

ACTIVIDAD ANALGESICA : ESTUDIO DE UN
NUEVO METODO DE VALORACION

Memoria presentada por Juana M.^a Planas Rosselló
para optar al grado de licenciada.

Tesina dirigida por el Prof.Dr.D.Eduardo Goñalons Sintés, Profesor Adjunto de la Cátedra de Fisiología Animal.

Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelona.

Septiembre 1974.

BIBLIOTECA DE LA UNIVERSITAT DE BARCELONA



0701477895

Deseo agradecer al Profesor Dr. D. E. Goñalons la ayuda que me ha prestado en todo momento en la dirección y orientación de esta tesina.

Asimismo deseo expresar mi agradecimiento a la Cátedra de Fisiología Animal y especialmente al Dr. D. A. Torralba, que me ha facilitado los medios y ayuda necesaria, sin los cuales no habría sido posible la realización del presente trabajo.

INDICE

	Página
INTRODUCCION.....	5
1.-FISIOLOGIA DEL DOLOR.....	9
1.1.-Percepción y vías nerviosas.....	10
1.2.-Tipos de dolor.....	17
1.2.1.-Dolor superficial.....	17
1.2.2.-Dolor profundo.....	18
1.2.3.-Dolor visceral.....	18
1.2.4.-Dolor referido.....	21
1.3.-Aspectos clínicos del dolor.....	24
1.4.-Métodos para controlar el dolor.....	25
2.-ANALGESICOS.....	29
2.1.-Clasificación.....	29
2.2.-Métodos de estudio.....	33
2.2.1.-Analgésicos no-narcóticos.....	33
2.2.2.-Analgésicos narcóticos.....	39
3.-PARTE EXPERIMENTAL.....	45
3.1.-Lactobionato de eritromicina como agente agonista en el estudio de analgésicos.....	46
3.1.1.-Estudio de las condiciones experi mentales.....	47

	Página
3.1.2.-Resultados.....	48
3.1.3.-Discusión.....	71
3.2.-Método de la eritromicina para el estudio de analgésicos.....	73
3.2.1.-Estudio de las condiciones experi- mentales.....	73
3.2.2.-Resultados.....	74
3.2.3.-Discusión.....	91
4.-CONCLUSIONES.....	94
5.-BIBLIOGRAFIA.....	97

INTRODUCCION

INTRODUCCION

El estudio del dolor constituye uno de los temas más interesantes en fisiología. Frente a la necesidad de aliviarlo han surgido distintos tratamientos, siendo sin embargo el más utilizado el de analgésicos.

El estudio farmacológico experimental de los analgésicos presenta una serie de problemas derivados no solo de los analgésicos en si, sino de la naturaleza del dolor, y de las condiciones experimentales planteadas. Prueba de ello es el gran número de métodos para hallar el grado de analgesia, hecho que hace presuponer que ninguna de las técnicas empleadas reúne suficientes condiciones como para permitir una inequívoca extrapolación de los resultados obtenidos en farmacología experimental a la aplicación terapéutica. Por otra parte los métodos experimentales empleados varían sustancialmente según se trate de estudiar analgésicos del tipo narcótico o no narcótico.

En esta tesina se ha estudiado y puesto

a punto un nuevo método para valorar tanto analgésicos de tipo narcótico como no narcótico y se han establecido las condiciones experimentales más adecuadas para poder ser empleado como screening farmacológico.

1.-FISIOLOGIA DEL DOLOR

1.- FISIOLOGIA DEL DOLOR.

Muchas han sido las definiciones propuestas para el dolor así Sherrington (11) lo denomina como "el adjunto psíquico de un reflejo protector imperativo", siendo una de las más sencillas definiciones la introducida por Strong (29) en la que considera dos componentes: el sensorial o de percepción y el de reacción. Para un mismo estímulo la sensación original es idéntica para todos los individuos, sin embargo la reacción varía de un individuo a otro y es incluso diferente en un mismo individuo según el momento, atendiendo a distintos factores, como será la personalidad, las experiencias pasadas, las circunstancias, las memorias, el juicio y el medio ambiente que influyen definitivamente en la significación del dolor. Es decir, en la neuropercepción del dolor hay que distinguir de una parte el grado álgico fisiopatológico del mismo y de otra la resonancia emocional y sentimiento de sufrimiento o pathos personal que el dolor depara.

1.1.- Percepción y vías nerviosas.

El mecanismo del dolor se halla actualmente en un estado de controversia. La teoría específica propone que las terminaciones nerviosas libres son los receptores específicos del dolor en el hombre, y los impulsos dolorosos son transportados por fibras nerviosas específicas a los centros dolorosos cerebrales. La teoría común considera que todas las terminaciones nerviosas, excepto las que inervan las células pilosas, son iguales, así el dolor se produce por una intensa estimulación de receptores inespecíficos. Hay también controversias sobre si existe un lugar específico de activación central para el dolor en el área talámica. La incompatibilidad de estas dos teorías da lugar a la propuesta de otras nuevas como la teoría de la puerta de control (23). Los conocimientos actuales de las bases neurofisiológicas del dolor se inclinan más hacia la teoría específica. Los receptores sensoriales de cada uno de los órganos de los sentidos están adaptados para responder a una forma particular de energía a un umbral mucho más bajo que el que responden otros receptores a esta forma de energía. La forma particular de energía a la cual un receptor es más sensible se denomina el estímulo adecuado. Por ejemplo, el estímulo adecuado es la luz para los conos y bastones de la retina.

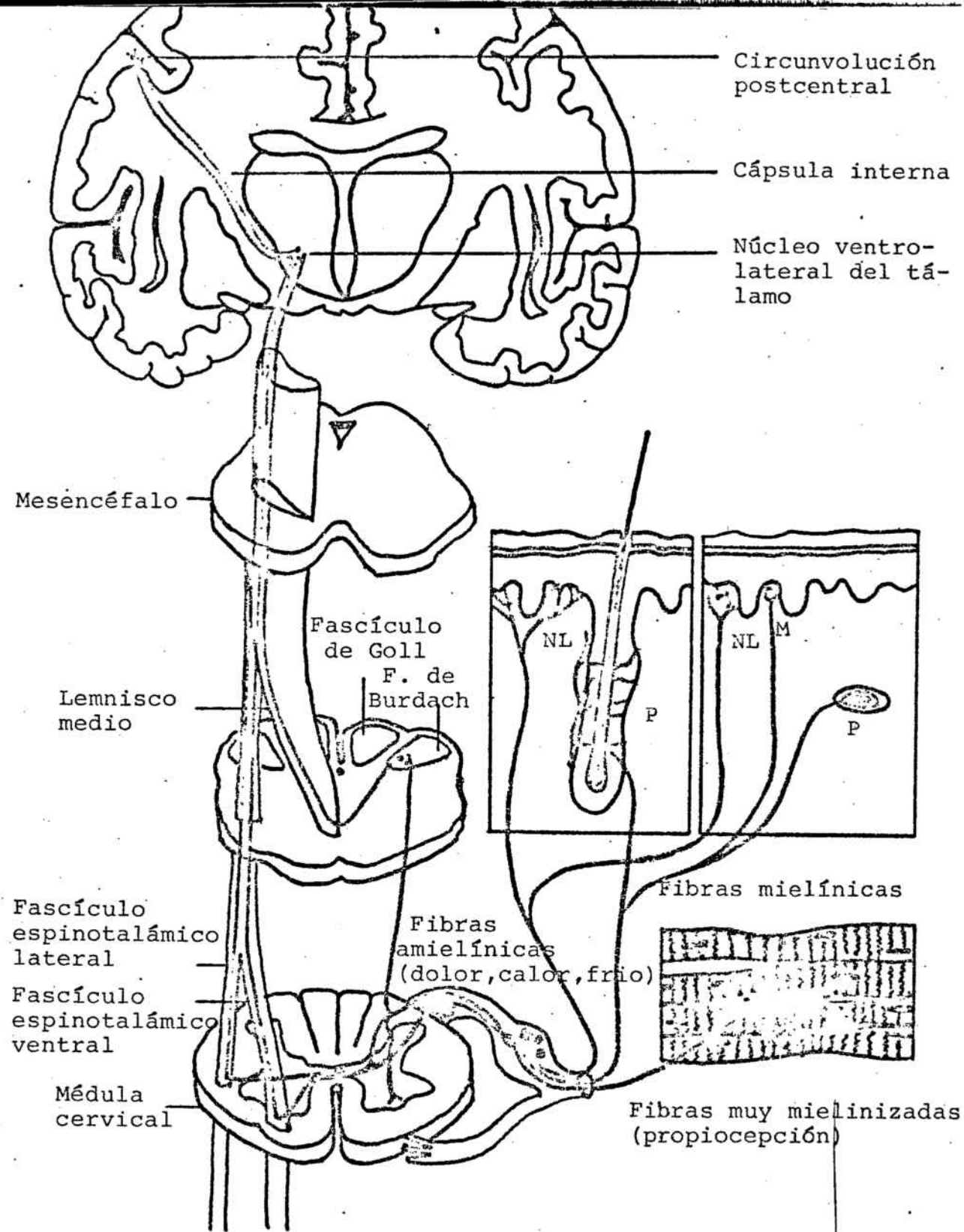
Los receptores responden a otras formas de energía distintas del estímulo adecuado, pero el umbral para estas respuestas no específicas es mucho mayor. Existen receptores funcionalmente específicos para cada una de las modalidades sensorias. Cada órgano de los sentidos está especializado para convertir una forma particular de energía en potenciales de acción en los nervios sensitivos. Cada modalidad tiene una vía discreta hacia el cerebro y la sensación percibida, así como la parte del cuerpo a la cual es referido, están determinadas por la porción particular de corteza central que se activa. Las diferencias en intensidad de una sensación dada son obtenidas: por cambios en la frecuencia de los potenciales de acción en los nervios sensitivos y por cambios en el n° de receptores activados. Un incremento en la intensidad de la estimulación de un órgano sensitivo tiene muy poco efecto (si es que alguno) sobre la calidad de la sensación producida. Las sensaciones de dolor, de presión, de temperatura son producidas por estimulación de la piel solamente en los lugares donde se encuentran situados los órganos sensitivos para estas modalidades sensorias. Existe además en la iniciación de los impulsos dolorosos la intervención de un mediador químico responsable que hace que el estímulo mecánico sea convertido en un cambio de permeabili-

dad de la membrana. Tales mediadores químicos son el ácido láctico, la histamina, la bradiquinina, la serotonina y otros. Parece ser que en el dolor profundo, especialmente muscular se libera durante la contracción un agente químico denominado "factor P" de Lewis que causa dolor cuando su concentración local es suficientemente alta. Cuando el aporte sanguíneo es restituido el material es lavado o metabolizado. La identidad del factor P no está aclarada, pero puede ser el potasio.

La transmisión del dolor periférico al sistema nervioso central está ampliamente descrito en los libros de texto y las revistas de neurofisiología. El proceso neurofisiológico de la percepción del dolor consiste en que las terminaciones nerviosas desnudas que se encuentran en casi todos los tejidos del organismo constituyen los receptores del dolor. A partir de ellas los impulsos dolorosos son transmitidos al sistema nervioso central por dos tipos de fibras. Un tipo está compuesto de pequeñas fibras mielinizadas A δ que poseen un diámetro de 2-5 μ que conducen a una velocidad de 12 a 30 m/seg, y que registran el dolor localizado discreto (dolor epicrítico) mientras que el otro tipo consiste en fibras no mielinizadas de 0'4 a 1'2 μ de diámetro que conducen los

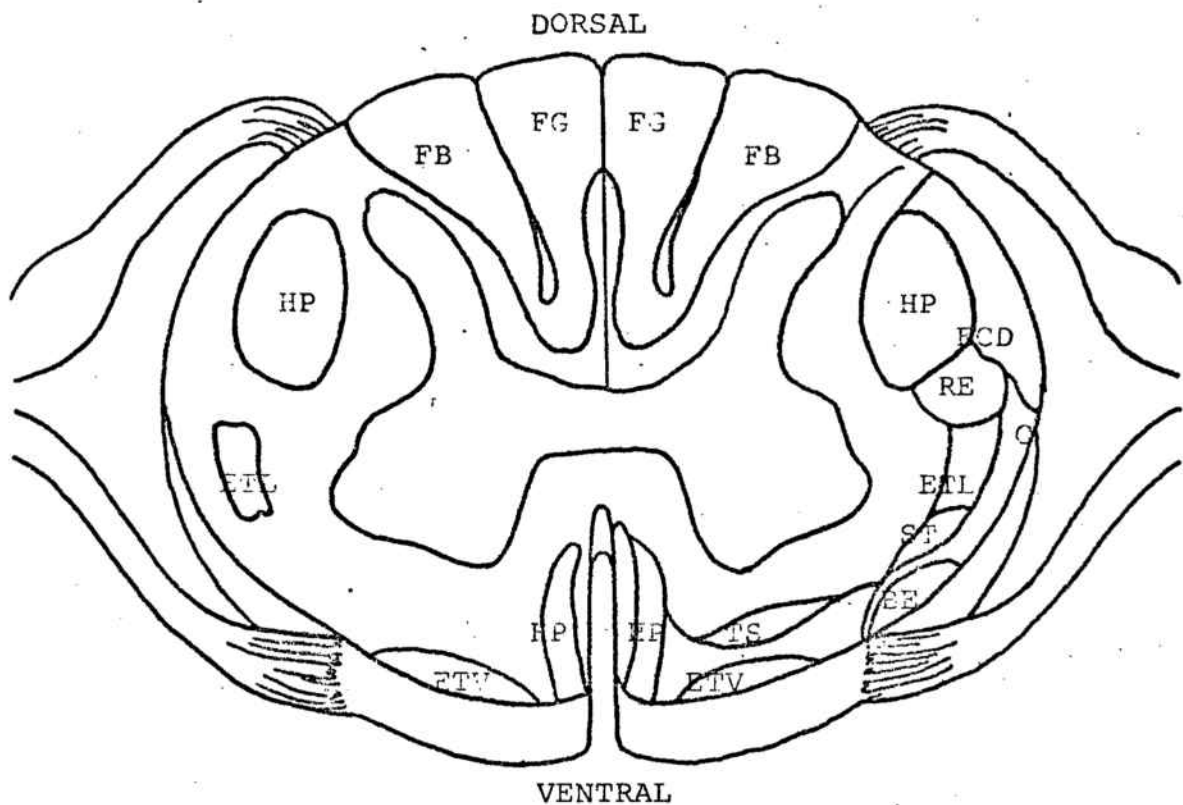
impulsos a la baja velocidad de 0'5 a 2 m/seg. y registran vagamente el dolor localizado sordo (dolor protopático). Estas últimas fibras forman un componente prominente de la división externa de las raíces dorsales y a menudo se les llama fibras C de las raíces dorsales.

Los axones que transportan estos estímulos tienen sus conexiones celulares en las raíces de los ganglios dorsales. Ambos grupos de fibras terminan en el fascículo espino-talámico lateral, tras cruzar la línea media, donde revelan a sus neuronas y los impulsos dolorosos ascienden a través de este fascículo y de los núcleos posteroexternos y posterointernos ventrales del tálamo que son núcleos de relevo cortical. Allí hacen conexión con las neuronas cuyos axones forman la radiación talámica para la circunvolución posterolándica (circunvolución parietal ascendente) de la corteza cerebral (Fig.1-2). La disposición de las fibras de la radiación talámica es tal, que las partes del cuerpo están representadas en orden a lo largo de la circunvolución posrolándica, con los pies hacia arriba y con la cabeza hacia la base de la circunvolución. No solo existe una localización detallada de las fibras de las diversas partes del cuerpo en esta circunvolución, sino que también el tamaño del área



- NL terminaciones nerviosas libres
- P terminaciones nerviosas en el folículo piloso
- M corpúsculo de Meissner
- HM huso muscular
- P corpúsculo de Pacini

Fig.I:VIAS DEL DOLOR



ETL Fascículo espinotalámico lateral
 ETV Fascículo espinotalámico ventral
 ECD Haz espinocerebral dorsal
 HP Haz piramidal directo
 FB Fascículo de Burdach
 FG Fascículo de Goll
 HP Haz piramidal lateral
 RE Haz Rubro-espinal
 ST Haz espino-tectal
 TS Haz tecto-espinal
 BE Fascículo bulbo-espinal

Fig.2: CORTE TRANSVERSAL DE LA MEDULA ESPINAL

cortical receptora de los impulsos de una región particular del cuerpo es proporcional al número de receptores que se encuentran en ella. Los tamaños relativos de las áreas receptoras corticales se muestran en la figura (Fig.3).

Hay una área secundaria de recepción sensorial en la pared superior de la cisura de Silvio. La cabeza está representada en el extremo inferior de la circunvolución posrolándica, y los pies en el fondo de la cisura silviana. La representación de las partes del cuerpo no es tan completa o detallada como en la circunvolución posrolándica. También en el tálamo hay una discreta representación de las diversas partes del cuerpo.

Existe alguna evidencia de que hay vías ascendentes de conducción rápida para el dolor aparte de los sistemas clásicos específicos descritos anteriormente y del sistema reticular ascendente de conducción lenta.

La presencia de dos vías para el dolor, una lenta y otra rápida, explica la observación fisiológica de que existen dos clases de dolor. Un estímulo doloroso causa una sensación viva, aguda, localizada, seguida de una respuesta apagada dolorosa y más difusa. Estas dos sensaciones son llamadas indistintamente dolor rápido y lento o primero y segundo dolor. Parece ser

un hecho establecido que el dolor rápido se debe a la actividad de las fibras de dolor A δ , mientras que el dolor lento se debe a la actividad de las fibras C de dolor.

Existen muchas pruebas de que los estímulos sensorios son percibidos en ausencia de la corteza cerebral, lo cual es particularmente cierto en el caso del dolor. Las áreas receptoras corticales aparentemente están encargadas de la interpretación discriminativa, exacta y significativa del dolor, pero la percepción sola no requiere de la corteza.

En los estados patológicos la sensibilidad de los receptores de dolor se halla alterada pudiendo existir dos tipos de respuestas: hiperalgesia primaria y secundaria. La primaria se produce en una región que rodea una área inflamada donde el umbral para el dolor está disminuido, de manera que estímulos triviales causa dolor y se cree puede ser debido a la liberación de histamina. La hiperalgesia secundaria consiste en que el umbral del dolor de el área afectada está aumentado, pero cuando se produce el dolor es desagradable prolongado y severo. La duración es además inferior a la de la hiperalgesia primaria.

1.2.-Tipos de dolor.

1.2.1.-DOLOR SUPERFICIAL: punzante, lacerante,

o quemante que se localiza con precisión en la zona donde radica su estimulación y a lo largo del nervio dañado, por esto rara vez se irradia.

1.2.2.- DOLOR PROFUNDO: la diferencia fundamental entre la sensibilidad superficial y profunda estriba en la diferente naturaleza del dolor evocado por los estímulos nociceptivos. A diferencia del dolor superficial, el dolor profundo está mal localizado, es desagradable y nauseante y va acompañado de sudor y de cambios en la presión sanguínea. En la producción del dolor profundo y especialmente muscular interviene una estimulación química. Parece ser que se produce una liberación del "factor P" de Lewis, durante la contracción que produce dolor mientras se halla en alta concentración. Un ejemplo clínico sería el dolor subesternal que se presenta cuando el miocardio está isquémico durante el ejercicio, debido a la acumulación del factor P en un músculo. La angina es aliviada por el reposo porque éste disminuye los requerimientos de oxígeno del miocardio y que permite que elimine el factor por irrigación.

1.2.3.- DOLOR VISCERAL: es el dolor de las estructuras viscerales que se caracteriza por ser mal localizado, desagradable, acompañado de náusea y síntomas autónomos y a menudo irradia o

es referido a otras áreas. Existen diferencias entre los mecanismos sensitivos somáticos y viscerales. En las vísceras hay cierto número de receptores especiales para el dolor y otras modalidades sensorias que responden a cambios del medio interno y que son semejantes a los existentes en los pies pero presentan marcadas diferencias en la distribución. No existen propioceptores (receptores que proporcionan información del cuerpo en el espacio en un instante dado) en las vísceras y hay pocos órganos sensitivos para la tos y la presión.

A causa de que existen relativamente pocos receptores del dolor en las vísceras, el dolor visceral es mal localizado. Sin embargo el dolor visceral puede ser muy intenso. Los receptores que se encuentran en las paredes de las vísceras huecas son especialmente sensibles a la distensión de estos órganos, bastando estímulos relativamente débiles para causar dolor intenso cuando una viscera se halla hiperémica. Es además el dolor visceral muy desagradable no solo por el componente afectivo que tiene en común con todos los dolores, sino también porque muchos aferentes viscerales excitados por el proceso que causa el dolor, tienen conexiones reflejas que inician la náusea, el vómito y otros efectos autónomos.

Las fibras aferentes de las estructuras viscerales alcanzan al sistema nervioso central a través de vías simpáticas y parasimpáticas. Sus cuerpos celulares se encuentran en los ganglios de las raíces dorsales y en los ganglios homólogos de los nervios craneales.

Los impulsos dolorosos de las vísceras torácicas y abdominales son conducidos casi exclusivamente por el sistema nervioso simpático y por las raíces dorsales del primer nervio torácico espinal hasta el segundo lumbar. Sin embargo, los impulsos dolorosos del esófago, de la tráquea y de la faringe son mediados por los aferentes vagales y el dolor de las estructuras profundas de la pelvis es transmitido por los nervios parasimpáticos sacros.

Las sensaciones viscerales viajan a lo largo de las mismas vías que las somáticas en los fascículos espinotalámicos, en los lemniscos medios, en las radiaciones talámicas y en las áreas receptoras corticales de las circunvoluciones posrolándicas.

En el tronco nervioso periférico, el n° de fibras C es cuatro veces mayor que el n° total de fibras mielínicas. Un

20% de las fibras del tronco simpático son fi
bras C.

1.2.4.- DOLOR REFERIDO: La excitación de una víscera usualmente produce dolor que se siente no en la víscera misma sino en alguna estructura somática que puede estar situada a considerable distancia. El dolor de este tipo se dice que está referido a la estructura so
mática. El dolor somático profundo también puede ser referido, pero no el dolor superfi
cial. Cuando el dolor visceral es local y re
ferido, algunas veces puede propagarse o "irradiar" del sitio local a otro distante. Uno de los ejemplos más conocidos del dolor referido es el del dolor cardíaco referido a la cara interna del brazo izquierdo. Otro ejemplo es el dolor en la punta del hombro debido a la irritación de la porción central del diafragma. Sin embargo los sitios de referencia del dolor no son unos cualesquiera sino que constituye una estructura que proviene del mismo segmento embrionario o derma
toma que la estructura en la que se origina el dolor. Este principio se llama regla de los dermatomas. Así, en caso del diafragma, éste emigra de la región del cuello durante su desarrollo embrionario hasta su localiza-

ción abdominal en el adulto y lleva con él su inervación, es decir al nervio frénico. Una tercera parte de las fibras del frénico son aferentes y entran en la médula espinal a un nivel situado entre el 2° y el 4° segmentos cervicales, el mismo sitio por el cual entran las fibras del vértice del hombro. De modo semejante el corazón y el brazo tienen el mismo origen segmentario.

Existen varias teorías sobre el mecanismo del dolor referido, una de ellas es la de la convergencia de las fibras aferentes viscerales y somáticas sobre las mismas neuronas espinotalámicas. Debido a que el dolor somático es mucho más común que el visceral, el cerebro ha aprendido que la actividad que le llega por una vía dada se debe a un estímulo doloroso en una área somática particular. Cuando la misma vía es estimulada por la actividad de las fibras aferentes viscerales, la señal que llega al cerebro no es diferente y el dolor es proyectado hacia el área somática. (Fig. 4). Otra teoría del origen del dolor referido es la de la facilitación que afirma que, debido a los efectos de la franja subliminal, los impulsos que llegan des-

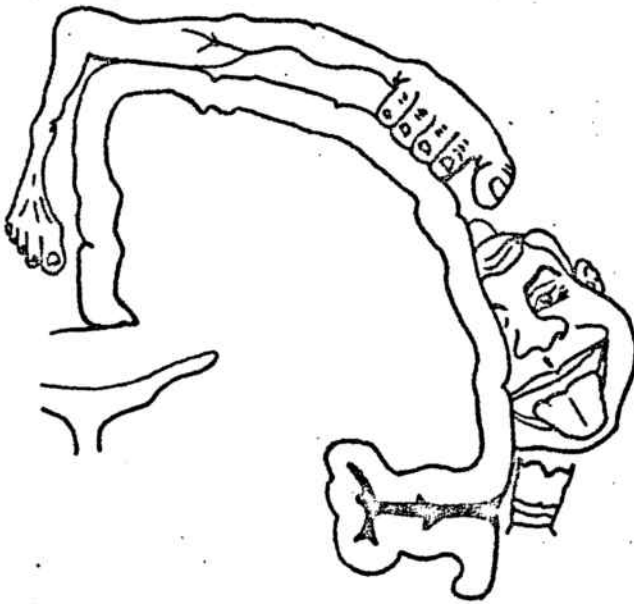


Fig.3:HOMUNCULO SENSORIO

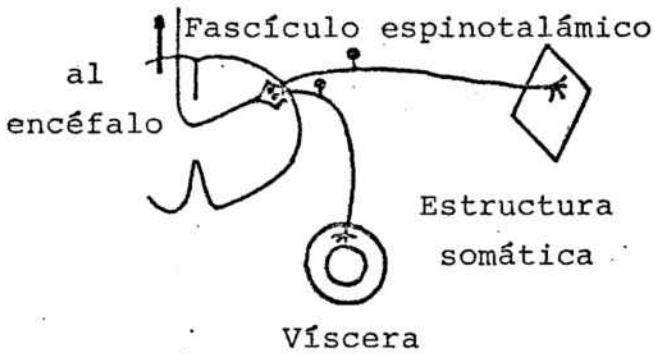


Fig.4:DIAGRAMA DE LA TEORIA DE LA CONVERGENCIA

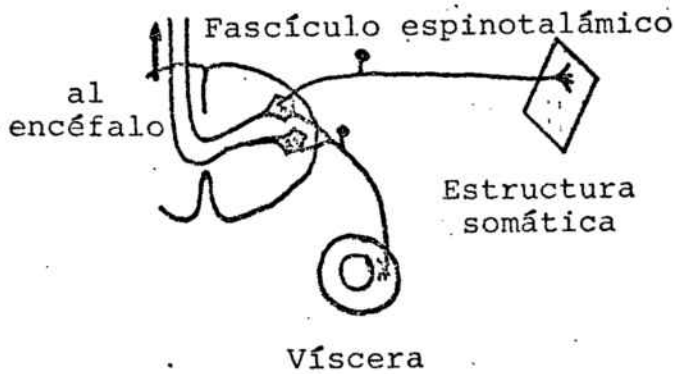


Fig.5:DIAGRAMA DE LA TEORIA DE LA FACILITACION

de las estructuras viscerales abaten el umbral de las neuronas espinotalámicas que reciben a las fibras aferentes de las áreas somáticas, de manera que la menor actividad en las vías del dolor de las áreas somáticas pasa hasta el encéfalo. (Fig. 5). Debido al efecto de la anestesia del área somática de referencia se ha podido llegar a la conclusión de que tanto la convergencia como la facilitación intervienen en la patogenia del dolor referido.

1.3.-Aspectos clínicos del dolor y necesidad de aliviarlo.

La historia clínica del paciente revela ordinariamente la naturaleza del dolor. El dolor puede ser débil y poco localizado, o fuerte y bien localizado. Su curso puede ser corto o largo. Su intensidad, suave, moderada, severa o lacerante.

En términos generales, se clasifica en agudo y crónico. El dolor agudo tiene un comienzo brusco que se calma tras un acertado tratamiento como es el caso de los cólicos renales, traumatismos, cefaleas. El dolor crónico es en cambio resistente al tratamiento durante un periodo de tiempo indefinido y se presenta en procesos como la artritis reu-

matoide y las enfermedades malignas duraderas.

El dolor indica al individuo que algo está mal en su organismo presentando la necesidad de aliviarlo ya que el dolor constante puede provocar nocivos efectos en órganos vitales tales como el corazón y los riñones(14-32) Aparte de esto, el bombardeo prolongado e intenso del sistema nervioso central puede llegar a producir grave depresión mental, alteración de la personalidad y desaparición total del placer de vivir, con un constante miedo a morir. Por ello debe tratarse de aliviar el dolor, conociendo a ser posible su etiología. Una vez establecido el factor etiológico específico, hay que seleccionar el mejor programa para tratar el dolor según las circunstancias individuales de cada caso.

1-4.- Métodos para controlar el dolor.

Atendiendo a las circunstancias de cada caso individual, el dolor puede ser controlado por muy variados métodos, tales como la cirugía, neurocirugía, radiaciones terapéuticas, fisioterapia, hipnosis,

psicoterapia, anestesia regional y medicamentos analgésicos. El método más utilizado y frecuente es, sin embargo, el de los medicamentos analgésicos.

Mediante los múltiples procedimientos neuroquirúrgicos que se han llevado a cabo para aliviar el dolor, se ha visto que el dolor puede disociarse de su componente subjetivo desagradable seccionando, por ejemplo las conexiones profundas entre los lóbulos frontales y el resto del encéfalo (lobotomía prefrontal). Después de esta operación los pacientes dicen que todavía sienten dolor pero que no les molesta. La operación a veces resulta de utilidad para reducir el dolor intratable causado por el cáncer terminal. Otros procedimientos quirúrgicos para aliviar el dolor son: la simpatectomía (para el dolor visceral), la mielotomía, la rizotomía posterior, la cordotomía, la tractotomía bulbar; la tractotomía mesencefálica; la talamotomía, la girectomía, etc.

Dentro de la farmacoterapia del dolor conviene recalcar tres grandes acciones farmacológicas de las drogas utilizadas para el tratamiento de los trastornos dolorosos:

1- Combatir específicamente las causas del dolor. En la angina de pecho mediante nitratos orgánicos y otros vasos-dilatadores. En la úlcera péptica mediante antiácidos y anticolinérgicos. En el glaucoma mediante la pilocarpina.

2- El bloqueo local de los impulsos periféricos dolorosos con procaína y otros anestésicos tópicos de corta duración, o con alcohol y fenol cuando se desea una acción prolongada.

3- Modificación sistemática de la recepción y reacción del dolor con analgésicos y depresores corticales (como alcohol, barbitúricos y fenotiacina) Es comprensible que los depresores corticales a grandes dosis produzcan cierta analgesia inespecífica y que cualquier analgésico efectivo (como la morfina) origine el indeseable efecto de cierto grado de alteración sensorial.

2.-ANALGÉSICOS

2.- ANALGESICOS.

Los analgésicos (an = sin; algos = dolor) o anodinos (odyne = dolor) calman o suprimen el dolor por mecanismo central, sin pérdida apreciable de conciencia (7). La acción analgésica se debe a un aumento del umbral para los estímulos dolorosos en los centros talámicos aunque parece puedan operar por medio de mecanismos diversos que puedan incluir acciones sobre la causa del dolor, así como sobre la percepción de este o modificando la reacción psíquica del paciente (26).

2.1.- Clasificación de analgésicos.

Los analgésicos comprenden un heterogéneo conjunto de drogas que por conveniencias didácticas, pueden ser consideradas como un grupo, no porque sean iguales en su estructura o uniformes en su acción farmacológica, sino porque poseen indicaciones terapéuticas comunes.

Existen dos grandes grupos de analgésicos dependiendo de sus propiedades farmacológicas. El grupo de analgésicos narcóticos tiene como prin

cipal y más conocido representante a la morfina, agrupando otras drogas incluso de diferentes estructuras pero semejantes acciones como la metadona y petidina. Se caracterizan por producir euforia, habituamiento, sueño y reducir la ansiedad. Las drogas de este grupo pueden ser antagonizadas por derivados de la morfina como la nalorfina y el levalorfan. Algunos de los más importantes efectos farmacológicos vienen sumarizados en la tabla siguiente, que indica a su vez algunas de las propiedades del segundo grupo de analgésicos: Los analgésicos no-narcóticos, que incluyen la aspirina, paracetamol y aminopirina. Estos se caracterizan por no producir adicción, y tienen relativamente bajo poder analgésico acompañadas de acciones antiinflamatorias, antipiréticas o ambas a la vez. (Tabla I).

TABLA I

Comparación de algunos efectos farmacológicos de analgésicos narcóticos y analgésicos no-narcóticos.

EFECTO FARMACOLOGICO	ANALGESICOS	
	NARCOTICOS	NO-NARCOTICOS
Antinociceptivos	++	+
Dependencia física	++	-
Euforia	+	-
Sueño	+	-
Depresión respiratoria	+	-
Supresión de la tos	+	-
Emesis	+	+
Estreñimiento	+	+/-
Antagonismo con nalorfina y levallorfán	++	-
Erección de la cola en ratas	++	+/-
Opacidad lenticular	++	-
Antipirético	+/-	++
Antiinflamatorio	-	++
Ulceración en tracto digestivo	-	+
Antagonismo con bradiquinina	-	++

++ característico de grupo.

+ prueba clara en algunos tests.

+/- dudoso.

- no lo presenta.

Sin embargo existen distintas clasificaciones de los analgésicos. Así, Turner (28) lo hace según:

1- Antipiréticos periféricos como el acetilsalicílico que actúa a la vez como antiinflamatorio o antirreumático en tejidos donde disminuye la temperatura y el edema.

2- Antipiréticos hipotalámicos como la aminopirina que es analgésico en tejidos normales e inflamados, disminuyendo la temperatura y el edema.

3- Analgésicos narcóticos que son analgésicos de gran influencia en la anulación del dolor y en el psiquismo. No tienen efectos sobre la temperatura y el edema.

Algunos autores prefieren dividir los analgésicos en otros grupos y a menudo se hace con siderando dos grandes grupos:

1- Analgésicos no-narcóticos.

2- Analgésicos narcóticos.

que será el considerado para describir los métodos de estudio de los analgésicos.

Para conocer la actividad analgésica de una sustancia deben realizarse unos estudios previos para conocer sus acciones farmacológicas que se realizan en animales con posible posterior uso en el hombre si resultan efectivos. Para ello

se utilizan unos tests.

Frente a estos tests aparece la dificultad doble de que en ciertos casos sustancias que son analgésicas en los animales no lo son luego en el hombre, y por el contrario, sustancias como la aspirina y nalorfina que son analgésicos en el hombre resultan ineficaces o dudosos en los tests realizados en ciertos animales.

Por otra parte el Screening para conocer la actividad analgésica es muy importante para conocer otras posibles actividades.

Vamos a considerar a continuación algunos de los métodos para el estudio de los analgésicos agrupados en dos grupos diferentes según se trate de analgésicos no narcóticos o de analgésicos narcóticos.

2-2.- Métodos de estudio.

2-2-1.- ANALGESICOS NO NARCOTICOS.

2.2.1.1.- Contorsiones dolorosas inducidas por sustancias químicas.

Probablemente uno de los mejores métodos de Screening utilizados para analgésicos no narcóticos, es el de las contorsiones producidas por inyección intraperitoneal a ratones de soluciones químicas. Al ser inyectados intraperitonealmente ratones con solución acuosa de 2-fenil-

1,4 - benzoquinona produce una respuesta que puede ser antagonizada mediante la administración previa de un analgésico en dosis adecuada.

En el método de Hendershot y Forsaith (17) ratones hembras de un peso aproximado a 20 gr. son inyectadas intraperitonealmente con 0'2 ml. de una solución acuosa al 0'02% de fenilquinona. Los ratones se observan durante un período de 20 minutos, controlándose el número total de las contracciones realizadas por 6 ratones. Cerca del 80% de ratones no dan esta respuesta y no deben usarse; los que la dan, se utilizan el día siguiente para el estudio de la droga. El porcentaje de protección a cada dosis se calcula a continuación para cada grupo de 6 ratones.

$$\% \text{ protección} = 100 - \left(\frac{\text{experimental}}{\text{control}} \times 100 \right)$$

La DE 50 se calcula de acuerdo con Litchfield y Wilcoxon (22).

El resultado de los tests con varios analgésicos dan la siguiente relación, donde el acetilsalicilato sódico tiene el valor de unidad; fenilbutazona 1,61; antipirina 0'73; acetofenetidina, 0'52; salicilamida, 0'40; N-acetil-p-amino-fenol 0'31.

Otros tipos de drogas además de los analgésicos que inhiben las contracciones doloro-

sas son: antihistamínico, parasimpaticomiméticos, simpaticomiméticos, estimulantes centrales y agentes bloqueantes adrenérgicos.

Okun y col (25) emplearon otra quina para producir contracciones dolorosas. En su método usan ratones albinos machos de peso entre los 16 y 24 gr. La p-benzoquinona se utiliza en vez de la fenilquinona debido a producir igual efecto a ella al ser inyectada intraperitonealmente, con la ventaja que la p-benzoquinona es soluble en agua destilada al 0'2 mgr./ml. mientras que la fenilquinona no. Las contracciones dolorosas no aparecen cuando la p-benzoquinona se administra subcutánea o intravenosamente. El volumen de todas las inyecciones es de 0'25 ml. Las sustancias a ensayar se inyectan subcutaneamente en el lomo o en el cuello y después de 30 minutos se administran por vía intraperitoneal 0'25 ml. de una solución de 0'2 mgr./ml. de benzoquinona.

La situación de un grupo de ratones tanto en una jaula como en jaulas individuales no afecta el número de contracciones dolorosas inducidas por la benzoquinona parenteral, pero causa un aumento de grado de inhibición de contracciones dolorosas cuando se les ha administrado la droga tan to analgésicos como no analgésicos.

Para los resultados cuantitativos, se

emplean grupos de 10 ratones para cada dosis. La DE 50 definida como la dosis que disminuye las contracciones dolorosas en un 50% en el grupo, se calcula por el método de Litchfield y Wilcoxon(22): Los resultados muestran que un estimulante central y un antihistamínico, así como un analgésico, pueden inhibir las contracciones dolorosas.

Otra variación del "writhing test" es el de Witkin y col. (31) consiste en ratones macho de 18 a 22 gr. a los que se les inyecta intraperitonealmente una inyección de 300 mgr./Kgr. De solución acuosa de ácido acético al 3%. La sustancia test se administra oralmente 15 minutos antes que el ácido acético a grupos de 6 ratones. Cada ratón se controla durante 20 minutos. A los ratones controles se les da solución salina. Para asegurar los resultados pueden usarse lotes de 12 animales para cada punto de la curva dosis-respuesta. Veinte minutos después de ser administrado el ácido acético, el control de los ratones proporciona 35 contracciones dolorosas en total. Una baja dosis de morfina es detectable con este test, todavía más bajo que el necesario para el empleo de métodos mecánicos o técnicos. La anfetamina es también activa a bajas dosis. La DE 50 es 3'2 mgr./mgr. para anfetamina, 3'5 mgr/mgr. para la morfina y 6'5 mgr/mgr. para hidrociorhidrato de ami-

noindane determinada con grupos de 12 ratones.

Una modificación del método de Siegmund y col. (27) se ha usado para el estudio de agentes timolépticos por sus propiedades analgésicas (Emele y col)(9). Ratones hembras se disponen individualmente en jaulas de vidrio, y se usan grupos de 10 ratones para cada dosis-nivel. Cada ratón se inyecta intraperitonealmente con 0'25 ml. de solución alcohólica de fenilquinona al 0'02%. Se observan durante 10 minutos. Los ratones se inyectan con fenilquinona a variados intervalos de tiempo después de la administración de la droga. El criterio de analgesia es el porcentaje de ratones que no se contraen durante los 10 minutos después de la administración de la fenilquinona. El 95% de límite de confianza se calcula de acuerdo con el método de Litchfield y Wilcoxon (22).

Las DE 50 (en mgr/Kgr. oralmente) con este método y con el "hot-plate" son respectivamente : sulfato de feniletihidracina, 16 y 7'3; hidroclorehidrato de fenilisopropilhidracina, 17 y 7'2 y sulfato de codeína, 10 y 22.

2.2.1.2.- Pododolorímetro.

Este método para la medida de analgesia emplea corrientes eléctricas como estímulo nocivo (Charlier y col.) (6). Se usa una jaula de

ratón cuyo suelo es una placa metálica que recibe corriente eléctrica de voltaje conocido.

Un ratón se coloca en la caja, y se determina el voltaje mínimo de la corriente para que cause en el animal la emisión de un grito. El voltaje se interrumpe. La medida se realiza cada 10 minutos durante 1 hora. Para obtener resultados estadísticos se usan 10 ratones. Después de la 2^a o 3^a determinación el bajo voltaje se vuelve constante a 20 voltios. La sustancia test es entonces administrada y las determinaciones se realizan entonces cada 10 minutos. Una sustancia con propiedades analgésicas incrementa el voltaje necesario para la aparición de la respuesta mencionada. Las determinaciones son continuadas hasta que el valor del voltaje vuelve al valor del control.

Se realiza la curva que permite conocer la intensidad y duración de la analgesia.

2.2.1.3.- Rectodolorímetro.

Una rata se halla situada en una pequeña jaula que posee una lámina de cobre en el suelo, que se conecta a un circuito eléctrico. El segundo polo se conecta a un electrodo cilíndrico de cobre, introducido dentro del recto. Un voltímetro sensible permite medir los cambios de voltaje. El electrodo del recto se fija atándolo a la

cola, que se saca fuera de la jaula. El procedimiento es igual al caso del pododolorímetro descrito antes. El voltaje necesario para la producción del grito es de 1 a 2 voltios. (Charlier y col.) (6).

2-2-2.- ANALGESICOS NARCOTICOS.

2.2.2.1.- Pinza en la cola.

La siguiente descripción corresponde al método de Bianchi y Franceschini(4) que realizaron un estudio exhaustivo sobre el mismo.

Se inyecta un grupo de ratones con una dosis de la sustancia problema subcutánea o intravenosamente. Treinta minutos después la pinza es aplicada a la base de la cola durante 30". Los ratones que han sido tratados con analgésicos no realizan ningún esfuerzo para deshacerse de la pinza mientras que si lo hacen los que no se hallan bajo efecto analgésico.

El porcentaje de ratones de un grupo que es insensible, expresa la potencia de la dosis, y con el uso de una serie de dosis la DE 50 puede determinarse. La administración subcutánea es preferida debido a que la toxicidad es menor y el efecto analgésico mayor.

Este método fue estudiado por Bianchi

y David (3) quienes usaban ratones machos albinos. En algunos tests la administración es oral, para lo que los animales deben hallarse en ayuno durante una noche. Se les pone en la cola la pinza y no empiezan a realizar continuos esfuerzos para quitarse la pinza antes de los 15 segundos. La administración previa es de 0'5 ml/20 gr. peso del animal.

Después de 30, 60, y 90 minutos la pinza se aplica de nuevo, de modo que si se trata de un analgésico no intenta quitarse la pinza en 15 segundos, en alguno de los tres tiempos de observación. Se calcula la DE 50.

2.2.2.2.- Medida de la compresión caudal.

Este método (Green y col.) (16) utiliza ratas. El aparato utilizado para producir un aumento de presión en la cola de la rata consiste en dos jeringas y un tubo de goma con un fluido que va conectado con un manómetro. La 1ª jeringa está en posición vertical. La cola de la rata se halla situada debajo del émbolo. Cuando la presión es ejercida en la 2ª jeringa esta presión es comunicada a través del sistema hidráulico a la 1ª jeringa y tensa la cola de la rata. Igual depresión en la segunda jeringa incrementa la presión de la cola. El manómetro está controlado al dar la primera respuesta la rata luchando y luego chillando. Se considera po

sitiva la analgesia cuando el umbral es el doble del valor de un grupo control. Se halla la DE 50 Blair y Stephenson (5) emplearon este método mediante diseño experimental. La presión necesaria para que el ratón chillé se mide igual que en el caso anterior. La sustancia problema se administra subcutáneamente en el lado a una dosis de 0'2 ml. por 50 gr. de peso en solución salina. La medida se realiza 10 veces en intervalos de 10 minutos. El índice de analgesia se obtiene dividiendo la presión después de la inyección que produce el chillido por el valor de la presión antes de la inyección.

2.2.2.3.- Estímulo térmico.

El mejor test de respuesta a un estímulo térmico consiste en la situación del animal en una placa caliente o en la inmersión de la cola en agua caliente.

La técnica de Janssen y Jageneau (19) es muy simple y eficiente. Ratones machos albinos de 20 a 30 gr. de peso se sitúan sobre una placa caliente que se mantiene entre 55° a 55'5° mediante un baño que contiene una mixtura hirviendo a partes iguales de acetona y formiato de etilo. El tiempo de reacción dura desde que el ratón se pone en la placa caliente hasta el instante que el animal lame sus pies o salta fuera del cilindro. Se usan grupos

de 5 ratones. La reacción se mide tras 10 y 5 minutos antes de la inyección subcutánea o de la administración oral, y a 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180 y 240 minutos después. Se usa un volumen de solución de 0'1 ml/10 gr. peso. La respuesta se considera positiva cuando la reacción después de la inyección es mayor que 30 seg.

La DE 50 puede ser definida como la dosis suficiente de sustancia que causa un 50% de animales que muestran respuesta a los 30 minutos tras administrar.

Existen otros métodos como el de Woolfe y Macdonald (33) modificado luego por Eddy y Leimbach (8). Jacob y Bosouski (18) usaron posteriormente un método manteniendo la placa a altas temperaturas. (65°C).

2.2.2.4.- Contracciones oxióticas.

El método se basa en las contracciones que produce la hormona oxiótica en una rata al ser administrada, siendo esta acción eliminada en caso de ser administrada la morfina a priori.

Ratas hembras de 120 a 140 gr. se tratan con estrógenos subcutáneamente. Después de 10 semanas los animales se hallan preparados para este test.

El agente ensayado se administra sub-

cutaneamente 15 minutos antes de una dosis intraperitoneal de 2 unidades de óxítocina, se usan grupos de 10 ratas. El % desciende en contracciones y se determina la DE 50.

2.2.2.5.- Opacidad lenticular.

Después de una inyección subcutánea de narcóticos analgésicos en un ratón a dosis cuatro veces la DE 50 determinada por el método de la pinza en la cola, ocurre una opacidad reversible en el cristalino, aparece antes de 1/4 hora que subsiste hasta 3 horas.

Se usan ratones de ambos sexos, de 18 a 22 gr. y la opacidad se produce solo por acción de los analgésicos.

En el método de Weinstock (30) las drogas se dan en una solución acuosa en un volumen constante de 1 ml. por 100 gr. subcutáneamente en dosis desde 1 a 20 mgr, a grupos de 10 ratones. Los ratones se examinan después de 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150 y 180 minutos. El n° de ratones que no presentan opacidad en estos tiempos se registran. La DE 50 se calcula al tiempo de mayor actividad.

2.2.2.6.- Inmersión caudal en agua caliente.

Después de una inyección intraperitoneal de la sustancia problema, un grupo de 10 rato-

nes se sitúa en un saco cónico de papel (Ben-Bassat y col.) (2). Las colas de los animales situadas hacia un lado. A intervalos, el ratón se aguantta para que la cola quede inmersa en un baño a la temperatura de 58°. Se registra el tiempo de la reacción típica, un fuerte tirón de la cola. El test se repite cada 30 minutos empezando a los 15 minutos después de la inyección. Se hacen dos lecturas en cada intervalo y la mayor respuesta es la que indica el tiempo de mayor actividad. Un método semejante es el utilizado por Janssen y col. (20) que usa ratas hembras jóvenes y agua a la temperatura de 55°c.

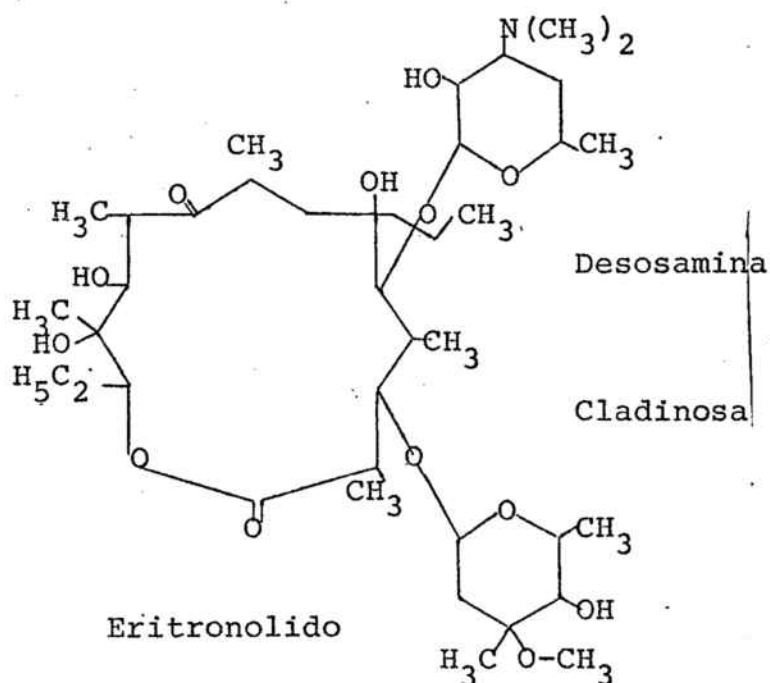
Una vez realizado el estudio de los métodos para conocer la actividad analgésica, de una sustancia, se ha visto que ninguno de ellos presenta una seguridad absoluta (aparición de falsos positivos y falsos negativos). Ello ha inducido a estudiar un nuevo método para el estudio de analgésicos, basado en la producción de contracciones dolorosas por administración por vía intraperitoneal de una sustancia álgica, siendo utilizada como tal, el lactobionato de eritromicina a una dosis determinada, debiendo determinar primero las condiciones experimentales del método, para luego pasar al estudio propio de sustancias con actividad analgésica.

3.-PARTE EXPERIMENTAL

3.- PARTE EXPERIMENTAL.

3.1.- Lactobionato de eritromicina como agente agnista en el estudio de analgésicos.

En la prueba de las contracciones dolorosas de ratones se ha utilizado como agente álgico el lactobionato de eritromicina por vía intraperitoneal. La elección de este producto se debe a sus propiedades de no actuar sobre la fibra nerviosa lesionándola sino que produciendo un dolor agudo, transitorio y de fuerte componente síquico (13).



ERITROMICINA A

La eritromicina es un antibiótico del tipo de los macrólidos (12), que se usa en forma de lactobionato por tratarse de una sal soluble que permite ser administrada por vía intraperitoneal en forma de solución(7).

3.1.1.- ESTUDIO DE LAS CONDICIONES EXPERIMENTALES.

Se han empleado ratones albinos SWISS, machos y hembras agrupados en función de su peso, al objeto de estudiar la influencia de los siguientes parámetros: sexo, peso y administración repetida.

A cada ratón se le administra, por vía intraperitoneal una dosis de 160 mg/Kg. de lactobionato de eritromicina (10 ml/Kgr. de una solución conteniendo 16 mg/ml.). Inmediatamente después de la administración, se comienza la observación de los animales tratados que se disponen en bales de vidrio al objeto de analizar su comportamiento.

La inyección intraperitoneal de eritromicina determina la aparición de unas contracciones abdominales típicas, consecuencia del dolor en la región peritoneal.

Esta respuesta constituye un modelo experimental típico del dolor visceral.

La observación perdura por espacio de 10 minutos transcurridos los cuales desaparece el

efecto de la eritromicina. Durante este tiempo se cuantifica el número de respuestas de cada animal, que corresponde a cada contracción que realiza.

Transcurridos tres días se repite el ensayo que se lleva a cabo de nuevo tres días después. La agrupación posterior de los animales en cuanto a sexo y peso permite estudiar la influencia de dichos parámetros tras la administración repetida de eritromicina con intervalos de tiempo de tres días.

3.1.2.- RESULTADOS.

Los resultados obtenidos, así como el análisis estadístico de los mismos aparecen en las tablas siguientes.

TABLA II

Respuesta de los machos (20-30 grs.) a la administración intraperitoneal repetida de eritromicina (3 días de intervalo).

	1: ADMINISTRACIÓN		2: ADMINISTRACIÓN		3: ADMINISTRACIÓN	
	PESO	Nº RESPUESTAS	PESO	Nº RESPUESTAS	PESO	Nº RESPUESTAS
	30	22	31	6	31	12
	28	19	30	34	28	16
	30	28	30	41	29	22
	30	20	31	16	31	16
	29	1	31	22	29	12
M	29,4	18	30,60	23,8	29,6	15,6
σ	0,89	10,12	0,55	13,97	1,34	4,1
n	5	5	5	5	5	5
ϵ	0,4	4,53	0,24	6,25	0,6	1,83
et*	1,11	12,57	0,66	17,35	1,66	5,08

* para $p=0,05$

TABLA III

Respuesta de los machos (30-40 grs.) a la administración intraperitoneal repetida de eritromicina (3 días de intervalo).

	1: ADMINISTRACION		2: ADMINISTRACION		3: ADMINISTRACION	
	PESO	Nº RESPUESTAS	PESO	Nº RESPUESTAS	PESO	Nº RESPUESTAS
	39	11	42	23	42	19
	39	23	36	0	38	28
	36	15	36	21	35	19
	39	22	40	29	39	23
	39	13	41	18	40	11
	35	30	36	50	37	42
	35	21	-	-	-	-
	31	27	32	15	32	19
	33	19	34	6	34	9
	31	34	-	-	-	-
	32	21	34	26	34	20
	32	1	32	36	30	29
	40	8	46	7	46	0
	40	20	41	19	47	13
M	35,79	18,93	37,50	20,83	37,83	19,33
σ	3,51	8,79	4,42	13,72	5,29	10,82
n	14	14	12	12	12	12
ϵ	0,94	2,35	1,28	3,96	1,53	3,12
et*	2,03	5,07	2,81	8,71	3,36	6,86

* $p=0,05$

TABLA IV

Respuesta de los machos (40-50 grs.) a la administración intraperitoneal repetida de eritromicina (3 días de intervalo).

	1: ADMINISTRACION		2: ADMINISTRACION		3: ADMINISTRACION	
	PESO	Nº RESPUESTAS	PESO	Nº RESPUESTAS	PESO	Nº RESPUESTAS
	45	9	49	10	51	11
	50	14	57	11	57	13
	43	9	46	14	47	16
	43	12	50	6	51	3
	47	9	47	14	49	6
	42	10	48	3	47	12
	44	14	42	24	42	24
	41	11	40	18	42	17
	43	14	46	9	46	0
	48	24	50	35	50	34
	45	27	46	28	48	23
	45	5	41	17	41	5
	48	8	50	15	48	20
	41	17	46	5	42	29
	46	18	48	15	50	12
	44	28	-	-	-	-
	47	6	47	11	46	6
	44	20	43	22	45	19
	42	8	41	19	41	18
	51	13	-	-	-	-
	43	29	44	38	44	33
	43	33	42	37	41	25
M	44,77	15,36	46,15	17,55	46,40	16,30
σ	2,76	8,14	4,09	10,34	4,27	9,78
n	22	22	20	20	20	20
ϵ	0,59	1,74	0,92	2,31	0,96	2,19
ϵt^*	1,22	3,61	1,92	4,83	2	4,58

* p=0,05

TABLA V

Respuesta de las hembras (20-30 grs.) a la administración intraperitoneal repetida de eritromicina (3 días de intervalo).

	1: ADMINISTRACION		2: ADMINISTRACION		3: ADMINISTRACION	
	PESO	Nº RESPUESTAS	PESO	Nº RESPUESTAS	PESO	Nº RESPUESTAS
	28	19	27	19	26	14
	25	19	28	19	28	12
	26	30	27	30	26	21
	25	25	28	25	29	2
	29	8	28	16	30	2
	23	20	22	36	21	14
	29	12	30	18	31	15
	27	6	29	6	29	1
	28	13	29	10	28	9
	24	29	25	33	25	20
M	26,40	18,10	27,30	21,20	27,30	11
σ	2,12	8,33	2,31	9,74	2,91	7,32
n	10	10	10	10	10	10
ϵ	0,67	2,64	0,73	3,08	0,92	2,31
ϵt^*	1,51	5,97	1,65	6,96	2,08	5,22

* $p=0,05$

TABLA VI

Respuesta de las hembras (30-40 grs.) a la administración intraperitoneal repetida de eritromicina (3 días de intervalo).

	1: ADMINISTRACION		2: ADMINISTRACION		3: ADMINISTRACION	
	PESO	Nº RESPUESTAS	PESO	Nº RESPUESTAS	PESO	Nº RESPUESTAS
	38	19	42	18	42	17
	38	26	35	33	37	19
	39	19	41	32	40	16
	38	4	36	6	37	5
	37	20	39	12	37	17
	37	2	36	0	37	3
	39	1	41	22	39	2
	37	26	33	18	37	26
	39	24	38	10	37	1
	40	30	44	17	40	42
	33	3	34	38	38	3
	40	10	39	0	41	13
	33	23	37	30	34	28
	39	21	38	9	39	12
	37	34	39	3	34	4
	37	13	35	19	37	36
	37	21	39	13	38	16
	40	13	40	23	38	26
	33	0	37	3	37	2
	33	27	30	36	32	1
	33	26	37	29	37	29
	38	25	37	36	39	27
	40	22	38	14	39	20
	40	1	38	6	40	6
	40	21	39	23	37	27
	38	10	37	9	38	20
M	37,42	16,96	37,65	17,65	37,73	16,08
σ	2,45	10,12	2,91	11,81	2,16	11,74
n	26	26	26	26	26	26
ϵ	0,48	1,98	0,57	2,32	0,42	2,30
ϵt^*	0,98	4,07	1,17	4,77	0,86	4,73

TABLA VII

Respuesta de las hembras (40-50 grs.) a la administración intraperitoneal repetida de eritromicina (3 días de intervalo).

	1: ADMINISTRACION		2: ADMINISTRACION		3: ADMINISTRACION	
	PESO	Nº RESPUESTAS	PESO	Nº RESPUESTAS	PESO	Nº RESPUESTAS
	41	21	47	0	46	3
	48	2	40	22	38	24
	42	16	39	19	39	9
	47	20	46	32	43	36
	44	15	39	32	44	24
M	44,40	14,80	42,20	21	42	19,20
σ	3,05	7,60	3,96	13,11	3,39	13,18
n	5	5	5	5	5	5
ϵ	1,36	3,40	1,77	5,87	1,52	5,89
ϵt^*	3,77	9,43	4,91	16,29	4,22	16,35

* $p=0,05$

TABLA VIII

Resumen de los resultados obtenidos tras la administración intraperitoneal repetida de eritromicina en función del peso y del sexo. (P = 0'05).

SEXO PESO	1: ADMINISTRACION		2: ADMINISTRACION		3: ADMINISTRACION	
	PESO	N: RESP.	PESO	N: RESP.	PESO	N: RESP.
♂ 20-30 g.	29'4+1'11	18+12'57	30'6+0'66	23'8+17'35	29'6+1'66	15'6+5'08
♂ 30-40 g.	35'79+2'03	18'93+5'07	37'5+2'81	20'83+8'71	37'83+3'36	19'33+6'86
♂ 40-50 g.	44'77+1'22	15'36+3'61	46'15+1'92	17'55+4'83	46'4+2'009	16'3+4'58
♀ 20-30 g.	26'4+1'51	18'1+5'97	27'3+1'65	21'2+6'96	27'3+2'08	11+5'22
♀ 30-40 g.	37'42+0'98	16'96+4'07	37'65+1'17	17'65+4'77	37'73+0'86	16'08+4'73
♀ 40-50 g.	44'4+3'77	14'8+9'43	42'2+4'91	21+16'29	42+4'22	19'2+16'35

TABLA IX.

Influencia de la administración intraperitoneal repetida de eritromicina en ratón macho.
Significación estadística.

PESO	ADMON. COMPARADA	M	σ	n	t	p
20-30 grs.	1 ^a	18	10'12	5	0'75	<0'40
	2 ^a	23'80	13'97	5		
	1 ^a	18	10'12	5	0'49	<0'60
	3 ^a	15'60	4'10	5		
	2 ^a	23'8	13'97	5	1'26	<0'20
	3 ^a	15'60	4'10	5		

TABLA X

Influencia de la administración intraperitoneal repetida de eritromicina en ratón macho.
Significación estadística.

PESO	ADMON. COMPARADA	M	σ	n	t	p
30-40 grs.	1 ^a	18'93	8'79	14	0'43	<0'60
	2 ^a	20'83	13'72	12		
	1 ^a	18'93	8'79	14	0'10	<0'90
	3 ^a	19'33	10'82	12		
	2 ^a	20'83	13'72	12	0'30	<0'70
	3 ^a	19'33	10'82	12		

TABLA XI

Influencia de la administración intraperitoneal repetida de eritromicina en ratón macho.
Significación estadística.

PESO	ADMIN. COMPARADA	M	σ	n	t	p
40-50 grs.	1 ^a	15'36	8'14	22	0'77	< 0'40
	2 ^a	17'55	10'34	20		
	1 ^a	15'36	8'14	22	0'34	< 0'70
	3 ^a	16'30	9'78	20		
	2 ^a	17'55	10'34	20	0'39	< 0'60
	3 ^a	16'30	9'78	20		

TABLA XII

Influencia de la administración intraperitoneal repetida de eritromicina de ratón hembra.
Significación estadística.

PESO	ADMON. COMPARADA	M	σ	n	t	p
20-30 grs.	1 ^a	18'10	8'33	10	0'76	< 0'40
	2 ^a	21'20	9'74	10		
	1 ^a	18'10	8'33	10	2'02	< 0'05
	3 ^a	11	7'32	10		
	2 ^a	21'20	9'74	10	2'65	< 0'01
	3 ^a	11	7'32	10		

TABLA XIII

Influencia de la administración intraperitoneal repetida de eritromicina de ratón hembra.
Significación estadística.

PESO	ADMON. COMPARADA	M	σ	n	t	p
30-40 grs.	1 ^a	16'96	10'12	26	0'23	< 0'80
	2 ^a	17'65	11'81	26		
	1 ^a	16'96	10'12	26	0'29	< 0'70
	3 ^a	16'08	11'74	26		
	2 ^a	17'65	11'81	26	0'48	< 0'60
	3 ^a	16'08	11'74	26		

TABLA XIV

Influencia de la administración intraperitoneal repetida de eritromicina de ratón hembra.
Significación estadística.

PESO	ADMON. COMPARADA	M	σ	n	t	p
40-50 grs.	1 ^a	14'80	7'60	5	0'91	< 0'30
	2 ^a	21	13'11	5		
	1 ^a	14'80	7'60	5	0'65	< 0'50
	3 ^a	19'20	13'18	5		
	2 ^a	21	13'11	5	0'22	< 0'80
	3 ^a	19'20	13'18	5		

TABLA XV

Influencia del peso de los ratones machos en la respuesta a la administración intraperitoneal repetida de eritromicina. Significación estadística.

PESO COMPARADO	ADMON.	M	σ	n	t	P
20-30 grs.	1 ^a	18	10'12	5	0'20	<0'80
30-40 grs.		18'93	8'79	14		
20-30 grs.	1 ^a	18	10'12	5	0'63	<0'50
40-50 grs.		15'36	8'14	22		
30-40 grs.	1 ^a	18'93	8'79	14	1'24	<0'20
40-50 grs.		15'36	8'14	22		

TABLA XVI

Influencia del peso de los ratones machos en la respuesta a la administración intraperitoneal repetida de eritromicina. Significación estadística.

PESO COMPARADO	ADMON.	M	σ	n	t	P
20-30 grs.	2 _a	23'80	13'97	5	0'40	<0'60
30-40 grs.		20'83	13'72	12		
20-30 grs.	2 _a	23'80	13'97	5	1'13	<0'20
40-50 grs.		17'55	10'34	20		
30-40 grs.	2 _a	20'83	13'72	12	0'77	<0'40
40-50 grs.		17'55	10'34	20		

TABLA XVII

Influencia del peso de los ratones machos en la respuesta a la administración intraperitoneal repetida de eritromicina. Significación estadística.

PESO COMPARADO	ADMÓN.	M	σ	n	t	P
20-30 grs.	$\underline{3^a}$	15'60	4'10	5	0'74	< 0'40
30-40 grs.		19'33	10'82	12		
20-30 grs.	$\underline{3^a}$	15'60	4'10	5	0'15	< 0'80
40-50 grs.		16'30	9'78	20		
30-40 grs.	$\underline{3^a}$	19'33	10'82	12	0'82	< 0'40
40-50 grs.		16'30	9'78	20		

TABLA XVIII

Influencia del peso de los ratones hembras en la respuesta a la administración intraperitoneal repetida de eritromicina. Significación estadística.

PESO COMPARADO	ADMON.	M	σ	n	t	P
20-30 grs.	1 ^a	18'10	8'33	10	0'32	< 0'70
30-40 grs.		16'96	10'12	26		
20-30 grs.	1 ^a	18'10	8'33	10	0'74	< 0'40
40-50 grs.		14'80	7'60	5		
30-40 grs.	1 ^a	16'96	10'12	26	0'45	< 0'60
40-50 grs.		14'80	7'60	5		

TABLA XIX

Influencia del peso de los ratones hembras en la respuesta a la administración intraperitoneal repetida de eritromicina. Significación estadística.

PESO COMPARADO	ADMON.	M	σ	n	t	P
20-30 grs.	2 ^a	21'20	9'74	10	0'84	< 0'40
30-40 grs.		17'65	11'81	26		
20-30 grs.	2 ^a	21'20	9'74	10	0'03	< 0'995
40-50 grs.		21	13'11	5		
30-40 grs.	2 ^a	17'65	11'81	26	0'57	< 0'50
40-50 grs.		21	13'11	5		

TABLA XX

Influencia del peso de los ratones hembras en la respuesta a la administración intraperitoneal repetida de eritromicina. Significación estadística.

PESO COMPARADO	ADMON.	M	σ	n	t	P
20-30 grs.	3 ^a	11	7'32	10	1'27	< 0'20
30-40 grs.		16'08	11'74	26		
20-30 grs.	3 ^a	11	7'32	10	1'57	< 0'10
40-50 grs.		19'20	13'18	5		
30-40 grs.	3 ^a	16'08	11'74	26	0'53	< 0'60
40-50 grs.		19'20	13'18	5		

TABLA XXI

Influencia del sexo en la respuesta a la administración intraperitoneal de eritromicina.
Significación estadística.

PESO	SEXO	ADMON.	M	σ	n	t	P
20-30 grs.	♂	1 ^a	18	10'12	5	0'02	<0'98
	♀		18'10	8'33	10		
20-30 grs.	♂	2 ^a	23'80	13'97	5	0'42	<0'60
	♀		21'20	9'74	10		
20-30 grs.	♂	3 ^a	15'60	4'10	5	1'29	<0'20
	♀		11	7'32	10		

TABLA XXII

Influencia del sexo en la respuesta a la administración intraperitoneal de eritromicina.
Significación estadística.

PESO	SEXO	ADMON.	M	σ	n	t	P
30-40 grs.	♂	1 ^a	18'93	8'79	14	0'61	<0'50
	♀		16'96	10'12	26		
30-40 grs.	♂	2 ^a	20'83	13'72	12	0'73	<0'40
	♀		17'65	11'81	26		
30-40 grs.	♂	3 ^a	19'33	10'82	12	0'81	<0'40
	♀		16'08	11'74	26		

TABLA XXIII

Influencia del sexo en la respuesta a la administración intraperitoneal de eritromicina.
Significación estadística.

PESO	SEXO	ADMON.	M	σ	n	t	P
40-50 grs.	♂	1 ^a	15'36	8'14	22	0'14	< 0'80
	♀		14'80	7'60	5		
40-50 grs.	♂	2 ^a	17'55	10'34	20	0'63	< 0'50
	♀		21	13'11	5		
40-50 grs.	♂	3 ^a	16'30	9'78	20	0'55	< 0'50
	♀		19'20	13'18	5		

3.1.3.- DISCUSIÓN.

1.- Influencia de la administración repetida.

La administración repetida de una dosis de 160 mgs/Kg. de lactobionato de eritromicina no modifica, en dichas condiciones experimentales la respuesta álgica en el ratón, (Tablas, IX,X,XI, XII,XIII), sea cual fuere el sexo de los animales o el peso de los mismos.

En un solo caso aparecieron diferencias probablemente significativas, en hembras de 20 a 30 gr. cuando se compararon los resultados de la segunda y tercera administración.

Este hecho permite establecer la posibilidad de emplear un solo lote de ratones, para obtener los valores control y ensayar sobre los mismos animales el analgésico en estudio, transcurridos tres días. Esto permite, no solo un ahorro de animales de experimentación sino también una mayor exactitud en los resultados ya que ambas respuestas se estudian sobre el mismo animal.

2.- Influencia del peso de los animales de experimentación.

El análisis estadístico de los resultados (Tablas, XV,XVI,XVII,XVIII,XIX,XX), pone de manifiesto que el peso y en consecuencia la edad de los animales, no modifica la capacidad de respuesta

de los mismos a la administración de eritromicina por vía intraperitoneal.

De este hecho deriva la indudable ventaja de que a la hora de llevar a cabo el estudio experimental de un analgésico no sea preciso realizar selección alguna en cuanto al peso de los animales de experimentación.

3.- Influencia del sexo.

Tampoco el sexo de los ratones introduce modificación alguna en la respuesta, como demuestra el análisis estadístico de los resultados obtenidos en animales de distinto sexo e igual peso después de repetidas administraciones. (Tablas, XXI, XXII, y XXIII).

Podemos pues resumir que la metodología expuesta permite el empleo indiscriminado de ratones, sea cual fuere su peso, edad y sexo.

3.2.- Método de la eritromicina para el estudio de analgésicos.

Establecidas las condiciones experimentales adecuadas para el empleo del lactobionato de eritromicina como agente agonista, se pasa a estudiar la actividad analgésica de varias sustancias basadas en el hecho de que si se trata de un analgésico producirá, a una dosis dada, una disminución en la respuesta al lactobionato de eritromicina. Por ello, se realiza un estudio comparativo con analgésicos reconocidos tales como la aspirina y la fenilbutazona, para finalmente poder establecer la posible actividad analgésica del clorhidrato del fluofenamato de dietilamino etilo.

3.2.1.- ESTUDIO DE LAS CONDICIONES EXPERIMENTALES.

Se utilizaron lotes de 10 ratones machos o hembras a los que se les realizaba la prueba del lactobionato de eritromicina según la metodología anteriormente descrita, registrando el número de respuestas de cada animal. A los siete días se ensayaron los productos en los mismos animales a una dosis dada para cada lote, la aspirina a 30-100-300 mgr/Kg., la fenilbutazona a 10-30-90 mgr/Kgr., y el clorhidrato del fluofenamato de dietilamino etilo a 1-3-10-30-100-300 mgr/Kgr.

En todos los casos los productos se ad

ministraron por vía oral suspendidos en agar al 0'15%, una hora antes de la administración por vía intraperitoneal de lactobionato de eritromicina a la dosis de 160 mgr/Kgr. (10 ml/Kgr. de solución, conteniendo 16 mgr/ml.). Durante los 10 minutos siguientes a la administración del lactobionato de eritromicina se registraron las respuestas de cada animal para poder establecer la variación de la respuesta al agente álgico bajo los efectos de estos analgésicos.

3.2.2.- RESULTADOS.

Los resultados obtenidos así como el análisis estadístico de los mismos aparecen en las siguientes tablas.

TABLA XXIV

Acción analgésica de la aspirina en ratón hembra.

	CONTROL		ASPIRINA* 30 mg./Kg.	
	PESO	Nº RESP.	PESO	Nº RESP.
	32	28	37	14
	29	9	34	8
	40	20	42	1
	37	19	35	25
	29	31	35	7
	25	17	27	23
	24	34	26	33
	25	2	27	5
	21	34	23	29
	29	5	21	5
M	29'10	21'80	30'70	15
σ	5'92	10'01	6'82	11'52
n	10	10	10	10
ϵ	1'87	3'17	2'16	3'64
et**	4'23	7'17	4'88	8'23

* 7 días de intervalo

** $p=0'05$

TABLA XXV

Acción analgésica de la aspirina en ratón hembra.

	CONTROL		ASPIRINA* 100 mg/Kg.	
	PESO	Nº RESP.	PESO	Nº RESP.
	23	17	24	21
	35	32	34	32
	31	18	33	10
	33	26	33	21
	28	19	27	11
	33	10	31	1
	35	18	35	7
	33	19	32	8
	35	30	36	20
	33	24	32	17
M	31'90	21'30	31'70	14'80
σ	3'78	6'65	3'65	9'07
n	10	10	10	10
ϵ	1'20	2'10	1'16	2'87
ϵt^{**}	2'71	4'75	2'62	6'49

* 7 dias de intervalo

** $p=0'05$

TABLA XXVI

Acción analgésica de la aspirina en ratón hembra.

	CONTROL		ASPIRINA* 300 mg/Kg.	
	PESO	Nº RESP.	PESO	Nº RESP.
	23	11	23	6
	23	11	25	2
	25	25	27	13
	30	18	29	9
	23	17	24	13
	25	13	27	11
	29	40	30	23
	27	16	30	2
	23	24	24	14
	28	7	29	1
M	25'60	18'20	26'80	9'40
σ	2'72	9'53	2'66	6'88
n	10	10	10	10
ϵ	0'86	3'01	0'84	2'18
ϵt^{**}	1'94	6'809	1'90	4'93

* 7 dias de intervalo

** $p=0'05$

TABLA XXVII

Actividad analgésica de la aspirina en ratón hembra. Significación estadística de los resultados.

GRUPOS COMPARADOS	M	σ	n	t	p
control	21'80	10'01	10	1'41	< 0'10
30 mgr/Kgr.	15	11'52	10		
control	21'30	6'65	10	1'75	< 0'05
100 mgr/Kgr.	14'80	9'7	10		
control	18'20	9'53	10	2'37	< 0'025
300 mgr/Kgr.	9'40	6'88	10		

TABLA XXVIII

Acción analgésica de la fenilbutazona en ratón macho.

	CONTROL		FENILBUTAZONA* 10 mg/Kg.	
	PESO	Nº RESP.	PESO	Nº RESP.
	22	20	30	23
	20	4	30	3
	30	31	36	20
	27	11	34	5
	25	12	35	13
	26	12	34	3
	25	24	34	25
	29	14	41	11
	27	28	35	17
	26	4	34	24
M	25'70	16	34'30	14'40
σ	2'98	9'42	3'09	8'68
n	10	10	10	10
ϵ	0'94	2'98	0'98	2'75
et**	2'12	6'74	2'21	6'22

* 7 días de intervalo

** $p=0'05$

TABLA XXIX

Acción analgésica de la fenilbutazona en ratón macho.

	CONTROL		FENILBUTAZONA* 30 mg/Kg.	
	PESO	Nº RESP.	PESO	Nº RESP.
	22	10	30	7
	25	12	35	13
	26	31	34	19
	25	27	31	16
	30	13	38	14
	26	10	33	4
	30	22	37	4
	25	30	36	14
	29	26	34	10
	23	16	36	17
M	26'10	19'70	34'40	10'80
σ	2'77	8'42	2'55	5'98
n	10	10	10	10
ϵ	0'87	2'66	0'81	1'89
ϵt^{**}	1'96	6'01	1'83	4'27

* 7 dias de intervalo

** $p=0'05$

TABLA XXX

Acción analgésica de la fenilbutazona en ratón macho.

	CONTROL		FENILBUTAZONA* 90 mg/Kg.	
	PESO	Nº RESP.	PESO	Nº RESP.
	23	10	33	0
	32	39	40	13
	19	10	31	16
	24	25	33	15
	20	34	30	18
	25	8	33	7
	25	31	38	10
	22	32	30	2
	22	28	30	26
	25	3	33	7
M	23'70	22	33'10	11'40
σ	3'59	12'93	3'41	7'83
n	10	10	10	10
ϵ	1'14	4'09	1'08	2'48
ϵt^{**}	2'57	9'25	2'44	5'61

*. 7 días de intervalo

** $p=0'05$

TABLA XXXI

Actividad analgésica de la fenilbutazona en ratón macho. Significación estadística de los resultados.

GRUPOS COMPARADOS	M	σ	n	t	p
control	16	9'42	10	0'39	<0'70
10 mgr/Kgr.	14'40	8'68	10		
control	19'70	8'42	10	2'73	<0'01
30 mgr/Kgr.	10'80	5'98	10		
control	22	12'93	10	2'22	<0'025
90 mgr/Kgr.	11'40	7'83	10		

TABLA XXXII

Acción analgésica del clorhidrato de fluofenamato de dietilamino etilo en ratón macho.

	CONTROL		CLORHIDRATO FFDA* 1 mg/Kgr.	
	PESO	Nº RESP.	PESO	Nº RESP.
	34	15	36	21
	33	12	38	19
	31	24	30	25
	39	31	30	7
	30	15	31	7
	24	20	27	14
	29	12	33	17
	24	32	30	28
	23	35	25	20
	30	2	32	14
M	29'70	19'80	31'20	17'20
σ	5'03	10'58	3'85	6'92
n	10	10	10	10
ϵ	1'59	3'35	1'22	2'19
et**	3'59	7'57	2'75	4'95

* 7 días de intervalo

** $p=0'05$

TABLA XXXIII

Acción analgésica del clorhidrato de fluofenamato de dietilamino etilo en ratón macho.

	CONTROL		CLORHIDRATO FFDA* 3 mg/Kgr.	
	PESO	Nº RESP.	PESO	Nº RESP.
	25	16	29	12
	28	16	29	12
	27	21	30	11
	25	23	28	12
	31	9	31	2
	24	25	24	13
	32	11	31	17
	32	15	32	11
	34	31	34	6
M	28'67	18'56	29'78	10'67
σ	3'67	7'04	2'82	4'30
n	9	9	9	9
ϵ	1'22	2'35	0'94	1'43
ϵt^{**}	2'81	5'41	2'16	3'29

* 7 días de intervalo

** $p=0'05$

TABLA XXXIV

Acción analgésica del clorhidrato de fluofenamato de dietilamino etilo en ratón macho.

	CONTROL		CLORHIDRATO FFDA* 10 mg/Kgr.	
	PESO	Nº RESP.	PESO	Nº RESP.
	38	11	31	2
	36	22	34	0
	37	9	36	10
	33	16	34	16
	36	31	34	9
	35	4	30	20
	35	20	34	12
	31	23	33	30
	36	17	35	16
M	35'22	17	33'44	12'78
σ	2'11	8'19	1'88	9'16
n	9	9	9	9
ϵ	0'70	2'73	0'63	3'05
ϵt^{**}	1'61	6'29	1'45	7'03

* 7 dias de intervalo

** $p=0'05$

TABLA XXXV

Acción analgésica del clorhidrato de fluofenamato de dietilamino etilo en ratón macho.

	CONTROL		CLORHIDRATO 30 mg/Kgr. FFDA*	
	PESO	Nº RESP.	PESO	Nº RESP.
	33	9	29	1
	36	13	32	9
	34	9	38	5
	36	26	36	13
	35	17	35	5
	31	5	31	0
	28	6	29	6
	29	11	31	10
	29	22	31	12
	28	8	29	7
M	31'90	12'60	32'10	6'80
σ	3'28	6'98	3'18	4'32
n	10	10	10	10
ϵ	1'04	2'21	1	1'36
ϵt^{**}	2'35	4'99	2'26	3'07

* 7 dias de intervalo

** $p=0'05$

TABLA XXXVI

Acción analgésica del clorhidrato de fluofenámato de dietilamino etilo en ratón macho.

	CONTROL		CLORHIDRATO FFDA* 100 mg/Kgr.	
	PESO	Nº RESP.	PESO	Nº RESP.
	34	6	39	0
	37	16	36	0
	38	27	39	8
	34	18	35	10
	35	7	35	3
	35	14	37	3
	34	21	33	7
	34	27	34	13
	30	14	32	3
M	34'56	16'67	35'56	5'22
σ	2'24	7'55	2'46	4'52
n	9	9	9	9
ϵ	0'75	2'52	0'82	1'51
et**	1'72	5'81	1'89	3'48

* 7 días de intervalo

** $p=0'05$

TABLA XXXVII

Acción analgésica del clorhidrato de fluofenamato de dietilamino etilo en ratón macho.

	CONTROL		CLORHIDRATO FFDA* 300 mg/Kgr.	
	PESO	Nº RESP.	PESO	Nº RESP.
	31	12	31	0
	36	28	34	13
	34	6	33	0
	31	19	30	0
	30	22	30	10
	32	10	38	3
	34	21	35	0
	40	8	40	0
	36	4	36	0
	38	6	37	2
M	34'20	13'60	34'40	2'80
σ	3'29	8'28	3'44	4'76
n	10	10	10	10
ϵ	1'04	2'62	1'09	1'50
ϵt^{**}	2'35	5'92	2'46	3'39

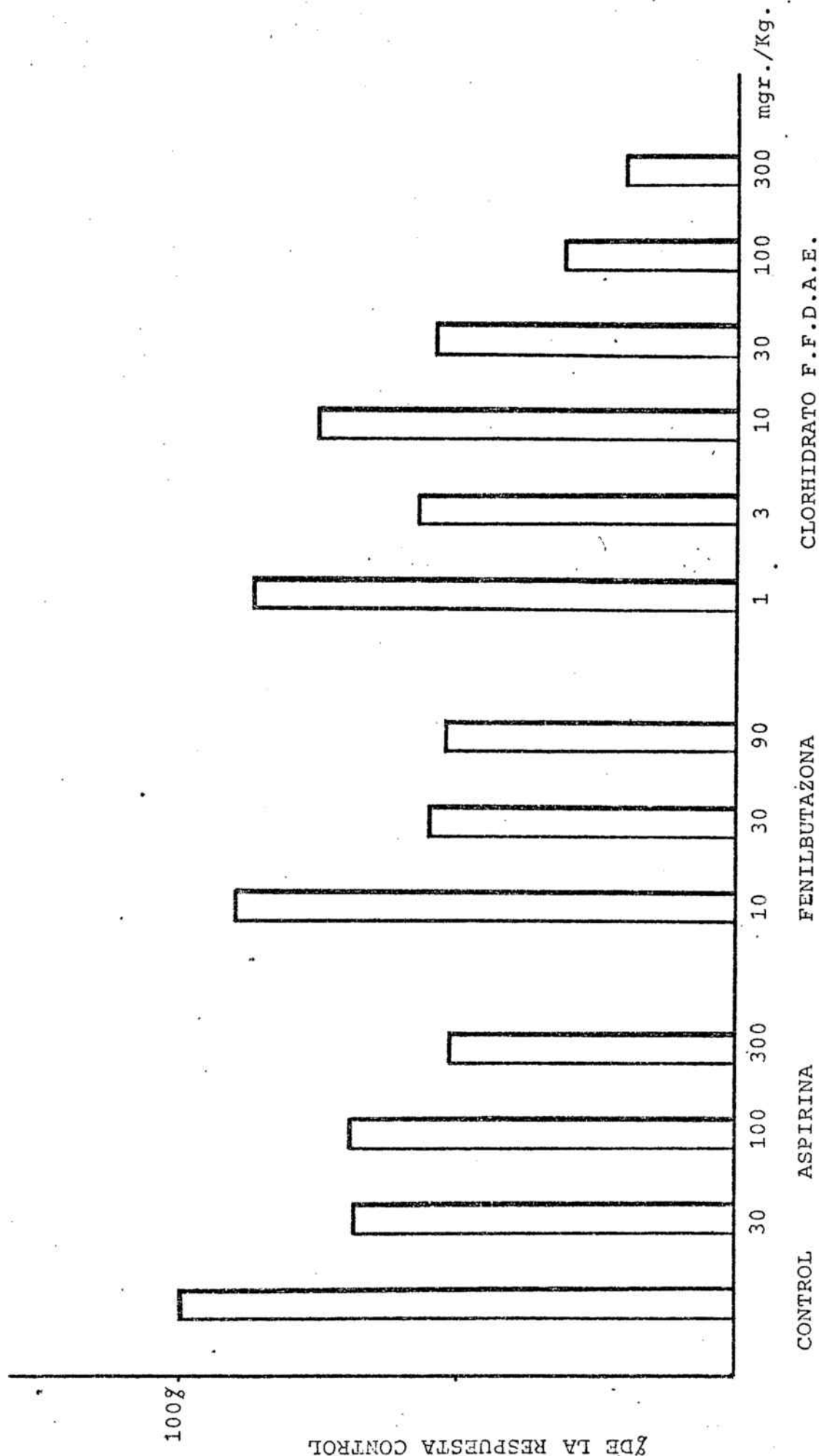
* 7 días de intervalo

** $p=0'05$

TABLA XXXVIII

Actividad analgésica del clorhidrato de fluofenamato de dietilamino etilo en ratón macho.
Significación estadística de los resultados.

GRUPOS COMPARADOS	M	σ	n	t	P
control	19'80	10'58	10	0'65	<0'50
1 mgr/Kgr.	17'20	6'92	10		
control	18'56	7'04	9	2'87	<0'01
3 mgr/Kgr.	10'67	4'30	9		
control	17	8'19	9	1'03	<0'30
10 mgr/Kgr.	12'78	9'16	9		
control	12'60	6'98	10	2'23	<0'025
30 mgr/Kgr.	6'80	4'32	10		
control	16'67	7'55	9	3'90	<0'001
100 mgr/Kgr.	5'22	4'52	9		
control	13'60	8'28	10	3'58	<0'001
300 mgr/Kgr.	2'80	4'76	10		



% DE LA RESPUESTA CONTROL

100%

CLORHIDRATO F.F.D.A.E.

FENILBUTAZONA

ASPIRINA

CONTROL

mgr./Kg.

300

100

30

10

3

1

90

30

10

300

100

30

3.2.3.- DISCUSION.

1.- Actividad analgésica de la aspirina.

En estas condiciones experimentales, la aspirina manifiesta una clara acción analgésica, puesta de manifiesto por la reducción en el número de contracciones dolorosas, reducción proporcional a la magnitud de la dosis. (Tablas, XXIV, XXV, XXVI, y XXVII).

2.- Actividad analgésica de la fenilbutazona.

También la fenilbutazona mostró actividad analgésica, a niveles de dosis tres veces inferiores a los empleados con la aspirina, como corresponde a su mayor actividad analgésica, hecho comprobado por otros autores con el empleo de técnicas distintas. (Tablas, XXVIII, XXIX, XXX, XXXI).

3.- Actividad analgésica del clorhidrato del fluofenamato del dietilamino etilo.

En cuanto al fluofenamato de dietilamino etilo, reviste especial interés por cuanto posee características farmacológicas muy distintas de los analgésicos anteriormente estudiados.

Este producto posee una fuerte actividad anestésica local para cuyo fin se emplea en terapéutica. Como otros anestésicos locales, cuando se administra a dosis adecuadas, especialmente por vía parenteral, se absorbe con facilidad, atraviesa la

barrera hematoencefálica y determina la pérdida del reflejo de enderezamiento propio de los enérgicos depresores del sistema nervioso central.

En dichas condiciones experimentales, a dosis de 100 mgr/Kg. y superiores, los ratones perdieron el reflejo de enderezamiento transcurridos unos cinco minutos de la administración.

Todo ello hace pensar en que dicho producto deba englobarse dentro de los denominados analgésicos de tipo narcótico si se le considera desde este punto de vista.

Con la metodología expuesta, el fluofenamato de dietilamino etilo puso de manifiesto su actividad analgésica con un umbral de dosis de alrededor de 3 mgr/Kgr. es decir, resultó activo a dosis subhipnóticas. (Tablas, XXXII, XXXIII, XXXIV, XXXV, XXXVI, XXXVII, y XXXVIII).

4.-CONCLUSIONES

4.-CONCLUSIONES.

De los resultados hasta aquí expuestos se desprenden los siguientes hechos.

1.- La metodología empleada es de simple, fácil y rápida realización, pudiéndose llevar a cabo sin el concurso de utillaje especializado.

2.- No requiere selección alguna en el animal de experimentación por cuanto el agonista empleado, el lactobionato de eritromicina, determina una respuesta álgica en el ratón sea cual fuere el peso y sexo del mismo, a lo largo de tres administraciones sucesivas con intervalos de tres días.

3.- Permite obtener, por tanto, las respuestas basales en los mismos animales en los que se va a ensayar después el producto.

4.- Analgésicos de actividad reconocida tales como la aspirina y fenilbutazona dan respuestas concordantes con el uso terapéutico que de ellos se hace.

5.- Da buenos resultados con analgésicos de tipo narcótico (clorhidrato del fluofenamato de dietil-amino etilo) y no narcótico (aspirina y fenilbuta-

zona) lo que lo convierte en un método idóneo para ser empleado como screening farmacológico de compuestos con presunta actividad analgésica.

5.-BIBLIOGRAFIA

5.- BIBLIOGRAFIA.

1. BEAVER, W.T. Analgésicos suaves en el tratamiento del dolor. Tratamientos Modernos. Editorial Científico - médica. Barcelona. Madrid. Lisboa. Rio de Janeiro. Pag. 25. 1970.
2. BEN - BASSAT, J. , PERETZ, E., and SULMAN, F.G. Arch. Intern. Pharmacodynamie. 122, 434. (1959).
3. BIANCHI, C. and DAVID, A. J. Pharm. Pharmacol. 12, 449.
4. BIANCHI, C. and FRANCESCHINI, G. Brit. J. Pharmacol. 9, 280. (1954).
5. BLAIR, A.M. J.N, and STEPHENSON, R.P. Brit. J. Pharmacol. 15, 247. (1960).
6. CHARLIER, R; PROST, M; BINON, F, and DELTOUR, G. Arch. Intern. Pharmacodynamie. 134, 306. (1961)
7. DEL POZO, A. Farmacia Galénica especial. Romargraf S.A. Barcelona. Tomo I. Pag. 82. Tomo 3, pag. 408. 1967.
8. EDDY, N.B. y LEIMBACH, DC. J. Pharmacol. Exptl. Therap. 107, 385. (1953).

9. EMELE, J.E, SHANAMAN, J. and WARREN, M.R. J. .
Pharmacol. Exptl. Therap. 134, 206. (1961).
10. FARRERAS VALENTI. Medicina Interna. Editorial
Marín, S.A. 7^a edición. Pag. 20. (1967).
11. GANONG, W.F. Fisiología Médica. 3^a edición;El
Manual Moderno. Méjico. Pag. 88. (1971).
12. GARROD, LAMBERT, O'GRADY. Antibioticand Chemo
terapy. Churchill, Livingstone. Edimburg and
London. Chapter 10. Macrolidos. Pag.167.(1973)
13. GIRALDEZ, A. Actas del VII Congreso del Colle
gium Internationale Neuro-Psychopharmacologi
cum. Praga. Agosto 1974.
14. GOLD, H. Effect of extracardiac pain on heart.
Proc. Ass. Res. Nerv. Ment. Dis. 23; 345(1943)
15. GOODMAN, L.S, y GILMAN, A. The Pharmacological
Basis of Therapeutics, Macmillan Company. New
York. Pag.312. (1965).
16. GREEN, A.F, YOUNG, P.A., and Godfrey, E.I.Brit.
J. Pharmacol 6, 572. (1951).
17. HENDERSHOT, L.C. and Forsaith, J. J. Pharmacol.
Exptl. Therap. 125, 237. (1959).
18. JACOB, J. and BOSOUSKI, M. Arch. Intern. Phar
macodynamie, 133, 296. (1961).
19. JANSSEN, P.A.J. and JAGENEAU. A. J. Pharm. Phar
macol. 9, 381. (1956).

20. JANSSEN, P.A.J. NIEMEGERES, C.J.E. y DONY, J. G.H. *Arzncimittel-Forsh.* 10, 1003. (1963).
21. LAURENCE, D.R. y BACHARACH, H.L. Evaluation of drug activities. *Pharmacometrics*. Vol. I. Academic Press. London and New York. Pag. 183. (1964).
22. LITCHFIELD, J.T. and WILCOXON, F. J. *Pharmacol. Exptl. Therap.* 96. 99. (1949).
23. MELZACK, R. y WALL, P.D.: Pain Mechanisms. A new theory. *Science.* 150, 971. (1962).
24. NETTER, F.H. *Nervous System*. Vol I. Colección CIBA., 6^a Edición USA. Pag. 51, 58, 68. (1964).
25. OKUN, R. LIDDON, S.C., and LASAGNA, L. J. *Pharmacol. Exptl. Therap.* 139, 107. (1963).
26. SMITH, M.J.H. *Toxicology*. En *The Salicylates*. Pag. 233. Smith, M.J.H. y Smith, P.K. (Dirs). Interscience. Nueva York. (1966).
27. SIEGMUND, E.A. CADMUS, A, and LU, G. J. *Pharmacol. Exptl. Therap.* 119, 453. (1957).
28. TURNER, R.A, *Screening Methods in Pharmacology*. Academic Press. New York and London. Pag. 100. (1965).
29. WANG, R.I.H. *El dolor y los principios para aliviarlo*. *Tratamientos modernos*. Editorial Científico-Médica. Barcelona, Madrid, Lisboa,

- Rio de Janeiro. Pag. 13. (1970).
30. WEINSTOCK, M. Brit. J. Pharmacol. 17, 433.(1961).
 31. WITKIN, L.B; HUEBNER, C.F; GALDI, F; O'KEEFE,E;
SPITALETTA, P, and PLUMMER, A.J; J. Pharmacol.
Exptl. Therap. 133, 400 (1961).
 32. WOLF, G.A, Effect of pain on renal function.
Proc. Ass. Res. Nerv. Ment. Dis. 32, 358.(1943).
 33. WOOLFEG., and MCDONALD, A.D. J. Pharmacol. Exptl.
Therap. 133, 400.