

La Serie Universitaria de la Fundación Juan March presenta resúmenes, realizados por el propio autor, de algunos estudios e investigaciones llevados a cabo por los becarios de la Fundación y aprobados por los Asesores Secretarios de los distintos Departamentos.

El texto íntegro de las Memorias correspondientes se encuentra en la Biblioteca de la Fundación (Castello, 77. Madrid-6).

La lista completa de los trabajos aprobados se presenta, en forma de fichas, en los Cuadernos Bibliográficos que publica la Fundación Juan March.

Estos trabajos abarcan las siguientes especialidades: Arquitectura y Urbanismo; Artes Plásticas; Biología; Ciencias Agrarias; Ciencias Sociales; Comunicación Social; Derecho; Economía; Filosofía; Física; Geología; Historia; Ingeniería; Literatura y Filología; Matemáticas; Medicina, Farmacia y Veterinaria; Música; Química; Teología. A ellas corresponden los colores de la cubierta.

Edición no venal de 300 ejemplares, que se reparte gratuitamente a investigadores, Bibliotecas y Centros especializados de toda España.

Este trabajo fue realizado con una beca de España, 1970. Departamento de Medicina, Farmacia y Veterinaria.

Fundación Juan March



FJM-Uni 20-Ser
Análisis farmacológico de las acciones
Serrano Molina, José Salvador.
1031629



Biblioteca FJM

Fundación Juan March (Madrid)

SERIE UNIVERSITARIA



Fundación Juan March

Análisis farmacológico de las acciones miocárdicas de bloqueantes beta-adrenérgicos

José Salvador Serrano Molina

FJM
Uni-
20
Ser

20

Análisis de acciones miocárdicas de bloqueantes beta-adrenérgicos/José Salvador Serrano Molina

Fundación Juan March
Serie Universitaria

20



Análisis farmacológico de las acciones miocárdicas de bloqueantes beta-adrenérgicos

José Salvador Serrano Molina



Fundación Juan March
Castelló, 77. Teléf. 225 44 55
Madrid - 6

Fundación Juan March (Madrid)

Depósito Legal: M – 3307 – 1977

I.S.B.N. 84 - 7075 - 039 - 9

Ibérica, Tarragona, 34.– Madrid-7

Fundación Juan March (Madrid)

I N D I C E

	Página
I.— INTRODUCCION	1
II.— METODOS	3
III.— RESULTADOS	12
IV.— DISCUSION	36
BIBLIOGRAFIA	46

I. INTRODUCCION.

La acción de los bloqueantes beta-adrenérgicos en el corazón tiene varios aspectos cuya resultante es de interés en su uso clínico. Algunos son favorables y pueden cubrir un objetivo clínico, otros pueden ser causa de efectos indeseables. En anteriores trabajos experimentales se ha demostrado en el miocardio de tortuga que la intensidad del bloqueo beta-adrenérgico en cuanto al efecto inotrópico positivo de las catecolaminas es proporcional a la concentración extracelular de la forma no ionizada del bloqueante (22). Confirmar si la citada correlación ocurre también en el miocardio de mamífero nos permitiría suponer que en el bloqueo beta-adrenérgico existe un mecanismo general implicando el paso del agente bloqueante al interior de la célula miocárdica donde tendría lugar el bloqueo. Si la hipótesis es correcta avanzaríamos en el conocimiento íntimo del bloqueo beta-adrenérgico, que aunque se admite como de tipo competitivo

podría presentar interacciones a nivel de la membrana celular y más allá de ella en algún paso intracelular del proceso que va del estímulo del receptor a la activación contráctil.

Algunos bloqueantes beta-adrenérgicos producen además del bloqueo las llamadas acciones intrínsecas, casi siempre son desfavorables en clínica: una acción inotrópica negativa, depresora de la contractilidad o una acción inotrópica positiva, ya que algunos bloqueantes se comportan como agonistas parciales o liberadores de noradrenalina. Los efectos cronotrópicos intrínsecos están menos explorados. Una acción de interés en los bloqueantes beta-adrenérgicos es la acción antiaritmica muy estudiada experimental y clínicamente en los últimos años.

El trabajo que se resume en esta publicación pretendió explorar los efectos y la hipótesis mencionados, en preparaciones cardíacas aisladadas de mamífero. Como agonista se eligió el isoproterenol (ISO) y como antagonista su análogo estructural, el dicloroisoproterenol (DCI), cuya ionización simple es óptima para trabajar en un rango reducido de pH. El DCI se ioniza como catión con un pKa de 9,28 (4) y la cantidad de compuesto ionizado aumenta progresivamente desde pH 6.5 a pH 8.5, reduciéndose proporcionalmente la concentración de la forma catiónica. Ello nos per

mite valorar el papel de dichas formas moleculares en la producción del bloqueo adrenérgico y de las acciones intrínsecas. Los mismos aspectos se han explorado indirectamente con un derivado cuaternario, el N,N-dimetil-dicloroisoproterenol (DCIQ) cuya ionización es independiente del pH, encontrándose totalmente como catión a cualquier pH (Figura 1).

II. MÉTODOS.

En este trabajo se han empleado diversas preparaciones de miocardio aislado de mamífero: aurícula de rata, perro y gato y ventrículo derecho de perro. Las preparaciones de aurícula izquierda y de ventrículo derecho son útiles para el estudio de los efectos inotrópicos; la delgadez de las paredes auriculares y la delgadez relativa de la pared del ventrículo derecho, hacen menores los requerimientos energéticos y permiten una viabilidad adecuada de las preparaciones a pHs entre 6.5 y 8.5. Se utilizan indistintamente animales de ambos sexos, ratas Sprague-Dawley procedentes de nuestro estabulario y perros y gatos mestizos.

El ventrículo derecho se preparó según la técnica de Stewart con algunas modificaciones (10, 27) y las aurículas aisladas se montaron se-

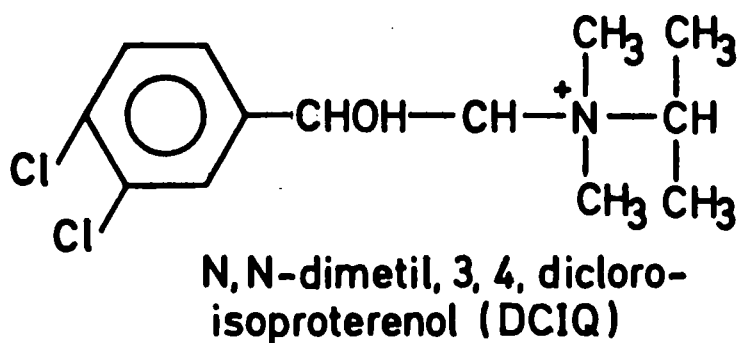
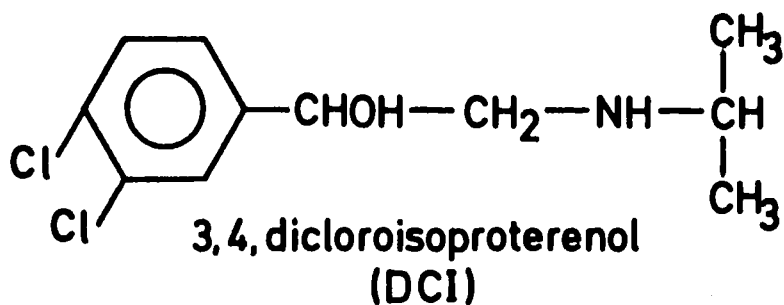
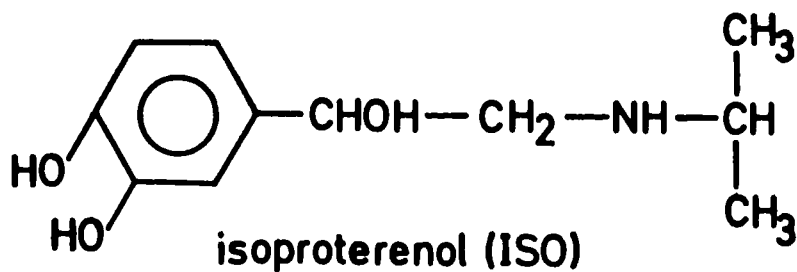


Figura 1.- Estructura química del isoproterenol, dicloroisoproterenol y dicloroisoproterenol cuaternario (DCIQ).

gún la técnica modificada de Furchgott y colaboradores (9, 24) que por estar descritas en las referencias citadas no detallamos. Para las aurículas se usó líquido de Krebs a 37°C y para los ventrículos se empleó solución de Tyrode. Ambas soluciones nutricias fueron gaseadas constantemente con carbógeno y su pH se llevaba al deseado (6.5; 7.5; 8.5) mediante la adición de NaOH 2N o ClH 2N, ajustando con pHmetro Radiometer 25. La aurícula izquierda y ventrículo de recho se estimulaban con una frecuencia de 0.4 Hz y 1 Hz respectivamente, durante 6-10 msecs, con un voltaje doble del umbral (1-5 voltios usualmente), utilizando estimuladores Grass SD5 o S4. El órgano se fijaba a un transductor Grass FT 03 con una tensión de 0'5 g para la aurícula de rata y una tensión de 1g en las preparaciones de gato y perro. Los registros se efectuaron en un polígrafo Beckmann - Offner, Dynograph (Figura 2).

Los efectos sobre presión arterial se estudiaron en rata anestesiada con etiluretano (1g/Kg) y según la técnica de Crawford y Outshoorn (7) vagotomizando al animal para estabilizar la presión arterial y evitar respuestas vagales hipotensoras.

En estos experimentos se usaron los siguientes fármacos: clorhidrato de dl-isoprotere-

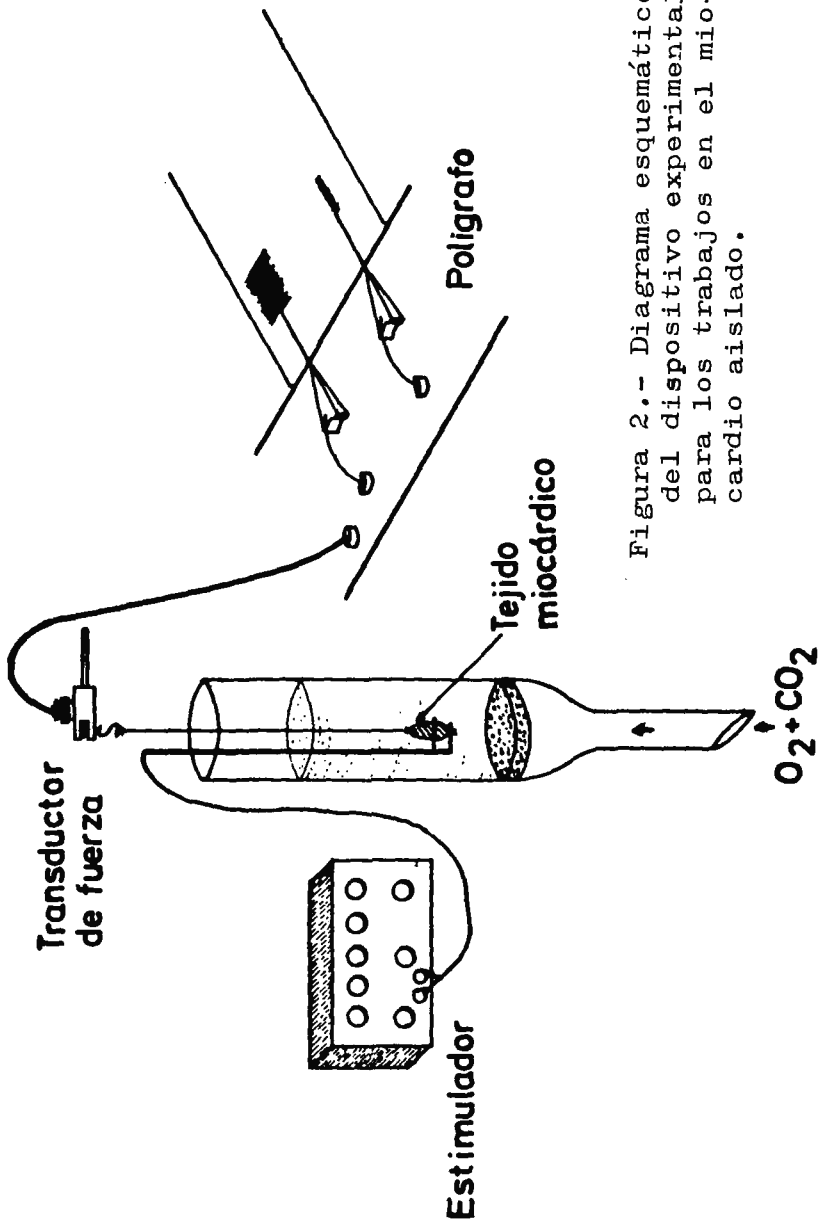


Figura 2.- Diagrama esquemático del dispositivo experimental para los trabajos en el miocardio aislado.

nol (ISO), clorhidrato de dicloroisoproterenol (DCI) y yoduro de N,N-dimetil-dicloroisoproterenol (DCIQ) todos ellos procedentes de Aldrich Chemical Co. de Milwaukee, Estados Unidos. Las soluciones de trabajo de DCI y DCIQ, que son estables, se preparan a partir de soluciones concentradas que se mantenían congeladas. Las soluciones concentradas de isoproterenol se mantienen congeladas y conservan toda su actividad hasta un mes acidificándolas con $\text{ClH } 2\text{N}$; las soluciones de trabajo diluidas se mantienen en hielo picado durante su uso para minimizar la degradación oxidativa. En los resultados que precisaban análisis estadísticos se efectuaron comparaciones pareadas o de grupo, según el caso, mediante la prueba de t de Student, fijando el límite de significación estadística en $P=0,05$ (26).

El planteamiento experimental fué el siguiente:

a) Efectos inotrópicos y cronotrópicos del isoproterenol en función del pH y determinación de su afinidad por los receptores beta-adrenérgicos. Los efectos inotrópicos se valoraron en las preparaciones de aurícula y ventrículo izquierdo estimulados eléctricamente y los efectos cronotrópicos se obtuvieron en las preparaciones de aurícula aislada latiendo espontáneamente con ritmo

sinusal. Ambos efectos se estudiaron mediante curvas dosis-efecto acumulativas según la técnica de Van Rossum y Brink (17, 18), concentraciones entre 10^{-9} y 10^{-5} M, adicionando el fármaco en la copa en volúmenes de 0,05 a 0,1 ml y dejándolo actuar durante 2-3 minutos, tiempo en que el efecto alcanza un valor máximo. Estos experimentos se realizaron en tres series a pH 6.5, 7.5 y 8.5. Como medida de afinidad se determinaron los valores pD_2 según el método de Miller y Ariëns y cols. (2, 16).

b) Bloqueo de las respuestas inotrópicas y cronotrópicas del isoproterenol por DCI, en función del pH. En varias series de experimentos previos se determinó la concentración y tiempo de exposición al antagonista adecuados. En ellas se ensayó DCI a las concentraciones de 5×10^{-8} M, 10^{-7} M, 2×10^{-7} M, 5×10^{-7} M, inyectadas en la copa 15, 20 y 60 minutos antes de iniciar la curva dosis-efecto de isoproterenol que abarca desde 10^{-9} M a 10^{-3} M.

El diseño experimental se llevó a cabo a pH 6.5, 7.5 y 8.5:

1º) Curva dosis-efecto de dl-isoproterenol, con dosis totales variables a cada pH para obtener concentraciones catiónicas constantes de 10^{-9} M,

10^{-8} M, y 10^{-7} M (Tabla I y Figura 3). Posteriormente a la realización de estos experimentos se ha publicado un trabajo muy completo sobre ionización de amins fenólicas, que fija para el isoproterenol los pKas amínico y fenólico en 8,43 y 9,86 (37°C) respectivamente, en lugar de los valores determinados por Lewis de 8,72 y 9,87 respectivamente (4, 14).

2º) Adición de DCI, a la concentración de 5×10^{-7} M en la aurícula derecha y 10^{-7} M en la aurícula izquierda; a los 20 minutos de exposición al bloqueante, se repite la curva dosis-efecto de disoproterenol.

c) Efectos intrínsecos de DCI en aurículas aisladas de rata, perro y gato y ventrículo derecho de perro. Se han realizado curvas dosis-efecto acumulativas para los efectos inotrópico y cronotrópico positivos de DCI, en un rango de concentraciones entre 10^{-9} M y 10^{-4} M, con intervalos de 10 minutos entre cada adición.

d) Efectos intrínsecos de DCIQ en ventrículo y aurículas aisladas de perro, gato y rata. Otras acciones de DCIQ. Los efectos del derivado cuaternario de DCI sobre el inotropismo y cronotropismo cardíacos fueron estudiados en experimentos no seriados antes y después de un pretratamiento

T A B L A I

TECNICA DE LAS ADICIONES DE ISOPROTERENOL. HCl PARA OBTENER CONCENTRACIONES CONSTANTES DE COMPUESTO EN FORMA CATIONICA (ISO⁺) A DISTINTOS VALORES pH EN LOS EXPERIMENTOS DE BLOQUEO BETA-ADRENERGICO.

pH	Concentración de ISO ⁺ total, en ca da adición.	ug de ISO. HCl añadidos en la copa a partir de soluciones conveniente- mente diluidas.	Concentración acu mulativa de ISO en la copa de 15 ml.
6,5	1,005 x 10 ⁻⁹ M	0,372 en 0,1 ml	10 ⁻⁹ M
"	0,904 x 10 ⁻⁸ M	3,35 en 0,09 ml	10 ⁻⁸ M
"	0,904 x 10 ⁻⁷ M	33,47 en 0,09 ml	10 ⁻⁷ M
7,5	1,135 x 10 ⁻⁹ M	0,42 en 0,1 ml	10 ⁻⁹ M
"	1,022 x 10 ⁻⁸ M	3,78 en 0,09 ml	10 ⁻⁸ M
"	1,022 x 10 ⁻⁷ M	37,80 en 0,09 ml	10 ⁻⁷ M
8,5	1,545 x 10 ⁻⁹ M	0,572 en 0,1 ml	10 ⁻⁹ M
"	1,391 x 10 ⁻⁸ M	5,14 en 0,09 ml	10 ⁻⁸ M
"	1,391 x 10 ⁻⁷ M	51,45 en 0,09 ml	10 ⁻⁷ M

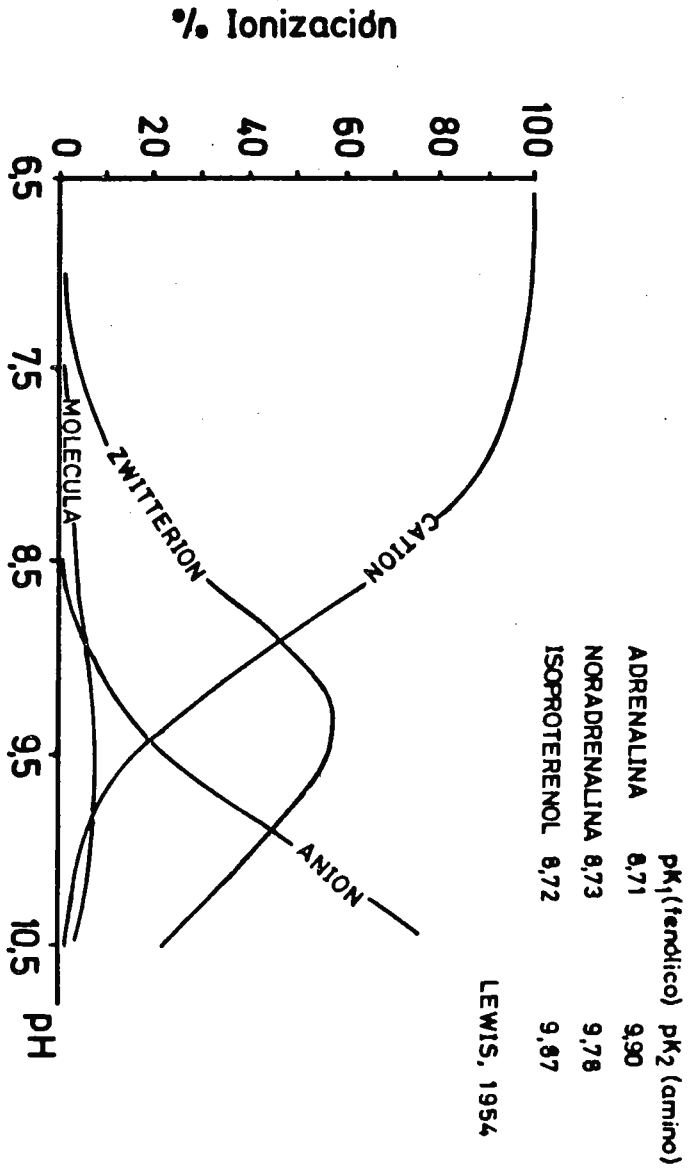


Figura 3.- Curvas de ionización del isoproterenol en función del pH. Por la proximidad de sus pK s fenólico y amínico, las curvas de la adrenalina (epinefrina) y noradrenalina (norepinefrina, levarterenol) son de hecho superponibles a las del isoproterenol (isoprenalina).

con DCI. La posible acción bloqueante beta-adrenérgica de DCIQ se ha investigado frente a las acciones cardíacas del isoproterenol en miocardio aislado y frente a las respuestas hipotensoras al isoproterenol en rata anestesiada.

e) Acción de los bloqueantes beta-adrenérgicos en el automatismo experimental provocado en el ventrículo aislado de rata. Estos estudios fueron continuados con algunos de nuestros colaboradores y publicados anteriormente (21). Con ellos terminó una etapa del proyecto experimental para el que se recibió la Ayuda de la Fundación March.

III. RESULTADOS.

a) Inotropismo y cronotropismo de la aurícula derecha de rata en función del pH del medio. Se han estudiado las respuestas cronotrópicas en la aurícula derecha latiendo espontáneamente, mientras que la actividad inotrópica se ha analizado en las aurículas izquierdas estimuladas eléctricamente a 0,4 Hz. La actividad cronotrópica e inotrópica positiva del dl-isoproterenol se estudió mediante curvas dosis-efecto a pH 6,5; 7,5 y 8,5 expresándose los resultados en las tablas II, III y IV. En los mismos experimentos se han obtenido los valores pD_2 de afinidad del isoproterenol por

T A B L A II

EFFECTOS DEL pH SOBRE EL INOTROPISMO Y CRONOTROPISMO CONTROL DE LA AURICULA AISLADA DE RATA.

Preparación	pH	6,5	7,5	8,5
Aurícula izquierda fuerza contráctil (mg)	349,8 ± 86,6 (10)	246,5 ± 47,0 (11)	314,4 ± 59,5 (10)	
Aurícula derecha fuerza contráctil (mg)	220,8 ± 33,9 (10)	151,2 ± 20,5 (9)	114,1 ± 13,2 (10)	
Aurícula derecha cronotropismo (Contracciones/min.)	250 ± 17 (10)	327 ± 11 (10)	300 ± 14 (10)	

Se representan valores medios ± un error standard. Entre paréntesis se indica el número de experimentos.

T A B L A III

EFECTO INOTROPICO POSITIVO DE dl-ISOPROTERENOL EN AURICULA IZQUIERDA DE RATA.

		Concentracion molar de dl-isoproterenol											
		10 ⁻⁹	5x10 ⁻⁹	10 ⁻⁸	5x10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	2x10 ⁻⁶	3x10 ⁻⁶	4x10 ⁻⁶	5x10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	
A)	pH 6,5	$\bar{X}$ 5,0	18,5	27,1	55,4	73,4	90,3	93,8	90,8	90,4	91,3	92,4	
	S.E.	2,6	5,5	7,7	7,5	7,4	5,3	5,5	5,4	3,6	3,0	3,8	
B)	pH 7,5	$\bar{X}$ 2,9	16,8	19,8	52,4	61,0	92,6	93,4	91,9	89,5	84,6	85,8	
	S.E.	1,2	8,2	6,6	14,6	6,9	2,9	3,0	4,6	4,5	4,5	4,7	
C)	pH 8,5	$\bar{X}$ 1,2	9,2	14,6	44,0	60,3	95,2	97,3	96,9	96,9	95,1	96,0	
	S.E.	0,8	3,1	3,8	7,9	7,5	3,3	2,2	2,3	2,3	2,7	1,7	

$\bar{X}$ = valores medios; S.E. error standard. La respuesta se expresa como % de la fuerza contráctil máxima.

T A B L A IV

EFECTO CRONOTROPICO POSITIVO DE dl-ISOPROTERENOL EN AURICULA DERECHA DE RATA.

		Concentración molar de dl-isoproterenol											
		10 ⁻⁹	5x10 ⁻⁹	10 ⁻⁸	5x10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	2x10 ⁻⁶	3x10 ⁻⁶	4x10 ⁻⁶	5x10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	
A)	pH 6,5	$\bar{X}$	9,9	13,8	21,7	52,0	64,5	84,5	88,5	94,4	83,9	84,4	69,8
		S.E.	4,9	5,7	7,6	8,8	5,7	5,6	4,6	2,7	5,1	4,5	9,7
B)	pH 7,5	$\bar{X}$	6,3	19,9	37,4	61,9	77,5	83,5	89,3	94,4	91,4	91,2	94,3
		S.E.	2,2	8,3	6,9	8,4	4,1	7,2	3,4	3,5	2,8	2,9	2,7
C)	pH 8,5	$\bar{X}$	10,0	27,9	42,4	69,1	77,6	90,8	94,5	98,3	96,2	95,0	94,6
		S.E.	2,4	2,8	3,5	4,1	3,3	2,4	1,9	1,1	1,9	1,7	2,1

$\bar{X}$ = valor medio; S.E. = error standard. La respuesta se expresa como % del estímulo cronotropi
co. máximo.

los receptores cardíacos beta-adrenérgicos (Tabla V). En la Figura 4 se presenta como ejemplo una curva dosis-efecto del efecto inotrópico positivo de isoproterenol y en la Figura 5 se presentan trazos que reflejan las respuestas cronotrópicas al isoproterenol.

En las condiciones experimentales de este estudio la fuerza contráctil control de las aurículas es mayor a pH 6.5 que a pH 7.5. Las diferencias no son sin embargo, significativas - ($P > 0,05$), salvo en el caso de la contractilidad de la aurícula derecha que a pH 6.5 es significativamente mayor que a pH 8.5 ($P < 0,01$). Con respecto a la actividad cronotrópica esta relación no se presenta en el mismo sentido y la mayor frecuencia espontánea se obtiene en las aurículas a pH 7.5 y 8.5; las diferencias son estadísticamente significativas cuando se comparan con las frecuencias a pH 6.5 ($P < 0,05$).

b) Bloqueo por DCI de las respuestas inotrópicas y cronotrópicas positivas de isoproterenol en la aurícula de rata en función del pH del medio. Se realizaron seis series experimentales a pH 6,5; 7,5 y 8,5, cuyos resultados se incluyen en las tablas VI y VII. Se ensayó DCI 5×10^{-7} M en la aurícula derecha y 10^{-7} M en la aurícula izquierda,

T A B L A V

VALORES pD_2 DE AFINIDAD PARA LAS RESPUESTAS CRONOTROPICA E INOTROPICA AL ISOPROTERENOL EN AURICULA AISLADA DE RATA A DIFERENTES pHs.

pH	Aurícula izquierda (Inotropismo)	Aurícula derecha (Cronotropismo)
6,5	$7,40 \pm 0,21$	$7,44 \pm 0,18$
7,5	$7,31 \pm 0,20$	$7,74 \pm 0,11$
8,5	$7,18 \pm 0,15$	$7,78 \pm 0,08$

Se representan valores medios de 10 experimentos en cada grupo, $\pm$ un error standard. En comparación de grupo, las diferencias no son significativas a diferentes valores de pH.

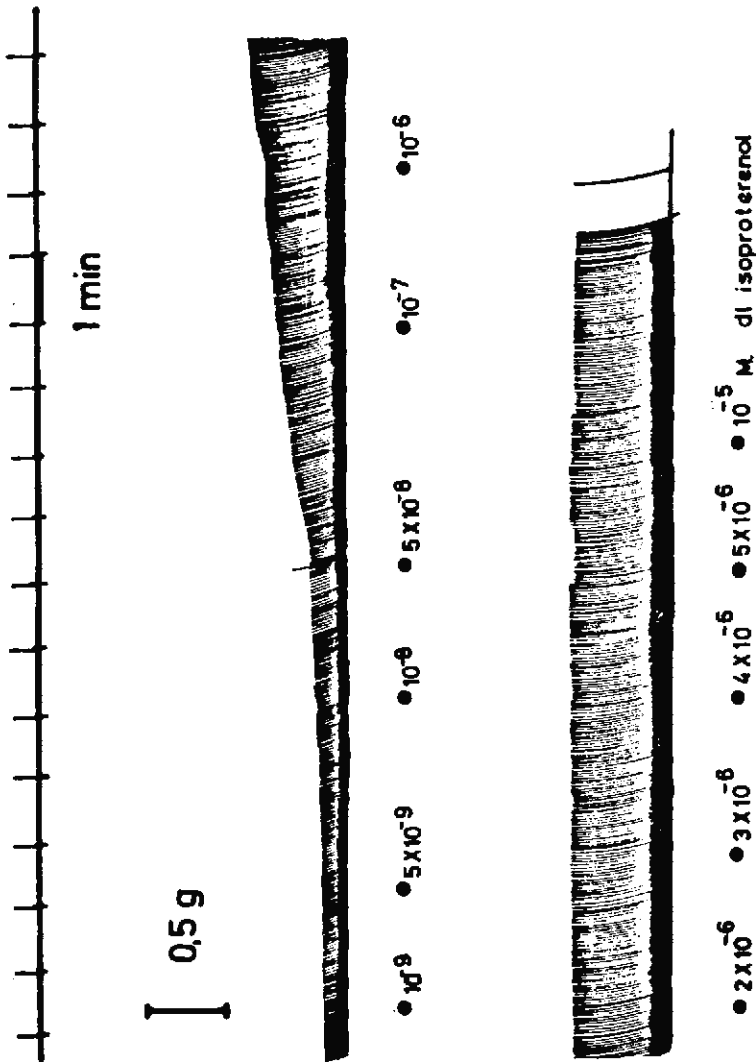


Figura 4.- Registro dosis-efecto del inotropismo positivo producido por isoproterenol en una aurícula izquierda de rata (macho de 460 g) aislada en Krebs a pH 6,5 y estimulada eléctricamente.

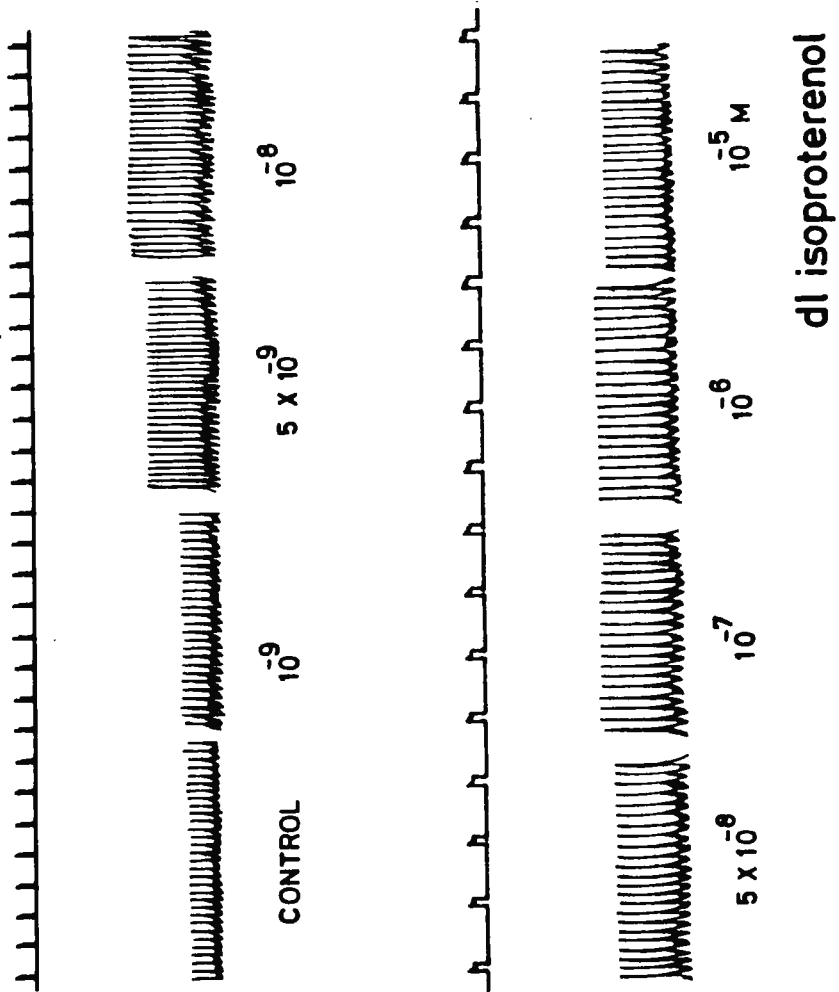


Figura 5.- Efecto cronotrópico positivo de isoproterenol; relación dosis-efecto obtenida en aurícula derecha de rata (macho de 405 g), -- aislada en Krebs a pH 6,5. Los trazos sobre el registro indican tiempo en segundos en ambos paneles.

T A B L A VI

MODIFICACION POR DCI (5×10^{-7} M) DEL CRONOTROPISMO POSITIVO INDUCIDO POR dl-ISOPROTERE-
NOL EN AURICULA DERECHA DE RATA.

	dl-isoproterenol			DCI 20 min.			dl-isoproterenol		
	CONTROL	10^{-9} M	10^{-8} M	10^{-7} M	10^{-8} M	10^{-9} M	10^{-8} M	10^{-7} M	
pH 6,5 (12)	330 $\pm$ 25	398 $\pm$ 13 69 $\pm$ 18	413 $\pm$ 13 82 $\pm$ 19	420 $\pm$ 14 90 $\pm$ 20	420 $\pm$ 16	420 $\pm$ 15 2 $\pm$ 1	422 $\pm$ 13 6 $\pm$ 3	422 $\pm$ 16 4 $\pm$ 3	
pH 7,5 (14)	324 $\pm$ 13	380 $\pm$ 14 56 $\pm$ 10	396 $\pm$ 13 72 $\pm$ 12	428 $\pm$ 15 97 $\pm$ 15	403 $\pm$ 12	413 $\pm$ 12 11 $\pm$ 5	414 $\pm$ 12 11 $\pm$ 6	423 $\pm$ 10 21 $\pm$ 10	
pH 8,5 (12)	348 $\pm$ 17	421 $\pm$ 16 69 $\pm$ 11	435 $\pm$ 18 114 $\pm$ 24	448 $\pm$ 19 127 $\pm$ 28	447 $\pm$ 19	447 $\pm$ 18 4 $\pm$ 1	446 $\pm$ 18 2 $\pm$ 1	449 $\pm$ 18 4 $\pm$ 2	

Se expresan valores medios $\pm$ un error standard. Para cada pH el número de experimentos se indica entre paréntesis; la primera línea de datos son contracciones/min., la segunda línea cambio en la frecuencia con respecto al control, en contracciones/min.

T A B L A VII

MODIFICACION POR DCI (10^{-7} M) DEL INOTROPISMO POSITIVO INDUCIDO POR dl-ISOPROTERENOL EN AURICULA IZQUIERDA DE RATA.

	dl-isoproterenol			DCI 20 min.			dl-isoproterenol		
	CONTROL	10^{-9} M	10^{-8} M	10^{-7} M			10^{-9} M	10^{-8} M	10^{-7} M
pH 6,5 (13)	391±93	651±108 153±39	704±113 207±45	758±116 287±68	572±118		565±120 3±3	587±130 28±15	645±126 79±31
pH 7,5 (16)	588±80	821±85 227±28	935±85 343±38	964±87 385±56	629±114		640±111 23±12	682±102 62±24	739±90 132±45
pH 8,5 (15)	513±57	756±81 343±41	850±77 337±41	870±76 357±43	498±79		564±97 59±42	618±111 115±78	639±113 143±82

Se expresan valores medios + un error standard. Para cada pH el número de experimentos se indica entre paréntesis; la primera línea de datos expresa fuerza contráctil en miligramos, en la segunda línea el incremento de fuerza en miligramos con respecto al control.

ya que los experimentos preliminares demostraron que el efecto inotrópico positivo del isoproterenol es algo más sensible al bloqueo específico que el efecto cronotrópico. El tiempo de exposición al bloqueante se fijó en 20 minutos en que el bloqueo es prácticamente máximo y no se incrementa por exposiciones más prolongadas al antagonista.

Como ejemplo del tipo de registros obtenidos en estos experimentos se presentan en las figuras 6 y 7 trazos de los registros que muestran el bloqueo por DCI, de las respuestas a isoproterenol en las aurículas.

c) Efectos intrínsecos del DCI en las aurículas aisladas en función del pH. Se han obtenido curvas dosis-efecto de DCI a pH 6,5; 7,5 y 8,5 en la aurícula izquierda estimulada y en la aurícula derecha automática de rata, en un intento de estudiar la posible correlación entre los efectos intrínsecos del bloqueante y su ionización en función del pH del medio. En estas preparaciones del miocardio de rata, el efecto intrínseco dominante del DCI ha sido depresor del inotropismo y del cronotropismo. Sin embargo el grado de depresión es variable y a veces ha ido precedido de un efecto inotrópico positivo transitorio, con significación estadística sólo en la aurícula

Figura 6

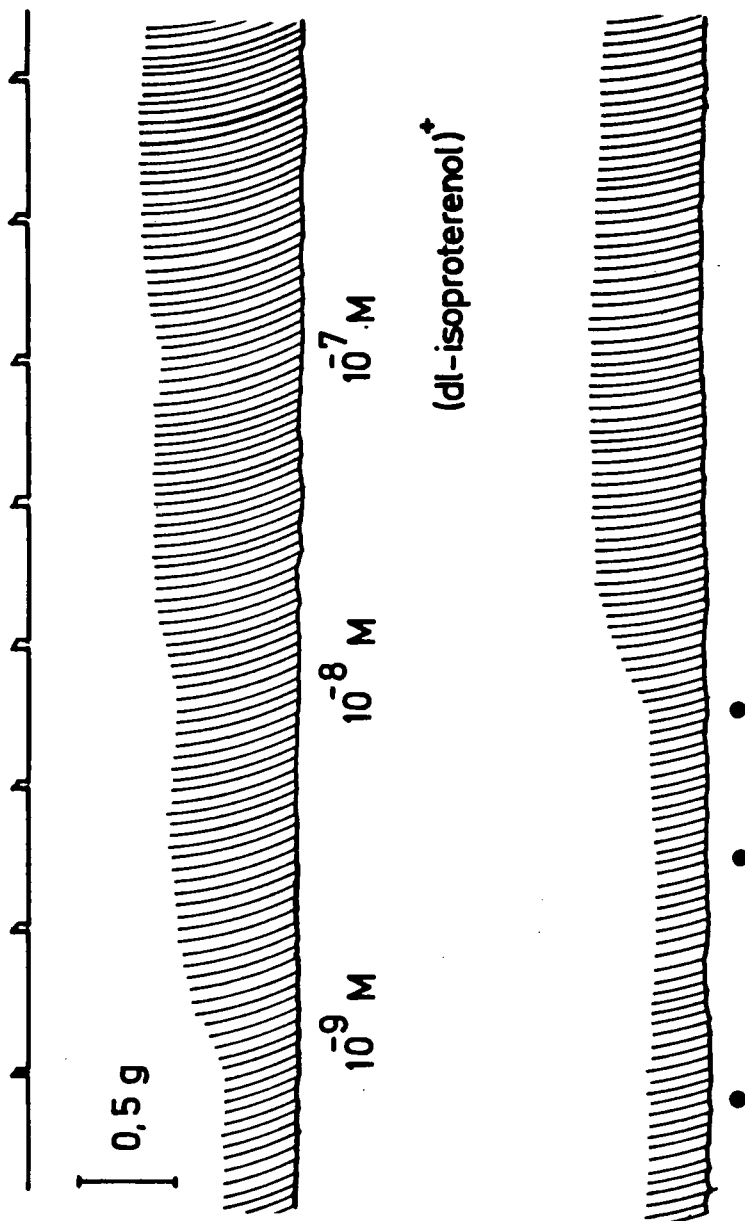


Figura 6.- Antagonismo por dicloroisoproterenol (DCI) de la respuesta inotrópica positiva a isoproterenol (ISO) en la aurícula izquierda de rata (macho 300 g), aislada en Krebs a pH 6,5. Entre el registro superior e inferior, el órgano se expuso a DCI 10^{-7} M. En los puntos de la gráfica inferior se tienen en la copa las mismas concentraciones de ISO catiónico del control. El trazo superior indica tiempo en minutos.

Figura 7

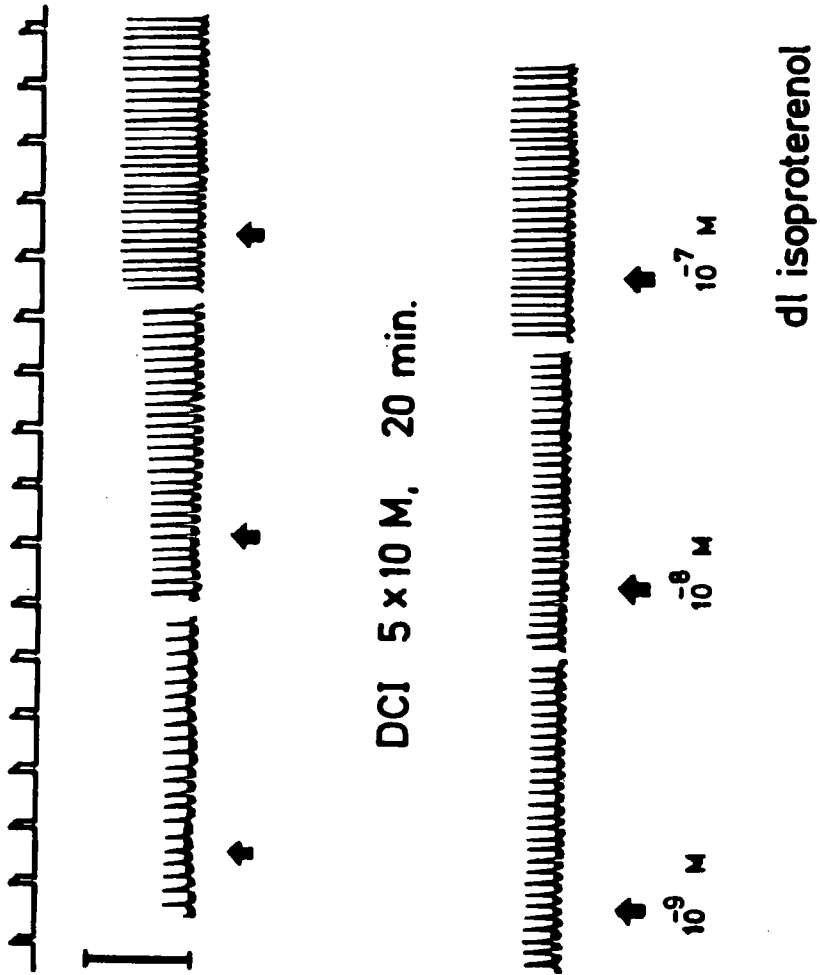


Figura 7.- Antagonismo por dicloroisoproterenol (DCI) de las respuestas inotrópica y cronotrópica a isoproterenol (ISO) en la aurícula derecha de rata (macho 290 g) aislada en Krebs a pH 7,5. Entre el registro superior e inferior se administró DCI 5×10^{-7} M durante 20 min. El registro superior es el control y las flechas indican idéntica concentración de ISO catiónico que en el registro inferior. El trazo superior marca el tiempo en segundos y el vertical a la izquierda corresponde a 0,5 g de fuerza.

izquierda a pH 7,5 y 8,5. También en la aurícula derecha es apreciable a estos pHs un efecto inotrópico positivo pequeño y transitorio, pero hay que tener en cuenta que los efectos inotrópicos de la aurícula derecha pueden reflejar cambios de cronotropismo, por la relación existente entre la fuerza y la frecuencia de contracción. Quizás por esta razón la magnitud del efecto inotrópico negativo es mayor en la aurícula izquierda que en la aurícula derecha.

El efecto cronotrópico de DCI predominante en la aurícula derecha de rata ha sido también negativo, sólo fué positivo a bajas concentraciones y a pH 6,5 y 8,5. Los resultados de estos experimentos se sintetizan en la tabla VIII y como trazos representativos se presentan en la Figura 8 unos registros en aurícula izquierda y derecha. No es infrecuente que con las concentraciones más elevadas de DCI se presenten efectos inespecíficos o efectos de la actividad cardiopléjica tipo quinidina que posee el DCI, además de su acción bloqueante beta-adrenérgica. Ejemplos de ellos son en la aurícula derecha la aparición de arritmias lentas o en la aurícula izquierda bloqueos de conducción.

En las preparaciones de miocardio de perro son más fácilmente demostrables los efectos

inotrópicos y cronotrópicos positivos que como agonista parcial beta-adrenérgico produce el DCI. Recientemente se ha atribuido un efecto inotrópico positivo del propranolol a una acción presináptica liberadora de noradrenalina (8). A título de comparación incluimos en la Figura 9 un registro de los efectos inotrópicos y cronotrópicos negativos de una dosis de DCI en aurícula de rata y los efectos cronotrópicos e inotrópicos positivos de una dosis inferior en aurícula derecha y ventrículo derecho de perro.

d) Efectos farmacológicos de un derivado cuaternario del DCI, el N,N-dimetil-dicloroisoproterenol (DCIQ). En esta parte del estudio no se efectuaron experimentos seriados por lo que no se intentó un análisis estadístico de los resultados. El objetivo fué delimitar los efectos de DCIQ en miocardio y presión arterial de mamífero y compararlos con los obtenidos anteriormente en miocardio de tortuga (20) como complemento de los datos antes presentados. Su análisis nos permitiría conocer las modificaciones que la cuaternarización imprime en las acciones farmacológicas del DCI.

Los experimentos en miocardio aislado sólo se realizaron a pH 7,5. Los efectos que a

T A B L A VIII

EFECTOS INTRINSECOS DE DICLORISOPROTERENOL (DCI) EN AURICULA AISLADA DE RATA.

DCI	10 ⁻⁹	5x10 ⁻⁹	10 ⁻⁸	5x10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	5x10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	5x10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	5x10 ⁻⁵	10 ⁻⁴
A) pH 6,5(6)	-16,5	-20,4	-43,5	-50,5	-56,2	-56,6	-51,6	-53,8	-56,3	-59,6	-69,9
pH 7,5(6)	-1,7	+3,3	+11,1	+14,4	+15,7	+7,6	-6,7	-11,0	-35,2	-62,2	-98,0
pH 8,5(6)	+3,4	-1,6	-11,0	-15,6	-21,3	-18,8	-35,0	-36,7	-44,8	-55,8	-71,0
B) pH 6,5(6)	-7,1	-9,7	-6,4	-11,7	-4,7	-13,9	-17,2	-21,7	-25,4	-26,1	-73,1
pH 7,5(6)	+4,3	+1,9	-2,3	-10,5	-11,7	-14,8	-22,7	-29,2	-26,9	-39,6	-54,9
pH 8,5(6)	+7,1	+7,7	+6,9	+6,3	-8,7	-6,5	+0,6	-24,2	-24,2	-23,6	-36,6
C) pH 6,5(6)	+8	+2	-5	-8	-14	-32	+1	-24	-42	-91	-185
pH 7,5(6)	-12	-10	-11	-11	-16	-22	-23	-36	-86	-164	-193
pH 8,5(6)	0	-1	-3	+1	+7	+12	+17	+14	+30	+68	+122

Se representan valores medios del número de experimentos que figuran entre paréntesis. Los datos correspondientes a A) indican efectos inotrópicos en aurícula izquierda. Los datos en B) / indican efectos inotrópicos en aurícula derecha. Los efectos inotrópicos se han calculado como porcentajes del cambio positivo o negativo de fuerza contráctil. Los datos en C) indican cambio en contracciones por minuto en aurícula derecha.

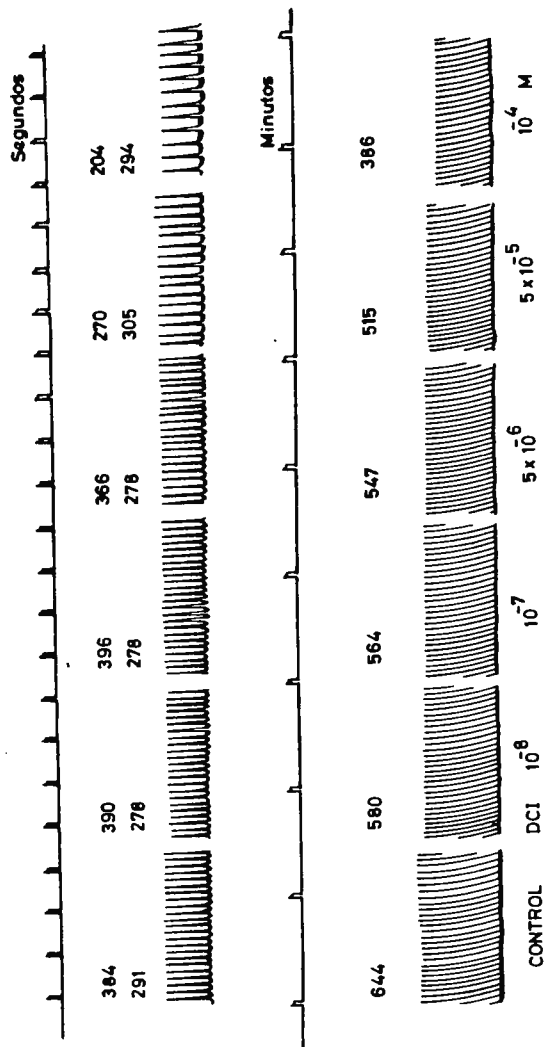


Figura 8

Figura 8.- Acciones intrínsecas del dicloroisoproterenol (DCI) en aurículas aisladas de rata. Registro superior: aurícula derecha (AD) automática, rata hembra 150 g. Registro inferior: aurícula izquierda estimulada eléctricamente, rata hembra 170 g. Las cifras sobre el registro de AD indican contracciones por minuto y fuerza en miligramos. Las cifras sobre el registro AI indican fuerza contráctil en miligramos.

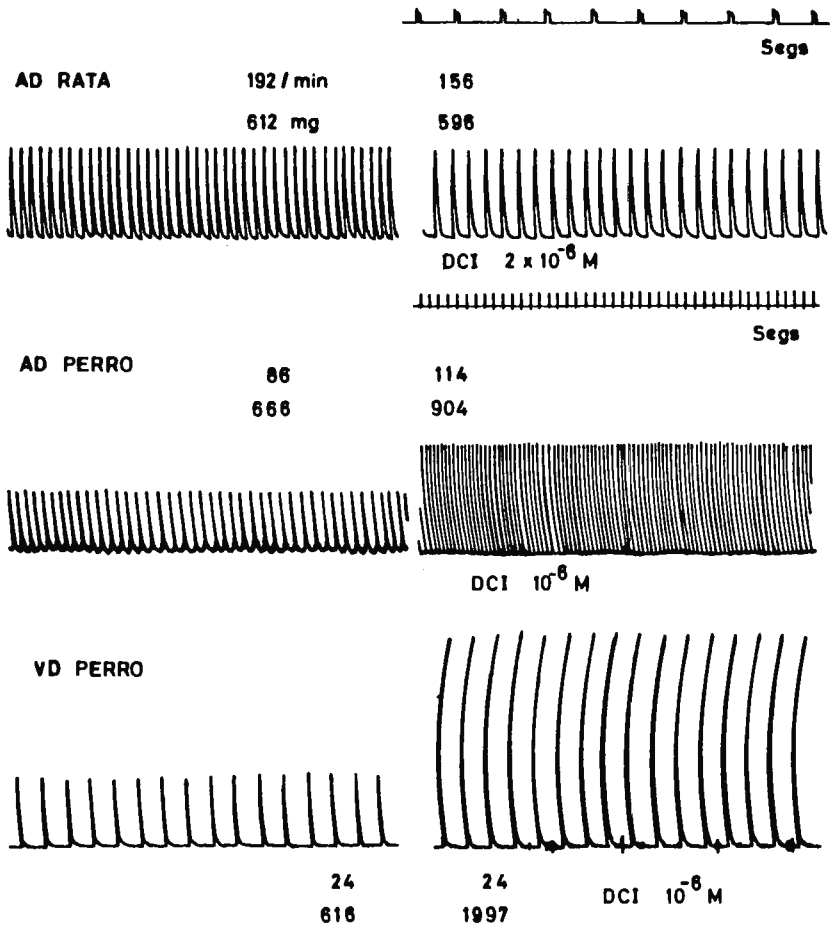


Figura 9.- Acciones intrínsecas del dicloroisoproterenol (DCI) en miocardio de rata y perro. AD=aurícula derecha, VD=ventrículo derecho. Las preparaciones de aurícula aislada se mantienen en líquido de Krebs y las de ventrículo en Tyrode, ambas a pH 7,5. En cada panel la cifra superior indica contracciones por minuto y la inferior miligramos de fuerza. Los registros de la izquierda son controles antes de la administración de DCI.

continuación detallamos se han presentado consistente y reproduciblemente:

1. DCIQ no produce los efectos inotrópicos negativos tan aparentes en el miocardio de rata con el DCI, ni aún a concentraciones superiores a 10^{-4} M; por el contrario DCIQ produce un efecto inotrópico positivo muy discreto, menos acusado que en el miocardio de tortuga.
2. En la aurícula derecha sin embargo el DCIQ produce un efecto cronotrópico negativo proporcional a la dosis, tanto en rata, como en perro y gato. En la figura 10 se incluye un registro demostrativo.
3. La falta de actividad bloqueante beta-adrenérgica de DCIQ ya demostrada en el miocardio de tortuga (20, 22) se confirma en las preparaciones de mamífero. En concentraciones de hasta 10^{-4} M, el DCIQ no antagoniza la respuesta inotrópica del dl-isoproterenol en el músculo ventricular, ni las respuestas inotrópicas y cronotrópicas positivas del isoproterenol en el músculo auricular. En las mismas preparaciones en las que el DCIQ fué ineficaz como antagonista, nos fué posible producir con DCI un bloqueo completo de las respuestas al isoproterenol (Figura 11).

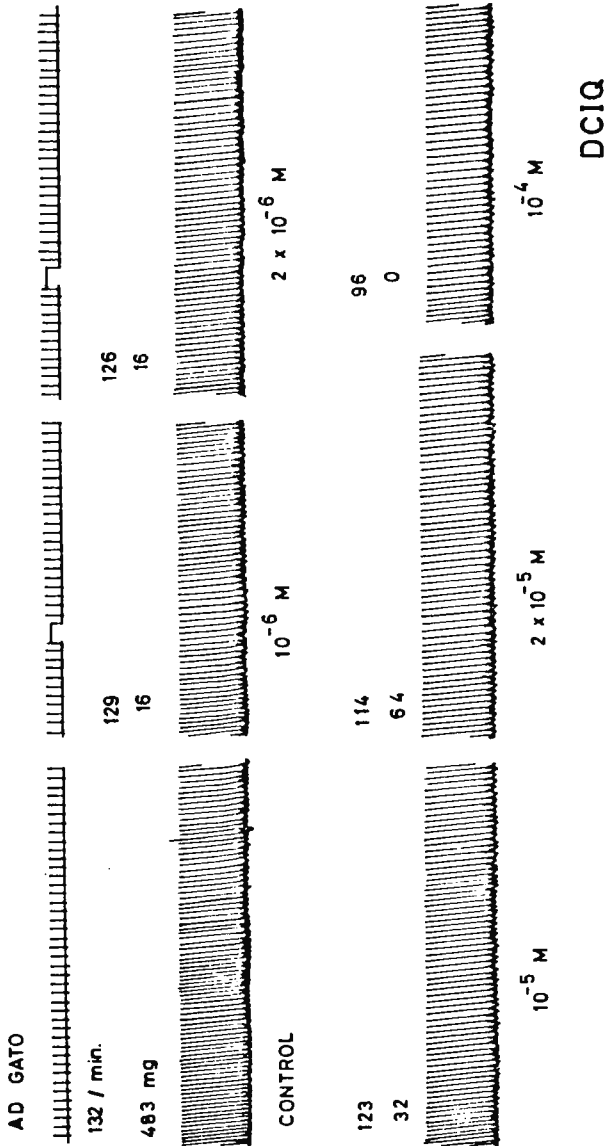


Figura 10.- Acciones intrínsecas del N,N-dimetil-dicloroisoproterenol (DCIQ) en aurícula derecha de gato, aislada en Tyrode bajo 1 g de tensión. El trazo superior marca el tiempo en segundos. Las cifras indican frecuencia de contracción, la fuerza contráctil en mg. (control) y aumento de fuerza contráctil con relación al control.

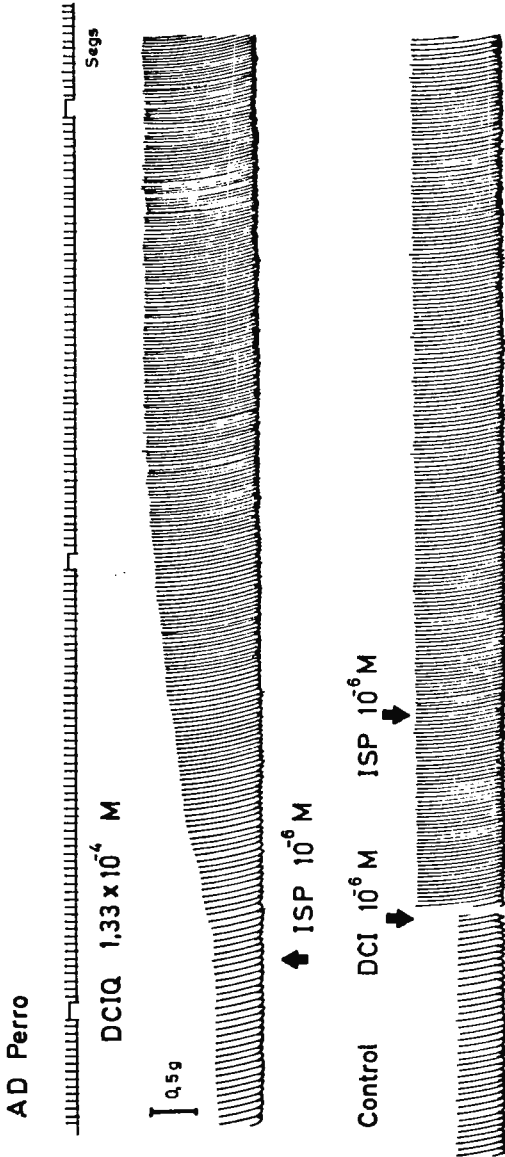


Figura 11.- Experimento en aurícula derecha de perro (Krebs, pH 7.5, tensión lg.), demostrativo de la incapacidad del N,N-dimetil-dicloro-isoproterenol (DCIQ) para bloquear la respuesta inotrópica y cronotrópica positiva de dl-isoproterenol (registro superior). En el mismo experimento, una vez vuelto a condiciones control, el dicloroisoproterenol (DCI) antagoniza casi totalmente la mencionada respuesta. Puede observarse el efecto inotrópico y cronotrópico positivo del DCI.

4. Para probar si la falta de actividad bloqueante beta-adrenérgica del DCIQ demostrada en el miocardio ocurría también a nivel de los receptores de otros territorios se estudió la interacción DCIQ-isoproterenol en la presión arterial de la rata. En el rango de dosis estudiadas (12 a 600 μg i.v.), el DCIQ no antagoniza la respuesta hipotensora al isoproterenol (0,2 y 0,4 μg i.v.) e incluso produce "per se" una hipotensión proporcional a la dosis, que puede ser indicio de su actividad intrínseca como agonista de receptores beta-adrenérgicos vasculares (Figura 12).

IV. DISCUSION.

a) Efectos del pH sobre el inotropismo y cronotropismo cardíacos. Los resultados reseñados pueden significar una diferente sensibilidad en el mamífero de los mecanismos de contráctilidad y automatismo a las desviaciones de pH del medio extracelular. Es interesante notar que en el rango de pH explorado (6,5 a 8,5) no se deterioran significativamente dichas funciones miocárdicas, ni aún tras varias horas; en todo caso el deterioro progresivo es muy discreto y comparable al que ocurre a pH fisiológico en las preparaciones de órgano aislado. Tal disociación ha sido seña-

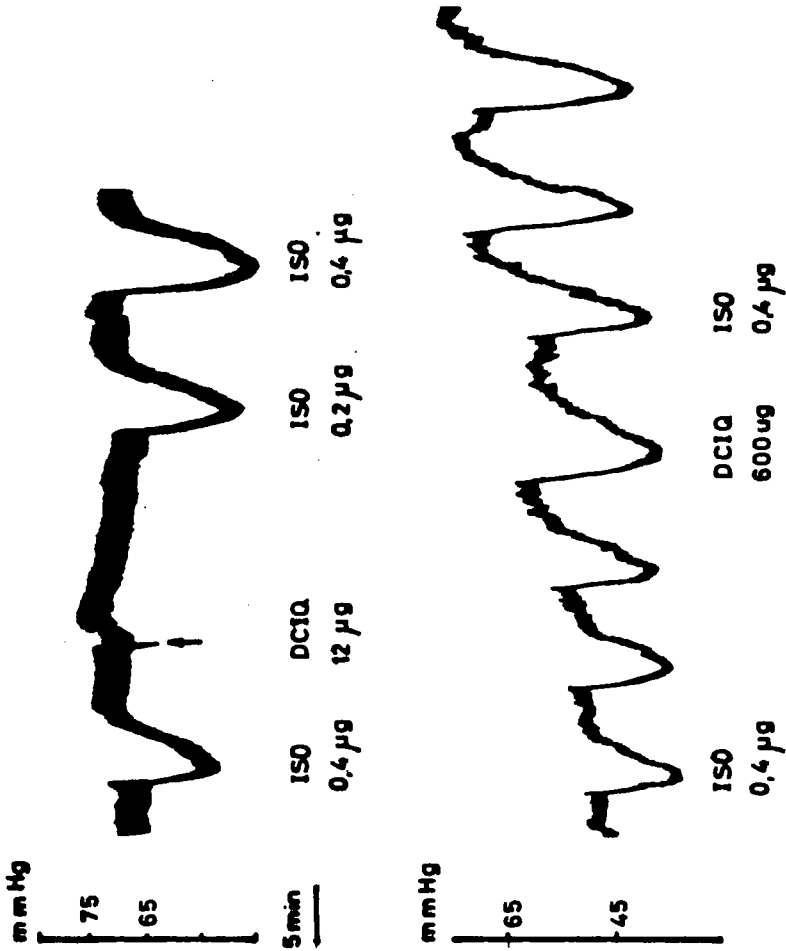


Figura 12

Figura 12.- Registros de presión arterial demostrativos de la falta de acción bloqueante del N,N-dimetil-diclo-roisoproterenol (DCIQ) sobre las respuestas hipotensoras del isoproterenol (ISO). Presión arterial en rata anestesiada, vagotomizada y atropinizada (1 mg sulfato de atropina). Registro superior, rata macho 290 g, --DCIQ 12 µg. Registro inferior, rata hembra 220 g, DCIQ 600 µg. En cada punto se repite la dosis previa de ISO. Inyecciones vía i.v. Puede apreciarse el efecto hipotensor propio de DCIQ. Para la relación de las respuestas hipotensoras de ISO con el nivel tensional ver referencia 25.

lada en relación con la temperatura y otras variables experimentales (6a).

Existen numerosas referencias sobre la relativa insensibilidad de órganos aislados de anfibios y reptiles a los cambios de pH (23). Nuestras experiencias demuestran la posibilidad de utilizar las aurículas aisladas de mamífero en estudios que impliquen cambios de pH. La primera conclusión de nuestros datos ha sido deslindar en el estímulo cronotrópico e inotrópico del isoproterenol, las modificaciones imputables a cambios de pH, de los dependientes de la ionización de las catecolaminas.

Con respecto a las respuestas inotrópicas de isoproterenol, la desviación a la izquierda de la curva dosis-efecto a pH 6.5 no es significativa; sin embargo en la respuesta cronotrópica a pH 6.5 hay un desplazamiento significativo de la curva dosis-efecto hacia la derecha concorde con el efecto del medio ácido sobre el cronotropismo control de la aurícula (Tablas II, III y IV). Esta diferencia puede interpretarse como una mayor sensibilidad del mecanismo cronotrópico al cambio de pH en sentido ácido.

Respecto al mecanismo contráctil creemos poder descartar una alteración dentro del rango de pH 6.5 a 8.5 como explicación de la va-

riación observada en el efecto inotrópico positivo del isoproterenol. El efecto sobre inotropismo va paralelo al cambio de concentración del isoproterenol catiónico. Sin embargo el efecto de tales cambios en la concentración de isoproterenol catiónico sobre la respuesta inotrópica caería dentro del rango de la variabilidad observada para las respuestas inotrópicas a pH 7.5, lo que nos explica la ausencia de diferencias significativas en los datos presentados. El hecho de que con respecto a la respuesta cronotrópica los cambios no sean paralelos al cambio en la concentración de isoproterenol catiónico, habla en contra de una gran influencia de la ionización de esta catecolamina en los efectos cronotrópicos.

b) Papel de la ionización del bloqueante beta-adrenérgico en sus efectos intrínsecos y en el antagonismo de las respuestas cardíacas al isoproterenol. Para descartar el efecto del cambio de pH sobre concentración de la forma activa del agonista, se mantuvo constante a diferentes pHs, la concentración del isoproterenol catiónico, variando su concentración total a cada pH (Tabla I). Se ha supuesto la forma catiónica como la forma activa de las catecolaminas en la activación del receptor beta-adrenérgico (5, 6, 12, 14).

El bloqueo por DCI de la respuesta cro-

notrónica a isoproterenol es equiefectivo a pH 6.5 y 8.5 y mayor a estos pHs que a 7.5. Sin embargo el bloqueo de la respuesta inotrópica es, en nuestros experimentos, significativamente mayor a pH 6.5 que a pH 7.5 y 8.5, a estos dos últimos pHs el bloqueo es prácticamente equiefectiuvo. La correlación del bloqueo beta-adrenérgico con la concentración de la forma no ionizada del bloqueante, no es tan clara en estos experimentos en corazón de mamífero, como la encontrada en corazón de reptíl (20, 22, 16a). Quizás por la menor dependencia del pH intracelular del medio extracelular, en el miocardio de mamífero sea menos crítica la acción de la ionización sobre los efectos de los bloqueantes adrenérgicos en las circunstancias de nuestros experimentos (28). La importancia de las propiedades fisicoquímicas para las acciones miocárdicas y anestésica local de estos agentes ha sido puesta de relieve en estudios anteriores (13).

Una observación interesante en nuestro estudio ha sido las diferencias reseñadas entre las respuestas inotrópicas y cronotrópicas al isoproterenol. Las preparaciones de aurícula derecha automática, donde coexisten ambos efectos, permiten observar bien estas diferencias. La respuesta inotrópica del isoproterenol aparece antes que la

respuesta cronotrópica y ésta es mucho más persistente. Por su parte la respuesta inotrópica en estas preparaciones auriculares es aproximadamente cinco veces más sensible al bloqueo por DCI que la respuesta cronotrópica. Tales diferencias pueden ser objeto de un estudio experimental ulterior. Creemos que entre las hipótesis de trabajo plausibles podían plantearse las siguientes. La mayor sensibilidad del inotropismo al bloqueo puede ser expresión de la mayor superficie de acción del bloqueante sobre el mecanismo contráctil, prácticamente todo el músculo auricular es accesible al bloqueante, que sobre el reducido nódulo sino-auricular, punto de partida del automatismo cardíaco normal; por estas razones u otras la accesibilidad de los receptores responsables del inotropismo positivo podría ser mayor. Cabe pensar también en diferencias estructurales o funcionales de ambos receptores beta-adrenérgicos.

Los efectos intrínsecos del DCI nos plantean algunos problemas cuya explicación quizás esté en la existencia de diferencias de especie (Figuras 8, 9 y 11). En la aurícula izquierda de rata no nos ha sido posible demostrar los efectos inotrópicos positivos descritos para el DCI, sin embargo estos efectos sí son muy llamativos en la aurícula izquierda y ventrículo derecho de perro

y gato. En la aurícula derecha de rata dominan el cronotropismo e inotropismo negativos del DCI, sólo las menores concentraciones de éste (10^{-8}M) producen un pequeño efecto cronotrópico positivo. Sin embargo, en la aurícula derecha de perro y gato, aún con concentraciones elevadas de DCI (10^{-6}M) se produce un marcado efecto cronotrópico e inotrópico positivo.

En la rata anestesiada y reserpinizada se ha valorado la actividad cronotrópica agonista de DCI en 0,73 de la actividad intrínseca relativa a isoproterenol, aunque se ha reconocido que la potencia de efectos cronotrópicos in vivo no siempre ha correspondido con los valores hallados in vitro (4).

c) Actividad farmacológica del DCI cuaternario.
El compuesto cuaternario DCIQ se empleó inicialmente para probar la hipótesis del papel decisivo del antagonista no ionizado en el bloqueo beta-adrenérgico (22). Este compuesto tiene actividad intrínseca inotrópica positiva. El orden de potencia que para este efecto inotrópico positivo hemos encontrado en el miocardio de mamífero ha sido: isoproterenol > dicloroisoproterenol > dicloroisoproterenol cuaternario; el efecto inotrópico se ha explorado hasta los valores máximos hallándose que la actividad intrínseca del DCIQ -

respecto del efecto inotrópico positivo es menor que la del isoproterenol y DCI. Las diferencias halladas en el efecto cronotrópico positivo pueden indicar diferente sensibilidad de especie.

Nuestro estudio nos permite concluir que la cuaternarización del DCI afecta selectivamente algunas de sus acciones farmacológicas sobre el miocardio. El DCIQ conserva la capacidad de estimular cronotrópicamente e inotrópicamente el miocardio, pero la actividad bloqueante beta-adrenérgica desaparece, así como el efecto inotrópico negativo. Se ha sugerido que la falta de actividad bloqueante beta-adrenérgica de otro derivado cuaternario, el N,N-dimetil-propranolol, podría ser debida a la localización de receptor tras una barrera lipoidea (1). Esta interpretación es consistente con nuestros hallazgos experimentales en el miocardio (20). Con otro análogo cuaternario del propranolol, el ICI 46037, se ha sugerido que la falta de bloqueo podría deberse a falta de afinidad por el receptor, debida a la ausencia del isopropilo terminal (15). A la vista de nuestros resultados interpretamos - que la falta de afinidad puede provenir de la propia cuaternarización, ya que el DCIQ posee la sustitución terminal isopropilo. La falta de afinidad y de actividad bloqueante beta-adrenérgica

pueden ser el resultado de incompatibilidad espacial o estérica entre el fármaco y los receptores, puesto que la introducción de los metilos hace el extremo amino de la molécula más voluminoso.

En proyectos ulteriores se están utilizando para los estudios de afinidad bloqueantes beta-adrenérgicos más específicos que el DCI y carentes de efectos tipo quinidina. En el trabajo presentado y a la vista de los resultados obtenidos no se consideró práctico realizar determinaciones de valores pA_2 para el antagonismo DCI-isoproterenol. Ya existen referencias en la literatura de valores pA_2 a pH fisiológico, y para desviaciones de éste tenemos algunos datos propios (19).

El estudio presentado aporta datos a la farmacología comparativa de agonistas y antagonistas adrenérgicos en distintos niveles de organización cardíaca, cuya falta de homogeneidad funcional ya ha sido destacada en algunos aspectos (11). Con él nos ha sido posible señalar no sólo diferencias de especie en las respuestas a los fármacos empleados sino diferencias según el tipo de tejido cardíaco sobre el que actúan.

BIBLIOGRAFIA.-

1. Ariëns E.J. The structure-activity relationships of beta-adrenergic drugs and beta-adrenergic blocking drugs. Ann.N.Y.Acad.Sci. 139: 606-631, 1967.
2. Ariëns E.J., Simonis A.M. y van Rossum J.M. Drug receptor interactions en Molecular Pharmacology, vol. I. Academic Press, Nueva York y Londres 1964.
3. Armstrong J. y Barlow R.B. The ionization of phenolic amines, including apomorphine, dopamine and catecholamines and an assessment of zwitterion constants. Br.J.Pharmac. 57: 501-516, 1976.
4. Barrett A.M. y Carter J. Comparative chronotropic activity of beta-adrenoceptive antagonists. Br.J. Pharmac. 40: 373-381, 1970.
5. Belleau B. Relationship between agonists, antagonists and receptor sites, en Adrenergic Mechanisms, Ciba Foundation Symposium, Little, Brown & Co. Boston, 1960.
6. Bloom B.M. y Goldman I.M. The nature of catecholamine-adenine mononucleotide interaction in adrenergic mechanisms. Adv. Drug.Res. 3: 121-162, 1966.
- 6a. Broadley K.J. The effect of temperature upon the positive inotropic and chronotropic responses of isolated cardiac preparations to isoprenaline and its modification by experimental variables. Arch.Int.Pharmacodyn. 220: 189-204, 1976.
7. Crawford T.B.B. y Outschoorn A.S. The quantitative separation of adrenaline and noradrenaline in biological fluids and tissue extracts. Br. J.Pharmacol. 6: 8-20, 1951.

8. Daniell H.B., St.Pierre A.J. y Webb J.G. A positive inotropic effect of propranolol on the canine myocardium: a presynaptic effect. *J.Pharm.Exp.Ther.* 196: 657-664, 1976.
9. Furchgott R.F., Kirpekar S.M., Rieker M. y Schwab A. Actions and interactions of norephrine, tyramine and cocaine on aortic strips of rabbit and left atria of guinea pig and cat. *J.Pharm.Exp.Ther.* 142: 39-58, 1963.
10. García de Jalón P.D., Moratinos J.P. y Serrano J.S. Experimentally induced automatism in rat isolated ventricle. *Br.J.Pharmacol.* 46: 167-169, 1972.
11. Han J., García de Jalón P.D. y Moe G.K. Adrenergic effects on ventricular vulnerability. *Circ.Res.* 14: 516-524, 1964.
12. Hardman H.F. y Reynolds R.C. An effect of pH upon epinephrine inotropic receptors in the turtle heart. *J.Pharm.Exp.Ther.* 149: 219-224, 1965.
13. Levy J.V. Myocardial and local anesthetic actions of beta-adrenergic receptor blocking drugs: relationship to physicochemical properties. *Eur.J.Pharmacol.* 2: 250-257, 1968.
14. Lewis G.P. The importance of ionization in the activity of sympathomimetic amines. *Br.J.Pharmacol.* 9: 488-493, 1954.
15. Lucchesi B.R. e Iwami T. The antiarrhythmic properties of ICI 46037 a quaternary analog of propranolol. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 162: 42-59, 1968.
16. Miller L.C., Becker T.J. y Tainter M.L. The quantitative evaluation of spasmolytic drugs in vitro. *J.Pharmac.Exp.Ther.* 92: 260-268, 1948.
- 16a. Patil P.N., Miller D.D. y Trendelenburg U.

- Molecular geometry and adrenergic drug activity. *Pharmacol. Rev.* 26: 323-392, 1974.
17. Rossum J.M. van y Brink F.G. van den. Cumulative dose-response curves. I. Introduction to the technique. *Arch.Int.Pharmacodyn.* 143: 240-246, 1963.
 18. Rossum J.M. van. Cumulative dose-response curves. II. Technique for the making of dose-response curves in isolated organs and the evaluation of drug parameters. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 143: 299-300, 1963.
 19. Serrano J.S. Effect of pH on beta-receptors in the isolated turtle ventricles: evaluation of their affinity for specific blockers *Federation Proc.* 27: 351, 1968.
 20. Serrano J.S. Effect of pH on the activation and blockade of beta-adrenergic receptors in cardiac muscle. Tesis Ph.D. (Farmacología). Universidad de Marquette. Wisconsin, 1968.
 21. Serrano J.S., García de Jalón P.D. y Tamargo J.L. Interactions of adrenergic blocking agents in the mechanism of ventricular extrasystolic discharges. XI Congreso Int.-Terapéutica. Ed.F.G.Valdecasas y J.Laporte. Salvat Eds.S.A. Barcelona-Madrid 1973.
 22. Serrano J.S. y Hardman H.F. Effect of N,N-dimethyl substitution on the beta-adrenergic receptor blocking properties of dichloroisoproterenol. *The Pharmacologist.* 10: 207, 1968.
 23. Serrano J.S., Hardman H.F. y Barboriak J.J. pH limits of contractility in isolated turtle heart. *Europ.J.Physiol. (Pflügers Archiv)* 338: 183-186, 1973.
 24. Serrano J.S., Moratinos J. y García de Jalón P.D. Efecto del pH sobre el estímulo inotrópico y cronotrópico de isoproterenol en aurícula aislada de rata. *Actas Soc.Esp.C.Fisiol.* 12: 39-40, 1970.

25. Serrano J.S., Pelayo F., Tamargo J.L. y García de Jalón P.D. Influence of preexperimental blood pressure level on hypotensive responses to vasodilator drugs. Arch. Farmacol. Toxicol. 1: 91-98, 1975.
26. Snedecor G.W. y Cochran W.G. Statistical Methods, 6ª edición. The Iowa State University Press. Ames, 1967.
27. Stewart G.A. The actions of digitalis leaf preparations and of cardiac glycosides on the isolated right ventricle of the guinea pig. J.Pharm.Pharmacol. 10: 741-754, 1958.
28. Waddell W.J. y Hardman H.F. Intracellular pH of isolated perfused turtle heart. Am. J. Physiol. 149: 1112-1114, 1960.



FUNDACION JUAN MARCH
SERIE UNIVERSITARIA

Titulos Publicados:

- 1.— *Semántica del lenguaje religioso*/A. Fierro
(Teología. España, 1973)
- 2.— *Calculador en una operación de rectificación discontinua*/A. Mulet
(Química. Extranjero, 1974)
- 3.— *Skarns en el batolito de Santa Olalla*/F. Velasco
(Geología. España, 1974)
- 4.— *Combustión de compuestos oxigenados*/J. M. Santiuste
(Química. España, 1974)
- 5.— *Películas ferromagnéticas a baja temperatura*/José Luis Vicent López
(Física. España, 1974)
- 6.— *Flujo inestable de los polímeros fundidos*/José Alemán Vega
(Ingeniería. Extranjero, 1975)
- 7.— *Mantenimiento del hígado dador in vitro en cirugía experimental*
José Antonio Salva Lacombe (Medicina, Farmacia y Veterinaria. España, 1973)
- 8.— *Estructuras algebraicas de los sistemas lógicos deductivos*/José Plá Carrera
(Matemáticas. España, 1974)
- 9.— *El fenómeno de inercia en la renovación de la estructura urbana.*
Francisco Fernández-Longoria Pinazo (Urbanización del Plan Europa 2.000
a través de la Fundación Europea de la Cultura)
- 10.— *El teatro español en Francia (1935—1973)*/F. Torres Monreal
(Literatura y Filología. Extranjero, 1971)
- 11.— *Simulación electrónica del aparato vestibular*/J.M. Drake Moyano.
(Métodos Físicos aplicados a la Biología. España, 1974)
- 12.— *Estructura de los libros españoles de caballerías en el siglo XVI.*
Federico Francisco Curto Herrero (Literatura y Filología. España, 1972)
- 13.— *Estudio geomorfológico del Macizo Central de Gredos*
M. Paloma Fernández García (Geología. España, 1975)
- 14.— *La obra gramatical de Abraham Ibn ^c Ezra*/Carlos del Valle Rodríguez
(Literatura y Filología. Extranjero, 1970)

- 15.— *Evaluación de Proyectos de Inversión en una Empresa de producción y distribución de Energía Eléctrica.* Felipe Ruíz López (Ingeniería. Extranjero, 1974)
- 16.— *El significado teórico de los términos descriptivos.* /Carlos Solís Santos (Filosofía. España, 1973)
- 17.— *Encaje de los modelos econométricos en el enfoque objetivos-instrumentos relativos de política económica.* /Gumersindo Ruiz Bravo (Sociología. España, 1971)
- 18.— *La imaginación natural (estudio sobre la literatura fantástica norteamericana).* /Pedro García Montalvo (Literatura y Filología. Extranjero, 1974)
- 19.— *Estudio sobre la hormona Natriurética.* /Andrés Purroy Unanua (Medicina, Farmacia y Veterinaria. Extranjero, 1973)

La Fundación Juan March no se solidariza necesariamente con las opiniones de los autores cuyas obras publica.

