

**ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO DE LA ACCIÓN DE  
ACETILCOLINA Y ALGUNAS DROGAS SOBRE LA TERMINACIÓN  
DEL SIMPÁTICO POSTGANGLIONAR \***

Electrophysiological study of the effect of acetylcholine and some drugs  
on the postganglionic sympathetic endings.

HUMBERTO VIVEROS, RAÚL CABRERA y SAMUEL MIDDLETON

*Instituto de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.  
Casilla 6524, Santiago, Chile.*

Recibido para su publicación el 1º de Septiembre de 1966.

**INTRODUCCIÓN**

En los últimos años, el desarrollo y la aplicación de una variedad de técnicas químicas, fisicoquímicas e histoquímicas, al estudio de la neurona simpática y a la unión neuroefectora adrenérgica, han permitido un avance importante en el conocimiento de la fisiología y farmacología de los procesos de síntesis, captación, almacenamiento, liberación e inactivación de noradrenalina (NA).

Sin embargo, es notable la pobreza de datos electrofisiológicos sobre estos procesos. En efecto, aunque se ha propuesto que la terminación de la fibra simpática postganglionar funciona como un "transductor" neuroquímico, (o tal vez más apropiadamente electro-químico) que traduce impulsos eléctricos en una descarga precisa de neurohormona a los sitios receptores (30), sólo en 1961 Burnstock y Holman (23), inician el estudio de la unión neuroefectora adrenérgica mediante el registro de la actividad eléctrica de la célula efectora por medio de microelectrodos.

La falta de información directa de las características eléctricas de la membrana terminal de la fibra simpática, ha impedido precisar que relación existe, en este "transductor" electro-químico, entre el impulso y la liberación de NA, y ha dificultado la comprensión del mecanismo de acción de drogas sobre la neurona adrenérgica en su porción terminal.

Hace cerca de 25 años, Coon y Rothman (29) indicaban que para explicar las ca-

racterísticas de la acción pilomotora de la acetilcolina (Ach) en la piel del gato, debía suponerse que generaba impulsos en la fibra simpática terminal. Recién en 1963, Ferry en el simpático esplénico (37), y nuestro grupo en el simpático cutáneo (25), mostraron por métodos indirectos que la Ach era capaz de despolarizar las fibras nerviosas terminales, generando potenciales antidrómicos.

En nuestro laboratorio nos interesamos por este problema cuando Hoffman *et al.*, en 1945 (48), demostraron que la Ach ocasiona efectos simpaticomiméticos en el corazón (aumento de frecuencia y fuerza de contracción auricular y ventricular), simultáneamente con la aparición en el perfusado coronario de una sustancia con caracteres de catecolamina activa. Estos efectos son bloqueados por la nicotina. Middleton *et al.* (64), probaron que este efecto no podía deberse a una acción de Ach en ganglios adrenérgicos intracardiácos, pues se presentaba también en el músculo papilar aislado que carece de células ganglionares. Con posterioridad encontramos que existe una correlación estrecha entre la intensidad de los efectos simpaticomiméticos cardíacos de la Ach y la liberación de la sustancia adrenalinosímil en el líquido de perfusión (1), y que no se producen ni efecto simpaticomimético ni liberación de sustancia adrenalinosímil en corazones con simpatectomía crónica (49), o tratados previamente con reserpina (1). Estos resultados indicarían que el efecto simpaticomimético de la Ach depende de la indemnidad anatómica y funcional de la fibra simpática cardíaca, lo que es concordante con nuestro hallazgo de que los efectos simpaticomiméticos se recuperan por la administración de NA exógena en los animales tratados previamente con

\* Este trabajo fue financiado parcialmente por la Comisión de Investigación Científica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, en los proyectos 60-27 y 65-10.

reserpina y no en aquellos con simpatectomía cardíaca crónica (24).

Se han descrito efectos simpaticomiméticos de la Ach y de la nicotina, con características similares, por diversos autores en diversos órganos o tejidos con inervación adrenérgica postganglionar (2, 3, 4, 8, 11, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 31, 35, 36, 40, 42, 44, 45, 47, 51, 54, 55, 56, 57, 59, 60, 62, 63, 71, 72, 73, 75, 76, 78, 79).

Considerando que estos efectos de la Ach se presentan en órganos carentes de ganglios simpáticos, que dependen de la integridad anatómica y funcional de la fibra simpática postganglionar, y que tienen el carácter de reflejo de axón, propongamos (25) como hipótesis de trabajo que la Ach debía despolarizar la terminación simpática, liberando consecuentemente NA por un 'mecanismo normal'. Si este fuera el caso, podríamos esperar que la despolarización generara impulsos en la periferia, los cuales se conducirían en forma antidrómica hacia los cuerpos neuronales en el ganglio simpático, lo que permitiría registrarlos en el trayecto del nervio simpático.

Hasta ahora no se ha desarrollado una técnica que permita el registro directo de potenciales en la fibra terminal adrenérgica, como Katz y Miledi (52) lo han hecho, recientemente, en la terminación presináptica motora. Para obtener información sobre las características eléctricas de la membrana terminal adrenérgica, hemos estado limitados al registro, en el tronco simpático, de la actividad antidrómica generada en la fibra terminal. Esto permite detectar sólo aquellas despolarizaciones de la terminación cuya intensidad es suficiente para iniciar la generación de impulsos. Por este método no es posible obtener información directa respecto a los cambios de potencial no propagados.

El registro de potenciales antidrómicos, utilizado por Ferry en el simpático esplénico del gato (37), por Norris y Concha en el simpático renal del perro (67) y por nosotros en el simpático cutáneo (25) y en el simpático cardíaco (26, 82, 84) del gato, ha permitido nuevos avances en el conocimiento de los mecanismos de acción de algunas drogas en la terminación simpática.

Un punto de especial importancia para este tipo de registro, es la necesidad de

separar la actividad nerviosa que corresponde realmente a potenciales antidrómicos en fibras simpáticas, de la actividad de fibras C sensitivas, que son también excitadas por la Ach y por algunas drogas (33, 68). Con este objeto Ferry (37) realizaba una desnervación sensitiva esplénica previa y registraba directamente la actividad antidrómica en el nervio esplénico. Hemos preferido usar la técnica de colisión de impulsos de Douglas y Ritchie (34), con estimulación ortodrómica preganglionar (26), logrando una mejor separación y cuantificación de la actividad simpática y sensitiva, sin necesidad de intervenciones quirúrgicas previas.

El registro de potenciales antidrómicos ha permitido clasificar las drogas de acción simpaticomimética indirecta como sigue: (i) drogas que generan impulsos en el simpático terminal (acetilcolina, estimulantes ganglionares de tipo nicotínico, propilenglicol y iones  $K^+$  e  $H^+$ ); (ii) sustancias que no generan impulsos en el simpático terminal y no bloquean los efectos de las sustancias del grupo (i) (tiramina, anfetamina, efedrina, reserpina, histamina y serotonina), y (iii) sustancias que no generan impulsos en el simpático terminal y que bloquean las sustancias del tipo (i) (bretylum y guanetidina).

El registro de los potenciales antidrómicos ha permitido además clarificar algunos aspectos del mecanismo de bloqueo de las acciones simpaticomiméticas de la acetilcolina por drogas como los anestésicos generales y locales, bloqueadores ganglionares, de la placa neuromuscular, adrenérgicos y colinérgicos presinápticos.

#### DROGAS QUE GENERAN IMPULSOS EN FIBRAS SIMPÁTICAS TERMINALES (ACETILCOLINA Y OTROS ESTIMULANTES GANGLIONARES)

Cuando la Ach se inyecta en la arteria esplénica (37), en la arteria renal (67), o, como lo hemos hecho nosotros, en una arteria cutánea o en las arterias coronarias (25, 26, 27, 82, 83, 84) (Fig. 1), se registra una descarga antidrómica en los nervios simpáticos respectivos, la que se suprime cuando se secciona el nervio en sitio distal con respecto a los electrodos de registro (Fig. 1,C). La inyección del mismo volumen de suero fisiológico no produce efecto (Fig. 1,A). El hexametonio bloquea totalmente el potencial orto-

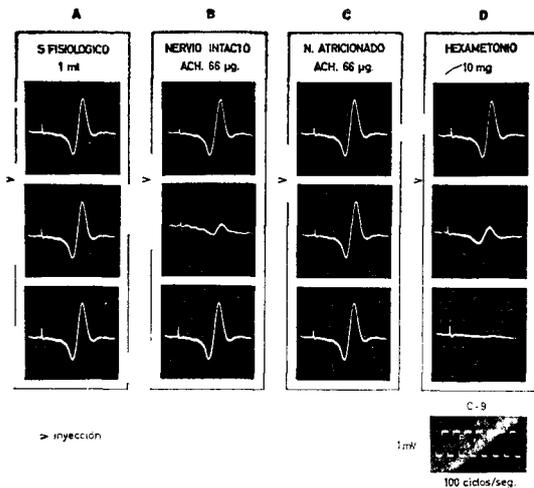


Fig. 1: Registro de potenciales antidrómicos ocasionados por Ach en el nervio cardiaco inferior del gato (26), mediante la técnica de colisión de impulsos de Douglas y Ritchie (24). En cada columna el registro superior es el potencial testigo obtenido por estimulación preganglionar supramáxima en el tronco simpático caudal del ganglio estrellado. Entre este registro y el siguiente se ocluye la aorta ascendente y se inyectan las sustancias en estudio en la aurícula izquierda. La segunda y tercera serie de registros fueron tomadas 2 y 7 seg., respectivamente, después de la inyección. El suero fisiológico no modificó el potencial (A). La Ach lo redujo transitoriamente (B). Este efecto se suprimió por la atrición del nervio entre los electrodos de registro y el corazón (C). La administración de 10 mg/kg de hexametonio suprimió totalmente el potencial.

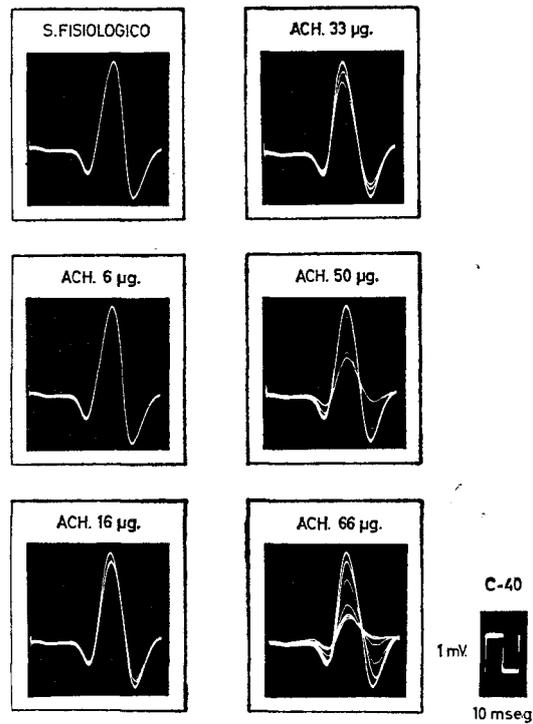


Fig. 2: Registro de potenciales antidrómicos inducidos por Ach (como en Fig. 1). Película detenida. La reducción del potencial producida por la administración intracoronaria de Ach es dependiente de la dosis inyectada.

drómico generado por estimulación preganglionar demostrando que no formaban parte de él potenciales C, sensitivos (Fig. 1,D). La descarga antidrómica es muy constante en cada animal; depende de las concentraciones de Ach inyectadas (Fig. 2) y es potenciada por eserina.

Hemos demostrado también que otros estimulantes ganglionares, como la nicotina (26), la dimetil-fenil-piperazina y el tetrametil-amonio (83), tienen el mismo efecto que la Ach, excepto cuando una primera inyección de cualquiera de ellos bloquea la acción de otra inyección de la misma droga o de la Ach durante tiempos variables de acuerdo con la concentración empleada.

La histamina, la serotonina y la pilocarpina, que producen estimulación ganglionar y liberación de catecolaminas en el tejido cromafín de la médula adrenal y en las terminaciones simpáticas (10, 38, 39, 50, 74, 79, 81, 85), no generan potenciales antidrómicos (83). En cambio, algunos estimulantes inespecíficos, como

los iones  $H^+$  y  $K^+$ , y el propilenglicol, generan potenciales antidrómicos en el simpático terminal (26, 83). La atropina no modifica la acción de ninguna de estas drogas (26, 37, 83).

Hasta ahora no ha sido posible precisar cuál es la zona quimiosensible de la porción terminal de la fibra simpática, pero los resultados experimentales indican que debe estar situada en alguna parte del simpático intramural. Más aún, se ha demostrado que la Ach despolariza (5, 6, 7) pero no genera potenciales en fibras mielénicas del tronco nervioso (32), lo cual sugiere que su acción se ejerce en la zona en que la fibra carece de sus membranas envolventes, es decir en la zona que corresponde a la terminación histológica.

Como los estimulantes ganglionares nicotínicos excitan la neurona adrenérgica, tanto en la terminación como en el cuerpo neuronal, se explica la aparente paradoja de que estos fármacos produzcan efectos de tipo simpático en órganos privados de ganglios autónomos.

### DROGAS QUE LIBERAN NORADRENALINA DESDE LA TERMINACIÓN SIMPÁTICA

Nuestros resultados experimentales indican que las aminas simpaticomiméticas (tiramina, anfetamina, efedrina) y la reserpina, no generan impulsos antidrómicos en el simpático terminal y no modifican la generación de impulsos ocasionada por la Ach (26, 83). Estos experimentos eliminan la posibilidad de que las acciones de estas drogas se ejerzan, por lo menos en parte, mediante despolarización de la fibra simpática terminal.

El bretylium y la guanetidina tampoco generan potenciales antidrómicos, pero bloquean la generación de potenciales por Ach (26). Estas características farmacológicas no permiten eliminar la posibilidad de que estas drogas pudieran despolarizar localmente la terminación, con bloqueo concomitante de la conducción. Sin embargo, el bloqueo de la acción de Ach por bretylium y guanetidina es progresivo (26). Si el bretylium y la guanetidina actúan en la misma forma que los fármacos de tipo nicotínico (despolarizando la terminación simpática), era de esperar que los bloqueadores ganglionares suprimieran los efectos simpaticomiméticos del bretylium y la guanetidina. Gillis y Nash (41), observaron que esto no ocurre, de lo cual se deduce que la liberación de NA por estos bloqueadores de la neurona adrenérgica, no es la consecuencia de la despolarización de la fibra simpática.

### DROGAS QUE BLOQUEAN LA GENERACIÓN DE POTENCIALES ANTIDRÓMICOS POR ACETILCOLINA EN EL SIMPÁTICO TERMINAL

Se han descrito numerosas drogas que bloquean la liberación de NA ocasionada por Ach. Hemos encontrado que la generación de potenciales antidrómicos, provocada por la dosis de Ach que reduce en un 50% el potencial control ortodrómico, es también bloqueada por la mayoría de estas drogas (26, 27, 82, 84).

En resumen, los fármacos que bloquean la generación de impulsos por Ach, son los anestésicos generales, como el éter, el pentobarbital, la hidroxidiona sódica y la cloralosa, cuyo efecto bloqueador es de duración mucho menor que el de la acción anestésica; los anestésicos locales, como la procaína y la lidocaína, aún en

concentraciones que no bloquean la conducción en troncos nerviosos; los bloqueadores ganglionares, tanto de acción despolarizante (nicotina, dimetil-fenil-piperazina, tetrametil-amonio) como los no-despolarizantes o de tipo competitivo (hexametonio, (37)); los bloqueadores de la placa neuromuscular (d-tubocurarina, difeniltrimetilamonio, succinilcolina); los bloqueadores de la neurona adrenérgica, como el bretylium y guanetidina; los bloqueadores colinérgicos presinápticos, como el hemicolinio N° 3 (HC-3); y otras sustancias, como el cloruro de colina, la pilocarpina y la veratrina, cuando se administran en altas concentraciones. En la Fig. 3 se puede observar el efecto inhibitorio de algunos fármacos.

El HC-3 merece especial mención pues el bloqueo de los efectos de las dosis de Ach que reducen en un 50% el potencial ortodrómico depende de la frecuencia con que se estimulan las fibras simpáticas postganglionares (83). En la Fig. 4 se muestran ejemplos de bloqueo típico por HC-3.

Para la discusión del mecanismo de acción de la nicotina es importante hacer notar que no hemos encontrado diferencias entre las concentraciones de HC-3

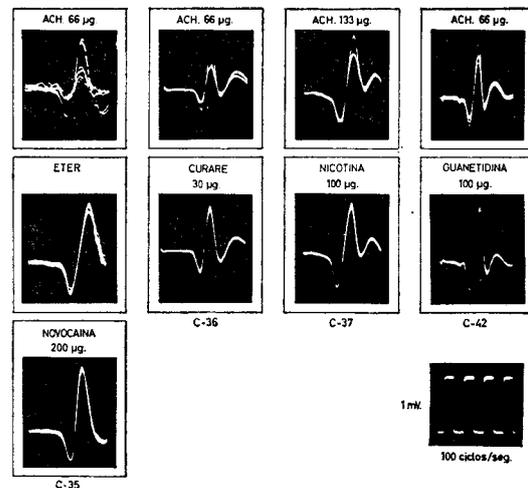


Fig. 3: Efecto bloqueador del éter, la novocaína, la d-tubocurarina, la nicotina y la guanetidina sobre la generación de impulsos que la Ach produce en el simpático terminal (26). Cada columna corresponde a un experimento diferente. Los registros superiores muestran la reducción del potencial a un 50% producido por una dosis de Ach. Los inferiores muestran la disminución o supresión del efecto de la misma dosis de Ach después de la administración de la droga, que aparece indicada en cada caso (en  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ).

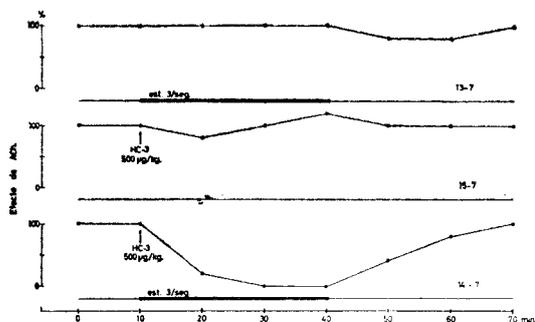


Fig. 4: Bloqueo por hemicolínium (HC-3) de la generación de impulsos de dosis de Ach del simpático cardíaco del gato (83) que reducen en un 50% el potencial ortodrómico. Cada gráfico corresponde a un experimento diferente. En la ordenada, efecto de la Ach expresado en %; en la abscisa, tiempo en minutos. Al iniciar el experimento se determina la dosis de Ach, que produce el efecto buscado, repitiéndose la administración de esta dosis cada 10 min. El trazo engrosado indica la duración de la estimulación eléctrica postganglionar supramáxima. Se puede observar que ni la estimulación (en 13-7) ni la inyección de HC-3 (en 15-7) modifican el efecto de la Ach. Pero cuando concomitantemente con la administración de HC-3 se estimula el nervio cardíaco inferior, el bloqueo del efecto de la Ach aparece y persiste mientras se mantiene la estimulación (14-7).

que bloquean la acción de Ach y las que bloquean el efecto de nicotina (83).

La reserpina, que también inhibe los efectos simpaticomiméticos de la Ach, no modifica su acción despolarizante, sea que se la administre inmediatamente o 24 horas antes de los experimentos (26).

Los bloqueadores ganglionares, con la excepción de aquellos que actúan por despolarización, no generan potenciales antidrómicos en el simpático terminal (26, 83).

#### CLASIFICACIÓN DE MECANISMOS DE BLOQUEO

Estos resultados sugieren que existen diversos mecanismos de inhibición de los efectos simpaticomiméticos de la Ach.

(a) Bloqueo por competencia de los receptores colinérgicos en la membrana de la fibra simpática terminal. Las drogas que actúan por este mecanismo deberían suprimir, en forma paralela, la generación de impulsos antidrómicos y la liberación de NA ocasionados por Ach. El hexametonio y la d-tubocurarina actúan, probablemente, de esta manera.

(b) Despolarización mantenida de la membrana terminal simpática. Las drogas que actúan por este mecanismo, ade-

más de sus efectos bloqueadores deberían generar inicialmente potenciales antidrómicos y ocasionar efectos simpaticomiméticos. Este sería el caso de la nicotina y otros fármacos que actúan por un mecanismo semejante.

(c) Anestesia local, que estabilizaría la membrana frente a la acción despolarizante de la Ach e impediría la conducción de impulsos orto y antidrómicos. En este caso estarían comprendidos los anestésicos locales, probablemente también los anestésicos generales (69), y la guanetidina y el bretylium (9, 12). Dosis altas de Ach podrían ocasionar despolarización local de la membrana con liberación de NA y producir, por consiguiente, una disociación entre los efectos simpaticomiméticos y la generación de potenciales antidrómicos. Así se explicaría que el bretylium, en concentraciones de  $2,5 \times 10^{-5}$  g/ml, bloquea la liberación de NA por el estímulo nervioso, sin suprimir la acción simpaticomimética de la Ach (46, 53).

(d) Vaciamiento de los depósitos de catecolaminas de la fibra simpática, sin alterar la características eléctricas de la membrana. Estas drogas deben suprimir los efectos simpaticomiméticos de la Ach sin modificar la descarga antidrómica. Es el caso de la reserpina.

Esta clasificación de drogas según el mecanismo de acción, incluye a la mayor parte de las que bloquean las acciones simpaticomiméticas de la Ach. Sin embargo, el HC-3 constituye un caso único que, sobre la base de los datos experimentales hasta ahora disponibles, no nos es posible clasificar. La principal acción descrita para el HC-3, es la inhibición de la síntesis de Ach (61), que produciría un desequilibrio entre las velocidades de síntesis y de entrega del neurotransmisor por la terminación presináptica colinérgica. Por lo tanto, este bloqueo dependería de la frecuencia de estimulación. Burn, Rand *et al.* (15, 28, 70, 71), que observaron que el HC-3, la trietilcolina y la toxina botulínica ocasionan bloqueo presináptico en algunas de las uniones neuroefectoras adrenérgicas, sustentaron la hipótesis del "cholinergic link". Sin embargo, esta hipótesis no logra explicar por qué el HC-3 bloquea, en forma dependiente de la frecuencia, la generación de impulsos antidrómicos por Ach exógena en el simpático terminal. Si intentáramos explicar en una forma unitaria todos los efectos de

esta droga, tendríamos que admitir con Nachmansohn (65, 66) que la conducción nerviosa en la fibra simpática es colinérgica, y que el desequilibrio entre la síntesis y la utilización de Ach inducido por el HC-3, lleva al bloqueo de la conducción del impulso. No obstante el escaso conocimiento que se tiene acerca de la farmacología de esta droga, es todavía posible proponer otras hipótesis alternativas para la explicación de estos mismos resultados. Sería de interés estudiar el efecto que tienen otros bloqueadores colinérgicos presinápticos, como la toxina botulínica y la trietilcolina, sobre la acción generadora de impulsos de la Ach.

Leaders y Long (58) concluyen que los efectos simpaticomiméticos de la nicotina se deberían a excitación de neuronas colinérgicas; la Ach liberada por este mecanismo actuaría, a su vez, sobre la terminación adrenérgica. Nuestros experimentos con nicotina en presencia de HC-3 indican —por el contrario— que la nicotina y los otros estimulantes ganglionares actuarían, como la Ach, directamente sobre la fibra simpática terminal (83).

El estudio electrofisiológico de la membrana terminal simpática practicado hasta ahora a través de una técnica indirecta, aporta datos importantes al conocimiento de los mecanismos de acción de los fármacos adrenérgicos. Sin embargo, es cada vez más evidente que sólo a través del empleo combinado de las técnicas químicas y electrofisiológicas actualmente en uso, y muy especialmente a través del desarrollo y la aplicación de técnicas electrofisiológicas directas, llegaremos a comprender cómo el impulso nervioso libera NA en ese "transductor" electroquímico, que es la terminación simpática postganglionar.

#### SUMMARY

Recording of antidromic potentials originated in the terminal portion of the postganglionic sympathetic fiber, has shown that this zone of the adrenergic neurone, similarly to the neuronal body, is chemoexcitable.

The study, through this method, of the effect of drugs with indirect sympathomimetic action, has led the authors to classify these drugs into the following groups:

(i) Drugs that generate impulses in the terminal postganglionic sympathetic. To this group belong: acetylcholine, the ganglionic stimulants of nicotinic type, propylenglycol, and the ions  $K^+$  and  $H^+$ .

(ii) Substances that do not generate impulses in the terminal postganglionic sympathetic and do not block the effects of the substances in group (i). They are the sympathetic amines of indirect action (tyramine, amphetamine, ephedrine), reserpine, histamine and serotonin.

(iii) Substances that do not generate impulses in the terminal postganglionic sympathetic but block the effect of substances of group (i). The method employed does not permit to determine if they really belong to group (i) or (ii). Such is the case of bretyllium and guanethidine.

The recording of antidromic potentials has also permitted the authors to clarify some aspects of the mechanism through which blocking of the sympathomimetic action of acetylcholine is induced by drugs such as general and local anesthetics, ganglionic and end-plate blocking agents, agents blocking the adrenergic neurone and substances which impair cholinergic transmission at the presynaptic level.

#### REFERENCIAS

- 1.—ALVARADO, F., BECA, J. P., MIDDLETON, S. y VIVEROS, H. — Por publicar.
- 2.—AMBACHE, N. — *Brit. J. Pharmacol.* 6: 51, 1951
- 3.—AMBACHE, N. y EDWARDS, J. — *Brit. J. Pharmacol.* 6:311, 1951.
- 4.—ANGELAKOS, E. T. y BLOOMQUIST, E. — *Arch. Int. Physiol.* 73:397, 1965.
- 5.—ARMETT, C. J. y RITCHIE, J. M. — *J. Physiol. (Lond.)* 152:141, 1960.
- 6.—ARMETT, C. J. y RITCHIE, J. M. — *J. Physiol. (Lond.)* 155:372, 1961.
- 7.—ARMETT, C. J. y RITCHIE, J. M. — *J. Physiol. (London)*, 165:141, 1963.
- 8.—ATCKINSON, R. A., WITT, D. y LONG, J. P. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 147: 172, 1965
- 9.—BEIN, H. J. — *En Adrenergic Mechanisms*, 162-170, Vane, J. R., Wolstenholme, G. E. W. and O' Connor, M., Ed. Churchill, London, 1960.
- 10.—BINDER, E. H. y GYERMEK, L. — *Fed. Proc.* 20:319, 1961.
- 11.—BLACKELEY, A. C. H., BROWN, G. L. y FERRY, G. B. — *J. Physiol. (Lond)* 167: 505, 1963.
- 12.—BOURA, A. L. A. y GREEN, A. F. — *Brit. J. Pharmacol.* 14:536, 1959.
- 13.—BRANDON, R. W. y BOYD, H. — *Nature* 192:880, 1961.

- 14.—BRANDON, K. W. y RAND, M. J. — *J. Physiol. (Lond.)* 155:48, 1961.
- 15.—BRANDON, K. W. y RAND, M. J. — *J. Physiol. (Lond.)* 157:18, 1961.
- 16.—BROWN, G. L. y GRAY, J. A. B. — *J. Physiol. (Lond.)* 107:306, 1948.
- 17.—BRÜCHE, F. v. — *Klin. Wschr.* 14:7, 1935.
- 18.—BURN, J. H. y GIBBONS, W. R. — Comunicación personal por publicar.
- 19.—BURN, J. H., LEACH, E. H., RAND, M. J. y THOMPSON, J. W. — *J. Physiol. (Lond.)* 148:332, 1959.
- 20.—BURN, J. H. y RAND, M. J. — *Brit. Med. J.* 1:903, 1958.
- 21.—BURN, J. H. y RAND, M. J. — *J. Physiol. (Lond.)* 144:314, 1958.
- 22.—BURN, J. H. y RAND, M. J. — *Brit. J. Pharmacol.* 15:56, 1960.
- 23.—BURNSTOCK, G. y HOLMAN, M. E. — *J. Physiol. (Lond.)* 155:115, 1961.
- 24.—CABRERA, R., COHEN, A., MIDDLETON, S., UTANO, L. y VIVEROS, H. — *Brit. J. Pharmacol.* 27:46, 1966.
- 25.—CABRERA, R. y TORRANCE, R. W. — *Arch. Biol. Med. Exptl.* 1:169, 1964.
- 26.—CABRERA, R., TORRANCE, R. W. y VIVEROS, H. — *Brit. J. Pharmacol.* 27:51, 1966.
- 27.—CABRERA, R. y VIVEROS, H. — *Arch. Biol. Med. Exptl.* 2:131, 1965.
- 28.—CHANG, V. y RAND, M. J. — *Brit. J. Pharmacol.* 15:588, 1960.
- 29.—COON, J. M. y ROTHMAN, S. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 68:301, 1940.
- 30.—COSTA, E., BOULLIN, D. J., HAMMER, W. y BRODIE, B. B. — *J. Pharmacol. Rev.* 18:577, 1966.
- 31.—DE BURGH DALY, y SCOTT, M. J. — *J. Physiol. (Lond.)* 156:246, 1961.
- 32.—DIAMOND, J. — *J. Physiol. (Lond.)* 145:611, 1959.
- 33.—DOUGLAS, W. W. y GRAY, J. A. B. — *J. Physiol. (Lond.)* 119:118, 1953.
- 34.—DOUGLAS, W. W. y RITCHIE, J. M. — *J. Physiol. (Lond.)* 138:19, 1957.
- 35.—FARBER, S. — *Arch. Int. Pharmacodyn.* 53:367, 1963.
- 36.—FERGUSON J., IVY, A. C. y GREENGARD, H. — *Am. J. Physiol.* 117:701, 1936.
- 37.—FERRY, C. B. — *J. Physiol. (Lond.)* 167:487, 1963.
- 38.—GARRET, J., OSWALD, W., RODRIGUEZ-PEREIRA, E. y GUIMARÃES, S. — *N. Schmied. Arch. Exp. Path. Pharm.* 250:325, 1965.
- 39.—GYEMERK, L. y BINDLER, E. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 138:159, 1962.
- 40.—GILLESPIE, J. S. y MACKENNA, B. R. — *J. Physiol. (Lond.)* 152:191, 1960.
- 41.—GILLIS, C. W. y NASH, C. W. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 134:1, 1961.
- 42.—GINZEL, K. H. y KOTTEGODE, S. R. — *Brit. J. Pharmacol.* 8:348, 1953.
- 43.—GREEN, A. F. — In *Adrenergic Mechanisms*, p. 148-157, (Vane, J. R., Wolstenholme, G. E. W. and O'Connor, N.). Ed. Churchill, London 1960.
- 44.—HANEY, H. F. y LINDGREN, A. F. — *Am. J. Physiol.* 145:175, 1945.
- 45.—HAWKINS, D. F. y PATON, W. D. M. — *J. Physiol. (Lond.)* 144:193, 1958.
- 46.—HERTTING, G. y WIDHALM, S. — *Arch. Paht. Pharmak.* 250:257, 1965.
- 47.—HILTON, S. M. — *J. Physiol. (Lond.)* 123:289, 1954.
- 48.—HOFFMANN, F., HOFFMAN, E. J., MIDDLETON, S. y TALESNIK, J. — *Am. J. Physiol.* 144:189, 1945.
- 49.—HOFFMAN, F., MIDDLETON, S., TALESNIK, J. y WILLIAMSON, L. — *Acta Physiol. Latinoam.* 2:92, 1952.
- 50.—JACOB, J. y FILLION, G. — *Compt. Rend. Acad. Sci.* 261:1439, 1965.
- 51.—KAHN, M., MATEGAZZA, P. y PICCININI, F. — *Brit. J. Pharmacol.* 25:119, 1965.
- 52.—KATZ, B. y MILE4I, R. — *Proc. Roy. Soc. (Lond.) Ser. B.* 161:453, 1965.
- 53.—KOPIN, I. J. — *Pharmacol. Rev.* 18:513, 1966.
- 54.—KOPpanye, T., Linyar, C. R. y Herwick, R. P. — *Am. J. Physiol.* 130:346, 1940.
- 55.—KOTTEGODE, S. R. — *Brit. J. Pharmacol.* 8:83, 1953.
- 56.—KOTTEGODE, S. R. — *Brit. J. Pharmacol.* 8:156, 1953.
- 57.—LEADERS, F. E. y DAYRIT, C. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 147:145, 1965.
- 58.—LEADERS, F. E. y LONG, J. P. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 137:206, 1962.
- 59.—LEE, W. C. y SHIDEMAN, F. E. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 126:239, 1959.
- 60.—LEE, W. C. y SHIDEMAN, F. E. — *Science* 129:967, 1959.
- 61.—MAC INTOSH, F. C., BIRKS, R. I. y SAS-TRY, P. B. — *Nature (Lond.)* 178:1181, 1956.
- 62.—McDOWAL, R.J.S. — *J. Physiol. (Lond.)* 104:392, 1946.
- 63.—McNAMARA, B., KROP, S. y McKAY, E. A. — *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 92:153, 1948.
- 64.—MIDDLETON, S., OBERTI, C., PRAGER, R. y MIDDLETON, H. H. — *Acta Physiol. Latinoam.* 6:82, 1956.
- 65.—NACHMANSOHN, D. — *Chemical and Molecular Basis of Nerve Activity*. New York Academic Press, Inc. p. 235, 1959.
- 66.—NACHMANSOHN, D. — *Israel J. Med. Sci.* 1:1201, 1965.
- 67.—NORRIS, B. y CONCHA, J. — *Arch. Biol. Med. Exptl.* 2:158, 1965.
- 68.—PAINTAL, A. S. — *Pharmacol. Rev.* 16:341, 1964.
- 69.—QUILLIAM, J. P. — *Brit. J. Pharmacol.* 10:133, 1955.
- 70.—RAND, M. J. y RIDEHALGH, A. — *J. Pharm. Pharmacol.* 17:144, 1965.
- 71.—RAND, M. J. y WHALER, B. C. — *Nature (Lond.)* 206:588, 1965.
- 72.—RICHARDSON, J. A. y WOODS, E. F. — *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 100:149, 1959.
- 73.—RODRIGUEZ-ORTÍZ y CATO, J. — *Acta Cientif. Venezolana.* 16:99, 1965.
- 74.—SCHNEYER, C. A. — *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 120:230, 1965.
- 75.—STROMBLAD, B. C. R. — *Brit. Med. J.* 1:484, 1959.
- 76.—TORCHIANA, M. L. — *Arch. Int. Physiol.* 71:762, 1963.
- 78.—TOURNADE,, A., SARROURY, C. y CHE-

- LLOT, M. — Compt. Rend. Soc. Biol. 124: 100, 1937.
- 77.—TOURNADE,, A., SARROURY, C. y CHEVILLOT, M. — Compt. Rend. Soc. Biol. 124:203, 1937.
- 79.—TRENDELENBURG, U. — Brit. J. Pharmacol. 9:481, 1954.
- 81.—TRENDELENBURG,, U. — J. Physiol. (Lond.) 135:66, 1957.
- 81.—TRENDELENBURG, U. y HOBBS, D. — J. Pharmacol. Exptl. Therap. 130:450, 1960.
- 82.—VIVEROS, H. — Activación del simpático intracardíaco por acetilcolina. Tesis Universidad de Chile, 1965.
- 83.—VIVEROS, H. y CABRERA, R. — Por publicar.
- 84.—VIVEROS, H. CABRERA, R. y TORRANCE, R. W. — VI Congreso de la Asociación Latino Americana de Ciencias Fisiológicas. Viña del Mar, Chile, 1964. Resúmenes de Comunicaciones Libres, p. 104.
- 85.—Vogr, M. — Brit. J. Pharmacol. 24: 561, 1965.