.D.R. Este bloqueo se manifiesta por el desplazamiento de la segunda curva dosis-respuesta hacia la derecha (Figura 2A). Es de destacar que fue necesario aumentar la dosis del agonista 6 veces para obtener igual respuesta secretoria en presencia del bloqueante, como lo demuestra la  $DE_{20}$  microlitros (Tabla No. 4).

También la Figura 2A muestra que la respuesta máxima secretoria al agonista en presencia de antagonistas, se redujo en un 60% aproximadamente (de  $59 \pm 3$  a  $21 \pm 2 \mu\text{l}$ ).

El agonista beta empleado, el isoproterenol, produjo una respuesta secretoria que fué dosis-dependiente siendo antagonizado por la acción del propranolol, en una concentración de 1 mg/kg. En la Figura 2B se presenta el desplazamiento a la derecha de la curva dosis-respuesta al isoproterenol y que fué de aproximadamente 1,5 unidades logarítmicas (u.log). También la dosis efectiva  $15 \mu\text{l}$  ( $DE_{15} \mu\text{l}$ ) estuvo incrementada en 35 veces; la respuesta máxima se redujo en un 60% (de  $55 \pm 4$  a  $17 \pm 2 \mu\text{l}$ ). El efecto inducido por la administración de 1 mg/kg de sulfato de atropina, bloqueante de los receptores muscarínicos colinérgicos, fué el de bloquear totalmente la respuesta secretoria inducida por la metacolina administrada en dosis acumulativas de 0,3 - 1 - 3 - 10 - 30 y 60  $\mu\text{g}/\text{kg}$  en un total de 5 experimentos realizados.

Como existen convincentes estudios experimentales o referentes tanto para el subtipo de receptor beta adrenérgico como del receptor muscarínico colinérgico, en la presente serie de experimentos se centrará la atención en el estudio de drogas de acción sobre los receptores alfa adrenérgicos. Con el fin de determinar las características de los alfa adrenoceptores presentes en la glándula submaxilar de la rata, se seleccionaron tres fármacos antagonistas de los receptores alfa: 1) fentolamina, no selectivo; 2) prazosin, selectivo de los receptores alfa<sub>1</sub>; 3) yohimbina, selectivo de los receptores alfa<sub>2</sub>.

Para cada uno de ellos se usaron tres concentraciones distintas una considerada baja, una media y una alta. La NA fue el agonista utilizado en todos los experimentos dada sus propiedades de actuar tanto sobre los receptores alfa<sub>1</sub> como en los alfa<sub>2</sub> con intensidad proporcional.

Fentolamina en una concentración de 3,15  $\mu\text{moles}/\text{kg}$  (Figura 3) produjo un desplazamiento de la curva dosis-respuesta a la NA de

aproximadamente 0,5 u.log hacia la derecha. Para la obtención de la dosis efectiva 20 microlitros de saliva ( $DE_{20} \mu l$ ), este desplazamiento fue de 5 veces (ver Tabla No. 4).

La concentración media para fentolamina (7,7  $\mu moles/kg$ ) indujo un desplazamiento hacia la derecha de 0,8 u.log. el cual corresponde aproximadamente a un valor de la  $DE_{20} \mu l$ , 6,5 veces mayor (Figura 4). Puede observarse que estos valores no difieren de los obtenidos con la concentración anterior (comparar Figuras 3 y 4).

En cambio, cuando se empleó el bloqueante en una concentración de 15,3  $\mu moles/kg$ , el bloqueo producido en la segunda dosis-respuesta, fué significativamente mayor. Así la segunda curva se desplazó en aproximadamente 1,75 u.log hacia la derecha (ver Figura 5) lo que corresponde a un incremento de 70 veces en la  $DE_{20} \mu l$  (de 775 a 10,5).

#### Efectos del prazosín

Los mismos procedimientos empleados con el bloqueante no selectivo, fentolamina, fueron repetidos con prazosín, bloqueante de los alfa<sub>1</sub> adrenoceptores selectivo. Las tres concentraciones elegidas corresponden 1) a 0,024  $\mu moles/kg$  (Figura 6); 2) 0,24  $\mu moles/kg$ ; 3) 2,4  $\mu moles/kg$ . El desplazamiento producido en la curva dosis-respuesta a la primera dosis del antagonista, produjo un desplazamiento a la derecha con respecto a la C.D.R. inicial de alrededor de 0,2 u.log; la  $DE_{20} \mu l$  fué 1,5 veces mayor, no existiendo en cambio diferencias significativas en las máximas obtenidas.

Para la concentración de 0,24  $\mu moles/kg$  de prazosín (Figura 7) se obtuvo un mayor bloqueo a la respuesta secretoria inducida por la NA; el desplazamiento de la segunda C.D.R. fué de aproximadamente 0,6 u.log con respecto de la inicial. La  $DE_{20} \mu l$  fué de casi 4,5 veces mayor (ver Tabla No. 4). Al igual que para la dosis anterior, no hubo diferencias significativas en las respuestas máximas entre ambas curvas (Figura 7).

La concentración mayor empleada para prazosín fue de 2,4  $\mu\text{moles/kg}$  y las respuestas obtenidas se presentan en la Figura 8. Se observó un corrimiento significativamente mayor que los obtenidos para las dos concentraciones anteriores. El desplazamiento a la derecha alcanzó para las dosis empleadas a 1,65 u.log, lo que significa que la dosis del agonista debe ser aumentada aproximadamente 40 veces para recuperar la  $DE_{20}$   $\mu\text{l}$  original.

#### Efectos de la yohimbina

Una vez analizados los efectos del bloqueante selectivo de los adrenoreceptores  $\alpha_1$ , se analizaron las acciones sobre la secreción salival de un fármaco de acción bloqueante selectivo de los receptores  $\alpha_2$ , empleándose para ello la yohimbina. La primer concentración empleada fué de 2,6  $\mu\text{moles/kg}$  (Figura 9). Se observa el bloqueo producido a dicha concentración, resultando un bloqueo significativamente mayor, respecto a la C.D.R. inicial, evidenciado por el desplazamiento que es de alrededor de 1 vez aproximadamente, cuando es comparado con la curva inicial.

Para la segunda dosis que fué de 7,7  $\mu\text{moles/kg}$  de yohimbina (Figura 10), el desplazamiento a la derecha de la C.D.R. fué de 3 veces con respecto a la C.D.R. inicial; teniendo en cuenta a la  $DE_{20}$   $\mu\text{l}$  como punto de referencia (ver Tabla No. 4). La respuesta máxima estuvo reducida en un 45% aproximadamente (de  $60 \pm 4$   $\mu\text{l}$  a  $38 \pm 3$   $\mu\text{l}$ ).

La concentración mayor utilizada en los presentes experimentos fué de 15,3  $\mu\text{moles/kg}$  y los resultados se presentan en la Figura 11. La dosis utilizada sin duda fué cercana a la dosis letal 50 ( $DL_{50}$ ) debido a que varios de los animales no resistieron dicha concentración. En los animales que sobrevivieron, el corrimiento hacia la derecha obtenido, fué de menos de 0.5 u.log, lo que corresponde a una  $DE_{20}$   $\mu\text{l}$  de aproximadamente 4,5 veces mayor que la obtenida en la C.D.R. inicial.

DE<sub>20</sub>  $\mu$ l obtenidas

Los valores obtenidos correspondientes a las DE<sub>20</sub>  $\mu$ l de saliva se encuentran detallados en la Tabla No. 4.

En esta Tabla se describen las distintas concentraciones necesarias del agonista (NA) para obtener las DE<sub>20</sub>  $\mu$ l previas a las administraciones de los distintos antagonistas y las concentraciones del mismo agonista, en presencia de las distintas concentraciones de los antagonistas empleados, necesarias para la obtención de la DE<sub>20</sub>  $\mu$ l posteriores; como diferencia de ambas, la DE<sub>20</sub>  $\mu$ l para cada concentración de antagonista.

pa<sub>2</sub>: Valores en animales normales

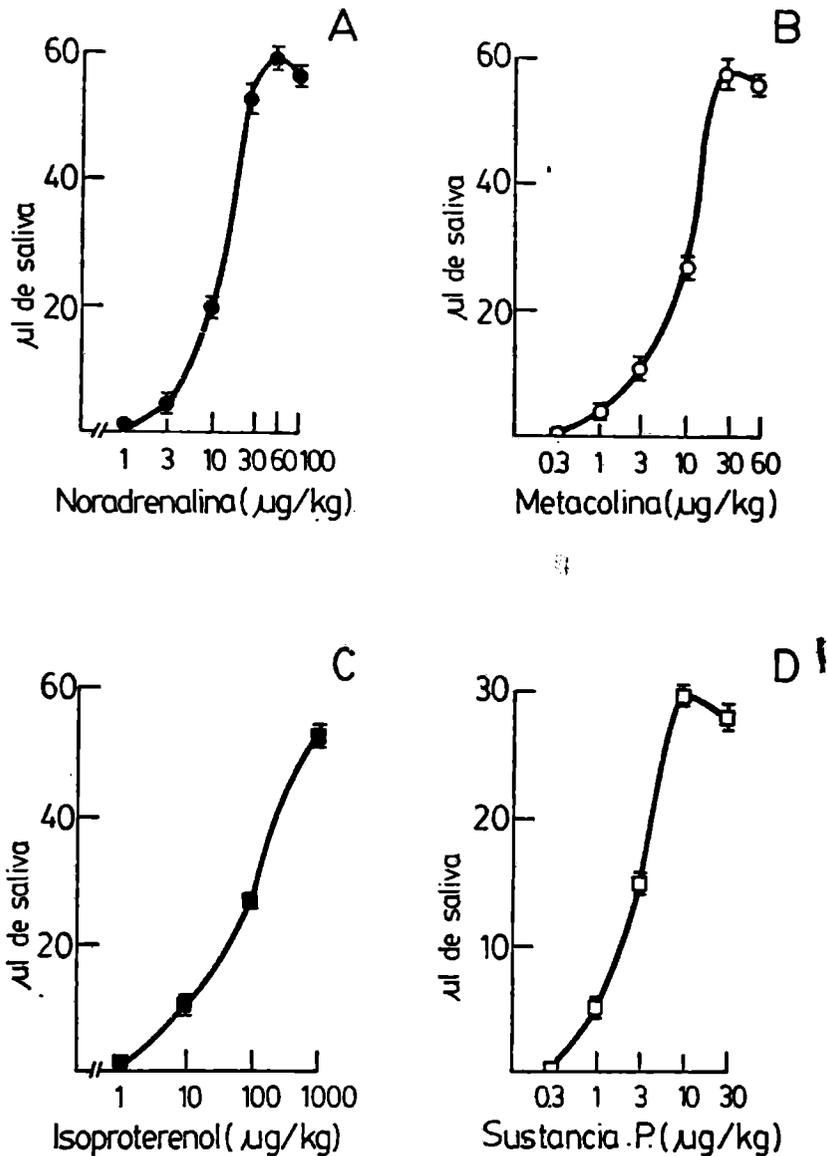
El valor aparente del pa<sub>2</sub> representa el logaritmo negativo de una dosis del antagonista capaz de reducir la potencia de un agonista a la mitad (95). El grado de paralelismo encontrado para las rectas correspondientes a cada antagonista, indica que se trata de una misma población de receptores, como se observa en la Figura 12.

El pa<sub>2</sub> para prazosín, o sea la concentración necesaria de dicha droga para reducir a la mitad la potencia del agonista (NA), fué de 0,045  $\mu$ moles/kg, lo que representa aproximadamente el doble de la primera concentración utilizada del mismo antagonista 0,024  $\mu$ moles/kg.

Para la fentolamina, el pa<sub>2</sub> correspondiente fué de 1,78  $\mu$ moles/kg, aproximadamente la mitad de la concentración menor utilizada de dicho antagonista, 3,15  $\mu$ moles/kg.

Cuando se empleó yohimbina, bloqueante selectivo de los alfa<sub>2</sub> adrenoceptores, el pa<sub>2</sub> obtenido fué de 5,6  $\mu$ moles/kg, valor éste, cercano a la concentración media seleccionada para yohimbina, 7,7  $\mu$ moles/kg.

FIGURA No. 1: EFECTOS DE AGONISTAS SOBRE LA SECRECIÓN SALIVAL



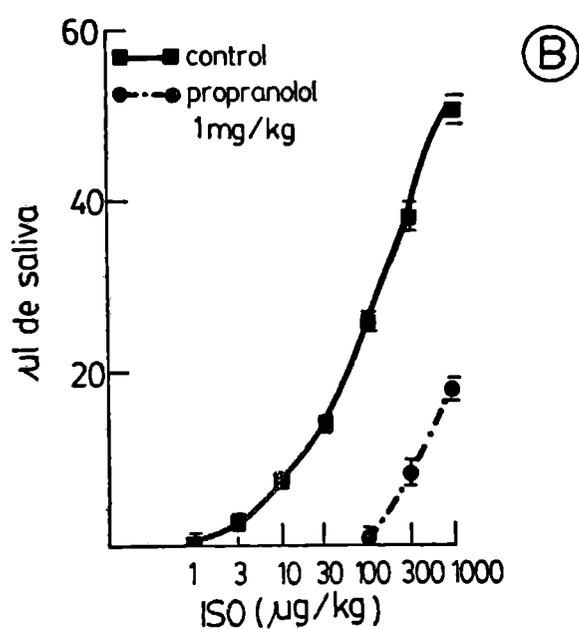
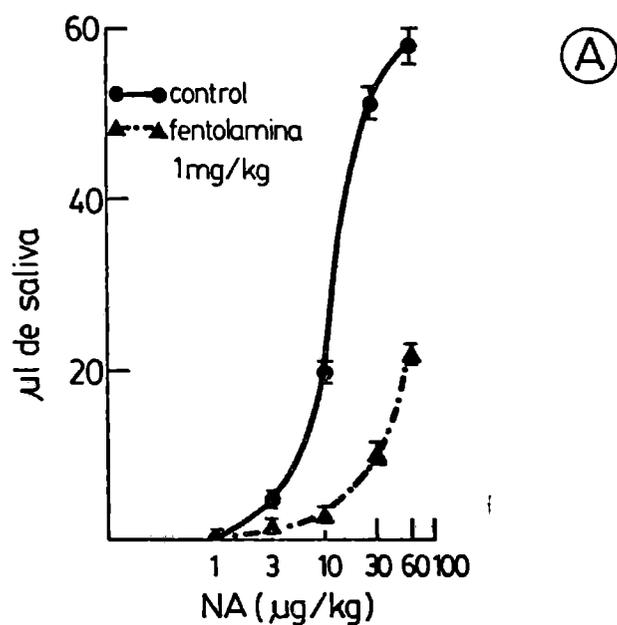
- 1A) ●—● Curva dosis-respuesta a noradrenalina  
 1B) ○—○ Curva dosis-respuesta a metacolina  
 1C) ■—■ Curva dosis-respuesta al isoproterenol  
 1D) □—□ Curva dosis-respuesta a la Sustancia P.

Ordenadas Respuesta secretoria expresada en microlitros (µl) de saliva.

Abscisas Dosis de agonistas expresada en microgramos por kilogramo (µg/kg).

Los valores corresponden a la media ± el error standard de 6 experimentos.

**FIGURA No. 2: EFECTO DE LOS BLOQUEANTES ADRENERGICOS FENTOLAMINA Y PROPRANOLOL SOBRE LAS RESPUESTAS SECRETORAS A: a) NO-RADRENALINA (NA); b) ISOPROTERENOL (ISO).**



**Ordenadas:** Respuesta secretoria expresada en microlitros (µl) de saliva.

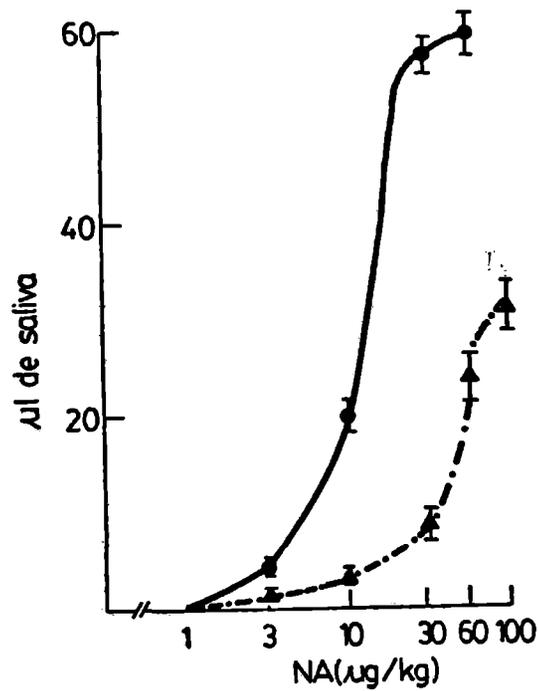
**Abscisas :** Dosis de agonistas expresada en microgramos por kilogramo (µg/kg).

**Figura 2A:** ●—● Curva dosis-respuesta a NA  
▲-.-▲ Curva dosis-respuesta a NA en presencia de fentolamina (1 mg/kg)

**Figura 2B:** ■—■ Curva dosis-respuesta control a ISO  
●-.-● Curva dosis-respuesta a ISO en presencia de propranolol (1 mg/kg)

Los valores corresponde a la media  $\pm$  el E.S. de 6 experimentos.

FIGURA No. 3: EFECTOS DE LA FENTOLAMINA (3,15  $\mu$ moles/kg) SOBRE LA CURVA DOSIS-RESPUESTA A NORADRENALINA (NA).



Ordenada: Microlitros ( $\mu$ l) totales de saliva.

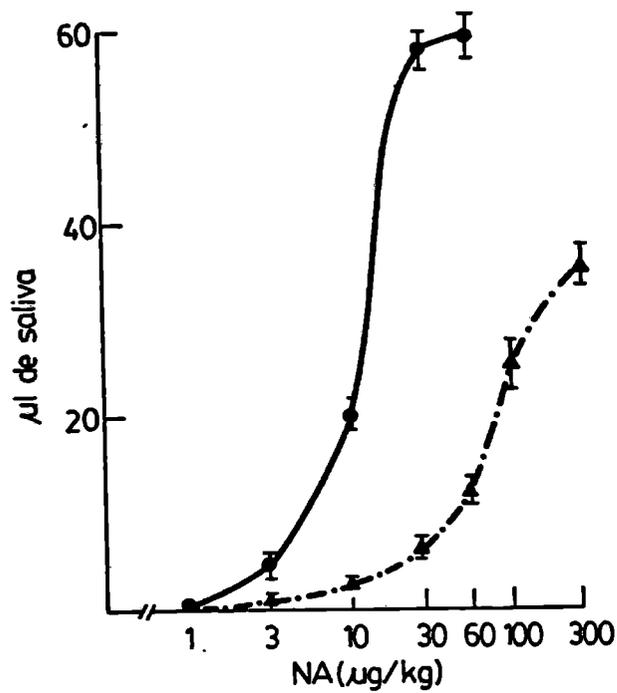
Abscisa : Dosis de NA expresada en microgramos por kilogramo ( $\mu$ g/kg)

●—● Curva dosis-respuesta a NA

▲—▲ : Curva dosis-respuesta a NA en presencia de fentolamina (3,15  $\mu$ moles/kg).

Los valores son la media  $\pm$  el error standard de la media de 10 experimentos.

FIGURA No. 4: EFECTOS DE LA FENTOLAMINA (7,7  $\mu$ moles/kg) SOBRE LA CURVA DOSIS-RESPUESTA A LA NORADRENALINA (NA).



Ordenada: Microlitros ( $\mu$ l) totales de saliva

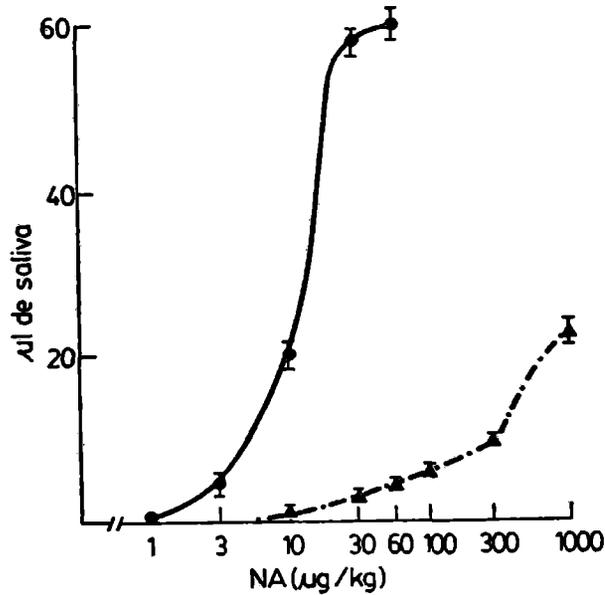
Abscisa Dosis de NA expresada en microgramos por kilogramo. ( $\mu$ g/kg).

●—● Curva dosis-respuesta a NA

▲-.-▲ Curva dosis-respuesta a NA en presencia de fentolamina (7,7  $\mu$ moles/kg).

Los valores son la media  $\pm$  el error standard de la media de 10 experimentos.

FIGURA No. 5: EFECTOS DE LA FENTOLAMINA (15,3  $\mu$ moles/kg) SOBRE LA CURVA DOSIS-RESPUESTA A LA NORADRENALINA (NA).



Ordenada: Microlitros ( $\mu$ l) totales de saliva

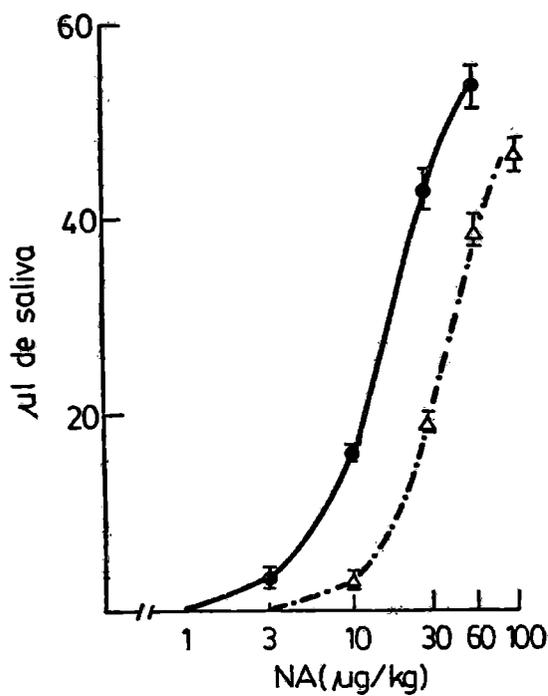
Abscisa Dosis de NA expresada en microgramos por kilogramo ( $\mu$ g/kg).

●—● : Curva dosis-respuesta a NA

▲—▲ : Curva dosis-respuesta a NA en presencia de fentolamina 15,3  $\mu$ moles/kg.

Los valores expresados son la media  $\pm$  el error standard de la media de 10 experimentos.

FIGURA No. 6: EFECTOS DEL PRAZOSIN (0,024  $\mu$ moles/kg) SOBRE LA CURVA DOSIS-RESPUESTA A LA NORADRENALINA (NA).



Ordenada: Microlitros ( $\mu$ l) totales de saliva

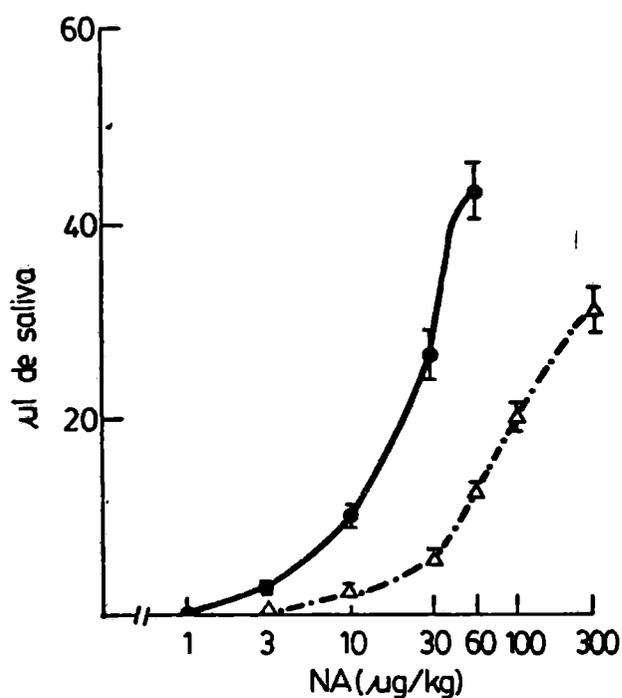
Abscisa Dosis de NA expresada en microgramos por kilogramo ( $\mu$ g/kg).

●—● Curva dosis-respuesta a NA

△—△ Curva dosis-respuesta a NA en presencia de prazosin 0,024  $\mu$ moles/kg

Los valores son la media  $\pm$  el error standard de la media de 10 experimentos.

FIGURA No. 7: EFECTOS DEL PRAZOSIN (0,24  $\mu$ moles/kg) EN LA CURVA  
DOSIS-RESPUESTA A LA NORADRENALINA (NA)



Ordenada: Microlitros ( $\mu$ l) totales de saliva

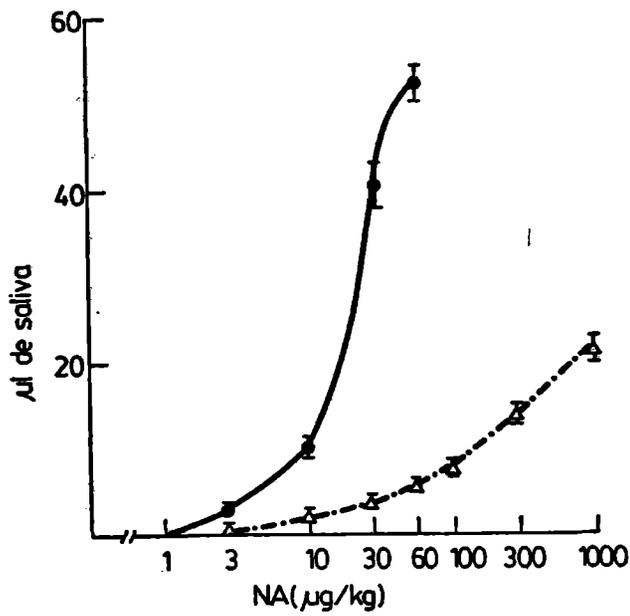
Abscisa Dosis de NA expresada en microgramos por kilogramo ( $\mu$ g/kg)

●—●: Curva dosis-respuesta a NA

△—△: Curva dosis-respuesta a NA en presencia de prazosin 0,24  $\mu$ moles/kg

Los valores son la media  $\pm$  el error standard de 10 experimentos.

FIGURA No. 8: EFECTOS DEL PRAZOSIN (2,4  $\mu$ moles/kg) EN LA CURVA DOSIS-RESPUESTA A LA NORADRENALINA (NA).



Ordenada: Microlitros ( $\mu$ l) totales de saliva.

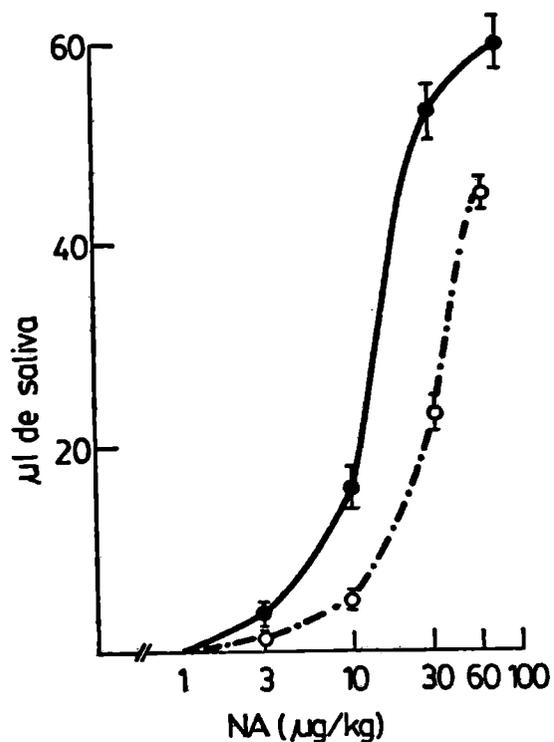
Abscisa Dosis de NA expresada en microgramos por kilogramo ( $\mu$ g/kg)

●—● Curva dosis-respuesta a NA

△---△ : Curva dosis-respuesta a NA en presencia de prazosin 2,4  $\mu$ moles/kg

Los valores son la media  $\pm$  el error standard de 10 experimentos.

FIGURA No. 9: EFECTOS DE YOHIMBINA (2,6  $\mu$ moles/kg) EN LA CURVA DOSIS-RESPUESTA A NORADRENALINA (NA).



Ordenada: Microlitros ( $\mu$ l) totales de saliva

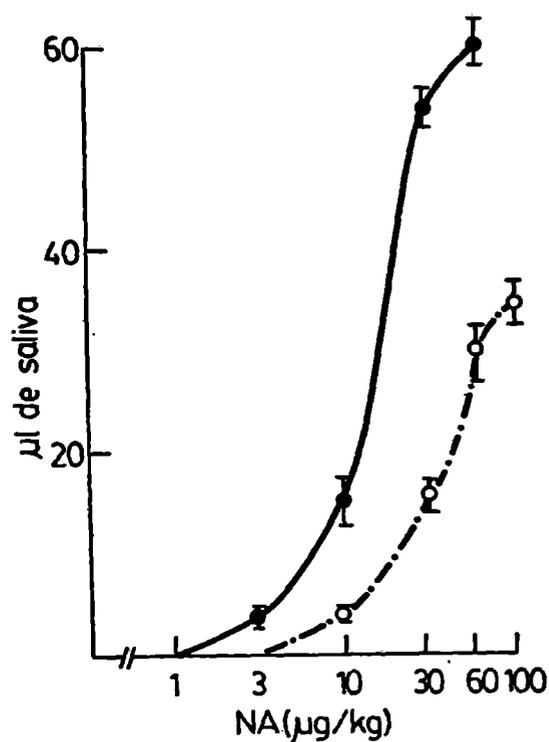
Abscisa Dosis de NA expresada en microgramos por kilogramo ( $\mu$ g/kg)

●—● Curva dosis-respuesta a NA

○- - -○ Curva dosis-respuesta a NA en presencia de yohimbina 2,6  $\mu$ moles/kg.

Los valores son la media  $\pm$  el error standard de 10 experimentos.

FIGURA No. 10: EFECTOS DE YOHIMBINA (7,7  $\mu$ moles/kg) EN LA CURVA DOSIS-RESPUESTA A LA NORADRENALINA (NA).



Ordenada: Microlitros ( $\mu\text{l}$ ) totales de saliva

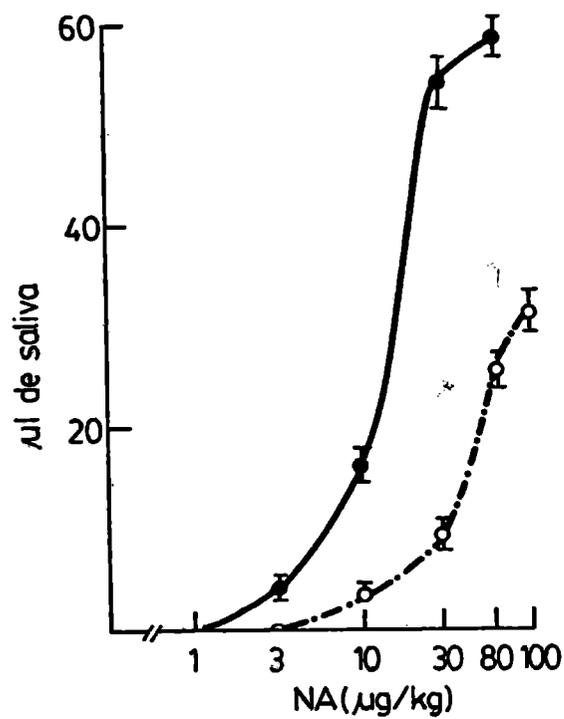
Abscisa Dosis de NA expresada en microgramos por kilogramo ( $\mu\text{g/kg}$ )

●—● Curva dosis-respuesta a NA

○-·-·-○ Curva dosis-respuesta a NA en presencia de yohimbina 7,7  $\mu\text{moles/kg}$

Los valores son la media  $\pm$  el error standrd de 10 experimentos

FIGURA No. 11: EFECTOS DE YOHIMBINA (15,3  $\mu$ moles/kg) EN LA CURVA DOSIS-RESPUESTA A LA NORADRENALINA (NA).



Ordenada: Microlitros ( $\mu$ l) totales de saliva

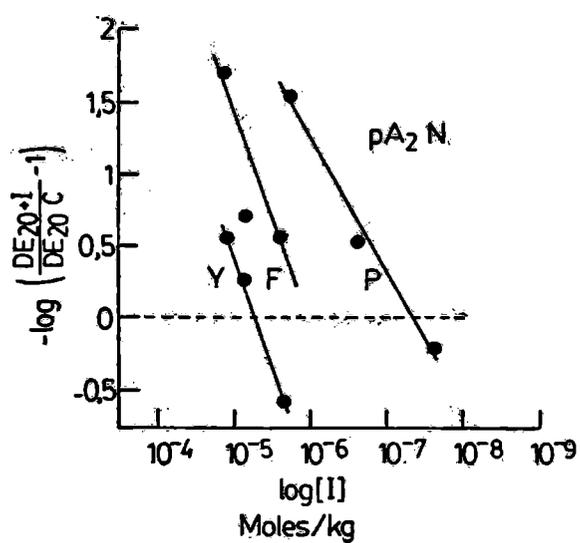
Abscisa Dosis de NA expresada en microgramos por kilogramo ( $\mu$ g/kg)

●—●: Curva dosis-respuesta a NA

○- - - -○: Curva dosis-respuesta a NA en presencia de yohimbina 15,3  $\mu$ moles/kg.

Los valores son la media  $\pm$  el error standard de 10 experimentos.

FIGURA No. 12:  $pA_2$  OBTENIDOS EN GLANDULAS SUBMAXILARES CONTROLES  
PARA: YOHIMBINA, FENTOLAMINA Y PROZOSIN.



Ordenada: Log (Relación Dosis -1)

Abscisa : -Log (Dosis molar de los distintos antagonistas)

TABLA No. 4:      DOSIS EFECTIVA (DE<sub>20</sub>) EN ANIMALES NORMALES

CURVAS		DOSIS	RESPUESTA	
Previa $\mu$ .log.			Posterior $\mu$ .log.	DE <sub>20</sub> $\mu$ l
NA = 1,320			NA + Prazosín = 1,507 (0,024 $\mu$ moles)	1,5
NA = 1,370			NA + Prazosín = 2,016 (0,24 $\mu$ moles)	4,4
NA = 1,169			NA + Prazosín = 2,774 (2,4 $\mu$ moles)	40,2
NA = 1,206			NA + Yohimbina = 1,387 (2,6 $\mu$ moles)	1,5
NA = 1,065			NA + Yohimbina = 1,552 (7,7 $\mu$ moles)	3,0
NA = 1,037			NA + Yohimbina = 1,686 (15,3 $\mu$ moles)	4,4
NA = 1,010			NA + Fentolamina = 1,708 (3,15 $\mu$ moles)	4,9
NA = 1,133			NA + Fentolamina = 1,916 (7,7 $\mu$ moles)	6,0
NA = 1,020			NA + Fentolamina = 2,889 (15,3 $\mu$ moles)	73,0

## B) EFFECTOS DE LA DESNERVACION SIMPATICA

### 1) Acción del prazosín

En animales simpatectomizados, por resección del ganglio cervical superior, se determinaron curvas dosis-respuestas al antagonista selectivo de los receptores  $\alpha_1$ , el prazosín; se emplearon idénticas concentraciones que las utilizadas en los experimentos con animales normales, con el fin de observar cuál era el efecto inducido por dicho bloqueante en glándulas desnervadas.

En la Figura 13 se observa la respuesta obtenida a la concentración menor de prazosín, 0,024  $\mu\text{moles/kg}$ . Para las glándulas contralaterales, normalmente inervadas, la respuesta obtenida fue similar a la descrita en animales normales (ver Figura 6). En cambio, la C.D.R. de las glándulas desnervadas produjo un marcado incremento en la secreción a bajas concentraciones de NA, obteniéndose la respuesta máxima luego de 10  $\mu\text{g/kg}$  de NA. A partir de dicha dosis la respuesta comenzó a decrecer en contraposición con la glándula inervada (Figura 13).

Esta supersensibilidad se manifiesta también por el desplazamiento de la  $DE_{20} \mu\text{l}$  producida entre la C.D.R. previa al antagonista y la posterior al mismo y que fué de 0,9 u.log, lo que implica un corrimiento a la derecha de la  $DE_{20} \mu\text{l}$  de 9,5 veces.

Para la concentración media de prazosín 0,24  $\mu\text{moles/kg}$  (Figura 14), las C.D.R. obtenidas en glándulas contralaterales (inervadas) presentaron un desplazamiento de las  $DE_{20} \mu\text{l}$  de aproximadamente 0,7 u.log indicando que la C.D.R. inicial se desplazó aproximadamente 5.5 veces hacia la derecha con respecto a la C.D.R. posterior a la administración del antagonista.

Los valores obtenidos en glándulas desnervadas muestran que para la C.D.R. inicial, previa al antagonista, fué necesaria una concentración de aproximadamente 0,5 u.log del agonista, mientras que para la segunda C.D.R. posterior a la administración de 0,24

$\mu\text{moles/kg}$  de prozosín, se necesitaron 1,8 u.log del agonista NA. Ello indica un desplazamiento de la  $DE_{20}$   $\mu\text{l}$  de aproximadamente 25 veces hacia la derecha.

En cuanto a la concentración mayor de prazosín 2,4  $\mu\text{moles/kg}$  (Figura 15), las respuestas obtenidas en las glándulas contralaterales inervadas, le correspondió una  $DE_{20}$   $\mu\text{l}$  inicial de 0.9 u. log del agonista NA; la  $DE_{20}$   $\mu\text{l}$  posterior a la administración del bloqueante se obtuvo con un valor aproximado a las 2,7 u.log del agonista. Ello implica un corrimiento de la  $DE_{20}$   $\mu\text{l}$  de aproximadamente 63 veces hacia la derecha, con respecto a la  $DE_{20}$   $\mu\text{l}$  obtenida en la C.D.R. inicial, valor éste, que es mayor que el obtenido en animales normales, donde el bloqueo fue de aproximadamente 40 veces (ver Figura 8).

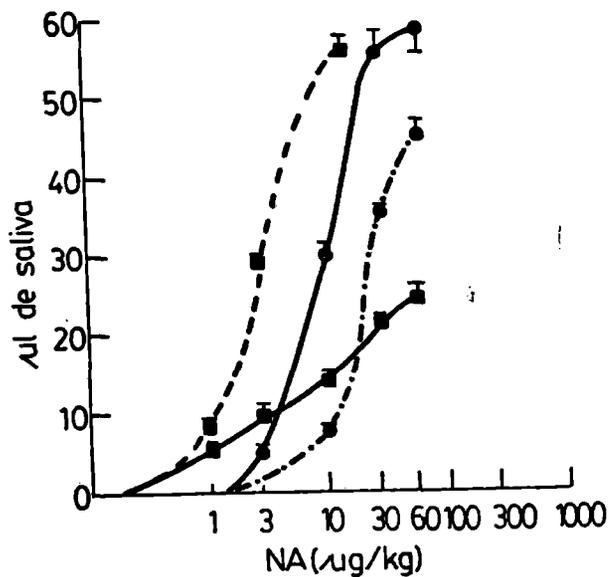
En lo que respecta a las glándulas desnervadas, la  $DE_{20}$   $\mu\text{l}$  de la C.D.R. previa al agonista, se obtuvo a una concentración de 0,07 u.log. del agonista, mientras que la  $DE_{20}$   $\mu\text{l}$  obtenida en la C.D.R. posterior a la administración de 2,4  $\mu\text{moles/kg}$  de prazosín correspondió a una concentración de 3,1 u.log. del agonista NA (Figura 15). Ello corresponde un corrimiento de la  $DE_{20}$   $\mu\text{l}$  de aproximadamente 1,096 veces hacia la derecha.

2)  $pA_2$ : Valores en glándulas desnervadas vs. glándulas controles (inervadas)

El  $pA_2$  obtenido para prazosín en las glándulas contralaterales (inervadas) de los animales simpatectomizados, que nos expresa cual es la concentración necesaria de dicho antagonista para reducir a la mitad la potencia del agonista (NA), fué de 0,025  $\mu\text{moles/kg}$ , valor que representa aproximadamente la mitad del obtenido en animales normales (ver Figura 12).

Para las glándulas desnervadas, el valor de  $pA_2$  obtenido para el bloqueante selectivo de los alfa<sub>1</sub> adrenoceptores, el prazosín fué de 0,01  $\mu\text{moles/kg}$ . (Figura No. 16).

FIGURA No. 13: EFFECTOS DEL PRAZOSIN (0,024  $\mu$ moles/kg) SOBRE LA  
CURVA DOISIS-RESPUESTA A NORADRENALINA (NA) EN  
GLANDULAS CON DESNERVACION SIMPATICA CRONICA Y  
EN GLANDULAS CONTRALATERALES NORMALMENTE INERVADAS



Ordenada: Secreción total de saliva expresada en microlitros ( $\mu$ l)

Abscisa Dosis de NA expresada en microgramos por kilogramo ( $\mu$ g/kg)

■ ---- ■ : Curva dosis-respuesta a NA, glándulas desnervadas

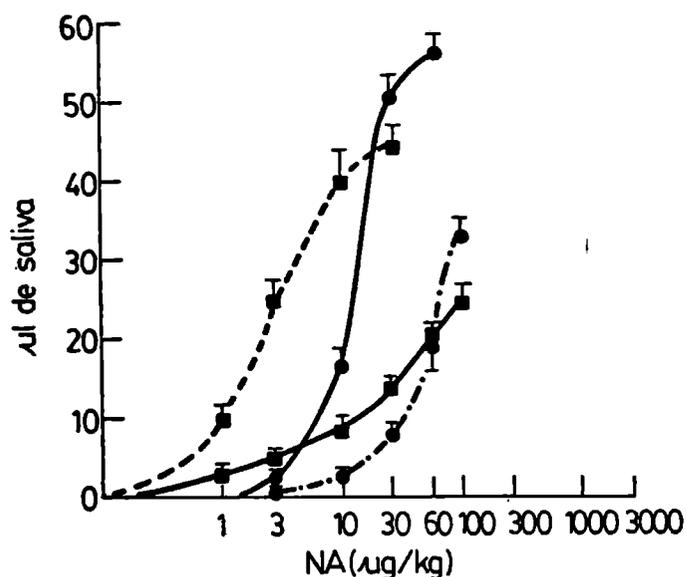
■ ——— ■ : Curva dosis-respuesta a NA, en presencia de prazosín 0,024  $\mu$ moles/kg en glándulas desnervadas.

● ——— ● : Curva dosis-respuesta a NA en glándulas contralaterales

● - - - - ● : Curva dosis respuesta a NA en presencia de prazosín 0,024  $\mu$ moles/kg en glándulas contralaterales.

Los valores son la media  $\pm$  el error standard de la media de 10 experimentos.

**FIGURA No. 14:** EFFECTOS DEL PRAZOSIN (0,24  $\mu$ moles/kg) SOBRE LA CURVA  
DOSIS-RESPUESTA A NORADRENALINA (NA) EN GLANDULAS  
CON DESNERVACION SIMPATICA CRONICA Y EN GLANDULAS  
CONTRALATERALES NORMALMENTE INERVADAS.



Ordenada: Secreción total de saliva expresada en microlitros ( $\mu$ l)

Abscisa : Dosis de NA expresada en microgramos por kilogramo ( $\mu$ g/kg)

■ ---- ■ Curva dosis-respuesta a NA, glándulas desnervadas

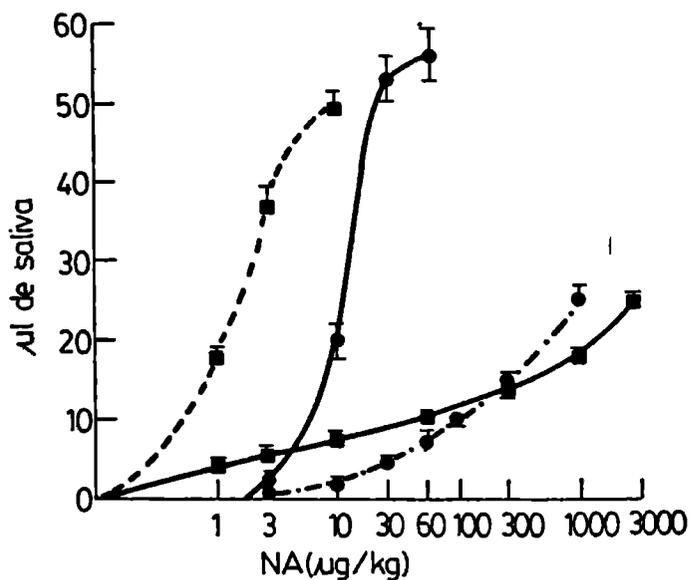
■ — ■ Curva dosis-respuesta a NA en presencia de prazosín 0,24  $\mu$ moles/kg en glándulas desnervadas.

● — ● Curva dosis-respuesta a NA en glándulas contralaterales

● - - ● Curva dosis-respuesta a NA en presencia de prazosín 0,24  $\mu$ moles/kg en glándulas contralaterales.

Los valores son la media  $\pm$  el error standard de la media de 10 experimentos.

FIGURA No. 15: EFECTOS DEL PRAZOSIN (2,4  $\mu$ moles/kg) SOBRE LA CURVA DOSIS-RESPUESTA A NORADRENALINA (NA) EN GLANDULAS CON DESNERVACION SIMPATICA CRONICA Y EN GLANDULAS CONTRALATERALES NORMALMENTE INERVADAS.



Ordenada: Secreción total de saliva expresada en microlitros ( $\mu$ l)

Abscisa Dosis de NA expresada en microgramos por kilogramo ( $\mu$ g/kg)

■ ---- ■ Curva dosis-respuesta a NA, glándulas desnervadas

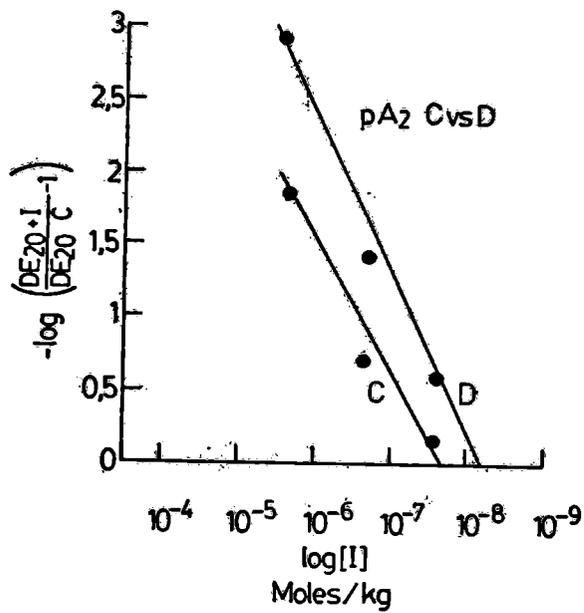
■ ——— ■ Curva dosis-respuesta a NA en presencia de prazosín 2,4  $\mu$ moles/kg en glándulas desnervadas

● ——— ● Curva dosis-respuesta a NA en glándulas contralaterales

● ---- ● Curva dosis-respuesta a NA en presencia de prazosín 2,4  $\mu$ moles/kg en glándulas contralaterales.

Los valores son la media  $\pm$  el error standard de la media de 10 experimentos.

FIGURA No. 16:  $pA_2$  OBTENIDOS EN GLANDULAS SUBMAXILARES DESNERVADAS Y SUS RESPECTIVAS GLANDULAS CONTRALATERALES INERVADAS PARA PRAZOSIN.



Ordenada:  $\log$  (Relación dosis = 1)

Abscisa ·  $-\log$  (Dosis molar de los distintos antagonistas).

DISCUSSION

La presente investigación confirma y extiende en primer lugar trabajos previos sobre la significancia de los nervios autonómicos sobre la secreción salival. Las evidencias experimentales obtenidas indican que la glándula submaxilar de la rata es un buen modelo experimental para el estudio de la secreción salival. Las respuestas secretorias a agentes sialagogos, tanto parasimpáticos como simpáticos, fueron marcados y fácilmente medibles.

La farmacología de la secreción salival de la glándula submaxilar fué similar en muchos aspectos a las otras glándulas salivales (14). Así, las respuestas secretorias inducidas por la metacolina fueron completamente abolidas por atropina. Existen evidencias de que en la rata, la administración de eserina, (inhibidor de la acetilcolinesterasa), induce una marcada salivación, lo cual sugiere una continua liberación de acetilcolina de los terminales nerviosos colinérgicos glandulares, lo cual también fué descrito en el gato (3).

Las respuestas secretorias consecutivas a la administración tanto de NA como de isoproterenol, fueron marcadamente reducidas pero no totalmente abolidas luego de la administración de fentolamina y propranolol. Ello indica que al igual que lo descrito en el conejo (80), ello se debe a la activación de receptores adrenérgicos tanto del tipo alfa como del beta.

La inervación simpática secretoria de las glándulas salivales ha sido sustrato de grandes discusiones, dado que en ciertos tipos de glándulas salivales, el flujo salival causado por estimulación simpática es principalmente o totalmente debido a la expulsión de saliva de los conductos (4). Este no parece ser el caso de la glándula submaxilar de la rata, ya que según las evidencias experimentales obtenidas, la secreción fué inmediata y de la misma magnitud aún cuando la glándula fué estimulada repetidamente a diferentes intervalos. Por ello, más las evidencias histológicas de que fibras nerviosas simpáticas han sido observadas en cercano contacto con

células acinosas (81; 82) así como de estudios de electrofisiología (68; 74; 89), se puede concluir que la glándula submaxilar de la rata posee una doble inervación, por lo menos en algunas de sus células efectoras. Así, la estimulación eléctrica de la cuerda del tímpano, produce una secreción salival más marcada que la simpática y el flujo luego de la estimulación máxima, no se incrementa si se agrega posteriormente la estimulación simpática (84). Ello indicaría que la célula glandular inervada por el simpático puede ser máximamente activada por el parasimpático e indica una doble inervación, lo que coincide con las observaciones morfológicas descritas por Glimsted y Hillarp (51).

La inervación secretoria simpática así como las respuestas salivales a agentes simpaticomiméticos han sido estudiadas particularmente en la glándula submaxilar del gato (14). Cuando se lo compara con la glándula submaxilar de la rata, una importante diferencia entre ambas glándulas de estas dos especies, lo constituye el hecho de que en el gato la respuesta secretoria a la estimulación simpática es abolida por dihidroergotamina, (38; 76); en la rata en cambio, no sólo responde a la adrenalina (86) y noradrenalina, sino también al isoproterenol, estimulante beta (ver Figura 1). Estos hallazgos indican claramente que la glándula submaxilar de la rata está provista por dos tipos de receptores adrenérgicos, los del tipo alfa y beta (1), constituyendo un modelo para el estudio de la farmacología de agentes simpaticomiméticos así como de simpaticolíticos (33; 39; 105).

Estudios posteriores demostraron que ambos tipos de receptores adrenérgicos (al igual que otros receptores hormonales) son responsables del reconocimiento selectivo y del pegamiento de las catecolaminas a estas estructuras moleculares. Además, la diferencia entre alfa-adrenoceptores y beta-adrenoceptores fué cada vez mayor, así como también la existencia de dos subtipos de adrenoceptores beta, los beta<sub>1</sub> y beta<sub>2</sub> (67). Basados en la potencia de agonistas y

antagonistas así como en los postulados de la teoría de ocupación de receptores (47; 48), se denominó receptores beta a aquéllos que median la respuesta cronotrópica positiva a las catecolaminas en el corazón y donde adrenalina y noradrenalina son casi equipotentes. Se denominan receptores beta<sub>2</sub>, a nivel de los cuales adrenalina es más potente que noradrenalina y como ejemplo se cita a aquéllos que median la relajación del músculo liso bronquial (59)

En los últimos años se ha postulado la existencia de por lo menos dos subtipos (probablemente más) de alfa-adrenoceptores (49). Las primeras evidencias experimentales surgieron de estudios farmacológicos precisos en los cuales las afinidades de los mismos antagonistas y las afinidades (o potencias relativas) de los mismos agonistas fueron determinados en diferentes tejidos aislados; así, se diferenciaron los alfa-adrenoceptores del músculo liso de la aorta de conejo de la del bazo en el mismo animal (98), basándose en los valores de las constantes de disociación (o pA<sub>2</sub>) para antagonistas competitivos y la eficacia relativa para una serie de agonistas. Si bien algunos estudios farmacológicos que comparan las potencias de los agonistas indicaron que los alfa-adrenoceptores en músculos lisos de una serie de vasos en el conejo eran del mismo tipo de los descritos en la aorta torácica, también indicaban que alfa-adrenoceptores en la vena porta (10) o en las arterias cerebrales (11), eran subtipos diferentes de los descritos en la aorta.

Los receptores alfa-presinápticos de los terminales adrenérgicos, responsables de la mediación en la inhibición de la liberación del neurotransmisor, fueron los primeros en ser diferenciados de los alfa-adrenoceptores post-sinápticos en el mismo sistema neuroefector (el bazo de gato) basándose en que el receptor post-sináptico era más sensible al bloqueo por fenoxibenzamina (69). Además, Starke (100) en 1975 demostró que las potencias relativas de una serie de agonistas alfa (fenilefrina e imidazolininas relacionadas con la clonidina), eran diferentes para los alfa-adrenoceptores pre-sinápticos y los post-sinápticos en la aorta de conejo. Así

Langer (69) propuso denominar adrenoceptores alfa<sub>1</sub> a los post-sinápticos y alfa<sub>2</sub> a los pre-sinápticos. Es de destacar que Berthelsen y Bettinger (9) en 1977 apoyaron esta terminología pero a su vez obtuvieron evidencias que podrían existir adrenoceptores alfa<sub>2</sub> en ciertas post-sinapsis. Para ello emplearon yohimbina, droga que permite una diferenciación farmacológica, ya que es más potente en bloquear respuestas presinápticas que post-sinápticas a agonistas alfa (101). También el prazosín demostró ser un antagonista efectivo en diferenciar ambos sub-tipos de alfa-adrenoceptores dado que fué altamente selectivo para bloquear respuestas mediadas por los alfa<sub>1</sub>-adrenoceptores (30).

No existían en la literatura estudios "in vivo" sobre la identificación de los sub-tipos de alfa-adrenoceptores y particularmente en glándulas salivales. La única referencia a este enfoque es la que se refiere a que las imidazolininas, agonistas típicos alfa<sub>2</sub> se comportaron como agonistas competitivos de los alfa-adrenoceptores que media la secreción de K<sup>+</sup> en parótida de rata (25).

En esta serie de experimentos, y basándose en el empleo del neurotransmisor simpático, la NA, en presencia de antagonistas no selectivos (fentolamina), selectivos alfa<sub>1</sub> y selectivos alfa<sub>2</sub> (yohimbina), indican que la respuesta secretoria mediada por alfa-adrenoceptores es el resultado de la activación del sub-tipo de adrenoceptores alfa<sub>1</sub>. Esta conclusión está sustentada en los hallazgos experimentales siguientes:

1.- Fentolamina: a las concentraciones de 3,15; 7,7 y 15,3  $\mu$ moles/kg, produjo un desplazamiento de las DE<sub>20</sub>  $\mu$ l de saliva de 4,9; 6 y 73 veces, respectivamente.

2.- Prazosín: a las concentraciones de 0,024; 0,24 y 2,4  $\mu$ moles/kg, produjo un desplazamiento de las DE<sub>20</sub>  $\mu$ l de saliva de 1,5; 4,5 y 40,2 veces, respectivamente.

3.- Yohimbina: a las concentraciones de 2,6; 7,7 y 15,3  $\mu$ moles/kg, produjo un desplazamiento de las  $DE_{20}$   $\mu$ l, respectivamente de 1,5; 3 y 4,5 veces.

Ya se mencionó anteriormente que la respuesta secretoria de la submaxilar es el resultado de la activación de receptores alfa y beta.

Nuestros resultados demuestran que la participación en la secreción se media a través de adrenoceptores alfa<sub>1</sub>, hipótesis que está avalada por los hallazgos de que prazosín fué incapaz de modificar la respuesta al isoproterenol, típico agonista beta.

El  $PA_2$  como mencionamos anteriormente, es un índice claro del desplazamiento de la curva dosis-respuesta manifestado al agonista en presencia del antagonista. Este valor, que indica la concentración de inhibidor necesario para que se deba duplicar la concentración del antagonista requerido para una respuesta dada, además está directamente relacionado con la afinidad del antagonista por el receptor, confirma las conclusiones obtenidas con las curvas dosis respuesta.

Es de destacar sin embargo, que tal correlación no se produjo en el caso de las glándulas crónicamente simpatectomizadas. En este respecto, la desnervación autonómica (sección post-ganglionar de los nervios adrenérgicos responsables de la inervación simpática de la glándula) induce al cabo de poco tiempo de la ganglionectomía, 16-24 horas, una depleción del contenido endógeno del neurotransmisor, inhibición del mecanismo de captación neuronal y el desarrollo del componente presináptico de la supersensibilidad (103). Tal sensibilidad está relacionada con la inhibición del mecanismo responsable de la inactivación del neurotransmisor en la biofase y por lo tanto puede considerarse desde el punto de vista farmacológico, un ejemplo de potenciación sin existir modificaciones en las

membranas post-sinápticas (107).

En los presentes experimentos, las glándulas privadas crónicamente de su inervación simpática (21 días), desarrollan además el componente post-sináptico de la supersensibilidad, evidenciado por el corrimiento hacia la izquierda de la C.D.R. en más de media unidad logarítmica de las C.D.R. controles. El desarrollo de la supersensibilidad post-sináptica se manifiesta a agonistas que son substrato de la captación neuronal (como la pre-sináptica) y además a diferentes agentes sialagogos; es de larga evolución y obedece a cambios en la sensibilidad de las células efectoras. Parece deberse, según los tipos de órganos efectores, ya sea a un aumento en el número de receptores o a un aumento en la afinidad de los mismos (104; 107).

Otro hallazgo cuyo mecanismo no parece muy claro fué la reducción de alrededor de un 30% de la capacidad de respuesta máxima a la noradrenalina en las glándulas desnervadas. La posible explicación de este fenómeno podría relacionarse a la supersensibilidad de las arterias glandulares, y por ende las respuestas vasculares a la amina inyectada serían responsables de la disminución del máximo. Se debe destacar que el flujo sanguíneo local es un factor importante en la capacidad secretoria glandular (40); por lo tanto, una respuesta vasoconstrictora incrementada podría modificar ya sea el acceso de la noradrenalina o la respuesta de las células glandulares sensibilizadas.

También es de destacar que los desplazamientos del  $PA_2$  calculado para el prazosín difirió del obtenido en glándulas controles. Ello se evidenció también tanto para las  $DE_{20}$   $\mu$ l como en las respectivas curvas dosis-respuestas. Si bien no encontramos una clara explicación para estos hallazgos, las modificaciones ya sea en el mecanismo de captación neuronal, cambios en los receptores (tanto cuali como cuantitativamente) así como la de la respuesta máxima inducidas por la gangliectomía, podrían ser factores involucrados en los hallazgos descriptos.

En la presente investigación, la caracterización de los distintos tipos de alfa adrenoceptores de la glándula submaxilar se basó en la determinación "in vivo" de las respuestas secretorias fisiológicas, teniendo en cuenta las potencias relativas de agonistas y antagonistas simpáticos. Es interesante destacar que recientemente se han desarrolladas técnicas "in vitro" para la determinación de la afinidad de receptores. Estos métodos se basan en la medición de la competencia en el pegamiento de ligandos adrenérgicos marcados al receptor (78).

CONCLUSIONES

La glándula submaxilar de la rata posee una doble inervación autonómica y su secreción es mediada por la activación de receptores tanto muscarínicos parasimpáticos como alfa y beta-adrenérgicos. Basándose en las diferentes afinidades relativas de agonistas y antagonistas y teniendo en cuenta la subclasificación de los alfa-adrenoceptores en alfa<sub>1</sub> y alfa<sub>2</sub>, se determinó el tipo de receptor alfa adrenérgico que media la respuesta secretoria de la glándula submaxilar de la rata. Para ello, fueron determinadas "in vivo", curvas dosis-respuesta a noradrenalina (NA) en presencia de distintas concentraciones de antagonistas no selectivos (fentolamina) y selectivos (prazosín y yohimbina).

El desplazamiento de las curvas dosis-respuesta se midió a nivel de las dosis efectivas 20  $\mu$ l (DE<sub>20</sub> $\mu$ l).

Yohimbina, a la dosis de 2,6  $\mu$ moles/kg desplazó la curva dosis-respuesta a NA 1,5 veces; a la dosis de 7,7  $\mu$ moles/kg, 3 veces y a la de 15,3  $\mu$ moles/kg, 4,5 veces. Los desplazamientos fueron paralelos indicando un antagonismo competitivo.

Prazosín resultó un antagonista mucho más potente que la yohimbina. Así a la dosis de 0,024  $\mu$ moles/kg produjo un corrimiento de la curva dosis-respuesta a NA similar al obtenido con 2,6  $\mu$ moles/kg de yohimbina. Desplazamientos mayores fueron observados luego de 0,24  $\mu$ moles/kg (4,5 veces) y de 2,4  $\mu$ moles/kg (40,2 veces) de prazosín. El antagonismo producido por prazosín fué también del tipo competitivo.

Dado que el prazosín como antagonista resultó 100 veces más potente que la yohimbina, se concluye que la respuesta secretoria "in vivo" a NA está mediada por receptores del subtipo alfa<sub>1</sub>; el pA<sub>2</sub> hallado en presencia de yohimbina y prazosín, apoya esta interpretación. Por otra parte, las curvas dosis-respuestas obtenidas en glándulas desnervadas crónicas presentan cambios en el desplazamiento de las C.D.R., DE<sub>20</sub>  $\mu$ l, así como en la respuesta máxima, lo que sugiere que las diferencias con respecto a las

glándulas normales inervadas, podrían estar relacionadas con los cambios en los receptores postsinápticos inducidos por la ganglio nectomía.

R E S U M E N



Se identificó al subtipo alfa<sub>1</sub> adrenoceptor como mediador de la respuesta secretoria en la glándula submaxilar de rata, basándose en el empleo de diferentes dosis de antagonistas adrenérgicos selectivos alfa<sub>1</sub> (prazosín), alfa<sub>2</sub> (yohimbina) y no selectivo (fentolamina) ante la acción del neurotransmisor, la noradrenalina. Los parámetros determinados tanto en glándulas normales como crónicamente desnervadas fueron: a) desplazamiento de las curvas dosis-respuesta; b) dosis efectiva 20 microlitros (DE<sub>20</sub>  $\mu$ l) y c) determinación del pA<sub>2</sub>. El hallazgo de que la curva dosis-respuesta al agonista beta, isoproterenol, no se vio alterada por la presencia del prazosín, apoya la hipótesis de que el subtipo alfa<sub>1</sub> de receptores adrenérgicos, media la respuesta salival simpática.

In the present report, the identification of the subtype of alpha-adrenoceptor which mediates the secretory responses in the rat's submaxillary gland, was studied. For this purpose, the secretory responses to the sympathetic neurotransmitter, noradrenaline, was determined in the presence of different doses of selective alpha<sub>1</sub> adrenergic antagonists (prazosin); in the presence of alpha<sub>2</sub> selective adrenergic antagonists (yohimbine) and after administration of a non selective adrenergic antagonist (phentolamine). In both, normally innervated as well as in chronically sympathetically denervated glands, the parameters studied were the following: 1) shift of the dose-response curves; 2) DE<sub>20</sub>  $\mu$ l and 3) pA<sub>2</sub> determination. From the results obtained it is concluded that the alpha<sub>1</sub> subtype of adrenoceptors mediates the sympathetic secretory responses in the submaxillary gland. This interpretation is further supported by the finding that the response to the beta agonist, isoproterenol, was unchanged after administration of different doses of prazosin.

AHLQUIST, R.P. (1)

A study of the adrenotropic receptors.  
Am. J. Physiol. 153: 586-600, 1948

ARIËNS, E.J. (2)

Molecular Pharmacology.  
Academic Press, New York, 1964

ASSARSON, N y EMMELIN, N. (3)

Leakage of transmitters in salivary glands.  
Brit. J. Pharmacol. 22: 119-125, 1964

BABKIN, B.P. (4)

Secretory mechanism of the digestive glands.  
Segunda Edición. Hoeber, New York, 1950

BATZRI, S. y SELINGER, E. (5)

Enzyme secretion mediated by the epinefrine beta receptor in  
rat parotid slices.  
The J. of Biol. Chem. 248: 356-363, 1973

BAZERQUE, P.M. y cols. (6)

Farmacología general del sistema nervioso autónomo.  
Ediciones Toray, 1979.

BERASATEGUI ALMAGRO, L. (7)

Esquemas y prácticas de farmacología.  
Ediciones Espaxas, Barcelona. pp. 30-32, 1976

BERNARD, C. (8)

Du role des actions réflexes paralysantes dans le phénomène  
des sécretions  
J. Anat. Paris. 1: 507-513

BERTHELSEN, S. y col. (9)

A functional basis for classification of alpha-adrenergic receptors.

Life Sci. 21: 595-606, 1977

BEVAN, J.A. y OSHER, J.V. (10)

Relative sensitivity of some large blood vessels of the rabbit to sympathomimetic amines.

J. Pharmacol. Exp. Ther. 150: 370-374, 1965

BEVAN, J.A. (11)

On the subclassification of alpha-adrenergic receptors.

In: Vascular Neuroeffector Mechanisms. Raven Press, New York. pp. 251-253, 1980

BLINKS, J.R. (12)

Evaluation of the cardiac effects of several beta-adrenergic blocking agents.

Annals of the New York Academy of Sciences, 139, Vol. 3, 673-685

BLOOM, F.E. y GIARMAN, N.J. (13)

Physiologic and pharmacologic considerations of biogenic amines in the nervous system.

A. Rev. Pharmac. 8: 229-258, 1968

BURGEN, A.S.V. y Emmelin, N.G. (14)

Physiology of the salivary glands. Ed. Arnold, London. 144: 72-93, 1961

BURN, J.H. y RAND, M.J. (15)

Sympathetic postganglionic mechanism.

Nature, Lond. 184: 163-165, 1959

CANNON, W.B. (16)

Digestion and Hearth.

Secker y Warburg - London, 1937

CATALANOTTO, F.A. y SWEENEY, E.A. (17)

The effects of surgical desalivation of the rat upon taste acuity.

Archs. Oral Biol. 17: 1455, 1972

CAVERO A. y cols. (18)

Studies on the mechanism of the vasodilator effects of prazosin in dogs and rabbits.

Eur. J. Pharmacol. 49: 259-270, 1978

CIRIO, A. y SILVA, R. (19)

La Selección Salival.

Edición Emisferio Sur SRL. Montevideo, Uruguay. pp. 5-19, 1980

CLARK, A.J. (20)

In: The mode of action of drug on cells.

Ed. Arnold y Co. London. 1933

DALE, M.H. y FELDBERG, W. (21)

The chemical transmission of secretory impulses to the sweat glands of the cat.

J. Physiol. (Lond). 82, 121, 1934

DALE, H. (22)

The beginnings and the prospects of neurohumoral transmission.  
Pharmac. Rev. 6: 7-13, 1954

DALE, H. (23)

On some physiological actions of ergot  
J. Physiol. (Lond) 34: 163, 1906

DAVENPORT, H.W. (24)

Fisiología de la digestión.  
2da. Edición, Versión Española - Interamericana, México.  
pp. 79-89, 1968

DAVIS, J.N. y MAURY, W. (25)

Clonidine and related imidazolines are postsynaptic alpha adrenergic antagonists in dispersed rat parotid cells.  
J. Pharmacol. Exp. Ther. 207: 425-430, 1978

DAWES, C. (26)

Effects of diet on saliva, secretion and composition.  
Journal Dent. Res. 49: 1205-1280, 1970

DAWES, C. (27)

Effects of different stimuli on the protein content of human parotid saliva.  
Reprinted Abstracts 498-510, 1970

DIETZ, A.K. (28)

The chemotactic influence of human saliva upon leukocytes.  
J. Dent. Res. 18: 361, 1939

DOGON, I.L. y AMOUR, B.H. (29)

Evidence of the presence of two thiocyanate dependent antibacterial systems in human saliva.

Arch. Oral Biol. 97: 987, 1970

DOXEY, J.C. y cols. (30)

Selectivity of blocking agents for pre- and postsynaptic alpha-adrenoceptors.

Brit. J. Pharmacol. 60: 91-96, 1977

DUM, J. y col. (31)

Opiate antagonist-receptor interaction unchanged by acute or chronic opiate treatment.

Europ. J. of Pharmacol. 55: 375-383, 1979

EHRlich, P. (32)

La quimioterapia. Sus fundamentos y su importancia práctica.

En: Tratado de sueroterapia y de terapéutica experimental de

Wolff-Eisner A. Traducción Castellana de S. Calleja Fernández,

Madrid. p. 343, 1910

EKSTRÖM, J. (33)

Choline acetyltransferase and secretory responses of the rats salivary glands after liquid diet.

Quat. J. of Exp. Physiol. 58: 171-179, 1973

EMMELIN, N. y cols. (34)

Actions of kinins on salivary myoepithelial cells.

J. Physiol. 207: p. 539, 1970

EMMELIN, N. (35)

On spontaneous secretion of saliva.

Acta Physiol. Scand. 30, Supl. 111: 34, 1952

EMMELIN, N. (36)

Control of salivary glands.

In: Oral Physiology. (Eds. Emmelin N y Zotterman Y.)

Pergamon Press, Oxford. pp. 1-14, 1972

EMMELIN, N. y col. (37)

On the function of mioepitelial cells in salivary glands.

J. Physiol. 230: 185-194, 1973

EMMELIN, N. (38)

On the innervation of the submaxillary gland cells in cats.

Acta Physiol. Scand. 34: 11-21, 1955a

EMMELIN, N. y cols. (39)

Receptors for catechol amines in submaxilar glands of rats.

Brit. J. Pharmacol. 25: 134-138, 1965

EMMELIN, N. (40)

Blood flow and rate of secretion in the submaxillar gland.

Acta Physiol. Scand. 34: 24-28, 1955b

ENERC, M.A. y cols. (41)

Role of the alpha adrenoceptor in the regulating of noradrenaline overflow by nerve stimulation.

Br. J. Pharmacol. 44: 672-680, 1972

ERICSON, Y. (42)

Clinical investigations of the salivary buffering action.

Acta Odont. Scand. 17: 131, 1959

FISHER, R.A. y YATES, F. (43)

Statistical tables for biological, agricultural and medical research. 4th. Ed. Oliver y Boyd, Edimburgo. Tabla 39  
1939.

FLEMING, A. (44)

On a remarkable bacteriolytic element found in the tissues and  
and secretions.

Proceedings of the Royal Society B. 93: 306, 1922

FONNUM, F. (45)

Recent developments in biochemical investigations of cholinergic transmission.

Brain Research 62: 497-507, 1973

FURCHGOTT, R.F. (46)

Receptor mechanisms.

Annual Rev. Pharmacol. 4: 21, 1964

FURCHGOTT, R.F. (47)

Postsynaptic adrenergic receptor mechanisms in vascular smooth muscle.

In: Vascular neuroeffector mechanisms. Eds. Bevan, J.A. y cols. Karger, Basel. pp. 131-142, 1976

FURCHGOTT, R.F. (48)

Pharmacological characterization of receptors by radioligand-binding studies.

Fed. Proc. 27: 115-120, 1978

FURCHGOTT, R.F. y col (49)

The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine.

Blood Vessels 17: 151-160, 1981

GARRET, J.R.: (50)

The innervation of salivary glands. II. The ultrastructure of nerves in normal glands of the cat.

Journal of the Royal Microscopical Society. 85: 149, 1966

GLIMSTEDT, G y HILLARP, N.A. (51)

Über die innervations gebiete des sympathikus und des parasympathikus bei der glandula submandibularis.

Kungl. Fysiogr. Sällsk. Hand; N.F. 53: 1-38, 1942

GOODMAN, L.S. y GILMAN, A (52-)

Bases farmacológicas de la terapéutica. 5ta. Edición. Editorial Interamericana. México. 1980. pp. 10-30.

GOURLEY, D.R.H. (53)

Factors modifying drug action in the body.

In: Modern trends in Pharmacology and Therapeutics. Ed. Fulton, W.F.M. Butterworths, London, 1967

GREENGRASS, P. y BRENNER, R. (54)

Binding characteristics of <sup>3</sup>H-prazosin to rat brain alpha-adrenoceptor.

Eur. J. Pharmacol. 55: 326-329, 1979

GUYTON, A.C. (55)

Tratado de Fisiología Médica. 5ta. Ed. Versión Española, Interamericana, México, 1977. pp. 865-866

HAMMOND, C.W. y WEIMAN, J.P. (56)

Opioid in saliva.

J. Dent. Res. 49: 279, 1942

HENRIQUEZ, B.L. (57)

Acinar duct transport in dogs submaxillary salivary gland.  
Journal of Dental Research. 40: 719, 1962

HELDERMAN, W.H. (58)

Lysozyme concentrations in the gingival crevice and at other oral sites in human subjects with and without gingivitis.  
Archs. Oral Biol. 21: 251, 1976

HOFFMAN, B.B. y col. (59)

Alpha-adrenergic receptor subtypes.  
The New England Journal of Medicina 1980, p. 1390

HOFFMAN, B.B. y LEFKOWITZ, R.J. (60)

An assay for alpha-adrenergic receptor subtypes using <sup>3</sup>H-dihydroergocryptine.  
Biochem. Pharmacol. 29: 452-454, 1980

HOLMES, J.H. (61)

Changes in salivary flow produced by changes in fluid and electrolyte balance.  
In: Salivary glands and their secretions. Macmillan, New York 1964. pp. 177-195

HOUSSAY, B.A. y col. (62)

Fisiología Humana. 4ta. Edición. Editorial "El Ateneo" Buenos Aires, Argentina. 8va. Reimpresión. 1976. pp. 439-449

JAMIESON, J.D. y PALADE, G.E. (63)

Intracellular transport of secretory proteins  
The Pancreatic Exocrine cell 34: 597, 1967

KNAUF, H. y FROMTER, E. (64)

Kationenäusscheidung der grossen speichel drüsen des menchen.  
Pflügers Arch. ger. Physiol. 291: 184, 1970

KOBINGER, W. y col. (65)

Alpha<sub>1</sub> and alfa<sub>2</sub> adrenoceptor subtypes: selectivity of various  
agonists and relative distribution of refeptors as determined  
in rats.

Eur. J. Pharmacol. 73: 313-321 (1981)

KOLB, E. (66)

Fisiología Veterinaria. Vol 1. 2da. Edición. Versión española  
Acribia-Zaragoza, España. 1976. pp. 439-445.

LANDS, A.M. y col. (67)

Differentiation of receptor systems activated by sympathomi-  
metics amines.

Nature 214: 597-600, 1967

LANGENSKIÖLD, A. (68)

Component potentials of the submaxillar gland electrogram and  
their relation to innervation and secretion.

Acta Physiol. Scand. 2: 1-109, 1941

LANGER, S.Z. (69)

Presynaptic regulation of catecholamine release.

Biochem. Pharmacol. 23: 1793-1800, 1974

LEVI-MONTALCINI, M.R. y COHEN, S. (70)

Effects of the extract of mouse submaxillary salivary glands  
on the sympathetic system of mammals.

Ann. N.Y. Acad. Sci. 85: 324, 1960

LEWIS, J.J. (71)

Introduction to Pharmacology.

3ra. Edición. EYS Livingstone Ltd. Edinburgh, 1965

LILIENTHAL, B. (72)

An analysis of the buffer system in saliva.

J. Dent. Res. 34: 516, 1955

LITTER, M. (73)

Farmacología general.

Ed. El Ateneo, 4ta. Edición, Buenos Aires. 1972. pp. 55-70

LUNDBERG, A. (74)

The electrophysiology of the submaxillary gland of the cat.

Acta Physiol. Scand. 35: 1-25, 1955

LUNDBLAND, R.K. (75)

Human saliva coagulant activity: The stimulation by chymotrypsin.

Arch. Oral Biol. 16: 985, 1971

MARTIN, K. (76)

Observations on the increase in permeability induced by adrenaline in the submaxillary gland.

J. Physiol. 172: 50-60, 1964

MARTINEZ, J.R. y cols. (77)

Micropuncture study of submaxillary glands of adult rats.

Pflügers Arch. ger. Physiol. 290: 124, 1966

MARCH, P.J. y cols. (78)

Direct biochemical demonstration of two types of alpha adrenoceptors in rat brain.

Nature 274: 494-494, 1978

NEUTRA, M. y LEBLOND, C.P. (79)

Synthesis of the carbohydrate of mucin in the golgi complex as shown by electron microscope.

Journal of Cell Biology. 30: 119, 1966

NORDENFELT, I. y OHLIN, P. (80)

Supersensitivity of salivary glands of rabbits.

Acta Physiol. Scand 41: 12-17, 1957

NORBERG, K.A. y HAMBERGER, B. (81)

The sympathetic adrenergic neuron.

Acta Physiol. Scand 63: 1-42, 1964

NORBERG, K.A. y OLSON, L. (82)

Adrenergic innervation of the salivary glands in the rat.

Z. Zellforsch. 68: 183-189, 1965

OHLIN, P. y PEREC, C.J. (83)

Salivary secretion of the major sublingual gland of rats.

Experientia. 21: 408-410, 1965

OHLIN, P. (84)

Secretory responses of innervated and denervated submaxillary glands of rats.

Acta Univ. Lund. Section II. 23: 1-12, 1965

OHLIN, P. y PEREC, C.J. (85)

The effect to a treatment with parasympatholytics on the weight of the submaxillary gland of rats.

Separatum. Experientia 22: 668: pp. 1-3, 1960

OHLIN, P. (86)

Nervous and hormonal control of salivary glands in rats.  
Acta Univ. Lund II. 7: 1-21, 1966

PAVLOU, I.P. (87)

The work of the digestive glands.  
Traducción de W.H. Thompson (2da edición). C. Griffin Co.  
London, 1910

PEREC, C.J. y BRAMUGLIA, N. (88)

Secretory activity of the submaxillary gland in prepuberal  
and adult rats of both sexes.  
Quat. J. of Exp. Physiol. 56: 46-52, 1971

PETERSEN, O.H. (89)

Electrophysiology of mammalian gland cells.  
Physiol. Rev. 56: 335-350, 1976

PROVENZA, D.V. (90)

Oral histology.  
Lippincott, Filadelfia, 1964

RADEN, H.G. (91)

Mouth wounds.  
Brit. Dent. Journal 113: 112, 1962a

RADEN, H.G. (92)

Mouth wounds.  
Brit. Dent. Journal 114: 142, 1962b

RUFFOLO, R.R. y cols. (93)

Postsynaptic alpha adrenergic receptor subtypes differentiated by yohimbine in tissues from the rat. Existence of alpha-2 adrenergic receptors in rat aorta.

J. Pharmac. Exp. Ther. 272: 235-239, 1981

SCHILD, H.D. (94)

Drug antagonism and  $\text{pA}_2$ .

Pharmacol. Rev. 9: 242-246, 1957

SCHILD, H.D. (95)

$\text{pA}$  A new scale for the measurement of drug antagonism.

Brit. J. Pharmacol. 2: 189-206, 1947

SCHNEYER, L.H. (96)

Rate of salivary secretion.

J. Physiol. 7: 508-509, 1955

SCHNEYER, C.A. y SCHNEYER L.H. (97)

Electrolyte levels of the rat salivary secretions in relation to fluid flow-rate.

Am. J. Physiol. 199: 55-58, 1960

SHEYS, E.M. y GREEN, R.D. (98)

A quantitative study of alpha adrenergic receptors in the spleen and aorta of the rabbit.

J. Pharmacol. exp. Ther. 180: 317-325, 1972

SHILLITOE, E.J. y LEHNER, T. (99)

Immunoglobulins and complement in crevicular fluid, serum and saliva in man.

Archs. Oral Biol. 17: 241, 1972

STARKE, K. y cols. (100)

Relative pre- and post-synaptic potencies of alpha-adrenoceptor agonists in the rabbit pulmonary artery.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 291: 55-78, 1975

STARKE, K. (101)

Regulation of noradrenaline release by presynaptic receptor systems.

Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 77: 1-124, 1977

STEFANO, F.J.E. y cols. (102)

Evidence for the presynaptic location of the alpha-adrenoceptors which regulate noradrenaline release in the rat submaxillary gland.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 304: 21-26, 1978

STEFANO, F.J.E.; PEREC, C.J. y TUMILASCI, O.R. (103)

Changes in neuronal uptake and metabolism of, and sensitivity to, norepinephrine during the degeneration secretion in the rat submaxillary gland.

J. Pharmacol. exp. Ther. 191: 403-417, 1974

STEFANO, F.J.E. y PEREC, C.J. (104)

Denervation supersensitivity in salivary glands,

Trends in Pharmacol. Sciences. 4: 107-109, 1981

THULIN, A. (105)

Motor and secretory effects of nerves on the parotid gland of the rat.

Acta Physiol. Scand 55: 57-61, 1976

TIMMERMANS, P.B. y cols. (106)

Valuation of the selectivity of alpha-adrenoceptor blocking drugs for postsynaptic alpha<sub>1</sub> and alpha<sub>2</sub> adrenoceptors in a simple animal model.

J. Auton. Pharmacol. 1: 53-63, 1980

TRENDELENBURG, U. (107)

Mechanism of supersensitivity and subsensitivity to sympathomimetic amines.

Pharmacol. Rev. 18: 629-640, 1966

UVNAS, B. (108)

Sympathetic dilator outflow.

Physiol. Rev. 34: 608-618, 1954

WOOD, C.L. y LEFKOWITZ, R.J. (109)

Subclassification of alpha-noradrenergic receptors by direct binding studies.

Biochem. Pharmacol. 28: 1277-1282, 1979

YOSHIMURA, H. (110)

Secretory mechanism of saliva and nervous control of the ionic composition.

Secretory Mechanism of Salivary Glands. Academic Press, New York. 1967. pp. 57-80

ZIEHER, L.M. (111)

Neurotransmisión.

Fundación Argentina. Línea Editorial, Buenos Aires, 1980

