

CATEDRA DE PATOLOGIA Y CLINICA MEDICA I

Profesor Dr. Miguel Garrido Peralta

DOPAMINA BETA HIDROXILASA (DBH)

Y

NEUROTRASMISORES EN HIPERTENSION ARTERIAL ESENCIAL

Juan Manuel Prieto Martinez

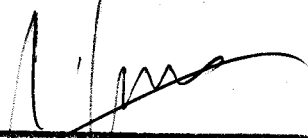


MIGUEL GARRIDO PERALTA, CATEDRATICO DE PATOLOGIA Y CLINICA MEDICAS (I). FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD DE SEVILLA.

CERTIFICO:

Que D. Juan Prieto Martínez ha -
realizado la Tesis Doctoral sobre: DOPAMINA
BETA HIDROXILASA (DBH) Y NEUROTRANS-
MISORES EN HIPERTENSION ARTERIAL -
ESENCIAL., bajo mi dirección y en la I Cátedra
de Patología y Clínica Médicas.

Y para que conste, firmo el presente en Se-
villa a cuatro de Noviembre de 1.978.



Facultad de Medicina de Sevilla
Hospital Universitario
1.ª Cátedra de Patología Médica
Departamento de Medicina Interna
Prof. Miguel Garrido Peralta

DOPAMINA BETA HIDROXILASA (DBH)

Y

NEUROTRASMISORES EN HIPERTENSION ARTERIAL ESENCIAL

DOPAMINA BETA HIDROXILASA (DBH)

Y

NEUROTRASMISORES EN HIPERTENSION ARTERIAL ESENCIAL

Director : Profesor Garrido Peralta
TESIS DOCTORAL para optar al grado
de Doctor de Juan Manuel Prieto Mar
tinez.

INDICE

Dedicatoria

Agradecimientos

Objeto de la Tesis Doctoral

Introducción

Material y Métodos

Resultados

Discusión

Conclusiones

Bibliografía

DEDICATORIA

A mi madre

a mis hermanos :

Ana Mari

José Mari

Mª Paz

Isidoro

A G R A D E C I M I E N T O S

AGRADECIMIENTOS.

Quiero agradecer al Prof. Garrido Peralta el alto nivel de exigencia que se sabe imponer en mantenerse y mantenernos al día en los temas actuales de medicina interna y que ha motivado el origen de esta Tesis.

La tesis doctoral ha sido realizada en equipo. El Dr. Pérez Cano la dirigido de cerca.

Agradecer al personal del Departamento de Bioquímico que tan desinteresadamente me han ayudado; a la Dra. Concha Marchante Serrano que ha resuelto y ha sido imprescindible ayuda en el montaje de la técnica enzimática. Al Dr. González Vilches me ha resuelto las dudas planteadas de laboratorio. El Dr. Fabiani ha hecho determinaciones de Metanefrinas y catecolaminas urinarias a los enfermos.

El Prof. Valls ha permitido utilizar sueros de niños ingresados en el Servicio de Pediatría.

Deseo expresar mi agradecimiento a J. Moreno, Angustias Rodríguez Ortiz y M^a Luz Gómez Auñón por su colaboración en la obtención de datos estadísticos.

A José Martínez Vera, Charo López por su participación en los gráficos de la misma.

También quiero agradecer a la Srta. Francisca Pañdu

rp Peralias su ayuda en el arreglo y composición de la Tesis.

Solo me resta agradecer a las Srtas. ATS del Servicio de M. Interna la colaboración prestada.

OBJETO DE LA TESIS

La presencia de hipertensión por el alto grado de complicaciones que la acompañan a nivel cardiaco, cerebral o renal constituye una de las enfermedades mas frecuentes y - ocasionalmente mas terribles en su pronóstico.

Ha motivado esto la aparición de Unidades de Hipertensión Arterial en los grandes Hospitales para el cuidado - profilaxis y tratamiento de estos enfermos.

La hipertensión esencial por ser un amplio campo - no bien conocido y que debe comprender muchos factores patogénicos ya sea de herencia, trastornos en la función del timo con mayor frecuencia de autoanticuerpos o quizá disfunción en las inmunoglobulinas dentro de las familias hipertensas, trastornos en el metabolismo del calcio, relación con prostaglandinas etc. que merece ser estudiado. Pero es a nivel de actividad simpática y Desde que en 1.921 Loewi y Cannon (117) demostraron que se segregaba una sustancia simpaticomimética

tras estimulación de nervios simpáticos hasta que Von Euler demuestra en 1.948 que ésta sustancia es la noradrenalina - cuando ocurre todo un estudio anatómico de inervación simpática a distintos organos y se ve la rica inervación cardiaca de vasos sanguíneos y de médula adrenal que da eco enseguida a un estudio sobre sus funciones concretas e implicaciones - clínicas que conlleva a nivel de corazón y vasos.

Se inicia un debate en este campo sobre si el exceso de actividad simpática es causa de hipertensión, es su consecuencia o si existe realmente exceso de actividad simpática. Si esto es así interesa buscar las hormonas causantes, sus enzimas y sus metabolitos. Saber cual de ellos es causante de hipertensión y si es iniciado por las hormonas pudieran las enzimas mantenerlo. También se plantea si es la actividad simpática la iniciadora de una respuesta ante stress repetidos pero unicamente en el inicio de la hipertensión.

Debido a la extraordinaria importancia práctica del tema hemos estudiado 2 grupos de pacientes hipertensos clasificados por edad de nuestro Hospital Universitario.

Con este estudio nos proponemos en primer lugar - contribuir a esclarecer el problema expuesto y no aclarado - aún en la actualidad.

Hemos buscado niveles enzimáticos de DBH al ver a - los enfermos y hemos tratado de seguirles en la evolución de su enfermedad durante un período de seis meses y con diferentes tratamientos.

Los trabajos realizados para aclarar esta hipótesis, los resultados obtenidos y la discusión de los mismos constituyen la tesis que a continuación expongo.

I N T

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

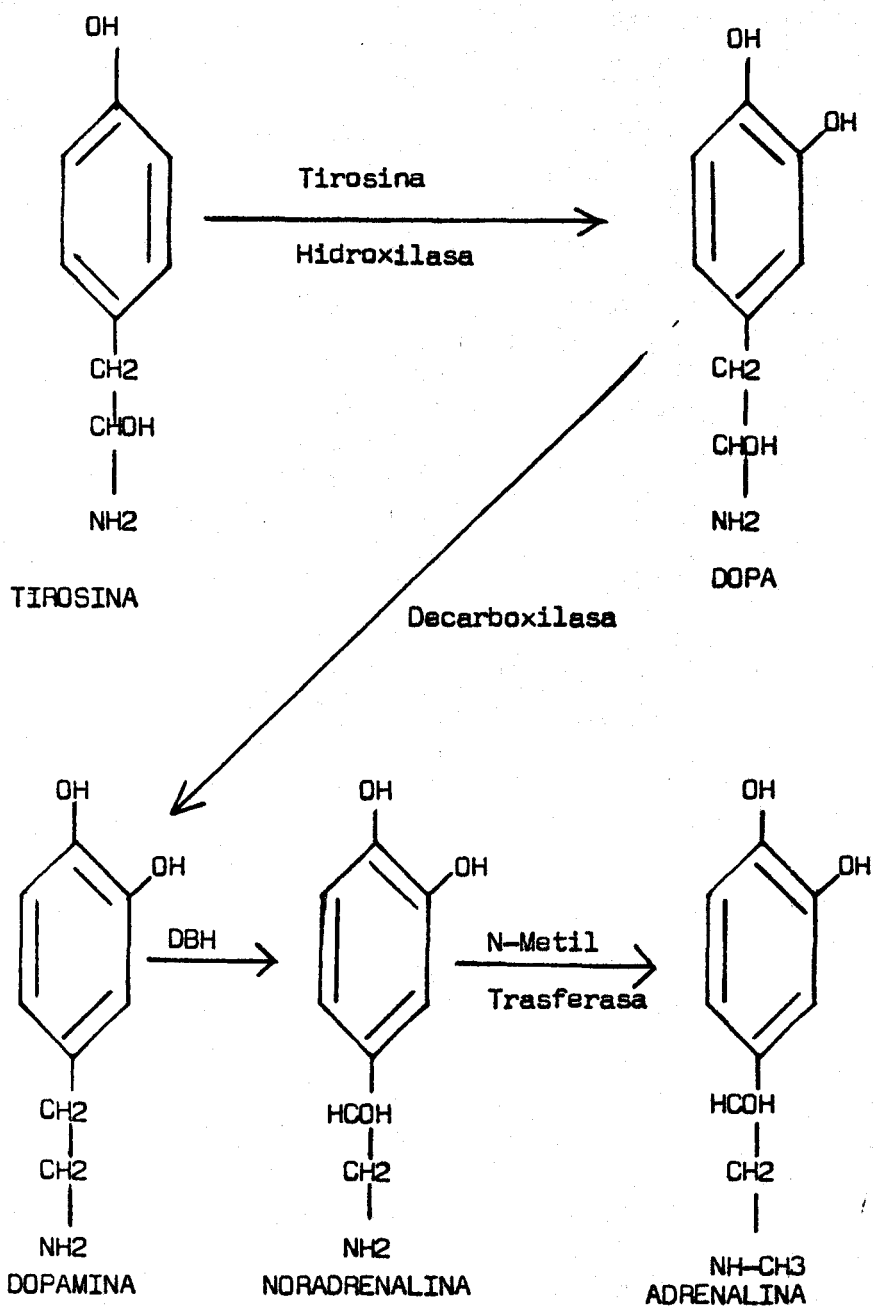
METABOLISMO DE CATECOLAMINAS

Abel y Crawford en 1.897, hallaba la primera hormona identificada químicamente, la adrenalina como N-metil-3,4 dihidroxifeniletanolamina constituyente de la médula adrenal y productor de elevación en la presión sanguínea.

La similitud en las acciones de la adrenalina y la estimulación de nervios simpáticos fué notada por Langley en 1.901 (108).

Loewi y Cannon en 1.921 (117) demostraron que una sustancia simpaticomimética se segregaba tras estimulación de los nervios simpáticos. Von Euler en 1.948 (176), (haciendo estimulación de nervios esplácnicos) demuestra que es la noradrenalina la sustancia neurotransmisora del simpático. En los últimos 20 años ha habido un aumento de conocimiento de la bioquímica sobre enzimas intermediarias y sobre almacenamiento y secrección de catecolaminas. Los efectos de drogas

FIG. 1



sobre los mecanismos de almacenamiento, secreción e inactivación de la hormona han sido descubiertos.

En 1.911, Casimir Funk (63) sintetizaba 3-4 dihidroxifenilalanina (DOPA). En 1.939 Holtz (86) descubría la enzima dopadecarboxilasa que convierte el aminoácido hidroxilado a dopamina, y él, ya proponía que los pesos eran dopa, dopamina, noradrenalina y ésta era metilada para pasar a adrenalina. Confirmado posteriormente es aceptado ahora cómo la principal ruta de formación de las tres catecolaminas: dopamina, noradrenalina y adrenalina.

La enzima responsable para la conversión de tirosina a dopa, tirosina hidroxilasa, era parcialmente purificada y caracterizada por Nagatsu, Lewit y Udenfriend (1.964) (33). Es soluble y está presente en el citoplasma. Se precisa oxígeno molecular para oxidar a la Tiroxina y al cofactor tetrahidropteridina. Una pteridina reductasa regenera la forma tetrahidro del cofactor. La conversión de tirosina a dopa es el escalón más lento en la secuencia de biosíntesis. La tiroh

sina hidroxilasa desaparece de los tejidos nerviosos cuando estos son degenerados.

La formación de dopa desde tirosina está limitada a los tejidos que poseen la enzima, principalmente neuronas — contenedoras de cotecolaminas de el cerebro, sistema nervioso simpático y tejido cromafin que está principalmente en médula adrenal.

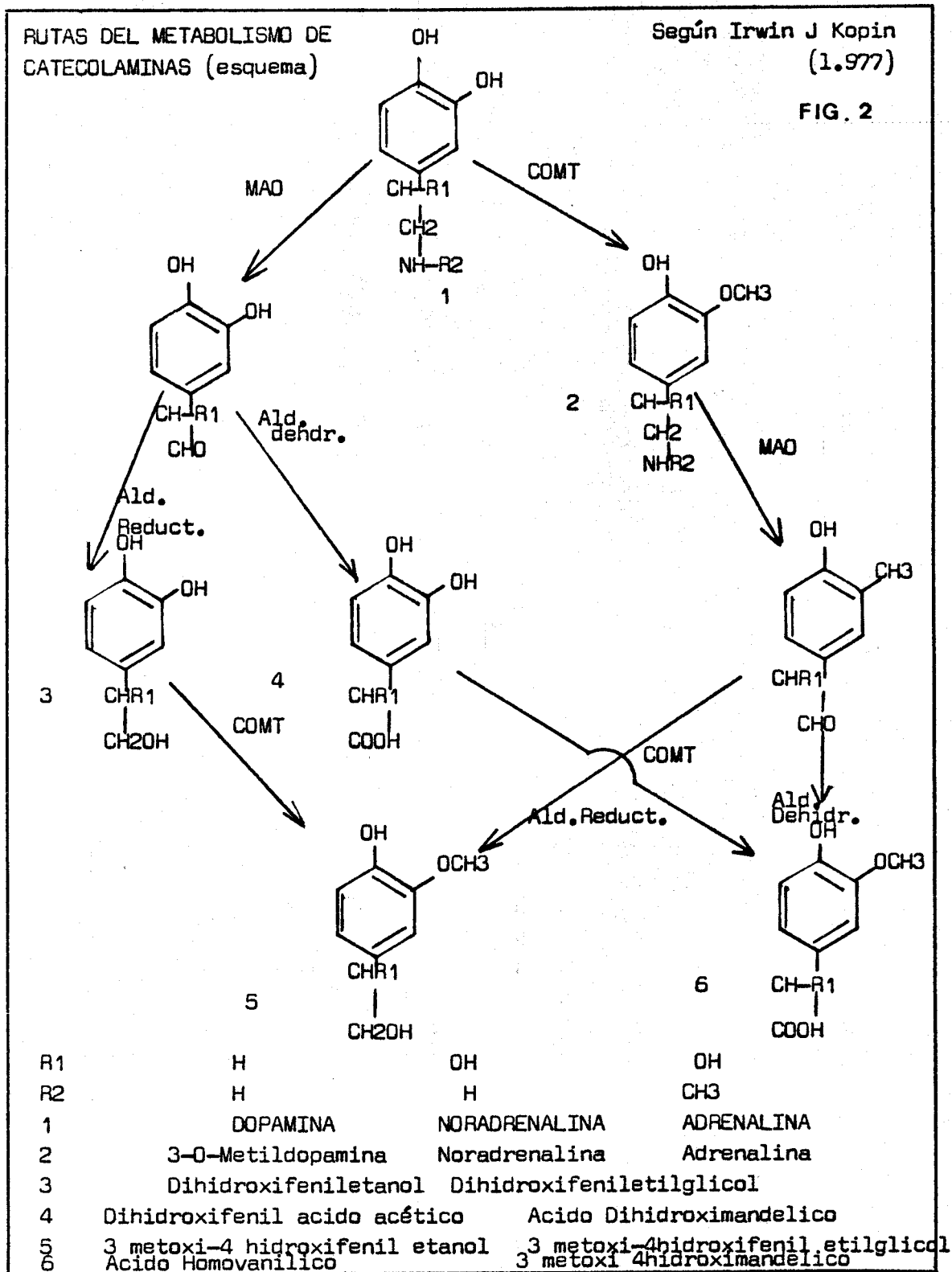
La descarboxilasa Aminoacido aromática está, igualmente, en solución en el citoplasma de las células de muchos tejidos, es dependiente del piridoxal y relativamente inespecífica, catalizando la descarboxilación de una extensa variedad de aminoácidos aromáticos (14). En el cerebro, la actividad de esta enzima es relativamente alta, pero no es especialmente importante sino que a la base es un aminoácido que se encuentra en el cerebro y posiblemente en el sistema adrenal y periférico (por ejemplo, cuerpo carotideo).

La tirosina y dopamina convierten la dopamina en dopacina.

La enzima es una oxidasa de función mixta que requiere oxígeno molecular y un cosustrato. El ácido ascórbico y el ácido fumárico son cofactores de ésta enzima, contenedora de cobre. Se encuentra solamente en neuronas adrenérgicas y médula adrenal. Está contenida en gránulos intracitoplásmicos junto con noradrenalina.

Es también relativamente inespecífica y puede convertir una variedad de derivados de feniletilaminas a sus productos hidroxilados.

La feniletanolamina N metil transferasa, convierte la noradrenalina a adrenalina usando un grupo metilado derivado de S-adenosilmetionina (10) en la médula adrenal, células cromafines y en algunas neuronas en el sistema nervioso central. Tampoco es muy específica y es capaz de metilar feniletanolamina y muchos de sus derivados.



INHIBIDORES DE BIOSINTESIS DE CATECOLAMINAS

Tirosina hidroxilasa.- La metiltirosina es un efectivo inhibidor de la enzima (167), ha sido usado en el tratamiento de feocromocitomas (16), también la inhiben la 3 iodotirosina, la dopamina y noradrenalina por competición con el cofactor pteridina reducido (174). Los quelantes del hierro tales como a, a dipiridil también parecen inhibirla in vitro. Parece pues — que los iones ferrosos son requeridos para la actividad de la enzima.

La decarboxilasa aminoácido aromática. La alfa 2 metil-m-tirosina actúa posiblemente decarboxilando las catecolaminas y produciendo posteriormente 8 hidroxilación para — formar falsos transmisores. Se ha usado otro poderoso inhibidor, el 3 hidroxibenzilhidrazina, para medir la frecuencia de formación de dopa desde tirosina (34).

Dopamina 8 hidroxilasa.- Un número de derivados aromáticos de feniletilamina inhiben la acción de la enzima.

Los quelantes del cobre, disulfirán, dietil-ditio—

carbamato y tropolone son inhibidores efectivos y descienden cerca del 50% la noradrenalina en corazones de rata (134). No parecen alterar el metabolismo hasta dopaminar. El ac, fusárico por mecanismo no bien conocido aunque no competitivo ni quelante del cobre, también inhibe la enzima en hombres y animales (139).

La feniletanolamina N metiltransferasa, es inhibida por nor y adrenalina. Las drogas que actúan in vitro no la inhiben in vivo. Parece que el compuesto SKF (metil tetrahidrobenzotiano-piridina hidroclicóric) la desciende in vivo y baja la tensión arterial y los niveles de actividad enzimática en cerebros de ratas genéticamente hipertensas o hechas hipertensas por acetato de desoxicorticosterona y sal (159).

ALMACENAMIENTO DE NORADRENALINA

Se ha comprobado por radioautografía usando ^3H -noradrenalina que ésta se localiza en una vesículas de 50 nmol - de diámetro que se encuentra en las terminaciones nerviosas simpáticas (183). Por centrifugado de homogeneados de tejidos

de animales se vió que esas partículas contenían noradrenalinna marcada y noradrenalina endógena y contenían además, igual que los gránulos de la médula adrenal dopamina B hidroxilasa, ATP y cromogranina, una proteína necesaria para la unión de catecolaminas (153).

La captación por los gránulos de catecolaminas requiere moléculas de ATP y Mg^{2+} es dependiente de temperatura y es bloqueado por reserpina (177), siendo desplazada por muchos derivados hidroxilados de feniletilamina. Es necesario un grupo B hidroxilado y/o un grupo catecol para permanecer en las vesículas y no es pues específico (135).

SECRECCION DE NORADRENALINA DESDE NERVIOS SIMPATICOS

La despolarización por impulsos nerviosos, igual en la médula adrenal que en terminaciones nerviosas simpáticas, aumenta la permeabilidad a iones calcio, los cuales provocan el proceso de secreción, agregándose simultáneamente DBH, - cromogranina y noradrenalina (46).

De la simultanea secreción de proteínas largas con

pequeñas moléculas de noradrenalina se deduce que el mecanismo de secreción es por exocitosis con fusión de vesículas y membranas del plasma (166).

La secreción de DBH ha probado ser un buen marcador para determinar si la secreción producida por una droga o ion es una consecuencia de exocitosis. En general aquellos agentes que causan despolarización de las terminaciones nerviosas y son calcio dependientes (altas concentraciones de potasio, dimetildifenilpiperazina) determinan la liberación de la enzima junto con noradrenalina.

En cobayas la estimulación nerviosa para producir secreción de DBH y noradrenalina era bloqueada por la ausencia de calcio. La adición de Butiril-AMP ciclico o de teofilina (un inhibidor de la fosfodiesterasa) restauran la eliminación de las mismas y en presencia de calcio aumenta su secreción (185). La colchicina, vinblastina y citochylasina B inhiben la secreción de la enzima y el transmisor (184) sugiriendo la presencia de un mecanismo contráctil en la exo

citosis. Este proceso sería iniciado por la entrada del calcio. Se ha pensado en un papel para el AMP cíclico en hacer asequible el ion calcio, intracelular, o por actuar sobre el proceso contráctil, pero esto no ha sido definido.

CONTROL DE SECRECCION DE NORADRENALINA

Se vió que la administración de fenoxibenzamina un Alfa bloqueante aumentaba la secrección de noradrenalina desde bazo de gato perfundido (19). Se atribuyó a que los alfa receptores eran "sitios de pérdida" de la noradrenalina segregada. Después se pensó que la mejor manera de inactivación de la secrección era por recaptación de la noradrenalina segregada y que la fonoxibenzamina bloquearía ésta captación hacia el interior de la terminación nerviosa.

Numerosos alfa agonistas tanto como la noradrenalina se encontraba que inhibían la secrección de catecolaminas soportando que la inhibición de los receptores alfa presinápticos era el mecanismo responsable del aumento de secrección de noradrenalina producido por fenoxibenzamina (50).

Las prostaglandinas disminuyen la secrección de noradrenalina y de DBH simultaneamente o sea, actúan sobre la exocitosis, posiblemente por disminuir la entrada de calcio, y el bloqueo de prostaglandinas aumenta la secrección (160), pero no altera los efectos del bloque de alfa receptores sobre la secrección de noradrenalina. Por otra parte mientras la noradrenalina aumenta la secrección de prostaglandina, éste efecto no es inhibido por alfa bloqueantes, lo que elimina el papel del receptor en el mecanismo de acción de las prostaglandinas (93).

En los últimos pocos años se ha visto que existen - además de los alfa , los receptores presinapticos beta que modulan la secrección de noradrenalina y DBH por feedback positivo. Así pues la Adenilciclase estimulando el AMP cíclico aumenta la secrección de noradrenalina y DBH (185).

Los B receptores son más sensibles a los agonistas ya que bajas concentraciones de los mismos al inicio de la secrección de noradrenalina la estimulan y altas concentraciones estimulan los alfa receptores y se frena la secrección.

La inducción de secreción de noradrenalina por sustancias farmacológicas que no estimulan su secreción sino que compiten en el lugar de almacenamiento o que impiden su destrucción por monoamino oxidasa no llevan un mecanismo de exocitosis y no modifican la DBH. Esta facilidad de las vesículas de almacenar compuestos similares en estructura a las catecolaminas puede, cuando estos son abundantes, reemplazar a los transmisores fisiológicos. Estos "falsos transmisores" pueden ser menos potentes para estimular los receptores y pueden por tanto disminuir la eficacia de la actividad neuronal simpática (136).

METABOLISMO Y ELIMINACION DE CATECOLAMINAS

No se conocía la suerte metabólica de las catecolaminas hasta Armstrong en 1.957 (31) que mostró el que 3 metoxi-4 hidroximandélico (ácido vanililmandélico, VMA) es un metabolito urinario de noradrenalina.

La monoamino oxidasa (MAO) era conocida como desaminadora de adrenalina y se pensaba que el producto desaminado

era entonces O-metilado y excretado (18). Sin embargo posteriormente se vió que el producto O-metilado podría ser formado en homogeneados de hígado "in vitro" sin desaminación previa y que éstos derivados estaban presentes en forma libre y conjugada en la orina de ratas y hombres. Esta ruta metabólica sería la principal manera de excrección de las catecolaminas (9). La enzima responsable de ésta acción catecol-O-metiltransferasa (COMT) fué parcialmente purificada y sus propiedades examinadas (12). Requiere Mg^{++} aunque puede sustituirse por otros iones divalentes Co^{2+} Mn^{2+} y S-adenosilmetionina como un donador de metilos. La enzima puede O-metilar a una extensa variedad de catecoles y se encuentra en altos niveles en hígado y riñón aunque está presente en casi todos los tejidos.

Con estudios de adrenalina marcada con tritio cerca de dos tercios fueron O-metilados y menos de un cuarto desaminado directamente en estudios hechos en hombres (98). Se demostró después que el pirogallol, un potente inhibidor de COMT in vitro, disminuía la frecuencia de desaparición

de catecolaminas administradas in vivo y potenciaba secundariamente su acción (11).

La inhibición de la MAO se conocía que potenciaba la acción de algunas aminas como tiramina en su acción simpáticomimética pero tenía poco efecto sobre catecolaminas administradas aunque aumenta los niveles de noradrenalina en muchos tejidos de una variedad de especies (98).

La desaminación por MAO resulta en la formación de aldehidos que son oxidados a los correspondiente ácidos o reducidos a derivados de alcohol según las especies. En humanos VMA es el principal metabolito.

CAPTACION DE CATECOLAMINAS POR TERMINACIONES NERVIOSAS SIMPATICAS

Administrando intravenosamente H³-noradrenalina desaparece rápidamente de la circulación pero una gran porción escapa a la destrucción y es retenida en los tejidos. Después de denervación simpática crónica la recaptación de catecolaminas está muy descendida indicando que el sitio de unión de -

catecolamina marcada es en las terminaciones nerviosas (80).

El mecanismo de recaptación es saturable y tiene una alta afinidad para catecolaminas es sodio dependiente y es inhibido por una extensa variedad de aminas, cocaína, antidepresivos tricíclicos y otras drogas.

La captación extraneuronal de noradrenalina es aparente solamente en altas concentraciones de catecolaminas o cuando la captación neuronal es bloqueada por cocaína o degeneración de terminaciones nerviosas simpáticas (91).

DESTINO METABOLICO DE NORADRENALINA EN LAS TERMINACIONES - NERVIOSAS SIMPATICAS.

Tras la administración intravenosa de 3H-noradrenalina una gran proporción es tomada en los nervios simpáticos y retenida en los tejidos. Mucha de la que se pierde se encuentra en la orina en forma O-metilada. Con el tiempo va disminuyendo en la orina la forma O-metilada, y hay un aumento en productos desaminados sugiriendo que las catecolaminas almacenadas en las terminaciones nerviosas son metabólizadas

por monoaminoxidasa (99).

La administración de tiramina o reserpina resulta en depleción de almacenamientos tisulares de noradrenalina, aunque solamente la tiramina produce una marcada respuesta simpaticomimética.

El aumento en la excrección de varios metabolitos de 3H-noradrenalina almacenada producido por esas drogas muestra que cuando la catecolamina era segregada en una forma activa era largamente O-metilada, pero con depleción por reserpina la mayor ruta era por la MAO. La ruta de metabolismo parece así determinada por el sitio en el que es metabolizada la noradrenalina. La desaminación es la mayor ruta de metabolismo intraneuronal y la O-metilación predomina si la catecolamina es segregada por estimulación nerviosa y es metabolizada extraneuronalmente.

La inhibición de captación extraneuronal por agentes bloqueantes adrenérgicos o por corticosteroides inhiben la formación de metabolitos O-metilados mientras la inhibición de captación neuronal por cocaína disminuye la desaminación

(106). La noradrenalina segregada es en parte tomada por la neurona presináptica y destruida por la MAO o tomada en el interior de las vesículas sinápticas. La noradrenalina también es en parte tomada por otras células diana no neuronales donde es convertida a normetanefrina y entonces desaminada. Una parte de la que se segrega escapa en la circulación y es rápidamente destruida por O-metilación en el hígado y en riñón.

NIVELES EN PLASMA DE CATECOLAMINAS Y DBH

La rápida frecuencia de metabolismo y captación en las terminaciones nerviosas de catecolaminas desde la circulación resulta en el mantenimiento de muy bajos niveles de noradrenalina y adrenalina en plasma. Procederes fluorimétricos más nuevos radioenzimáticos dan que en reposo, sin stress, los niveles de noradrenalina en plasma son de 0,2-0,4 ng/ml y los de adrenalina de 0,02 a 0,4 ng./ml.

Tienen rápido turnover en plasma y de ahí que sean sus cambios un buen índice de descarga medular simpato-adrenal.

Estos valores se doblan con un cambio de postura de acostado a de pie y aumentan con el ejercicio. También aumentan con la inserción de la aguja para obtención de sangre. Los niveles de reposo de noradrenalina aumentan con la edad avanzada. Por ésto en estudios de estados anormales es importante usar sujetos controles igualados en edad.

La DBH está presente en plasma humano en niveles más altos que en animales experimentales. Después de destrucción de terminaciones nerviosas simpáticos (por beta hidroxilasa)

disminuyen los niveles de la enzima en plasma pero no ocurre ésto después de adrenalectomía.

En los mismos individuos los niveles de DBH son constaⁿtes con intervalos de años. Son niveles similares en gемеlos y cambian relativamente poco con activación del sistema nervioso simpático. En series largas de sujetos normales no parece ser significativa la relación en los cambios de la enzima y los niveles en plasma de noradrenalina.

Hay evidencia de que alteraciones en la síntesis de la enzima en los nervios simpáticos puede ser reflejada por - cambios en los niveles plasmáticos de la enzima en animales experimentales (154).

La enzima es sintetizada en los cuerpos celulares de las neuronas simpáticas y alcanza las terminaciones nerviosas por transporte axonal. El destino final de la enzima no - está claro. Una parte está en la porción soluble de las vesiculas y es segregada con estimulación nerviosa, la mayor parte está unida a la membrana de la vesícula y ésta porción -

puede alcanzar la circulación por un mecanismo de no exocitosis que hace que los niveles en plasma reflejen mejor la síntesis y movimiento de la enzima que la secreción inducida - por estimulación nerviosa.

INDICES BIOQUIMICOS DE ANORMALIDADES DE EL SISTEMA NERVIOSO SIMPATICO.

La insuficiencia del sistema nervioso autónomo es - manifiesta por hipotensión ortostática, bradicardia relativa, anormalidades en vejiga y función sexual , y alteración función al de la glucosa y puede ser atribuida a:

- 1) Imposibilidad de el SNC a responder apropiadamente a estímulos los cuales señalan cambios en la actividad simpático-médula adrenal.
- 2) Imposibilidad del sistema simpático-medula adrenal de segregar catecolaminas cuando es estimulado.
- 3) Imposibilidad de los órganos efectores a responder a las catecolaminas segregadas.

Los tres tipos de lesión han sido hallados y etiquetados

tados valorando los niveles de noradrenalina en reposo, con ejercicio y en su relación con caída de presión arterial tras ejercicio con una buena respuesta de noradrenalina.

La DBH tanto en el primero como en el segundo grupo está disminuida reflejando posiblemente bajo nivel crónico - de actividad neuronal simpática (disautonomía familiar, hipotensión ortostática primaria, síndrome de Shy Drager).

MEDULA ADRENAL, SINTESIS DE CATECOLAMINAS

A principios de éste siglo se aislaba una sustancia presora procedente de la médula adrenal identificada como — adrenalina y se veía también en mucha menor proporción noradrenalina, contrariamente al contenido de las vesículas de — las terminaciones nerviosas simpáticas.

Una pareja de glándulas adrenales humanas pesa unos 12 grs. y un 10%, o sea 1 gr., es tejido medular que está — compuesto enteramente de células cromafines secretoras de ca₂tecolaminas. Los pasos metabólicos son: La tirosina es hidroxilada a formar dopa la cual es entonces decarboxilada a do-

pamina. Esta es hidroxilada en posición BETA a formar noreadrenalina la cual es finalmente metilada a adrenalina (180). Desde 1.940 todos los enzimas y sustratos de éste camino han sido aislados desde la médula adrenal. Aunque han sido propuestos caminos alternos para la síntesis de catecolaminas - parece éste es el más importante.

La tiroxina 3-monooxigenasa (TH) cataliza la reacción inicial en la biosíntesis de catecolaminas, la conversión de tirosina a dopa. Es una oxidasa de función mixta que requiere O_2 y un cofactor de pteridina reducida para su actividad (138) la tetrahidrobiopterina (BH4) que probablemente no la mantiene saturada in vivo.

Parece que esta enzima se encuentra en el citoplasma. La TH cataliza el escalón limitante de frecuencia en la síntesis de catecolaminas. Su regulación de actividad es complejo y no bien entendido. No hay métodos para purificación de TH desarrollados y los estudios sobre la regulación de su actividad han sido hechos con preparaciones enzimáticas crudas. Es activada por muchos factores incluyendo Ca^{2+} (74),

Fe²⁺ (149), heparina (101), fosfatidilserina (120), cAMP (132) y una protein-kinasa (133).

La enzima es inhibida por análogos de tirosina incluyendo: Alfa metiltirosina y 3-iodo-tirosina los cuales son competitivos con tirosina y catecoles, incluyendo dopamina, noradrenalina, adrenalina, que son competitivos con BH₄ y — quelantes del hierro (138). La inhibición de TH por catecolaminas puede regular la biosíntesis de catecolaminas.

La aromático L-amino ácido decarboxilasa cataliza — la conversión de dopa a dopamina (AADC) dopa — dopamina+CO₂. Es también una enzima citoplásmica de las células cromafines. Su actividad requiere piridoxal-fosfato y es inhibida por — compuestos de hidrazina y benziloxiaminas (151).

Dopamina B monooxigenasa cataliza la conversión de dopamina a noradrenalina: dopamina + ascorbato + O₂ — noradrenalina + H₂O + dehidroascorbato.

DBH también ha sido purificada y homogeneizada desde la glándula adrenal (61). Está localizada en los gránulos

cromafines y es aparentemente no accesible a la dopamina citoplásmica. Una porción de la actividad de DBH es localizada sobre la membrana de los gránulos cromafines y la restante → en la fracción soluble de los gránulos. Es estimulada por aniones como fumarato y es inhibida por CO, H₂O₂ y quelantes del cobre. La DBH tiene inhibidores endógenos que son encontrados en homogeneados adrenales (137). El papel de estos en la actividad de DBH no es conocido.

Las células contenedoras de adrenalina tienen un — enzima adicional, noradrenalina N-metiltransferasa que catali — za la conversión de nor a adrenalina y ha sido purificada — también en homogeneados de glándulas adrenales. Es aparente — mente una enzima citoplásmica.

CAPTACION DE CATECOLAMINAS

La captación de catecolaminas al interior de los — gránulos es estimulada por ATP y Mg²⁺ e inhibida por reser — pina y N-etilmaleimida.

Se piensa que el ATP promueve el transporte activo

de catecolaminas dentro de los gránulos bien de forma activa directamente, fosforilizando una proteína portadora de catecolamina, o indirectamente por generar un gradiente de protones que cruza la membrana de gránulos cromafines.

En las células contenedoras de noradrenalina la dopamina es tomada en los gránulos para convertirse a noradrenalina y almacenarse como tal.

En las células contenedoras de adrenalina parece — que la noradrenalina deja los gránulos para ser convertida a adrenalina por PNMT y entonces nuevamente es tomada la adrenalina al interior de los gránulos.

COMPOSICION DE GRANULOS CROMAFINES

Contienen 6.7 por cien de catecolaminas por peso neto (concentración de 0.55 mol/l). También contienen nucleótidos de adenina, principalmente ATP en una relación molar de catecolaminas a nucleótidos de 4. Contienen además proteínas, iones inorgánicos, principalmente Calcio (Ca^{++}), lípidos y mucopolisacéridos.

El 75% de las proteínas de los gránulos cromafines pueden ser segregados por lisis hipotónica de los mismos, — esas son las proteínas de la fracción soluble en agua de los gránulos. Una de esas proteínas es la enzima DBH. Entre el 20% y el 50% de la actividad de DBH está en esa fracción de los gránulos. El resto está unido a la membrana de los gránulos. Las otras proteínas de la fracción soluble son las cromograninas (17). Estas son una familia de proteínas acidicas con una alta proporción de ácido glutámico (79).

Las proteínas no segregadas por lisis hipotónica y unidas a la membrana se llaman cromomembrinas (186). DBH es — una de los principales componentes de estas y se refiere como una cromomembrina A (187). La membrana también contiene una ATP-asa activada por Mg^{2+} , citocromo, una flavoproteína, fosfatidilinositol kinasa y adenilciclase (191). El mayor componente de la membrana de los gránulos cromafines es lipídico; la relación proteína: lípido de las membranas es de 0,45(188). Las membranas contienen una relación colesterol-fosfolípidos relativamente alta. Además las membranas contienen una alta

concentración de lisolecitina. Como la lisolecitina puede jugar un papel en la fusión de membranas biológicas ésta podría ser su misión en la secreción de catecolaminas (119). La estabilidad de los gránulos cromafines unido a que esos gránulos son osmóticamente activos ha ayudado a sugerir que las catecolaminas son almacenadas en unos complejos macromoleculares con los gránulos. Pueden formar complejos con ATP y Ca^{2+} in vitro (16) y ésto hace pensar que se formen esos mismos complejos in vivo pero esto no es conocido exactamente.

SECRECCION DE CATECOLAMINAS

Los estímulos físicos y emocionales pueden aumentar la secreción de catecolaminas. Stress emocional, hipotensión, hipoglucemia, asfixia, anoxia y ejercicio físico stressante han sido referidos como causas activadoras. El estímulo no actúa directamente sino a través del sistema nervioso central. Los barzoreceptores del seno carotideo median los efectos de la hipotensión (82). Es difícil cuantificar la respuesta de la médula suprarrenal a estos estímulos que se acompañan

tambien de actividad del sistema nervioso simpático aumentada y por secrección de corticoides desde la corteza adrenal.

ACCION DE ACETILCOLINA Y PAPEL DEL CALCIO EN LA SECRECCION MEDULAR DE CATECOLAMINAS.

En 1.934 se demostraba que la acetilcolina era segregada en la unión nervio esplácnico-celula cromafin (55) y estimulaba la secrección de catecolaminas. Esta acción era nicotínica, pues se imitaba con pequeñas dosis de nicotina y se inhibía con grandes dosis en médula adrenal de gato. También era muscarínica pues agonistas muscarínicos como pilocarpina reproducen el efecto secretorio y antagonistas muscarínicos como la atropina lo inhiben. Tienen pues las células cromafines ambos tipos de receptores: nicotínicos y muscarínicos. Se ha dicho que los agonistas muscarínicos causan la secrección preferencial de adrenalina. Los cambios pueden ser debidos igual que en el músculo a permeabilidad iónica de la membrana de las células cromafines. Se han encontrado potenciados de membrana en reposo según los autores de -20 a -50

mV (45) y (24). Los primeros investigadores no encuentran generados potenciales de acción pero los últimos encuentran potenciales de acción espontáneos y provocados y que serían debidos a un aumento en la permeabilidad del Na^+ . Brandt y colaboradores (24) tienen evidencia de que un pequeño componente del potencial de acción es debido a la entrada de Ca^{2+} .

Los estudios electrofisiológicos sugieren dos mecanismos de secreción medular: 1º la acetilcolina tiene un efecto directo sobre la permeabilidad del Ca^{2+} . Hay además un potencial dependiente de mecanismo de permeabilidad del Ca^{2+} el cual es activado por la despolarización causada por acetilcolina o por alto K^+ . La relación entre esos dos mecanismos no es bien conocida.

Houssay y Molinelli (1.928) (88) encontraron que la perfusión de glándulas adrenales con soluciones conteniendo oxalato o citrato inhibían la secreción de catecolaminas producida por estimulación del nervio esplácnico, pero no se distinguía entre una acción pre o postsináptica del ión. Se

ha visto ya que el calcio es importante para la secrección - de acetilcolina desde las terminaciones nerviosas y por las células cromafines (94). El calcio actúa directamente sobre la secrección de catecolaminas. Se ha visto que su acción no es inhibida por hexametonio (un antagonista nicotínico). Añadiendo Cl_2Ca en solución de sucrosa aumenta en glándulas adre^{nales} perfundidas la secrección de catecolaminas.

Douglas y Rubin (1.961-1.963) (43,44) ven que la acetilcolina y altos niveles de potasio estimulan la secrección de catecolaminas dependiendo de la concentración de Ca^{++} en el medio de perfusión. Otros cationes divalentes Sr^{2+} y Ba^{2+} tienen acción parecidas al calcio. El Mg^{2+} inhibe pero - ésta acción remite por la adición de Ca^{2+} . Otros cationes divalentes Ni^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} y Mn^{2+} tienen poca, o ninguna acción sobre la secrección de catecolaminas. El mismo autor demostraba que un anestésico local como tetracaina que bloquea el componente Ca^{2+} en la depolarización inducida por acetilcolina inhibe la secrección de catecolaminas. Esto sugiere que - inhiben la captación de Ca^{2+} al interior de la célula cromafina.

fin y que éste es un escalón importante en el proceso de secreción aunque se desconoce el mecanismo interno dentro del citoplasma o de los gránulos cromafines del Ca^{2+} .

EXOCITOSIS

De Robertis y colaboradores (201) proponían que la secreción de catecolaminas era por fusión de la membrana de los gránulos a la membrana del citoplasma. Aunque es muy difícil demostrar la exocitosis hay fuertes evidencias bioquímicas para pensar en éste mecanismo (solamente son segregados los componentes solubles de los gránulos de las células cromafines), ATP, cromograninas y DBH son segregados en las mismas concentraciones que tenían en el interior de los gránulos (181). No hay aumento en la secreción de fosfolípidos y colesterol constituyentes de la membrana del gránulo lo que sugiere que es el contenido de éste el que se segrega (170). Entre lo segregado no hay enzimas intracitoplásmicas como lactato dehidrogenasa o PNMT.

Del 2 al 14% de las catecolaminas almacenadas son

secretadas diariamente. En pacientes con sección de médula -
espinal disminuye a una mínima cantidad la hormona segregada
pero éste resto no se sabe a que es debido (182). Además la -
médula adrenal puede segregar catecolaminas en respuesta a -
algunas sustancias circulantes: glucagón, histamina, angiotens
sina II y bradiquinina (54) aunque no hay estudio in vivo -
convincientes del papel fisiológico secretagogo de esas sustanci
as se piensa que sí puede tener importancia en condiciones
patológicas. La secrección producida por esos agentes igual
que la producida por acetilcolina es dependiente del Ca^{2+} en
el líquido extracelular y ocurriría por excitosis.

La excitosis incluiría: movimientos de gránulos cro
mafines a la periferia de la célula, unión de los gránulos a
la membrana del plasma, fusión de las membranas, secrección
de los gránulos cromafines y recuperación de la membrana de
los gránulos. Estos procesos no son bien conocidos. Se ha -
propuesto que el movimiento de los gránulos sería por estructu
ras celulares específicas tales como microtubulos o proteini
nas contráctiles semejantes a actomiosina.

El Ca^{2+} puede jugar un papel físico de unión en el proceso de fusión de membranas. Las membranas de los gránulos y las membranas celulares probablemente llevan una carga negativa y el Ca^{2+} neutraliza sus cargas de superficie (14). El Ca^{2+} causaría la fusión de lípidos de las dos capas y kiposomas. Sin embargo las concentraciones de Ca^{2+} intracelular alcance esa concentración. Han sido descritos también para el Ca^{2+} dos uniones a proteínas y que podrían entrar en el proceso secretorio. Una unión a una fosfoproteína (25) aislada con idénticas cualidades en el cerebro y que en la médula adrenal ha sido identificada como un activador de nucleótido cíclica fosfodiesterasa pero a diferencia del cerebro no tiene la misma actividad en la médula adrenal. La estimulación colinérgica causa un aumento en los niveles de adenosin 3'-5' monofosfato cíclico (c AMP) en la médula adrenal (72) y la proteína unida al Ca^{2+} podría jugar aquí un papel.

La otra unión a proteínas del Ca^{2+} es a troponina C (102) esto podría activar un sistema contráctil igual al del músculo. La médula puede tener otras proteínas unidas al Ca^{2+}

pués también se ha visto una actividad de proteinkinasa dependiente de Ca^{2+} en las células cromafines (39).

La secreción de catecolaminas requiere energía y es inhibida por inhibidores de la glicolisis y fosforilación oxidativa (95). No se conoce el escalón en que se precisa la energía.

La acetilcolina y la estimulación del nervio esplácnico aumenta los niveles de c AMP . Se activan las proteinkinnasas, aumenta el turnover de fosfolípidos (85), el consumo de O_2 (14), la síntesis de catecolaminas, síntesis de RNA — (40) y la inducción de las enzimas TH, DBH y PNMT (131).

RECEPTORES ADRENERGICOS

Langley (1.905) propuso primero la hipótesis de que sustancias farmacológicas interactúan con sustancias receptivas (107). Ahlquist (1.948) (5) hacía ya una clasificación de ALFA y BETA receptores y comparaba la potencia de seis diferentes agentes simpáticomiméticos. Veía los dos tipos de — respuesta pero decía que no podía clasificarse en excitadora

e inhibitoria desde que cada clase de receptor puede tener - una u otra respuesta según el lugar que se encuentre. Clasificaba los receptores adrenérgicos según el orden de potencia en que fueran afectados por los varios agentes simpaticomiméticos. Los que iban con un orden de potencia de adrenalina-noradrenalina-isoproterenol (por ejemplo los que median la vasoconstricción) eran llamados ALFA receptores (TABLA I). Los que mediaban vasodilatación en músculos esqueléticos se encontraba que respondía con un orden de: isoproterenol-adrenalina-noradrenalina y eran llamados BETA receptores. Consideraba Ahlquist los alcaloides ergotínicos como específicos antagonistas de ALFA receptores, pero él no identificaba los BETA bloqueadores. Estos son descubiertos en 1.957 () con el Diclorisoproterenol y ya en 1.967 se subdividen los B receptores en subtipos B1 y B2, dependiendo de su relativa respuesta a noradrenalina y adrenalina. Posteriormente se habla de receptores estimulados por dopamina e inhibidos por haloperidol y serían receptores dopaminérgicos. Actualmente son clasificados dogmáticamente por la sensibilidad relativa

a agonistas y antagonistas y no por la naturaleza química del receptor mismo.

CONCEPTO DE RECEPTOR

Hay ya muchos experimentos localizando a los receptores adrenérgicos sobre las superficies celulares de las células diana.

Algún componente de la célula diana se une con el agente adrérgico de forma reversible



H= Hormona

R=receptor

HR complejo hormona-receptor

La expresión de equilibrio sería :

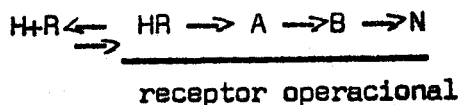
$$K_a = \frac{(HR)}{(H)(R)} \quad K_d = \frac{1}{K_a} = \frac{(H)(R)}{(HR)}$$

Ka= es la asociación o unión constante

kd= es la disociación constante

Es muy difícil la medida directa HR y R y los investigadores se limitaban a medir la cantidad de hormona que producía una respuesta fisiológica como por ejemplo relajación muscular. Ocurrían entonces una serie de pasos previos hasta

que se diera la más temprana respuesta medible



Receptor operacional incluiría los pasos entre unión HR y respuesta. Se ha intentado también ver cual sería la fracción de hormona que produciría por ejemplo mitad de relación muscular fisiológica y mitad de receptores ocupados. A esto se llamaría "respuesta fraccional".

ADENIL CICLASA

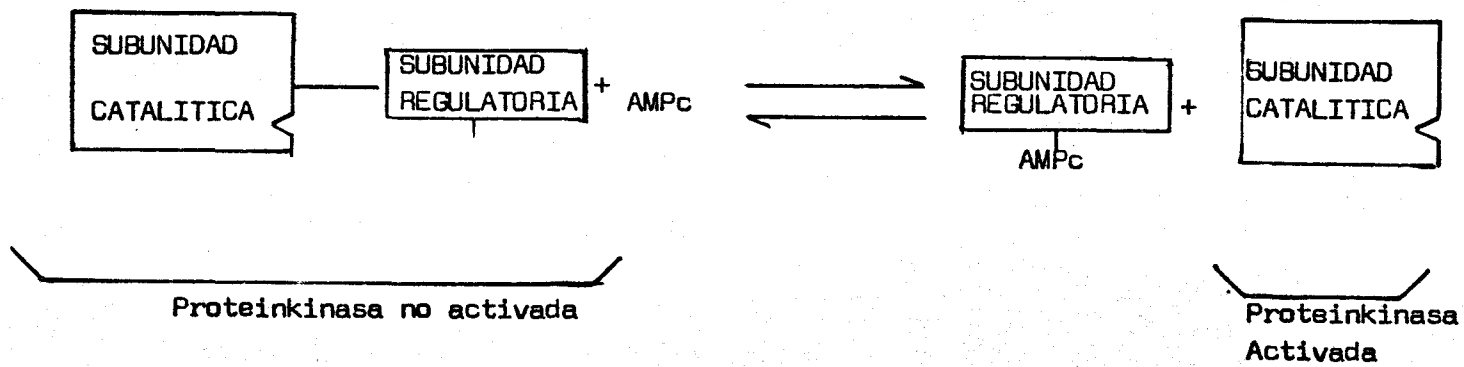
Fue descubierta por Sutherland en 1.957 (164). Esta enzima de la membrana del plasma puede ser estimulada por una variedad de peptidos y hormonas catecolaminicas. Las respuestas BETA adrenérgicas aparecen por estimulación de adenil ciclasa y son mediados intracelularmente a través de un aumento en los niveles de AMP, cíclico, Sutherland reducía el receptor operacional solamente para los acontecimientos previos a la estimulación de ésta enzima. La estimulación podría ser medida con varias concentraciones de hormonas.

Esta enzima es regulada no solo por concentración - de hormonas extracelulares. Otros agentes, desde la membrana de la misma célula diana, se unen a sitios regulatorios espe cificos que pueden estar estrechamente relacionados al compo nente catalitico de la adenil ciclase sobre la cara citoplás mica de la membrana. Además han sido identificados sitios re gulatorios específicos para cationes divalente y nucleótidos de guanina.

La adenil ciclase requiere cationes divalente (20) para su actividad. Este catión sería el Mg^{2+} que promueve ac tividad enzimática por servir como parte del sustrato (Mg^{2+} —ATP) y tambien por unirse a sitios específicos para el Mg^{2+} . El Ca^{2+} inhibe la adenil ciclase. Esto trasformaría al ion - calcio en un regulador de la enzima.

Los nucleótidos de guanina es un activador en la - adenil ciclase (158).

Guanosina trifosfato (GTP) parece ser el nucleótido importante en el papel activador. Tambien sus análogos guani lil imidodifosfato $Gpp(NH)_p$ que no es donador de fosfato y -



Tomada de Steer (1.976) de Annals of Surgery

está menos sujeto a la acción de las fosfotrasferasas unidas a la membrana.

Estos nucleótidos actúan sinérgicamente con algunas hormonas como glucacón para activar la adenil ciclasa y su acción permanece después de lavados en que se extraería tanto la hormona como el nucleótido (110).

Recientemente (35) se ha aportado la presencia en la membrana de una GTPasa estimulada BETA adrenérgicamente que es capaz de convertir el GTP a GDP y éste una vez disociado del sitio de unión a adenil ciclasa retorna la actividad de la enzima a su nivel basal. El análogo de GTP, Gpp (NH)p es usado experimentalmente y produce estimulación de adenil ciclasa, pero éste no es degradado por la GTPasa.

SEGUNDO MENSAJERO

El concepto "segundo mensajero" (165) sugiere que muchas hormonas afectan a su célula diana por interacturar con unión a receptores localizados sobre la superficie celular. En respuesta a la ocupación del receptor es estimulada la —

CLASIFICACION DE RECEPTORES ADRENERGICOS BASADO EN ORDEN DE POTENCIA DE AGONISTAS Y ANTAGONIS-
TAG

TIPOS DE RECEPTOR

	ALFA	BETA 1	BETA 2	DOPAMINA
Agonistas	NA > A > D > I	I > A > NA > D	I > A >> NA > D	D > EN > APO
Antagonistas	Fenoxibenzamina Fentolamina m Alcaloides Ergotaminicos	Propanolol Diclorisoproterenol Alprenolol Practolol	Propanolol Diclorisoprote renol Alprenolol Butoxamina	Haloperidol Fenotiazinas Pimozide Bulbocapnina

NA, noradrenalina; A, adrenalina; D, dopamina; I, isoproterenol;

EN, epinina; APO, apomorfina.

Tomado de Michael L. Steer. Clinics in Endocrinology and Metabolism.

(November 1.977).

TABLA 1

adenil ciclase situada en la zona citoplasmica de la membrana y es formada AMP ciclico a partir del ATP. El AMP es segregado en el citoplasma y altera la función celular. Este AMP ciclico sería el segundo mensajero. Activaría el AMP a ciertas proteinkinases que son enzimas contenedoras de dos subunidades especificas : una regulatoria y otra catalítica. Cuando ambas subunidades están acopladas la enzima está inactiva. La unión del AMPa a la unidad regulatoria deja libre la catalítica que es activada. Se cataliza la fosforilización de enzimas en ciertos pasos metabólicos y resulta en aceleración o inhibición de esos caminos (163).

BETA RECEPTORES

Usando 3H propanolol para fijar los Beta receptores y desplazando luego éste propanolol fijado a los lugares Beta al añadirle catecolaminas servía para cuantificar los receptores (8) que serían de, en el caso de eritrocitos de pavo, unos 600 por célula.

Recientemente se ha mostrado que el número de recep

tores Beta adrenérgicos era modulado por cambios en el medio ambiente. Lefkowitz por ejemplo notaba que la administración de catecolaminas a ranas tanto como la incubación de eritrocitos de rana o membranas plasmáticas de eritrocitos con catecolaminas producía una pérdida de receptores Beta y se asociaba con un declinar de la actividad de adenil ciclase estimulada por catecolaminas (111). También la adrenalectomía en ratas hacía aumentar el número de receptores B en sus células hepáticas y se incrementaba la respuesta de adenil ciclase en esas células al producir estimulación Beta. Esos cambios se frenaban al añadir cortisol (190).

La unión de la hormona a la superficie de la célula en los receptores Beta y la estimulación del AMP cíclico en la parte citoplásmica de la membrana llevó a pensar en otros componentes distintos del Beta receptor y de la adenil ciclase que intervendrían en las biomembranas. Levey observó (113) que tratando las membranas portadores de adenil ciclase sensible a hormona con detergentes no iónicos resultaba en solubilización hacia una adenil ciclase no sensible a hormona. -

La sensibilidad a la hormona se recuperaba añadiendo fosfolípidos. También se vió que la fosfolipasa usada para tratar - células hepáticas inhibían de igual forma la sensibilidad de adenil ciclasa a la estimulación por glucagon y éste efecto se normalizaba nuevamente añadiendo fosfolípidos específicos de membrana (150).

Igualmente manipulando los lípidos de membrana por introducción de una variedad de ácidos grasos se notaba que algunos de ellos aumentaban la actividad de adenil ciclasa - al estímulo hormonal, especialmente en bajas temperaturas, y también aumentaban la activación enzimática por análogos de nucleótidos de guanina, Gpp (NH)p.

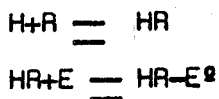
Concluían sus estudios con que ácidos grasos y fosfolípidos de membrana actúan facilitando la introducción de nucleótidos de guanina por hormonas a sus sitios de unión regulatorios de adenil ciclasa (147).

Sería pues independiente el Beta receptor y la adenil ciclasa dentro de la membrana del plasma.

RECEPTOR MOVIL

Se reconoce ahora que las biomembranas existen en un estado relativamente fluido y que algunos constituyentes de membranas son libres para emigrar lateralmente dentro del plano de la membrana.

Según esta teoría el receptor y la adenil ciclasa chocan repetidamente, en una forma que depende de la concentración del receptor, las unidades de enzima, la temperatura del medio ambiente y la relativa fluidez de la membrana misma. De acuerdo a esta hipótesis el receptor que es ocupado por una hormona adquiere especificidad y afinidad para la formación de complejos con la unidad de enzima, y este proceso a doble escalón se podría escribir



H es la hormona, R es el receptor, HR el receptor ocupado por hormona y E la enzima adenil ciclasa, siendo E^o la forma activa. Algunas hormonas facilitan el paso a la forma activa y otras a la forma inactiva (75) y que agentes estimulantes

tales como hormonas, cationes o nucleótidos de guanina preferentemente estabilizan la forma activada de adenil ciclase.

RECEPTOR DOPAMINERGICOS

La dopamina se pensaba era un débil agonista Alfa y Beta adrenérgico.

Se vió que bajos niveles de dopamina descendían la resistencia vascular renal y ésta respuesta no era bloqueada por clásicos antagonistas Alfa y Beta adrenérgicos como fenoxibenzamina y propanolol. La vasodilatación en los lechos — vasculares renales, mesentéricos y cerebrales ha sido posteriormente estudiada y se establecía un orden de actuación de drogas productoras de éste efecto según su potencia en dopamina 6 propinolaporfina -10-12 diol apomorfina. Este vasodilatación es bloqueada por haloperidol, butirofenonas, fenotiacinas y bulbocaprina pero no por los clásicos agentes - Alfa y Beta bloqueantes (69). Además de estimular la vasodilatación se sabe ya la función de dopamina como neurotransmisor en ciertas áreas del sistema nervioso. Hay caminos dopaminérg

gicos conectando la sustancia negra al núcleo caudado y putamen y la degeneración de esos tractos es asociada con enfermedad de Parkinson (90). Se aisló un sistema dopaminérgico - en el ganglio simpático superior cervical de conejo (73).

La estimulación de fibras preganglionicas ayuda a secreción de acetilcolina la cual causa despolarización de neuronas gangliónicas. Sin embargo la acetilcolina segregada aparentemente también estimula las neuronas para segregar dopamina, y ésta a su vez induce una prolongada hiperpolarización de las neuronas gangliónicas.

Greengard y colaboradores (73) han mostrado que — esos efectos se hacen a través del AMP cíclico y que la hiperpolarización es un estado alterado de la fosforilización de membrana motivada por la estimulación de AMPc, también ha sido encontrada adenil ciclasa sensible a dopamina en varias — áreas del cerebro incluyendo ganglios basales y con una distribución similar a las neuronas contenedoras de dopamina (90). La observación de que los precursores de dopamina como L-Dopa tienen éxito en el tratamiento del Parkinson. Que los

agentes Alfa y Beta bloqueantes no tienen función potenciada ni inhibidora y que drogas antipsicóticas como fenotiacinas, butirofenonas inhibidoras de la adenil ciclasa estimulada por la dopamina producen a veces síntomas parkinsonianos, apoya la idea de un sistema dopaminérgico presente en núcleos de la base y que funciona en forma sobreactiva en casos de psicosis.

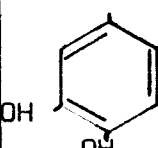
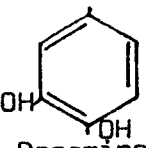
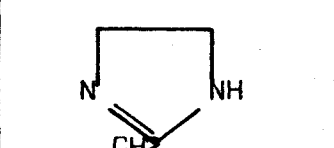
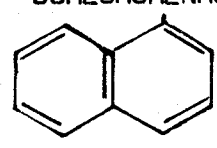
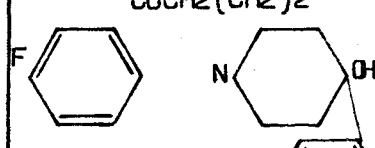
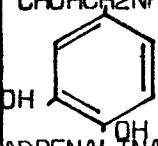
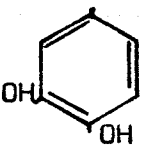
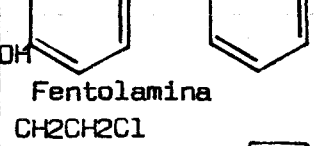
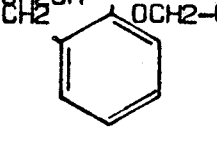
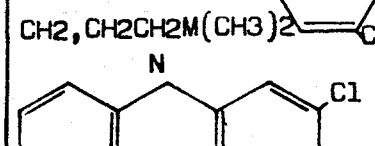
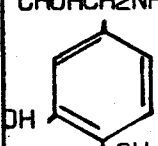

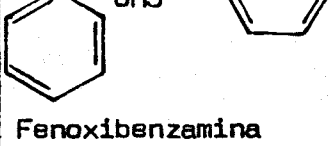
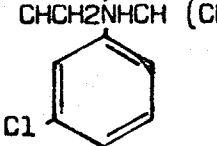
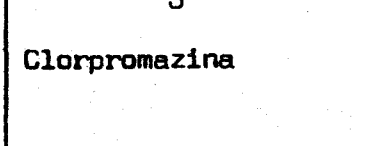
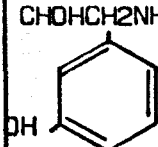
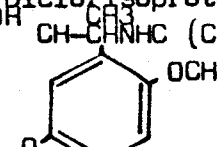
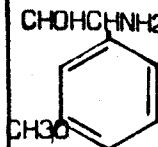
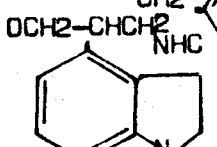
ALFA RECEPTORES

Se cree que residen en la superficie celular, igual que los Beta y los receptores dopaminérgicos. Se cree también que hay un segundo mensajero para los procesos de Alfa estimulación. Se ha sugerido que se produce tras su estimulación una inhibición de la adenil ciclasa o una estimulación de AMP cíclico fosfodiesterasa y que los procesos mediados a su través disminuyen la concentración de AMP cíclico. También se ha dicho que tendrían un papel aumentando la entrada de Ca^{2+} , que éste sería el 2º mensajero o que estimularía la enzima guanil ciclasa y que sus procesos serían mediados por

GMP formado por la enzima desde GTP.

Del AMPc se han comprobado disminuciones en sus niveles tras estimulación Alfa en plaquetas, pulmón, adipocitos y músculos liso (4), pero éste efecto podría producirse por dos mecanismos: inhibición de adenil ciclasa o activación de fosfodiesterasa que degrada el AMPc. Hay más apoyo a la 1ª hipótesis porque se han aislado bajos niveles sobre la basal o sobre la adenil ciclasa previamente estimulada cuando se le añaden Alfa agonistas. No se han observado cambios en la fosfodiesterasa.+

El Ca^{2+} también ha sido implicado. Tras estimulación Alfa aumentaría la permeabilidad de membrana para el Ca^{2+} . - Este concepto se basa en que es necesaria la presencia de Ca^{2+} extracelular para que se produzcan la mayoría de efectos de la estimulación Alfa y que esto no sucede si hay ausencia de Ca^{2+} o si se añaden agentes quelantes como EDTA (202). - Schramm y Selinger, dicen que es un exceso de Ca^{2+} intracito_{plásmico} el que media los procesos de estimulación Alfa aunque los mecanismos por el que se media ese aumento de Ca^{2+} -

AGONISTAS		ANTAGONISTAS		
Alfa y Beta	Dopaminergicos	Alfa	Beta	Dopaminergicos
$\text{CHOHCH}_2\text{NH}_2$  Noradrenalina $\text{CHOHCH}_2\text{NHCH}_3$	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$  Dopamina	 Fentolamina	$\text{OCH}_2\text{CHCH}_2\text{NHCH}(\text{CH}_3)_2$  Propanolol	$\text{COCH}_2(\text{CH}_2)_2$  Haloperidol
 ADRENALINA $(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_3$  Epinina	 Fenoxibenzamina	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2)\text{OCH}_2\text{CHCH}_2\text{NH}(\text{CH}_3)_2$  Alprenolol	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$  Clorpromazina
$\text{CHOHCH}_2\text{NHCH}_3$  Isoproterenol	 Apomorfina	 Azapetina	$\text{CHCH}_2\text{NHCH}(\text{CH}_3)_2$  Diclorisoproterenol	 Bulbocaprina
$\text{CHOHCH}_2\text{NHCH}_3$  Fenilefrina			$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{NHCH}(\text{CH}_3)_2$  Butoxamina	
CHOHCHNH_2  Metoxamina			$\text{OCH}_2\text{CHCH}_2\text{NHC}(\text{CH}_3)_2$  Hidroxabenzolpindolol	

son desconocidos. El receptor podría estar unido a un paso - para el Ca^{2+} y su estimulación abriría este poro y facilitaría la entrada de Ca^{2+} . También pudiera ser que el Alfa receptor estuviera unido a un mecanismo de bombeo de Ca^{2+} y su estimulación resultaría en inhibición directa de ésta bomba. - La última hipótesis es que la Alfa estimulación podría resultar en cambios localizados o generalizados de la membrana y estos los cuales causarían secreción de trozos de membrana unida a Ca^{2+} dentro del espacio citoplásmico.

El tercer mediador propuesto es el GMP cíclico generado desde GTP por la enzima guanil ciclasa y que estaría en vuelto en el efecto de estimulación sobre receptores Alfa - (77).

Los niveles celulares de GMP aumentan con estimulación colinérgica o Alfa adrenérgica (69). Se ha observado que simultáneamente al aumento de GMPc disminuye el AMPc (69). Aunque en algunos casos se ha descrito un aumento de AMPc, - el cual, cuando ocurre, es bloqueado por antagonistas Beta - adrenérgicos mientras que el aumento de GMPc solamente se -

bloquea por antagonistas Alfa adrenérgicos.

No se ha conseguido ver guanil ciclase activada en sistemas celulares rotos tras estimulación Alfa . Tampoco — hay evidencia de la presencia de ésta enzima dentro de la membrana de la célula. Esto va en contra de que sea este el segundo mensajero en los procesos Alfa adrenérgicos. El amento en GMPc podría ser un proceso estimulado por la entrada — del CA_{2+} (189).

La hipótesis mas sólida parece ser la de que el — CA_{2+} actúe como segundo mensajero y el aumento en GMPc o la caída en AMPc sea producido por el mismo CA_{2+} al inhibir la adenil ciclase o estimular la AMP fosfodiesterasa.

EFFECTOS METABOLICOS DE CATECOLAMINAS

Influencian el metabolismo celular en la mayoría de los tejidos. En general favorecen el aporte de sustrato para consumo local; y estimulan la movilización de sustancias enérgeticas almacenadas en hígado, tejido adiposo y músculo esquelético.

El efecto predominante de las catecolaminas es la - activación de enzimas previamente sintetizadas y la inactivación de otras; glucogeno fosforilasa, triglicérido lipasa y glucosa 6 fosfatasa son activadas por catecolaminas y la glucogenu sintetasa es inactivada. Suprimen también la secrección de insulina y estimulan la de glucagon los cuales a su vez también tienen efectos sobre los sbstratos, similares a los que tienen las catecolaminas.

Este sistema de regulación provee una respuesta rápida a las demandas agudas.

EFFECTOS METABOLICOS SOBRE EL HIGADO

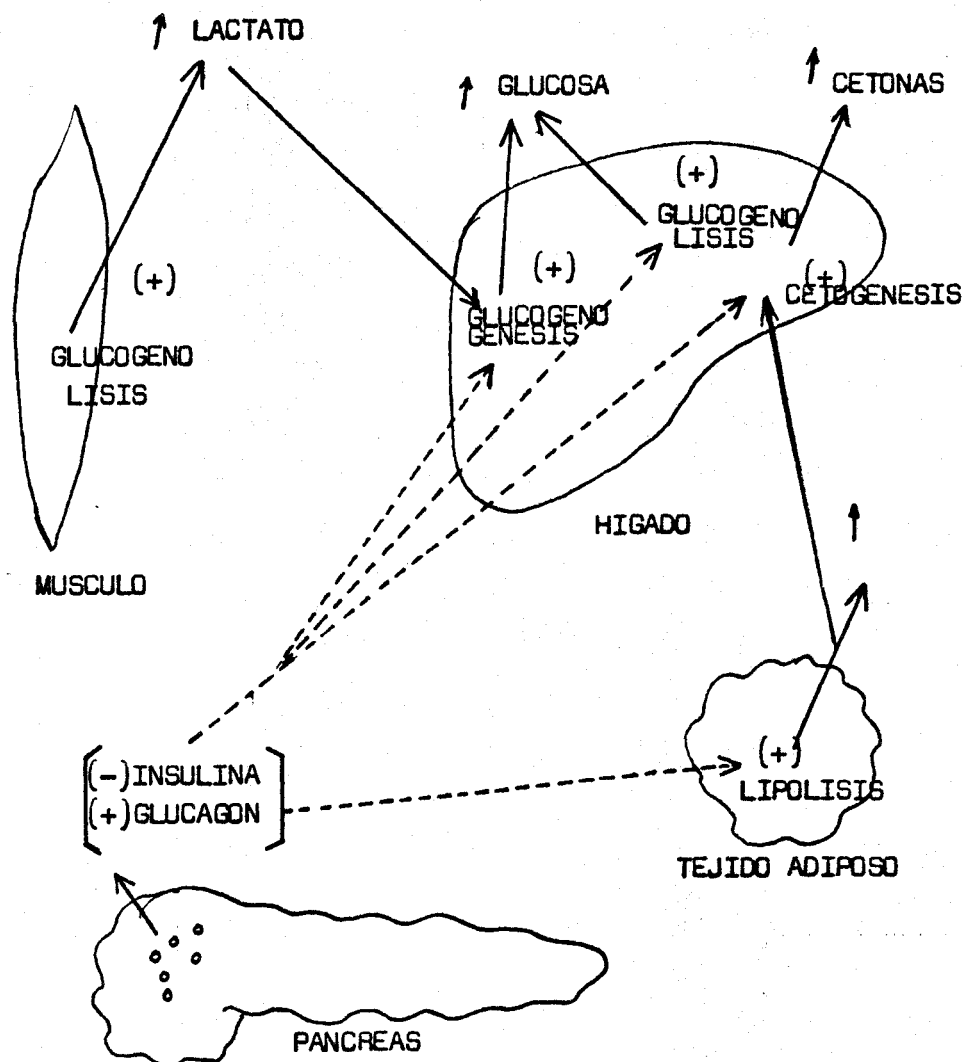
El hígado tiene unas 1.300 k.cal, almacenadas en forma de glucógeno, triglicéridos y proteínas, fácilmente movilizables (33). Esta energía no es suficiente para el gasto basal de un día, pero sirven para rápida utilización en respuesta a aumentados requerimientos de energía. Las catecolaminas inducen cambios rápidos en esos almacenamientos.

Adrenalina y noradrenalina aumentan la glucogenolisis por estimulación de los receptores Beta, adenil ciclasa y glucógeno fosforilasa. Simultaneamente inhiben la glucógeno sintetasa. Tambien parece que aumentan la lipolisis a través de la adenil ciclasa, pero esto no tiene significado cuantitativo en aumento de ácidos grasos libres. Tambien la proteolisis es estimulada por un mecanismo no conocido y no parece ser cuantitativamente muy valorable.

En el glucógeno rompe las moléculas almacenadas y además estimula al hígado a aumentar su producción desde otros precursores pués la gluconeogénesis desde lactato y aminoácidos endógenos está aumentada. En este caso el mediador no parece ser el AMPc como en la glucogenolisis sino el GMPc (96).

Se acelera la cetogénesis en el hígado por liberación de ácidos grasos libres desde almacenamientos periféricos, como tejido adiposo, pero tambien, probablemente, hay un efecto directo en promover la producción de cetona en el hígado y además inhibir la secrección de triglicéridos hepáticos (83). No se sabe bien si activa el catabolismo de proteínas

FIG. 4



Según James B Joung, Clinics in Endocrinology and Metabolism.
(November 1.977).

para proporcionar aminoácidos para gluconeogénesis.

Se discute si son las catecolaminas circulante o las segregadas localmente por el sistema nervioso simpático las que actúan en el hígado. Hay aumentados niveles de noradrenalina en venas hepáticas por 1-2 ugr/ml sobre los niveles arteriales o de la vena porta (52), la estimulación de nervios simpáticos espláncnicos aumenta la actividad de glucógeno fosforilasa y glucosa 6 fosfetasa (168). También la concentración mínima de catecolaminas para producir en hígados de rata perfundidos glucogenolisis es 2.000 veces mayor que los niveles existentes en el hombre (169). Esto va a favor de una secreción local de catecolaminas.

El flujo sanguíneo en arteria hepática o vena porta se reducía en un 50% tras estimular los nervios simpáticos - espláncnicos o infundiendo adrenalina y noradrenalina (84). Este efecto desaparecía al infundir glucagon (155). La secreción aumentada de ésta hormona podría servir no solo para modificar el metabolismo hepático, sino para prevenir la disminución del flujo sanguíneo hepático tras estimular el sistema

simpato-adrenal.

TEJIDO ADIPOSO.— Contiene de 100.000 a 150.000 k.cal de — energía almacenada como grasa con escasa cantidad de glucógno y proteínas movilizables (33). El aumento en la lipolisis y la secrección aumentada de ácidos grasos y glicerol parece estar motivada porque las catecolaminas convierten la forma inactiva de la triglicérido lipasa en forma activa. Este — efecto es mediado por estímulo Beta 1 pero no es tan bien conocido como la activación de glucógeno fosforilasa en el hígado (83). Los niveles de AMPc no correlacionan bien con la inducción efectuada por las catecolaminas y deben intervenir otros factores como GMPc(36). Las catecolaminas también aumentan la glucogenolisis, glucolisis y oxidación de glucosa (53). Descienden la síntesis de proteínas intracelulares y aumenta la reesterificación de ácidos grasos libres a triglicéridos (83y53), aunque esto último parece ser cuantitativamente escaso. Disminuye también el flujo sanguíneo al tejido adiposo y ésto no parece afectar la lipolisis pero al dismi-

nuir la albúmina, que es el principal transporte de los ácidos grasos, sí podría hacer que estos se resinteticen a triglicéridos (28).

Haciendo estimulación eléctrica de nervios simpáticos se ha visto una aumentada secreción de ácidos grasos y glicerol (141). Los nervios simpáticos inervan ricamente a los adipocitos. Sin embargo las concentraciones de catecolaminas circulantes necesarias para estimular la lipólisis son mucho más altas que los niveles existentes in vivo (28). Esto va a favor de un efecto mediado por las catecolaminas segregadas localmente.

M U S C U L O.- Contiene almacenadas unas 1.200 k.cal como glucógeno, 24.000 k.cal como proteínas movilizables y 450 k.cal como grasa (33).

Esas reservas son principalmente para uso local durante el ejercicio. Las catecolaminas inducen muchos cambios que facilitan el uso de energía para función muscular (83).

Estimulan la glucogenólisis y lipólisis en el múscuo

lo al mismo tiempo que es frenada la síntesis de glucógeno. Activación de β receptores y aumentando el AMPc intracelular parece ser el mecanismo de glucogenólisis; pero el gobierno de los lípidos es menos conocido (83). Como consecuencia de la aumentada glucosa desde glucógenólisis y la descendida - síntesis de glucógeno aumenta la producción de lactato (13). Este lactato sirve en el hígado como precursor para la síntesis de glucosa.

Las catecolaminas también disminuyen la captación - de glucosa por las células musculares y éste mecanismo, no - bien conocido, no parece estar mediado por la disminuida secreción de insulina (2). Recientemente se ha mostrado que la adrenalina y noradrenalina inhiben la proteólisis y reducen la secreción de alanina y glutamina por un mecanismo de Beta receptores (66). Este efecto se vió en un sistema in vitro y la adrenalina es 100 a 1000 veces más potente que la - noradrenalina en reducir la secreción de alanina y glutamina.

La inervación simpática difiere de unos a otros músculos. El músculo cardíaco está muy inervado y contiene apro

ximadamente 1 mg. de noradrenalina por gramo de tejido (87). Probablemente la actividad simpática en el corazón sirve para coordinar la actividad cardíaca con las necesidades metabólicas de otros tejidos (83). El músculo liso también está muy innervado pero no están muy estudiados los efectos de las catecolaminas, aparte de producir vasoconstrucción o relajación (83). El músculo esquelético contiene bajos niveles de noradrenalina comparado a otros tejidos siendo del orden de 50 ng/gr de tejido (87). El efecto de estimulación simpática podría afectar al músculo modificando el flujo sanguíneo, según que éste sea mayor o menor, y aquí podrían tener un papel las catecolaminas circulantes procedentes de la médula adrenal mayor a la procedente de los nervios simpáticos más bien distribuidos en las paredes del árbol arterial.

RELACION DE CATECOLAMINAS CON OTRAS HORMONAS.

REINA.- Se ha demostrado una rica innervación por microscopio electrónico y por técnicas de fluorescencia histoquímica en las paredes de arterias glomerulares aferentes y eferentes

especialmente aquellas que tienen un aparato yuxtaglomerular próximo (21).

En la porción de mácula densa del aparato yuxtaglomerular se ha observado conexiones neurales. Se ha visto más rica inervación simpática en animales de postura erecta, como monos, que en animales de cuatro patas como ratas (21). Con técnicas de órganos en perfusión aislados, se ha visto que la respuesta de renina es estimulada con agentes simpaticomiméticos, Beta B agonistas, y ésta secreción era abolida por los B bloqueantes (propranolol) (178). La perfusión con noradrenalina de riñones aislados podía o no aumentar la secreción de renina pero la estimulaba claramente al añadir Alfa bloqueantes. (179). La hemodinámica intrarrenal está alterada en estas preparaciones in vitro en sentido de aumentada presión de perfusión renal y los Alfa bloqueantes podrían tener un efecto inhibitorio sobre la presión de perfusión mas que sobre la renina misma.

También se estimula la renina con la administración de tiramina un simpaticomimético indirecto que estimula la -

secrección de noradrenalina desde las terminaciones nerviosas simpáticas (6). Esta respuesta es bloqueada por propanobol o cocaína. Este por prevenir la captación de tiramina al interior de las terminaciones nerviosas. Hay evidencia de que la renina se estimula por un mecanismo de Beta receptores. - Esto también se ha comprobado in vivo estimulando nervios - simpáticos renales.

En un riñón no filtrante y en el que se excluye el receptor para el sodio en la mácula densa, la estimulación - eléctrica de nervios simpáticos renales lleva a aumento de - secrección de renina y la vasoconstricción se previene si se añade un vasodilatador simultaneamente (31).

La renina se modifica también por concentraciones - de Na en el tubulo distal, presión de perfusión, y concentraciones de Angiotensina II en sangre periférica.

La depleción crónica de sodio eleva los niveles de renina, sin que requiera un sistema nervioso simpático intacto, sin embargo la actividad simpática renal probablemente -

aumenta, más aún la secreción de renina en situaciones de depleción de sodio.

El uso crónico de diuréticos y la depleción crónica de sodio producen un aumento en los niveles de renina que no son abolidos por propanolol (92). También las depleciones agudas de sodio y las reducciones agudas de la presión de perfusión renal ocasionado por hemorragia, agentes vasodilatadores periféricos y cambios hemodinámicos ortostáticos aumentan la secreción de renina. En estos casos es más marcable la acción del sistema simpático y se ha comprobado que el aumento de actividad de renina producido por una inyección de furosamida, es muy reducido por uso de Beta bloqueantes (102), mientras el uso crónico de diuréticos produce un aumento de renina que no se frena por cuatro semanas de uso de propanolol oral (160 mg/día) (92).

La postura en bipedestación produce un aumento en la secreción de renina que es abolido completamente con propanolol (112). Todo esto indica una contribución de la actividad simpática aunque sin descontar el papel de las catecolaminas

circulantes procedentes de la médula adrenal.

También se ha visto un aumento en la actividad de renina en las hipoglucemias y éste efecto es abolido por adrenalectomia (148). El bloqueo Beta evita el aumento de renina en las hipoglucemias pero con un aumento de la adrenalina en plasma (96). El efecto sobre secrección de renina parece en éste caso mediado por catecolaminas circulantes que por actividad simpática.

INSULINA Y GLUCAGON

La inervación del páncreas endocrino y sus tipos de células A, B, y D se hace por los sistemas simpático y parasimpático.

Con piezas de pancreas aisladas y en presencia de adrenalina y glucosa a diversas concentraciones descendia la secrección de insulina y aumentaba la de glucagón comparada a incubaciones control sin adrenalina (109). Las perfusiones con adrenalina y noradrenalina estimulan los B receptores y median así el aumento inmediato de insulina y glucagon, pero

tambien estimulan los Alfa receptores que producen supresión de insulina y éste efecto predomina sobre el estímulo Beta a la larga aunque transitoriamente hay un aumento de efecto - Beta sobre ambas hormonas: imponiendose la inhibición de in sulina y estímulo de glucagón (89).

La estimulación de nervios espláncnicos en perros, - gatos y conejos se asocia con una respuesta de insulina descendida a infusiones de glucosa si son simultaneamente bloqueados los efectos colinérgicos con atropina. Si no se bloquea el efecto colinérgico aumentan los niveles de insulina indicando el papel del sistema parasimpáticos sobre su secrección (30y152).

El mismo efecto de supresión de insulina y estimulación de glucagón tambien se logra por choques eléctricos sobre el hipotálamo ventromedial (62).

Infusiones periféricas de antagonistas de Alfa receptores y la adrenalectomia abolian la supresión de insulina pero la adrenalectomia no prevenia los aumentos de glucagon (62).

Esto apoya a que tanto el sistema nervioso simpático como — las catecolaminas circulantes actúan sobre el páncreas endocrino.

G A S T R I N A

Estudios anatómicos han demostrado fibras adrenérgicas en las capas mucosa y submucosa de duodeno de rata, además de una rica red perivascular. Ha sido observada la penetración de fibras a la superficie del epitelio y la mayoría parecen ramificarse en la superficie basal del epitelio glandular. Hay presencia de fibras en la vecindad de células G - secretoras de gastrina.

La estimulación de ramas terminales de los nervios esplacnicos en gatos anestesiados separando quirúrgicamente las porciones gástricas secretoras de ácido de las secretoras de gastrina da reducción significativa de ácidos y de gastrina (29). También se deprime el flujo sanguíneo de la mucosa. No se sabe bien si la respuesta a la estimulación nerviosa es por la disminución del flujo o por estímulo directo -

simpático sobre la secreción de gastrina o ácido.

Infusiones de adrenalina (250 μ g. a 4.000 ng/kg/-min), aumentan los niveles de gastrina y la respuesta máxima se obtiene con 1.000 ng/kg/min (78).

Infusiones de noradrenalina en una media de 5 ng/kg/min. se acompañan de aumento significativo de gastrina sin cambios observables en la acidez. En dosis altas de 50 ng/kg/min. la gastrina no aumenta y la acidez se reduce significativamente (42).

Parece que el mecanismo de acción de las catecolaminas es por estimulación de receptores Beta.

T I R O I D E S

Tiene abundante inervación perivascular y con nuevas técnicas de histoquímica fluorescente y microscopía electrónica se ha visto que los folículos tiroideos reciben inervación simpática.

La inervación es muy variable de unos animales a -

otros y la simpatectomía química o quirúrgica abolía completamente la fluorescencia adrenérgica específica (126/127). El microscopio electrónico ha mostrado que la inervación termina en la membrana basal del folículo y hay de una a tres terminaciones por cada folículo (172).

Con preparaciones de tiroides aisladas se ha visto que la adrenalina aumenta la acumulación de iodo y la organización y síntesis de iodotironina. Este efecto es prevenido por bloque Alfa pero no por bloque Beta (122). También — está aumentada la secrección de triiodotironina y tiroxina.

La estimulación de nervios simpáticos aumenta la formación de coloide intracelular y hay un aumento en radioiodo sanguíneo después de marcar y contabilizar el radioiodo intratiroideo (125). En contraste la simpatectomía química o quirúrgica hace caer los niveles del radioiodo sanguíneo uno o dos días, pero vuelve a lo normal por un posible aumento compensatorio en la estimulación por TSH (127).

Los agentes estimulantes Beta tienen efectos iguales a las catecolaminas y ésta respuesta es prevenida por bloqueo

Beta pero no por bloque Alfa (128).

C A L C I T O N I N A

Es producida por células C parafoliculares de la glándula tiroides y segregada según la concentración del calcio en suero y para bajar los niveles del mismo.

No se ha podido demostrar evidencia de inervación simpática en estas células C.

Las incubaciones de cortes de tiroides con dibutilil AMPc, teofilina o isoproterenol aumentan la secreción de calcitonina en el medio (23).

Las perfusiones de adrenalina no estimulaban la secreción al plasma de calcitonina, pero si lo hacen cuando se combinan con bloqueo Alfa adrenérgico (22) y dejan de estimular si se añaden Beta bloqueantes.

P A R A T H O R M O N A

Al igual que la calcitonina es regulada primariamente por las concentraciones de calcio sérica.

Parece ser regulada por el nivel intracelular de AMPc y por estímulo de receptores Beta (104). Las infusiones simultaneas de calcio con adrenalina abolian el aumento de PTH que se ve administrando adrenalina sola (57) y la administración de agonistas Beta aumenta tambien los niveles de PTH y no modifican los niveles de Calcio sérico (103).

Hay pues evidencia de un papel de las catecolaminas y del sistema nervioso simpático en la regulación de secreción de PTH. Sin embargo en un estudio hecho sobre 12 feocromocitomas por Miller y colaboradores (130), no hubo aumentos de calcio, calcitonina o niveles de PTH, y solamente en uno había una hiperplasia de la glándula paratiroidea con hipercalcemia y elevada calcitonina (síndrome de Sipple o adenomatosis endocrina múltiple tipo II) pero puede influir algún factor genético distinto de la acción de catecolaminas en éste síndrome.

ERITROPOIETINA

Esta hormona regulada por la PO₂ arterial via adenil

ciclase se ha visto aumentada con las inyecciones de noradrenalina en perros (58). La respuesta con excesiva producción de eritropoietina a la hipoxia es frenada por denervación simpática de el riñón o por bloqueo Beta adrenérgico con antagonistas de la subclase Beta 2 (71y56).

DOPAMINA HIDROXILASA

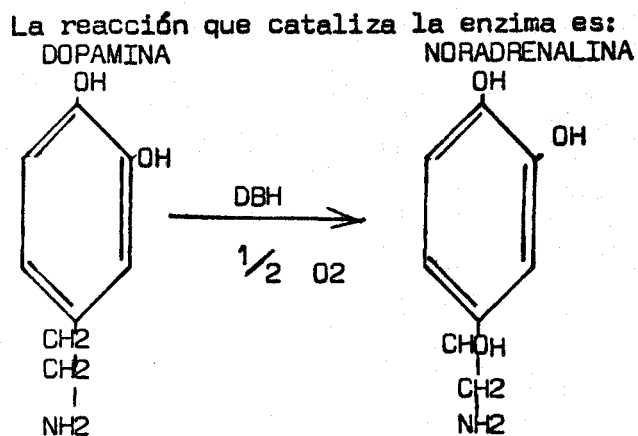
Las oxidasas clásicas catalizan la mayoría de las reacciones oxidativas de el metabolismo intermediario y son en realidad dehidrogenasas que despojan de hidrógenos en forma de hidróxilos y de electrones al sustrato orgánico y los pasan a uno o mas portadores incluido el oxígeno molecular. Desde 1.950 fueron descubiertos nuevos tipos de enzimas que son oxidasas de función mixta y catalizan la inserción de un átomo de oxígeno molecular en el sustrato orgánico y el otro átomo reducido para formar agua. Desde 1.960 en que se purificó la dopamina B hidroxilasa en médula adrenal bovina (114) , comenzó a verse que era una oxidasa de función mixta que requería oxígeno molecular y un donador de electrones para su actuación.

Probando agentes reductores se vió que era necesario ácido ascórbico para la actuación de la enzima. Tambien se encontró que el ATP estimulaba la conversión de dopamina a noradrenalina y añadiendo sistemas generadores de ATP como Alfa cetoglutarato se estimulaba la reacción (Amals 1.976) —

15 — 20 veces (95).

Otros ácidos dicarboxílicos y sales comunes en altas concentraciones se encontró también que eran estimulantes de la hidroxilación (38).

Posteriormente se vió que también se efectuaba la hidroxilación sin presencia de ascórbico y con la enzima purificada. En éste caso el donante de electrones sería el grupo catecol del sustrato mismo pero motivaría una lenta reacción de dopamina a dopamina quinona o 6 hidroxidopamina (3), pero el paso a noradrenalina exige un agente reductor externo.



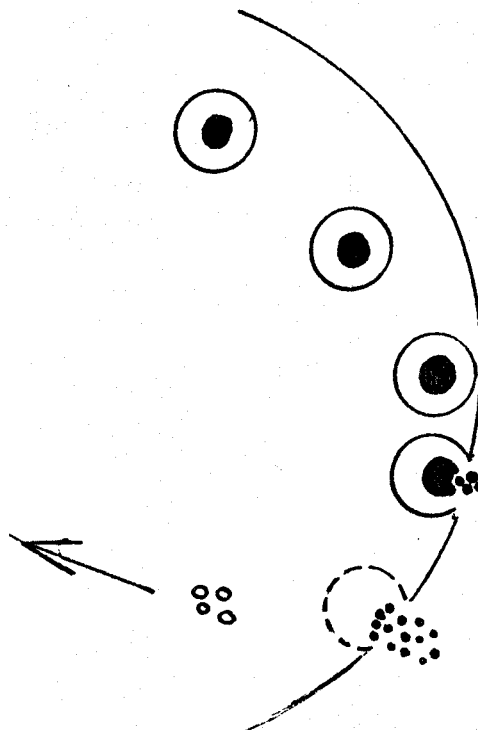
Tiene extensa especificidad de sustrato y cataliza la hidroxilación de feniletilamina y muchos derivados: Tiramina, -epinina (114). Esta no especificidad ha hecho pensar en un ca

mino alterno en la biosíntesis de catecolaminas.

En 1.965 se obtuvo la enzima en forma pura, viéndose que era una proteína compuesta de cuatro subunidades y de peso molecular 290.000 (61). Puede ser disociado en dímeros unidos por puentes disulfuro y en condiciones reductoras se obtienen monómeros de peso molecular 75.000 pero no se conoce si los cuatro monómeros son iguales o diferentes. Sin la presencia del sustrato (dopamina) la enzima es reducida por - ascorbato.

Como la enzima puede ser reducida y acepta electrones se pensó que un ión metálico podría intervenir en la reacción, y se encontró que la enzima contenía grandes cantidades de cobre , 4 a 7 moles por mol de enzima, (se piensa que sirve como aceptador de electrones). El ascorbato reduciría — los iones cúpricos unidos a la proteína a iones cuprosos, los cuales a su vez usan oxígeno molecular para formar producto oxidado y regenerar la forma cúprica (61)

La DBH es segregada por exocitosis y se encuentra almacenada en unas vesículas de 0.2 μ m de diametro que contienen además 20% de catecolaminas , 15% de ATP y 30% de proteínas solubles. El resto son proteínas y lípidos encontrados en la membrana vesicular. La enzima está distribuida entre la vesícula y la membrana. Estas vesículas llenan completamente el citoplasma de las células cromafines y son segregadas al espacio extracelular por exocitosis.



El impulso nervioso presináptico controla tanto en médula adrenal como en terminaciones nerviosas noradrenérgicas la síntesis y secreción de la enzima (181).

NIVELES EN PLASMA DE DBH

Weinshilboum y Axlerod (193) aislaron la enzima en plasma de ratas y veían que la destrucción de terminaciones nerviosas con 6 hidroxidopamina reduce los niveles en plasma mientras la adrenalectomia no presentaba estos efectos. Se aumentaban los niveles sometiendo a las ratas a stress o con estímulos farmacológicos.

La vida media en sangre es larga. Dando bretilio a ratas se causaba una caída brusca en los niveles de catecolaminas en unas 4 horas pero los niveles de DBH no cambian y aún después de varios días de bloqueo gangliónico durante los cuales las catecolaminas permanecen bajas la DBH queda sin cambios.

Algunos bloqueantes de Alfa receptores que aumentan la secreción de catecolaminas también deja sin cambios a la

DBH . Agentes bloqueantes potentes como la clorisondamina — baja los niveles de catecolaminas del plasma aún en los animales que han sido tratados con fenoxibenzamina pero no tienen efecto sobre la dopamina Beta hidroxilasa.

No llevan relación directa las catecolaminas segregadas con la DBH y es porque unicamente se segrega la fracción soluble y no se sabe bien cómo lo hace la parte unida a la membrana.

LOCALIZACION HISTOQUIMICA DE DBH

La enzima ha sido localizada histoquímicamente por inmunofluorescencia (65).

Esta presente en el citoplasma de las células de la médula adrenal. En ganglios celíacos de cobayas . En nervios adrenérgicos y algunos grupos de pequeñas células cromafines entre las células gangliónicas.

La proteína se mueve por los axones de las neuronas simpáticas de forma centrífuga pero también centripeta cómo se demostró inyectando anticuerpos contra DBH en la cámara anterior del ojo de ratas. Pasadas tres horas el anticuerpo

se ve en los nervios adrenérgicos del iris y pasadas 16 horas en neuronas del ganglio cervical superior.

La enzima comienza a estar presente en 7 plasma a partir del año de edad. Se alcanza el máximo entre 20 y 30 años y disminuye ligeramente a partir de 60 años.

Hay evidencia de que los factores genéticos modifican la concentración en plasma de la enzima (196). Es mayor la correlación entre hermanos que entre padre - hijo o madre - hijo y parece que hay una herencia autosómica dominante .

No existen diferencias entre sexos (193) ni entre razas.

Los niveles en una misma persona pueden permanecer igual durante 7 años (105).

La enzima tiene un antagonista potente en el ácido fusárico mucho más que el disulfiram y que los quelantes del cobre. In vitro produce inhibición de DBH a dosis de 10^{-8} M. No tiene efecto sobre tirosina hidroxilasa, monoaminooxidasa o aldehidodehidrogenasa (139). En hombres una dosis oral de 200 a 300 mg reduce la actividad de DBH un 95% y un tratamien

to crónico con 600 mg al día mantiene la enzima un 95% baja (124) . Esto se ha intentado usar como tratamiento para aumentar la dopamina en terminaciones noradrenergicas en algunas enfermedades como mania o psicosis sin que se obtengan buenos resultados.

SISTEMA SIMPATICO EN HIPERTENSION

Clásicamente, el seno carotideo, el arco aórtico y otros grandes vasos son reconocidos como los principales lugares barosensibles en el sistema vascular. Los baroreceptores son activados por distensión vascular local resultando en un aumento en la presión intraarterial. A través de un sistema de fibras aferentes la información es llevada a los centros vasomotor y cardiomodulador de la médula oblongata. Esos centros también son modulados por altos centros integrativos localizados en el hipotálamo, el sistema límbico y el cortex. Los varios impulsos son integrados en los centros cardiovasculares y sirven para mantener continuamente el tono de el -

sistema cardiovascular periférico por la red aferente de las fibras autonómicas. El componente parasimpático eferente está constituido por una red de fibras colinérgicas inhibitorias distribuidas al corazón y a unos pocos territorios vasculares insignificantes hemodinámicamente. En contraste el sistema simpático eferente está más dinámicamente unido a el sistema cardiovascular periférico por un plexo denso de fibras noradrenérgicas excitatorias distribuidas al corazón y a todo el árbol vascular, a excepción de los vasos intracerebrales. — Usando técnicas de histofluorescencia se ha visto que la distribución alcanza una variedad de segmentos vasculares y pequeñas arteriolas (129). Además de ésta red el sistema simpático es también responsable de el control en la secrección — de catecolaminas por la médula adrenal (123). Como el corazón y los vasos sanguíneos contienen receptores específicos para catecolaminas (5), pueden ser influenciados desde las terminaciones nerviosas simpáticas o desde catecolaminas liberadas por la médula adrenal.

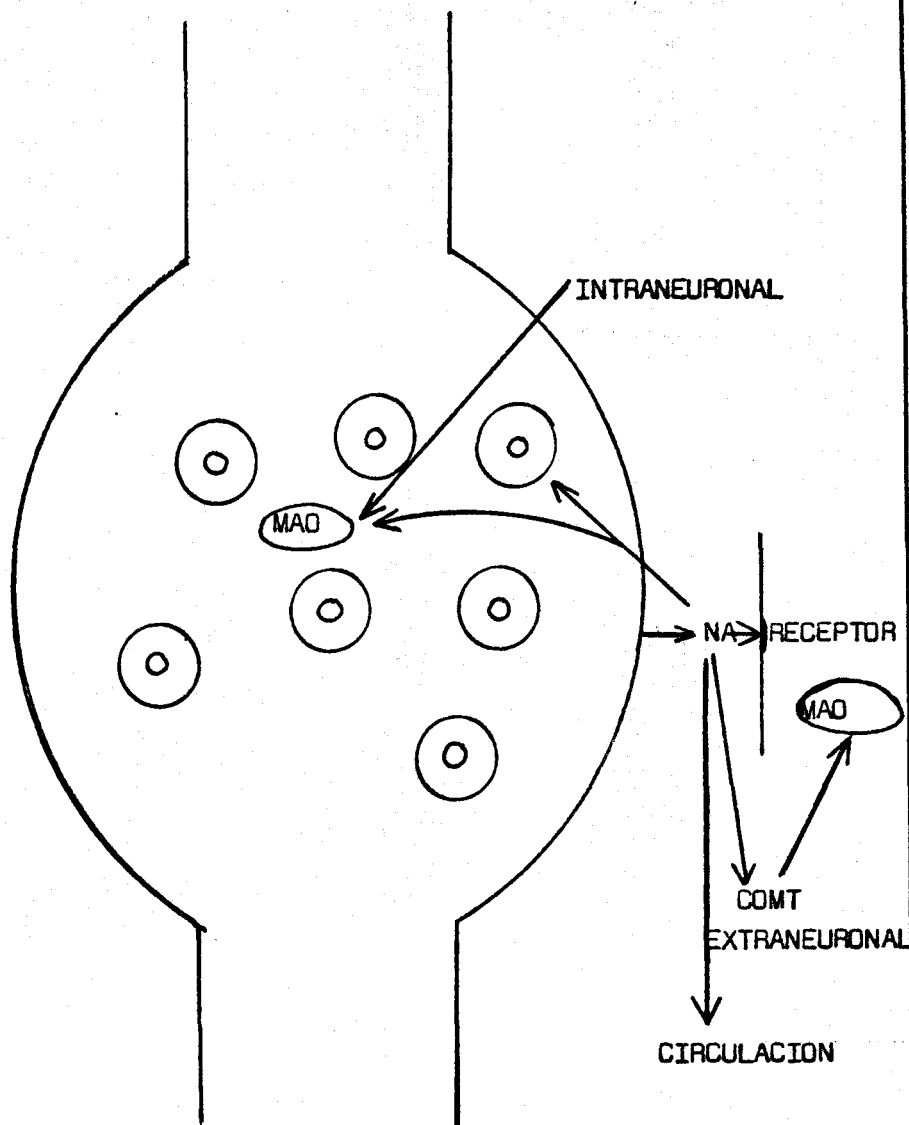
MECANISMOS ADRENERGICOS EN HIPERTENSION EXPERIMENTAL

Han sido demostradas fibras adrenérgicas en los baroreceptores, en el sistema nervioso central, en los centros vasomotores, en el asta intermedio-lateral de la espina dorsal, y en centros cardiovasculares (64) .

En la periferia se han descrito las fibras simpáticas postganglionicas, noradrenérgicas en su mayoría y el mecanismo por el cual es fluenciada la médula adrenal para mantener los niveles de catecolaminas.

En años recientes los estudios de Von Euler y otros han aumentado los conocimientos de los mecanismos adrenérgicos. En la periferia la síntesis de noradrenalina, se hace principalmente en las terminaciones nerviosas con unos escalones enzimáticos, y en la médula adrenal la noradrenalina es convertida principalmente a adrenalina. La secreción desde la médula y las terminaciones nerviosas por exocitosis con todo el contenido soluble de las vesículas, incluida la DBH. El sobreflujo del neurotransmisor pasa a la circulación gene-

FIG. 5



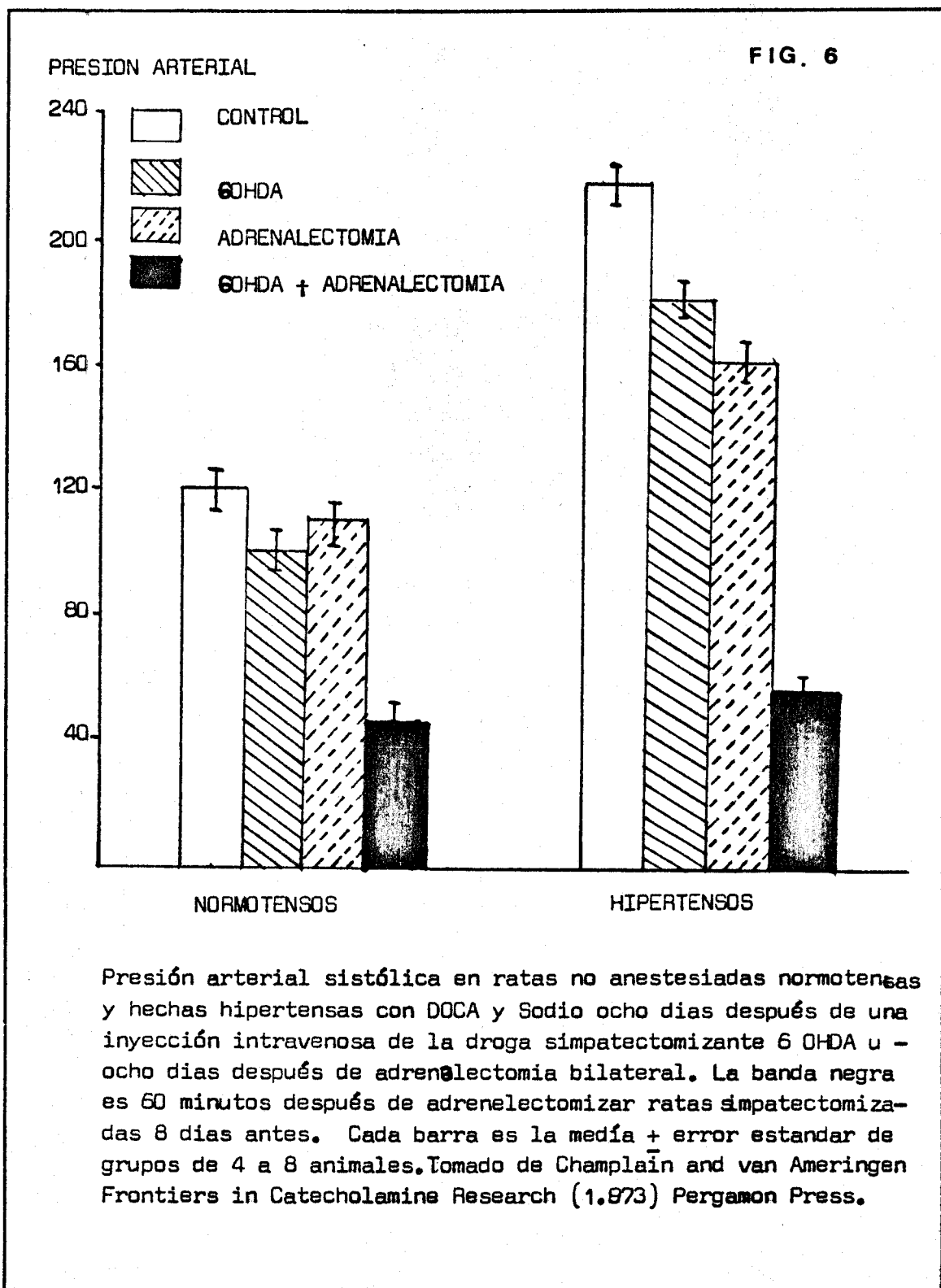
La noradrenalina (NA) actúa sobre el receptor y sigue tres caminos : una parte es captada nuevamente y entra en las vesículas o es inactivada por la MAO. Otra pasa a la circulación y otra al sistema extraneuronal donde es O-metilada y luego desaminada por MAO.

ral y contribuye, con las catecolaminas segregadas desde la médula, a mantener los niveles plásmáticos de esas aminas.

Las catecolaminas circulantes son metabolizadas en su mayor parte por dos enzimas inactivantes: catecol-O- metiltransferasa y monoamino oxidasa antes de ser excretadas en la orina. La mayor parte de la noradrenalina segregada es nuevamente captada por la neurona por un mecanismo ion dependiente.

Las alteraciones en los mecanismos envueltos en la síntesis, almacenamiento, liberación, captación o metabolismo de aminas podría teóricamente cambiar las concentraciones de transmisores en los lugares receptores y la disfunción en el mecanismo adrenérgico en varios puntos del arco reflejo cardiovascular alteraría el control de la presión sanguínea y produciría hipertensión.

En años recientes la 6 hidroxidopamina (6OHDA), sustancia que selectivamente destruye las terminaciones nerviosas simpáticas noradrenérgicas, sin afectar a la médula adre



nal, se ha usado para producir simpatectomia generalizada - (173). En estudios con esa sustancia (47) se ha visto que en condiciones basales las fibras simpáticas son responsables para el mantenimiento de las funciones cardiovasculares, — mientras que la médula adrenal contribuye poco a las mismas, pero puede jugar un papel compensatorio cuando hay una simpatectomia, porque aumenta la secrección de catecolaminas por la médula adrenal, y se mantiene el tono del sistema cardiovascular. Si faltan ambos componentes no se sostienen los niveles para mantener el tono cardiovascular (figura 6). En estudios en ratas hechas hipertensas con administración de DOCA y sodio, tambien se demuestra que el sistema simpático y la médula adrenal mantienen la hipertensión arterial (Fig 6).

COMPONENTE NEUROGENICO EN HIPERTENSION ESENCIAL

Es difícil valorar la actividad simpática en enfermos con hipertensión esencial porque este grupo puede estar constituido por una variedad de enfermedades hasta ahora desconocidas, y además raramente se conoce en su comienzo. La -

actividad simpática alterada podría ser una consecuencia mas de la hipertensión y no su causa. La aumentada reactividad -vascular a catecolaminas tambien ha sido vista con angiotensina en enfermos hipertensos. El patron hemodinámico de la -hipertensión puede ser influenciado por numerosos factores y no solamente por el sistema nervioso simpático.

Solamente por medios indirectos se puede sospechar un cierto tono simpático aumentado en la hipertensión esencial y estos son:

1 CATECOLAMINAS URINARIAS Y METABOLITOS

Las publicaciones hechas hasta 1.964, la mayoría de los estudios sobre la excrección de noradrenalina, adrenalina, ácido vanilmandélico (UMA) y normetanefrinas (NMN) han dado resultados normales cuando el enfermo tenía una hipertensión no motivada por un feocromocitoma.

Estudios posteriores con mejores condiciones en las tomas de muestras usando pacientes sin medicaciones previas y las mejoras en las técnicas daban unos aumentos discretos en pacientes con hipertensión esencial [ver tabla 1].

TABLA 1

EXCRECCION URINARIA DE CATECOLAMINAS Y METABOLITOS EN HIPERTENSOS

CONCLUSIONES

Nº de Estudios

Aumentado

Normal

Disminuido

NA y A

1.947 - 1.964

17

3

10

4

1.964 - 1.970

5

4

1

0

VMA y NMN

1.947 - 1.964

7

1

5

1

1.964 - 1.970

4

3

1

0

Tomado de Champlain en The Nervous System in Arterial Hypertension (1.976)

Los niveles urinarios de catecolaminas miden aquellas que proceden de todas partes del cuerpo . Por el momento no es posible saber cuales son del sistema simpático cardiovascular, de la médula adrenal, de las fibras simpáticas parenquimatosas o del sistema nervioso central. El cambio o aumento en el turnover de noradrenalina en un organo aislado no se reflejaría inmediatamente en la orina por ser diluido en el pool total de catecolaminas.

El 98% de catecolaminas se eliminan en la orina en forma de metabolitos: vanilmandelico y metanefrinas. Se ha demostrado que la noradrenalina segregada por estimulación de nervios es primariamente O-metilada (99).

Sin embargo los medios de evaluación permanecen imprecisos.

CATECOLAMINAS CIRCULANTES

Ultimamente se han introducido técnicas isotópicas enzimáticas muy sensibles y que requieren pequeñas muestras de plasma o suero para determinar catecolaminas y noradrenalina

GRUPOS	NORMOTENSOS		HIPERTENSOS	
	Nº	CA de suero (ng/ml)	Nº	CA de suero (ng/ml)
Ambos sexos				
Población total	24	0.250 ± 0.012	45	0.392 ± 0.023 b
Normoadrenérgicos c			25	0.258 ± 0.010
Hiperadrenérgicos c			20	0.558 ± 0.038 b
Menores de 30 años	12	0.223 ± 0.018	5	0.420 ± 0.068 a
Mayores de 30 años	12	0.274 ± 0.020	40	0.389 ± 0.025 b
Cada sexo				
Hombres	16	0.260 ± 0.017	29	0.393 ± 0.024 b
Mujeres	8	0.226 ± 0.027	16	0.396 ± 0.069 a

a p < 0.05

b p < 0.001

c El grupo normoadrenérgico comprende a los hipertensos con límites normales de catecolaminas y el grupo hiperadrenérgico al que contiene niveles por encima de los normales. Tomado de J. de Chaplain (Clinics in Endocrinology and metabolism, November 1.977).

na (48). Como parte de la noradrenalina segregada por las -
neuronas difunde al plasma, la medición en el suero puede dar
una indicación de la cantidad de noradrenalina fisiológicament
te activa en los sitios del receptor. Se ha demostrado que -
las condiciones que aumentan el tono simpático como por ejemp
plo el paso de supino a bipedestación, ejercicio dinámico y
ejercicio isométrico se asocian con una elevación de cateco-
laminas circulantes en sujetos normales (48,37). Se ha dicho -
tambien que esos cambios serían secundarios a aumentada fre-
cuencia cardiaca o presión sanguínea pero en definitiva sería
a un aumento de actividad simpática.

Hay acuerdo entre los autores en los niveles basa-
les de catecolaminas y noradrenalina en sujetos normales y -
en hipertensos, los valores son reproducibles y no varían de
una semana a otra en un individuo dado si se toma en las mism
as condiciones y en posición supina. Los valores están un -
40% más altos en hipertensos que en normales. Esta diferen-
cia no podría explicarse por sexo o edad, pues permanecen sig-
nificativamente más altos niveles en los hipertensos cuando

son analizados por grupos de sexo o edad. Hay un grupo de hi pertensos, el 60%, que tienen valores en los límites norma— les. Por esto se podrían establecer dos categorías dentro de los hipertensos, la de los que tienen unos niveles altos de catecolaminas (40%) que serían hiperadrenérgicos y las de aquellas que los tienen normales, normoadrenérgicos (48). El grupo hiperadrenérgico tiene una frecuencia cardiaca mas alta significativamente que los grupos normoadrenérgico y normoten— sos (10 latidos por minuto mas elevada), pero no se han en— contrado diferencias en la presión sistólica o diastólica - entre ambos grupos. Mientras la relación entre adrenalina y noradrenalina es de 0.4 A/NA en el grupo normotenso y normoa— drenérgico, se trasforma en 0.8 en el grupo hiperadrenérgico por mayor aumento de adrenalina. Esto posiblemente explique el aumento en la frecuencia cardiaca observada en éste grupo.

El grupo de pacientes hiperadrenérgicos aumentan la reactividad simpática en respuesta a cambios de posición des— de supino a bipedestación. En normotensos el aumento de supi— no a bipedestación es de 0,25 ng/ml o sea doblados los valo—

res de catecolaminas en plasma. En los normoadrenérgicos la respuesta es igual o quizás mas baja pero no significativamente.

En los hiperadrenérgicos la respuesta es más de dos veces la observada en normotensos y normoadrenérgicos (Tabla 3). Esto indica un aumento en la reactividad simpática.

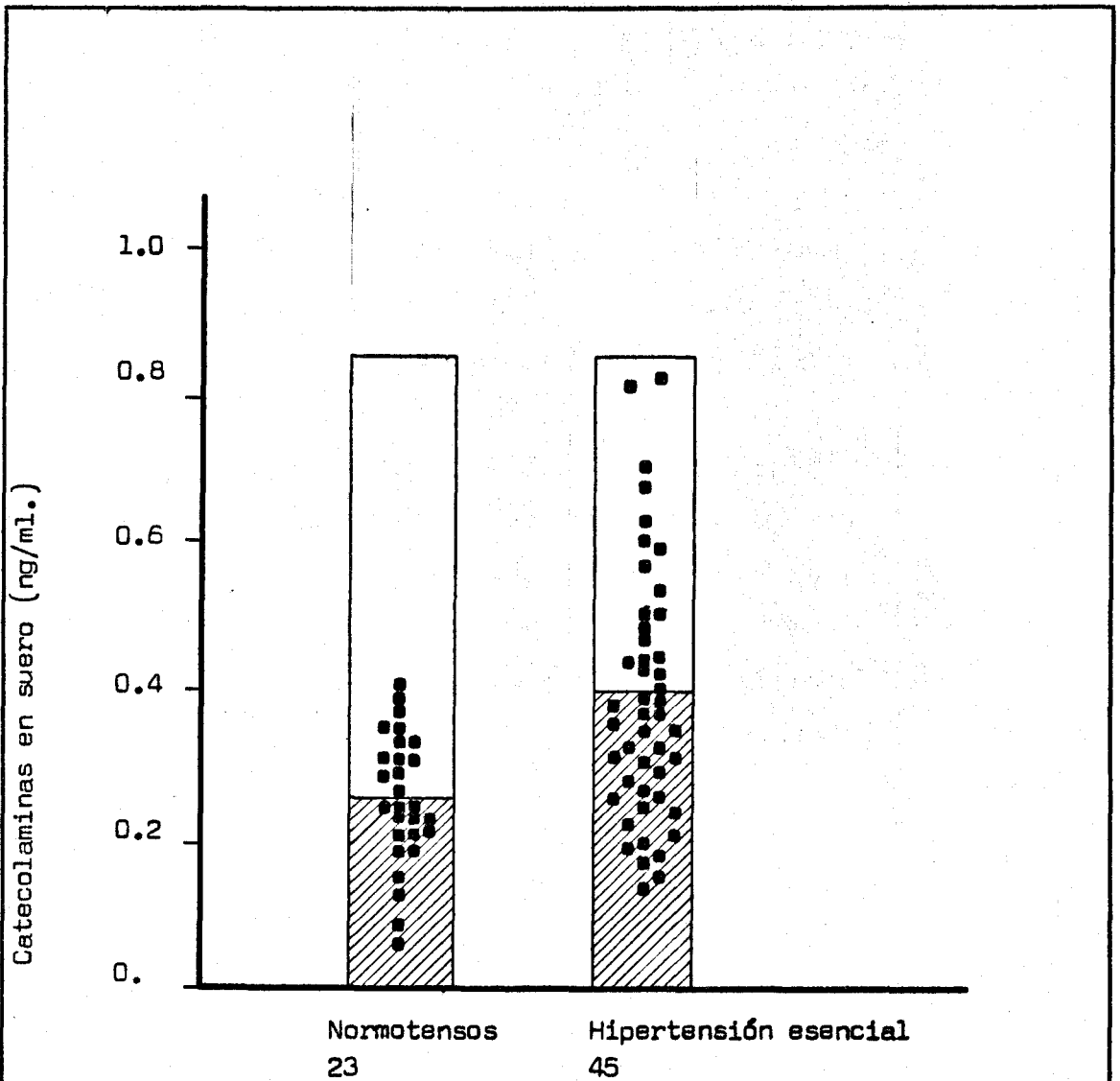
EFFECTO DEL CAMBIO DE POSTURA DESDE SUPINO A BIPEDESTACION

GRUPOS	CATECOLAMINAS CIRCULANTES (ng/ml)		
	Supino (20 min.)	Bipedestación (10 min.)	Aumento (Sup-Biped.)
No tratados			
Normotensos (10)	0.229 ± 0.022	0.480 ± 0.039	0.251 ± 0.040
Normoadrenérgicos HT(10)	0.287 ± 0.025	0.480 ± 0.047	0.193 ± 0.060
Hiperadrenérgicos HT(11)	0.604 ± 0.069 ^a	1.116 ± 0.199 ^a	0.511 ± 0.0138
Tratados			
Hiperadrenérgicos HT (6) Antes del tratamiento	0.598 ± 0.070 ^a	0.996 ± 0.158 ^a	0.388 ± 0.113
Hiperadrenérgicos HT (6) Después del tratamiento con Metoprol.	0.693 ± 0.152 ^a	0.882 ± 0.138 ^a	0.189 ± 0.072

^a p < 0.001 valor comparado con normotensos

Los números de paréntesis indican las personas de cada grupo.

Tomado de Jacques de Champlain (Clinics in Endocrinology and - metabolism, November 1.977).



Niveles de catecolaminas basales en normotensos y en hipertensos esenciales. La sangre se obtiene tras 20 minutos de reposo en decúbito supino. El área rayada representa el valor medio \pm error standard.

Tomado de Jacques de Chaplain. Clinics in Endocrinology and metabolism. (November 1.977)

M A T E R I A L

Y

M E T O D O S

M A T E R I A L

Y

M E T O D O S

Para realizar éste trabajo hemos escogido pacientes adultos ingresados para su estudio o por Urgencias Hipertensivas (Cefaleas, accidentes vasculares cerebrales, Epixtasis, fibrilación auricular, palpitaciones o fracaso ventricular izquierdo) en la Sala de Medicina Interna y en la Unidad de Cuidados Intensivos Cardiológicos y niños ingresados en el Servicio de Pediatría del Hospital Universitario de la Facultad de Medicina de Sevilla.

Sirven como grupo control voluntarios estudiantes de medicina. ATS y enfermos ingresados a causa de patología no implicada con el metabolismo de catecolaminas.

Se inicia el estudio con una amplia serie de enfermos con el diagnóstico inicial de Hipertensión arterial. De estos pacientes hemos desechado aquellos que tenían un claro origen renal, vasculorenal, vascular o arteriosclerítico de su hipertensión.

El estudio definitivo lo constituyen 104 pacientes, afectos de hipertensión arterial esencial, 104 adultos normales, 36 niños normales menores del año, 12 niños normales menores de 4 años, 1 feocromocitoma y 1 neuroblastoma, agrupados del siguiente modo :

1.- 52 pacientes mayores de 55 años de edades entre 57 y 83 años con una edad media de 68.03. De estos, 21 eran varones y 31 eran mujeres con una tensión arterial que oscilaba entre 11 y 15 de mínima y 17 y 26 de máxima con una mínima media de $11,5 \pm 0,99$ y una máxima media de $20,01 \pm 2,4$. Con una presión pulso de $14,3 \pm 1,18$.

2.- 52 pacientes menores de 55 años de edades entre 24 y 55 con una media de 45,75 de los que 20 eran varones y 31 mujeres con una tensión arterial que oscilaba entre 10 y 14 de mínima con

una media de $11,5 \pm 1.4$ de mínima y una máxima entre 16 y -
24 con una media de $18,9 \pm 2,3$ con una presión pulso de $13,9$
 ± 1.5 .

3.- 52 normales mayores de 55 años de edades entre 56 y 86 -
años con una media de 67,5385 . De estos 22 son varones y 30
mujeres.

4.- 52 normales menores de 55 años con edades entre 20 y 53
con una media de 27,6731 . Son 32 varones y 20 mujeres .

5.- 36 niños menores de 1 año, de edades entre 1 y 10 meses
con una media de 3,6457 meses, 20 eran varones y 16 eran ni-
ñas.

6.- 12 niños menores de 4 años de edades entre 1.5 y 4 años
con una media de 2,2917 de los que 7 eran niños y 5 eran ni-
ñas.

7.- 1 focromocitoma de vejiga, intervenido quirúrgicamente 2
años antes y con metastasis en una mujer de 36 años.

8.- 1 neuroblastoma en un niño de 2 años diagnosticado anato-
mopatológicamente con unas cifras elevadas de dopamina urina
ria y una adrenalina y noradrenalina en orina de 24 horas —

normales.

A los del primer y segundo grupo se determinan cifras elevadas de tensión arterial con una mínima de 11 para el primer grupo y de 10 para el segundo tomada al menos en 3 ocasiones y en reposo por espacio de 1 hora.

Se descartan otras etiologías mediante ECG, Rx Torax, creatinina, urea, orina, perfil bioquímico con SMAC-20 y vanilmandélico urinario. Catecolaminas urinarias en casos dudosos y pielografía descendente cuando se sospechaba pielonefritis. En siete casos del segundo grupo se determina actividad de renina en reposo y tras dos horas de ejercicio.

Se determina en todos los grupos DBH, sin valorar las cifras tensionales del momento de la extracción y sin suspender medicación antihipertensiva. No se tienen en cuenta condiciones de Ayuno o reposo.

En 10 enfermos de cada grupo de hipertensos se hacen 3 extracciones en un periodo de 6 meses.

En 7 enfermos del segundo grupo se hace una extracción en reposo y otra tras 2 horas de ejercicio coincidiendo -

con extracciones para actividad de renina.

En 3 enfermos del segundo grupo se hacen 3 extracciones durante un periodo de 2 meses mientras son tratados de - su hipertensión con una variante de la Meditación trascendental.

M E T O D O S.

Para las determinaciones hemos empleado los siguientes métodos analíticos:

CATECOLAMINAS URINARIAS

Método fluorimétrico de Von Euler (177)

METANEFRIAS Y VAMA EN ORINA

Método colorimétrico de Von Euler (175)

DOPAMINA EN ORINA

Método fluorimétrico de Anton y Sayre (200)

D B H EN PLASMA

Método fotométrico de Nagatsu y Udenfriend (140)

ACTIVIDAD DE RENINA

Método de Radioinmunoensayo para angiotensina I de Haber (199).

No se consideran dieta, tratamiento o reposo en las determinaciones de DBH.

La sangre para actividad de renina se obtiene con aguja y jeringa helada y se conserva en hielo hasta su determinación.

Se extraen 2-5 cc. de sangre venosa excepto en el grupo de niños en que la extracción se hace por capilares en los dedos de las manos .

La recolección de orina de 24 horas para la determinación de catecolaminas, metanefrinas, dopamina y vama se hace observando dietas especiales y ausencia de tratamientos - los tres días precedentes y los valores se relacionan con las cifras de creatinina en ml. de suero.

La sangre extraída para DBH se centrifuga a unas - 4000 r.p.m. para extracción de sueros , el suero se conserva en nevera a - 20° hasta su medición. Puede conservarse la - actividad enzimática hasta dos meses dejando los sueros en nevera.

ACTIVIDAD DE DBH EN SANGRE

Tiramina \longrightarrow OctopaminaOctopamina + Periodato Sódico \longrightarrow p-Hidroxibenzaldehido

El método para determinación de DBH es el descrito por Toshitaru Nagatsu y Sidney Udenfriend ().

R E A C T I V O S

1. Buffer de Acetato Sódico 1 mol / l. pH=5
2. Fumarato Sódico 0.2 moles / l
3. Ac. Ascórbico 0.2 moles / l (Preparar antes de usar)
4. Catalasa 1 mg/ml 1500 U
5. Tiramina 0.4 moles / l.
6. Parqilina 20 nmoles/l.
7. N- Etilmalimida 0.2 moles / l.
8. Octopamina 5-150 nmoles
9. Ac. Tricloroacético 3 M
10. Hidróxido Amónico 4 M.
11. Periodato de Sodio 20 grs/l.
12. Tiosulfato Sódico 100 grs/l.

13 MEZCLA DE INCUBACION

Buffer de Acetato Sódico	400 ul.
Fumarato sódico	100 ul.
Ac. Ascórbico	100 ul.
Catalasa	100 ul.
Tiramina	100 ul.
Pargilina	100 ul.
N Etilmaleimida	300 ul.

14 Columna cromatográfica : Pipeta Pasteur 0.5 cm x 10 cm. con un filtro al fondo de lana de vidrio y un volumen empaquetado de 0.2 ml de Resina Dowex 50(H⁺, 200 - 400 mesh).

T E C N I C A :**Blanco :**

50 ul de suero

750 ul de agua destilada ó agua desionizada.

Se incuba en baño de agua a 95 - 100° durante 5 minutos.

Posteriormente se añaden reactivos y se siguen los pasos del problema.

Problema :

50 ul de suero

750 ul de agua

1200 ul de MEZCLA DE INCUBACION (los 100 ml de Ac. Ascórbico deben estar recién preparados). La mezcla de incubación se puede conservar en grandes cantidades congelada durante una semana aproximadamente sin el ac. ascórbico y con el ac. ascórbico puede almacenarse un día aproximadamente a 4°C.

Incubar en baño de agua a 37° con agitación continua durante una hora.
Enfriar al aire.

Añadir 400 ml de solución de Ac. tricloroacético (para detener la incubación).

Centrifugar a 2000 r.p.m. durante 10 minutos .

Se pasa el líquido sobrenadante a través de la columna. Se lava el tubo y el ppdo con agua destilada (1 ml) procurando no remover el fondo de ácido tricloroacético y - los lavados se pasan por la columna. Se lava dos veces mas la columna con 2 ml de agua destilada.

La octopamina queda retenida en la resina y el producto de todos los lavados se elimina.

Se añade a la columna 2 ml de disolución de Hidróxido amónico, para eluir las aminas absorbidas.

A esta disolución de aminas, se añade 0.2 ml de - periodato sódico el cual reacciona con la octopamina para dar p-hidroxibenzaldehido el cual presta el color para el ensayo fotométrico.

El exceso de periodato se reduce con 0.2 ml de —
tiosulfato sódico.

Se lee la absorbancia en contra de agua en una micro
cubeta con 1 cm de paso de luz a 330 nm y en un espectrofotó
metro. Optica Milano Modelo 10.

Cuando se usan 20 nmoles de óctopamina en 2 ml de —
OH NH₄ 4 M se oxidan con periodato y se le añade tiosulfato
se hace una lectura de 0.200 . La absorción es lineal con con
centración de octopamina desde 5 a 150 nmol y el último da —
una absorción de 1.350.

El blanco daba absorbancias entre 0.04 y 0.07.

El amoniaco usado aisladamente da una absorbancia de
0 en contra de agua destilada.

Los reactivos son preveidos :

Catalasa, N- Etilmaleimida y octopamina por Sigma
Chemical Co, St Louis Mo 63178

Tiramina y Fumarato disódico por

Calbiochem San Diego, Calif. 92112

Pargilina por

Laboratorios Abbott. North. Chicago Ill 60064

Una Unidad Internacional se considera los nmol/min./litro de
suero a 37° formados de octopamina.

Los inhibidores endógenos del plasma que interfieren
in vitro a la DBH desaparecen al añadirse excesos de N-Etil-
maleimida.

El suero del mismo enfermo conservado a 20° da los
mismos valores haciendo determinaciones en un período de dos
meses.

El pH optimo, según los autores para conseguir la -
máxima actividad de Octopamina formada es de 5 y se consigue
con el Buffer de acetato.

REGENERACION DE COLUMNAS

Cada columna puede servir para muchas determinaciones y la resina se recupera lavando con 2 ml de agua dos veces, 2 ml de ácido clorhídrico 5 M y 2 ml de agua de nuevo - dos veces.

CALCULOS EN U.I.

Una vez leída la absorbancia en el espectrofotómetro se restan los valores obtenidos con los blancos y el resultado se lleva a una grafica lineal preparada previamente con una octopamina patrón de la casa Sigma Chemical y con diversas concentraciones entre 5 y 150 nmol.

A una absorbancia determinada le corresponden nmoles de octopamina formados en una hora de incubación.

1 U.I. = $\mu\text{mol}/\text{min.}/\text{litro de suero}$

Cómo

$$1 \text{ } \mu\text{mol} = 1000 \text{ nmol.}$$

y Utilizamos 50 ul de suero incubados una hora sería :

$$\text{UI} = \frac{\text{nmol}}{1000} \times \frac{\text{min}}{60} \times \frac{\text{litro}}{50 \times 10^{-6}}$$

CALCULO ESTADISTICO

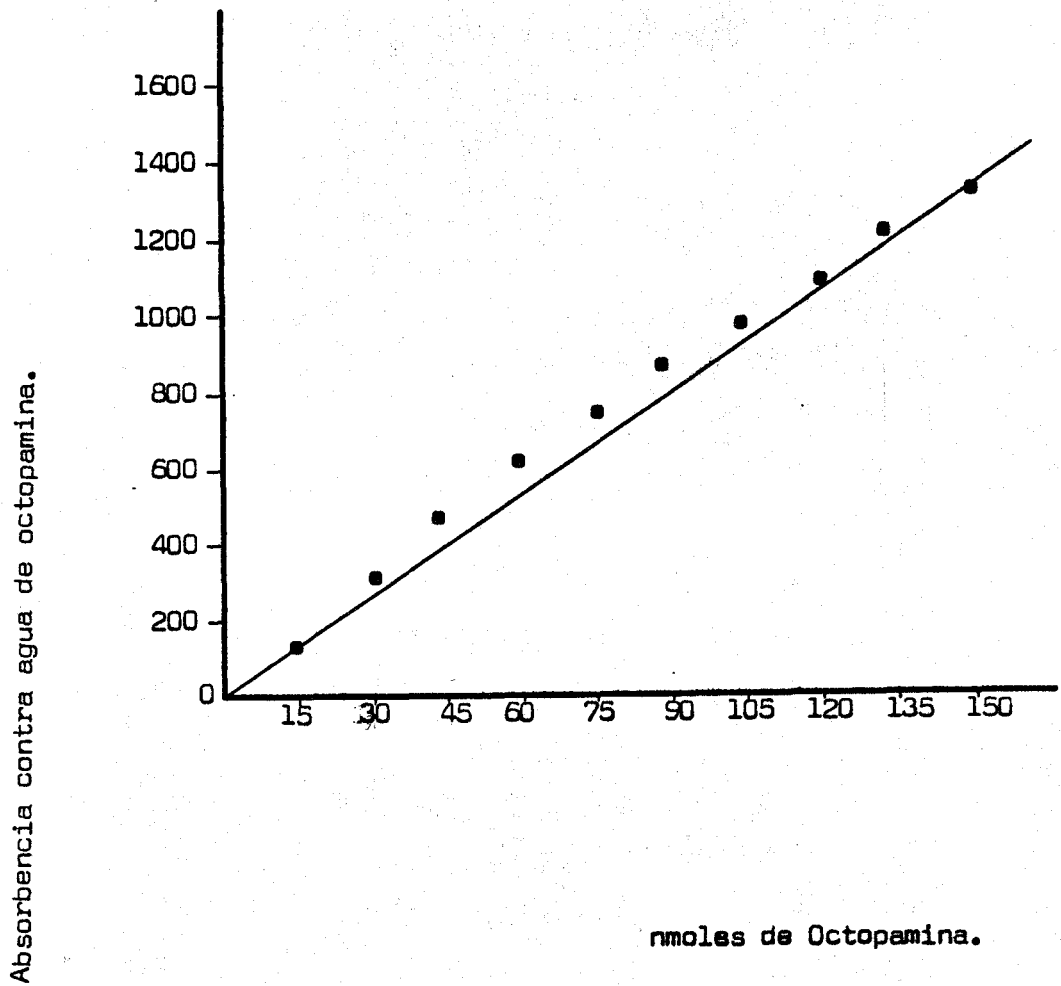
El cálculo estadístico se realizó aplicando la T. de Student Fischer, considerando estadísticamente significativo una p menor de 0.05.

Hemos comparado los siguientes grupos:

- a) Hipertensos mayores de 55 años
- b) Hipertensos menores de 55 años
- c) controles sanos mayores de 55 años
- d) controles sanos menores de 55 años
- e) niños sanos menores de 4 años y mayores de 1
- f) niños sanos menores de 1 año

Para la realización del cálculo estadístico la hemos realizado con un aparato "OLIVETTI P 60" preprogramador. 16 K Language BASIC.

DOPAMINA BETA HIDROXILASA.



R E S U L T A D O S

RESULTADOS

Se estudian y seleccionan 104 pacientes afectos de tensión arterial elevada de origen esencial y se separan en dos grupos : menores de 55 años con una presión mínima entre 10 y 17 con una media de 11.5 ± 1.4 y una presión máxima entre 16 y 24 con media de 18.9 ± 2.3 . La presión pulso :

$$\text{Min} + \frac{(\text{Máx} - \text{Min})}{3} = 13.9 \pm 1.5$$

y los mayores de 55 años con una presión mínima entre 10 y 13 con media 11.5 ± 0.99 , máxima entre 17 y 24 con media de 20.01 ± 2.4 y P.pulso de 14.3 ± 1.18 .

No existen diferencias significativas entre las presiones. A todos los enfermos se les realiza un perfil bioquímico con SMAC 20, Hemograma, orina completa, catecolaminas - urinarias ocasionalmente, urografía I.V. ocasionalmente, ECG y Radiografía de Torax.

En el gráfico 1 se comparan los resultados de los 52 pacientes hipertensos esenciales menores de 55 años con edades entre 24 y 55 años y una edad media de 45.75 ± 8.0486 DS con sujetos control sanos menores de 55 años con edades entre 20 y 53 años y una edad media de 27.6731 ± 9.3593 y se obtienen valores de Dopamina Beta hidroxilasa (DBH) que oscilan entre 7 y 40 U.I. para los controles normales y entre 8 y 42.5 para los hipertensos con una media de 17.4423 ± 7.66 98 DS en el primer grupo y de 20.6019 ± 9.4150 DS en hipertensos. Comparativamente resulta una p igual a 0.05.

En el gráfico 1 se ven también 52 sujetos control mayores de 55 años con edades entre 56 y 82 y una media de 67.5385 ± 7.1550 DS y 52 pacientes de hipertensión esencial con edades entre 56 y 81 con una media de 68.0385 ± 6.8940 DS. Los valores obtenidos oscilan entre 7 y 42 UI en los normales y 8 y 34 UI en los hipertensos con unos valores medios de 15.2788 ± 7.5300 DS para normales y 17.0827 ± 6.8253 DS para hipertensos con una diferencia entre ambos no significativa.

tiva.

En el grupo de sujetos controles se encuentran valores excesivamente bajos (menores de 10 UI) de DBH en 8 casos para el grupo menor de 55 años y de 10 para el grupo mayor de 55 años. En los hipertensos se encuentran valores bajos (inferiores a 10 U) en 4 casos en el grupo joven y en 7 casos del grupo hipertenso con una $p < 0.05$ (Grafico 3).

Se estudian también 36 niños menores de 1 año con edades entre 1 y 10 meses con una media de 3.6457 ± 2.0129 DS y 12 niños mayores de 1 año y menores de 4 años con edades entre 1.5 y 4 años y una media de 2.2917 ± 0.7525 . En el primer grupo encontramos cifras de enzima entre 2.8 y 6.6 U.I. con una media de 4.2747 ± 1.0294 y en el segundo grupo entre 4.5 y 34 con una media de 19.0583 ± 9.2699 U.I.

Estos valores del segundo grupo se corresponden con los encontrados en adultos lo que apoya las publicaciones efectuadas que corroboran que la enzima comienza a producir-

se a partir del año de edad. Por debajo de ésta edad las cifras son excesivamente bajas y de los 36 casos vistos ninguno pasa de 6.6 UI lo que debe indicar inmadurez del sistema nervioso simpático.

Si en estos datos comparamos el grupo de hipertensos menores de 55 años con los mayores de 55 años también hipertensos observamos que los valores de DBH son más altos significativamente (Grafico 4) y también son significativamente más altos que en el grupo control de mayores de 55 años (Grafico 5) con una $p < 0.001$. En este grupo solamente 5 casos superan las 20 U.I. por 21 valores superiores en el grupo de hipertensos.

En un grupo de 20 enfermos hipertensos de ambos grupos, tratados en 12 casos con Alfa metildopa, diuréticos distales (5) ansiolíticos y sedantes (3) se hacen tres extracciones de sangre durante un periodo de 6 meses de seguimiento, encontrándose unos valores medios de 17.975 ± 7.0531 sin que haya variaciones significativas en las cifras.

de la enzima en ningún caso.

A un grupo de 7 enfermos hipertensos menores de 55 años con edades entre 16 y 55 con una media de 45.620 ± 9.831 se les determinan catecolaminas urinarias y sus metabolitos en condiciones basales de reposo (tras una noche de reposo). Se les mide así mismo actividad de renina basal y DBH. Posteriormente se les mantiene caminando durante dos horas para volver a determinarse DBH y renina plasmática . (Tabla 1). La tensión arterial máxima y mínima se elevaron significativamente (Grafico 6), con una $p < 0.01$ para la sistólica y de 0.05 para la diastólica . La dopamina no tuvo cambios y la renina se elevó pero no significativamente. No se encontró relación ninguna con las catecolaminas ni con la renina. (Se dan valores normales de renina entre 0 y 3 ng/ml y de catecolaminas todos los valores estuvieron en los límites normales que son en ugr./mg de creatinina de 0.009 a 0.09 para adrenalina + noradrenalina. De 0.04 a 0.28 para Dopamina y de 0.010 a 0.70 Metanofrinas 0.010 a 0.70.

3 pacientes con hipertensión arterial del primer grupo (edades 40, 45 y 47) que se toman tensiones de 19/10, 18/10.5 y 17/10.5 se pone un tratamiento exclusivo durante dos meses con una variante de meditación trascendental que incluye: 1) desvío mental (cuenta sus respiraciones durante 15 minutos); 2) Relajación física (sentado en una butaca cómodo y 3) medio ambiente tranquilo (sin ruidos).

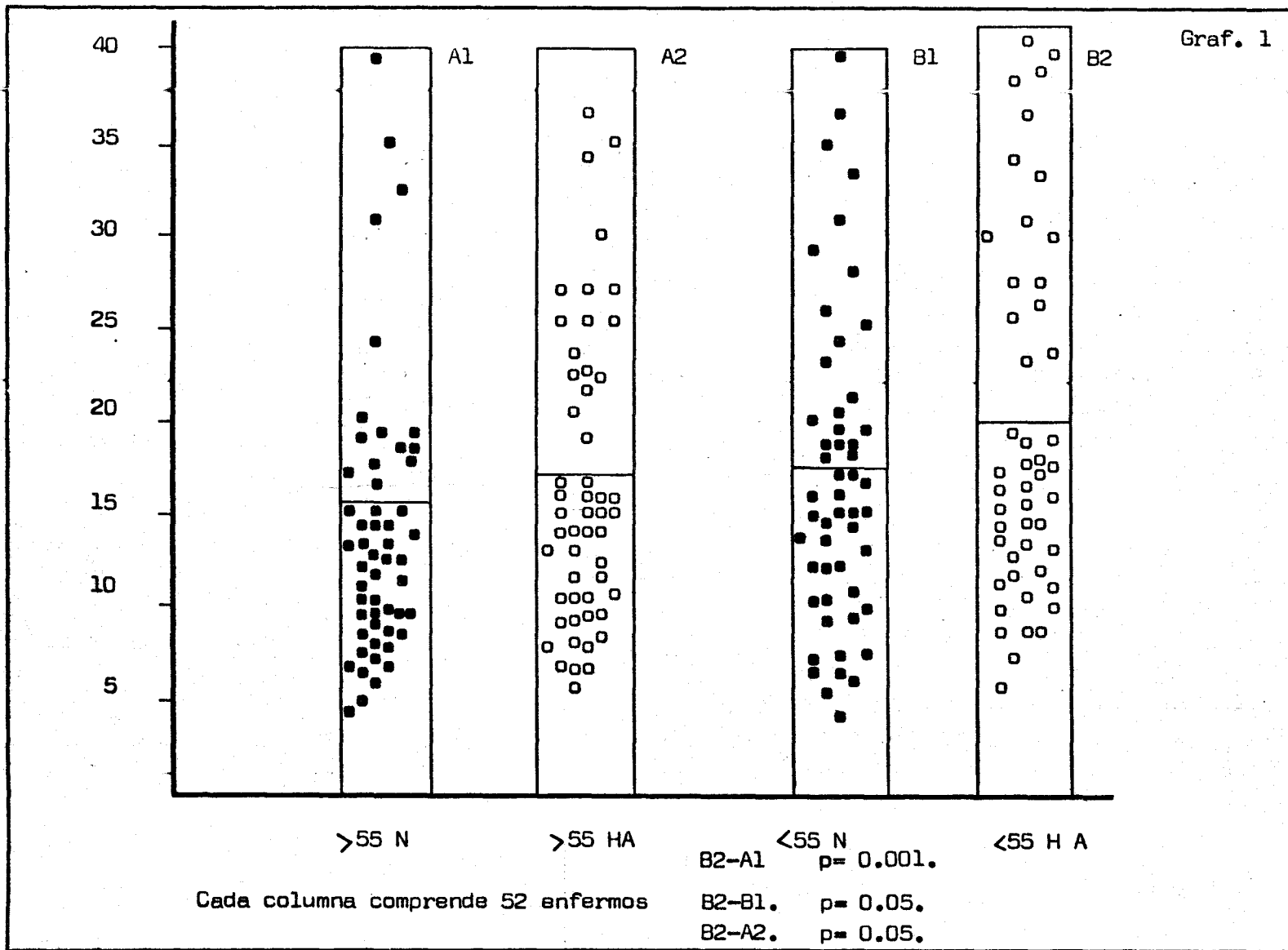
Los pacientes efectúan este método quince minutos todas las tardes y se le determina la DBH en tres ocasiones encontrándose esta sin variaciones. La tensión arterial desciende significativamente (Gráfico 7) y las cifras de DBH permanecen sin cambios.

Se encuentra hipertrofia y sobrecarga de U.I. en 26 casos de hipertensos menores de 55 años y en 39 mayores de 55 años.

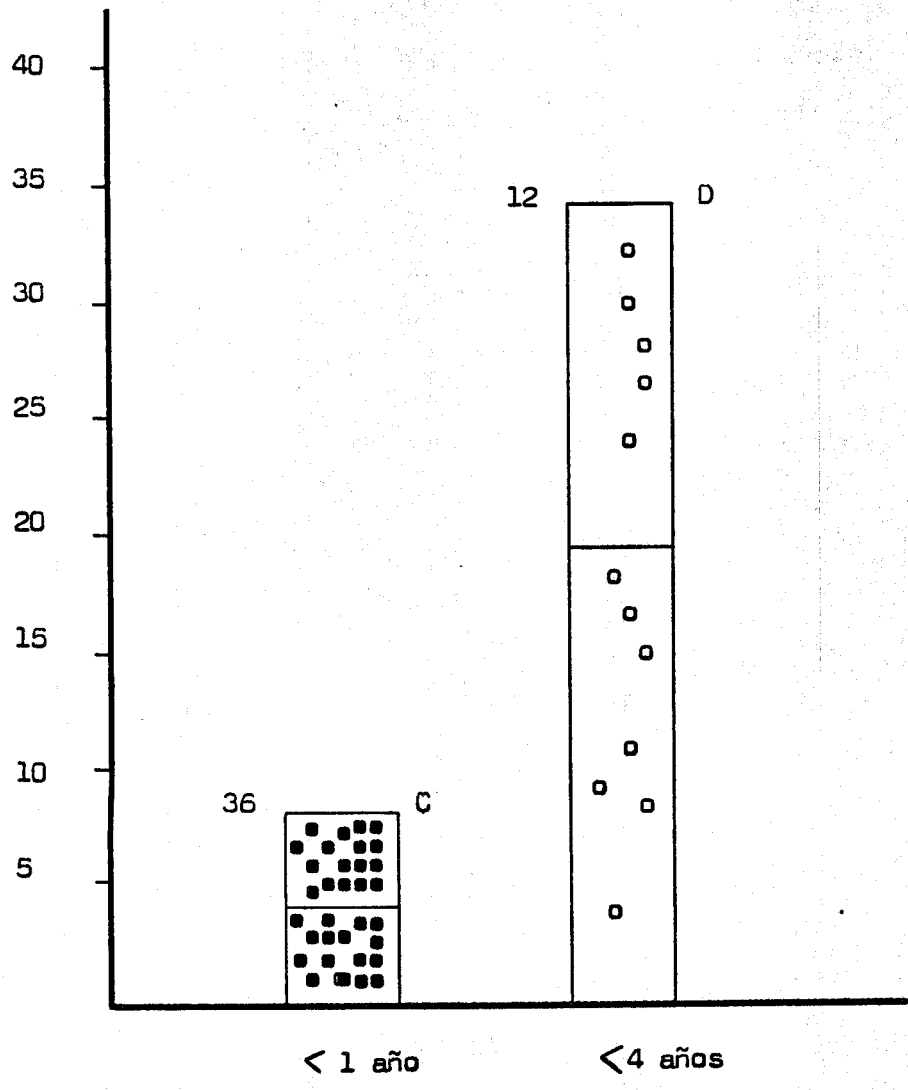
Las enfermedades más frecuentes asociadas con los hipertensos son accidente vasculares cerebrales en 17 casos (Gráfico 8).

Se estudió también un feocromocitoma en una mujer de 36 años, operada 2 años antes y con metástasis actuales, se hizo

ron 3 extracciones de sangre para DBH durante 2 semanas y dieron cifras de 60.00 y 62 unidades y catecolaminas/urinarias en dos ocasiones con cifras de 6.6 y 9.1 ugr/ml. Se estudió también un neuroblastoma diagnosticado - anatomopatologicamente en un niño de dos años con 2 extracciones sanguíneas para DBH con cifras de 15 y 17 U.I. y catecolaminas urinarias 0.9 ugr/ml. y dopamina elevada de 8 ugr/ml.



Graf. 2.



D a C p < 0.001.

Enfermo nº

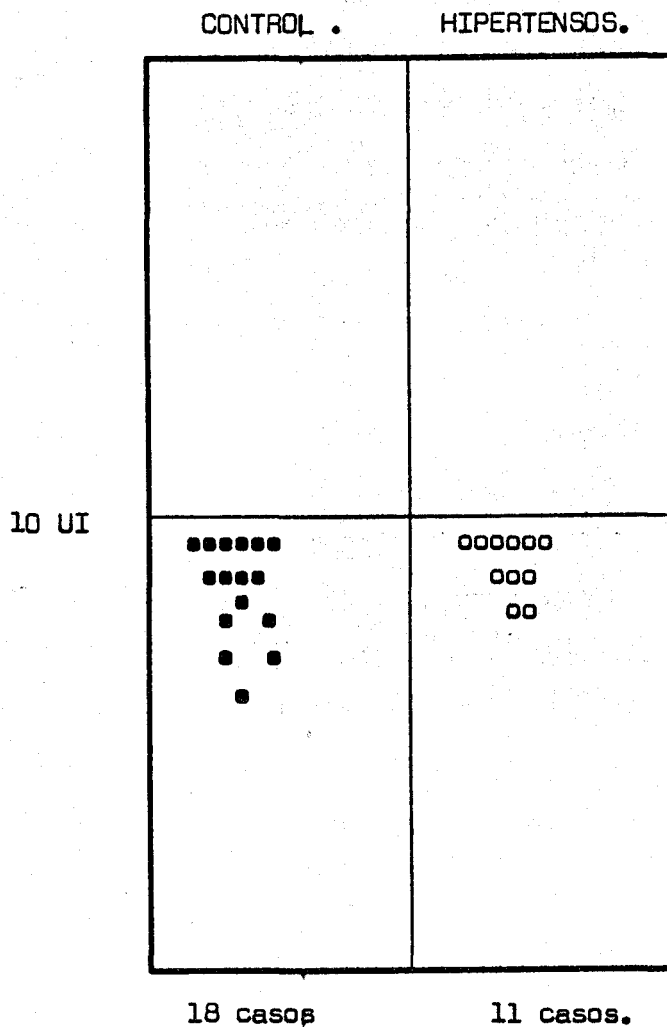
TABLA 1

	1	2	3	4	5	6	7	
Adrenalina + Noradrenalina. Ugr%	2.26	3.55	2.37	1.72	0.97	6.46.	1.72.	
Metanefrinas %	127	103.57	135.7	22.9	23.3	128.5	83.3.	
Dopamina ugr%	9.56	8.47	6.55	7.92	3.06	17.75	1.91	
DBH A U I	12	7	17	10.3	11	8.3	14	
DBH D UI	12.1	7	17.5	10.4	11	8.3	14.2	
Renina A ng/ml/h.	2.3	1.6	4.6	3	2.4	4.2	2	
REnina D	3.6	2.6	4.6	3.6	2.4	4.6	2	

ORINA

SUERO

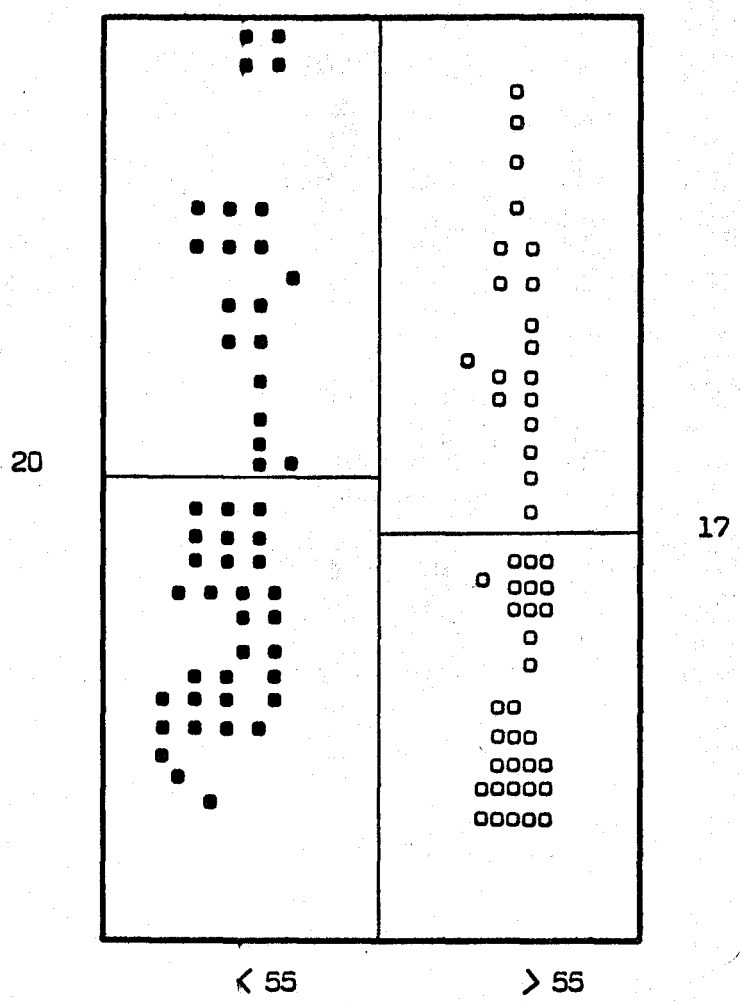
Graf.3



De los 18 casos del grupo control, 8 eran menores de 55 años y 10 mayores. En el grupo hipertenso 4 eran menores y 7 mayores de 55 años.

A-B p < 0.0.5

Graf. 4

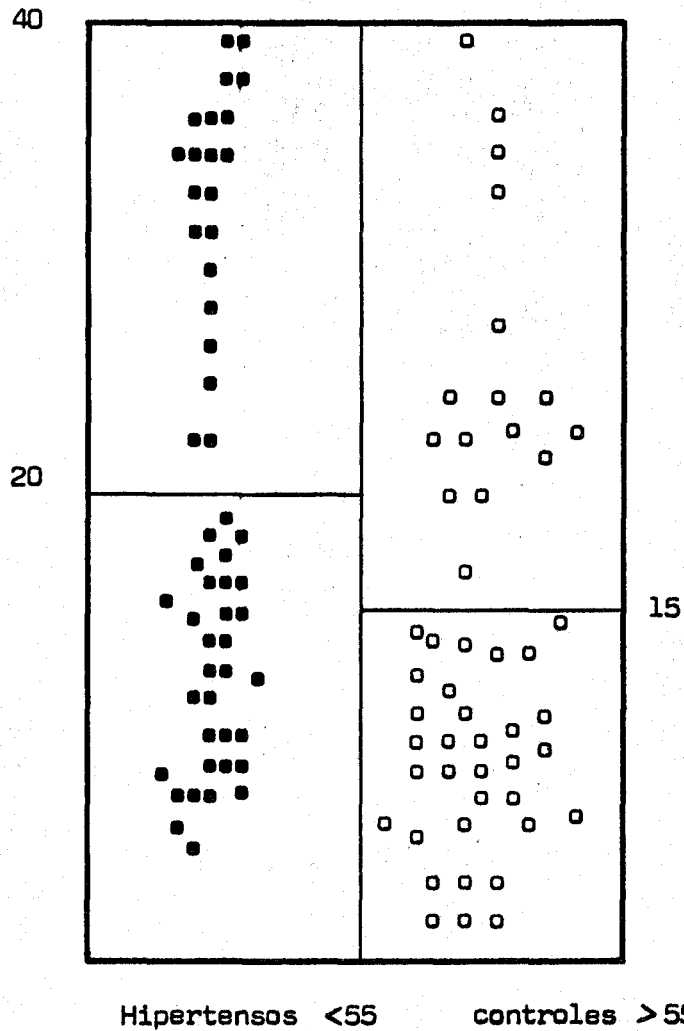


Hipertensos menores de 55 años y mayores de 55 años.

Valores medios de DBH de 20.6019 ± 9.4150 y de $17.0827 \pm$

6.8253 p < 0.05 .

Graf. 5



La diferencia entre estos dos grupos es una $p < 0.001$.

TENSION ARTERIAL.

Graf. 6

SISTOLICA

DIASTOLICA

Enfermo n°

	A	D	A	D
1	16	17	9.5	10.5
2	20	21.5	10	10.5
3	14	15	8	8
4	13	19	8	10
5	13	15	9	10
6	12	13	7	8
7	12	13	8	8

14.285

16.2142

8.6482

9.2142

A.- Tensión arterial en reposo.

D.- Tensión arterial tras dos horas caminando.

Tensión sistólica se eleva con una $p < 0.01$ y la diastólica con una $p < 0.05$.

EUFERINA

TENSION ARTERIAL

Sistólica

Diastólica

	Nº 1	2	3
A	19	18	17
D	14.5	15	14
A	10	10.5	10.5
D	8	9	9

Trat. con meditación trascendental.

A= antes. $p < 0.001.$

D= después. $p < 0.001.$

Nº casos	Síntomas o enfermedades más frecuentemente asociadas.
16	Accidentes vasculares cerebrales.
7	Infarto agudo de miocardio
9	Diabetes mellitus.
9	Epixtasis.
7	Cefaleas y mareos.
5	Insuficiencia ventricular izquierda.
10	Fibrilación auricular.
3	Hiperuricemia.
20	Otras enfermedades.
Nº total 86	

Otras enfermedades asociadas tenían una frecuencia inferior a tres casos cada una.

D I S C U S I O N

D I S C U S I O N

Las primeras descripciones de la DBH son de 1.957 (97). Posteriormente en 1.961 se describen las primeras propiedades de la enzima (114) , que se aumentan en años posteriores; pero no es hasta la decada de los setenta cuando aparecen las primeras mediciones (193) en sueros de ratas y de hombres. Ya en esta decada se intenta relacionar la enzima con los aumentos de la actividad simpática y se hacen mediciones en distintas enfermedades en que se sospecha está implicado el sistema nervioso simpático. Además cómo tiene una vida media en suero superior a las catecolaminas y la determinación es mas sencilla sería el método mejor cómo medida de actividad neuronal simpática.

Se describen aumentos significativos de la DBH ante situaciones de stress como inmersión del brazo en agua helada o ejercicio en una bicicleta ergométrica (60). Se mostraba que la exposición al frio aumentaba un 20% y al ejercicio un 30% pero el ejercicio en el frio no aumentaba los niveles. Tambien se describian aumentos ligeros al pasar de reposo —

en decúbito prono a la postura erecta si previamente se sometía al paciente a un "tilt" durante corto tiempo, desde decúbito prono hasta un decúbito a 60°. Durante el "tilt" no aumentaba la DBH pero si lo hacia hasta un 22% a los 30 minutos de estar en posición erecta (146).

En 1.972 aparece una publicación (70) que estudia 22 pacientes con neuroblastoma y 27 controles, 12 pacientes tenían valores normales de DBH pero 10 tenían valores muy altos y estos excretaban grandes cantidades de ácido vanilmandélico en orina (metabolito de noradrenalina) y no se relacionaba bien con los niveles de dopamina y de su metabolito homovanilínico. Les sirve a los autores para concluir que habría unos neuroblastomas que producirían dopamina y otros que llegarían hasta noradrenalina, los cuales tendrían aumentada la DBH

En las distonias de torsión hereditarias se publica un trabajo en 1.973 (195) efectuado con 24 pacientes afectados de la forma de disautonomía recesiva cuando estaban afectados hijos pero no padres y 19 con la forma autosómica dominan

te cuando estaban afectados algún padre e hijos. Encuentran aumento significativo de DBH en el grupo dominante y en correlación con aumentos en plasma de noradrenalina y valores algo mas bajos que el grupo control en la forma recesiva. Un trabajo posterior (51) no confirma estos datos y aunque encuentran valores significativamente mas altos para el grupo de distomía de torsión que en el control no hay diferencia entre una y otra forma de distomía y los valores estan elevados mas bien de una forma hereditaria en miembros de la misma familia, aún de aquellos no afectados de distonia.

La hipotensión postural que tienen los enfermos de disautonomía familiar se atribuía a un descenso del control nervioso simpático sobre su presión sanguínea y Weinshlboum y Axelrod en un estudio sobre 17 casos (193) encuentran bajos niveles de DBH. En estos enfermos y en los afectos de distonia hay una correlación entre los niveles de noradrenalina y los de DBH.

Tambien en la corea de Huntington hay una publicación sobre 21 casos con DBH elevada significativamente (115),

pero otra publicación con 16 casos observados encuentra valores normales . Seis pacientes con el síndrome de Lesch-Nyhan tenían valores de DBH según Rockson y colaboradores (1.974) (156), tres veces mas altos que una población control. En el síndrome de Down (59) y en la enfermedad de Parkinson (115) se han descrito niveles bajos de DBH. Cuando los enfermos de Parkinson se trataban con levodopa los niveles aumentaban.

También se ha intentado buscar correlación entre - los enfermos de tiroides y la DBH por los efectos tan parecidos que tienen las catecolaminas y la tiroxina y su posible interrelación se ve un paralelismo entre los dos sistemas , pues tanto la DBH como la noradrenalina están descendidas en el hipertiroidismo (142) y aumentadas en el hipotiroidismo. - Los autores no aclaran si estas alteraciones se deberán a - alterada secrección neuronal simpática o cambiada frecuencia de metabolización desde el plasma.

Se investiga también la DBH en algunas enfermedades psiquiátricas como esquizofrenia y no se encuentran diferen-

cias significativas. Se incluyen 27 maniacos, 10 depresiones bipolares, 54 depresiones unipolares, 12 neurosis depresivas y 4 con desordenes de caracter (203/71).

Wise y Stein estudian en 18 autopsias de enfermos - con esquizofrenia los niveles de DBH en la protuberancia, di encéfalo e hipocampo y encuentran niveles bajos (197), Wyatt y colaboradores hacen otro estudio de autopsia con nueve pacientes de esquizofrenia crónica y no encuentran variaciones con respecto a un grupo control pero encuentran una correlación negativa significativa ($P < 0,05$) entre la dosis de - clorpromazina que hubieran tomado y los niveles de DBH en hi potalamo y puente (198).

Aparecen trabajos relacionando la DBH con las catecolaminas plasmaticas en una relación directa (194)

La actividad de DBH en plasma, tiene una influencia genética. En estudios hechos con mas de 140 parejas de hermanos (196) la correlación entre hermanos era significativa - con una $P < 0,001$. La correlación entre padres e hijos en - actividad de DBH efectuada sobre 67 parejas, tambien era sig

nificativa con una $P < 0.001$ y no había correlación significativa en la diferencia entre padre-niño, madre-niño, padre-hijo o padre-hija que demostraba una ausencia de influencia del cromosoma X o el medio ambiente maternal. No había correlación entre 29 parejas de padres-madres.

En gemelos la correlación era significativa mas intensamente en 10 parejas estudiadas de monozigotos y algo menos aunque todavía mas que en parejas de hermanos en 28 parejas de dizigotos, siempre con una $P < 0.001$. No hay diferencia significativa entre gemelos mono y dizigóticos.

Weinshlboun y colaboradores (196), encuentran en 277 donantes de sangre adultos de edades entre 19 y 64 años que un 3.1% de adultos y 4.7% de los niños, tenían una actividad muy baja de DBH. Estos autores dicen que hay un subgrupo de población que de forma hereditaria autosómica recesiva tienen niveles muy bajos de la enzima. No encuentran diferencias entre sexos.

Los mismos autores encuentran valores mas bajos de DBH en niños que en adultos (193). El estudio lo hacen sobre

146 personas de edades entre 1 día y 39 años y encuentran — que a partir de los 4 años no hay diferencias significativas con los adultos . Ellos concluyen que los valores de adultos se alcanzan en la segunda década de la vida.

En otro estudio (203) Wetterberg examinando plasma de 135 individuos normales con edades entre el nacimiento y los 60 años aportan que los niveles de los adultos se alcanzan entre los 5 y los 15 años y que la sangre del cordón umbilical tenía actividad muy baja o no detectable de DBH.

Ogihara y colaboradores (144) estudiando 108 individuos con edades entre 5 y 66 años aportan una correlación negativa significativa y edad después de 14 años con una $P < 0.01$ y con un máximo de actividad en el grupo de edad entre 15 y 19 años. Estos autores estudian 189 recién nacidos de — menos de una semana de edad y encuentran un aumento significativo desde el primero al sexto día de vida ($P < 0.05$).

Los niveles de DBH plasmáticos en un mismo individuo son muy constantes de día a día (145y144), de mes a mes (203) y puede permanecer igual durante 7 años (105).

Otros autores aportan una variación diurna de 15% - (145) con los mas altos niveles durante el día. Este aumento es probablemente debido a la bipedestación.

La hipertensión esencial y la actividad simpática - medida a través de catecolaminas o sus metabolitos en plasma u orina ha sido muy buscada en los últimos diez años.

Tambien la DBH por segregarse con la noradrenalina ha sido buscada en enfermos hipertensos.

Shamberg y colaboradores (81) dicen que hay una alta correlación entre DBH sérica y la labilidad de la presión sanguínea. Según ellos los hipertensos esenciales tendrían - altos valores de DBH mientras las formas secundarias de hipertensión o los individuos normales tenían valores bajos.

Geffen y colaboradores (67) encuentran tambien una correlación positiva entre hipertensión y DBH.

Otros autores (81) como H.Aberg y colaboradores hacen un estudio sobre 53 pacientes hipertensos : 7 mujeres y 46 hombres, con hipertensión esencial excepto 3 que tenían hipertensión renovascular. Los resultados los comparan con-

tra 93 personas normales donantes de sangre de ambos sexos y encuentran una variación extensa en las cifras de DBH de 5 a 50 U con media de 18.6 en hipertensos y de 0 a 70 U en personas control con media de 19 U . Concluyen estos autores diciendo que no hay diferencia entre los dos grupos.

Hacen los mismos autores otro estudio sobre 11 pacientes tomando muestras de sangre cada 3 horas con 5 tomas y lo comparan con un grupo control para estimar las variaciones individuales durante un espacio de 12 horas, la variación va de 10 a 24 con una media de 12.3 U en los hipertensos y de 10 a 15.7 con media de 11.5 en los normales que no son significativas.

En un estudio hecho sobre mujeres hipertensas por uso de anovulatorios Stanley G Rockson y colaboradores (157) estudian 12 mujeres control y 41 consumidoras de anovulatorios y comparan la presión sanguínea, actividad de renina del plasma, actividad de DBH y cambios en el peso corporal. Hacen 4 grupos donde incluyen : I g. control, II usadoras de anovulatorios que no aumentaban la presión sanguínea , III -

usadoras de anovulatorios que aumentaban la tensión pero permanecían normotensas menos que 160/90 y IV las que hacían hipertensión mayor de 160/90. 44% aumentaban su tensión arterial y 17% llegan a ser hipertensas y los dos grupos aumentan significativamente la DBH. El I y II grupo tienen una media de 18 ± 10.5 y 17 ± 8 I y el III y IV grupo una media de 25 ± 13 y 27 ± 26 . En actividad de renina las diferencias no son significativas.

Herbert Benson y colaboradores (32) en 1974 publican un trabajo demostrando que las técnicas mentales como la meditación trascendental (MT) ó una variante que forman los 4 elementos de esta meditación y que incluyen : a) desvío mental, pensar en un sonido o palabra o contarse las respiraciones por minuto ; b) actitud pasiva, pensando unicamente en lo anterior y con un medio ambiente sin ruidos; c) tono muscular descendido estando sentado en una posición confortable ; d) práctica regular en dos periodos diario de 20 minutos durante la mañana y la tarde.

Los autores opinan que el estado hipometabólico que

se consigue integra una respuesta hipotalámica con descendida actividad del sistema nervioso simpático. Este estado lleva a un descenso del consumo de oxígeno, eliminación de dióxido de carbono, frecuencia de respiraciones y ventilaciones por minuto. Descenso en el lactato sanguíneo arterial y ligero descenso en pH sanguíneo y exceso de bases.

Estudian 14 hipertensos esenciales que continúan tomando medicación antihipertensiva durante un período de 20 semanas y encuentran descensos, en presión sistólica media desde 145.6 hasta 135.0 mm Hg con una $P < 0.01$ y una presión diastólica de 91.9 a 87.0 mm Hg ($P < 0.05$).

Los autores citan en el mismo artículo otro trabajo sobre 22 pacientes con hipertensión en el límite con una media de 146.5 de sistólica y diastólica de 94.6 mm Hg. Son tratados 25 semanas con la variante de MI y sin medicación antihipertensiva y encuentran descensos a 139.5 de sistólica ($P < 0.001$) y a 90.8 mm Hg de diastólica ($P < 0.002$).

Las medidas de presión arterial se hacen a cualquier hora del día y no durante la meditación.

En estudios hechos de DBH sobre feocromocitomas en el Instituto Nacional de Corazón y Pulmón de Head (U.S.A.) y en su sección de Bioquímica farmacológica ven 9 feocromocitomas antes de ser operados y encuentran valores entre 30 y 110 V.I. mientras que un grupo control de 90 personas se encuentra entre 5 y 50 V.I. . El valor en feocromocitomas operados, ven 6 casos, oscila entre 15 y 40 V.I.

La media de unidades es de 18.7 para los normales 60 para los no operados y 24 para los operados.

El Dr. Harry Keiser en el mismo instituto ve tambien midiendo horariamente la enzima después de la extracción del tumor que ésta desaparece de la sangre en unas 10-12 horas que se consideran como la vida media de la enzima en sangre. Esta larga vida impediría ver cambios agudos de la enzima en respuesta a estimulación simpática.

Estos hallazgos se correlacionan bien con los obtenidos con técnicas sensibles de medición por procedimientos radioisotópicos de noradrenalina y adrenalina en el plasma de los feocromocitomas (49), pues mientras los valores están

significativamente elevados en la mayoría de los enfermos con el tumor , la variabilidad es grande en las personas normales y en otros con estados alterados de la actividad autonómica. Esto hace que el diagnóstico en algunos casos permanezca confuso .

Engelman y Portnoy en 1.970 (49) dicen que la variación en la secrección de catecolaminas haciendo análisis casi horarios en un feocromocitoma oscilaba entre 2 y 22.5 ngr de noradrenalina y entre 0.9 y 4.4 ngr de adrenalina (límites normales < 3 ngrs. noradrenalina y < 1.0 adrenalina). Ellos dicen que tomando muestras sanguíneas con drenaje venoso en las cavas por encima y debajo del corazón se obtendrían valores mas reales por ser el lugar de drenaje del tumor.

En los estudios hechos por nosotros sobre 48 niños: 36 menores de un año y 12 menores de 4 años y mayores de un año , vemos que en el primer grupo con edades entre 1 mes y 10 meses la cifra no rebasa 5.7 VI lo cual es tres a cuatro veces inferior a la cifra vista en los adultos. No hemos hecho estudios con niños de días de edad para comprobar si aún es inferior significativamente el valor de DBH. Las cifras en los menores de 4 años exceptuando dos casos que la tienen baja, son iguales a las de adultos. Parece deducirse que a partir del año de vida se produce normalmente la DBH en médula y sistema simpático .

Estamos en desacuerdo con Weinshilboum cuando dice que los valores de adulto se alcanzan en la segunda década de la vida (193). Wetterberg encuentra cifras iguales a los adultos a partir de los cinco años. Pensamos que no es significativo en mayores de 1 año y en todo caso habría que estudiar series muy amplias dada la variación de valores de unos sujetos a otros, para poder afirmar en contra.

Estamos de acuerdo con Weinshilbaum y colaboradores en señalar un grupo de población con cifras muy bajas de la enzima que esos autores señalan con un 3.1%. Nosotros hemos encontrado en 8 del grupo control menores de 55 años, en 10 controles mayores de 55 años, en 4 hipertensos menores de 55 años y en 8 hipertensos mayores de 55 años, cifras menores de 10 UI.

En las cifras de DBH en enfermos con H.A. esencial nosotros encontramos ligeros aumentos en los hipertensos comparados con los grupos control. Los aumentos en nuestros grupos no llegan a ser significativos. No estamos en desacuerdo con Shambery y colaboradores (202) o con Geffen y cols. (67), que encuentran correlación positiva entre hipertensión y DBH, pues en el grupo de menores de 55 años hemos estudiado un grupo control con una media de edad de 27.67 ± 9.3 mientras los hipertensos tenían 45.75 ± 8.04 años. Teniendo en cuenta que la máxima producción de DBH es entre los 15 -30 años según todos los autores y también según nuestros grupos. podría es-

perarse una correlación positiva a favor de los hipertensos si igualamos las edades.

Los hipertensos jóvenes tienen valores de DBH mayores que los hipertensos mayores de 55 años en nuestro estudio con una $P < 0.05$ y que el grupo control mayor de 55 con una $P < 0.001$.

Comparado con los controles jóvenes la P es igual a 0.05. Por esto estamos en ligero desacuerdo con Aberg (81) que no encuentra modificada la enzima en los hipertensos. Pensamos que hay un grupo de hipertensos con tono simpático aumentado y que éste se refleja en la DBH al igual que en las catecolaminas circulantes en plasma. Al igual que Jacques - Champlain (1977) habla de un 60% de hipertensos con actividad hiperadrenérgica y con catecolaminas por encima de 0.4 $\mu\text{g/ml}$ ocurriría algo similar con la DBH aunque esta parece estar mas influenciada que las catecolaminas por factores genéticos.

En tres hipertensos que consideremos tenían condiciones para realizar relajación psicológica, sin otro tratamiento medicamentoso, aplicamos las variantes de la Meditación - trascendental que describe Benson y comprobamos, en ocho semanas que duró la prueba, una bajada de tensión arterial hasta cifras normales cómo ya este autor había publicado - (32).

La DBH no se modificó en esos dos meses. Tampoco hemos podido comprobar diferencias en los niveles de DBH entre reposo y tras dos horas de ejercicio moderado. Estamos de acuerdo/ con LAMPRECHT, F. que dice no haber variación en zimática en un mismo individuo durante unos meses de diferencia.

El neuroblastoma estudiado por nosotros está en el grupo descrito por Doldstein en 1.972 de tumor productor de dopamina y no productor de noradrenalina que cursan con DBH normal. Esto pudimos comprobarlo al encontrar en la orina de este enfermo valores elevados de dopamina con valores normales de adrenalina y noradrenalina.

Hemos estudiado un solo caso de feocromocitoma — operado dos años antes, aunque actualmente reagudizado por sus metástasis y por tanto no podemos comprobar los valores del Dr. Keiser que encuentra cifras normales de catecolaminas y enzimas en algunos casos de feocromocitoma no operado .

Nuestro caso tenía tres veces mas elevación que las personas normales en DBH sérica. Esto se correlacionaba bien con un aumento en la eliminación de noradrenalina urinaria. Pensamos que si bien es cierta la oscilación que describen Engelman y Portnoy en 1.970 (49) sobre las variaciones horarias de catecolaminas en plasma en la DBH no se dan estas — variaciones y puede ser buen método diagnóstico en las sospechas de feocromocitomas.

C O C L U S I O N E S

CONCLUSIONES

1. No hay valores de DBH mayores de lo normal en el grupo de pacientes con hipertensión esencial estudiados.
2. Los valores de enzima en el límite inferior de la normalidad de nuestro método se ven mas en el grupo control que en el grupo de hipertensos.
3. A igual grado de hipertensión arterial sistólica, diastólica y media las cifras de DBH son mas altas con significación estadística de $p < 0.05$ en el grupo de hipertensos menores de 55 años en comparación con los mayores de ésta edad lo que puede indicar que la H. Arterial esencial en personas jóvenes tiene mayor componente adrenérgico en su mecanismo que la población hipertensa con mas de 55 años.

4. Nuestros resultados no demuestran que existe relación entre la DBH, la excrección de catecolaminas en orina y la actividad de la renina periférica en los 7 pacientes con hipertensión esencial en que se estudió dicha correlación, - tanto durante el reposo como durante el ejercicio.

5. En un grupo de sujetos, seguido durante 6 meses, con determinaciones periódicas de DBH, mientras estaban sometidos a diversas terapias farmacológicas incluyendo ansiolíticos - no encontramos modificaciones en DBH plasmática, tampoco se modificó tras ejercicios de relajación psicofísica (Meditación trascendental) que disminuían las cifras de presión arterial.

6. La actividad enzimática de la DBH en plasma no se - modifica con el reposo, con el ejercicio ni con las crisis de hipertensión vistas por nosotros en el Servicio de Urgencias Médicas cuando se determina en los enfermos con hipertensión esencial.

7. La bondad del método utilizado se refleja en los al tos valores de DBH encontrados en un caso de feocromocitoma operado previamente y con metástasis actuales por su carácter maligno, así cómo en otro caso de neuroblastoma bien comprobado. En ambos caso se corrobora el valor de la DBH para el diagnóstico de estos tumores.

8. Hemos encontrado que la DBH se correlacionó bien con la excrección de catecolaminas urinarias en varias extracciones realizadas en el caso de feocromocitoma arriba citado.

9. Por el contrario nuestro caso de neuroblastoma no - tuvo valores altos de DBH pero tampoco los tenía altos de ca tecolaminas urinarias de acuerdo con la experiencia general de que un grupo de estos tumores se conducen de esta forma.

A pesar de lo dicho en las dos primeras conclusiones el número de casos hipertensos con cifras bajas de DBH es — comparativamente menor al de los sujetos sin hipertensión, -

con diferencias estadísticamente significativas.

En nuestros dos casos de feocromocitoma y de neuroblastoma se confirma el gran valor de la dosificación de —
DBH.

RESUMEN.

Se estudia la dopamina Beta Hidroxilasa (DBH) en los siguientes grupos:

- a) 52 individuos normales menores de 55 años y 52 afectos de hipertensión arterial (HA).
- b) 52 individuos normales mayores de 55 años y 52 afectos de H.A.
- c) 36 niños normales menores de 1 año.
- d) 12 niños normales menores de 4 años.
- e) 1 feocromocitoma.
- f) 1 neuroblastoma.

A todos se le determina la DBH encontrándose variaciones no significativas al comparar normales e hipertensos menores de 55 años; tampoco es significativa la diferencia entre los grupos control de niños mayores de 1 año, adultos menores y mayores de 55 años.

Son significativas las diferencias entre hipertensos menores de 55 años con una media de 20.6019 ± 9.4150 DS V.I. e hipertensos mayores de 55 años con media de $17.0827 - 6.8253$ DS con una $P < 0.05$.

También son significativas las diferencias entre hipertensos menores de 55 años 20.6019 ± 9.4150 D.S. y normales mayores de 55 años con una media de 15.2788 ± 7.5300 D.S. con una $P < 0.01$.

36 niños menores de 1 año tienen valores significativamente bajos con una media de 3.6457 ± 2.0129 DS comparado con todos los grupos de sanos control y de hipertensos con una $P < 0.001$.

Se comprueba que la actividad de la enzima comienza a muy corto plazo de edad ya que a los 4 años se alcanzan cifras similares a los adultos.

El feocromocitoma dió un valor de 60 VI y el neuroblastoma de 17 VI.

En un grupo de 7 enfermos hipertensos menores de 55 años se hace un estudio comparativo de catecolaminas urinarias, renina y DBH, en reposo y tras dos horas de ejercicio físico no encontrándose variaciones significativas en las cifras de las mismas, aunque sí en la tensión arterial sistólica que se eleva con valores medios desde 14.285 a 16.2142 con una $P < 0.01$ y la diastólica con una $p < 0.05$ desde 8.6482 a 9.2142.

A tres pacientes hipertensos menores de 55 años se pone un tratamiento exclusivo durante dos meses con una variante de meditación trascendental durante 15 minutos diariamente y se encuentran descensos significativos de presión arterial sistólica desde 18 de media a 14.5 con una $P < 0.01$ y la diastólica media de 10.3 descendiendo a 8.7 con una $p < 0.001$. Los valores de DBH no se modifican significativamente.

Se demuestra que el método no es útil para determinar individualmente actividad simpática en situaciones de stress o H.A.

B I B L I O G R A F I A

1. ABEL, J.J. CRAWFORD, A.C. (1.897) On the blood pressure raising constituent of the suprarenal capsule. Bulletin of the Johns Hopkins Hospital, 8, 151-157.
2. ABRAMSON, E.A. ARKY, R.A. (1.968) Role of beta-adrenergic receptors in counterregulation to insulin-induced hypoglycemia. Diabetes, 17, 141-146.
3. ADAMS R: Stein and Wise theory of schizophrenia: a possible mechanism for 6-hydroxydopamine formation in vivo. Behav Biol 7 : 861-866, 1.972
4. ANDERSSON, R., NILSSON, K., WIKBERG, J., JOHANSSON, S., MOHME--LUNDHOLM, E. LUNDHOLM, L. (1.975) Cyclic nucleotides and the contraction of smooth muscle. Advances in Cyclic Nucleotide Research 5, 491-518.
5. AHLQUIST, R.P. (1.948) A study of the adrenotropic receptors. American Journal of Physiology, 153, 586-600.
6. ADI, W., HENRY, D.P. WEINBERGER, M.H. (1.976) Evidence for a physiological role of renal sympathetic nerves in adrenergic stimulation of renin release in the rat. Circulation Research, 38, 123-126
7. ARMSTRONG, M.D., MCMILLAN, A. SHAW, K.N.F. (1.957) 3-Methoxy-4-hydroxy-d-mandelic acid, a urinary metabolite of norepinephrine. Biochimica et Biophysica Acta, 25, 422-429.
8. ATLAS, D., STEER, M.L. LEVITZKI, A. (1.974) Stereospecific binding of propranolol and catecholamines to the β -adrenergic receptor. Proceedings of the National Academy of Science of United States of America, 71, 4246-4248
9. AXELROD, J. (1.957) O-Methylation of catechol amines in vitro and in vivo. Science, 126, 400-401.

10. AXELROD, J. (1.962) Purification and properties of phenylethanolamine-N-methyl transferase. *Journal of Biological Chemistry*, 237, 1657-1.660.
11. AXELROD, J. LAROCHE, A. (1.959) Inhibitor of O-methylation of epinephrine and norepinephrine in vitro and in vivo. *Science*, 130, 800.
12. AXELROD, J. TOMCHICK, R. (1.958) Enzymatic O-methylation of norepinephrine and other catechols. *Journal of Biological Chemistry*, 233, 702-705.
13. BALTZAN, M.A., ANDRES, R., Cader, G. Zierler, K.L. (1.965) Effects of epinephrine on forearm blood flow and metabolism in man. *Journal of Clinical Investigation*, 44, 80-92.
14. BANKS, P. (1.966b) Effects of stimulation by carbachol on the metabolism of the bovine adrenal medulla. *Biochemical Journal*, 97, 555-560.
15. BANKS, P. (1.966b) An interaction between chromaffin granules and calcium ions. *Biochemical Journal*, 101, 18c-20c.
16. BERNEIS, K. H., PLETSCHER, A. DA PRADA, M. (1.969) Metal-dependent aggregation of biogenic amines: an hypothesis for their storage and release. *Nature*, 224, 281-283.
17. BLASCHKO, H., COMLINE, R.S., SCHNEIDER, F. H., SILVER, M. - SMITH, A.D. (1.967a) Secretion of a chromaffin granule protein, chromogranin, from the adrenal gland after splanchnic stimulation. *Nature*, 215, 58-59.
18. BLASCHKO, H., RICHTER, D. SCHLOSSMAN, H.J. (1.937) Inactivation of adrenaline. *Journal of Physiology*, 90, 1-17.
19. BROWN, G.L. GILLESPIE, J.S. (1.957) The output of sympathetic transmitter from the spleen of the cat, *Journal of Physiology*, 138, 81-102.

20. BIRNBAUMER, L. (1.973) Hormone-sensitive adenylyl cyclases: Useful models for studying hormone receptor functions in - cell-free systems. *Biochimica et Biophysica Acta*, 300, — 129-158.
21. BARAJAS, L. (1.964) The innervation of the juxtaglomerular apparatus; an electron microscopic Study of the innervation of the glomerular arterioles. *Laboratory Investigation*, 13, 916-929.
22. BATES, R.F.L., PHILLIPPO, M. LAWRENCE, C.B. (1.970) The — effect of propranolol on calcitonin secretion. *Journal of Endocrinology*, 48, viii-ix.
23. BELL, N.H. QUEENER, S. (1.974) Stimulation of calcitonin synthesis and release in vitro by calcium and dibutyryl cyclic AMP. *Nature*, 248, 343-344.
24. BRANDT, B.L. , HAGIWARA, S., KIDOKORO, Y. MIYAZAKI, S. — (1.976) Action potentials in the rat chromaffin cell and - effects of acetylcholine. *Journal of Physiology*, 263, 417-439.
25. BROOKS, J.C. SIEGEL, F.L. (1.973) Purification of a calcium-binding phosphoprotein from beef adrenal medulla. *Journal of Biological Chemistry*. 248, 4189-4193.
26. BOURNS, T.W. LANGLEY, P.E. (1.975) The effect of alpha and beta adrenergic receptor stimulation of adenylate cyclase - activity of human adipocytes. *Journal of Cyclic Nucleotide Research*, 1, 321-328.
27. BRAY, G.A. GOODMAN, H.M. (1.968) Effects of epinephrine on glucose transport and metabolism in adipose tissue of normal and hypothyroid rats. *Journal of Lipid Research*, 9. 714-719.
28. BRODIE, B.B., Maickel, R.P. STERN, D.N. (1.965) Autonomic - nervous system and adipose tissue. In *Handbook of Physiology*; Section 5: Adipose Tissue (Ed.) Renold, A.E. Cahill, —

G.F. Jr. pp. 583-600. Washington D.C.: American Physiological Society.

29. BLAIR, E.L., GRUND, E. R., Reed, J.D., ANDERS, D.J., SANGER, G. SHAW, B. (1.975) The effect of sympathetic nerve stimulation on serum gastrin, gastric acid secretion and mucosal — blood flow responses to meat extract stimulation in anesthetized cats. *Journal of Physiology*, 253, 493-504
30. BLOOM, S.R., EDWARDS, A.V., Hardy, R.N., MALINOWSKA, K. SILVER, M. (1.975) Cardiovascular and endocrine responses to feeding in the young calf, *Journal of Physiology*, 253, 135-155.
31. BRAVO, E.L. TARAZI, R.C. DUSTAN, H.P. (1.975) B-adrenergic blockade in diuretic-treated patients with essential hypertension. *New England Journal of Medicine*, 292, 66-70.
32. BENSON H, ROSSNER BERNARD, BARBARA MAZZETA, KLEMCHUK. Decreased Blood-Pressure in Pharmacologically treated hypertensive — patients who regularly elicited the relaxation response. *The Lancet* February 23, 1.974.
33. CAHILL, G.F. Jr (1.976) Starvation in man. *Clinics in Endocrinology and Metabolism*, 5, 397-415.
34. CARLSSON, A., DAVIS, J.S., KEHR, W., LINDQUIST, M. ATOCK, C.V. (1.972) Simultaneous measurement of tyrosine and tryptophan hydroxylase activities in brain in vivo using an inhibitor of aromatic amino acid decarboxylase. *Naunyn-Schmeideberg Archives of Pharmacology*, 275, 153-158.
35. CASSEL, D., SELINGER, Z. (1.976) Catecholamine-stimulated GTPase activity in turkey erythrocyte membranes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 452, 538-551.
36. COOPER, B., PARTILLA, J.S., GREGERMAN, R.I. (1.975) Adenylate cyclase of human fat cells; expression of epinephrine-sensitive activation revealed by 5'-guanylyl-imidodiphosphate. —

Journal of Clinical Investigation, 56, 1350-1353.

37. COUSINEAU, D., FERGUSON, R.J., de CHAMPLAIN, J., GAUTHIER, P., COTE, P. BOURASSA, M. (1.977). Plasma catecholamines in aorta and in coronary sinus during dynamic exercise in coronary - patients before and after physical training. Journal of Applied Physiology, in press.
38. CRAINE JE, DANIELS GH, KAUFMAN S: Dopamine- β -hydroxylase. The subunit structure and anion activation of the bovine adrenal enzyme. J.Biol Chem 248 : 7838-7844, 1.973.
39. CHALFIE, M., HOADLEY, D., PASTAN, S. PERLMAN, R.L. (1.976) Calcium uptake into rat pheochromocytoma cells, Journal of Neurochemistry, 26, 1405-1409.
40. CHUANG, D.M. COSTA, E. (1.976) Trans-synaptic regulation of ribonucleic acid biosynthesis in rat adrenal medulla. Molecular Pharmacology, 12, 514-518.
41. CHRISTENSEN NJ: Increased levels of plasma noradrenaline in hypothyroidism. J.Clin Endocrinol Metab 35:359-363, 1.972:
42. CHRISTENSEN, K.C. STADIL, F. (1.976a) Effect of epinephrine and norepinephrine on gastrin release and gastric secretion of acid in man. Scandinavian Journal of Gastroenterology - (Supplement), 37, 87-92.
43. DOUGLAS, W.W. RUBIN, R.P. (1.961) The role of calcium in the secretory response of the adrenal medulla to acetylcholine. Journal of Physiology, 159, 40-57.
44. DOUGLAS, W.W. RUBIN, R.P. (1.963) The mechanism of catecholamine release from the adrenal medulla and the role of calcium in stimulus-secretion coupling. Journal of Physiology, 167, 288-310.

45. DOUGLAS, W.W., KANNON, T. SAMPSON, S.R. (1.967a) Effects of acetylcholine and other medullary secretagogues and antagonists on the membrane potential of adrenal chromaffin cells: an analysis employing techniques of tissue culture. *Journal of Physiology*, 188, 107-120.
46. DE POTTER, W.P., SCHAEPODYVER, A.F. , MOERMAN, E.J., SMITH, A.D. (1.969) Evidence for release of vesicle-proteins together with noradrenaline upon stimulation of the splenic nerve. *Journal of Physiology*, 204, 102 - 104.
47. DE CHAMPLAIN, J. van AMERINGEN, M.R. (1.972) Regulation of blood pressure by sympathetic fibers and adrenal medulla in normotensive and hypertensive rats. *Circulation Research*, 31 617 - 628.
48. DE CHAMPLAIN, J., FARLEY L. , COUSINEAU D. van AMERINGEN, M. R. (1.976) Circulating catecholamine levels in human and experimental hypertension. *Circulation Research*, 38, 109-114.
49. ENGELMAN K PORTHOY, SJOERDSMA, A. (1.970). Plasma catecholamine concentrations in patients with Pheochromocytoma-Circulation. *Research. (Supplement 1) 26, I141-I146.*
50. ENERO, M.A., LANGER S.Z., ROTHLIN R.P., STEFANO F.J.E. (1972) Role of alpha-adrenoreceptor in regulating noradrenaline overflow by nerve stimulation. *British. Journal of Pharmacology* 44, 672 - 688.

51. EBSTEIN R.P., FREEDMAN L.S., LIEBERMAN A. , et al : A familial study in serum dopamine B hydroxylase levels in torsion dystonia. Neurology 24, 684 - 687 (1.974).
52. EDWARDS A.V., SILVER M. (1.970) The glycogenolytic response to stimulation of the splanchnic nerves in adrenalectomized calves Journal of Physiology 231, 529-537.
53. FAIN J.N. (1.973) Biochemical aspects of drug and hormone - action on adipose tissue. Pharmacological Reviews 25, 67-118.
54. FELDBERG W, LEWIS G.P. (1.964) The action of peptides on the adrenal medulla. Release of adrenaline by bradykinin and angiotension. Journal of Physiology 171, 98 - 108.
55. FELBERG W. , MINZ B., TSUDZIMURA H. (1.934) The mechanism of the nervous discharge of adrenaline. Journal of Physiology 81, 286 - 304.
56. FINK G.D., PAULD L.G., FISHER J.W. (1.975). Effects of beta adrenergic blocking agents on erythropoietin production in rabbits exposed to hypoxia. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 193, 176-181.
57. FISCHER J.A. , BLUM J.W., BINSWANGER U. (1.973) Acute para - thyroid hormone response to epinephrine in vivo. Journal of Clinical Investigation 52, 2434-2440.

58. FISHER J.W., SAMUELS A.I., LANGSTON J. (1.968). Effects of -
angiotensine, norepinephrine and renal artery constriction
on erythropoietin production ANNALS of the New York Academy
of Sciences 149, 308-317.
59. FREEDMAN L.S., GOLDSTEIN M. COLEMAN M : Serum dopamine B hy-
droxylase activity in Down's syndrome: A familial study, Res
Comm Chem Pathol Pharmacol 8 : 543-549, 1.974.
60. FREWIN D.B., DOWNEY J.A., LEWIT M: The effect of heat, cold,
and exercise on plasma dopamine B hydroxylase activity in -
Man. Can J Physiol Pharmacol 51 : 986-989, 1.973.
61. FRIEDMAN, S., KAUFMAN S. (1.965) 3.4 dihydroxyphenylethyle-
mine B hydroxylase. Journal of Biological Chemistry, 240, -
4763-4773.
62. FROHMAN, L.A. , BERNARDIS, L.L. (1.971) Effect of hypothalamic
stimulation on plasma glucose, insulin, and glucagon levels.
American Journal of Physiology, 221, 1.596-1603.
63. FUNK, C. (1.911). Synthesis of d-1-3:4-dihydroxy phenylalani-
ne. Journal of the Chemical Society 99, 554-557.
64. FUXE K., HOKFELT T., BOLMEP, GOLDSTEIN M., (1.975): The topo-
graphy of central catecholamine pathwais in relation to their
possible role in blood-pressure control. In Central Action of
Drugs in Blood Pressure Regulation (Ed). Davies D.S., Reid -
J.L. pp 8-23. London : Pitman Medical.

65. FUXE K., GOLDSTEIN M., HOKFELT T. et al : Immunohistochemical localization of dopamine B hydroxylase in the peripheral and central nervous system. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1: 627-636 (1.970).
66. GARBER A.J., KARL I.E., KIPNIS D.M. (1.976) Alanine and glutamine synthesis and release from skeletal muscle. IV B-Adrenergic inhibition of amino acid release. *Journal of Biological Chemistry* 251, 851-857.
67. GEFFEN L.B., RUSH R.A., LOUIS W.J., et al : Plasma dopamine B hydroxylase and noradrenalina amounts in essential hypertension. *Clin. Sci* 44: 617-620, (1.973 a).
68. GOLDBERG L.I. (1.975) The dopamine vascular receptor. *Biochemical Pharmacology* 24, 651-653.
69. GOLDBERG N.D., HADDOX M.K., NICOL S.E., et al : (1.975) - Biological regulation through opposing influences of cyclic GMP and cyclic AMP: the Yin Yang hypothesis-*Advances in Cyclic Nucleotide Research*, 5, 307-330.
70. GOLDSTEIN M., FREEDMAN L., BOHVAN AC., et al : Serum dopamine B hydroxylase activity, in neuroblastoma-N. *Engl. J. Med* 286: 1123-1125 (1.972).
71. GOLDSTEIN M. FREEDMAN L.S., EBSTEIN R.P., et al : Studies on dopamine B hydroxylase in mental disorders. *J. Psychiatr Res* 11: 205-210, (1.974).

72. GUIDOTTI, A., COSTA E. (1.973). Involvement of a deosine 3'-5'-monophosphate in the activation of tyrosine hydroxylase - elicited by drugs. *Science* 179, 902-904.
73. GREENGARD P. (1.976) Possible role for cyclic nucleotides and phosphorylated membrane proteins in postsynaptic actions of neurotransmitters . *Nature* 260, 101-108.
74. GUTMAN Y., SEGAL J. (1.972). Effect of calcium , sodium and potassium on adrenal tyrosine hydroxylase activity in vitro. *Biochemical Pharmacology* 21, 2664-2666.
75. HAMMES, G.G., RODBELL, M. (1.976) Simple model for hormone-activated adenylate cyclase systems. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 73, 1189-1192.
76. HANSSON B.G., HOKFELT B., (1.976) Long term treatment of moderate hypertension with penbutolol (Hve 893a). II. Effect on hu response of plasma catecholamines and plasma renin activity to insulin-induced hypoglycemia. *European Journal of Clinical Pharmacology* 9. 245-251.
77. HARDMAN, J.G., DAVIS, J.W. SUTHERLAND E.W. (1.966) Measurement of Guanosine 3'5' monophosphate and other cyclic nucleotides. Variations in urinary excretion with hormonal state of the - rat. *Journal of Biological chemistry*, 241, 4812-4815.
78. HAYE J.R., ARDILL, S., KENNEDY, T.I., SHANKS R.G., BUCHANAN K.D. (1.972) Stimulation of gastrin release by catecholamines. *Lancet*, 1, 819-821.

79. HELLE K.B. (1.966) Some chemical and physical properties - of the soluble protein fraction of bovine adrenal chromaffin granules. *Molecular Pharmacology* 2, 298-310.
80. HERTING G., AXELROD J., WHITBY L.G. (1.961) Effect of drugs on the uptake and metabolism of H3 norepinephrine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 134, 145-153.
81. H. ABERG WETTERBERG L. ROSS S.B. et al : Dopamine B-hydroxylase in hypertension. *Acta Med. Scand* 196 : 17-20 (1.974).
82. HEYMANS, C. (1.929) Le sinus carotidien, zone réflexogène - régulatrice du tonus vagal cardiaque du tonus névovascularie et de l'adrénaline-sécrétion. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie*, 35 , 269 - 306.
83. HIMMS-HAGEN, J. (1.972) Effects of catecholamines on metabolism. In *Handbook of Experimental pharmacology XXXIII Catecholamines* (Ed) Blaschko, H. MUSCHOLL, E pp. 363-462. Berlin: Springer-Verlag.
84. HIRSCH L.J., AYABE T., GLICK G. (1.976) Direct effects of various catecholamines on liver circulation in dogs. *American Journal of Physiology*, 230. 1.394 - 1.399.
85. HOKIN M.R., BENFEY, B.G. , HOKIN L.E. (1.958) Phospholipides and adrenaline secretion in Guinea pig adrenal medulla. *Journal of Biological Chemistry* 233, 814 - 817.
86. HOLTZ P. (1.939) Dopadecarboxylase. *Naturwissenschaften*, 27, - 724-725.

87. HOLZBAVER M., SHARMAN D.F. (1.972) The distribution of catecholamines in vertebrates. In Handbook of Experimental Pharmacology XXXIII. Catecholamines (Ed) Blaschko, H- MUSCHOLL, E-pp, 110- 185. Berlin : Spinger-Verlag.
88. HOUSSAY B.A. , MOLINELLI E.A., (1.928). Excitabilité des fibres adrenergiques secretoires du nerf grand oplanchnique. Fri queures, sevis et optimum des stimulus Rôle de l'ion calcium. Comptes Rendues de la Societe de Biologie 99 (172-174).
89. IVERSEN, J. (1.973) Adrenergic receptors and the secretion - of Glucagon and insulin from the isolated, perfused canine pancreas. Journal of clinical Investigation, 52, 2102-2116.
- 90, IVERSEN L.L. (1.975) Dopamine receptors in the brain. Science, 188, 1084-1089.
- 91, IVERSEN, L. L. (1.965) The uptake of catecholamines and - high perfusion concentrations in the rat isolated heart: a no vel catecholamine uptake process. Busih Journal of pharmacology and chemohurapy 25, 18 - 33 .
92. JOHNSON, S.A., DAVIS J.O.,, WITTY R.T. (1.971) Effects of - catecholamines and renal nerve stimulation on renin release in the non-filtering kidney. Circulation Research, 29, 646-653.
93. JUNSTAD M. WENNMALM, A. (1.973) On the release of prostaglandi n ez from the rabbit heart following in fusion of noradrenali ne. Acta Physiologica Scandinavica, 87, 573-574.

- 94 KATZ, B. (1.969) the release of Neural Transmitter Substances. Liverpool: Liverpool University Press. 60 pp.
- 95 KIRSHNER N. SMITH W.J. (1.969) Metabolic requirements for rerecutation from the adrenal medulla. Life Sciences, 8, part 1, - 799-803.
- 96 KNEER, N.M. , BOSCH A.L. , CLARK M.G. y LARDY H.A. (1.974). Gencore inhibition of epinefrine stimulation of hepatic glugucogenesis by blockade of the α - receptor function. Proceedings of the National Academy of Sciences of the Unites States of America 71, 4523 - 4527.
- 97 KOPIN I.J. (1.960) Techenique for the study of alternate metaubolic pathways : epinephrine metabolisne in man. Science, 131, 1372 -1374.
- 98 KOPIN, I.J. (1.964) Storage and metabolisne of catecholamines: The role of monocurine oxidase. Pharmacology Review 16, 179-191.
- 99 KOPIN I.J. y GORDON E. (1.963) Metabolism of administered and chug-renased norepinephrine-7-H3 in the rat. Journal of Pharmacology 140, 207-216.
- 100 KOPIN I.J. y GORDON , E.K. (1.963) Metabolism of administered and chug-released norepinefrine 7-H3 in the rat. Journal of pharmacology and Experimental Therapeutics 140, 207-216.
- 101 KUCZENSKI R.T., y MANDELL, A.S. (1.972) Allosteric activation of hypothalamic tyrosine hydroxylase by cons cuid sulfated -

- mucopolysantrarides. Journal of Nemochemis tuy, 19, 131-137.
- 102 KUO I.C.Y. y COFFE C.R. (1.976) Purification and characterization of a troponin-C- like protein from bovine adrenal medulla . Journal of Biologicas chemietuy 251, 1603 a 1609.
- 103 KUKRESA S.C., HARGIS G.K., BOWSER E.N. y WILLIAMS G.A. (1975). Role of adrenergic stimulli in parathyroid hormone secretion in man. Journal of llinical endocinology and Metabolism, 40 , 478 -481.
- 104 KUKRESA S.C., BANERJEE P. y WILLIAMS G.A. (1.976)a, Selectione B. receptor mediation of parathuyroid hormone secretion, Clinical Research, 24, 363 A.
- 105 LAMPDECHT F. ANDRES, R. y KOPIN I.J. : Pharma dopamine -B- hydroxylase: constance of levels in normotensive adults and decuases with development of blood pressine elevativa. Life sci 17, 749 - 754. 1.975.
- 106 LANGER S.Z., y ENERO M.A. (1.974) the protentiation of responses to adrenergic nerve etimulation in the presence of cocaine: its relationship of the metabolic fate of released norepinefhine. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 191, 431-443.
- 107 LANGLEY J.N. (1.905) On the reaction of ceus and of neuve-endings to certain poisons, chiegly as rogard the reaction of stiated muscle to incotine and to curai. Journal of Physiology 33, 374 - 413.

- 108 LANGLEY, S.N. (1.901) The difference of behaviour of central and peripheral pilomotor nerve cells. *Journal of Physiology*, 27, 224-236
- 109 LECLERCQ-MEYER, V. BRISSON G.R. y MALAISE, W.J. (1.971) Effect of adrenaline and glucosa on release of gencagon and insulin in vitro. *Nature; New Biology* 231, 248-249.
110. LEFKOWITZ, R.J. (1.974). Stimulation of catecholamine-sensitive adenylyl cyclase by S'guanylyl-inido diphosphate. — *Journal of Biological Chemistry* 249, 6119- 6124.
- 111 LEFKOWITZ (1.976). The B-adrenergic receptor. *Life Sciences*, 18, 461-472.
- 112 LEONETTI, G.; MAYER, G MORGANTI y CHIDSEY C.A. (1.975). Hypotensive and renin-suppressing activities of propranolol in hypertensive patients. *Clinical Science and Molecular Medicine* 48, 491- 499.
- 113 LEVEY, G.S. (1.971) Restoration of norepinephrine responsiveness of solubilised myocardial adenylylase by phosphatidylinositol. *Journal of Biological Chemistry* 246, 7405-7407.
- 114 LEVIN E.Y.; LEVENBERG, B y KAUFMAN, S. (1.960). The enzymatic conversion of 3,4, dihydroxyphenylethylamine to norepinephrine. *Journal of Biological Chemistry* 235, 2080-2086.
- 115 LIEBERMAN A.N.; FREEDMAN L.S. y GOLDSTEIN, M. Serum dopamine-B-hydroxylase activity in patients with Huntington's chorea and Parkinson's disease. *Lancet* 1:153-154, 1.972.

- 116.- LIN, Y.M.; LIU, Y.P. y CHEUNG, W.Y. (1.974). Cyclic 3'-5'- nucleotide phosphodiesterase. Purification, characterization and active foun of the proteine activator from bovine brain. Journal of Biological Chemistry. 249.4943-4954.
- 117.- LOEWI, D. (1.921) ober humorase ubertraybarkeit der therznerwizkury. Plnegers archiv fur die gesamte physiologie, 189, 239-242
- 118.- LOVENBERG, W.; WEISSBACH, H. y UDENFRIED, S. (1.962) Aromatic-L aminoacid decarboxylase. Journal of biological chemistry, 237, 89-93.
- 119.- LUCY, S.A. (1.970). The fusion of biological membranes-nature 227, 814-817.
- 120.- LLOYD, T. y KAUFMAN, S. (1.974). The stimulation of partinachy punfied bovine candate tyrosine hidroxidace by phospheratydil-LSeime. Biochemical and Biophysical research communications, 59, 1262, 1269..
- 121.- ANTON et DAYRE. Dopamina Fluorimétrico. J. Pharmacal Exptl. Therap. 1.962, 138-360.
- 122.- MAAYAN, M.L. & INGBAR, S.H. (1.970. Effect of efinefibrine on iodine and intermediary metabolism of violates calf thyroid cells. Endocrinology. 92, 912-916.
- 123.- MALMEJAC, J. 1.964, Activity of adrenal medulla and its regulations. Physiological Rewiews. 44, 186-218.
- 124.- MATTA, R.J., WASTEN, S.F. The pharmacology of fusanic acid in man. Clin. Pharmacol ther. 14: 541-546. 1.973.
- 125.- MELANDER, A. NILSON, E. & SUNDLER, F. (1.972) Sympathetic activation of thyroid hormone secretion in mice. Endocrinology. 90-194-199.

- 134.- distribution of dopamine, tyramine and their B-hydroxylated metabolites. Life Sciences 3,-769-775.
- 135.- MUSACCHIO, I.M., WEISE, V.K. & KOPIN, I.I. (1.965). Some observations on the mechanisms of nor epinephrine binding. Nature. 205, 606-607.
- 136.- MUSCHOLL, E. (1.972) Adrenergic false transmitters. In catecholamines. Handbook of experimental pharmacology. vol. 33 (Ed) Blaschok H. & Muscholl E. pp. 618-652. Berlin Springer Verlag.
- 137.- NAGATSU, T., KUZUYA, H. & HIDAKA, H. (1.967) Inhibition of dopamine B-hydroxylase by sulphhydryl compounds and the nature of the natural inhibitors. Biochemica et biophysica Acta. 139, 319-327.
- 138.- NAGATSU, L.; LEVITT, M. & UDENFRIENDS (1.964). Tyrosin hydroxylase. The initial step in norepinephrine biosynthesis. Journal of Biological chemistry. 239, 2910-2917.
- 139.- NAGATSU, T., HIDAKA, H., KUZUYA, H., TAREYA, K. & HIROTUKII, S. (1.970) Inhibition of dopamine B-Hydroxylase by fusarin and (5-butylpivolinic acid) in vitro and in vivo. Biochemistry and Pharmacology 19, 33-44.
- 140.- NAGATSU, T., UDENFRIENDS; S. Photometric Assay of Dopamine B-hydroxylase. Activity in human blood. Clinica Chemistry Vol. 18-19 (1.972).
- 141.- NASH; C.W.; SMITH, R.L. & MAICKEL, R.P. (1.961) In situ study of fatty acid release from adipose tissue. The Pharmacology. Gist. 3, 55.
- 142.- NORTH, R.H., SPAULDING, S.W. Decreased serum dopamine B-hydroxylase in hypothyroidism. J. Clin. Endocrinology Metabolism. 39-614-617, 1.974.
- 143.- N. KIRSNER: Pathway of noradrenaline formation from do-

- pa. J. Biological Chem. 226: 821-825. 1.957.
- 144.- OGIHARA, T., NUGENT, C., SHEN, S., et al. Serum dopamine-B hydroxylase activity in parents and children. J. Lab. clin Med. 85, 566-573, 1.975.
- 145.- OKADA, T., FUSITAT, OHTA, et al. A 24 hour rhythm in human serum dopamine-B-hydroxylase activity-Experientia 30-605-607. 1.974.
- 146.- OKADA, T.; FUJITA, T., OHTA, E. et al. A 24 hour rhythm in human serum dopamine B-hydroxylase activity. Res. Comm. - Chemistry Path. Pharmacol. 6: 873-878, 1.973.
- 147.- ORLY, J. & SCHRAMM, M. (1.975) Fatty acids as modulators - of membrane functions: catecholamine-activates adenylate cyclase of the turkey erythrocyte. Proceedings of the National Academy of Science of U.S.A.
- 148.- OTSUKA, K., ASSAYKANN, T.A., GOLDFIEN, A. & GANONG; W.F. (1970) Effects of hypoglycemia on plasma renin activity in dogs. Endocrinology. 87, 1.306-1317.
- 149.- PETRACK; B.; SHEPPY, F.; FETZERV & Na D. n° 15 (1.972) Effect of fezzons ion on tyrosine hydroxylase of bovine adrenas - medulla- Journal of Biological Chemistry 247:48724878.
- 150.- POHL, S.L., KRANI, M.J. & RUDBELL, M., 1.971. The glucagon sensitive adenylcyclase system in plasma membranes of rat liver. Journal of Biological Chemistry 246- 4447-4454.
- 151.- PORTER, C.C. (1.971) Aromatic amino acid decarboxylase inhibitors. Federation Proceedings, 30-871-876.
- 152.- PORTE, D., JR. ; GIRARDIER, L. SEXBOOX; S. KANAZAWA; Y. & PORTE NAK, I. (1.973). Neural regulation of insulin secretion in the dog regulation of insulin secretion in the dog. 'Journal of Clinical Investigation 45: 228-236.

- 153.- POTTER, L.T. & AXELROD, I. (1.963). Subcellular localization of catecholamines in tissues of the rat. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 142, 291-298.
- 154.- REID, J.L. & KOPIN, I.J.; (1.975) Effects of ganglionic blockade, eserpine, and vinblastine on plasma catecholamine and dopamine- β -hydroxylase in rat. *Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 193/748-756.
- 155.- RICHARDSON; P.D.I. & WITHRINGTON, P.G. (1.976). The inhibition by glucagon of the vasoconstrictor actions of norepinephrine-angiotensin and vasopressin on the hepatic arterial vascular bed of the dog. *British Journal of Pharmacology* 57, 403-405.
- 156.- ROCKSON, S.G.; STONE, R.; WEYDEN, M. et al. Lesch Nyhan syndrome: evidence for abnormal adrenergic function. *Science* 186 934-935, 1.974.
- 157.- ROCKSON, S.G.; STONE, R.A.; GUNNELS, J.C. et al. Plasma dopamine β Hydroxylase activity in oral contraceptive hypertension. *Circulation* 51: 916-23, 1.975.
- 158.- ROBBELL, M.; LIN, M.; SALOMON, Y. & LONDOS, C. (1.975) Role of adenine and guanine nucleotides in the activity and response of adenylate cyclase systems to hormones: evidence for multisite transition states. *Advances in cyclic nucleotide Research*. 5, 3, 30.
- 159.- SAAVEDRA, J.M. GROBECKER, H. & AXELROD, J. (1.975) Adrenaline furning enzyme in brain stem. elevation in genetic and experimental hypertension. *Science*. 191, 483-484.
- 160.- SAMUELSSON, B; WENNMALM, (1.971) Increased nerve stimulation induced release of noradrenaline from rabbit heart after inhibition of prostaglandin synthesis. *Acta physiologica - Scandinavica*. 83, 163-168.
- 161.- SJOERDSMA, S.; ENGELMAN, K.; SPECTOR, S.A.; UDENFRIEND, S. (1.965) Inhibition of catecholamines synthesis in man with

a methyltyrosine, an inhibitor of tyrosine hydroxylase
Lancet II, 1.092-1.094.

- 162.- SMITH, A.D. & WINKLER, H. (1.972) Fundamental mechanism in - the release of catecholamine, an . In Catecholamines. Hand book of experimental pharmacology. Vol. 33 (Ed.) Blaschko H. & Muscholl. E. Berlin. Springer Verlag.
- 163.- STEER, M.L. (1.976). Cyclic AMP. Annals of surgery 184, 107-115.
- 164.- SUTHERLAND, E.W.; RALLT, W. (1.960) The relation of adenosine 3'-5' phosphate and phosphorylase to the actions of catecholamines and others hormones. Pharmacology Review. 12-2-265-299.
- 165.- SUTHERLAND, E.W.; ROBINSON, G.A. & BUTCHER, R.W. (1.968) Some aspects of the biological role of adenosine 3'-5' monophosphate (cyclic AMP) Circulation 37, 279-306.
- 166.- SMITH, A.D. & WINKLER, H. (1.972) Fundamental mechanism in - the release of catecholamines. In catecholamines. Hand book of experimental pharmacology . Vol. 33. (Ed.). Blaschko, H. Muscholl. E. Berlin. Springer-Verlag.
- 167.- SPECTOR, S.; SJOERDSMA, A. & UNDEFRIED, S. (1.966) Blockade of endogenous norepinephrine synthesis by a methyltyrosine an inhibitor of tyrosine hydroxylase. Journal pharmacology and experimental therapeutics. 147, 86-95.
- 168.- SHIMAZU, T. & AMAKAWA, A. (1.968) Regulation of glycogen metabolism in liver by the autonomic nervous system III. Differential effects of sympathetic nerve stimulation and of catecholamines on liver phosphorylase. Biochimica et biophysica. Acta, 165, 349-356.
- 169.- SOKAL, J.E.; SARCIONE, E.J. & HENDERSON, A.M. (1.964). Relative potency of glucagon and epinephrine as hepatic glycogenolytic agents studies with the isolated perfused rat liver. Endocrinology 74, 930-938.

- 170.- TRIFARO, M.; POISNER, A.M. y DOUGLAS; N.W. (1.967) The fate of the chromaffin granules during catecholamines release from the adrenal medulla. J. Unchanged gland. Anticholinergic action, not an effect upon microtubules. *Molecular Pharmacology* 8, 264-2095-2.100
- 171.- TAKATU, F.; HARASHIMA, K.; OKINAKA, S. (1.962). Studies on the mechanism of erythropoictin production. II. Effect of bilateral section of the splanchnic nerves. *Journal of Laboratory and clinical Medicine*. 59, 821-825.
- 172.- TICE, L.W.; CREVELING, C.R. (1975). Electron microscopic identification of adrenergic nerve endings of thyroid epithelial cells. *Endocrinology*. 97-1123-1129.
- 173.- TRANZER, J.P. ; THOENEN, H. (1.967) Ultramorphologische Veränderungen der sympathischen Nervenendigungen der Katze nach Vorbehandlung mit 5- und 6-Hydroxydopamin. *Neurologische Archiv des Pharmakology* 257-343-344.
- 174.- UDENFRIEND, S.; ZALTZMAN-NIRENBERG, P. y NAGATSU, T. (1965) Inhibitors of purified beef adrenal tyrosine hydroxylase *Biochemistry and Pharmacology* 14-837-845.
- 175.- VON EULER, U.S. Diagnosis of pheochromocytoma by biometric estimation of adrenaline. *Scand. Clin. Lab. Inv.* (1.956)
- 176.- VON EULER, U.S. (1.948) Identification of the sympathomimetic ergone in adrenergic nerves of cattle (Sympathin N) - with laevo-noradrenaline. *Acta physiologica Scandinavica*. 16-63-74.
- 177.- VON EULER, U.S.; HILLARPF. (1.963) Catecholamine release and uptake in isolated adrenergic nerve granules. *Acta Physiologica Scandinavica*. 57-468-480.
- 178.- VANDONGEN, R.; GREENWOOD, D.M. (1.975) The stimulation of renin secretion by non-vasoconstrictor infusions of adrenaline and noradrenaline in the isolated rat kidney. *Clinical*

Sciences and molecular medicina, 49,609-612.

- 179.- VANDONGEN, R.; PEART, W.S. (1.974) The inhibition of renin secretion by alpha adrenergic stimulation in the isolated rat kidney. Clinical Science and molecular medicine, 47,- 471-479.
- 180.- VINET, A. (1.940) De la dioxuphenyllalanine a l'drenaline par voie biochimique. Bulletin de la Société de Chimie Biologique, 22-559-562.
- 181.- VIVEROS, O.H.; ARQUEROS, L. y KIRSHNER (1.968) Release of catecholamines and dopamine B oxidase from the adrenal medulla. Life Sciences 7 part. 1, 609-618.
- 182.- VOGT, M. (1.952) The secretion of the denervated adrenal medulla of the cat. British Journal of Pharmacology 7, 325- - 330.+
- 183.- WOLFE; D.E., POTTER, L.T.; RICHARDSON, K.C.; AXELROD, J. - (1.962). Localizing tritiated norepinephrine in sympathetic axons by electron microscopy and autoradiography. Sciences. 138-440.
- 184.- WOOTEN, G.F.; KOPIN; I.J.; AXELROD, J. (1.975) Effects of colchicine and vinblastine on axonal transport and transmitter release in sympathetic nerves. Annals of the New York Academy of Science. 253,,528-534.
- 185.- WOOTEN, G.F.; THOA, N.B.; KOPIN, I.J. y AXELROD (1.973) (1973) Enhanced release of dopamine B hydroxylase and norepinephrine from sympathetic nerves by dibutyryl cyclic adenosine 3' 5' monophosphate and theophylline. Molecular Pharmacology. 9,178-183.
- 186.- WINKLER, H. (1971) The membrane of the chromaffin granule. Physiological transaction of the Royal Society of London B-261,293-303.

- 187.- WINKLER, H. Y SMITH, A.D. (1.972) Phaeochromocytoma and - other catecholamine-producing tumors. In Handbook of experimental pharmacology. Vol. 33. Catecholamines (Ed.) Blaschko. H. y Muscholl. E. pp. 900-933. Berlin Springer-Verlag
- 188.- WINKLER, H.; HORTNAGL.; H. HORTNAGL, H. & SMITH, A.D. (1.970) Membranes of the adrenal medulla. Biochemical Journal. 118, 303-310.
- 189.- WALLACH, D. and PASTAN, I. (1.976) Stimulation of membranous guanylate cyclase by concentrations of calcium that are - in the physiological range. Biochemical and biophysical - research communications. 72, 859-865.
- 190.- WOLFE, B.B.; HARDEN, T.K.; MOLINOFF, P.B. (1.976) B Adrenergic receptors in rat liver: effects of adrenalectomy. Proceeding of the National Academy of Science of the United States of America. 73, 1343-1347.
- 191.- ZINDER, O.; NIKODEJEVIC, O.; HOFFMAN, P. y POLLARD; H.B. - (1.976). Regulation of secretion from the adrenal medulla. Evidence for adenylate cyclase activity in secretory vesicle membranes. Journal of Biological Chemistry. 251, 2179-2181.
- 192.- VIVEROS, O.H.; ARQUEROS, L.; CONNET, R.C.: Transsynaptic induction of tyrosine hydroxylase. J. Pharmacol. exp. ther. 169 249-254.
- 193.- WEINSHILNOUM, R.M. AXELROD, J. Serum dopamine beta hydroxylase activity. Circ. Res. 28:307-315. 1.971.
- 194.- WIETHOLD, H.; PLANZ, G. APPEL; E. et al. Correlation between increased dopamine B hydroxylase activity and catecholamine concentration in plasma. Determination of acute changes in sympathetic activity in man. Eur. J. Clin. Pharmacol. 8: 181-188.
- 195.- WOOTEN, G.F.; ELDRIDGE, R.; AXELROD, J. et al. Elevated plas

- 195.- ma dopamine B hydroxylase activity in an autosomal dominant torsion dystonia. N. Engl. Med. 288-284-288,1.973.
- 196.- WEINSHILBOUM, R.M.; ABERG, H.; ROSS, SB et al. Plasma dopamine B hydroxylase activity in hypertension and various neuropsychiatric disorders. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 30-283-289,1.972.
- 197.- WISE, C.D. STEIN, L. Dopamine B hydroxylase deficits in the brains of schizophrenic patients. Science. 181;433-437,-1.973.
- 198.- WYAT, R.J.; SCHWARTZ, M.A.; ERDELYI, E. et al. Dopamine B hydroxylase activity in brains of chronic schizophrenic patients. Science. 187: 368-369,1.975.
- 199.- HABER, E.; KOERNER, T.; PAGE, LB et al. Application of radioimmunoassay for angiotensin I to the physiologic measurements of plasma renin activity in normal human subjects. J. Clin. Endocrinology 29:1349,1355,1.969.
- 200.- ANTON Y SAYRE, Dopamine fluorimetrico. J. Pharmacol. Therap. 1.962, 138-360.
- 201.- SHALIBI, S.M.; STONE, P.A. Plasma dopamine B hydroxylase: a possible aid in the evaluation of hypertension. Adv. Biochem. psychopharmacol. 12-129-133,1.974.

203.- WETTEMBERG,L.; HABERG,H. Plasma dopamine B hydroxylase activity in hypertension and various neuropsychiatry disorders. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 30: 283-289,1.972.

204.- DEROBERTIS. 1.957. Electron-microscope studies of the excretion of catechol containing droplets in the adrenal - medulla. Experimental Cells. Research. 12: 568-574.