

CATEDRA DE FARMACOGNOSIA Y FARMACODINAMIA

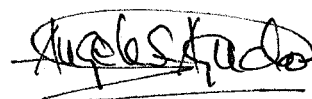
FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

"INFLUENCIA DE MECANISMOS AMINERGICOS EN LA
ACCION ANALGESICA DEL PARACETAMOL"

Trabajo para aspirar al
grado de licenciatura que
presenta

M^a ANGELES AGUDO MARTINEZ



UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE FARMACIA
BIBLIOTECA



CATEDRA DE FARMACOGNOSIA - FARMACODINAMIA

FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FELIPE ALCUDIA GONZALEZ, Catedrático-Director del Departamento de Química Orgánica-Farmacognosia y Farmacodinamia de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla

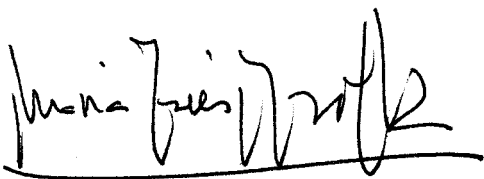
CERTIFICA: Que el presente trabajo, "Influencia de mecanismos aminérgicos en la acción analgésica del Paracetamol", ha sido realizado en el Departamento de Química Orgánica-Farmacognosia y Farmacodinamia, bajo la dirección de la Prof. Adjunta - Dra. M^a Jesús Ayuso González y la Prof. Dra. M^a Teresa Sáenz Rodríguez, durante el tiempo exigido y reuniendo los requisitos necesarios para este tipo de trabajos.

Y para que conste, expido y firmo la presente certificación en Sevilla a tres de Julio de mil novecientos ochenta y cinco.

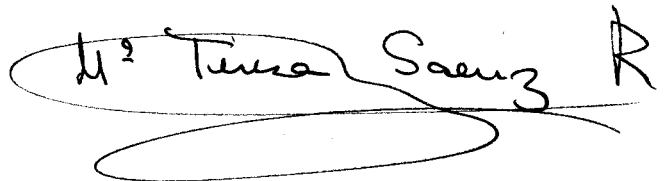
Fdo. Felipe Alcudia González.

El presente trabajo, ha sido realiza--
do en la Cátedra de FARMACOGNOSIA Y FARMA--
CODINAMIA de la FACULTAD DE FARMACIA de la
Universidad de SEVILLA, bajo la dirección
de la Prof. Adjunta Dra. M^a Jesús Ayuso - -
González y de la Prof. Dra. M^a Teresa Sáenz
Rodriguez.

Las Directoras del trabajo:



Dra. M^a Jesús Ayuso González



Dra. M^a Teresa Sáenz Rodríguez

Deseo expresar mi agradecimiento a las Dras. M^a Jesús Ayuso González y M^a Teresa Sáenz Rodríguez por su dirección, eficaz ayuda y constante estímulo en la realización de este trabajo.

A mis compañeras del Departamento por su continuo apoyo y a todas aquellas personas que de alguna forma han contribuido a su elaboración.

A mis padres

	<u>Pág</u>
I - <u>O B J E T O</u>	1
II - <u>R E V I S I O N B I B L I O G R A F I C A</u> ...	4
II.1.- <u>BASES MORFOLOGICAS Y FUNCIONALES DE LA</u> <u>TRANSMISION DEL DOLOR</u>	5
II.1.1.- VIAS AFERENTES DE LA SENSIBILIDAD DOLOROSA	5
II.1.2.- VIAS EFERENTES EN EL CONTROL DE LA SENSIBILIDAD DOLOROSA	12
II.1.3.- NEUROTRANSMISORES Y NEUROMODULADO- RES EN LOS PROCESOS NOCICEPTIVOS..	17
II.2.- <u>ACTIVIDAD DE LOS SISTEMAS SEROTONERGICOS</u> <u>A NIVEL DEL S.N.C.</u>	19
II.2.1.- SEROTONINA Y SENSIBILIDAD DOLORO- SA	19
II.2.2.- MODIFICACION FARMACOLOGICA DE LA TRANSMISION SEROTONERGICA	27
II.3.- <u>ACTIVIDAD DE LOS SISTEMAS NORADRENERGI-</u> <u>COS A NIVEL DEL S.N.C.</u>	34
II.3.1.- NORADRENALINA Y SENSIBILIDAD DO-	

LOROSA	34
II.3.2.- MODIFICACION FARMACOLOGICA DE LA TRANSMISION NORADRENERGICA	41
III - <u>P A R T E E X P E R I M E N T A L</u>	47
III.1.- <u>MUESTRA</u>	48
III.2.- <u>CONDICIONES GENERALES DE LA EXPERIEN-</u> <u>CIA</u>	49
III.2.1.- REACTIVO ANIMAL	49
III.2.2.- VIAS DE ADMINISTRACION	50
III.2.3.- DOSIS A ENSAYAR	50
III.2.4.- NEUROMODIFICADORES AMINERGICOS UTILIZADOS	50
III.3.- <u>ACTIVIDAD ANALGESICA</u>	55
III.3.1.- FRENTE A UN ESTIMULO QUIMICO..	55
III.3.1.1.- <u>Desarrollo de la expe-</u> <u>riencia</u>	55
III.3.1.2.- <u>Ensayos con paraceta--</u> <u>mol. Resultados</u>	55
III.3.1.2.a.- Tratamiento con re-- serpina. Resultados.	56

III.3.3.2.- <u>Ensayos con paracetamol</u> ..	81
III.3.3.2.a.- Resultados	83
III.3.3.2.b.- Discusión de resultados.	86
III.3.4.- FRENTE A UN ESTIMULO TERMICO	87
III.3.4.1.- <u>Desarrollo de la experien-</u> <u>cia</u>	87
III.3.4.2.- <u>Ensayos con paracetamol</u> ..	89
III.3.4.2.a.- Resultados	89
III.3.4.2.b.- Discusión de resultados.	90
IV - <u>C O N C L U S I O N E S</u>	94
V - <u>B I B L I O G R A F I A</u>	96

I- OBJETO

En los últimos años se han realizado importantes avances en el conocimiento de los mecanismos fisiológicos y psicológicos del dolor que han dado lugar al desarrollo de nuevas formas de tratamiento. Así, en la actualidad, un fármaco es capaz de utilizar varias de las vías que intervienen en el control del dolor, bien sea, a nivel puerta de entrada de los estímulos nociceptivos, o deprimiendo las vías aferentes de información dolorosa, o por activación de las descendentes inhibidoras; todo ello lo realizan, fundamentalmente, actuando sobre los diferentes sistemas neuroquímicos que toman parte en los procesos de transmisión y modulación del dolor.

Dado que el Paracetamol, antalgésico derivado del p-aminofenol, forma parte de numerosos preparados que se encuentran en el mercado, debido a sus ventajas sobre otros fármacos del mismo grupo terapéutico (mayor tolerancia, menor incidencia de lesiones gástricas, sanguíneas, hepáticas, etc..) ha sido nuestra intención, en esta Memoria de Tesina, poner de manifiesto la influencia de algunos neurotransmisores en el mecanismo de su acción frente al dolor inducido por estímulos de diferente naturaleza y así colaborar a que en un futuro seamos capaces de diseñar el analgésico que mejor se adapte al tipo de dolor padecido, pues aunque el sufrimiento no desaparecerá de la Tierra, el hombre ganará más -

en perspectiva y en autoconciencia conforme aprenda a -
enfrentarse con él, de manera cada vez más positiva y -
eficaz.

II - REVISION

BIBLIOGRAFICA

II.I.- BASES MORFOLOGICAS Y FUNCIONALES DE LA TRANSMISION DEL DOLOR.

II.I.I.- VIAS AFERENTES DE LA SENSIBILIDAD DOLOROSA.

El dolor es un mecanismo protector del organismo que obliga al individuo a reaccionar de forma refleja para suprimir el estímulo nociceptivo, y tiene lugar siempre que un tejido es lesionado.

Sherrington (1) define el estímulo doloroso o nociceptivo como "aquel que amenaza al tejido por su capacidad lesionante". Este estímulo, con una intensidad y características temporales específicas, provocará una actividad de impulsos de ciertas poblaciones de neuronas aferentes primarias dotadas de una peculiar morfología y de unas propiedades funcionales también características. Dichas neuronas sensitivas primarias, cuyo soma está localizado en los gánglios de las raíces dorsales, están especializadas en la captación del estímulo doloroso y en su conducción hasta el S.N.C.

Los receptores del dolor en la piel y en todos los demás tejidos, son terminaciones nerviosas libres

que se hallan dispersas en las capas superficiales de la piel y en algunos tejidos internos, como periostio, paredes arteriales, y superficies articulares. La mayor parte de los demás tejidos profundos no están muy provistos de terminaciones nociceptivas, pero cualquier lesión tisular amplia puede sumarse hasta el punto de causar dolor continuo en estas zonas.

En contraste con la mayoría de los receptores sensoriales del organismo, los receptores del dolor no se adaptan nada o casi nada. A veces, estos receptores se vuelven progresivamente más activados con el tiempo ya que el umbral para excitación de fibras del dolor es cada vez menor a medida que el estímulo doloroso continúa. Este aumento de sensibilidad de los receptores dolorosos se llama hiperalgesia (2).

A la temperatura de 45°C los tejidos empiezan a ser lesionados por el calor y es el valor crítico medio en el cual la persona empieza a percibir el dolor. Si la temperatura se mantiene indefinidamente a tal nivel los tejidos acabarán por ser totalmente destruidos. No suele percibirse dolor después de producida la lesión sino solo mientras se está produciendo.

Se piensa que el mecanismo por el cual la lesión

de los tejidos estimula las terminaciones nociceptivas consiste en la excitación de éstas por alguna sustancia química liberada por los tejidos lesionados. Así son - sustancias algógenas la bradicinina, prostaglandinas, - tromboxanos, prostaciclina, etc. (3)(4)(5).

Las fibras de pequeño diámetro A δ y C (6) penetran en el asta posterior de la médula espinal de manera directa o tras recorrer algunos segmentos longitudinalmente en el tracto o fascículo de Lissauer. En - esta zona, asta posterior, existen células que reciben de manera selectiva las fibras aferentes nociceptivas, se trata fundamentalmente de las células marginales de Cajal en la lámina I, algunas células de la lámina II - en su porción más externa, y las células con rango dinámico amplio en la lámina V. Ciertas células de las láminas más mediales, VI a VIII, pueden también estar implicadas.

La información nociceptiva proviene de las siguientes fuentes: aferentes A δ que responden a la estimulación mecánica de alta intensidad, aferentes A δ que son termosensibles y vienen de la piel, fibras C de carácter polimodal, fibras A δ y C del músculo. Todos - estos terminales primarios suelen terminar en el árbol dendrítico y muy rara vez en el soma (1).

De lo dicho anteriormente se deduce fácilmente - que las células marginales de la lámina I y las de rango dinámico amplio, sobre todo de la lámina V, constituyen elementos fundamentales de estación espinal en la transmisión del dolor. Su respuesta, sin embargo, está sometida a controles intraespinales, especialmente de neuronas de la lámina II que comprende la sustancia gelatinosa, y controles supraespinales. Importa señalar - que la acción inhibidora que ejercen algunas de las neuronas de la gelatinosa no significa necesariamente una reducción de la nocicepción, sino un medio de circunscribir topográficamente la información nociceptiva (7).

La transmisión ascendente de esta información es vehiculada por el cordón ventrolateral en su triple proyección: espinoreticular, espinomesencefálica y espino-talámica; no se debe minusvalorar la importancia de los cordones dorsales y de las conexiones intersegmentarias intraespinales (Fig. 1).

En su ascenso, la transmisión se dispersa y complica al reclutar otros núcleos nerviosos que aportan - su contenido a la percepción dolorosa: emoción, fenómenos afectivos, procesos de memoria consciente o inconsciente, etc. Los núcleos de la formación reticular bulbar (n. reticular lateral, n. gigantocelular y paragi-

gantocelular, n. magno y n. pálido del rafe), de la formación reticular mesencefálica (n. dorsal del rafe, sustancia gris periacueductal) y núcleos talámicos, constituyen no sólo estaciones de transmisión, sino puntos de conexión con centros vegetativos y con centros que originan actividad descendente (8).

CU) Núcleo cuneiforme.

GM) Núcleo geniculado medio.

Lám. VN) Neuronas de lámina V.

marg. N) Neuronas marginales.

N intralam.) Núcleos intralaminares del tálamo.

PAG) Sustancia gris periacueductal.

Pf) Núcleo parafascicular del tálamo.

PO) Grupo posterior de los núcleos del tálamo.

Ret Bulb) Núcleos reticulares del bulbo.

Ra Teg Gris) Radiato tegmenti grisea de Weischedel.

Tr E Tal) Tráctos espinotalámicos.

UPL) Núcleo ventral posterolateral del tálamo.

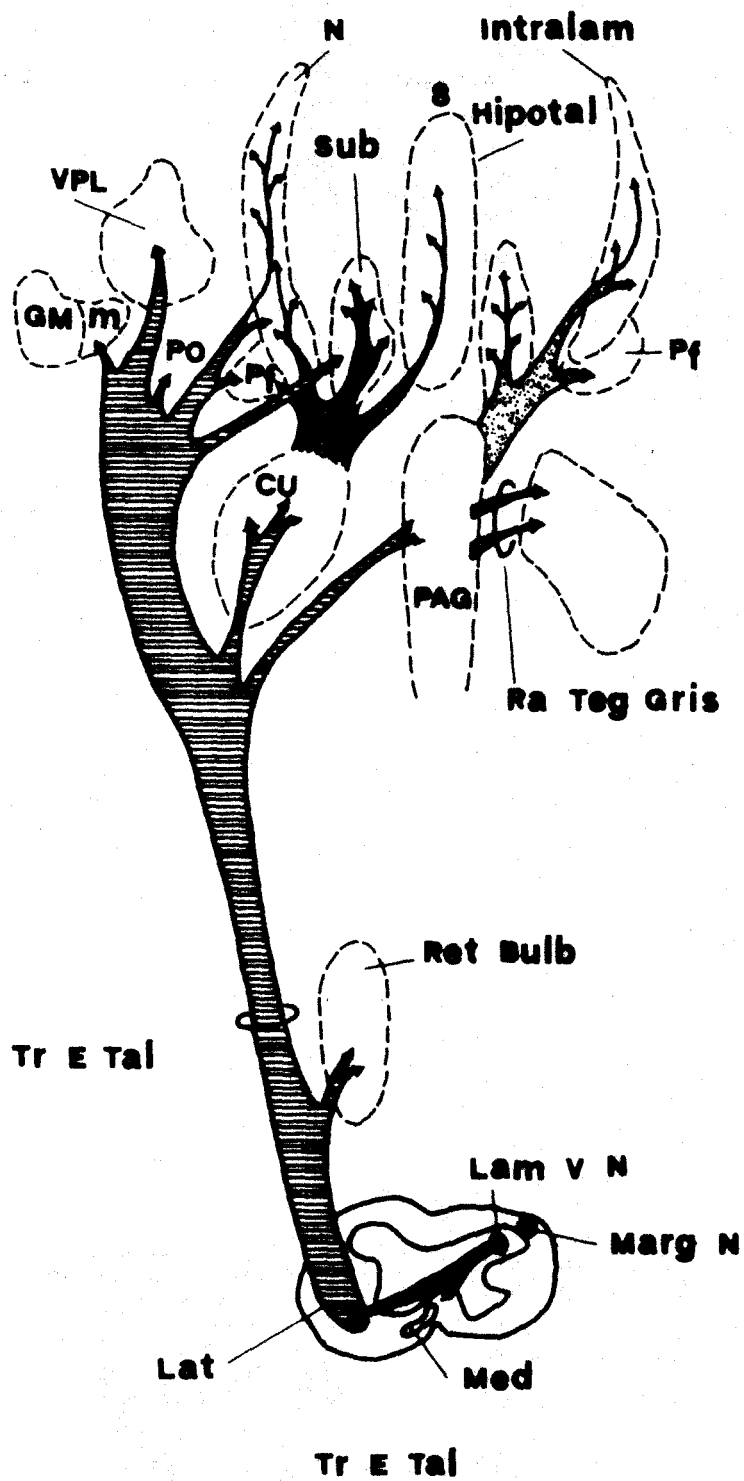


Fig 1 - Sistema aferente nociceptivo.

II.I.2.- VIAS EFERENTES EN EL CONTROL DE LA SENSIBILIDAD DOLOROSA.

Ha sido comprobado que la estimulación del núcleo dorsal del rafe en el mesencéfalo y del núcleo magno del rafe en el bulbo induce poderosos efectos inhibitorios sobre las respuestas de las neuronas del asta dorsal, tanto en los marginales de la lámina I como, especialmente de las de rango dinámico amplio de la lámina V (9)(10). Así se admite de forma general, que la analgesia producida por estimulación de determinados centros es un fenómeno activo que resulta, al menos en parte, de la activación de vías inhibitorias descendentes que bloquean la transmisión de la información nociceptiva a nivel espinal en el asta dorsal, o a nivel del núcleo espinal del trigémino (11)(12)(13). Por otra parte fue puesto de manifiesto que el antagonista opiáceo Naloxona, bloqueaba parcialmente este tipo de analgesia (14).

Hoy se sabe que la información nociceptiva que llega del exterior o que nace en el interior del organismo puede ser controlada o modulada por sistemas descendentes que constituyen las vías eferentes de la sensibilidad dolorosa, entre ellas, sistema rafe-espinal de naturaleza en parte serotoninérgica, sistema de opiá-

ceos endógenos, sistema reticulo-espinal y otros cuya existencia sólo se sospecha, como es el de la neurotensina y el de la vasopresina-neurofisisina (7)(15)(16) - - (Fig. 2).

La naturaleza neuroquímica de la vía rafe-espinal es mayoritariamente serotoninérgica, pues muchas neuronas de los núcleos del rafe sintetizan y liberan 5-HT. De aquí el importante papel que desempeña la serotonina sobre la transmisión nociceptiva en el asta posterior, ejerciendo una influencia inhibitoria (17)(18). No obstante no hay que olvidar que dicha vía rafe-espinal está constituida por fibras mielinizadas y amielínicas, y que las serotoninérgicas son amielínicas.

Se han detectado neuronas que contienen otros neurotransmisores, algunos de carácter peptídico (encefalinas, sustancia P, neurotensina, etc.), cuya influencia descendente sobre médula espinal deberá ser tenida también en cuenta (19)(20)(21).

La presencia de las fibras descendentes encefalinérgicas y, sobre todo, la de las neuronas encefalinérgicas medulares, constituyen un segundo mecanismo inhibitorio que controla la información nociceptiva en asociación con el sistema serotoninérgico. Se ha comprobado la

- A) Sustancia gris periacueductal del mesencéfalo (SPGA).

- B) Núcleo magno del rafe (NRM) y núcleo reticular paragigantocelular del bulbo (NRPG).

- C) Láminas superficiales del asta posterior de la médula.

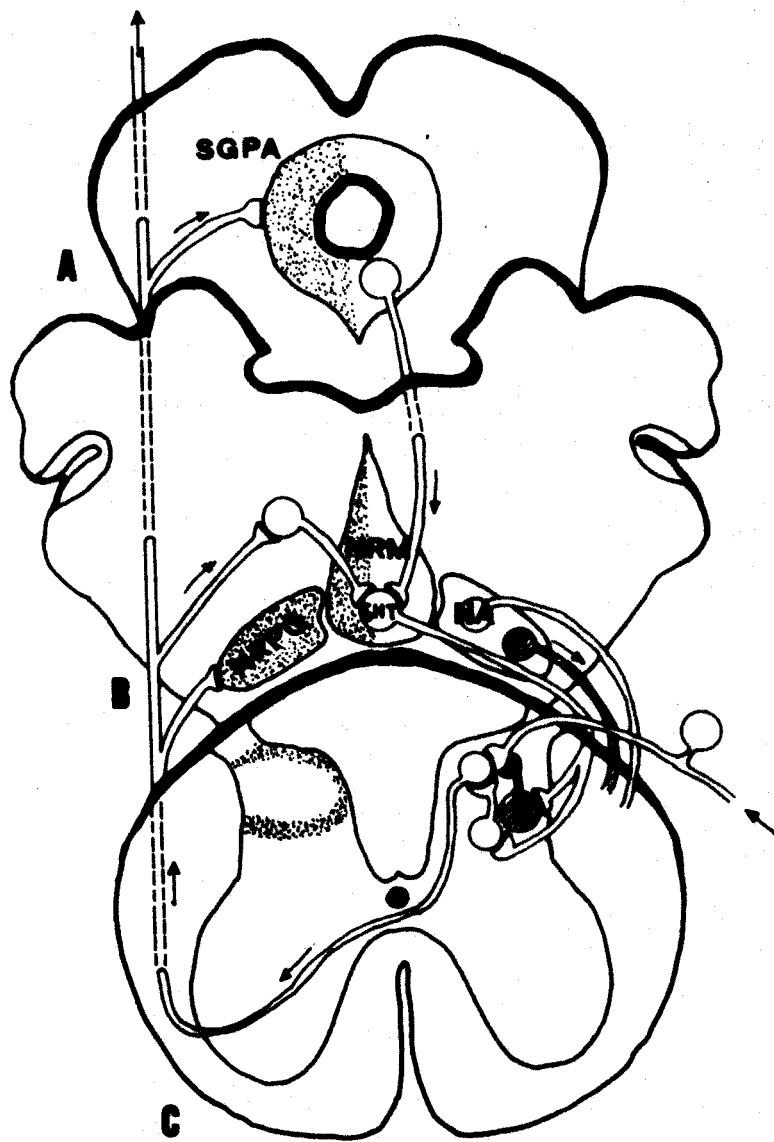


Fig. 2 - Sistemas eferentes controlantes del dolor.

existencia de terminaciones nerviosas encefalinérgicas - de forma abundante a nivel de la sustancia gris periacue ductal (SGPA), diversos núcleos bulbares y en médula - espinal a nivel de las láminas I y II del asta dorsal - (22)(23)(24).

Además del sistema rafe-espinal existen otros haces descendentes que nacen en el tronco cerebral. Uno de - ellos es el sistema retículo-espinal dorsal, destacando el núcleo paragiganto celular por interactuar en él neu- ronas con diversa neurotransmisión: encefalinérgicas, se rotonérgicas, nor-adrenérgicas, que contribuyen a inhi- bir la actividad nociceptiva en el asta posterior (25).

En definitiva, si la función de los sistemas aferen tes de la sensibilidad dolorosa es la de proporcionar la información nociceptiva hasta hacerla consciente, es ló- gico suponer que la de los sistemas descendentes consis- te en modular y controlar dicha información cuando sean requeridos por la penetración de estímulos nociceptivos, es decir, que existen formas de comunicación o interrela ción entre los sistemas aferentes y eferentes, de manera que sea el propio dolor quien desencadene el mecanismo - de control.

II.1.3.- NEUROTRANSMISORES Y NEUROMODULADORES EN - LOS PROCESOS NOCICEPTIVOS.

El asta posterior de la médula es una compleja - -
encrucijada de sistemas neuronérgicos, unos intraespina-
les, otros descendentes de origen supraespinal, y otros
aférentes de origen ganglionar (7).

Hasta el momento no ha sido posible circunscribir -
la función de cada uno de ellos en lo que al dolor se re-
fiere por ser tarea ardua y complicada, al mismo tiempo
que valiosa y esperanzadora para el futuro de la Farmaco-
logía analgésica.

En somas de neuronas intraespinales se localizan -
GABA y encefalinas; encefalinas, 5-hidroxitriptamina, -
noradrenalina, vasopresina-neurofisinas y neurotensina -
se encuentran en terminaciones de proyección descendente
(21)(26)(27), mientras que la sustancia P, colecistoqui-
nina, péptido intestinal vasoactivo, bombesina, angioten-
sina II, constituyen sustancias mediadoras o reguladoras
de la información sensorial primaria que proviene de las
células ganglionares (19)(28)(29).

No debe olvidarse que una misma terminación nervio-
sa puede liberar dos o más elementos, uno de los cuales

puede ser el transmisor real, y otro u otros los moduladores de esa transmisión.

Pero hasta el momento, los sistemas neuroquímicos - implicados en las vías ascendentes de origen espinal, en sus conexiones con núcleos troncoencefálicos, meso y diencefálicos, y en sus proyecciones corticales, no son bien conocidos.

II.2.- ACTIVIDAD DE LOS SISTEMAS SEROTONERGICOS A NIVEL DEL S.N.C.

II.2.1.- SEROTONINA Y SENSIBILIDAD DOLOROSA.

El hecho de que la 5-HT se localice selectivamente dentro de las células neuronales y también de que éstas dispongan de específicos mecanismos de síntesis, depósito, liberación e inactivación, apoya el que la neuroamina tenga propiedades neurotransmisoras.

El nivel de 5-HT dentro de la neurona es el resultado del equilibrio entre la síntesis, por un lado, y la liberación y metabolismo por otro (30)(Fig. 3).

La concentración de 5-HT cerebral sufre cambios circadianos. Durante la oscuridad los niveles alcanzan su valor más bajo, mientras que en las horas de luz la concentración aumenta. Estos cambios reflejan las variaciones en la síntesis de la neuroamina en función de los cambios en la disponibilidad de su precursor el 1-triptófano a nivel cerebral (31).

Los cuerpos de las células serotonérgicas parece que se localizan exclusivamente en el tronco cerebral,

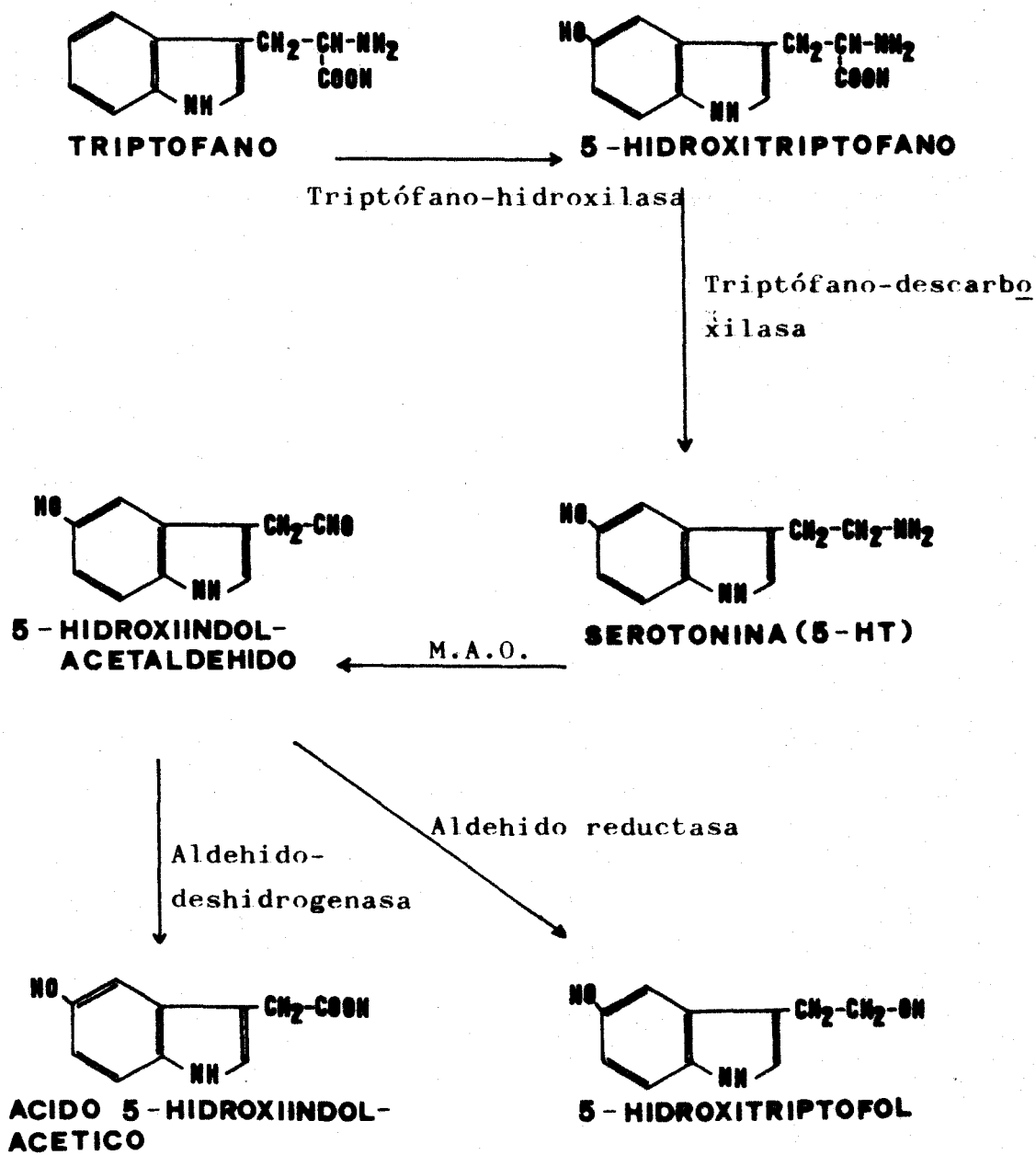


Fig. 3 - Biosíntesis y metabolismo de la serotonina.

en grupos existentes en el bulbo (B_1 a B_4 y área postrema), protuberancia (B_3 , B_5 , B_6) y mesencéfalo (B_7 a B_9). La mayor parte de estos núcleos constituyen los núcleos del rafe del tronco cerebral aunque algunos se localizan fuera de la región del rafe, en el mesencéfalo (B_9) y en la formación reticular ventromedial de la protuberancia (B_3) (32) (Fig. 4).

No todas las neuronas de los núcleos del rafe son de naturaleza serotonérgica sino que contienen otras aminas, indolaminas o de otra naturaleza.

Resulta difícil localizar las proyecciones que parten de las neuronas serotonérgicas. Se han distinguido - proyecciones ascendentes que parten de los núcleos serotonérgicos más rostrales, y descendentes que provienen - de los núcleos bulbares.

Las fibras serotonérgicas, amielínicas y pequeñas, descienden por las columnas laterales y ventrales y con métodos histoquímicos se pueden observar muchas varicosidades de tipo terminal, próximas a diversas motoneuronas y otras células de la médula.

Hay otras fibras serotonérgicas cortas que no salen del tronco cerebral y que conectan con células de varios

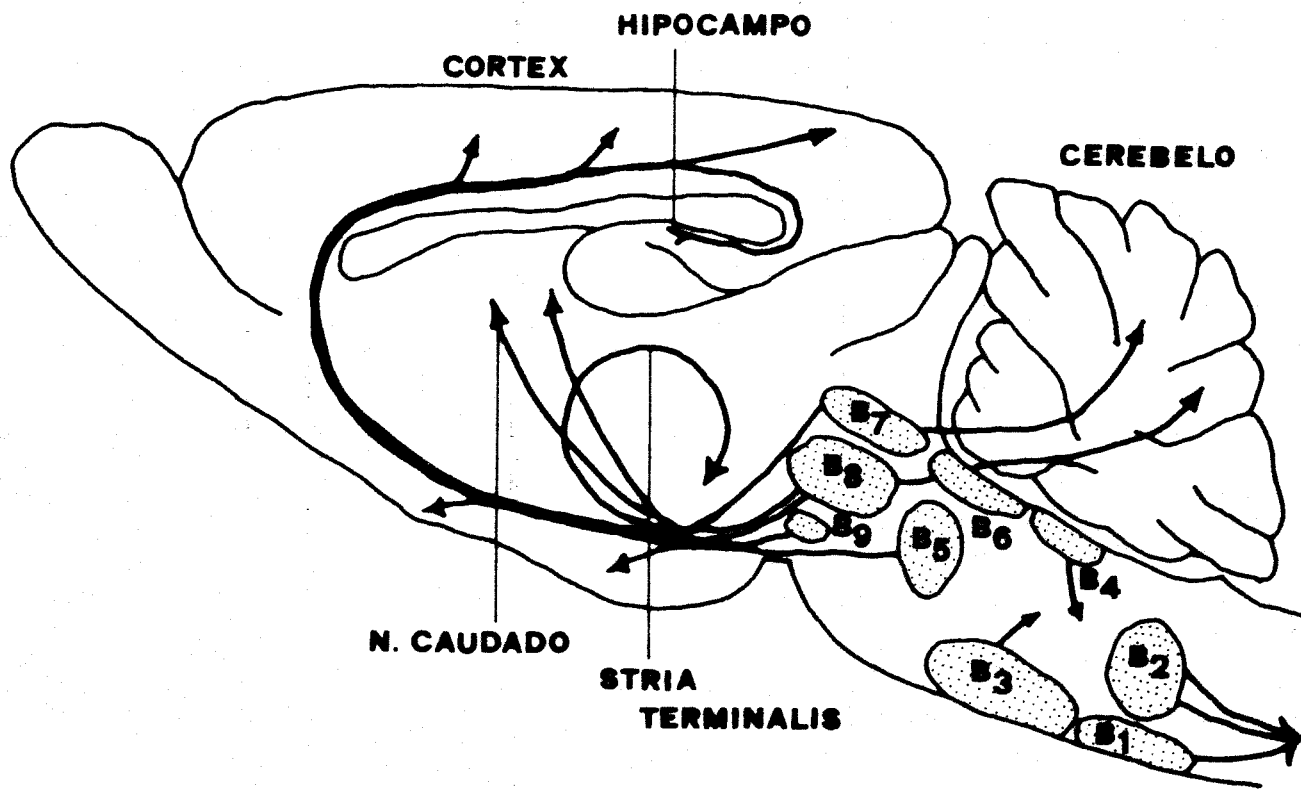


Fig. 4 - Esquema de los centros serotoninérgicos y de sus proyecciones en el cerebro de rata.

núcleos localizados en el propio troncoencéfalo. Se ha -
indicado que las células del rafe, además de proyectarse
en dirección rostral y caudal, dan origen a una densa -
inervación en la zona más inferior del tronco cerebral -
(33).

La serotonina actúa a nivel de la sinapsis predomi-
nantemente como sustancia inhibidora, lo cual no quiere
decir que el efecto fisiológico final sea de naturaleza
depresora ya que la acción sináptica inhibidora puede te-
ner lugar a lo largo de un circuito inhibidor, en cuyo -
caso el resultado final neto sería de carácter excitador
(34).

La serotonina puede también ejercer un papel que se
ha llamado modulador. Por "modulador" se entiende, una -
sustancia que liberada en su terminación sináptica espe-
cífica, puede influir sobre el efecto del transmisor - -
específico en aquella sinapsis de diversas formas:

- a - Compitiendo por el receptor con la sustancia -
transmisora.
- b - Influyendo sobre la liberación o recaptación -
del transmisor verdadero.
- c - Afectando el potencial de reposo de la neurona
efectora.

El modulador tiene la capacidad de modificar a nivel del receptor, y por el mecanismo que sea, la influencia del transmisor verdadero (35).

Para estudiar el tipo de efecto que resulta al interaccionar la 5-HT liberada en la terminación nerviosa y los receptores localizados en la membrana postsináptica, o sea, para analizar su actividad sináptica, se requiere el aislamiento de una neurona estrictamente serotoninérgica y la neurona efectora correspondiente, de forma que al estimular la primera se puede registrar el efecto en la segunda. Por otro lado, también hay que comprobar que la 5-HT exógena aplicada a la neurona efectora provoca una respuesta similar a la de la neurona serotoninérgica.

El bloqueo de la síntesis de 5-HT en los animales afecta las reacciones motoras, emocionales, y causa un aumento de la sensibilidad a los estímulos dolorosos (36).

Esto se ha demostrado en diversas experiencias, bien mediante la inhibición de la síntesis de 5-HT con paraclorofenilalanina (PCPA) (37)(38), o bien mediante lesiones de centros y vías serotoninérgicas como núcleos del rafe o el haz prosencefálico medial. La administración de 5-HTP o de serotonina restablece o eleva el umbral (39).

Hay que tener en cuenta el ciclo diurno en que se -
llevan las pruebas a cabo, ya que se encontraron varia-
ciones cíclicas de serotonina en corteza, hipocampo y -
amigdala de la rata.

Durante las horas de luz, cuando la 5-HT se encuen-
tra más elevada, en los animales control se observó una
menor sensibilidad al dolor que durante la fase de oscu-
ridad, cuando los niveles de serotonina están más redu-
cidos. Este hallazgo confirma la idea de que los mecanismos
serotonérgicos bloquean de algún modo la sensibili-
dad al dolor.

Algunas lesiones reducian el contenido de serotonina
telencefálica pero principalmente las del fascículo -
prosencefálico medial. Sin embargo, las lesiones de la -
porción ventral de la sustancia gris central del mesencéfalo,
incluidos los núcleos dorsales del rafe en su mi-
tad caudal sobre todo, o las lesiones del núcleo medial
del rafe, no solo no produjeron hiperalgesia sino inclu-
so hipoalgesia.

Estos hechos indican que la presencia de núcleos y
vias serotonérgicas reduce la sensibilidad dolorosa mientras
que su destrucción la exalta, y que si la lesión de
algunos núcleos del rafe no da lugar a una mayor sensibilidad

lidad dolorosa es porque a la vez se lesionan núcleos -
grises centrales con acción contrapuesta y los efectos -
se compensan.

Se ha comprobado que la PCPA antagoniza la acción
analgésica en ratas y que la intensidad del antagonismo
guarda relación temporal estrecha con la concentración -
cerebral de serotonina.

La alteración provocada por la PCPA sobre la anal-
gesia producida por estímulo eléctrico, ocurre solamente
en los casos en que el electrodo esté localizado en la -
sustancia gris central y ventral próxima al núcleo dor-
sal del rafe, que es rico en 5-HT. Se considera que la -
analgesia producida por este método de estimulación se -
debe a la actividad de una vía nerviosa que tenga, por -
lo menos, una sinápsis serotoninérgica.

Todas estas experiencias favorecen la hipótesis de
que ciertas vías serotoninérgicas pueden modular la sensi-
bilidad inhibiéndola o influir en ella, sea a nivel medu-
lar a través de vías descendentes o a nivel superior pro-
bablemente en mesencéfalo (40).

II.2.2.- MODIFICACION FARMACOLÓGICA DE LA TRANSMISION SEROTONERGICA.

Aunque la 5-HT que existe normalmente en el S.N.C. se origina en las propias neuronas, la administración exógena de 1-triptófano y 5-HTP aumenta la concentración de 5-HT en el cerebro así como en otros tejidos corporales. Sin embargo, según el tipo de precursor suministrado, la distribución de este aumento de 5-HT será diferente (41).

La inyección de 1-triptófano origina un aumento de serotonina ya que la triptófano hidroxilasa no está saturada de sustrato (42) y este aumento se localiza en las regiones normalmente ricas en dicha amina.

Esta localización se debe a que el precursor se convierte en 5-HT exclusivamente en las neuronas serotónicas. Por el contrario, la administración de 5-HTP induce aumento generalizado de serotonina en el cerebro, con una distribución inespecífica.

La causa de esta diferencia parece ser que se basa en la necesidad que tiene el triptófano de la triptófano-5-hidroxilasa para transformarse en 5-HT y la enzima sólo se encuentra en las neuronas serotónicas, por otro

lado, el 5-HTP se convierte en 5-HT mediante la l-aminoácido descarboxilasa, que se localiza no sólo en neuronas serotoninérgicas sino también en las dopaminérgicas y noradrenérgicas.

Los mecanismos de transporte a nivel de la membrana neuronal son relativamente inespecíficos. El 5-HTP puede penetrar en neuronas catecolaminérgicas y allí transformarse en 5-HT, provocando una menor síntesis de catecolaminas por ocupación o utilización del enzima o quizás actuando como falso transmisor (41).

También ocurre el fenómeno inverso, que la l-DOPA penetra en neuronas serotoninérgicas y se convierte en dopamina desplazando a la serotonina endógena. Estos hechos pueden ser importantes a la hora de interpretar las respuestas farmacológicas tras la administración de precursores de DOPA y de 5-HT (43)(Fig. 5).

A - Inhibición química de la síntesis de 5-HT cerebral.

La síntesis de serotonina cerebral se puede bloquear mediante la inhibición de la hidroxilación y de la descarboxilación con sustancias que inactiven los correspondientes enzimas. La inhibición será eficaz si --

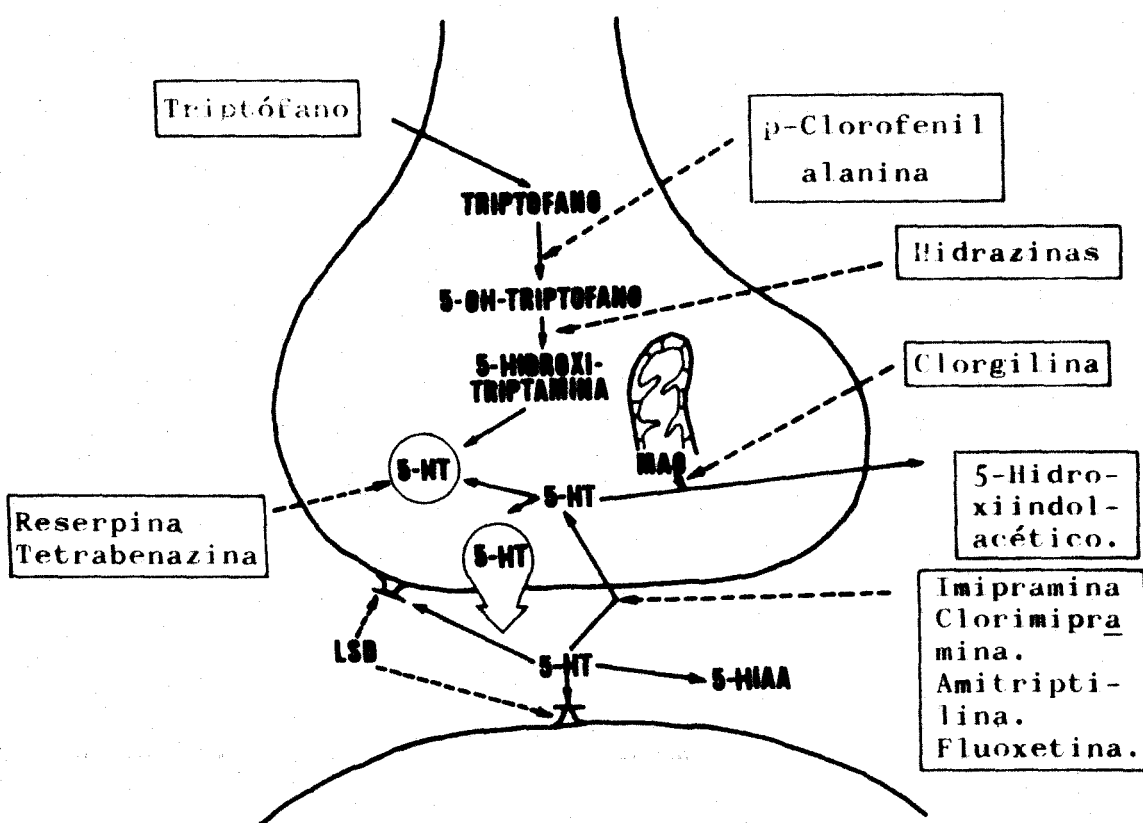


Fig. 5 - Terminación nerviosa serotoninérgica.

Se señalan los lugares donde pueden actuar algunos fármacos: línea continua, acción facilitada; línea discontinua, acción inhibidora.

las sustancias inhibidoras atraviesan primero la barrera hematoencefálica y son incorporadas después a la neurona (30).

A.1 - Inhibición de la triptófano-hidroxilasa.

Los inhibidores de la triptófano-5-hidroxilasa son derivados de aminoácidos que tienen afinidad por el enzima. Entre estos bloqueantes de la enzima autolimitante destacan:

- p-clorofenilalanina (PCPA), este compuesto es un valioso instrumento experimental pero demasiado tóxico para el uso clínico (44).
- derivados de anfetaminas: p-cloroanfetamina y p-clorometanfetamina, siendo este agente menos específico y más complejo en sus acciones (45).
- 6-fluortriptófano, aminoácido análogo específico de la triptófano hidroxilasa (44).

A.2 - Inhibición de la 5-HTP descarboxilasa.

La 5-HTP descarboxilasa puede ser inhibida por diversos compuestos tales como: hidrazinas, aminoácidos alquilados o derivados del ácido hidróxicinámico (30). Destacan entre ellos: seril-trihidroxibencilhidrazina,

l-metil dopa hidrazina y la propia alfa-metil dopa (46) Sin embargo, todos estos compuestos carecen de importancia práctica en cuanto se refieren a la inhibición "in vivo" de la síntesis de serotonina (30).

Con estos compuestos se consigue reducir la formación de 5-HT a partir de precursores exógenos; la administración por vía sistémica de estos compuestos inhibe la descarboxilasa que se encuentra en tejidos periféricos ya que no atraviesan la barrera hematoencefálica - (46).

B - Inhibidores de la captación de las membranas.

Se incluyen aquí fármacos antidepresivos tricíclicos que también inhiben la captación de las catecolaminas (44).

C - Inhibidores de la captación y el almacenamiento en los granulos.

Sustancias capaces de la depleción de las reservas de 5-HT son: reserpina, tetrabenazina y otras benzquinolizinas (44).

La reserpina, alcaloide carbonilico de la Rauwol-

fia serpentina Benth., se caracteriza por depleción de las neuronas de su contenido en dopamina, nor-adrenalina y serotonina. Actúa principalmente a nivel de la membrana de los gránulos intraneuronales, impidiendo que penetre y se almacene en ellos el neurotransmisor (47). Así, las aminas quedan expuestas a la acción metabolizadora de la MAO intraneuronal, y las neuronas pierden su contenido y capacidad neurotransmisora.

Actúa igualmente a nivel periférico, en donde depleciona a las plaquetas de su contenido en 5-HT (48) (49).

D - Inhibidores de la degradación.

La desaminación oxidativa de la 5-HT puede ser prevenida por compuestos que inhiban la forma A de la MAO o ambas formas enzimáticas (30).

E - Neurotoxinas.

Destruyen preferentemente las neuronas que contienen 5-HT e incluyen la 5,6-dihidroxitriptamina (5,6-DHT) y la 5,7-DHT (44).

F - Antagonistas de 5-HT a nivel del receptor.

Derivados del ácido lisérgico (metisergida, LSD), pizotifeno, antihistamínicos, fenotiacinas, etc. (44) (50).

II.3.- ACTIVIDAD DE LOS SISTEMAS NORADRENERGICOS A NI- VEL DEL S.N.C.

II.3.1.- NORADRENALINA Y SENSIBILIDAD DOLOROSA.

La distribución irregular de las catecolaminas ce rebrales, localizadas en ciertas regiones, sugirió que debían tener alguna función específica, probablemente - como neurotransmisores. Las catecolaminas, en efecto, - son neurotransmisores adrenérgicos que intervienen en - la transmisión sináptica (51).

El conocimiento de los gránulos o vesículas como lugares de almacenamiento de los neurotransmisores simpáticos, parte de observaciones iniciales en la médula adrenal y en los nervios simpáticos (52).

Se ha establecido una correlación entre el contenido de noradrenalina (NA) de un órgano o nervio y su - riqueza en fibras adrenérgicas, de forma que la concentración del transmisor puede tomarse como prueba de la densidad de su inervación adrenérgica.

Se piensa que la NA se encuentra de tres posibles maneras en el nervio adrenérgico:

- Libre en el citoplasma o citosol.
- " en el interior de las vesículas.
- Unida en el interior de las vesículas.

Existe un equilibrio dinámico a favor de la NA -
unida (53) (54).

La NA forma parte de vías noradrenérgicas específicas en el S.N.C. Su concentración es máxima en el hipotálamo y en las áreas cerebrales que regulan la actividad simpática (51).

Los sistemas noradrenérgicos cerebrales se caracterizan por tener los núcleos de origen en el tronco cerebral (bulbo, protuberancia y pedúnculos). De los cuerpos neuronales de estos núcleos se originan largos axones ascendentes que establecen conexiones sinápticas con las áreas corticales, el sistema límbico, el hipotálamo y el cerebelo, y axones descendentes que transcurren por los cordones anteriores y laterales hasta la sustancia gris de la médula espinal (55). Esta catecolamina está presente en cantidades significativas en casi todas las regiones del encéfalo (Fig. 6).

El locus coeruleus destaca entre los núcleos neuronales adrenérgicos y a partir de él se origina una extensa red noradrenérgica ascendente que alcanza todas -

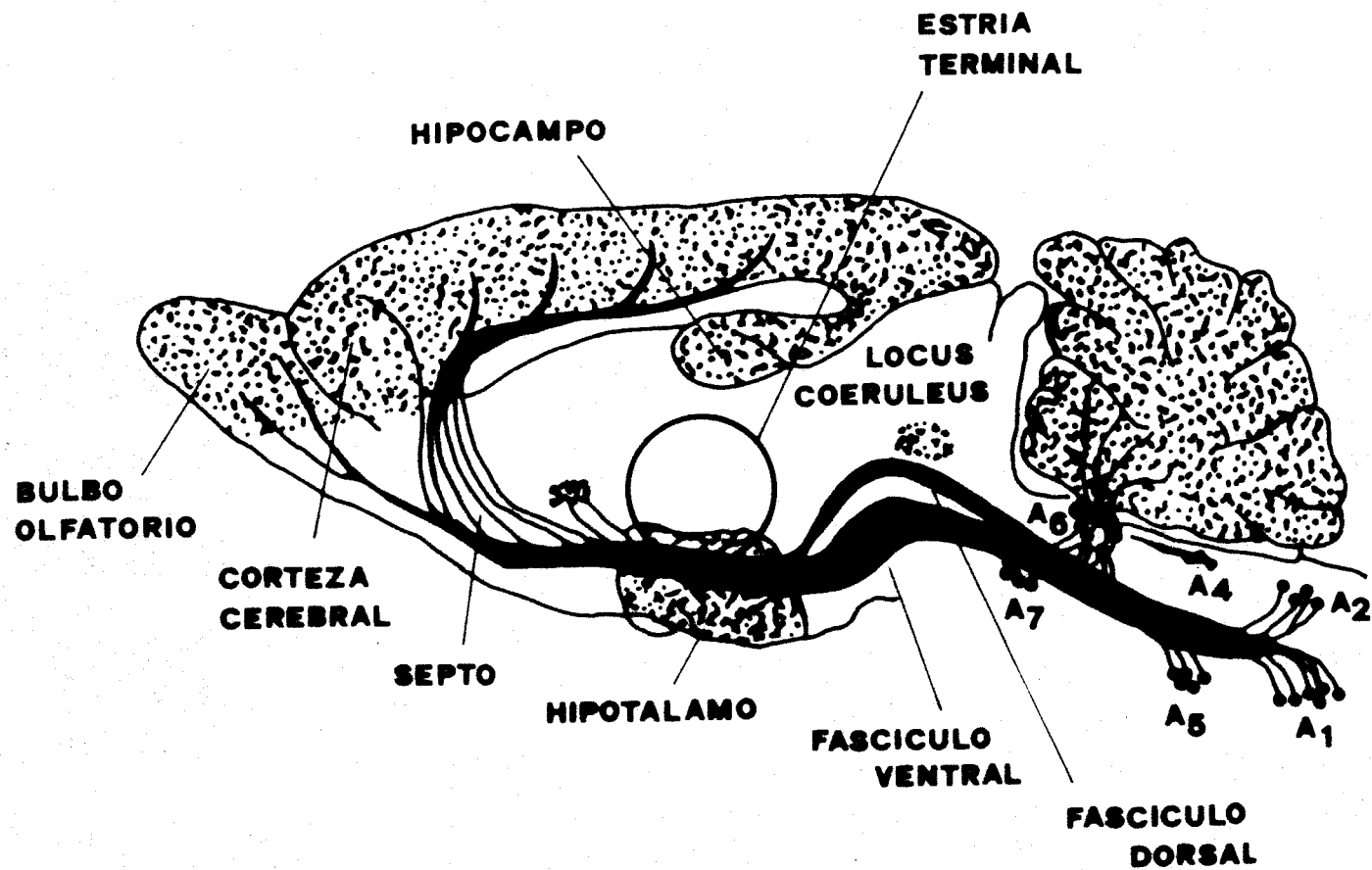


Fig. 6 - Distribución de las vías noradrenérgicas en el cerebro de rata.

las capas de la corteza límbica, hipocampo y amígdala, neocórtex y corteza cerebelar, así como, el tálamo (55).

Se han hecho experiencias para determinar de que forma la estimulación noradrenérgica afecta a las respuestas excitatorias producidas por otras fibras ascendentes aferentes de las células de Purkinje y como afecta a las respuestas inhibitorias frente a aminoácidos neurotransmisores con un efecto postsináptico.

Los resultados demuestran que la influencia noradrenérgica mejora la respuesta excitatoria o inhibitoria de las células de Purkinje; para afirmar que la NA tiene esta acción moduladora de las respuestas postsinápticas en condiciones fisiológicas, se debe demostrar que la estimulación del locus coeruleus produce los mismos efectos (56).

Estudios semejantes al descrito para el cerebelo se han hecho en otras regiones cerebrales y los resultados obtenidos indican que el papel neuromodulador de la NA es general.

La adrenalina y NA son agonistas directos en las células efectoras y sus acciones difieren principalmente por la proporción de su efectividad para estimular a los receptores alfa y beta (57). Juegan un papel impor-

tante en la adquisición y mantenimiento de la conducta motora, agresividad y analgesia (56). Asimismo, el examen de los efectos de las lesiones de las vías noradrenérgicas y de fármacos por inyección parenteral ha sugerido una larga lista de actos fisiológicos regulados -- por la NA y que incluyen apetito, sueño, memoria, aprendizaje y atención (57).

Algunos mecanismos noradrenérgicos centrales intervienen en la regulación de la presión arterial, así en ratas con hipertensión genética se han demostrado -- disminuciones significativas de NA en núcleos del cerebro anterior y del hipotálamo (58).

La síntesis de NA en la neurona presináptica empieza con la tirosina (Fig. 7), su transformación en DO PA constituye el paso limitante de la velocidad de síntesis de las catecolaminas (51).

La NA es metabolizada por la MAO (localizada en -- las mitocondrias de las terminaciones nerviosas y en -- otros tejidos como el hígado) y la catecol-o-metil -- transferasa (COMT) (localizada en las membranas postsinápticas) a 3-metoxi-4-hidroxi-fenilglicol (MHPG) o ácido vanillilmandélico (VMA) que son metabolitos inactivos obtenidos por oxidación y metilación respectivamen-

te.

Tambien se pone fin a la acción de las catecolaminas por un proceso de recaptación activa en la terminación nerviosa presináptica (56).

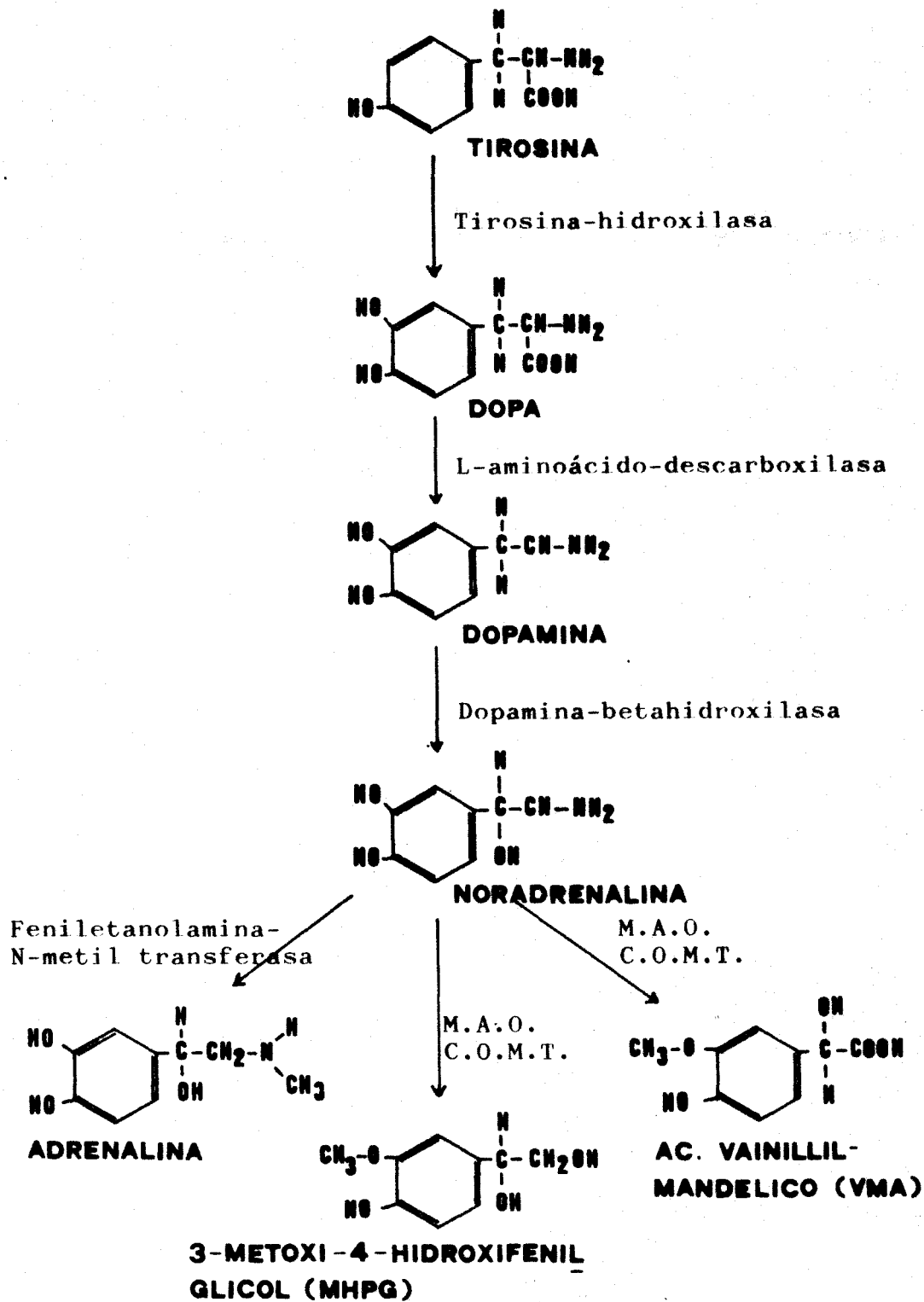


Fig. 7 - Biosíntesis y metabolismo de la Noradrenalina.

II.3.2.- MODIFICACION FARMACOLOGICA DE LA TRANSMISION NORADRENERGICA.

La disminución de los niveles de catecolaminas cerebrales se acompaña de una inhibición funcional, mientras que un aumento produce incremento de la función (Fig. 8).

A - Inhibición química de la síntesis de NA.

La posibilidad de intervención en la cadena de -- síntesis está en relación con la falta de especificidad de sustrato de las enzimas que participan en ella (51).

A.1 - Inhibición de la tirosina-hidroxilasa.

El bloqueo del paso limitante tirosina-hidroxilasa produce una notable reducción de las concentraciones de dopamina (DA), NA y adrenalina endógenas en el cerebro y en las estructuras periféricas. Entre estos inhibidores citamos:

A.1.1 - Análogos de la tirosina: α -metil-p-tirosina y sus ésteres.

La administración de α -metil-p-tirosina, al inhibir la biosíntesis, reduce los niveles de catecolaminas

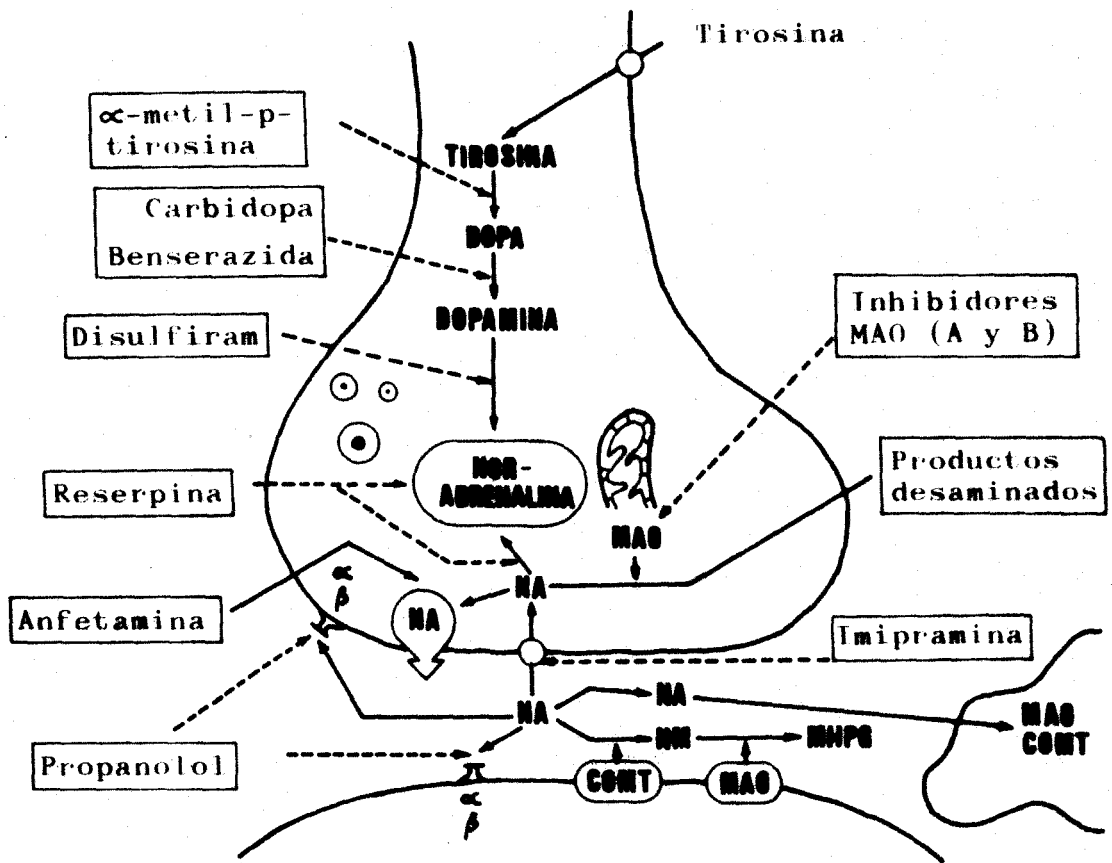


Fig. 8 - Terminación nerviosa noradrenérgica.

Se señalan los lugares donde pueden actuar algunos fármacos: línea continua, acción facilitada; línea discontinua, acción inhibidora.

central y periféricamente, dando lugar a disminución de la actividad simpática y a un estado de sedación y somnolencia.

A.1.2 - Tropolonas.

A.1.3 - Quelantes selectivos del hierro.

El hierro es un elemento necesario para la actividad de la tirosina-hidroxilasa (51).

A.2 - Inhibición de la dopa-descarboxilasa periférica.

Destacan Carbidopa y Benserazida por su aplicación en clínica.

A.3 - Inhibición de la dopamina- β -hidroxilasa.

- D- y L-cisteína, glutatión, Co A, dietilditio-carbamato, y el bis (1-metil-4-homopiperacínil-tiocarbonil)-disulfuro. Estos dos últimos son eficaces inhibidores de la dopamina- β -hidroxilasa "in vitro" e "in vivo".

- El disulfiram bloquea la síntesis de NA a par-

tir de DA, sin modificar las concentraciones de DA (56)

A.4 - Formación de falsos neurotransmisores.

Los enzimas que intervienen en el proceso de biosíntesis del neurotransmisor adrenérgico no poseen alto grado de especificidad; ésto hace que puedan utilizar sus tratos distintos de los fisiológicos. Los sustratos sufren la acción de los enzimas y son transformados en -- falsos neurotransmisores que desplazan el neurotransmisor fisiológico de su lugar de almacenamiento (48):
 α -metil-DOPA, α -metil-m-tiramina, octopamina, etc.

B - Inhibidores de la captación-almacenamiento en los gránulos.

B.1 - Reserpina.

Actúa dentro de la terminal nerviosa y a nivel de la acumulación de aminos en las vesículas sinápticas para obstaculizar su capacidad de retener a la NA, que di funde hacia fuera de las vesículas y es desaminada por la MAO dentro de la terminal nerviosa y abandona la neu rona como un producto desaminado inactivo. Parece ser - que los efectos periféricos de la reserpina están media dos principalmente por la depleción de catecolaminas, - en especial de NA, de los nervios noradrenérgicos.

Se destaca este compuesto como un potente inhibidor del sistema de transporte por el cual las catecolaminas son captadas del citoplasma de la célula neuronal hacia las vesículas de almacenamiento de NA (47) -- (59).

B.2 - Anfetaminas.

Carlsson y cols. han demostrado que el principal mecanismo de acción de las anfetaminas es el de inhibir la captación de las monoaminas por la membrana neuronal y por las vesículas sinápticas, a concentraciones elevadas (49).

C - Inhibición del proceso de recaptación.

La imipramina no inhibe la MAO, aunque otros anti depresivos sí lo hacen, sino que es un potente inhibidor de la inactivación de la NA liberada en la sinapsis tanto en los nervios simpáticos periféricos como en el cerebro (59).

D - Inhibidores de la degradación.

D.1 - Inhibidores de la MAO.

Los primeros fármacos antidepresivos clínicamente

útiles fueron los inhibidores de la MAO. Es posible que consecutivo a la inhibición de la MAO, la NA que se acumula en la terminal nerviosa puede difundir a través de la membrana sináptica y la hendidura sináptica y hacia los receptores postsinápticos (49).

E - Antagonistas de NA a nivel de receptores.

La NA actúa predominantemente sobre los receptores α pero también algo sobre los β (60).

Los principales fármacos antagonistas de receptores α son (59) :

- Haloalquilaminas.
- Imidazolininas.
- Benzodioxanos.
- Amidas del ácido lisérgico, etc.

Entre los antagonistas de los receptores β destacan (59) :

- Propanolol.
- Practolol.
- Butoxamina.

Por otro lado, fármacos como el labetalol son antagonistas de ambos adrenorreceptores: α y β .

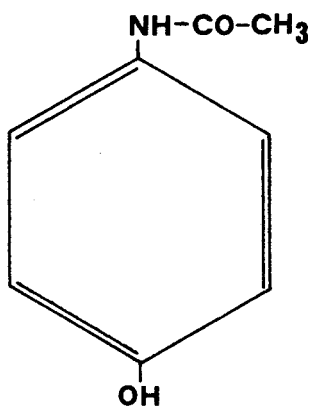
III- PARTE

EXPERIMENTAL

III.1.- MUESTRA.

Paracetamol, N-acetil-p-aminofenol (Sigma Ch. C.)
PM=151,17. Polvo blanco cristalino, de sabor ligeramente amargo e inodoro (61). Insoluble en agua fría, muy soluble en agua caliente, soluble en cloroformo, etanol acetona, glicerol, propilenglicol, soluciones de hidróxidos alcalinos y poco soluble en éter. Punto de fusión 169-171°, d=1,293 (62).

Su fórmula estructural y molecular es:



N-acetil-p-aminofenol ($C_8H_9NO_2$).

III.2.- CONDICIONES GENERALES DE LA EXPERIENCIA.

III.2.1.- REACTIVO ANIMAL.

Como animales de experimentación se han utilizado los siguientes:

- Ratas Wistar, machos, con un peso comprendido entre 200 y 300 g.
- Ratones Swiss, machos, de peso comprendido entre 25 y 30 g.

En las experiencias realizadas se han utilizado diferentes lotes de 10 animales cada uno, como mínimo, que se les mantuvo en ayunas antes del comienzo de todas las pruebas, así como a lo largo de las mismas.

La manipulación de los animales ha sido sumo cuidadosa, con objeto de que la dispersión de los resultados fuese despreciable.

III.2.2.- VIAS DE ADMINISTRACION.

- Vía oral, realizando la administración mediante sonda intragástrica.
- Vía intraperitoneal.

III.2.3.- DOSIS A ENSAYAR.

Las dosis seleccionadas de paracetamol en los distintos ensayos han sido de 200 y 400 mg/Kg peso animal (63), empleando como vehículo solución salina fisiológica.

III.2.4.- NEUROMODIFICADORES AMINERGICOS UTILIZADOS.

Los neuromodificadores aminérgicos, han sido administrados unicamente en aquellas experiencias en las cuales el compuesto en estudio, paracetamol, era eficaz como analgésico.

Entre ellos:

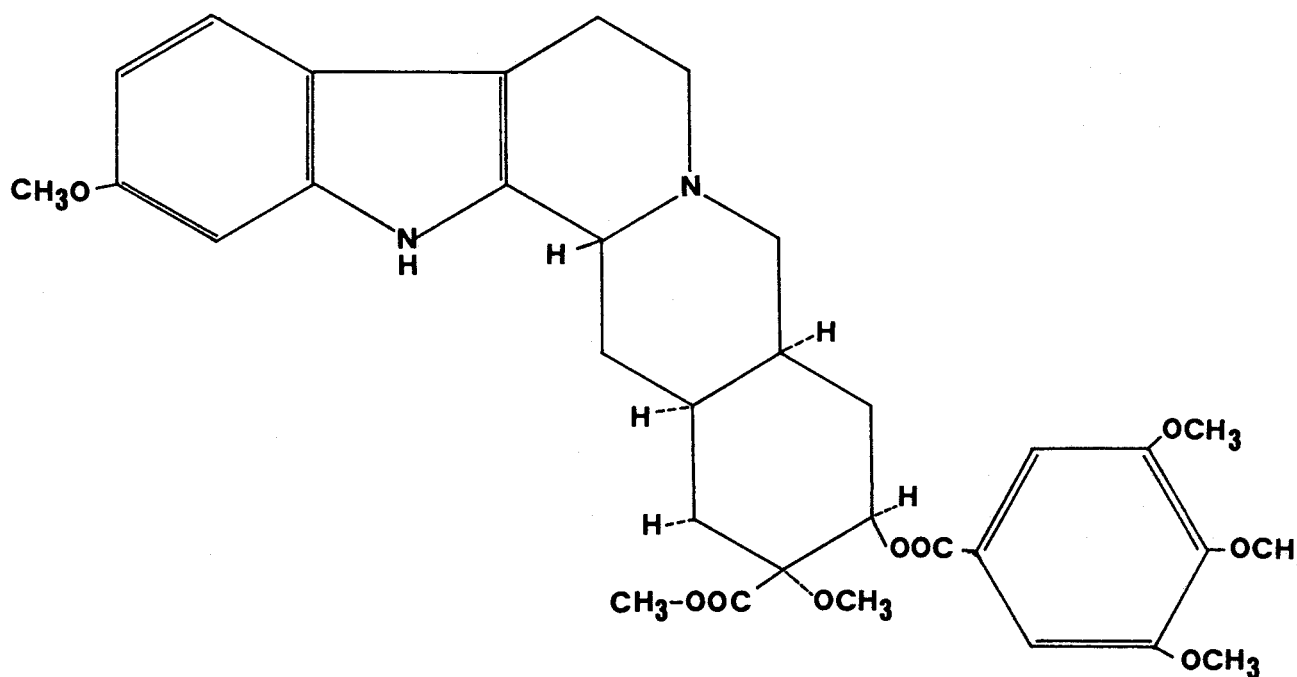
- Reserpina: 3, 4, 5, trimetoxibenzoil reserpato

de metilo.

El tratamiento con reserpina disminuye notablemente las cantidades de las catecolaminas: dopamina, noradrenalina y adrenalina presente en los tejidos, así como serotonina, ATP y GABA (47). El mecanismo de dicho efecto, como ya ha sido expuesto en los apartados II.2.2. y II.3.2., se localiza principalmente a nivel de la membrana de los gránulos intraneuronales, impidiendo que penetre y se almacene en ellos el neurotransmisor y en el caso de las neuronas noradrenérgicas, que tenga lugar en ellos la hidroxilación de la dopamina. Así las aminas quedan expuestas a la acción metabolizadora de la MAO intraneuronal y las neuronas pierden su contenido y capacidad neurotransmisora.

La reserpina actúa igualmente a nivel periférico, en donde depleciona al sistema simpático y a las suprarrenales de su contenido en noradrenalina y adrenalina respectivamente.

Su estructura química es la siguiente:

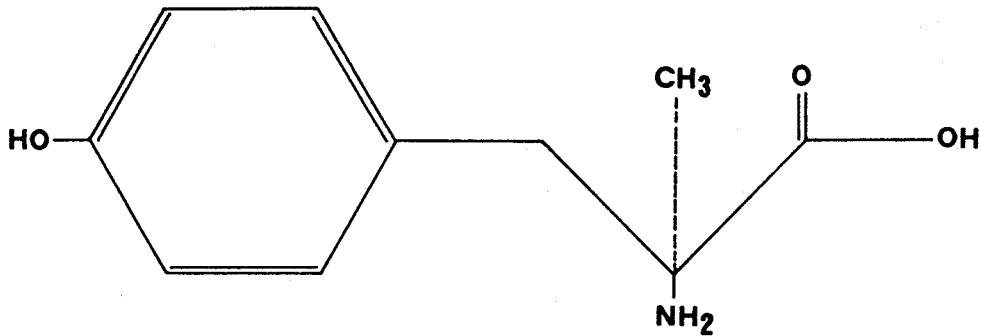


- α -Metil-p-tirosina (AMPT).

Interfiere la síntesis de catecolaminas al producir una inhibición de la transformación de la tirosina en DOPA (63).

Es un análogo de la tirosina que actúa como inhibidor competitivo de la tirosina-hidroxilasa. Su grupo metilo en el carbono α retarda la descarboxilación y bloquea la transaminación (64).

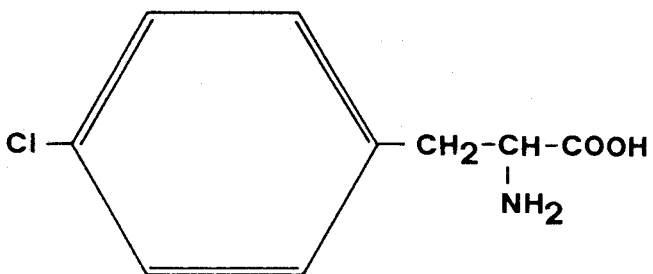
Su fórmula es la siguiente:



- p-cloro-fenilalanina (PCPA).

Es un derivado de la fenilalanina que inhibe con relativa especificidad a la triptófano-hidroxilasa, aunque a dosis elevadas afecta también a la tirosina-hidroxilasa. Su acción se realiza a nivel del SNC y en las células enterocromafines (65).

Su estructura química es la siguiente:

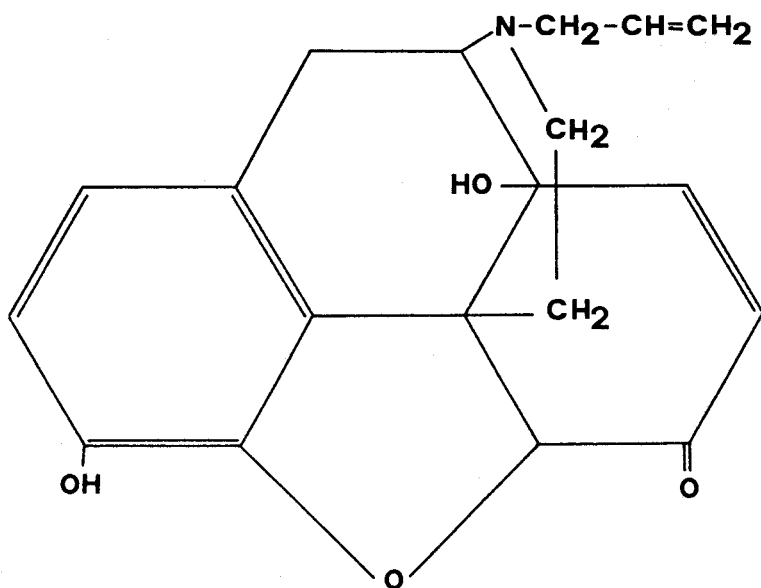


- Naloxona.

Derivado alilo de la nor-oximorfona, con la propiedad de antagonizar de manera inmediata la analgesia, sedación, depresión respiratoria o coma inducidos por la morfina y otros opiáceos.

Diversas experiencias han puesto de manifiesto que la naloxona es capaz de bloquear el efecto antiálgico de la estimulación eléctrica (APE) de ciertas zonas del cerebro, lo cual nos indica su relación con la liberación de opiáceos endógenos (66).

Su fórmula estructural es la siguiente (67):



III.3.- ACTIVIDAD ANALGESICA.

III.3.1.- FRENTE A UN ESTIMULO QUIMICO.

III.3.1.1.- Desarrollo de la experiencia.

Hemos seguido la técnica descrita por Koster (68) utilizando como agente nociceptivo el ácido acético al 1% (69).

Inyectamos, i.p., un volumen de 10 ml/Kg peso animal de ácido acético al 1% a diferentes lotes de 15 animales cada uno (ratones Swiss machos de 25-30 g.) y se contabiliza el número de contorsiones inducidas por el agente algógeno durante los minutos 7º al 12º a partir de la administración del ácido.

III.3.1.2.- Ensayos con paracetamol.

A los animales mantenidos en ayuno de 8 h. (agua "ad libitum") se les administró vía i.p. 200 y 400 mg/Kg peso animal y transcurridos 20' se provocó el dolor con la solución de ácido acético al 1%, a los 7' de la

inyección contabilizamos la respuesta durante 5'.

Se realizó paralelamente una prueba control y otra con un patrón de morfina a una dosis de 1 mg/Kg peso animal (70).

- Resultados.

El número de contorsiones experimentadas después de la administración del paracetamol es notablemente inferior al de los animales del grupo control y los tratados con morfina. Se puede observar además que las contorsiones son más débiles y menos prolongadas y los animales no presentan dificultad para recuperarse.

En la tabla I, junto al número de contorsiones de cada lote, se expresan: la media, la desviación standard y el error.

En la tabla II figura el porcentaje de inhibición de la respuesta respecto al control. Los niveles de significación estadísticos se calcularon aplicando el test de Student.

III.3.1.2.a.- Tratamiento con reserpina.

Reserpina cristalizada anhidra. PM=608,7 g.(Sigma

Animales	Nº de contorsiones (5 min.)			
	Control	Paracetamol (200 mg/Kg)	Paracetamol (400 mg/Kg)	Morfina
1	17	2	0	10
2	27	4	0	9
3	16	1	2	5
4	20	8	0	5
5	20	5	0	10
6	22	5	0	14
7	15	3	0	4
8	17	0	1	6
9	17	5	0	13
10	18	6	0	9
11	21	7	0	13
12	15	1	0	13
13	18	2	1	14
14	19	2	0	6
15	23	8	1	8
	$\bar{X} = 19,00$	$\bar{X} = 3,93$	$\bar{X} = 0,33$	$\bar{X} = 9,27$
	$\sigma = 3,27$	$\sigma = 2,60$	$\sigma = 0,62$	$\sigma = 3,53$
	$\xi = 1,03$	$\xi = 0,82$	$\xi = 0,20$	$\xi = 1,12$

Tabla I - Actividad analgesica frente a un estímulo químico.

Lote	$\bar{X} \pm \epsilon$ (nº contorsiones)	% Inhibición algesia
Control	19,00 \pm 1,03	-
Paracetamol (200 mg/Kg)	3,93 \pm 0,82 * p < 0,001	79,32
Paracetamol (400 mg/Kg)	0,33 \pm 0,20 * p < 0.001	98,26
Morfina	9,27 \pm 1,12 * p < 0,001	51,21

Tabla II - % de inhibición del dolor frente a un estímulo químico

* Niveles de significación estadística con respecto al grupo control.

Ch. C.).

Como vehículo se utilizó carboximetil celulosa -
(CMC) al 0,5% en solución fisiológica y una gota de -
Tween 80 por cada 100 mg de producto (71).

Los animales fueron sometidos a un ayuno de 8 h.
antes de administrar la reserpina. Este pretratamiento,
2,5 mg/Kg peso animal, via i.p. (70), se realizó 20 h.
antes de la administración del paracetamol, continuando
la experiencia según técnica descrita en III.3.1.2.

- Resultados.

Las tablas III y IV muestran los resultados obtenidos del pretratamiento con reserpina, pudiendo observar el aumento de la respuesta al dolor en relación al lote de animales a los que se les administró sólo paracetamol.

III.3.1.2.b.- Tratamiento con p-cloro-fenilalanina.

p-cloro-fenilalanina cristalizada anhidra.

PM= 199,6 g. (Sigma Ch. C.).

Su administración, vía subcutánea, se realizó suspendida en CMC al 0,5% en solución fisiológica y una gota de Tween 80 por cada 100 mg de producto (71).

Dicho inhibidor fué inyectado en dos dosis sucesivas de 300 mg/Kg peso animal a las 36 y 12 h. antes del tratamiento con paracetamol (72).

La experiencia se continuó provocando dolor mediante un estímulo químico según técnica descrita en III.3.1.2.

- Resultados.

En las tablas III y IV se puede observar como la analgesia producida por el paracetamol se ha inhibido parcialmente por la PCPA, al aumentar el número de respuestas provocadas por el agente algógeno

III.3.1.2.c.- Tratamiento con α -metil-p-tirosina

α -metil-p-tirosina cristalizada anhidra. PM=195,2 g.
(Sigma Ch. C.).

Tambien en este caso se utilizó la CMC al 0,5%-

Tween 80 (71).

El tratamiento con la α -metil-p-tirosina, inhibidor de la síntesis de catecolaminas, se efectuó vía i.p en dos dosis sucesivas de 100 mg/Kg peso animal a las 7 y 4 h. antes de la administración del paracetamol (70).

A los 20' de inyectar la dosis correspondiente - del analgésico en estudio, se provocó el dolor con la - solución de ácido acético al 1% y a los 7' contabiliza- mos la respuesta.

- Resultados.

La administración de la α -metil-p-tirosina provo- có en los animales un síndrome depresivo acompañado de ligera taquicardia.

Los movimientos eran lentos, pero en relación a - la actividad analgésica no parece modificarla significativamente, según nos ponen de manifiesto los resultados obtenidos y que figuran en las tablas III y IV.

III.3.1.2.d.- Tratamiento con naloxona.

Clorh.Naloxona (Abelló), inyectables de 0,4 mg/ml

Al lote de animales correspondiente de ratones machos Swiss, se les inyectó vía subcutánea 2 mg/Kg peso animal de naloxona (73)(74), 20' antes del tratamiento con paracetamol. A continuación del analgésico administramos el agente algógeno según se ha descrito en el apartado III.3.1.2.

- Resultados.

La naloxona no modifica significativamente la analgesia producida por el paracetamol a las dosis ensayadas. Los resultados de la experiencia figuran en las tablas III y IV.

A la vista de los resultados obtenidos tras la administración de los inhibidores utilizados, indicativos de la posible participación de la serotonina en el mecanismo de la acción analgésica del paracetamol, decidimos determinar la influencia de la administración de los precursores 1-5-hidroxitriptófano (5-HTP) y de triptófano (TP) en animales pretratados con PCPA sobre la analgesia inducida por el compuesto en estudio.

Para ello, a un lote de animales tratados con PCPA, siguiendo la metodología ya descrita en el apartado

do III.3.1.2.b., se les administró, 4 h. antes del tratamiento con paracetamol, via i.p., una dosis de - - 100 mg/Kg peso animal de 5-HTP, producto de la reacción enzimática inhibida por la PCPA.

Una vez transcurrido el tiempo indicado (4 h.) necesario para restaurar la síntesis de la serotonina, se inyectó paracetamol y a los 20' se provocó el dolor por estímulo químico.

El TP, sustrato específico de la enzima inhibida, se administró a la misma dosis (100 mg/Kg) y la experiencia se desarrolló de forma idéntica a la anterior - en otro lote de 15 animales.

- Resultados.

Los resultados expuestos en las tablas III y IV - ponen de manifiesto el restablecimiento de la actividad analgésica después del aporte exógeno de 5-HTP, precursor inmediato de la serotonina.

El TP no es capaz de restaurar dicha actividad.

Animales	Nº contorsiones (5 min)					
	Reserpina	PCPA	PCPA + 5-HTP	PCPA + TP	α -metil-p-tiro sina	Naloxona
1	8	17	2	6	7	7
2	6	12	10	12	1	6
3	8	14	1	8	2	5
4	6	7	3	12	2	5
5	12	12	7	3	2	2
6	9	15	3	8	1	2
7	17	16	3	9	3	3
8	11	7	3	9	1	1
9	7	6	2	4	7	9
10	18	11	5	5	6	6
11	11	11	3	10	7	2
12	11	9	2	6	3	3
13	11	6	2	6	0	4
14	10	13	8	11	4	4
15	9	10	3	8	4	3
	$\bar{X} = 10,27$	$\bar{X} = 11,06$	$\bar{X} = 3,80$	$\bar{X} = 7,80$	$\bar{X} = 3,33$	$\bar{X} = 4,13$
	$\sigma = 3,49$	$\sigma = 3,58$	$\sigma = 2,57$	$\sigma = 2,78$	$\sigma = 2,41$	$\sigma = 2,20$
	$\epsilon = 1,10$	$\epsilon = 1,13$	$\epsilon = 0,81$	$\epsilon = 0,88$	$\epsilon = 0,76$	$\epsilon = 0,70$

Tabla III - Influencia de diversos neuromodificadores en la actividad analgésica.

Lote	$\bar{X} \pm \epsilon$ (nº contorsiones)	% Inhibición analgesia
Paracetamol (200 mg/Kg)	3,93 \pm 0,82	-
Reserpina	10,27 \pm 1,10 * p < 0,001	161,32
PCPA	11,06 \pm 1,13 * p < 0,001	181,42
PCPA + 5-HTP	3,80 \pm 0,81 * n.s.	- 3,30
PCPA + TP	7,80 \pm 0,88 * p < 0,001	98,47
α -metil-p-ti- rosina	3,33 \pm 0,76 * n.s.	- 15,27
Naloxona	4,13 \pm 0,70 * n.s.	5,09

Tabla IV - Influencia de diversos modificadores en la actividad analgesica.

* Niveles de significación estadística con respecto al grupo tratado con paracetamol

III.3.1.2.e.- Discusión de resultados.

El efecto analgésico del paracetamol sobre las contorsiones inducidas por el ácido acético al 1%, a las dosis de 200 mg/Kg y 400 mg/Kg peso animal, es manifiesto. Dicho efecto es antagonizado tanto por la PCPA, inhibidor de la síntesis de serotonina, como por la reserpina, alcaloide que facilita la depleción de catecolaminas y serotonina; estos resultados nos hablan a favor de la intervención de mecanismos serotoninérgicos y que, posteriormente fué confirmado al recuperar la analgesia por administración del precursor de la serotonina 5-HTP, en animales pretratados con PCPA. No se consiguió tal recuperación con el TP.

Los ensayos con α -metil-p-tirosina, inhibidor de la síntesis de catecolaminas, no afectó la actividad analgésica del compuesto en estudio, lo que nos hace suponer que es un efecto independiente de mecanismos catecolaminérgicos.

Asimismo el tratamiento con naloxona, antagonista opiáceo, no modificó de forma significativa el efecto antinociceptivo por lo que tampoco se sospecha que los opiáceos endógenos jueguen un importante papel en esta acción (Fig. 9).

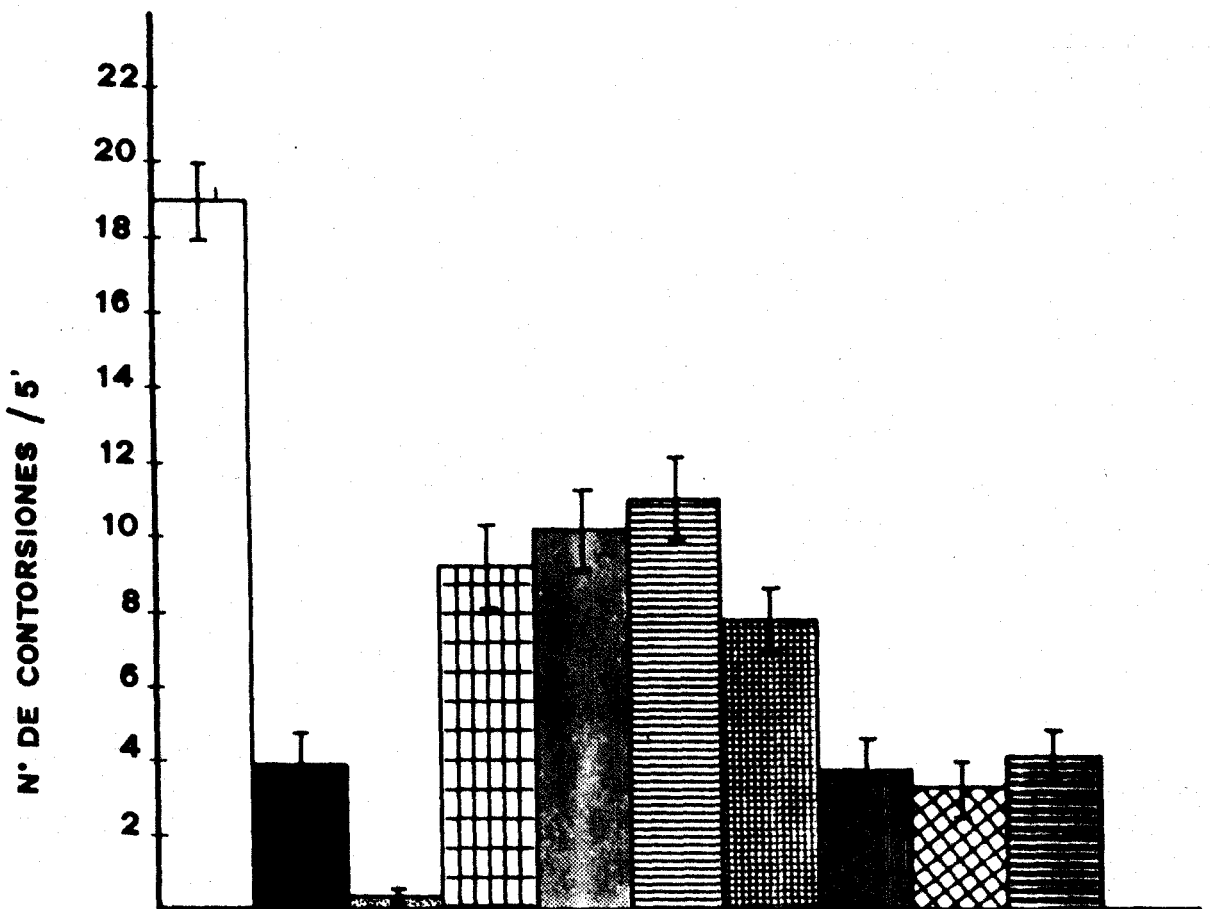
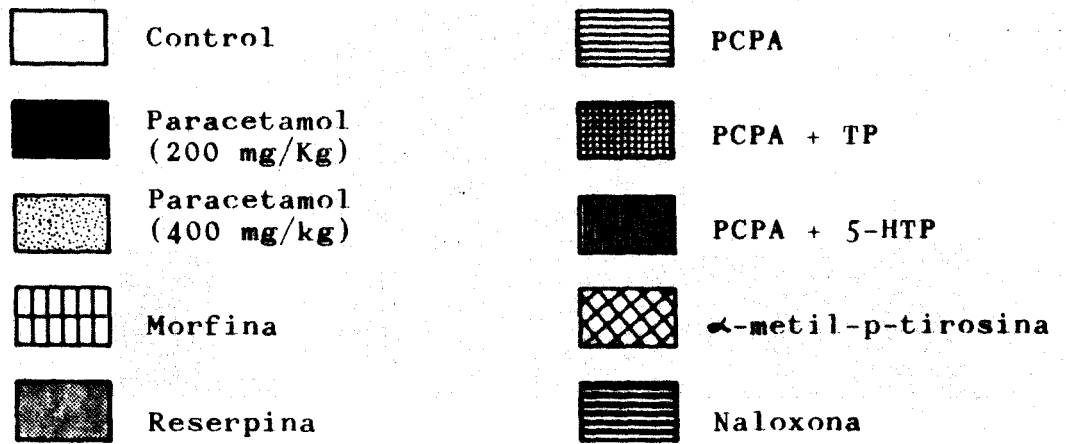


Fig. 9 - Actividad analgésica frente a un estímulo químico.

III.3.2.-FRENTE A UN ESTIMULO MECANICO.

III.3.2.1.- Desarrollo de la experiencia.

La actividad analgésica del paracetamol ha sido, en este caso, investigada frente a un estímulo mecánico provocado de acuerdo con el test de Randall y Selitto (75), en la pata inflamada de la rata.

El umbral doloroso fué medido a las 4 h. de la inyección del agente inflamatorio con un analgesímetro UGO Basile.

El instrumento es básicamente un aparato que ejerce una fuerza en la pata del animal que se incrementa en una proporción constante (16 g/seg) y que está continuamente monitorizado por una aguja movable a lo largo de la escala lineal calibrada en g x 10. El animal retira la pata cuando la fuerza ejercida sobre la misma es suficiente para provocarle dolor (Fig. 10).

El edema subplantar agudo fué provocado por carragenina según la técnica de Winter, Risley y Nuss (76). La carragenina tipo I está constituida por una mezcla natural de 80% de kappa y 20% de lambda. Con ello se



Fig. 10 - Analgesímetro (determinación del dolor por estímulo mecánico).

preparó una solución al 1% en suero fisiológico y la inflamación se provocó por la administración subplantar, - en la pata posterior derecha, de 0,1 ml de esta solución por rata (77).

Han sido utilizadas en las experiencias ratas Wistar macho de peso comprendido entre 250-300 g.

III.3.2.2.- Ensayos con paracetamol.

Una vez provocado, a los diferentes lotes de animales, el edema subplantar agudo (4 h. después de la -- administración de la carragenina), se administró a un grupo de 10 ratas macho, en ayuno de 20 h., una dosis - de 200 mg/Kg peso animal mediante sonda intragástrica. Como vehículo se utilizó solución salina fisiológica en un volumen no superior a 5 ml/animal.

A los 30' del tratamiento con paracetamol se realizó la medida del umbral del dolor, inducido ya un estímulo mecánico según se ha expuesto en el apartado anterior III.3.2.1.

En iguales condiciones experimentales efectuamos una prueba control y otra con un patrón de morfina a - una dosis de 1 mg/Kg peso animal (70).

- Resultados.

Los resultados obtenidos en nuestras condiciones experimentales figuran en las tablas V y VI. Se aprecia claramente un aumento del umbral del dolor despues del tratamiento con paracetamol.

III.3.2.2.a.- Tratamiento con reserpina.

Se ha realizado para poner de manifiesto la posible influencia de catecolaminas y serotonina en la acción analgésica del paracetamol frente al dolor inducido por estímulo mecánico.

La dosis de reserpina (2,5 mg/Kg peso animal), vía de administración (i.p.) y pauta de dosificación (20 h. antes de la administración del paracetamol), han sido las mismas que las seguidas en experiencias anteriores, apart. III.3.1.2., en relación al estudio de la analgesia frente a un estímulo químico.

El umbral del dolor sobre la pata inflamada del animal, se determina una vez transcurridos los 30' del tratamiento con el paracetamol, según el test de Randall y Selitto (75).

Animales	Peso tolerado (g)		
	Control	Paracetamol (200 mg/Kg)	Morfina
1	400,0	1000,0	850,0
2	690,0	540,0	840,0
3	465,0	1250,0	1000,0
4	705,0	600,0	1150,0
5	645,0	940,0	1050,0
6	480,0	1250,0	1000,0
7	750,0	1000,0	1000,0
8	385,0	1025,0	1000,0
9	650,0	1250,0	1000,0
10	330,0	1200,0	980,0
	$\bar{X} = 550,0$	$\bar{X} = 1005,5$	$\bar{X} = 987,0$
	$\sigma = 153,80$	$\sigma = 258,85$	$\sigma = 89,32$
	$\xi = 48,67$	$\xi = 81,91$	$\xi = 28,26$

Tabla V - Actividad analgésica frente a un estímulo mecánico.

Lote	$\bar{X} \pm \epsilon$ Pesos tolerados (g)	% Inhibición algesia
Control	550,0 \pm 48,67	-
Paracetamol (200 mg/Kg)	1005,5 \pm 81,91 * p < 0,001	82,82
Morfina	987,0 \pm 28,26 * p < 0,001	79,45

Tabla VI - % de inhibición del dolor frente a un estímulo mecánico.

* Niveles de significación estadística respecto al grupo control.

- Resultados.

En las tablas VII y VIII se muestran los valores de los pesos tolerados por los animales despues del tratamiento con reserpina. Puede observarse que dicho compuesto interviene disminuyendo la actividad analgésica.

III.3.2.2.b.- Tratamiento con p-cloro-fenilalanina.

El pretratamiento con PCPA, inhibidor de la síntesis de serotonina, se realizó según se indica en el - - apartado III.3.1.2.b.

La influencia de dicho neurotransmisor en la actividad analgésica se puso de manifiesto despues de administrar, mediante sonda intragástrica, paracetamol, y - provocar dolor mediante un agente algógeno mecánico, - apart. III.3.2.1.

- Resultados.

Figuran en las tablas VII y VIII. La acción analgésica del paracetamol es antagonizada significativamente por la PCPA.

III.3.2.2.c.- Tratamiento con α -metil-p-tirosina.

El pretratamiento con α -metil-p-tirosina, inhibidor de la síntesis de catecolaminas, se efectuó en las mismas condiciones experimentales que expusimos anteriormente en el apartado III.3.1.2.c.

La dosis de 100 mg/Kg peso animal, se administró vía i.p. 7 y 4 h. antes del paracetamol. Después de dosificar con este derivado de la tirosina, continuamos la experiencia de la manera establecida, administrando los 200 mg/Kg peso animal de paracetamol y midiendo el dolor provocado en la pata inflamada por carragenina (76).

- Resultados.

Los valores de los pesos tolerados por los animales pretratados con la α -metil-p-tirosina se muestran en las tablas VII y VIII.

III.3.2.2.d.- Tratamiento con naloxona.

La administración de naloxona, 20' antes de la del paracetamol, se realizó vía subcutánea a una dosis de 2 mg/Kg peso animal.

La valoración de su intervención en la analgesia producida por el paracetamol frente a un estímulo mecánico fué estudiada según se expuso en experiencias similares, apart. III.3.1.2.d.

- Resultados.

Los valores obtenidos que figuran en las tablas VII y VIII reflejan la escasa influencia de la naloxona en la actividad analgésica del paracetamol.

III.3.2.2.e.- Discusión de resultados.

El paracetamol, según muestran los resultados obtenidos (Fig. 11), es evidente se comporta como agente analgésico frente al dolor provocado por un estímulo mecánico.

El pretratamiento con los neuromodificadores seleccionados nos pone de manifiesto, en primer lugar, una intervención de mecanismos serotoninérgicos debido al claro antagonismo del efecto analgésico logrado con la PCPA, así como con la reserpina; este hecho se comprobó al tratar al lote de animales que se le había administrado PCPA, con un precursor de la serotonina, -

5-HTP, y recuperar el efecto antiálgico.

La influencia de los neurotransmisores adrenérgicos en el mecanismo de dicha acción ha sido menos manifiesta que para la serotonina, ya que el tratamiento -- con un inhibidor de la síntesis de catecolaminas, -metil-p-tirosina, no modificó la actividad en un porcentaje tan elevado como lo hizo la PCPA.

La inhibición lograda por naloxona no fué significativa.

Animales	Pesos tolerados (g)					
	Reserpina	PCPA	PCPA + 5-HTP	PCPA + TP	α -metil-p-tiro sina	Naloxona
1	380,0	260,0	1150,0	220,0	1050,0	1000,0
2	420,0	160,0	600,0	180,0	500,0	880,0
3	330,0	300,0	1150,0	420,0	675,0	640,0
4	500,0	500,0	920,0	270,0	645,0	780,0
5	660,0	420,0	900,0	300,0	645,0	1250,0
6	390,0	260,0	1000,0	260,0	690,0	1000,0
7	490,0	360,0	920,0	320,0	650,0	840,0
8	500,0	390,0	960,0	280,0	615,0	620,0
9	330,0	900,0	1000,0	220,0	630,0	860,0
10	430,0	250,0	800,0	270,0	615,0	1150,0
	$\bar{X} = 444,0$	$\bar{X} = 380,0$	$\bar{X} = 940,0$	$\bar{X} = 274,0$	$\bar{X} = 670,5$	$\bar{X} = 902,0$
	$\sigma = 99,34$	$\sigma = 207,47$	$\sigma = 161,03$	$\sigma = 65,86$	$\sigma = 143,07$	$\sigma = 203,02$
	$\epsilon = 31,44$	$\epsilon = 65,65$	$\epsilon = 50,96$	$\epsilon = 20,84$	$\epsilon = 45,28$	$\epsilon = 64,25$

Tabla VII - Influencia de diversos neuromodificadores en la actividad analgésica.

Lote	$\bar{X} \pm \varepsilon$ Pesos tolerados (g.)	% Inhibición analgesia
Paracetamol (200 mg/Kg)	1005,5 \pm 81,91	-
Reserpina	443,0 \pm 31,44 * p < 0,001	55,94
PCPA	380,0 \pm 65,65 * p < 0,001	62,20
PCPA + 5-HTP	940,0 \pm 50,96 * p < 0,001	6,51
PCPA + TP	274,0 \pm 20,84 * p < 0,001	72,74
α -metil-p-ti- rosina	670,0 \pm 45,28 * p < 0,001	33,31
Naloxona	902,0 \pm 64,25 * p < 0,001	10,29

Tabla VIII - Influencia de diversos neuromodificadores en la actividad analgésica.

* Niveles de significación estadística -- con respecto al grupo tratado con paracetamol.

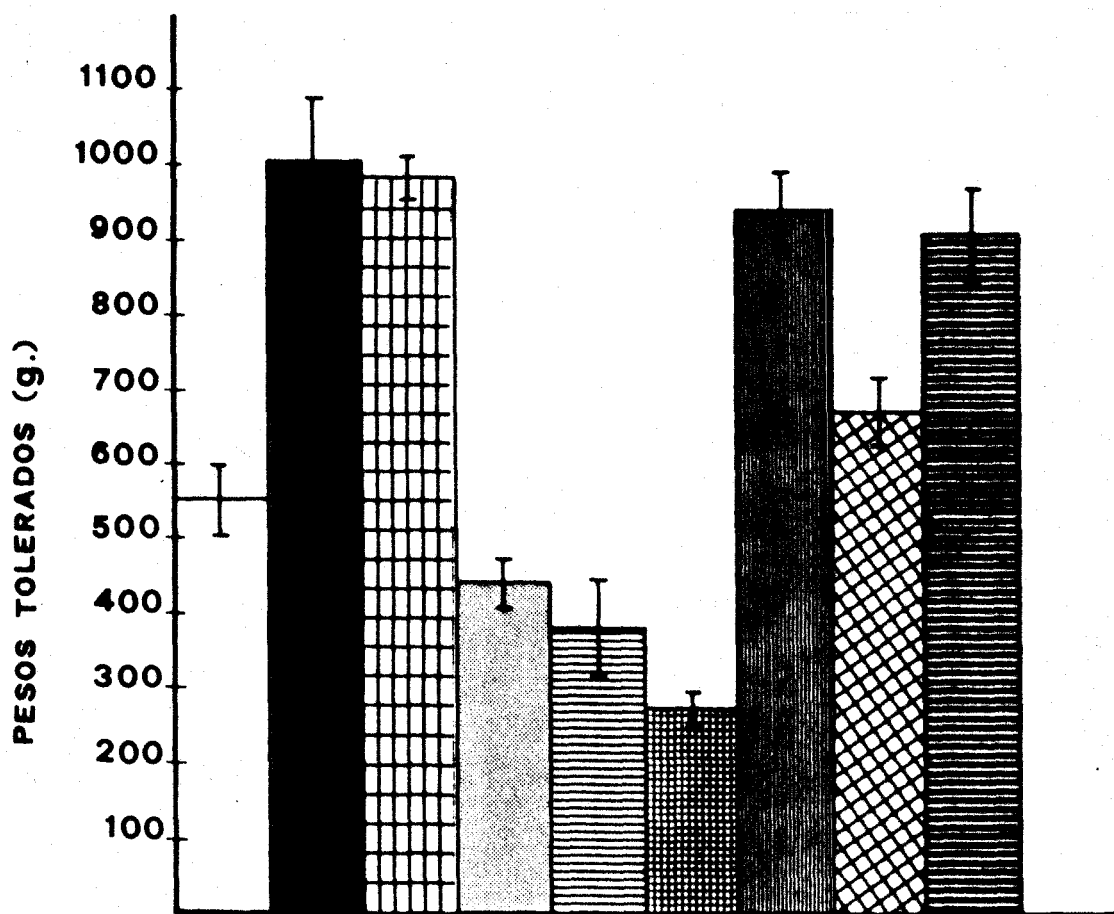
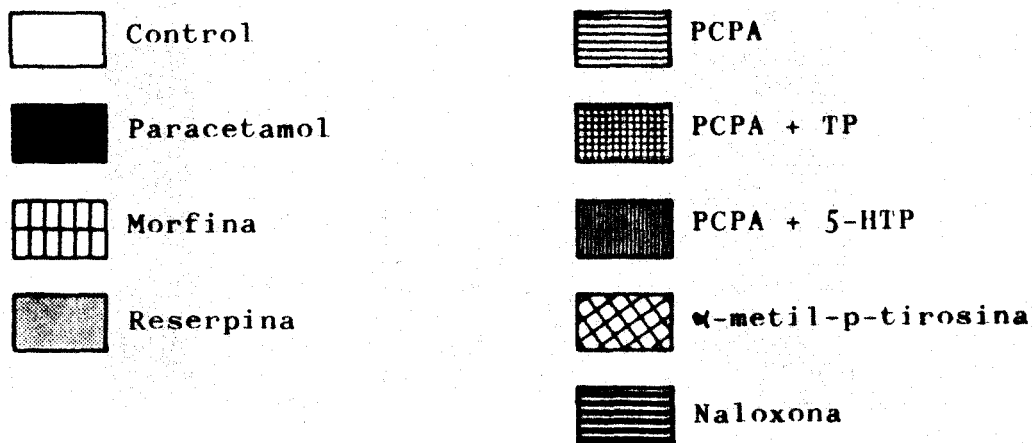


Fig. 11 - Actividad analgésica frente a un estímulo mecánico.

III.3.3.- FRENTE A UN ESTIMULO ELECTRICO.

III.3.3.1.- Desarrollo de la experiencia.

Hemos utilizado ratas Wistar macho, de peso comprendido entre 250-300 g. a las cuales se les provocó dolor según técnica descrita por D'Amour y Smith, utilizando el "Tail Flick" de Ugo Basile (78).

El aparato básicamente consiste en una fuente de I.R. que emite una energía cuya intensidad es ajustable y se enfoca mediante un espejo parabólico de aluminio a una fotocélula. Dicha energía se hace incidir sobre la cola del animal que cuando siente dolor reacciona y al desplazar la cola, la fotocélula genera un voltaje que mediante un circuito electrónico apropiado, para el contador de tiempo y desconecta la fuente de I.R. Así se determina el tiempo de reacción del animal al dolor (Fig. 12).

III.3.3.2.- Ensayos con paracetamol.

Dosis administradas:

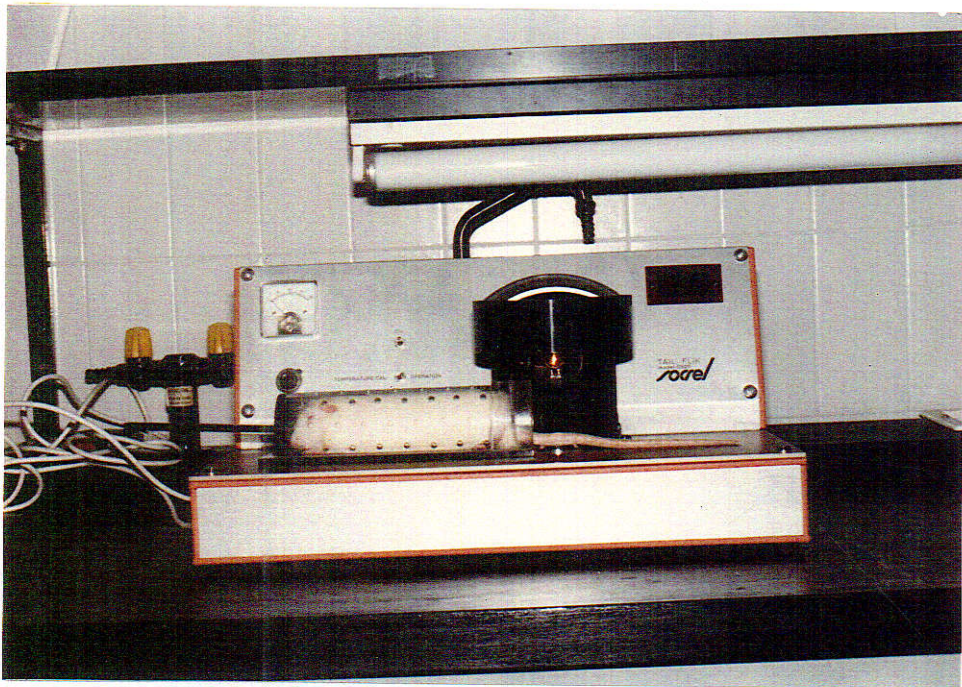


Fig. 12 - "Tail Flick" (determinación del dolor por estímulo eléctrico).

- 200 mg/Kg peso animal.
- 400 mg/Kg peso animal.

Vía de administración:

- Oral mediante sonda intragástrica.

Transcurridos 30' después de la administración - del analgésico se provocó el dolor con el Tail Flick y se midió el tiempo de respuesta frente al estímulo - - eléctrico (79)(80).

En las mismas condiciones experimentales se realizó una prueba control y otra con un patrón de morfina a una dosis de 1 mg/Kg peso animal (70).

III.3.3.2.a.- Resultados.

Los tiempos de reacción experimentados por los diferentes lotes frente al estímulo eléctrico figuran en las tablas IX y X. Se pone de manifiesto la escasa modificación del parámetro evaluado por el analgésico en estudio.

Animales	Tiempo de reacción (seg.)			
	Control	Paracetamol (200 mg/Kg)	Paracetamol (400 mg/Kg)	Morfina
1	4,5	4,9	6,7	78,4
2	5,1	5,1	6,1	65,3
3	6,1	5,7	6,9	80,2
4	5,3	5,3	7,8	37,8
5	6,2	5,7	4,7	45,8
6	5,4	8,2	9,2	38,8
7	6,0	5,0	7,5	75,7
8	4,6	4,3	8,5	48,7
9	9,5	7,0	6,8	42,5
10	6,2	12,0	5,0	60,9
	$\bar{X} = 5,89$	$\bar{X} = 6,32$	$\bar{X} = 6,92$	$\bar{X} = 57,41$
	$\sigma = 1,42$	$\sigma = 2,29$	$\sigma = 1,42$	$\sigma = 16,78$
	$\epsilon = 0,45$	$\epsilon = 0,73$	$\epsilon = 0,45$	$\epsilon = 5,31$

Tabla IX - Actividad analgésica frente a un estímulo eléctrico.

Lote	$\bar{X} \pm \xi$ Tiempo (seg.)	% Inhibición algesia
Control	5,89 \pm 0,45	-
Paracetamol (200 mg/Kg)	6,32 \pm 0,73 * n.s.	7,30
Paracetamol (400 mg/Kg)	6,92 \pm 0,45 * n.s.	17,49
Morfina	57,41 \pm 5,31 * p < 0,001	874,70

Tabla X - % de inhibición del dolor frente a un estímulo eléctrico.

* Niveles de significación estadística con respecto al grupo control.

III.3.3.2.b.- Discusión de resultados.

El dolor provocado por un estímulo eléctrico, - - prueba del "Tail Flick", no es inhibido significativa-- mente a ninguna de las dosis ensayadas de paracetamol. El umbral del dolor no se modificó en comparación con - el que experimentó la morfina.

El mecanismo de transmisión y modulación de este tipo de estímulo, es posible no sea interferido por el compuesto en estudio.

III.3.4.- FRENTE A UN ESTIMULO TERMICO.

III.3.4.1.- Desarrollo de la experiencia.

En nuestros ensayos hemos utilizado el "Hot Plate" de Ugo Basile para seguir la técnica sobre determinación del poder analgésico descrita por N.B. Eddy y D. Leimback (81) y así evaluar el tiempo de reacción de la rata colocada sobre una superficie caliente, que le sirve de agente algógeno térmico (Fig. 13).

La temperatura de la "plancha caliente" se mantuvo a lo largo de todas las experiencias en 50-55°C.

Hemos utilizado ratas Wistar macho, de peso comprendido entre 250-300 g.

Cuando el animal lame sus extremidades anteriores se anota el tiempo, pero la rata continúa en la superficie caliente hasta que salta, por tanto evaluamos dos parámetros: tiempo que tarda el animal en lamerse las patas y tiempo de salto.

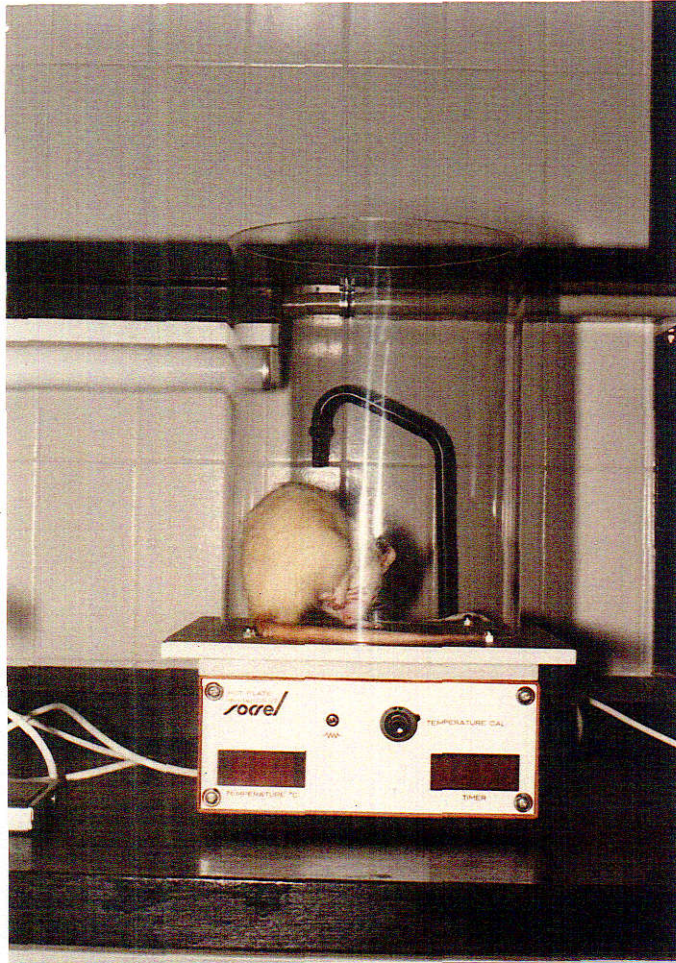


Fig. 13 - "Hot Plate" (determinación del dolor por estímulo térmico).

III.3.4.2.- Ensayos con paracetamol.

Dosis administradas:

- 200 mg/Kg peso animal.
- 400 mg/Kg peso animal.

Vía de administración:

- Oral mediante sonda intragástrica.

El paracetamol se administró en 5 cc de solución fisiológica por sonda intragástrica en animales que previamente habían sido sometidos a un ayuno de 20 h., agua "ad libitum".

Transcurridos 30' de la administración del analgésico se procedió a realizar la experiencia, según se expone en el apartado III.3.4.1., midiendo los tiempos de respuesta frente al estímulo térmico.

En las mismas condiciones experimentales se realizó una prueba control y otra con un patrón de morfina a una dosis de 1 mg/Kg peso animal (70).

III.3.4.2.a.- Resultados.

Los valores obtenidos a las dos dosis ensayadas - están recogidos en las tablas XI, XII y XIII.

Las respuestas evaluadas no se modifican significativamente en relación al lote control.

III.3.4.2.b.- Discusión de resultados.

El dolor provocado por un estímulo térmico, prueba del "Hot Plate", no es inhibido por el paracetamol - de manera significativa. Sin embargo, hay que señalar - que los dos parámetros medidos, tiempo de lamer extremidades anteriores y del salto, no se afectaron de igual forma; éste último, y de forma más marcada a la dosis - de 400 mg/Kg peso animal, se prolongó después del tratamiento con el compuesto en estudio.

Animales	Tiempo de respuesta (seg.)			
	Control	Paracetamol (200 mg/Kg)	Paracetamol (400 mg/Kg)	Morfina
1	12,0	9,0	11,0	15,3
2	20,0	19,0	14,6	10,1
3	16,0	14,0	24,5	18,0
4	18,0	17,0	11,2	14,5
5	16,0	10,0	20,0	13,7
6	17,0	13,0	15,8	18,1
7	19,0	21,0	18,1	17,3
8	12,0	14,0	16,7	10,6
9	18,0	11,0	14,3	15,3
10	13,0	13,0	11,2	10,8
	$\bar{X} = 16,10$	$\bar{X} = 14,10$	$\bar{X} = 15,74$	$\bar{X} = 14,37$
	$\sigma = 2,88$	$\sigma = 3,87$	$\sigma = 4,33$	$\sigma = 3,04$
	$\xi = 0,91$	$\xi = 1,22$	$\xi = 1,37$	$\xi = 0,96$

Tabla XI - Actividad analgesica frente a un estímulo termico (Tiempo transcurrido hasta lamerse las patas).

Animales	Tiempo de respuesta (seg.)			
	Control	Paracetamol (200 mg/Kg)	Paracetamol (400 mg/Kg)	Morfina
1	26,0	15,0	-	-
2	60,0	-	-	-
3	35,0	28,0	51,3	-
4	40,0	87,0	-	-
5	40,0	49,0	-	9,6
6	40,0	37,0	67,3	-
7	38,0	77,0	-	-
8	29,0	-	99,8	-
9	36,0	65,0	60,8	-
10	26,0	34,0	-	-
	$\bar{X} = 37,0$			
	$\sigma = 9,82$			
	$\xi = 3,11$			

Tabla XII - Actividad analgesica frente a un estímulo termico (Tiempo transcurrido hasta el salto)

(-): Animales que transcurridos 2' no saltaron.

Lote	$\bar{X} \pm \xi$ Tiempo (seg.)	% Inhibición algesia
Control	16,10 \pm 0,91	-
Paracetamol (200 mg/Kg)	14,10 \pm 1,22 * p < 0,05	-12,42 °
Paracetamol (400 mg/Kg)	15,74 \pm 1,37 * n.s.	-2,23
Morfina	14,37 \pm 0,96 * p < 0,05	-10,74

Tabla XIII - % de inhibición del dolor frente a un estímulo térmico.

* Niveles de significación estadística -- con respecto al grupo control.

IV - CONCLUSIONES

- 1ª- La actividad analgésica del paracetamol varía en --
función del agente algógeno.
- 2ª- El mecanismo de la acción analgésica frente a un es
tímulo químico, se lleva a cabo con la intervención
de sistemas serotoninérgicos. Catecolaminas y opiá-
ceos endógenos juegan un papel poco significativo.
- 3ª- Frente al dolor provocado por un estímulo mecánico,
la analgesia producida por el paracetamol implica -
la integridad de los mecanismos serotoninérgicos, -
como en el ensayo anterior. La influencia de los --
neurotransmisores adrenérgicos es menos manifiesta,
sin que tampoco exista sensible modificación de los
sistemas encefalinérgicos.
- 4ª- La transmisión y modulación del dolor ocasionado --
por estímulos térmico y eléctrico no parecen ser in
terferidas, en nuestras condiciones experimentales,
por la actividad del paracetamol.

V- BIBLIOGRAFIA

- (1) - FLOREZ, J. (1983). "Mecanismos de nocicepción y antinocicepción" en FLOREZ, J. & MARTINEZ-LAGE, J.M. "Neurofarmacología fundamental y clínica", Enusa, Pamplona, pág. 642-673.
- (2) - GUYTON, A.C. (1977). "Tratado de Fisiología Médica", - 5ª ed., Interamericana, Madrid, pág. 664.
- (3) - FERREIRA, S.H. & VANE, J.R. (1974). "New aspects of the mode of action of nonsteroid anti-inflammatory drugs", Ann. Rev. Pharmacol., 14: 57-73.
- (4) - HANDWEKER, H.O. (1976). "Influences of algogenic substances and prostaglandins on the discharges of on myelinated cutaneous nerve fibers identified as nociceptors" en Advances in Pain research and Therapy, Raven-Press, New-York, pág. 41-45.
- (5) - LANDS, W.E. (1981). "Actions of antiinflammatory drugs", Trends. Pharmacol. Sci., 2: 78-80.
- (6) - WALL, P.D. (1982). "La relación crónica entre lesión y dolor", Simposio Internacional del dolor, Madrid.
- (7) - FLOREZ, J. (1982). "Bases morfológicas y funcionales de la transmisión del dolor", XIX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas, Málaga.
- (8) - FLOREZ, J. (1981). "Fármacos analgésicos opiáceos", en Perspectivas terapéuticas. Sistema Nervioso Central, Fundación García Muñoz, Valencia, pág. 396.

- (9) - REYNOLDS, D.V. (1969). "Surgery in the rat during electrical analgesia induced by focal brain stimulation", *Science*, 164: 444-445.
- (10) - OLIVERAS, J.L.; SIERRALTA, F.; FARDIN, V. (1978). -- "Implication des systèmes serotoninérgiques dans l'analgésie induite par stimulation électrique de certaines structures du tronc cérébral", *J. -- Phisiol.* 77: 473-482.
- (11) - BASBAUM, A.I. & FIELDS, H.L. (1978). "Endogenous -- pain control mechanisms review and hypothesis", *Amm. Neurol.* 4: 451-462.
- (12) - FIELDS, H.L. & BASBAUM, A.I. (1978). "Brainstem -- control of spinal pain-transmission neurons", -- *Ann. Rev. Physiol.* 40: 217-248.
- (13) - FLOREZ, J. (1978). "Sitios y mecanismos de la --- acción analgésica de la morfina", *Anal. R. Acad. Med. Cir. Valladolid*, 16: 186-205.
- (14) - DELGADO, J.M. (1982). "Mecanismos centrales inhi- bidores del dolor", *Simposio Internacional del - dolor*, Madrid.
- (15) - WATKINS, L.R. & MAYER, D.J. (1982). "Organization of endogenous opiate and monopiate pain control systems", *Science*, 216: 1189-1192.
- (16) - DEL RIO, J. (1982). "Mecanismos opiáceos de con--- trol del dolor". XIX Congreso Nacional de la --- Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas", Má-

laga, pág. 15-17.

- (17) - MESSING, R.B. & LYTLE, L.D. (1977). "Serotonin-containing neurons: their possible role in pain and analgesia", *Pain*, 4: 1-21.
- (18) - ZEMLAW, F.P.; CORRIGAN, S.A.; PFAFF, D.W. (1980). -- "Noradrenergic and serotonergic mediation of spinal analgesia mechanisms", *Eur. J. Pharmacol*, 61: 111-124.
- (19) - HENRY, J.L. (1980). "Substance P and pain; an updating", *Trends. Neurosci.* 3: 95-97.
- (20) - MILLER, R.J. (1981). "Peptides as neurotransmitters: focus on the enkephalins and endorphins", *Pharmac. Ther.* 12: 73-108.
- (21) - UHL, G.R. & SNYDER, S.N. (1981). "Neurotension" - en "Neurosecretion and brain peptides", Raven -- Press, New York, págs. 87-106.
- (22) - UHL, G.R.; GOODMAN, R.R.; KUAR, M.J. & SNYDER, S.H. (1979). "Immunohistochemical mapping of enkephalin containing cell bodies, fibers and nerve terminals", *Brain Res.*, 166: 75-94.
- (23) - YAKSH, T.L. (1981). "Spinal opiate analgesia: characteristics and principles of action", *Pain*, 11: 293-346.
- (24) - RUDA, M.A. (1982). "Opiates and pain pathways demonstration of enkephalin synapses on dorsal --- horn projection neurons", *Science*, 215: 1523-25.

- (25) - TAKAGI, H. (1980). "The nucleus reticularis paragigantocellularis as a site of analgesic action of morphine and enkephalin", *Trends. Pharmacol.-Sci.* 1: 182-184.
- (26) - DENNIS, S.G. & MELZACK, R. (1980). "Pain modulation by 5-hydroxytryptaminergic agents and morphine as measured by three pain tests", *Exp. Neurol.* 69: 260-270.
- (27) - DENNIS, S.G.; MELZACK, R. & BOUCHER, F. (1980). "Pain modulation by adrenergic agents and morphine as measured by three pain tests", *Life Sci.* 26: 47-59.
- (28) - ALAMO, C. (1982). "Control biológico del dolor. Péptidos no opiáceos", XIX C.N. de la sociedad Española de Ciencias Fisiológicas, Málaga, págs. 18-22.
- (29) - FUENTES, J.A.; DEL RIO, J. & FLOREZ, J. (1983). "Neurotransmisión por péptidos" en "Neurofarmacología Fundamental y Clínica", Enusa, Pamplona, págs. 591-641.
- (30) - DEL RIO, J. & GARZON, J. (1981). "Neurotransmisión no adrenérgica en el SNC. I: Aminas", en ESPLUGUES, J. "Prespectivas terapéuticas con su fundamento farmacológico. Vol. V SNC", 2ª ed., Fundación Gª Muñoz, Valencia, págs. 47-73.
- (31) - HARVEY, J.A. & GAL, E.M. (1974). "Septal tryptophan-5-hydroxylase: divergent response to raphe lesions and parachlorophenylalanine", *Science*,

183: 869-871.

- (32) - DAHLSTROM, A. & FUXE, K. (1964). "Evidence for de existence of monoamine containing neurons in the central nervous system. I. Demostration of monoa mines in the cell bidies of brain stem neurons", Acta Physiol. Scand., vol. 62, Supp. 232:340-373.
- (33) - UNGERSTEDT, U. (1971). "Stereotaxic mapping of -- the monoamine pathways in the rat brain", Acta - Physiol. Scand., Suppl. 367: 523-562.
- (34) - BLOOM, F.E.; HOFFER, B.J.; SIGGINS, G.R.; BARKER, J. L. & NICOLL, R.A. (1972). "Effects of serotonin - on central neurons: microiontophoretic adminis-- tration", Federation Proc., 31: 97-106.
- (35) - APRISON, M.H. & HINGTGEN, J.N. (1972). "Serotonin and behavior: a brief summary. Federat. Proc., 31: 121-129.
- (36) - VIGOURET, J.M. (1983). "Neurotransmisores", Sandoz S.A., Basilea.
- (37) - TENEN, S.S. (1967). "The effects of p-chlorophe-- nylalanine, a serotonin depletor, on avoidance - acquisition, pain sensitivity and related beha-- vior in the rat", Psychopharmacologia, 10: 204-219.
- (38) - GOTH, A. (1979). "Farmacología médica: Principios y conceptos", 9ª ed., Doyma S.A., Barcelona, pág 198-199.

- (39) - CONTRERAS,E.; TAMAYO,L. & WEITZMAN,P. (1970). --
"Reduction of de antinociceptive effect of 5-hydroxytryptophan in morphine tolerant rats", *Psychopharmacologia*, 17: 314-319.
- (40) - SAMANIN,R.; GUMULKA,W. & VALZELLI,L. (1970). "Reduced effect of morphine in midbrain raphe lesioned rats", *European J. Pharmacol.*, 10: 339-343.
- (41) - FLOREZ,J.; ARMIJO,J.A. (1975). "La actividad de los sistemas serotoninérgicos en el SNC", Sandoz - S.A.
- (42) - KOE,B.K. & WEISSMAN,A. (1966). "p-chlorophenylalanine, a specific depletor of brain serotonin", *J.Pharmacol. Exptl. Ther.*, 154, 499.
- (43) - BARTHOLINI,G.; DA PRADA,M. & PLESCHER,A. (1968). "Decrease of cerebral 5-hydroxytryptamine by --- 3,4-dihydroxyphenylalanine after inhibition of - extracerebral decarboxylase", *J. Pharm. Pharmac.* 20: 228-229.
- (44) - DOUGLAS,W.W. (1981). "Histamina y 5-hidroxitriptamina (serotonina) y sus antagonistas" en GOODMAN & GILMAN. "Las bases farmacologicas de la terapeutica", 6ª ed., Panamericana, pág. 604-639.
- (45) - COSTA,E. & REVUELTA,A. (1972). "p-chloroamphetamine and serotonin turnover in rat brain", *Neuropharmacology*, 11: 291-295.

- (46) - BUTCHER,L.L.; ENGEL,J. & FUXE,K. (1970). "L-dopa induced changes in central monoamine neurons after peripheral decarboxylase inhibition", J. --- Pharm. Pharmac., 22: 313-315.
- (47) - DAY,M. (1981). "Farmacología del SNA", El Manual Moderno, Méjico, pág. 243.
- (48) - SANCHEZ GARCIA,P. & ESQUERRO GOMEZ,E. (1979). -- "Fármacos bloqueantes adrenérgicos" en LORENZO - VELAZQUEZ,B., "Farmacología y su proyección a la clínica", 14ª ed., Oteo, Madrid, pág. 165-181.
- (49) - SNYDER,S.H. (1975). "Catecolaminas, función cerebral y el modo de acción de los fármacos psicotrópicos" en CLARK,W.G. & GIUDICE,J. del, "Principios de psicofarmacología", Prensa Mexicana, - México, pág. 137-149.
- (50) - MARTINEZ SIERRA,R.; BALLESTEROS MORENO,E. & SANZ SANCHEZ,F. (1979). "Autacoides", en LORENZO VE-- LAZQUEZ,B., "Farmacología y su proyección a la - clínica", 14ª ed., Oleo, Madrid, pág. 223-251.
- (51) - ESPLUGUES,J. (1983). "Perspectivas terapeuticas con su fundamento farmacologico. Neurotransmisores autacoides", 3ª ed., Fundación García Muñoz, pág. 116-141.
- (52) - LORENZO VELAZQUEZ,B. (1970). "Terapeutica con -- sus fundamentos de farmacología experimental. Vol. I", 11ª ed., Cientifico-Médica, pág 402.

- (53) - PATON, D.M. (1980). "Neuronal transporte of dopamine and noradrenaline", *Pharmacology*, 21: 85-92
- (54) - SMITH, A.D. (1972). "Subcellular localization of noradrenaline in sympathetic neurons", *Pharmacol Rev*, 24: 435-462.
- (55) - UNGERSTEDT, V. (1971). "Stereotaxic mapping of -- the monoamine pathways in the rat brain", *Acta - Physiol. Scand.*, 82, (Suppl. 367): 1-48.
- (56) - FORN, J. (1981). "Mecanismos de neurotransmisión adrenérgica en el SNC", en ESPLUGUES, J. "Perspectivas terapéuticas con su fundamento farmacológico. Vol. V. SNC", 2ª ed., pág. 28-46.
- (57) - WEINER, N. (1981). "Noradrenalina, adrenalina y - aminas simpaticomiméticas", en GOODMAN & GILMAN "Las bases farmacológicas de la terapéutica", 6ª ed., Panamericana, pág. 150-186.
- (58) - AXELROD, J. (1977). "Catecholaminergic systems in the brain", *Acta Neurol. Scand.*, 56: 85-89.
- (59) - BOWMAN, W.C. & RAND, M.J. (1984). "Farmacología. - Bases bioquímicas y patológicas. Aplicaciones -- clínicas", Interamericana, México, cap. 11.
- (60) - LITTER, M. (1980). "Farmacología", 6ª ed., Ateneo Buenos Aires, pág. 517.
- (61) - SERVEI DE FARMACIA. HOSPITAL DE LA SANTA CREU I - SANT PAU. (1981). "Actualització Farmàcia. Anal-

gésicos antipiréticos derivados del para-amino-
fenol", Sant Pau, Vol. 2, nº 1.

- (62) - "The United States Pharmacopeia. Official from -
January 1, 1985", 21 st revision Rockville (MD),
United States, Pharmacopeial Convention, (s.a.:
1984), pág. 11.
- (63) - BURCHES,R.; BRAGE,R.; ESPLUGUES,J.V.;MARTI,M.; -
ESPLUGUES,J. (1983). "Estudio de la acción anal-
gésica, antiinflamatoria y antipirética de una -
asociación de paracetamol + oxifenbutazona", II
Reuniao Luso Espanhola de Farmacología, Coimbra.
- (64) - KOROLKOVAS,A. & BURCKHALTER,J.H. (1978). "Compen-
dio esencial de química farmaceutica", Reverté -
S.A., pág. 342.
- (65) - FLOREZ,J.; ARMIJO,J.A.& MEDIAVILLA,A. (1980). --
"Compendio de Farmacología humana", 2ª ed., Eun-
sa, Pamplona, pág. 180.
- (66) - DELGADO,J.M. (1982). "Mecanismos centrales inhi-
bidores del dolor", Simposio Internacional del -
dolor, Madrid, pág. 51-70.
- (67) - Loc. Cit. (65), pág. 194.
- (68) - KOSTER,R. & colabs. (1959). "Acetic acid for ---
analgesic screening", Fed. Proc., 18: 412.
- (69) - VERICAT,F.; CADESAS,A.; IGUAL & GIRALT,J. (1979)
"Estudio comparativo de la actividad de LC-R 505

frente a otros antiinflamatorios", Arch. de Farmacol. y Toxicol. V: 259-261.

- (70) - ALAMO,C.; SERRANO,M.I.; ARAGON,A. & CUENCA,F. -- (1979). "Neuromodulación aminérgica y acción antinociceptiva de la morfina y de la TRH", Arch. de Farmacol. y Toxicol. V: 172-176.
- (71) - PIÑA,M. & ARMIJO,M. (1978). "Estudios de los --- efectos antiinflamatorios y analgésicos del ete- rilato, benorilato y ácido acetilsalicílico", -- Arch. de Farmacol. y Toxicol. IV: 183-186.
- (72) - ALAMO,C.; ARIAS,A. & CUENCA,E. (1981). "Interven- ción de mecanismos serotoninérgicos en la acción analgésica del TRH", Arch. de Farmacol. y Toxi-- col. VII: 39.
- (73) - CUENCA,E.; SERRANO,M.I.; GIBERT-RAHOLA,J.; CA--- RRASCO,M.S. & ESTEBAN,M.J. (1978). "Estudio de - la actividad analgésica de la TRH y del MIF", -- Arch. de Farmacol. y Toxicol., 71-76.
- (74) - FUENTES,J.A.; FERNANDEZ,M. & NARANJO,J.R. (1984) " -endorphin an additional key to understand -- the antihypertensive action of clonidine analo-- gos", 9 TH, International Congress of Pharmacology, London.
- (75) - RANDALL,L.O. & SELITTO, J.J. (1957). "A method - for measurement of analgesic activity on infla-- med tissue", Arch. Int. Pharmacodyn. 111: 409- 414.

- (76) - WINTER, S.A.; RISLEY, R.A. & NUSS, G.M. (1962). - "Carrageenin-induced oedema in hind paw of the rat as assay for antiinflammatory drugs", Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 544-549.
- (77) - VERICAT, F.; CADESAS & IGUAL, A. (1978). "Estudio de la actividad analgésica de un preparado para uso tópico", Arch. de Farmacol. y Toxicol. IV: - 159-160.
- (78) - D'AMOUR, F.E. & SMITH, D.L. (1941). "A method for determining loss of pain sensation", J. Pharmacol. Exp. Ther. 72: 74-79.
- (79) - DENNIS, S.G. & MELZACK, R. (1979). "Pain modulation by 5-hydroxytryptaminergic agents and morphine as measured by three pain tests", Exp. Neurol., 69: 260-270.
- (80) - ABBOTT, F.V.; MELZACK, R. & SAMUEL, CH. (1982). --- "Morphine analgesic in the tail-flick and formalin pain tests is mediated by different neural systems", Exp. Neural., 75: 644-651.
- (81) - NATHAN, B.; EDDY, & DOROTH. (1953). "Synthetic -- analgesics II Dithienylbutenyl and dithienylbutylamines", J. Pharmacol. Exp. Ther., 107: 385-393.