

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA,

PEDIATRIA Y RADIOLOGIA

T. D.
5/89
UNIVERSIDAD DE SEVILLA
SECRETARIA GENERAL

Queda registrada esta Tesis Doctoral
al folio 219 número 99 del libro
correspondiente a 29 SET. 1992
Sevilla:

El Jefe del Negociado de Tesis.

Alvaro Lauffe

**ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA
DE UNOS NUEVOS DERIVADOS
IMIDAZOLICOS Y OXAZOLICOS DE SINTESIS**

TESIS DOCTORAL PRESENTADA POR:

JOSE MARIA SANCHEZ-CARRASCO CONRADI

SEVILLA, 1.992



UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE
FARMACOLOGÍA, PEDIATRÍA Y RADIOLOGÍA
AVDA. SÁNCHEZ PIJZUÁN, 4
41009 SEVILLA
TELÉFONO Y FAX (95) 437 05 78

D. JOSE S. SERRANO MOLINA, Doctor en Medicina y Cirugía, Catedrático de Farmacología y Director del Dpto. de Farmacología, Pediatría y Radiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla.

Dña M^a ISABEL SERRANO MOLINA, Doctora en Medicina y Cirugía, Profesora Titular del Departamento de Farmacología, Pediatría y Radiología (Area de Farmacología) de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla.

C E R T I F I C A N :

Que D. JOSE M^a SANCHEZ-CARRASCO CONRADI, Licenciado en Medicina y Cirugía, ha realizado bajo su tutela y dirección el trabajo " ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DE UNOS NUEVOS DERIVADOS IMIDAZOLICOS Y OXAZOLICOS DE SINTESIS" que consideramos satisfactorio para optar al grado de Doctor.

X

Sevilla, 13 de Julio de 1.992

Prof. D. José S. Serrano Molina

Prof^a. M^a I. Serrano Molina

Doctorando: José M^a. Sánchez-Carrasco Conradi



R. 19514

ANEXO 14

IMPRESO DE PRESENTACION DE LA TESIS DOCTORAL

APELLIDOS SANCHEZ-CARRASCO CONRADI NOMBRE JOSE MARIA
(Anterior al R.D. 185/1985 del 23
PROGRAMA DE DOCTORADO FARMACOLOGIA de Enero de 1985).

DEPARTAMENTO EN QUE HA REALIZADO LA TESIS FARMACOLOGIA, PEDIATRIA
Y RADIOLOGIA

ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DE UNOS NUEVOS DERIVADOS
TITULO DE LA TESIS VADOS IMIDAZOLICOS Y OXAZOLICOS DE SINTESIS.

D./DÑA José S. Serrano Molina y D^a M^a Isabel Serrano Molina

del Departamento de Farmacología, Pediatría
y Radiología

, como Director ^{es} de la Tesis de referencia autoriza su presentación.

Firma:

Sevilla 13 de Julio de 1992

D./DÑA José S. Serrano Molina y D^a M^a Isabel Serrano Molina

del Departamento de Farmacología, Pediatría y
Radiología

, como Director de la Tesis/Tutor ⁽²⁾ del alumno de referencia autoriza su presentación.

Firma:

Sevilla 13 de Julio de 1992

El Departamento de Farmacología, Pediatría y Radiología

15-07-92

con fecha autoriza la presentación de la Tesis de referencia.



El Director del Departamento

Firmado: José S. Serrano Molina

Sevilla 15 de 07 de 1992

(1) Catedrático, Profesor Titular, Catedrático E.U., etc.
(2) Táchese lo que no proceda. Este apartado se rellenará sólo en el caso de ser dos los Directores de Tesis, o de que el Director de la Tesis no sea Profesor del Departamento responsable.

A Pastora.

A mis hijos.

A mi padre " in memoriam " .

Deseo expresar mi agradecimiento :

Al Prof. Dr. D. José S. Serrano Molina, por su apoyo, ayuda y dirección en la elaboración de esta Tesis Doctoral.

A la Prof. Dra. María Isabel Serrano Molina, por su amistad, confianza y dedicación en la dirección del estudio.

Al Prof. Dr. D. Francisco J. López Valpuesta, por su colaboración desinteresada en los aspectos informáticos.

A la Prof. Dra. Ana Fernández Palacín, de la Unidad de Bioestadística del Departamento de Ciencias Socio Sanitarias, por su ayuda inestimable y desinteresada en el tratamiento estadístico de los datos.

A la Dra. Rosa M. Ruiz de Valderas, por su cordial apoyo.

A los Profs. Dr. José Fuentes Mota, Dra. M. Angeles Pradera y Dr. José M. García, del Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Química de la Universidad de Sevilla, por su generosa contribución al desarrollo de esta Tesis Doctoral.

A la Sección de Anatomía Patológica del Instituto de Toxicología de Sevilla.

A la Srta. Regla Vera Guerrero, secretaria de nuestro Departamento, por su colaboración.

A resto de los compañeros del Area de Farmacología < Departamento de Farmacología, Pediatría y Radiología >, por su compañerismo.

INDICE

	<u>PAG</u>
INTRODUCCION	1
1.1. TIPOS DE DOLOR.....	8
1.2. INTENSIDAD DEL DOLOR.....	9
1.3. BASES ANATOMICAS DEL DOLOR.....	10
1.3.1. TEORIA DE LA BARRERA.....	15
1.3.2. LOCALIZACION Y POSIBLE FUNCION DE LOS RECEPTORES OPIOIDES.....	16
1.3.3. ANALGESIA PRODUCIDA POR ESTRES.....	18
1.4. EVOLUCION HISTORICA DE LA TERAPEUTICA ANTIDOLOROSA.	20
1.5. UTILIZACION DE ANIMALES PARA LA INVESTIGACION BIOMEDICA.....	24
1.5.1. LEGISLACION SOBRE EXPERIMENTACION ANIMAL....	26
1.6. METODOS UTILIZADOS PARA LA VALORACION DE LA NOCICEPCION EXPERIMENTAL.....	34
1.6.1. TESTS QUIMICOS.....	36
1.6.2. TESTS MECANICOS.....	39
1.6.3. TESTS TERMICOS.....	40
1.6.4. TEST ELECTRICOS.....	45
1.6.5. PRUEBAS COMPLEMENTARIAS.....	47
- VALORACION DE LA ACTIVIDAD MOTORA.....	47

- VALORACION DE LA COORDINACION MOTORA.....	47
1.6.6. TESTS DE COMPORTAMIENTO.....	49
- TEST DE LA CHIMENEA.....	49
- TEST DE LA TRACCION.....	50
- BARRA FIJA.....	50
- PLANCHE A TROUS O SUPERFICIE PERFORADA....	50
1.7. FARMACOS ANALGESICOS. MECANISMO DE ACCION.....	52
1.7.1. ANALGESICOS MENORES, ANTITERMICOS, AINEs....	53
1.7.2. FARMACOS ANLGESICOS OPIACEOS.....	59
- APLICACIONES CLINICAS.....	61
- MORFINA.....	63
1.7.3. OTROS FARMACOS ANALGESICOS.....	67
1.7.4. TECNICAS PSICOLOGICAS UTILIZADAS EN EL TRATAMIENTO DEL DOLOR.....	70
- PSICOTERAPIA.....	70
- HIPNOSIS.....	72
- ACUPUNTURA.....	72
1.8. ESTUDIO DE LAS SUSTANCIAS ENSAYADAS.....	74
1.8.1. 2-AMINO-5-TERT-BUTIL-2-OXAZOLINA (ATBO).....	74
1.8.2. 1-FENIL-IMIDAZOLINA-2-TIONA (FIT).....	77
1.8.3. NALOXONA.....	80



1.8.4. METAMIZOL.....	83
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS.....	86
MATERIAL Y METODOS.....	94
3.1. ANIMAL DE EXPERIMENTACION.....	95
3.1.1. ALIMENTACION.....	96
3.2. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DE LAS SUSTANCIAS MOTIVO DE ESTUDIO.....	99
3.2.1. ATBO Y METAMIZOL. TEST DEL ACIDO ACETICO....	99
3.2.2. ATBO Y METAMIZOL. PLANCHA CALIENTE.....	100
3.2.3. ATBO Y METAMIZOL. TAIL-FLICK.....	102
3.2.4. ESTUDIO DE LA MEDIACION OPIACEA EN LA ACCION ANTINOCICEPTIVA DEL ATBO.....	104
3.2.5. FIT Y METAMIZOL. TEST DEL ACIDO ACETICO....	106
3.2.6. FIT Y METAMIZOL. PLANCHA CALIENTE.....	106
3.2.7. TESTS COMPLEMENTARIOS.....	107
- ACTIVIDAD MOTORA.....	108
- COORDINACION MOTORA.....	108
3.3. TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS DATOS.....	110
3.4. SUSTANCIAS EMPLEADAS.....	112
RESULTADOS.....	113
4.1. TESTS QUIMICOS.....	114

4.1.1. CONTORSIONES INDUCIDAS POR ACIDO ACETICO	
EN EL RATON.....	114
- ATBO.....	114
- METAMIZOL.....	115
- ATBO VS. METAMIZOL.....	116
- ASOCIACION METAMIZOL Y ATBO (DE50).....	117
- ASOCIACION MORFINA Y ATBO (DE50).....	117
- ANTAGONISMO POR NALOXONA.....	118
- FIT.....	119
- FIT VS. METAMIZOL.....	120
4.2. TESTS FISICOS: BATERIAS DE TESTS TERMICOS.....	121
4.2.1. TEST DE LA PLANCHA CALIENTE EN EL RATON.....	121
- ATBO.....	121
- METAMIZOL.....	122
- ATBO VS. METAMIZOL.....	122
- ASOCIACION MORFINA Y ATBO (DE50).....	123
- ANTAGONISMO POR NALOXONA.....	125
- FIT.....	125
4.2.2. TEST DE LA RETIRADA DE LA COLA EN LA RATA	
(TAIL-FLICK).....	126
- ATBO.....	126

- METAMIZOL.....	127
- ATBO VS. METAMIZOL.....	128
4.2.3. TESTS COMPLEMENTARIOS.....	129
- ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD Y COORDINACION MOTORAS.....	129
FIGURAS Y TABLAS.....	131
DISCUSION.....	176
CONCLUSIONES.....	187
RESUMEN.....	190
BIBLIOGRAFIA.....	193

INTRODUCCION

El dolor ha sido una de las preocupaciones más importantes del hombre. Los testimonios en cuanto a la omnipresencia del dolor, se encuentran al estudiar la historia de cualquier raza o civilización. Este problema, que en algún momento de nuestra vida nos atañe a todos, ha intentado ser explicado desde diversos puntos de vista : filosófico, religioso y científico.

No obstante, el dolor sigue ocupando " un lugar capital en la vida del hombre, en su sentir, en su vivir, en su destino, en el sentido que este destino tiene " (1).

Prácticamente aún no hay una caracterización precisa que defina esa realidad que llamamos dolor, fluctuando desde considerarla como algo completamente introspectivo, y por lo tanto difícilmente accesible desde el exterior, a tener en cuenta exclusivamente aquellos aspectos externos que ponen de relieve que el paciente sufre dolor.

Los diferentes autores que se ocupan del tema, señalan las dificultades que existen para definir el término dolor. Así Piulachs dice tajantemente : " es imposible definir el dolor " (2).

Si estudiamos el dolor desde el punto de vista biológico

estricto, muchas de las dificultades filosóficas del concepto de " dolor " tienden a desaparecer. El Diccionario de Ciencias Médicas de 1884, saluda como un gran avance la segregación propuesta por Georget del " dolor moral ", reservando el concepto de dolor, exclusivamente a las " impressions sentiers sur les extrémités et sur les troncs des nerves ".

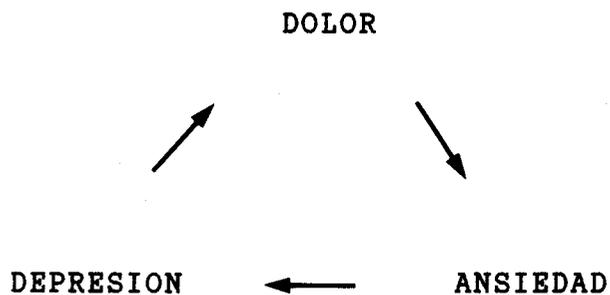
El dolor constituye una señal de alarma para la protección de los seres vivos, frente a los agentes lesivos del medio ambiente. Es la queja más común que motiva a los pacientes a solicitar cuidados médicos. La literatura está repleta de ensayos y tratados filosóficos centrados en personajes con dolor.

Existen diferencias entre el dolor agudo y crónico tanto en la conducción, respuesta autonómica, valoración biológica del humor, como en los efectos sociales y tratamientos apropiados.

El dolor, en especial el crónico, es uno de los problemas sociales más importantes en la actualidad, tanto por las consecuencias económicas que supone, como por el sufrimiento personal que conlleva a cada paciente. La cronicidad del dolor puede llevar al paciente a un estado depresivo, temeroso, irritable, preocupado somáticamente y errático en la búsqueda de

su alivio (3).

La cronicidad desempeña un papel importante en las alteraciones psicológicas que presentan los pacientes. Entre éstas se encuentra la angustia, la ansiedad y especialmente verdaderos cuadros depresivos. Esta sintomatología psíquica puede ser el inicio de un círculo vicioso en el que el dolor provoca un cuadro de angustia y ansiedad que puede conducir a un cuadro depresivo, el cual a su vez aumenta el dolor, cerrando el círculo (4).



Mientras que el dolor agudo proporciona habitualmente al individuo un aviso en cuanto a que existe algún tipo de disfunción, lo que le impulsa a buscar el consejo del médico, en muchos casos es nocivo para el organismo. Así, si no se suprime con prontitud, tanto el dolor post-operatorio y traumático como el del infarto de miocardio y las respuestas reflejas que lo acompañan a menudo, dan lugar, entre otras, a importantes alteraciones respiratorias y circulatorias.

Por otro lado, la cronificación del cuadro álgico supone para el paciente, la familia y la sociedad, un importante estrés tanto desde el punto de vista emocional como del físico, económico y sociológico.

En 1979, el Comité de Nomenclatura de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor dio a conocer una bien aceptada definición de este fenómeno : " Experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a daño tisular actual ó potencial " (5).

Hasta el año 1970 no se demostró la existencia de endorfinas humanas y receptores opioides estereoespecíficos (6). Estos sistemas endógenos de control del dolor sirven para proporcionar una protección contra el dolor agudo más que

contra el dolor de tipo crónico.

El dolor es una experiencia desagradable, y posee un papel protector de tal forma que siempre que un tejido es lesionado, obliga al individuo a reaccionar de forma refleja para suprimir el estímulo doloroso. En otras palabras es una experiencia subjetiva determinada por la compleja interacción de factores biológicos y sociales.

Como existen diferencias cualitativas y cuantitativas de las sensaciones que llamamos dolorosas, es difícil apreciar que la actividad neural asociada con el dolor (al igual que con otros sistemas sensoriales), pueda ser modulada por un amplio rango de experiencias del comportamiento.

El dolor es más que una experiencia sensorial visible, una advertencia de peligro. La extraordinaria plasticidad del dolor humano sugiere que deben existir mecanismos neurales debido a la forma de transmisión del dolor y la reacción emocional del organismo.

El dolor se puede modificar por fármacos, acupuntura y cirugía, pero también puede ser alterado por situaciones como la alegría del parto, miedo al odontólogo, estrés, hipnotismo y muchas otras formas de estimulación y ritual.

El farmacólogo debe abordar la problemática del dolor no sólo desde el punto de vista del tratamiento, sino analizando los mecanismos básicos a través de los cuales los analgésicos alivian este síntoma. Actualmente disponemos de fármacos, conocimientos y tecnología que permiten un tratamiento efectivo del dolor severo en muchos pacientes, pero hay una necesidad imperiosa de educación directa tanto a profesionales de la salud como a pacientes sobre el uso apropiado de los analgésicos (7).

Sin embargo, existen muchos objetivos farmacológicos para agentes potencialmente analgésicos que no están siendo explotados por los analgésicos disponibles, es particularmente alentador tener en cuenta que existen objetivos útiles fuera del sistema nervioso central, además del sistema de las prostaglandinas, que ofrecen la oportunidad de desarrollar agentes más efectivos para el dolor inflamatorio (8).

Tipos de dolor

El dolor se ha clasificado en tres tipos diferentes : dolor punzante, quemante y continuo.

- punzante : se percibe cuando es pinchada la piel con una aguja o es cortada por un cuchillo.
- quemante : se experimenta al quemarse la piel.
- continuo : de ordinario no se percibe en la superficie del cuerpo , se trata de un dolor profundo que causa diversos grados de molestia. El dolor continuo, de poca intensidad, en zonas amplias de la economía puede sumarse constituyendo a veces una sensación muy desagradable.

En 1973 tuvo lugar en Seattle un Symposium Internacional sobre el dolor y se constituyó la I.A.S.P. (International Association for the Study of Pain) (9). El subcomité de taxonomía de la I.A.S.P. dio la siguiente clasificación :

- 1 - Genético o congénito.
- 2 - Post-traumático, post-quirúrgico, quemados.
- 3 - Infeccioso, inflamatorio.

- 4 - Metabólico.
- 5 - Degenerativo, mecánico.
- 6 - Disfuncional.
- 7 - Psicológico.
- 8 - Neoplásico.
- 9 - Origen desconocido.

Intensidad del dolor

El aumento en la intensidad de un estímulo que origina una diferencia perceptible en el grado del dolor, recibe el nombre de diferencia apenas perceptible, Just Noticeable Difference (J.N.D.). Aplicando todas las intensidades diferentes de estímulos entre el nivel en que no hay dolor en absoluto, y el nivel de dolor más intenso, se ha podido comprobar que el paciente medio puede distinguir aproximadamente 22 J.N.D. (10).

BASES ANATOMICAS DEL DOLOR (11).

La información relativa al dolor se transmite por los receptores más pequeños morfológicamente diferenciados en la piel : las terminaciones nerviosas libres. Como todas las neuronas implicadas en sensaciones somáticas, los cuerpos celulares de las neuronas de la aferencia primaria del dolor, están localizados en los ganglios de la raíz dorsal. Algunos de estos cuerpos celulares poseen axones mielínicos, otros amielínicos.

Muchas de las terminaciones nerviosas se pueden activar más eficazmente por presión mecánica o por calor extremo. Esto es particularmente cierto para las fibras A delta que son mielínicas, con un diámetro de 1,4 micras y una velocidad de conducción de 5 - 30 metros/segundo. La activación de estos nociceptores se asocia con sensaciones de dolor cortante y punzante, siendo excitadas primariamente por estímulos térmicos y mecánicos.

Las fibras del tipo B difieren de las fibras más delgadas del tipo A solamente por el hecho de que no presentan

un potencial ulterior negativo después de la estimulación, pero también son mielínicas.

Las regiones terminales de las fibras C, cuyos axones son amielínicos, con un diámetro de 0,2 - 1,2 micras y con una velocidad de conducción baja (0,5 - 2 metros/segundo), son activadas por una liberación química en el líquido extracelular como resultado de un daño tisular, así como una estimulación térmica de alta intensidad (> 45 grados C). Estos tres tipos se denominan **RECEPTORES POLIMODALES**.

De este modo, el dolor es, en parte causado por quimiorreceptores. Extractos de tejidos lesionados producen intenso dolor cuando son inyectados en la piel sana. Varias sustancias causan dolor cuando son inyectadas en la piel (histamina, bradiquinina, serotonina, acetilcolina, potasio, siendo éste de particular interés ya que existe una correlación entre la intensidad del dolor y la concentración local de potasio).

La respuesta neuronal a estímulos químicos, mecánicos y térmicos se aumenta por la presencia de las prostaglandinas, las cuales sensibilizan toda clase de receptores nociceptivos.

En la entrada de la médula espinal, en la división

lateral de la raiz dorsal, las fibras A delta y C se bifurcan y ascienden y descienden de uno a tres segmentos formando parte del Tracto de Lissauer.

Los dos tipos de fibras terminan primariamente en la lámina más exterior del asta dorsal, en la zona marginal, que corresponde a la lámina I de Rexed y en la sustancia gelatinosa (láminas II y III). Algunas fibras A delta proyectan más profundamente para terminar en la lámina V.

Entre los distintos neurotransmisores potenciales que han sido identificados en las neuronas nociceptivas aferentes primarias, la mayor atención se ha concentrado en la sustancia P, péptido de 11 aminoácidos. Esta sustancia es liberada en la sinapsis central de algunas neuronas primarias aferentes seguidas de estimulación eléctrica de su axón de entrada. La liberación es bloqueada cuando la morfina se emplea en concentraciones conocidas para producir analgesia.

Las neuronas de segundo orden son en todo caso células de relevo cuyos axones proyectan al cerebro o tálamo o interneuronas que transfieren información relativa al dolor a otras interneuronas o a células de relevo.

Las células relevo para el dolor se localizan en dos

regiones del asta dorsal y sus axones ascienden en el cuadrante anterolateral de la sustancia blanca.

El axón de las células de relevo en la lámina I de Rexed proyecta directamente al tálamo. Esta parte de la proyección ascendente del dolor se llama **TRACTO NEOESPINOTALAMICO** (o espino talámico lateral). En contraste, células relevo situadas en capas profundas del asta dorsal (especialmente en la capa V), caracterizan al **TRACTO PALEOESPINOTALAMICO**.

Los caminos de proyección del dolor se llaman colectivamente **sistema anterolateral** ya que todos ellos ascienden en la porción anterolateral de la columna lateral.

Existen dos poblaciones de neuronas nociceptivas en la médula espinal :

1 - Neuronas de la lámina I que son activadas selectivamente por aferencias dolorosas y estímulos térmicos y mecánicos. Estas neuronas envían sus axones a la porción anterolateral de la columna cervical contralateral y de aquí al tálamo. Sus axones forman el componente neoespinotalámico y pueden ser responsables de la localización del dolor punzante.

2 - Neuronas de la lámina V que reciben información de mecanorreceptores, termorreceptores y receptores dolorosos por lo



que se llaman multireceptores o nociceptores de amplio rango dinámico.

Sólo una pequeña parte de la fibras del sistema anterolateral va al tálamo. La mayoría de las fibras sinapsan a nivel del tronco por debajo del tálamo, en gran parte en la formación reticular del tronco del cerebro.

Además de las proyecciones directas espinotalámicas y espinoreticulares, hay una tercera proyección : **EL TRACTO ESPINOTECTAL.**

Un número constante de fibras anterolaterales llega a la sustancia gris que rodea al acueducto cerebral, llamada **sustancia gris periacueductal** que tiene conexiones con la región periventricular del diencéfalo y con el sistema límbico.

En humanos, la terminación espinotalámica relativa al dolor más importante, es una región inmediatamente ventral a la porción táctil del complejo ventrobasal, llamado **núcleo parvocelular ventrocaudal** ; la estimulación de esta pequeña región produce un dolor específico, localizado en el lado contralateral del cuerpo.

Otro área de terminación neoespinotalámica es el **grupo posterior nuclear** , situado entre el mesencéfalo y el tálamo.

Teoría de la Barrera (12).

Esta teoría intenta justificar algunas de las vías en las que el dolor difiere de otras sensaciones. La información surgida como resultado de un estímulo nociceptivo es modificada en su paso desde las fibras del nervio periférico a aquellas localizadas en la médula espinal, gracias a la acción de un mecanismo especializado " de barrera " que tiene lugar a nivel de las astas posteriores de la médula.

Para estos autores la transmisión central al cerebro depende de la activación de las células de transmisión a expensas de fibras nerviosas de pequeño calibre. La cantidad de transmisión desde estas fibras a las células de transmisión está controlada a su vez por una nueva célula de la sustancia gelatinosa que produce su efecto mediante un mecanismo de acción presináptica, y quizás también postsináptica.

La célula de la sustancia gelatinosa es activada por las ramas colaterales procedentes de fibras grandes, principalmente de aquellas que ascienden en las columnas posteriores de la médula relacionadas con la propiocepción y el tacto, e inhibida

por la actividad de las fibras pequeñas, especialmente aquellas relacionadas con la génesis del dolor.

Hay varias razones para explicar porqué la teoría de la barrera haya sido discutida :

1 - Incluso si la teoría es incorrecta en detalle, algunas de sus predicciones clínicas son útiles, por ejemplo, la sugerencia de que la estimulación de las fibras de gran diámetro puede cerrar la entrada y así disminuir el dolor.

2 - La teoría de la barrera se opone a las investigaciones históricas que enfatizan el dolor solamente como una experiencia sensorial aferente.

Localización y posible función de los receptores opioides

La amplia distribución de receptores opiáceos en el cerebro y su alta densidad en regiones no relacionadas con analgesia, sugiere que los opioides endógenos juegan una gran variedad de papeles fisiológicos además de la modulación del dolor.

Localización

Funciones

Médula espinal :

Láminas I y II

modulación de la
percepción del dolor

Tronco del cerebro :

Sustancia gelatinosa
del tracto espinal del
núcleo caudal trigeminal

modulación de la
percepción del dolor

Tálamo :

Núcleo medial lateral

modulación del dolor
y otras percepciones

Lámina interna y externa

Núcleos intralaminar y periventricular

somáticas sensoriales

Telencéfalo :

Núcleo accumbens

locomoción, mediación
de estimulantes y
propiedades de drogas
opiáceas.

(Tomado de Miller, R.J. y Pickel, V.M.)

Analgesia producida por estrés

El estrés puede inducir analgesia por mecanismos opioides y no opioides. Una parte importante de la respuesta del organismo a situaciones de emergencia es la reducción de la sensibilidad al dolor.

El dolor promueve normalmente una serie de reflejos, retirada, escape, reposo y otros comportamientos. Ante estas circunstancias el dolor puede ser suprimido automáticamente en favor de estas situaciones adaptativas.

El tiempo de analgesia inducida por el estrés puede ir de minutos a horas dependiendo del tipo de agente estresante empleado, su severidad y el método selectivo para medir el umbral doloroso.

Hay evidencia de que el estrés puede inducir analgesia de tipo opioide y no opioide. Los agentes físicos estresantes aumentan los niveles de Beta - endorfinas así como adrenocorticotropina y corticosterona. Aunque los agentes estresantes produzcan respuestas hormonales, muchos otros agentes originan elevaciones similares de hormonas sin inducir analgesia.

Sin embargo, hay motivos para suponer la existencia de analgesia inducida por estrés en humanos ; soldados heridos en batallas y atletas heridos en la práctica deportiva algunas veces comentan que no sienten dolor. Quizás, como en el laboratorio, el estrés induce analgesia sólo en las situaciones más extremas o amenazantes para la vida.

EVOLUCION HISTORICA DE LA TERAPEUTICA ANTIDOLOROSA

En las civilizaciones primitivas, la terapia médica del dolor estaba estrechamente ligada al mito o a la religión. San Agustín dice : " Todas las enfermedades de los cristianos son debidas a los demonios " (13). No se puede olvidar que el hechicero era a la vez, médico y sacerdote.

Los antiguos sumerios, dieron a conocer los efectos del opio 4000 años antes de Cristo, ya que su ideograma para la adormidera era " hul " (gozo) y " gil " (plantas). Pero, la referencia más antigua se encuentra en el célebre Papiro de Ebers, que data aproximadamente del año 1550 a.J C. En él se cita un remedio que contiene opio, cilandro, ajenjo, enebro y miel, efectuado por la diosa Isis para calmar el dolor de cabeza de Amón Ra ; " baya de cilandro, baya de adormidera, ajenjo, baya de Samos y baya de Junípero ; mezclarlo todo, amasarlo y untarlo seguidamente ". Cuando se emplea este remedio contra cualquier dolor de cabeza, sufrimiento y males de toda clase, el enfermo se sentirá bien instantáneamente (14).

Aristóteles decía que " nosotros buscamos el placer y

procuramos huir del dolor ". En el siglo III a. J C. Teofrasto, discípulo de Aristóteles, hace referencia al jugo de adormidera, al que llama meconio, por el color que toma al ponerse en contacto con el aire, semejante a las heces del recién nacido. Diágoras de Melos, 380 años a. J C. da una fórmula para incidir la cápsula de la adormidera.

Galeno, 2 siglos antes de nuestra era, conocía el opio y lo empleaba para el dolor de muelas, según cuentan Plinio el viejo y Celso.

Apuleyo en el siglo II, postulaba que : " si alguien tiene que sufrir la cauterización o amputación de un miembro, puede beberse media onza de mandrágora con vino, y mientras duerme, el miembro puede serle cortado sin dolor ni sensación " (14).

El uso de la electricidad para combatir el dolor es también muy antiguo. Escribonio, médico y farmacéutico romano del siglo I utilizaba el pez torpedo, cuyo contacto produce pérdida de sensibilidad, para tratar los pacientes reumáticos (15).

Séneca, filósofo romano del siglo I, tenía ya plena conciencia de que las emociones y actitudes del paciente afectan a sus experiencias de dolor y había comentado " cuanta más

atención se ponga en la causa que produce el dolor, más se aumenta su intensidad ; cuanto menos caso se le hace, más alivio se obtiene " (14).

Los árabes difundieron el uso del opio en todas direcciones por lo que en España, fue conocido antes que en otros puntos de Europa. Así, se sabe que Avicena murió por intoxicación opiácea, aunque no está claro si su muerte fue por suicidio o fruto de sus investigaciones sobre la acción del opio.

Alrededor de 1520, Paracelso, así se hacía llamar Teofrasto Bombast Von Hohmhein, comprobó que el extracto acuoso seco del opio resultaba muy útil como analgésico.

Pizarro, tras su viaje a Perú en 1532, relata como los indios aplicaban sobre sus heridas hojas de coca masticadas para atenuar su dolor, y en este sentido, es curioso mencionar que hasta finales del siglo XIX, cuando Gille sugiere el uso de anestésicos locales para tratar el dolor postoperatorio, no se prestó demasiada atención a este problema (16).

Posteriormente en 1660 un médico inglés, Thomas Sydenham, obtuvo la tintura de opio, y justificó de forma científica su utilización.

El descubrimiento de la morfina, a partir del opio, en

forma cristalizada se debe a las investigaciones realizadas por Serturmer, a principios del siglo XIX. Se la denominó así en honor del dios del sueño, Morfeo, debido a las acciones narcóticas de la droga.

Desde que Syndenham en 1680 escribiera " De entre los remedios que a Dios Todopoderoso le ha complacido dar al hombre para aliviar sus sufrimientos, no hay ninguno que sea tan universal y tan eficaz como el opio ", hasta nuestros días, la admiración de la clase médica ante los efectos analgésicos del opio y sus derivados, se ha moderado al conocerse su toxicidad y la capacidad de producir toxicomanías. El conocimiento de estos efectos indeseables, así como, la total carencia de otros tipos de drogas, que ejercieran una acción analgésica de potencia igual a la de los compuestos opiáceos, estimularon una intensa investigación con el fin de descubrir opiáceos sintéticos o semisintéticos que tuviera las propiedades positivas de la morfina pero careciera de los efectos negativos.

Una y otra vez, la clase médica acogía con entusiasmo el descubrimiento de un nuevo opiáceo, pero, nuevamente, la experiencia demostraba la aparición de una nueva toxicomanía que, en algunos casos resultaba incluso mayor que la inducida

por la morfina (17).

UTILIZACION DE ANIMALES PARA INVESTIGACION BIOMEDICA

La investigación biomédica es esencial para la salud y bienestar de cada persona en nuestra sociedad. Los avances en la investigación biomédica han mejorado tanto la duración como la calidad de vida. Ya que el dolor es un efecto subjetivo, se estima que la verdadera acción analgésica solo puede ser usada en humanos, sin embargo, por razones de régimen de seguridad, antes de que un fármaco sea utilizado en el hombre, es necesario una primera fase de estudio o fase experimental (18).

La principal objeción para el uso de animales en investigación, es la producción de dolor en animales (19).

Varios modelos animales de dolor agudo y crónico se han desarrollado para comprender la complejidad de enfermedades dolorosas en humanos e investigar tratamientos que lo alivien (20).

Si bien la investigación que debe hacer uso de animales

es necesaria para mejorar la atención médica de todas las personas, también se debe asegurar un trato idóneo de los animales de investigación.

Se debe establecer un entrenamiento adecuado para todo el personal de investigación, contar con una atención veterinaria apropiada y un hábitat de los animales adecuado. Los experimentos deben cumplir con las disposiciones o regulaciones que rigen el manejo, albergue, cuidado y transporte de los animales.

Por lo tanto, la Asociación Médica Mundial afirma los siguientes principios :

1 - El uso de animales en la investigación biomédica es esencial para el progreso médico.

2 - La declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial exige que la investigación biomédica en seres humanos debe estar basada en la experimentación animal, pero también exige que se respete el bienestar de los animales usados en la investigación.

3 - El trato adecuado de los animales usados en la investigación biomédica es esencial.

4 - Todos los centros de investigación deben cumplir las

normas que rigen el trato adecuado de los animales.

5 - Las Sociedades Médicas deben resistir todo intento cuyo propósito sea rechazar el uso apropiado de animales en la investigación biomédica, porque dicho rechazo comprometería el avance en el ensayo de nuevos fármacos.

6 - Aunque no se debe comprometer el derecho a la libertad de expresión, se debe condenar el elemento anárquico que existe entre los activistas por los derechos de los animales.

7 - Se debe solicitar un esfuerzo máximo por parte de los organismos encargados de hacer cumplir la ley, a fin de proteger a los investigadores y a los establecimientos de investigación (Asociación Médica Mundial, XLL Asamblea. Hong Kong, 1989).

LEGISLACION SOBRE EXPERIMENTACION ANIMAL

El controvertido tema de la utilización de animales vivos para las diferentes prácticas científicas, pasa necesariamente por ser regulado para evitar que se cometan abusos

en nombre de la ciencia.

En Francia, las personas que no cumplían los decretos sobre experimentación animal eran sancionadas a través del artículo 454 del Código Penal. El decreto de 9 de febrero de 1968 por el que se reglamentaba específicamente la experimentación animal, modificaría este status.

El 18 de agosto de 1876 se publicó en Inglaterra el "Acta Británica sobre crueldad en los animales", en la que se hace referencia expresa a los experimentos con fines médicos, fisiológicos y científicos, autorizando a través del Ministerio del Interior las experiencias con animales, en función de la preparación, necesidades y cualificación del personal demandante.

En 1906 era proclamada en el Reino Unido la "Dogs Act" y en 1911 el "Acta de protección de los animales", que tendrá su continuación en los años 1954 y 1964.

Polonia tiene una legislación completa basada en el "Acta de protección animal" de 1928; aunque en 1959 fueron promulgadas las regulaciones de experiencias con animales vivos.

Bélgica promulgó en 1975 una ley sobre protección animal, que sustituyó a la de 1929, repartiendo las competencias de su aplicación entre los Ministerios de Agricultura y de

Justicia.

En Italia, el 12 de junio de 1931 se desarrolla la Segunda Ley, con que contará este país, sobre protección animal, en la que se establece que el experimentador deberá ser un veterinario, o en su defecto un médico o científico graduado en Ciencias Biológicas que haya sido adecuadamente formado y autorizado por la Administración Pública.

La República Federal Alemana promulgó el 24 de julio de 1972 una ley en la que aparece la figura del Director Responsable, que debe pedir autorización directa para cada protocolo experimental, conforme a los principios establecidos en la ley.

En 1966 era publicada en Estados Unidos una Ley Federal, la " Animal Welfare Act ", cuya última enmienda se publicó en 1976.

En la Unión Soviética la protección de los animales de experimentación ha estado regulada por las regulaciones veterinarias de 1967, aunque en 1980 se promulgó una ley de protección y uso de los animales.

En Canadá se creó en 1968 el " Canadian Council on Animal Care ", organismo en el cual están representadas agencias

estatales y privadas, Universidades y la Canadian Federation of Humane Societies.

El 1 de julio de 1969, un grupo de parlamentarios europeos demandaban ante la Asamblea Consultiva del Consejo de Europa, en Estrasburgo, una resolución sobre la creación de un Centro de Investigación sobre nuevas formas de reemplazar la utilización de animales vivos en experimentos, así como la restricción de los mismos. Como fruto de ella surgió la Recomendación 621 de 1971 de la 22 Sesión del Consejo de Europa a través de los estados miembros, sobre experimentación con vertebrados.

En 1978, se creó un comité de expertos para la elaboración de un proyecto sobre la utilización de animales vivos con fines experimentales.

Con este trabajo, la Comunidad Europea (C.E.) elaboró un "Proyecto de Directiva" que sería adoptado posteriormente por la Legislación Española y que fue aprobada en el Consejo de Ministros de la Comunidad Europea celebrado en Luxemburgo el 12 de junio de 1986, siendo la misma de obligado cumplimiento para todos los países miembros, y publicada en el Diario Oficial de las Comunidades Europeas el 18 de diciembre de 1986, bajo el

título " Directiva del Consejo de 24 de noviembre de 1986, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros respecto a la " protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos ".

El 20 de febrero de 1990, dicho Diario publicaba la " Decisión de la Comisión de 9 de febrero de 1990 por la que se establece un Comité Consultivo sobre la protección de los animales utilizados para la experimentación y con otros fines científicos ", en el que cada Estado miembro estará representado por dos funcionarios que velarán por la correcta aplicación de las disposiciones contenidas en la Directiva Comunitaria.

Japón en 1973 promulgó la ley de protección y control de los animales, que fue ampliamente desarrollada por el Japan Council, a través de sus guías para la experimentación animal publicada en 1980.

En Noruega y Suecia la legislación suele ser constantemente revisada. Ambos países tienen normas penales similares. Las últimas actualizaciones se realizaron en 1974 y 1979 respectivamente.

La última legislación en Holanda fue dictada en 1977,

y se facultó para la intervención competente en el tema, al Ministerio de Salud.

En el caso de Suiza, en 1978 se promulgó una ley muy restrictiva, siendo responsables de su cumplimiento las autoridades cantonales, asesoradas por una Comisión Federal y la Administración Pública Veterinaria.

Vecino de este país se encuentra Liechtenstein, único Estado del mundo en el que está prohibida la experimentación animal.

En Argentina, el 12 de agosto de 1987, el Ministerio de Educación y Justicia de la nación publicó la Resolución número 1299, que prohibía las experiencias con animales vivos en todos los colegios y liceos primarios y secundarios del país (21).

Hasta la incorporación de nuestro país en la C.E., la única legislación que aludía a las prácticas de laboratorio con animales era la Real Orden Circular de 31 de julio de 1929, que posteriormente sería actualizada por la Orden de Ministerio de la Gobernación de 1961.

La necesidad de revisar y adaptar nuestra legislación a las nuevas prescripciones comunitarias, obligó a las autoridades españolas a la elaboración del Real Decreto 233/1988 de 14 de

marzo " sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos ", publicado en el B.O.E. el 18 de marzo del mismo año.

En su inicio explica la pretensión de tal normativa, que es " asegurar la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos , se les conceda los cuidados adecuados ; no causar dolor innecesario, sufrimiento ó estrés ; evitando toda duplicación inútil de experimentos y que el número de animales utilizados se reduzca al mínimo ".

El 18 de octubre de 1989 el B.O.E., publicaba la Orden de 13 de octubre de 1989 " por la que se desarrollan las normas de registro de los establecimientos de cría, suministradores y usuarios de los animales de experimentación con titulación estatal, así como las de autorización para el empleo de animales en experimentos.

Ya el Real Decreto pedía incorporar al ordenamiento jurídico español, la Directiva Comunitaria de Consejo 86/609/CE.

Tan sólo dos comunidades autónomas han promulgado textos legales haciendo alguna mención expresa a la experimentación animal. Se trata de la " Ley de protección de los animales domésticos ", fechada el 1 de febrero de 1990, elaborada

por la Comunidad de Madrid ; y la " Ley de protección de los animales ", fechada el 4 de marzo y elaborada por la Comunidad Autónoma de Cataluña, publicada en el B.O.E. el 28 de marzo. En el caso de la normativa dictaminada por la Comunidad Autónoma catalana, intenta llegar más lejos aún que la madrileña fijando un plazo de tiempo específico para la elaboración y publicación de una normativa referida a los animales de experimentación.

Por otro lado, la segunda parte de la reglamentación estatal, que servirá para desarrollar el artículo tercero del Real Decreto 223/1988, ya ha sido elaborada bajo el epígrafe de " Estructura de los estabularios asociados a los Centros de investigación, titulaciones que corresponden a las distintas escalas de trabajadores en los animalarios y homologaciones y equiparaciones de las personas que actualmente desempeñan esas funciones en los estabularios " (22).

METODOS UTILIZADOS PARA LA VALORACION DE LA NOCICEPCION EXPERIMENTAL

El ser humano posee la capacidad de expresar verbalmente las emociones y el dolor, posibilidad de la que carecen los animales, por lo que resulta imprescindible elegir una conducta que nos permita valorar y conocer la eficacia antinociceptiva de las sustancias que se estudian.

El dolor espontáneo y el experimental difieren enormemente en muchos aspectos. La medición del dolor en animales de experimentación no es sólo de importancia teórica, sino que puede tener muchas aplicaciones prácticas en la patología humana (23).

En humanos, el tratamiento se instaura después de la aparición del dolor, no ocurre así en los modelos experimentales donde el tratamiento con la sustancia con posible actividad antinociceptiva es anterior al estímulo doloroso.

Se han desarrollado varios modelos animales de dolor agudo y crónico para comprender la complejidad de enfermedades dolorosas en humanos, e investigar tratamientos que lo alivien (20).

En determinadas circunstancias, la respuesta nociceptiva puede estar modificada por factores exógenos que pueden modificar el umbral doloroso en animales de experimentación, como puede ser el calor o el frío ambiental excesivos, el estrés, la manipulación, (24, 25, 26). existiendo en algunos casos diferencias genéticas en las respuestas inhibitorias del dolor (27).

Los estímulos nociceptivos pueden ser de muy diversa índole, pudiendo clasificarlos según el agente productor del dolor en : químicos, mecánicos, térmicos y eléctricos. Cada uno de ellos puede sernos útil para investigar un mecanismo de acción diferente.

En los Químicos, el estímulo doloroso está producido por una sustancia irritante (ác. acético, bromuro de acetil colina y fenilbenzoquinona, entre otras). En los Mecánicos, la aplicación de una presión creciente es el elemento productor del dolor. En los Térmicos, el calor es el que desencadena conducta de evitación en los animales. En el caso de los Eléctricos, el estímulo nociceptivo es una corriente de intensidad creciente la que produce dolor (23).

Estos métodos de nocicepción, deben de acompañarse de

pruebas complementarias para valorar la actividad exploratoria y coordinación motora del animal en los casos de ensayo de nuevas sustancias para valorar si el posible efecto antinociceptivo se acompaña de otras alteraciones de conducta del animal y para descartar falsa positividad en los tests de analgesia y de tests de comportamiento (la planche a trous, test de la chimenea, etc.).

TESTS QUIMICOS

En este tipo de tests, la administración i.p. de una sustancia irritante produce en el animal de experimentación (rata, ratón), una respuesta que se conoce como contorsión, existiendo diferentes denominaciones (writhing, stretching, cramping, squirming). Las sustancias empleadas en este test son numerosas, algunas de ellas son ácido acético a diferentes concentraciones (28, 29, 30, 31, 32), fenilbenzoquinona (33, 34), caolín (35), bromuro de acetilcolina (36, 37), suero salino hipertónico (38), etc.

Esta respuesta se manifiesta como contracciones repetidas de la musculatura abdominal, acompañada de extensión de las patas traseras seguidas de un período de normalidad (36) o retorcimiento, respuesta consistente en una onda de constricción y elongación que recorre caudalmente a lo largo de la pared abdominal acompañado a veces de torsión del tronco y seguido de extensión de las patas traseras. En general, a las respuestas se les denominó como " respuesta de constricción abdominal " (34, 36, 38).

En este test, independientemente del alógeno utilizado se contabiliza el número de contorsiones realizadas por el animal en un período de tiempo preestablecido. En el caso de utilizar ácido acético, la concentración empleada es muy variable, oscilando del 0'5 al 3 % . Se ha comprobado que el número de contorsiones producidas es similar entre 0'5 y 1 %, sin embargo con una concentración superior, existe una disminución. Esto es posible que se deba a que las concentraciones más altas pueden producir alteraciones musculares ; Por otra parte producen también una incoordinación motora, utilizándose ésta para la valoración de sustancias analgésicas no opiáceas (32, 39).

Los resultados pueden ser influenciados por

circunstancias ambientales de los animales durante el desarrollo del test. Para evitar estas limitaciones, se ha desarrollado un aparato monitorizado fotoeléctrico que cuenta electrónicamente las contorsiones y registra simultáneamente la conducta general de motilidad bajo el efecto de la sustancia motivo de estudio, permitiendo distinguir entre verdadera o aparente actividad antinociceptiva de la droga estudiada y obtener una información sobre el posible mecanismo de acción (34).

En el caso de la producción del dolor crónico, la vía de administración del agente algógeno difiere, así como el parámetro a valorar. Una de las sustancias empleadas es el nitrato de plata intraarticular (40). En este método, se produce una inflamación previa en la articulación, que va seguida de rigidez y falta de movilidad, valorándose estos parámetros. Otra técnica es la administración del *Micobacterium Butiricum* en aceite de parafina por vía intraarticular o en la base de la cola ; esta última forma produce una lesión generalizada en diferentes articulaciones del animal que la hacen más similares a las observadas en la enfermedad reumática humana (41).

Otro método perteneciente a este grupo de tests químicos es el que emplea la inyección subplantar de tripsina (42).

Por último, otro de los tests utilizados para evaluar el dolor agudo o crónico, utiliza como agente algógeno la formalina subplantar y se emplea para valorar sustancias antinociceptiva no opiáceas (43, 44, 45, 46).

TESTS MECANICOS

En ellos se usa un estímulo mecánico como nocicepción. El umbral se expresa en gramos, y se determina por la presión que es capaz de producir la retirada de la pata posterior del animal, del estímulo nociceptivo aplicado sobre la superficie dorsal de la misma o la sacudida brusca. El método más utilizado es el de Randall y Selitto (47), evaluándose el efecto de la presión previa inflamación de la pata.

En otros, el estímulo nociceptivo puede producirse mediante la introducción de un objeto punzante en la cola del animal, es el denominado " tail-pinch ", el cual representa un estímulo nocivo que activa el sistema nociceptivo neuronal, provoca la liberación de opiáceos endógenos y no opiáceos y tiene

como resultado una respuesta del animal (correr, lamerse)
(38).

Otro test utilizado es el del pellizco, siendo útil para valorar dolor y antinocicepción. Este test es relativamente fácil de realizar y permite la detección del dolor y antinocicepción aplicando presión bilateral en regiones diferentes de la superficie corporal de la rata sin causar daño de los tejidos hasta la manifestación de respuestas del animal tales como morder el portaagujas o vocalización, permitiendo valorar la duración de la analgesia inducida por morfina (48).

TESTS TERMICOS

Los métodos más frecuentemente empleados para el estudio de la acción antinociceptiva son los que utilizan un estímulo térmico.

Entre ellos están el de la plancha caliente, (49, 50). Existen diferentes modificaciones en este método en cuanto a

temperatura utilizada, tiempo máximo de exposición (cut-off), parámetro valorado, preensayo, etc., cada uno de ellos goza de ventajas e inconvenientes. Independientemente de la metodología que se siga, lo que debe ser un requisito indispensable es hacer una descripción exacta y lo más completa posible para que los resultados puedan ser reproducibles por otros autores (30, 51, 52, 53, 54, 55, 56,).

En este test, el animal se coloca sobre una superficie calentada a una temperatura predeterminada y es observado hasta que aparece la primera señal de discomfort ; asimismo, se debe establecer un tiempo máximo de exposición para evitar la producción de lesiones en las patas que alteraran los resultados.

Los parámetros que pueden valorarse en este test, son entre otros, el lamido de patas anteriores o patas posteriores, el estiramiento, primer salto y el salto definitivo o de escape del cilindro. La aparición de uno u otro parámetro está condicionada por diferentes mecanismos, por lo que su modificación puede dar una idea aproximada del mecanismo de acción antinociceptivo implicado de la sustancia ensayada.

Por otra parte, hay que tener en cuenta que la

exposición repetida del animal a la prueba puede producir un aprendizaje (57). Asimismo hay que tener en cuenta otros parámetros, como hora de realización del ensayo, temperatura ambiental, humedad, etc., que pueden modificar los resultados. (52, 53, 58).

La temperatura de la superficie plantar de la pata muestra considerables variaciones regionales, y la piel plantar es propensa a estar húmeda, mojarse o contaminarse con material fecal que puede alterar la temperatura de la piel (59).

El " tail-flick " o retirada de la cola (60), valora el tiempo que tarda el animal en retirar la cola de un haz luminoso de intensidad suficiente para ser nociceptivo.

La cola es un importante órgano termoregulador de la rata, con abundantes anastomosis arterio-venosas, y puede disipar como mucho un 20 % del calor total producido por el animal.

Se ha demostrado una relación entre el tiempo de latencia y la temperatura de la cola del animal, comprobando algunos autores que el tiempo de latencia está en relación inversa con la temperatura de la piel de la cola (61).

El incremento de la temperatura de la piel de la cola

implica una reducción de las latencias del tail-flick (59), incluso pequeños cambios en la temperatura de la habitación pueden causar cambios significativos en las latencias del tail-flick (62).

Según estos autores, la reducción del tiempo de latencia en los tests térmicos es secundaria a un aumento del flujo sanguíneo de la piel (62).

La temperatura de la cola se determina por el flujo sanguíneo local, así factores que alteren este flujo, pueden inducir aparente hiper o hipo algesia dependiendo del estado vasomotor inicial de la cola (así la vasodilatación produciría un aumento de la temperatura de la cola y una disminución de las latencias produciendo una aparente hiperalgnesia) (63).

Por todo lo anterior la temperatura de la cola deberá ser monitorizada mediante la colocación de una sonda térmica en la superficie de la cola que no interfiera con las latencias (64), y todos los factores capaces de alterar dicha temperatura, deberán ser considerados cuidadosamente cada vez que se emplee este test (63).

Otros autores describen un aparato de tail-flick

empleando un microcomputador para el control del calor de la lámpara, cronometraje del tiempo de latencia y almacenamiento de los datos (65).

En el test de inmersión de la cola, el estímulo doloroso es producido por la inmersión de la misma en un baño de agua caliente, a una temperatura preestablecida, valorándose el tiempo que tarda el animal en retirar la cola del agua (66). Una variante de este test es el de la Temperatura Máxima Tolerada en la cola de la rata (M.T.T.) (67), el método permite la detección de sustancias analgésicas con un amplio rango de actividad, ya que el estímulo térmico aplicado es variable, comenzando con bajas temperaturas que van aumentando hasta que se alcanza el umbral de actividad algésica de la sustancia.

Existe además un test térmico para la valoración de la hiperalgesia cutánea como medida de nocicepción en animales libres utilizando calor radiante como estímulo térmico con una determinación automatizada del umbral nociceptivo, se expresa en gramos, y es la fuerza aplicada a la superficie dorsal de la pata que causa en el animal la retirada de la misma. Se valora el reflejo de retirada, la presencia o ausencia de lamido y la

duración de la retirada de la pata del suelo.

Al finalizar la prueba, se observa que la repetición del ensayo no contribuye al desarrollo de hiperalgesia, la cual es dosisdependiente (68).

TESTS ELECTRICOS

El estímulo doloroso en este caso es producido por una corriente eléctrica de intensidad creciente.

Entre estos tenemos el de la " estimulación eléctrica de la pulpa dentaria del conejo ", produciéndosele después de la estimulación continuos movimientos masticatorios (18).

En otros, se estimula eléctricamente la cola de la rata o del ratón. En estos se colocan unos electrodos a ambos lados de la vena dorsal, a través de los cuales recibe el animal el impulso eléctrico, obteniéndose una triple respuesta. La primera observada es un movimiento de la cola, y corresponde al umbral del dolor. La segunda respuesta valorable es un chillido durante la descarga, y en la tercera el chillido permanece aún después

de terminar la descarga (69, 70).

Cada una de estas respuestas indican un lugar de acción diferente, así la primera se considera una respuesta de tipo espinal, la segunda, es un efecto que tiene su integración en el bulbo y la tercera es una reacción que está mediada por un componente emocional, en la que están implicadas estructuras cerebrales que incluyen el tálamo, hipotálamo y rinencéfalo.

Con este método se demostró que la morfina incrementa el umbral eléctrico en las dos últimas respuestas mostrando gran actividad en el chillido postdescarga. Estos hechos concuerdan con la clínica ya que la morfina altera el componente afectivo del dolor (69).

PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

Valoración de la Actividad Motora

Esta prueba valora la actividad locomotora del animal en un tiempo prefijado. Para su realización se introduce el animal en un Actímetro, que consiste en una caja de 53 x 26 x 29 cms.. El suelo de la caja está formado por una parrilla cuyas varillas son capaces de captar mediante un circuito eléctrico los movimientos del animal. Esta unidad tiene incorporado un registrador automático, que contabiliza de forma numérica los movimientos del animal en el período de tiempo elegido (71).

Valoración de la Coordinación Motora

Valora el tiempo que el animal permanece en equilibrio

sobre una barra giratoria.

El aparato (Rota-Rod) consta una barra giratoria de 3 centímetros de diámetro con una superficie rayada que impide que el animal resbale. La barra está colocada a 25 centímetros de la base y con una longitud de 31 centímetros. Se encuentra dividida en cuatro secciones iguales por cinco discos, que permite el ensayo de cuatro animales de forma simultánea .

La velocidad de rotación (en r.p.m.), puede ser modificada por el experimentador (72).

La falta de coordinación de movimientos del animal ensayado provoca su caída y parada automática del contador del tiempo.

La totalidad de la coordinación motora y la resistencia a la fatiga se valoran en base al tiempo que el animal resiste en la barra rotante.

La incoordinación y la consiguiente caída del rota-rod se emplean para evaluar agentes analgésicos no narcóticos (39).

Estas pruebas además son utilizadas para estudios de psicofármacos y como pruebas complementarias para la valoración de los efectos centrales de diferentes fármacos. Su

utilización en los ensayos de analgesia está justificada ya que nos permite valorar si a las dosis estudiadas se producen alteraciones motoras del animal que puedan influir en los resultados obtenidos en determinados tests analgésicos (plancha caliente y tail-flick).

TESTS DE COMPORTAMIENTO

Test de la chimenea

Permite apreciar más específicamente la coordinación de la actividad muscular. Introducido en una probeta calibrada en función de su talla, el animal testigo remonta y sale fácilmente de esta chimenea. Por el contrario, bajo la influencia de una droga con actividad sedante, el ratón, incapaz de coordinar sus movimientos, no puede salir de la probeta.

Test de la tracción

Consiste en suspender un ratón por sus patas anteriores. EL animal consigue rápidamente reestablecer su base de sustentación lo cual es imposible bajo la influencia de una droga con actividad sedante.

Barra fija

Aquí se contabiliza el tiempo de permanencia del animal sobre un dispositivo sobre el que mantendrá el equilibrio según la influencia de la droga motivo de estudio.

Planche a Trous o superficie perforada

Permite evaluar el efecto de una molécula sobre la

actividad exploratoria del animal. El comportamiento normal del ratón, colocado sobre tal dispositivo es explorar cada uno de los agujeros. Si el producto administrado deprime su comportamiento exploratorio fisiológico, el animal pierde interés por la exploración. Al contrario un ratón excitado explora numerosos orificios. Parece como si su actividad exploratoria estuviera aumentada.

FARMACOS ANALGESICOS. MECANISMO DE ACCION

Los fármacos que alivian el dolor actuando a determinado nivel de los mecanismos de señalamiento se denominan analgésicos según la palabra griega que significa sin dolor.

Los fármacos analgésicos - antitérmicos - antiinflamatorios, fármacos tipo aspirina, AINEs, antiinflamatorios no esteroideos o analgésicos menores constituyen un grupo heterogéneo donde la única relación química es que muchos de ellos son ácidos orgánicos. Estos analgésicos poseen una serie de características que los diferencian netamente de los analgésicos narcóticos, analgésicos mayores, opiáceos, o tipo morfina ; su acción es predominantemente periférica, aunque también parecen estar implicados mecanismos centrales. La analgesia que producen es de mediana intensidad, son efectivos en dolores somáticos, tegumentarios, no viscerales.

Aunque su efecto analgésico máximo es de menor intensidad al obtenido con los opiáceos, éstos carecen de las acciones indeseadas de los opiáceos sobre el sistema nervioso central (habituación, fenómenos de dependencia física o

psíquica).

Analgésicos menores, antitérmicos, AINEs

En 1829 Leroux obtuvo de la corteza del sauce (salix alba) un glucósido sintético (salicilina), cuyo principio activo era el ácido salicílico ; Kolbe y Lautemann lo sintetizaron a partir del fenol, en 1860. El ácido acetil salicílico o aspirina (AAS), preparado por Von Gerhardt en 1853, fue introducido en terapéutica por Dreser en 1899 y aún no ha sido desplazado (73).

Los fármacos conocidos como analgésicos no opiáceos podrían rebautizarse como " inhibidores de la síntesis de prostaglandinas " (74). La mayoría de estos fármacos poseen también propiedades antiinflamatorias, por lo que suelen denominarse antiinflamatorios no esteroideos (AINEs).

Son útiles en dolores articulares, musculares, dentarios en cefaleas de diversa etiología. A dosis elevadas son también eficaces en los dolores postoperatorios, los secundarios a

traumatismos, o los debidos a enfermedades neoplásicas asociados a los fármacos opiáceos o antidepresivos, debiéndose valorar su eficacia más por la respuesta del paciente que por una regla fija.

Como antipiréticos, las drogas tipo aspirina reducen la temperatura corporal en los estados febriles.

La acción básica que fundamenta la mayoría de los efectos farmacológicos de este grupo es la inhibición de la actividad ciclooxigenasa, enzima que convierte el ácido araquidónico en endoperóxidos cíclicos ; los cuales se transforman en prostaglandinas y tromboxanos, aunque en la acción antiinflamatoria esté implicada principalmente la inhibición de los leucotrienos (75).

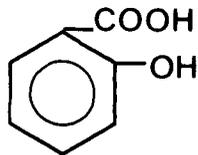
Las fármacos tipo aspirina tienen en común varios efectos indeseables. Los más frecuentes son las alteraciones gastrointestinales, que pueden ir desde intolerancia gástrica a incluso hemorragias. Otros efectos colaterales incluyen alteraciones de la función plaquetaria, prolongación de la gestación y alteración en la función renal, etc. Estos efectos indeseables, al igual que sus efectos terapéuticos, se relacionan con la inhibición de la síntesis de prostaglandinas.

Además de los efectos hemodinámicos, algunos principalmente la indometacina provocan retención de sodio y agua lo que puede causar la formación de edemas en algunos pacientes que son tratados con estos fármacos (76).

Respecto a los efectos adversos de los AINEs, y aunque se conoce su amplio uso, en un artículo-revisión se concluye que una cuarta parte de todos los efectos adversos graves que se comunicaron en el Committee on Safety of Medicines del Reino Unido durante el período de 1976 a 1982, implicó a un AINE. (77).

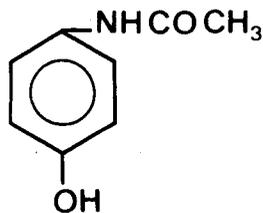
Según su estructura química, estos fármacos se CLASIFICAN en : (76).

-Salicilatos : Los dos preparados de salicilatos utilizados con mayor frecuencia para la obtención de efectos sistémicos son el salicilato de sodio y la aspirina (o AAS). Otros salicilatos disponibles para el uso sistémico incluyen el salsalato, la salicilamida, la mesalazina (ácido 5-aminosalicílico), la sulfasalazina, el metilsalicilato y el diflunisal.



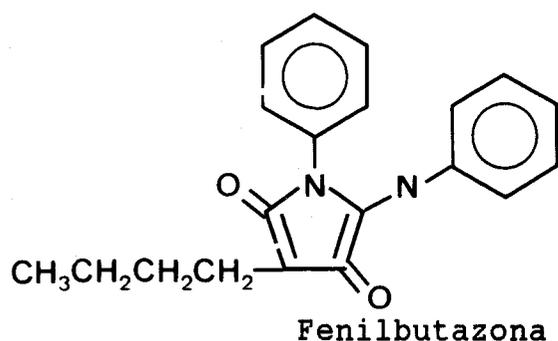
Acido Salicílico

-Derivados del paraaminofenol : La acetanilida fue el primer compuesto de este grupo de fármacos, no obstante, debido a su alta toxicidad, se ensayaron una gran variedad de derivados químicos del paraaminofenol. Entre ellos, la fenacetina y su metabolito activo, acetaminofeno, constituyen alternativas efectivas de la aspirina como agentes analgésicos y antipiréticos.

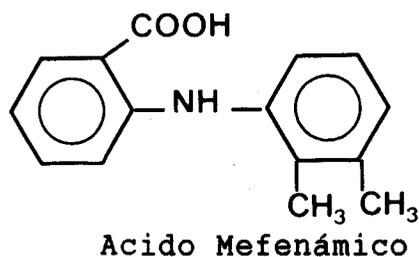


Acetaminofeno

-Derivados pirazolónicos : Este grupo de fármacos incluye la fenilbutazona, la antipirina, la aminopirina, el metamizol (noramidopirina o metansulfonato sódico), la oxifenbutazona, y más reciente, la apazona o azapropazona.



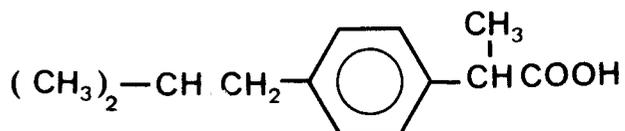
-Fenamatos : Constituyen una familia de fármacos tipo aspirina, derivadas del ácido N - fenil - antranílico. Incluyen los ácidos mefenámico, flufenámico, meclofenámico, tolfenámico y etofenámico.



-Derivados del ácido propiónico : Este tipo de fármacos representa un grupo de agentes tipo aspirina efectivos y útiles. Suelen ser mejor tolerados, sin embargo comparten las características negativas de esta clase de fármacos.

El ibuprofeno fue el primer miembro de esta familia que se destinó al uso general, siendo por ello mejor conocidas sus indicaciones y sus efectos indeseables.

Otros son naproxeno, fenoprofeno, flurbiprofeno, ketoprofeno y varios agentes adicionales entre los que se incluyen, fenbufeno, el piroprofeno, el oxaprozin, el indoprofeno y el ácido tiaprofénico.



Ibuprofeno

-Otras fármacos analgésicos o antiinflamatorios : Existen otros agentes antiinflamatorios que se encuentran en desarrollo o sometidos a estudio. El punto de partida de estos fue la

indometacina ; fue introducido como antiinflamatorio de gran potencia en 1963, pero con frecuencia su uso está limitado por la toxicidad. Los de introducción más reciente son el etodalac y la nabumetona. Otras son benzidamina, sulindac, piroxicam, diclofenac, ácido clonixílico, tolmetina.

Las sales de oro pueden modificar la evolución de la artritis reumatoidea, aunque ellas no son antiinflamatorias en el sentido clásico.

Uno de más reciente incorporación es el ketoralac, agente no esteroideo que promete ser una alternativa a los opiáceos y otros analgésicos no esteroideos para mejorar el dolor postquirúrgico moderado a grave y que, con una experiencia clínica más amplia, podría encontrar un lugar en el tratamiento del dolor músculo-esquelético agudo y otros estados dolorosos, así como en la inflamación ocular (78, 79).

Fármacos analgésicos opiáceos

El término opioide se emplea aquí para designar a un

grupo de fármacos que, en distinto grado, tienen propiedades similares a las del opio o la morfina.

Este grupo de fármacos se caracterizan por poseer afinidad selectiva por los receptores opioides. La intensa analgesia que producen los opiáceos se debe a su interacción con receptores opioides específicos distribuidos heterogéneamente por el S.N.C. La activación de estos receptores, inducen analgesia de elevada intensidad, producida a nivel del S.N.C.. Otros efectos subjetivos que tienden a favorecer la instauración de una conducta de autoadministración denominada farmacodependencia.

Durante las dos últimas décadas, el creciente conocimiento de las relaciones entre los opiáceos exógenos, el péptido opioide endógeno y la anestesia ha permitido efectuar claros avances sobre el mecanismo de acción analgésica de los opioides. A este respecto ha tenido una importancia primordial la identificación de los sistemas neuronales inhibidores que se originan en lugares supraespinales y descienden hacia la médula espinal, junto al reconocimiento del papel del asta posterior de la médula espinal en los mecanismos analgésicos (80).

Aplicaciones clínicas

La morfina y la mayoría de los agonistas, antagonistas / agonistas mixtos y agonistas parciales son considerados como analgésicos mayores porque llegan a aliviar dolores agudos y crónicos de gran intensidad.

Su techo antiálgico, sin embargo no es idéntico considerándose que con los agonistas puros se alcanza una mayor eficacia en dolores muy intensos, quizás porque se pueden dar dosis mayores al no producir reacciones disfóricas y psicotomiméticas.

Según la estructura química, estos fármacos se CLASIFICAN en : (81).

-Estructura pentacíclica :

- productos naturales del opio : morfina, codeina, tebaina.
- derivados semisintéticos : los agonistas etilmorfina y heroína (diacetilmorfina), y el agonista / antagonista mixto nalorfina (N - alil - morfina).

- derivados morfinómicos : los agonistas oximorfona y oxinodona, el agonista /antagonista mixto nalbufina y los antagonistas puros naloxona (N - alil - noroximorfona) y naltrexona.
- Estructura hexacíclica : oripavinas ; comprende el agonista puro etorfina, la ciprenorfina, el antagonista diprenorfina y el agonista parcial buprenorfina.
- Estructura tetracíclica : morfinaños ; comprende el agonista levorfanol, el antagonista levarlofan y el agonista / antagonista mixto butorfanol. El dextrorfan es un estereoisómero del levorfan que está relativamente desprovisto de acción analgésica.
- Estructura tricíclica : benzomorfanos ; comprende a los agonistas / antagonistas mixtos pentazocina, ketociclazocina y ciclazocina.
- Estructura bicíclica : 4-fenilperidina ; se encuentran, entre otros, los agonistas meperidina y fenoperidina, el agonista parcial profadol, los utilizados como antidiarreicos loperamida y difenoxilato y el analgésico menor tilidina.
- Derivados de 3,3 difenilpropilamina : metadona, 1-&-acetilmetadol, dextromoramida y el analgésico menor d - propoxifeno.

-Derivados de 1,2 y 1,3-diaminas : comprende los agonistas fentanilo, citrato de sufentanilo alfentanilo y clorhidrato de sufentanilo.

MORFINA

Sigue siendo el fármaco prototipo y el que más se utiliza para fines terapéuticos y continúa siendo el patrón para la valoración de los nuevos analgésicos. Dado que la síntesis de laboratorio de la morfina es difícil, todavía se obtiene del opio o se extrae de la paja de la amapola (*papaver somniferum*). Muchos derivados semisintéticos se preparan mediante modificaciones relativamente simples de la molécula de la morfina.

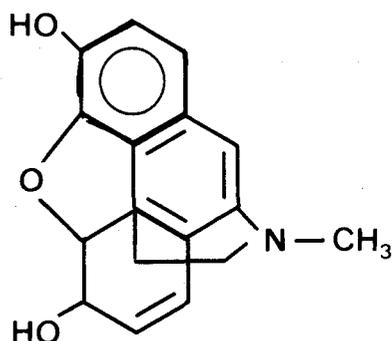
La analgesia producida por esta sustancia es consecuencia de la acción de la morfina sobre los receptores (principalmente μ), situados a diversos niveles del S.N.C., sin embargo, también presenta una afinidad apreciable por los receptores delta, kappa, epsilon y sigma.

La morfina ejerce una acción antiálgica a nivel central, probablemente a expensas de la inhibición en la liberación de sustancias neurotransmisoras cerebrales tales como la acetilcolina.

Sobre el sistema serotoninérgico, la morfina induce un aumento del turn-over serotoninérgico central, condicionando un aumento en la producción de ácido 5 - hidroxí - indolacético. Además la morfina produce un aumento de los niveles de serotonina centrales tanto si se administra de forma aguda como crónica (82).

También se han descrito interacciones entre los sistemas opioides y noradrenérgicos a nivel central, ya que se ha observado como la reserpina altera la capacidad antinociceptiva de la morfina. Además la morfina produce un efecto bifásico sobre los niveles de noradrenalina cerebral, disminuyéndolos a las dosis de 2 - 20 mg/kg y aumentándolos a las dosis de 50 - 100 mg/kg.

Químicamente es el 7,8 - didehidro - 4,5 - epoxi - 17 - metil - morfinano - 3,6 - diol.



Se conoce asimismo su capacidad para suprimir la actividad de las conexiones entre el lóbulo frontal y el tálamo, en forma similar a como lo hace el alcohol, dando lugar con ello a una disminución de la ansiedad y a la aparición de la euforia, propiedades éstas que se utilizan tanto para el control del dolor como en la disminución de la ansiedad en las situaciones de shock.

Este opiáceo interrumpe asimismo la transmisión a nivel de la médula espinal mediante el bloqueo de los impulsos nerviosos aferentes a las astas posteriores y da lugar a una depresión del centro respiratorio a expensas de la disminución en la sensibilidad de éste frente al aumento en la concentración sanguínea de dióxido de carbono suprimiendo, además, el reflejo de la tos, propiedades éstas que encuentran un gran campo de



aplicación en medicina.

La morfina posee también una acción excitadora sobre el sistema nervioso central, lo que da lugar a una serie de efectos no deseados entre los que se incluyen las náuseas, vómitos, debidos a la estimulación del centro emético medular y del aparato vestibular.

Por otra parte disminuye el tono y la movilidad de la musculatura lisa gastrointestinal lo que constituye una propiedad útil para el tratamiento de cuadros diarreicos (dos derivados, Difenoxilato y Loperamida, son utilizados ampliamente con este fin).

Por el contrario, contrae la fibra muscular lisa del esfínter de Oddi lo que puede conducir al empeoramiento de una obstrucción biliar preexistente y a la eventual presentación de un episodio de cólico.

La acción depresora sobre el centro respiratorio tanto de la morfina como de fármacos similares puede ser contrarestanda mediante la utilización de antagonistas específicos. El fármaco de elección para la supresión del efecto de la morfina es la naloxona, debido a que a diferencia de otros antagonistas su acción es pura, careciendo de cualquiera de los efectos de la

morfina, antagonizando asimismo la acción de la pentazocina (83).

OTROS FARMACOS ANALGESICOS

Los fármacos que afectan al estado psicológico del paciente pueden tener efectos significativos en la percepción del dolor.

Durante los últimos años el empleo de los fármacos antidepresivos, sólo o en combinación con opiáceos, se ha extendido en la clínica del dolor y convertido en uno de los grupos terapéuticos de mayor uso con fines analgésicos.

Diversos estudios clínicos experimentales han demostrado que no existe relación entre su acción analgésica y la antidepresiva (4, 84, 85).

Este grupo de fármacos poseen utilidad como analgésicos en diferentes situaciones clínicas (artritis, neuralgias postherpéticas, dolor facial atípico, cáncer terminal, etc.).

A pesar de la enorme complejidad de los mecanismos implicados en el tratamiento del dolor y del desconocimiento que todavía tenemos de la fisiología del S.N.C. parece demostrarse que aquellos fármacos que por cualquier mecanismo aumentan las concentraciones de algunos neurotransmisores tendrían acción analgésica por sí mismos y lógicamente potenciarán la analgesia inducida por otros fármacos. La acción analgésica es debida probablemente a uno ó varios de estos factores : (84).

- efecto placebo.
- efecto antidepresivo-ansiolítico.
- efecto analgésico < per se > y potenciación del efecto de otros analgésicos.

La efectividad clínica como analgésico no parece explicarse exclusivamente por la acción antidepresiva-ansiolítica, ya que la analgesia se obtiene a dosis inferiores a la necesaria para que manifieste su acción antidepresiva, aparece antes y en un número mayor de pacientes.

La acción analgésica < per se > está bien documentada y está relacionada principalmente con mecanismos noradrenérgicos o serotoninérgicos sin descartar otras posibles implicaciones

(colinérgica, bloqueante alfa presináptica, etc.). Además potencian la acción analgésica de los opiáceos.

Por otra parte, existen una serie de ventajas del uso de psicofármacos en el tratamiento del dolor crónico :

- 1- Son efectivos en pacientes que han desarrollado tolerancia a otros analgésicos convencionales.
- 2- Ausencia de efectos indeseables importantes.
- 3- Potencia a otros analgésicos.
- 4- Posibilidad de reducir la dosis y uso de anlgésicos.

Independientemente, en algunas situaciones en las que el dolor es una somatización de la depresión, los antidepresivos tricíclicos, tal como amitriptilina, imipramina, doxepina y amoxapina, pueden resultar útiles (86).

Dos antihistamínicos con propiedades psicoactivas están recibiendo atención creciente en el control del dolor. Estos son hidroxicina y prometacina ; ambas son bien toleradas en la edad avanzada y pueden ser útiles en el dolor postoperatorio y en otras situaciones agudas (87).

Otro grupo sería el de los psicoestimulantes, de entre los cuales la cafeína es el de más frecuente utilización, produciendo una sensación discreta de bienestar y aumenta el

estado de alerta. Aunque la cafeína no tiene efecto analgésico, se asocia a analgésicos o bloqueantes alfa, siendo útil para determinados cuadros por aumentar la absorción oral.

De entre los tranquilizantes mayores, solamente dos de los componentes de este grupo, las fenotiacinas y las butirofenonas, se utilizan regularmente en el tratamiento del dolor.

TECNICAS PSICOLOGICAS UTILIZADAS EN EL TRATAMIENTO DEL DOLOR

Los tratamientos psicológicos más ampliamente usados son diversos, incluyéndose especialmente la Psicoterapia (técnicas de relajación, biofeed-back, control de conducta operante, terapia de conductual-cognitiva), Hipnosis y Acupuntura.

-Psicoterapia :

- Relajación : persigue la potenciación de una respuesta fisiológica incompatible con la ansiedad. El más frecuentemente

usado es la relajación progresiva.

- Biofeed-back : Consiste en informar a los pacientes sobre aquellos cambios de las funciones fisiológicas de los que ellos no son habitualmente conscientes. Tiene una eficacia limitada en el tratamiento del dolor siendo tanto o más útil cuanto mayor relación exista entre la respuesta biológica objeto de tratamiento y la fisiopatología del dolor, y siendo necesario aplicarlo de acuerdo con las características conductuales y cognitivas del paciente, de modo que se facilite una generalización de los resultados obtenidos en la vida real del sujeto.

- Control de conducta operante : va dirigido a modificar el papel que las contingencias de refuerzo de las conductas del dolor del sujeto pueden estar jugando en el mantenimiento del problema del dolor.

- Terapia conductual-cognitiva : su objetivo es modificar los aspectos evaluativos y atencionales de la percepción del dolor, dotando al sujeto de estrategias óptimas para reducir la intensidad y adversidad del dolor de modo que éste altere lo menos posible las actividades conductuales y cognitivas del sujeto.

Hipnosis :

Puede ser un tratamiento valioso en aquellos casos en que el dolor crónico tenga una causa orgánica definida, como en el caso del dolor de cáncer o neoplásico, o en el tratamiento del dolor agudo, facilitando la utilización de esta técnica el entrenamiento del sujeto en la aceptación de la sugestión hipnótica de modo que ésta pueda adquirir el mayor grado de control personal sobre el tratamiento (88).

-Acupuntura :

Fue desarrollada inicialmente en China. La técnica se desarrolló en base a las teorías chinas referentes a la anatomía, fisiología y filosofía, siendo descrita en el " Nei-ching-Su Wen ", texto médico de 3000 años de antigüedad y uno de los primeros existentes en esta materia. Las explicaciones neurofisiológicas en cuanto a los efectos de la acupuntura se centran en el criterio de que el estímulo proporcionado por la aguja da lugar a la activación de los mecanismos inhibidores del dolor a nivel del sistema nervioso central.

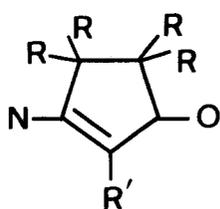
Actualmente, es conocido que la estimulación producida por la acupuntura produce la liberación de péptidos opioides

endógenos, (tales como endorfinas), que son en definitiva las responsables de los efectos beneficiosos obtenidos con esta técnica. Este hecho viene avalado porque sus efectos son inhibidos por los antagonistas opiáceos.

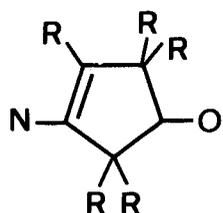
ESTUDIO DE LAS SUSTANCIAS ENSAYADAS

2-Amino-5-tert-butil-2-Oxazolina ; (ATBO)

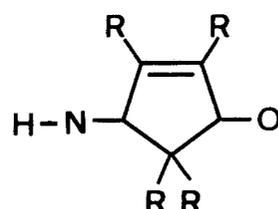
Las oxazolininas son compuestos heterocíclicos de cinco miembros conteniendo un átomo de oxígeno y otro de nitrógeno en posiciones relativas 1, 3, y un doble enlace. El doble enlace puede estar localizado en diferentes posiciones existiendo así, tres tipos diferentes de anillos de oxazolina (figura 1).



2-oxazolina (a)



3-oxazolina (b)



4-oxazolina (c)

(figura 1)

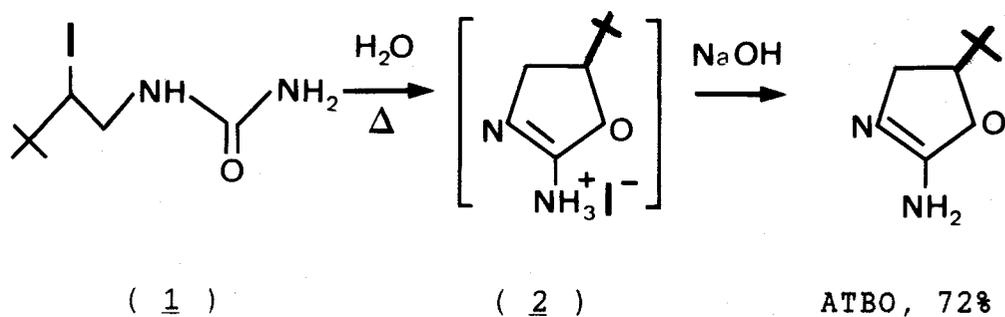
Dentro de este tipo de compuestos, las 2-amino-2-oxazolininas sustituidas (figura 1 - a -, $R' = NH_2$) presentan un interés particular en aplicaciones terapéuticas, y este interés ha estimulado considerablemente la investigación en sus métodos de síntesis.

Las 2-oxazolininas son compuestos con una gran variedad de aplicaciones (89). En concreto las 2-amino-2-oxazolininas son los derivados que se han mostrado más útiles en el campo de la farmacología. Así, 2-amino-2-oxazolininas fusionadas están descritas como hipertensoras, y estimulantes del sistema nervioso central (90), y la 2-amino-5-fenil-2-oxazolinina ha sido empleada con éxito como depresora del apetito (89).

No hemos encontrado en cambio antecedentes bibliográficos sobre estudios farmacológicos de amino-oxazolininas no fusionadas portando sustituyentes no aromáticos sobre el anillo. A tal efecto se ha seleccionado en esta tesis la 5-tert-butil-2-amino-2-oxazolinina.

La 2-amino-5-tert-butil-2-oxazolinina (ATBO), es un compuesto de síntesis (figura 2), obtenido a partir de N - (3,3-dimetil-2-yodobutil) urea (1) por ciclación intramolecular en agua y neutralización de la sal de amonio

resultante (2).



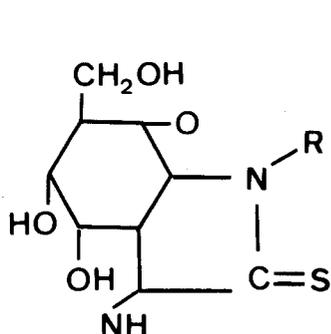
(figura 2)

La ATBO se extrajo con diclorometano y se purificó por cristalización de éter (p.f. 192 - 193 grados C). Su estructura se demostró mediante el uso de las técnicas espectroscópicas habituales (U.V., I.R., 1 H- y 13-C R.N.M.) y espectrometría de masas (91).

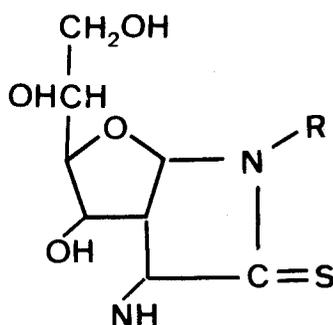
La beta-yodourea (1) se preparó a partir del correspondiente yodoisocianato y amoníaco (92).

1-Fenil-Imidazolidina-2-Tiona ; (FIT)

Por reacción de la D - glucosamina con alquil (aril) isotiocianatos se forman productos de condensación, a los que inicialmente se le asignó una fórmula de glucopirano (1) por García González y cols. (93).



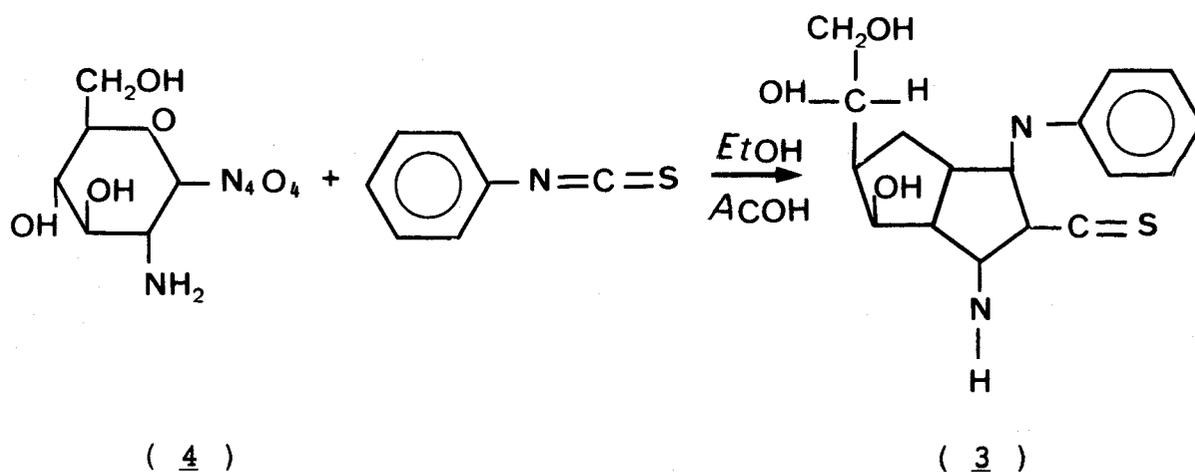
(1)



(2)

Años más tarde los mismos autores, simultáneamente a Morel y cols. (94), modificaron la estructura de la parte de azúcar en favor de un anillo glucofuránico (2) que quedó definitivamente establecido por difracción de rayos X (95).

La 1 - fenil - 4,5 - (cis - 1,2 - D - glucofurano) - imidazolidina -2- tiona (3) se sintetizó a partir de la D - glucosamina (4) y fenilisotiocianato en mezcla de etanol y acético.



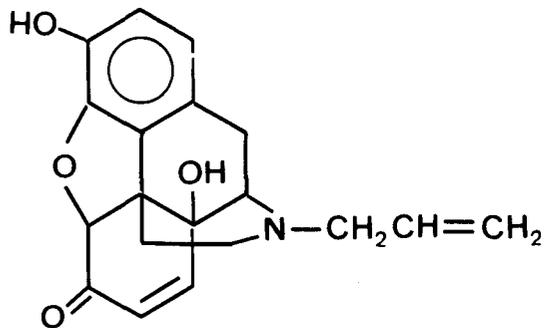
La estructura del compuesto (3) está confirmada por datos químicos y espectroscópicos.

El compuesto preparado es de interés bioquímico y farmacológico porque presenta un anillo 2 - tioximidazólico, y para otros derivados de azúcares con dicho anillo están descritas actividades como inmunodepresoras (96), antitiroideos (97, 98, 99), y antiinflamatorias (100).

Otra de las acciones que se estableció para el anillo imidazólico fue una acción antilipolítica o lo que es lo mismo, la capacidad de disminuir la liberación de ácidos grasos libres a partir de triglicéridos. Así también, el anillo de imidazol reduce la agregación plaquetaria con la interesante propiedad de antagonizarla cuando está aumentada por el exceso de adrenalina y también el efecto indirecto de la vasopresina e incluso la respuesta adrenal al estímulo adrenocorticotrófico sobre dicha agregación (101).

Naloxona

También se denomina N-alil noroximorfona ; tiene un peso molecular de 327,37 y fórmula es C₁₉ H₂₁ N O₄. (102).



Ha sido considerada como un antagonista narcótico relativamente puro y como tal ha sido ampliamente usado para investigar la posible implicación de los opiáceos endógenos en un gran número de procesos farmacológicos y fisiológicos.

Muchos estudios han usado el antagonismo producido por la naloxona como criterio de la implicación de los opiáceos endógenos asumiendo que la naloxona no tiene otras acciones farmacológicas que el bloqueo de los receptores opiáceos.

El uso de dosis de naloxona más altas que las que normalmente se emplean para antagonizar la analgesia y otros efectos de la morfina se puede justificar ya que hay múltiples formas de receptores opiáceos en los tejidos nerviosos y las respuestas mediadas por algunos de estos receptores requieren para el bloqueo dosis más altas (103).

Naloxona es un antagonista competitivo de los receptores mu, delta, kappa y sigma. Sus efectos se demuestran casi inmediatamente de la administración intravenosa. Esta droga se metaboliza primariamente en hígado por conjugación con ácido glucurónico.

Se ha demostrado que el pretratamiento con naloxona antagoniza el efecto antinociceptivo de diferentes compuestos entre ellos de algunos aminoácidos como la taurina y metil éster de tiroxina. Así el pretratamiento con este antagonista, bloquea el efecto antinociceptivo de estos compuestos en tests químicos y tail-flick (104, 105, 106).

Estos resultados inducen a considerar que se mecanismo de acción puede estar relacionado con los receptores opioides periféricos y espinales, y son concordantes con los de otros autores que han demostrado la existencia de varios tipos de receptores opiáceos (mu, kappa y sigma) en el peritoneo del ratón (107).

Después de la administración parenteral la duración de la acción es de aproximadamente 1-4 horas. Su vida media en plasma es de aproximadamente 1 hora (108).

Tras ser absorbida después de la administración oral, es tan rápidamente metabolizada en su primer paso por hígado que su potencia por vía oral es sólo 1 / 15 de la que presenta cuando es administrada parenteralmente (109).

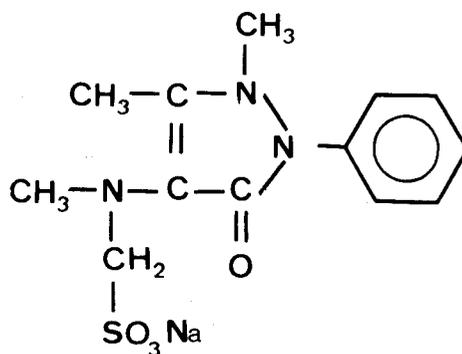
Este derivado de la noroximorfona, antagoniza de manera inmediata la analgesia, sedación, estupor, coma, depresión respiratoria, hipotensión arterial, miosis, hipertonia gastrointestinal y atonía vesical producidas por la morfina.

En ocasiones origina un efecto rebote que se manifiesta en forma de hiperventilación, hipertensión arterial, taquicardia etc.

Metamizol

Pertenece al grupo de las pirazolonas, también se denomina noramidopirina metansulfonato (Na ó Mg).

Es soluble en agua (1gr/1,5 ml), metanol, menos soluble en etanol, prácticamente insoluble en éter, acetona, benceno y cloroformo. Su Pm es de 351,35 con la estructura C13 H16 N3 NaO4S.H2O (110).



Los derivados pirazolónicos se han empleado extensivamente en el tratamiento del dolor agudo y crónico y en los procesos inflamatorios.

Tiene acción analgésica y antitérmica. En contraste con los típicos AINEs, tiene dos mecanismos de acción además de la usual inhibición de la ciclooxigenasa : 1) bloqueo directo de hiperalgesia y 2) inhibición de MNF, un factor nociceptivo de los macrófagos que causa nocicepción mediada por metabolitos de la ciclooxigenasa (111).

El metamizol intravenoso aumenta la actividad de las neuronas de la sustancia gris periacueductal y reduce las de las neuronas de la sustancia negra (112).

Los efectos antinociceptivos y analgésicos no sólo se deben a un mecanismo de acción periférico, sino también central que se manifiesta por activación de la inhibición originada en la sustancia gris periacueductal (112).

La acción analgésica es dosis dependiente, alcanzándose el máximo a la dosis de unos 2 gramos. Tiene ligera actividad espasmolítica, al ejercer una acción relajante de la fibra muscular lisa, por lo que es útil en dolores de tipo cólico, sola o asociada a otros espasmolíticos (112).

Su absorción por vía oral es buena, siendo hidrolizada rápidamente a metabolitos activos (4-metilaminoantipirina y 4-aminoantipirina) e inactivos (4-acetil y 4-formilaminoantipirina) y otros metabolitos no identificados.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS

El estudio de la actividad de una nueva molécula debe realizarse siguiendo una metódica perfectamente establecida, que en el caso de los analgésicos puede resumirse en los tres apartados siguientes :

- 1) Actividad de los analgésicos para evitar o aliviar el dolor artificialmente producido en animales de experimentación.
- 2) Alivio del dolor experimental en sujetos voluntarios sanos.
- 3) Alivio del dolor patológico en el hombre.

Es obvio que las competencias del farmacólogo experimental se limitan al primer apartado, puesto que los otros dos pertenecen a la farmacología clínica. Por este motivo, nos ocuparemos únicamente de la valoración de la posible actividad antinociceptiva en el animal de experimentación.

Queremos destacar que el término analgésico debe reservarse a la clínica, utilizando el de antinociceptivo cuando nos referimos a las experiencias realizadas en el animal de laboratorio.

Detectar la posible actividad antinociceptiva de una determinada sustancia, en animales de experimentación, es bastante dificultoso, prueba de ello es la gran variedad de

métodos existentes en la actualidad. Esta profusión de métodos significa que no hay ninguno que sea totalmente eficaz para una valoración completa, y difícilmente hay dos investigadores que utilicen el mismo método de igual forma y valoren los resultados obtenidos de la misma manera. Este campo de la farmacología experimental está necesitado de un esfuerzo de estandarización o normalización de las pruebas utilizadas.

A pesar de que las pruebas de analgesimetría en animales se diseñan intentando reproducir las características del dolor patológico en el hombre, no se logra tal similitud puesto que en dichos métodos los fármacos se administran antes y no después del estímulo nociceptivo, y puesto que el valor de cualquier analgésico consiste en última instancia en su capacidad para aliviar el dolor patológico, el único sujeto experimentalmente posible es el hombre enfermo.

No obstante, como posiblemente todo dolor sea significativo y grave para un animal, puede decirse, con ciertas reservas, que el dolor experimental equivale al dolor patológico en el hombre.

En definitiva, la única indicación para el investigador de que un animal considera un estímulo como doloroso es que

ejecute una reacción de excitación a dicho estímulo.

La capacidad de cualquier método para detectar posibles fármacos analgésicos viene entonces determinada por la eficacia para retrasar o alterar esta reacción de excitación.

Un importante aspecto del estudio de un analgésico es la demostración de su eficacia en comparación con un control aceptado y una incidencia aceptable en la gravedad de los efectos secundarios (113).

En este trabajo se describe la síntesis de dos nuevos derivados imidazólicos, 2 - amino - 5 - tert - butil - 2 - oxazolina y la 1 - fenil - (D - glucofurano) (2, 1, d) - imidazolidina - 2 - tiona. Estas sustancias se incluyen en un proyecto conjunto de análisis farmacológico de nuevas moléculas de síntesis con diversa actividad potencial.

El demostrar la posible acción antinociceptiva de estas sustancias constituye un aspecto de ineludible interés, no sólo teórico sino práctico, debido a su posible utilización terapéutica ; para esto es necesario llevar a cabo una serie de experiencias de índole farmacológica que permitan delimitar su esfera de actividad.

La actividad farmacológica del imidazol fue estudiada

por diferentes autores (37, 114), empleando para ello tests químicos (28, 36). Estos autores demuestran que el imidazol presenta una acción analgésica similar a la que exhiben otras sustancias (AAS, metamizol. acetaminofén).

Todos los antecedentes hacen que actualmente se busquen nuevas estructuras activas farmacológicamente y con la participación en ellas del anillo imidazol.

Siguiendo este criterio, al disponer de una serie de aminooxazolininas que han sido previamente objeto de estudios en el Departamento de Química Analítica de la Facultad de Química de la Universidad de Sevilla, mostrando diversas propiedades, realizaremos nuestros estudios sobre estas nuevas sustancias.

Buscando relaciones entre estructura química y actividad farmacológica, estudiaremos si estos derivados imidazólicos poseen actividad antinociceptiva frente a métodos químicos y térmicos. En este estudio nos centraremos en un screening de actividad antinociceptiva frente a los tests de nocicepción químico (ácido acético), y térmico (hot-plate, tail-flick), evaluándose el efecto antinociceptivo comparativamente con el obtenido con el metamizol a dosis equimoleculares el cual utilizaré como analgésico de referencia.

A fin de descartar si el efecto antinociceptivo observado estaba influido por otros efectos fisiológicos o de conducta (sedación, relajación, incoordinación motora, etc.) que pudieran indirectamente afectar los tests de nocicepción, se estudiará si estas aminooxazolininas modifican estos parámetros.

En una segunda fase se pasará a estudiar si el efecto observado puede modificarse por el pretratamiento con analgésicos opiáceos y no opiáceos. En estos ensayos se utilizará la DE 50 de la sustancia a ensayar.

Por otra parte se valorará si dosis inefectivas del analgésico utilizado de referencia modifican la respuesta antinociceptiva de estas sustancias. Asimismo, se valorará si la respuesta antinociceptiva se modifica tras el pretratamiento con el antagonista opiáceo naloxona (1 y 2 mg/kg).

La elección de diferentes tests está totalmente justificada, como comentaremos posteriormente, ya que cada uno de ellos evalúa un posible mecanismo que pudiera estar implicado en la acción antinociceptiva.

El test de las contorsiones inducidas por ácido acético, constituye un buen método de criba de moléculas con una posible acción antinociceptiva periférica (115).

A fin de valorar si el efecto antinociceptivo actúa a nivel espinal o supraespinal, se utilizará el test de la plancha caliente y el tail-flick. La elección de estos métodos obedece al hecho de explorar mecanismos nociceptivos supraespinales con el primer método y espinales con el segundo (116).

De todos los parámetros valorables en el test de la plancha caliente, se elige el lamido de las patas posteriores por ser el que se relaciona con una mediación nociceptiva no opioide. El lamido de las patas anteriores, otro parámetro extensamente empleado, permite evaluar una implicación opioide (117).

Son muchos los factores tanto individuales como ambientales que pueden condicionar una situación de analgesia, por este motivo hemos intentado evitar al máximo estas eventualidades.

En nuestro estudio se emplearán solamente animales macho para evitar las posibles fluctuaciones en el umbral doloroso como consecuencia de las modificaciones hormonales que tienen lugar durante el ciclo estrogénico (27, 118).

Los resultados de las pruebas nociceptivas son

fuertemente influidos por la subjetividad del observador y por circunstancias ambientales ; por razones estadísticas, éstas variables necesitan del uso de un alto número de animales

El calor, tanto en forma aguda como crónica, es una de las situaciones productoras de estrés que condiciona la producción de analgesia (25, 119, 120).

En este sentido, las experiencias se realizarán entre los meses de septiembre y mayo, a fin de evitar la exposición de los animales a temperaturas extremas. Independientemente, aún durante estas épocas, se mantuvo la temperatura de la habitación constante a 22 ± 1 grado C.

Por otra parte, se ha descrito recientemente una relación del ritmo día/noche en la sensibilidad del dolor con una implicación de la glándula pineal (y su hormona melatonina) en la modulación del ritmo diurno de analgesia (121). Por este motivo todas las experiencias se realizarán en la fase de luz (7-19 h.), evitando así las diferencias producidas por el citado ciclo.

MATERIAL Y METODOS

Animal de experimentación

Para la realización de este trabajo, se utilizaron ratas Wistar y ratones Swiss machos, procedentes del animalario de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla.

Los animales se dispusieron en jaulas de polipropileno suministradas por la firma Panlab*. Dentro de lo posible se procuró que todos los animales de una misma jaula fueran de una misma camada.

En los tests de analgesia (químicos y plancha caliente), y pruebas complementarias (coordinación y actividad motora), empleamos 460 ratones con un peso medio de 24,8 +/- 0,19 gramos divididos en lotes de diez animales. En el estudio de las pruebas complementarias se utilizaron 50 ratones con un peso medio de 25,04 +/- 0,32 gramos.

Para el test de retirada de la cola (tail-flick), se utilizaron 91 ratas, con un peso medio de 237 +/- 4,2 gramos, distribuidos en lotes de siete animales.

A un lote de ratones tratados con la dosis superior de ATBO (37,34 mg/kg), se les mantuvo durante una semana en

condiciones estándares y transcurrido este período, se les volvió a pesar a fin de evaluar si el crecimiento ponderal había sufrido alguna modificación.

Alimentación

La alimentación desde el destete (20-28 días), hasta la realización de los experimentos, fue a base de pienso compuesto suministrado por la casa Sanders, el cual se les retiraba una hora antes del ensayo, manteniéndose el agua " ad libitum ".

La elaboración de este pienso se realiza con las materias primas o ingredientes, libres de contaminación, finamente molidos y con los procesos de mezclado, Vaporización de la mezcla, granulación con matriz de tacos de 16 x 16 mm., posterior enfriamiento en cascada y envasado automático y el consiguiente almacenamiento hasta su expedición.

La composición del pienso es :

Cereales - Harinas o tortas de oleaginosas - Subproducto

de molinería - Harinas de carne - Melazas y azúcares - Premezcla
minero-vitamínica.

Los constituyentes analíticos son :

Proteína bruta	18 %.
Materias grasas brutas	3,50 %.
Celulosa bruta	4 %.
Cenizas brutas	8 %.
Almidón	35 %.
Calcio	1,20 %.
Fósforo	0,70 %.
Sodio	0,20 %.
Vitamina A	10.000 U.I./ kg.
Vitamina D 3	1.000 U.I./kg.
Vitamina E (alfa-tocoferol)	15 mg./kg.
Aditivos: B.H.T.(butilhidroxi-Tolueno).	120 mg./kg.

El consumo medio diario se calcula en 15-18 gr. para las
ratas y 5 gr. para los ratones. (122).

Una semana antes del ensayo, los animales se mantuvieron en un ciclo de luz / oscuridad de 12 horas (121), realizándose las experiencias en la fase de luz (7-19 h.), y a temperatura constante de 22 +/- 1 grado C.. La regulación de la temperatura ambiental, interactúa par producir una temperatura corporal constante (123).

**ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DE LAS SUSTANCIAS MOTIVO
DE ESTUDIO**

2-AMINO-5-TERT-BUTIL-2-OXAZOLINA (ATBO) Y METAMIZOL. TEST DEL
ACIDO ACETICO.

Para el estudio de la acción antinociceptiva del ATBO se siguió en líneas generales la técnica descrita por Koster y cols. (28), utilizando el ácido acético al 0'6 % como agente nociceptivo.

En este caso se emplearon siete lotes de animales, para el estudio de la acción antinociceptiva del ATBO, y seis para el estudio del metamizol, tomando uno de ellos como control.

Las dosis de ATBO elegidas fueron 2,33 ; 4,66 ; 9,33 ; 18,67 ; 28 y 37,34 mg/kg i.p., así como sus equimoleculares de metamizol de 6,25 ; 12,5 ; 25 ; 50 ; 75 y 100 mg/kg p.o..

Asímismo, se ensayó la dosis efectiva 50 de ATBO (DE 50) (5,57 mg/kg), sola y asociada con metamizol a dosis de 6,25 mg/kg administradas simultáneamente. Para este estudio se

emplearon veinte animales.

Los lotes controles fueron pretratados con el disolvente del ATBO (agua destilada). Tanto el vehículo como las sustancias a estudiar se administraron en un volumen de 10 ml/kg, que se mantuvo constante en todas las experiencias. La vía de administración fue la misma que la utilizada en la experiencia anterior.

El agente nociceptivo (ácido acético al 0,6 %), se administró i.p. al mismo volumen y a los diez minutos de la administración de la sustancia a ensayar.

El parámetro valorado fue el número de contorsiones abdominales que exhibió el animal durante los 15 minutos posteriores a los 5 minutos de la administración del agente nociceptivo (28).

2-AMINO-5-TERT-BUTIL-2-OXAZOLINA Y METAMIZOL. PLANCHA CALIENTE.

En este caso, se emplearon once lotes de ratones, uno de los cuales se utilizó como control. Los lotes restantes

fueron pretratados con ATBO a las dosis de 4,66 ; 9,33 ; 18,67 ; 28 ; 37,34 y 46,68 mg/kg i.p., y las equimoleculares de metamizol de 50 ; 75 ; 100 y 125 mg/kg p.o. Dosis inferiores de metamizol equimoleculares con 4,66 y 9,33 mg/kg de ATBO no fueron ensayadas habida cuenta de la ineffectividad del metamizol en este test.

Por otra parte, se estudió en este test el efecto de la DE 50 de ATBO (8,57 mg/kg), sólo y asociado con metamizol 50 mg/kg administradas simultáneamente. Para ello se utilizaron veinte animales.

En este test, se determinó el tiempo de reacción de los ratones colocados sobre una plancha caliente a $55 \pm 0,1$ grado C temperatura que se mantenía constante mediante un termostato (49).

Sobre la plancha SOCREL Model-DS 37 de 25 x 25 x 1 cm., se colocaba un cilindro de metacrilato de 18 cm. de altura y 20 cm. de diámetro, abierto por ambos extremos que impide el escape del animal permitiendo su visualización.

Los parámetros valorados fueron el lamido de las patas anteriores y posteriores. El tiempo máximo de permanencia sobre la plancha fue de 60 segundos (asignando el valor 60 a los que

permanecían más de ese tiempo), a partir de los cuales si el animal no había presentado reacción , se le retiraba de la plancha para evitar el daño de los tejidos (54).

2-AMINO-5-TERT-BUTIL-2-OXAZOLINA Y METAMIZOL. TAIL-FLICK.

En este test se emplearon trece lotes de ratas macho ; uno de los lotes se utilizó como control y recibió sólo agua destilada, y los doce restantes recibieron como pretratamiento ATBO a dosis de 2,33 ; 4,66 ; 9,33 ; 18,67 ; 28 y 37,34 mg/kg i.p. y sus equimoleculares de metamizol a dosis de 6,25 ; 12,5 ; 25 ; 50 ; 75 y 100 mg/kg p.o. El volumen de administración se mantuvo constante en todas las experiencias (0,5 ml / 250 g.).

En esta experiencia el animal actúa como su propio control, puesto que se realizaban las medidas de todos los tiempos en un mismo lote.

En este estudio se ha seguido una de las múltiples modificaciones que ha sufrido el método original (60). En ella un haz de luz de intensidad prefijada, para obtener un

valor basal entre 3 - 5 seg., incide sobre el tercio distal de la cola del animal, valorándose el tiempo que tarda el animal en retirar la cola de dicho haz. El tiempo máximo de exposición fue de 15 segundos (124).

Para la realización de este test, se introducían los animales en un cepo dejando libre la cola, permitiendo la movilidad de la misma. Es conveniente cerciorarse de que la cola esté en perfecto estado antes de empezar la prueba y que el animal esté tranquilo.

Este test por sí mismo supone un estrés para el animal debido a la inmovilidad a la que están sometidos y por lo extraño del ambiente en que se realiza (125), estrés que puede influir en los resultados obtenidos (126, 127). Para evitar esta eventualidad se realiza un período de acostumbramiento al cepo. Dicha adaptación se obtiene introduciendo al animal en el cepo los tres días previos al ensayo, durante diez minutos, al cuarto día se realiza la prueba con las sustancias motivo de estudio. Estas experiencias se realizaron en un Analgesimeter LETICA LI 7100.

La respuesta basal se obtuvo de la media de tres determinaciones con un intervalo de 30 segundos. Tras la

administración de la sustancia a estudiar, se valoró el efecto a los 10, 30 y 60 minutos.

ESTUDIO DE LA MEDIACION OPIACEA EN LA ACCION NOCICEPTIVA DE LA 2-AMINO-5-TERT-BUTIL-2-OXAZOLINA.

El estudio de la mediación opiácea se realizó con los tests de ácido acético y plancha caliente. En ambos tests se utilizó el antagonista naloxona.

La vía de administración utilizada fue la subcutánea, en un volumen de 10 ml/kg. El disolvente utilizado fue en todos los casos agua destilada.

En el test del ácido acético se utilizaron seis lotes de animales. Uno de los lotes se utilizó como control y a los restantes se les administró naloxona 1 mg/kg, sólo y asociada a ATBO 9,33 y 18,67 mg/kg.

Otra dosis de naloxona utilizada fue la de 2 mg/kg, pero en este caso, la dosis utilizada de ATBO fue la dosis efectiva 50 (DE 50) que en el test del ácido acético se

corresponde con 5'57 mg/kg. En este caso se utilizaron cuatro lotes de animales, uno de ellos sirvió como control.

Asímismo se estudió el efecto de la morfina a la dosis de 1 mg/kg, sólo y asociada con la DE 50 de ATBO, dividiendo a los animales en cuatro lotes.

En el test de la plancha caliente se utilizaron cuatro lotes de animales utilizando uno de ellos como control. Los restantes recibieron morfina 1mg/kg, sólo y asociada con la DE 50 de ATBO, que en el caso de la plancha caliente se corresponde con 8,57 mg/kg. Para el estudio del antagonismo, en este test se ensayó la naloxona (1 mg/kg s.c.), administrada como único tratamiento y asociada con la dosis superior de ATBO (28 mg/kg). En este ensayo se dividieron a los animales en cuatro lotes.

En ambos tests el antagonista se administró veinte minutos antes de la sustancia a ensayar y la valoración se realizó en ambos casos a los 10 minutos de la administración del ATBO, siguiendo la misma sistemática y métodos de valoración utilizados anteriormente.

1-FENIL-IMIDAZOLINA-2-TIONA (FIT) Y METAMIZOL. TEST DEL ACIDO ACETICO.

Para el estudio de la acción antinociceptiva de la 1-fenil-imidazolina-2-tiona se siguió en líneas generales la sistemática descrita para el caso del ATBO (28).

En este caso, se emplearon cinco lotes de animales, uno de los cuales se tomó como control que fue pretratado con el disolvente (agua destilada).

Los lotes restantes fueron pretratados con FIT a las dosis de 42,33 ; 63,50 y 105,84 mg/kg i.p., equimoleculares con las de metamizol de 50 ; 75 ; 100 y 125 mg/kg p.o.

Para el estudio de esta sustancia se siguió la misma sistemática utilizada en el caso del ATBO.

1-FENIL-IMIDAZOLINA-2-TIONA Y METAMIZOL. PLANCHA CALIENTE.

Los animales se dividieron en cuatro lotes, de los

cuales uno se utilizó como control. Los lotes restantes recibieron FIT a las dosis de 63,50 ; 84,67 y 105,84 mg/kg . i.p., equimoleculares con 75 ; 100 y 125 mg/kg de metamizol, valorándose el efecto al mismo tiempo posttratamiento que en el test de las contorsiones.

Los parámetros valorados, temperatura de la plancha y tiempo de exposición (cut-off), fueron los mismos que los utilizados para el ensayo con ATBO.

TESTS COMPLEMENTARIOS.

En los tests de la chimenea, barra fija y la planche a trous se utilizaron ocho lotes de animales de los utilizados en el test de las contorsiones inducidas por ácido acético, tras la administración del ATBO y antes de la administración del agente alógeno. Por otro lado, un lote independiente se utilizó como control.

ACTIVIDAD MOTORA.

La actividad motora se valoró mediante un Actímetro (LI 3000, conectado a un registrador (LE 3333). Durante todo el estudio, los animales permanecieron dentro de la caja.

Los movimientos de los animales controles y tratados se registraron cada 5 minutos durante un período de 35 minutos, contabilizándose durante este tiempo los desplazamientos del animal.

En esta experiencia se utilizaron tres lotes de diez animales ; uno de los lotes se utilizó como control, y a los dos restantes se les administró agua destilada o ATBO. La dosis de ATBO ensayada fue la superior utilizada en el test del ácido acético (37,34 mg/kg i.p.), en un volumen de 10 ml/kg .

COORDINACION MOTORA

La valoración de este test se realizó en un rota-rod

LI 8500. Los animales se dividieron en dos lotes, utilizándose uno de ellos como control, y al otro se le administró ATBO a la dosis de 37,34 mg/kg i.p.

A todos los animales se les sometió a un período de entrenamiento al rota-rod a 5 r p m, tres veces al día, durante los tres días previos a la realización del test.

El cuarto día, antes de la realización del ensayo, se les administró el disolvente o la sustancia a ensayar. La permanencia en el rota-rod se valoró a los 0, 10, 30 y 60 minutos post-tratamiento.

Los animales controles eran capaces de mantenerse al menos durante 300 segundos en la barra rotatoria, sirviendo este tiempo como parámetro de valoración. La pérdida de equilibrio con tiempos más prolongados, puede estar influida por el cansancio del animal, aunque conserve su actividad motora.

TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS DATOS

Con los resultados obtenidos se procedió a realizar un estudio de la normalidad mediante el test de Kolmogorov-Smirnov, y homogeneidad de varianza mediante el test de Barlett.

En aquellos casos en los que se encontraron diferencias significativas en alguno de los dos estudios previos, se realizó la valoración global de los resultados mediante el test de Kruskal - Wallis. Si existía diferencia estadísticamente significativa en este test, la significación entre grupos se determinó mediante la U de Mann Whitney.

En aquellos casos en los que no se encontraron diferencias significativas en los tests de normalidad y homogeneidad de varianza, se realizó la valoración global de los resultados mediante análisis de varianza (ANOVA), determinando la significación entre grupos mediante los tests de Scheffé o LSD.

En las experiencias en las que se utilizó el animal como su propio control (tail-flick), se utilizó la fórmula del M.P.E. (Máximo Porcentaje del Efecto), con el fin de observar

más claramente el comportamiento de los diferentes grupos experimentales partiendo de una misma base.

Los nuevos valores obtenidos se sometieron a análisis de varianza de una o dos vías, y en la significación entre grupos se utilizó el test de la T de Wilcoxon.

$$\text{M.P.E.} = \frac{\text{Efecto Posttratamiento} - \text{Efecto Basal}}{\text{Tiempo (cut-off)} - \text{Efecto Basal}} \times 100$$

Se consideraron como significativos aquellos valores en los que el valor de p fue igual o menor de 0,05.

Asímismo, se valoraron estos resultados mediante análisis multivariante (MANOVA), que nos daba una mayor información. Sin embargo, debido a las interacciones que surgían entre las dosis y los tiempos ensayados, la interpretación de los resultados era difícil.

Para el tratamiento estadístico se utilizó el paquete estadístico SPSS / PC, y se utilizó una IBM-AT (128, 129).

Para el cálculo de la DE 50 de ATBO, se utilizó el test de Litchfield y Wilcoxon (130).

SUSTANCIAS EMPLEADAS

Las sustancias utilizadas fueron : 2-Amino-5-tert-butil-2-oxazolina y 1-Fenil-Imidazolina-2-tiona (Facultad de Química Orgánica), Acido acético glacial (Laboratorios D'Hemio, Madrid), Naloxona (Abelló), Metamizol Magnésico (Laboratorios Europharma S.A., Madrid) y Clorhidrato de Morfina (F.E. Unión Química Farmaceutica, S.A.C. Barcelona)

RESULTADOS

TESTS QUIMICOS

CONTORSIONES INDUCIDAS POR ACIDO ACETICO EN EL RATON.

Estudio de la actividad antinociceptiva del ATBO

La valoración global de los resultados mediante Análisis de Varianza (Kruskal-Wallis), demostró que el ATBO en el rango de dosis estudiado (2,33 a 37,34 mg/kg i.p.), exhibe un efecto antinociceptivo estadísticamente significativo ($p < 0,0007$).

Este efecto es dosis-dependiente, aunque no existen diferencias estadísticamente significativas entre las dosis superiores estudiadas (28 y 37,34 mg/kg) (figura 1, tabla 1).

El estudio comparativo entre las diferentes dosis mediante la U de Mann Whitney demostró que existía diferencia significativa entre 2,33 frente a 4,66 ; 9,33 y 18,67, siendo

los valores de P ($p < 0,02$; $0,002$ y $0,0008$), respectivamente, y entre 4,66 vs. 9,33 y 18,67 mg/kg con valores de $p < 0,05$ y $< 0,002$. A las dosis superiores (28 y 37,34 mg/kg), el efecto antinociceptivo fue del 100 %.

Este compuesto demostró mayor actividad que el metamizol, ya que la dosis más pequeña utilizada de ATBO (2,33 equimolecular con 6,25 mg/kg de metamizol), fue efectiva, mientras que con el metamizol a esta dosis no se evidenció efecto antinociceptivo significativo (tabla 2).

Estudio de la actividad antinociceptiva del Metamizol

En el test del ácido acético, el metamizol, a partir de la dosis de 12,5 mg/kg mostró actividad antinociceptiva, siendo la valoración global de los resultados estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

El efecto antinociceptivo fue dosis-dependiente en el rango de dosis estudiado (6,25 a 100 mg/kg) ($p < 0,05$) aunque no se encontró diferencias entre las dos dosis superiores

ensayadas (75 y 100 mg/kg) (figura 2, tabla 2).

Estudio de la actividad antinociceptiva del ATBO vs. Metamizol.

Con las dos dosis superiores ensayadas de ATBO (28 y 37,34 mg/kg, equimoleculares respectivamente con 75 y 100 mg/kg de metamizol), se obtuvo un porcentaje de inhibición de las contorsiones del 100 %, mientras que con el metamizol fue aproximadamente un 10 % menor.

A la dosis de 18,67 mg/kg (equimolecular con 50 mg/kg de metamizol), se obtuvo el 94'28 % de inhibición de las contorsiones, mientras que con el metamizol 50 mg/kg fue del 84,63 %, siendo el valor de $p < 0,05$.

Asímismo, existe un mayor porcentaje de inhibición de las contorsiones con la dosis de 9,33 mg/kg (94,20 %) que con su equimolecular de metamizol que corresponde a 25 mg/kg (59,9 %), siendo el valor de $p < 0,003$. (figura 3, tabla 3).

Estudio de la actividad antinociceptiva de la asociación de metamizol y la DE 50 de ATBO

En el estudio de la acción antinociceptiva de la DE 50 de ATBO (5,57 mg/kg) en animales pretratados con la dosis inferior de metamizol (6,25 mg/kg) - que era inefectiva en el test del ácido acético -, se demostró que el pretratamiento con metamizol produce un efecto sinérgico existiendo diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre los animales que recibían ATBO sólo y los pretratados con metamizol (figura 4, tabla 4).

Estudio de la actividad antinociceptiva de la asociación morfina y la DE 50 de ATBO

La valoración global de los resultados mediante Análisis de Varianza en el estudio de la acción antinociceptiva de la asociación de la DE 50 de ATBO (5,57 mg/kg) más morfina

1 mg/kg, fue estadísticamente significativa ($p < 0,0003$).

La comparación entre los grupos de animales pretratados con la asociación vs. los que recibieron ATBO sólo, fue estadísticamente significativa ($p < 0,01$) (figura 5, tabla 5).

No se encontró diferencia entre el grupo de animales que recibieron morfina o ATBO como único tratamiento, lo que sugiere que sea un efecto de tipo aditivo, ya que la morfina exhibe a esta dosis un gran efecto antinociceptivo.

Estudio del antagonismo por Naloxona

En este estudio, la naloxona a la dosis de 1 mg/kg muestra " per se " un efecto antinociceptivo ($p < 0.05$).

El pretratamiento con este antagonista opioide no modificó de forma estadísticamente significativa el efecto producido por ATBO a las dos dosis estudiadas (9,33 y 18,67 mg/kg) (figura 6, tabla 6).

Por otra parte, la naloxona 2 mg/kg exhibe igualmente

un efecto antinociceptivo " per se " ($p < 0,05$). La asociación de esta dosis con la DE 50 de ATBO (5,57 mg/kg), modificó el efecto de la DE 50 de ATBO de forma estadísticamente significativa ($p < 0,05$) (figura 7, tabla 7).

Estudio de la actividad antinociceptiva de la FIT

La FIT, exhibe en el test del ácido acético una acción antinociceptiva estadísticamente significativa en el rango de dosis ensayado (42,33 ; 63,50 ; 84,87 y 105,34 mg/kg), equimoleculares con las dosis de 50 ; 75 ; 100 y 125 mg/kg de metamizol, siendo los valores de P obtenidos $p < 0,02$ $p < 0,005$ y $p < 0,001$ respectivamente (figura 8, tabla 8).

La valoración global de los resultados entre las diferentes dosis de FIT, sólo presentó diferencias significativas entre la dosis inferior y las dos superiores 84,67 y 105,84 mg/kg ($p < 0,05$).

Estudio de la actividad antinociceptiva de la FIT vs. Metamizol

El estudio comparativo entre las dosis equimoleculares de FIT y metamizol, solamente arrojó diferencias estadísticamente significativas a las dosis inferiores de ambos (42,33 vs. 50 mg/kg), siendo el valor de $p < 0,05$, siendo el metamizol a esta dosis más efectivo disminuyendo las contorsiones que la FIT.

Sin embargo, a las dosis más altas de ambas sustancias (84,67 y 105,34 mg/k.), el efecto obtenido fue igual al observado con las dosis equimoleculares de metamizol.

Los resultados obtenidos en estos ensayos se recogen en la figura 9 y tabla 9.

TESTS FISICOS : BATERIA DE TESTS TERMICOS

TEST DE LA PLANCHA CALIENTE EN EL RATON

Estudio de la actividad antinociceptiva del ATBO

La valoración global de los resultados mediante análisis de varianza (ANOVA), demostró que el ATBO exhibe un efecto antinociceptivo prolongando el tiempo de lamido de las patas anteriores y posteriores a partir de la dosis de 9,33 mg/kg equimolecular con 25 mg/kg de metamizol ($p = 0$) (figura 10 y tabla 10). Los valores de significación estadística se recogen en la tabla 10.

En el lamido de las patas anteriores, el estudio comparativo entre las diferentes dosis, demostró que el efecto era dosis-dependiente con un nivel de $p < 0,05$, aunque no se observó diferencias entre 28 y 37,34 mg/kg.

En el lamido de las patas posteriores, el estudio

comparativo entre las diferentes dosis, también demostró esta dosis dependencia, existiendo diferencias significativas entre las diferentes dosis. Los valores individuales se recogen en la tabla 11.

Estudio de la acción antinociceptiva del Metamizol

El metamizol, en el rango de dosis estudiado (50 a 125 mg/kg), presentó valores estadísticamente significativos solamente a la dosis superior en el tiempo de lamido de las patas anteriores ($p < 0,02$). Sin embargo, no modificó el tiempo de lamido de las patas posteriores (figura 11, tabla 12).

Estudio de la actividad antinociceptiva del ATBO vs. Metamizol

El estudio comparativo entre las dosis equimoleculares de ATBO y metamizol, demostró que existían diferencias

significativas en el tiempo de latencia del lamido tanto de patas anteriores como posteriores ($p < 0,05$) (figura 12, tabla 13).

La DE 50 de ATBO, alarga el tiempo de lamido de las patas posteriores de forma estadísticamente significativa ($p < 0,05$). El pretratamiento con metamizol no modificó el efecto obtenido con la DE 50.

La comparación entre las dosis de ambos compuestos demostró que existía diferencia significativa entre ellos, en el lamido de las patas posteriores ($p < 0,05$), pero no en el de las anteriores (figura 13, tabla 14).

Estudio de la actividad antinociceptiva de la asociación de la dosis efectiva 50 de ATBO (DE 50) más Morfina

En este test, la morfina incrementó de forma estadísticamente significativa el tiempo de latencia del lamido de las patas anteriores y posteriores ($p < 0,03$) (tabla 15).

En la valoración global de los resultados mediante análisis de varianza, no se observan diferencias significativas

entre la DE 50 de ATBO sólo y asociado a morfina 1 mg/kg en el lamido de las patas anteriores.

En el lamido de las patas posteriores, al existir diferencias significativas en el test de homogeneidad de varianza, la valoración global de los resultados se realizó mediante el test de Kruskal-Wallis, siendo estadísticamente significativo ($p < 0,03$).

La comparación entre los diferentes grupos se realizó mediante la U de Mann-Whitney.

Entre los grupos de animales tratados sólo con ATBO o morfina de forma separada, no existían diferencias significativas. Sin embargo, el pretratamiento con morfina a los animales que recibieron la DE 50 de ATBO , vs. a los que se administró ATBO como único tratamiento, fue estadísticamente significativo ($p < 0,01$).

Existen asimismo, diferencias significativas entre la asociación (ATBO + morfina) y el control ($p < 0,042$).

Sin embargo, el efecto es poco valorable ya que no existen diferencias entre la asociación y la morfina sólo (figura 14, tabla 15).

Estudio del antagonismo por Naloxona

La naloxona (1 mg/kg) no exhibe en este test efecto analgésico o hiperalgésico " per se " estadísticamente significativo.

El pretratamiento con este antagonista a animales a los que se les administró ATBO a la dosis de 28 mg/kg, antagonizó parcialmente el efecto del ATBO.

El parámetro modificado de forma estadísticamente significativa, fue el lamido de las patas posteriores ($p < 0,05$).

Sin embargo, no fue estadísticamente significativo el antagonismo en el tiempo de lamido de las patas anteriores (figura 15, tabla 16).

Estudio de la actividad antinociceptiva de la FIT

La FIT sólo prolongó de forma estadísticamente



significativa ($p < 0,05$), el tiempo de lamido de las patas anteriores con la dosis superior ensayada (105,84 mg/kg, equimolecular con 125 mg/kg de metamizol) (figura 16, tabla 17).

Por otra parte, el estudio comparativo entre las dosis equimoleculares de FIT y metamizol, no fue estadísticamente significativo (figura 17, tabla 18).

TEST DE LA RETIRADA DE LA COLA EN LA RATA (TAIL-FLICK).

Estudio de la actividad antinociceptiva del ATBO

Los resultados obtenidos en estas experiencias vienen recogidos en la figura 18 y tabla 19.

La valoración estadística de estos resultados se realizó mediante el M.P.E. (Máximo Porcentaje del Efecto), utilizando la fórmula descrita en el apartado de material y métodos, seguido de la T de Wilcoxon.

De este estudio estadístico se puede concluir que el ATBO, exhibe un efecto antinociceptivo a las dosis de 18,67 ; 28 y 37,34 mg/kg ($p < 0,01$).

El estudio estadístico entre los diferentes tiempos demostró que, a las dosis de 18,67 y 28 mg/kg, existían diferencias entre los 10 y los 30 minutos, con un valor de $p < 0,02$ y $p < 0,01$ respectivamente, existiendo asimismo diferencias estadísticas entre los 10 y los 60 minutos con la dosis de 28 mg,/kg ($p < 0,01$) (figura 18).

A la dosis superior ensayada (37,34 mg/kg), no se encontró diferencia estadística entre los diferentes tiempos.

Estudio de la actividad antinociceptiva del Metamizol

Los resultados del pretratamiento con metamizol a dosis equimoleculares con ATBO, se recogen en las figuras 19 y 20 y tabla 20.

Para la valoración estadística de los resultados se siguió la misma metodología que en el caso del ATBO.

Del estudio estadístico se puede concluir que el metamizol exhibe un efecto antinociceptivo a todas las dosis estudiadas.

Los valores estadísticos globales mediante ANOVA de dos vías obtenidos fueron los siguientes : para la dosis de 6,25 ; 12,5 y 100 mg/kg ($p < 0,01$) y para las dosis de 25 ; 50 y 75 mg/kg fueron del orden de $p < 0,003$, $p < 0,005$ y $p < 0,06$ respectivamente (figuras 19 y 20).

Los valores estadísticos individuales obtenidos para las diferentes dosis y tiempos vienen reseñados en la tabla 20.

El estudio comparativo entre los diferentes tiempos demostró que no existían diferencias entre ellos.

Estudio de la actividad antinociceptiva del ATBO vs. Metamizol

El estudio estadístico comparativo entre las dosis equimoleculares de ambas sustancias ATBO vs. metamizol, demostró que sólo existen diferencias significativas entre la dosis de 50 mg/kg de metamizol y su equimolecular de ATBO (18,67

mg/kg) a los tres tiempos de posttratamiento. A la dosis de 75 mg/kg de metamizol vs. 28 mg/kg de ATBO, a los 30 y 60 minutos, y con la dosis superior de ambos, sólo existe diferencia significativa a los 60 minutos posttratamiento.

El grado de significación en todos los casos fue de $p < 0,05$. (figuras 21 y 22).

TESTS COMPLEMENTARIOS

Estudio de la Actividad y Coordinación Motoras

Los resultados obtenidos con ATBO a la dosis superior ensayada (37,34 mg/kg, equimolecular con 100 mg/kg de metamizol), que poseía efecto antinociceptivo estadísticamente significativo en los tests químicos, plancha caliente y tail-flick, nos demuestra que esta sustancia no modifica de forma estadísticamente significativa ni la coordinación ni la actividad motora (figura 23, tabla 21).

Asímismo, ni ATBO ni FIT, en el rango de dosis ensayado para el estudio de la antinocicepción, presentaron diferencias significativas en otros tests ensayados (planche a trous, barra fija y test de la chimenea).

FIGURAS Y TABLAS

TABLA 1. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DEL ATBO

TEST DEL ACIDO ACETICO

SUSTANCIA mg/kg	CONTORSIONES ABDOMINALES $\bar{X} \pm E.S.$
Agua destilada	39,7 \pm 4,6
ATBO 2,33 mg/kg	20,1 \pm 3,9 *
" 4,66 mg/kg	12,5 \pm 3,9 ***
" 9,33 mg/kg	2,3 \pm 1,3 ****
" 18,67 mg/kg	1,3 \pm 1,3 **
" 28,00 mg/kg	0,0 \pm 0,0
" 37,34 mg/kg	0,0 \pm 0,0

* P < 0,005 ** P < 0,001 *** P < 0,000 **** P < 0,0008

N = 10 animales por dosis.

TABLA 2. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DEL METAMIZOL

TEST DEL ACIDO ACETICO

SUSTANCIA	mg/kg	CONTORSIONES ABDOMINALES $\bar{X} \pm E.S.$
Agua destilada		39,7 \pm 4,6
METAMIZOL	6,25 mg/kg	28,6 \pm 1,8
"	12,5 mg/kg	23,0 \pm 3,6 *
"	25 mg/kg	15,9 \pm 3,4 ***
"	50 mg/kg	6,1 \pm 3,6 ****
"	75 mg/kg	3,4 \pm 1,2 **
"	100 mg/kg	3,8 \pm 1,9 **

* P < 0,02 ** P < 0,005 *** P < 0,001 **** P = 0
 N = 10 animales por dosis.

TABLA 3. COMPARACION DE MEDIAS ENTRE LAS DOSIS EQUIMOLECULARES DE ATBO Y METAMIZOL
EN EL TEST DEL ACIDO ACETICO

SUSTANCIA	mg/kg	CONTORSIONES ABDOMINALES $\bar{X} \pm E.S.$
ATBO	9,33 mg/kg	2,3 \pm 1,3
METAMIZOL 25	mg/kg	15,9 \pm 3,4
ATBO	18,67 mg/kg	1,3 \pm 1,3
METAMIZOL 50	mg/kg	6,1 \pm 3,6
ATBO	28 mg/kg	0,0 \pm 0,0
METAMIZOL 75	mg/kg	3,4 \pm 1,2
ATBO	37,34 mg/kg	0,0 \pm 0,0
METAMIZOL 100	mg/kg	3,8 \pm 1,9

TABLA 4. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DE LA DE50 ATBO + METAMIZOL
 TEST DEL ACIDO ACETICO

SUSTANCIA mg/kg	CONTORSIONES ABDOMINALES $\bar{X} \pm E.S.$
Agua destilada	39,7 \pm 4,6
METAMIZOL 6,25 mg/kg	28,6 \pm 1,8
ATBO DE50 (5,57 mg/kg)	* ** 9,2 \pm 1,9
METAMIZOL 6,25 mg/kg + ATBO DE50 (5,57 mg/kg)	4,6 \pm 1,9 ***

* P < 0,0002 ATBO VS METAMIZOL

** P < 0,05 DE 50 ATBO

*** P < 0,002 VS CONTROL

N= 10 Animales por dosis.

TABLA 5. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DE LA DE50 ATBO + MORFINA
TEST DEL ACIDO ACETICO

SUSTANCIA mg/kg	CONTORSIONES ABDOMINALES $\bar{X} \pm$ E.S.
Agua destilada	39,7 \pm 4,6
MORFINA 1 mg/kg	7 \pm 2,5 *
ATBO DE50 (5,57 mg/kg)	9,2 \pm 1,9 **
MORFINA 1 mg/kg + ATBO DE50 (5,57 mg/kg)	2,5 \pm 0,8 ***

* P < 0,002 VS CONTROL
 ** P < 0,001 VS CONTROL
 *** P < 0,01 VS DE 50 ATBO

N= 10 Animales por dosis.

TABLA 6. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DEL ATBO + NALOXONA 1 MG/KG

TEST DEL ACIDO ACETICO

SUSTANCIA	mg/kg	CONTORSIONES ABDOMINALES $\bar{X} \pm E.S.$
AGUA DESTILADA		39,7 \pm 4,6
NALOXONA	1 mg/kg	20 \pm 1,0 *
ATBO	9,33 mg/kg	2,3 \pm 1,3 **
NALOXONA ATBO	1 mg/kg + 9,33 mg/kg	3,4 \pm 2,1
ATBO	18,67 mg/kg	1,3 \pm 1,3
NALOXONA ATBO	1 mg/kg + 18,67 mg/kg	0,0 \pm 0,0

* P < 0,05 VS CONTROL

** P < 0,005 VS CONTROL

N= 10 Animales por dosis.

TABLA 7. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DE LA DE50 ATBO + NALOXONA 2 MG/KG

TEST DEL ACIDO ACETICO

SUSTANCIA mg/kg	CONTORSIONES ABDOMINALES $\bar{X} \pm E.S.$
AGUA DESTILADA	39,7 \pm 4,6
NALOXONA 2 mg/kg	18,1 \pm 2,7 *
ATBO DE50 (5,57 mg/kg)	9,2 \pm 1,9
NALOXONA 2 mg/kg + ATBO DE50 (5,57 mg/kg)	3,0 \pm 1,4 **

* P < 0,05 VS CONTROL
 ** P < 0,05 VS DE 50 ATBO

N= 10 Animales por dosis.

TABLA 8. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DE LA FIT
 EL EL TEST DEL ACIDO ACETICO

SUSTANCIA	mg/kg	CONTORSIONES ABDOMINALES $\bar{X} \pm E.S.$
Agua destilada		39,7 \pm 4,6
FIT	42,33 mg/kg	20 \pm 5,6 *
"	63,50 mg/kg	10,3 \pm 3,3 *
"	84,67 mg/kg	4 \pm 1,2 **
"	105,84 mg/kg	2,1 \pm 1,1 ***

* P < 0,02

** P < 0,005

*** P < 0,001

N= 10 Animales por dosis.

TABLA 9. COMPARACION DE MEDIAS ENTRE LAS DOSIS EQUIMOLECURALES DE FIT Y METAMIZOL EN
EN EL TEST DEL ACIDO ACETICO

SUSTANCIA mg/kg	CONTORSIONES ABDOMINALES $\bar{X} \pm E.S.$
FIT 42,33 mg/kg	20 \pm 5,6
METAMIZOL 50 mg/kg	6,1 \pm 3,6
FIT 63,50 mg/kg	10,3 \pm 3,3
METAMIZOL 75 mg/kg	3,4 \pm 1,2
FIT 84,67 mg/kg	4 \pm 1,2
METAMIZOL 100 mg/kg	3,8 \pm 1,9

N= 10 Animales por dosis.

TABLA 10. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DEL ATBO

TEST DE LA PLANCHA CALIENTE

SUSTANCIA mg/kg	LAMIDO PATAS ANTERIORES $\bar{X} \pm E.S.$	LAMIDO PATAS POSTERIORES $\bar{X} \pm E.S.$
Agua destilada	9,8 ± 0,9	19,85 ± 1,3
ATBO 4,66 mg/kg	10,8 ± 0,8	20,6 ± 3,3
ATBO 9,33 mg/kg	13,6 ± 1,2 **	24,1 ± 2,5 *
ATBO 18,67 mg/kg	16,6 ± 1,2 **	35,2 ± 2,7 *
ATBO 28 mg/kg	21,0 ± 1,4 ****	44,3 ± 4,5 ***
ATBO 37,34 mg/kg	20,9 ± 1,3 *****	50,0 ± 2,3 *****
ATBO 46,68 mg/kg	26,9 ± 1,8 *****	56,6 ± 1,5 *****

* P < 0,01 ** P < 0,005 *** P < 0,0005 **** P < 0,0002 ***** P = 0
N= 10 Animales por dosis.

TABLA 11. ESTUDIO ESTADISTICO COMPARATIVO ENTRE LAS DIFERENTES DOSIS DE ATBO EN EL TIEMPO DE LATENCIA DEL LAMIDO DE PATAS POSTERIORES EN LA PLANCHA CALIENTE.

DOSIS	4,66 mg/kg	9,33 mg/kg	18,67 mg/kg	28 mg/kg	37,34 mg/kg	46,68 mg/kg
,66 mg/kg	----	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,002	p < 0,001	p < 0,0003
,33 mg/kg	p < 0,05	----	N.S.	p < 0,005	p < 0,0003	p < 0,0002
8,67 mg/kg	p < 0,05	N.S.	----	p < 0,05	p < 0,0003	p < 0,0002
8 mg/kg	p < 0,002	p < 0,005	p < 0,05	----	N.S.	p < 0,05
7,34 mg/kg	p < 0,001	p < 0,0003	p < 0,0003	N.S.	----	p < 0,05
6,68 mg/kg	p < 0,0003	p < 0,0002	p < 0,0002	p < 0,05	p < 0,05	----

TABLA 12. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DEL METAMIZOL
TEST DE LA PLANCHA CALIENTE

SUSTANCIA mg/kg	LAMIDO PATAS ANTERIORES $\bar{X} \pm E.S.$	LAMIDO PATAS POSTERIORES $\bar{X} \pm E.S.$
Agua destilada	9,8 \pm 0,9	19,9 \pm 1,3
METAMIZOL 50 mg/kg	10,9 \pm 1,3	18,6 \pm 2,0
" 75 mg/kg	10,3 \pm 0,3	22,3 \pm 1,0
" 100 mg/kg	11,3 \pm 0,8	21,6 \pm 2,0
" 125 mg/kg	14,8 \pm 0,9 *	23,0 \pm 1,8

* P < 0,02

N= 10 Animales por dosis.

TABLA 13. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DEL ATBO VS. METAMIZOL

TEST DE LA PLANCHA CALIENTE

SUSTANCIA mg/kg	LAMIDO PATAS ANTERIORES $\bar{X} \pm E.S.$	LAMIDO PATAS POSTERIORES $\bar{X} \pm E.S.$
METAMIZOL 50 mg/kg	10,9 \pm 1,3	18,6 \pm 2,0
ATBO 18,67 mg/kg	16,6 \pm 1,1	35,2 \pm 2,7
METAMIZOL 75 mg/kg	10,3 \pm 0,3	22,3 \pm 1,0
ATBO 28 mg/kg	21,0 \pm 1,4	44,3 \pm 4,5
METAMIZOL 100 mg/kg	11,3 \pm 0,8	21,6 \pm 2,0
ATBO 37,34 mg/kg	20,9 \pm 1,3	50,0 \pm 2,3
METAMIZOL 125 mg/kg	14,8 \pm 0,9	23,0 \pm 1,8
ATBO 46,68 mg/kg	26,9 \pm 1,8	56,6 \pm 1,5

N= 10 Animales por dosis.

TABLA 14. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DE LA DE50 ATBO VS METAMIZOL
TEST DE LA PLANCHA CALIENTE

SUSTANCIA mg/kg	LAMIDO PATAS ANTERIORES $\bar{X} \pm E.S.$	LAMIDO PATAS POSTERIORES $\bar{X} \pm E.S.$
Agua destilada	9,8 \pm 0,9	19,9 \pm 1,3
METAMIZOL 50 mg/kg	10,9 \pm 1,3	18,6 \pm 2,0 *
ATBO DE50 (8,57 mg/kg)	10,4 \pm 0,8	23,6 \pm 1,3 **
METAMIZOL 50 mg/kg + ATBO DE50 (8,57 mg/kg)	11,0 \pm 0,7	24,1 \pm 2,2

* P < 0,05 VS DE 50 ATBO
** P < 0,05 VS CONTROL

N= 10 Animales por dosis.

TABLA 15. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DE LA DE50 ATBO + MORFINA
TEST DE LA PLANCHA CALIENTE

SUSTANCIA mg/kg	LAMIDO PATAS ANTERIORES $\bar{X} \pm E.S.$	LAMIDO PATAS POSTERIORES $\bar{X} \pm E.S.$
Agua destilada	9,8 \pm 0,9	19,9 \pm 1,3
MORFINA 1 mg/kg	12,9 \pm 0,9 *	28,2 \pm 3,9 *
ATBO DE50 (8,57 mg/kg)	10,4 \pm 0,8	23,6 \pm 1,3 ***
MORFINA 1 mg/kg + ATBO DE50 (8,57 mg/kg)	12,0 \pm 0,7 **	28,8 \pm 2,4 **

* P < 0,03 VS CONTROL

** P < 0,042 VS CONTROL

*** P < 0,01 ATBO VS MORFINA + ATBO

N= 10 Animales por dosis.

TABLA 16. ESTUDIO DEL ANTAGONISMO POR NALOXONA

TEST DE LA PLANCHA CALIENTE

SUSTANCIA mg/kg	LAMIDO PATAS ANTERIORES $\bar{X} \pm E.S.$	LAMIDO PATAS POSTERIORES $\bar{X} \pm E.S.$
Agua destilada	9,8 \pm 0,9	19,9 \pm 1,3
NALOXONA 1 mg/kg	8,2 \pm 1,1	12,7 \pm 1,6
ATBO 28 mg/kg	21,0 \pm 1,4 **	44,3 \pm 4,5 ***
NALOXONA 1 mg/kg + ATBO 28 mg/kg	17,2 \pm 1,3	27,1 \pm 2,0 *

* P < 0,05 VS ATBO

** P < 0,0005 VS CONTROL

*** P < 0,0002 VS CONTROL

N = 10 Animales por dosis.

TABLA 17. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DE LA 1FI2T
TEST DE LA PLANCHA CALIENTE

SUSTANCIA mg/kg	LAMIDO PATAS ANTERIORES $\bar{X} \pm E.S.$	LAMIDO PATAS POSTERIORES $\bar{X} \pm E.S.$
Agua destilada	9,8 \pm 0,9	19,9 \pm 1,3
FIT 63,50 mg/kg	10,8 \pm 0,7	17,7 \pm 1,3
" 84,67 mg/kg	9,5 \pm 0,6	20,6 \pm 1,8
" 105,84 mg/kg	11,3 \pm 0,5 *	22,5 \pm 1,4

* P < 0,05

N= 10 Animales por dosis.

TABLA 18. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DEL METAMIZOL VS. 1FI2T

TEST DE LA PLANCHA CALIENTE

SUSTANCIA mg/kg	LAMIDO PATAS ANTERIORES $\bar{X} \pm \text{E.S.}$	LAMIDO PATAS POSTERIORES $\bar{X} \pm \text{E.S.}$
METAMIZOL 75 mg/kg	10,3 \pm 0,3	22,3 \pm 0,9
FIT 63,50 mg/kg	10,8 \pm 0,7	17,7 \pm 1,3
METAMIZOL 100 mg/kg	11,3 \pm 0,8	21,6 \pm 2,0
FIT 84,67 mg/kg	9,5 \pm 0,6	20,6 \pm 1,8
METAMIZOL 125 mg/kg	14,8 \pm 0,9	23,0 \pm 1,8
FIT 105,84 mg/kg	11,3 \pm 0,5	22,5 \pm 1,4

N= 10 Animales por dosis.

TABLA 19. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DEL ATBO
TEST DEL TAIL-FLICK

SUSTANCIA mg/kg	BASAL	10 MIN.	30 MIN.	60 MIN.
AGUA DESTILADA	3,2 ± 0,3	4,5 ± 0,4	3,8 ± 0,4	4,3 ± 0,2
ATBO 2,33 mg/kg	5,1 ± 0,2	6,7 ± 0,3	5,6 ± 0,3	4,17 ± 0,2
" 4,66 mg/kg	5,1 ± 0,3	6,3 ± 0,4	5,5 ± 0,6	4,7 ± 0,2
" 9,33 mg/kg	3,2 ± 0,3	4,3 ± 0,4	4,2 ± 0,4	3,9 ± 0,4
" 18,67 mg/kg	4,5 ± 0,3	7,2 ± 0,9 *	9,0 ± 0,8 *	7,8 ± 0,8 *
" 28,00 mg/kg	4,9 ± 0,5	5,0 ± 0,5	9,6 ± 0,9 *	9,0 ± 1,4 *
" 37,34 mg/kg	4,9 ± 0,2	7,0 ± 0,8 **	7,5 ± 0,4 *	7,9 ± 0,6 *

* P < 0,01

** P < 0,04

N= 7 Animales por dosis.

TABLA 20. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DEL METAMIZOL
TEST DEL TAIL-FLICK

SUSTANCIA mg/kg	BASAL	10 MIN.	30 MIN.	60 MIN.
AGUA DESTILADA	3,2 ± 0,3	4,5 ± 0,4	3,8 ± 0,4	4,3 ± 0,2
METAMIZOL 6,25 mg/kg	3,9 ± 0,3	5,8 ± 0,4 *	6,3 ± 0,4 *	4,4 ± 0,4
" 12,5 mg/kg	4,0 ± 0,2	5,5 ± 0,3 *	6,1 ± 0,5 **	5,2 ± 0,2 *
" 25 mg/kg	3,9 ± 0,1	5,9 ± 0,3 *	6,8 ± 0,7 **	6,4 ± 0,5 *
" 50 mg/kg	3,4 ± 0,3	5,3 ± 0,5 *	5,02 ± 0,4 **	4,6 ± 0,3 **
" 75 mg/kg	3,9 ± 0,3	5,2 ± 0,1 *	6,2 ± 0,7 *	5,4 ± 0,5 *
" 100 mg/kg	5,5 ± 0,1	8,1 ± 0,4 ***	9,6 ± 0,6 *	7 ± 0,7 *

* P < 0,01 ** P < 0,02 *** P < 0,04
N = 7 Animales por dosis.

TABLA 21. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD MOTORA. ATBO

SUSTANCIA →	CONTROL	AGUA DESTILADA	ATBO 37,34 mg/kg
DESPLAZAMIENTOS ↓			
0-5 min.	300 ± 35	324,7 ± 36	260,4 ± 28
5-10 min.	275 ± 40	282,7 ± 25	279 ± 41
10-15 min.	225 ± 80	215 ± 16,80	231,7 ± 95
15-20 min.	300 ± 98	269,7 ± 37	284 ± 107
20-25 min.	202,2 ± 78	193 ± 21	200,8 ± 75
25-30 min.	180,7 ± 70	147,3 ± 35	204,6 ± 96
30-35 min.	120,3 ± 40	105,8 ± 24	163,5 ± 35

N= 10 Animales por dosis.

FIGURA 1 : TEST DEL ACIDO ACETICO ATBO

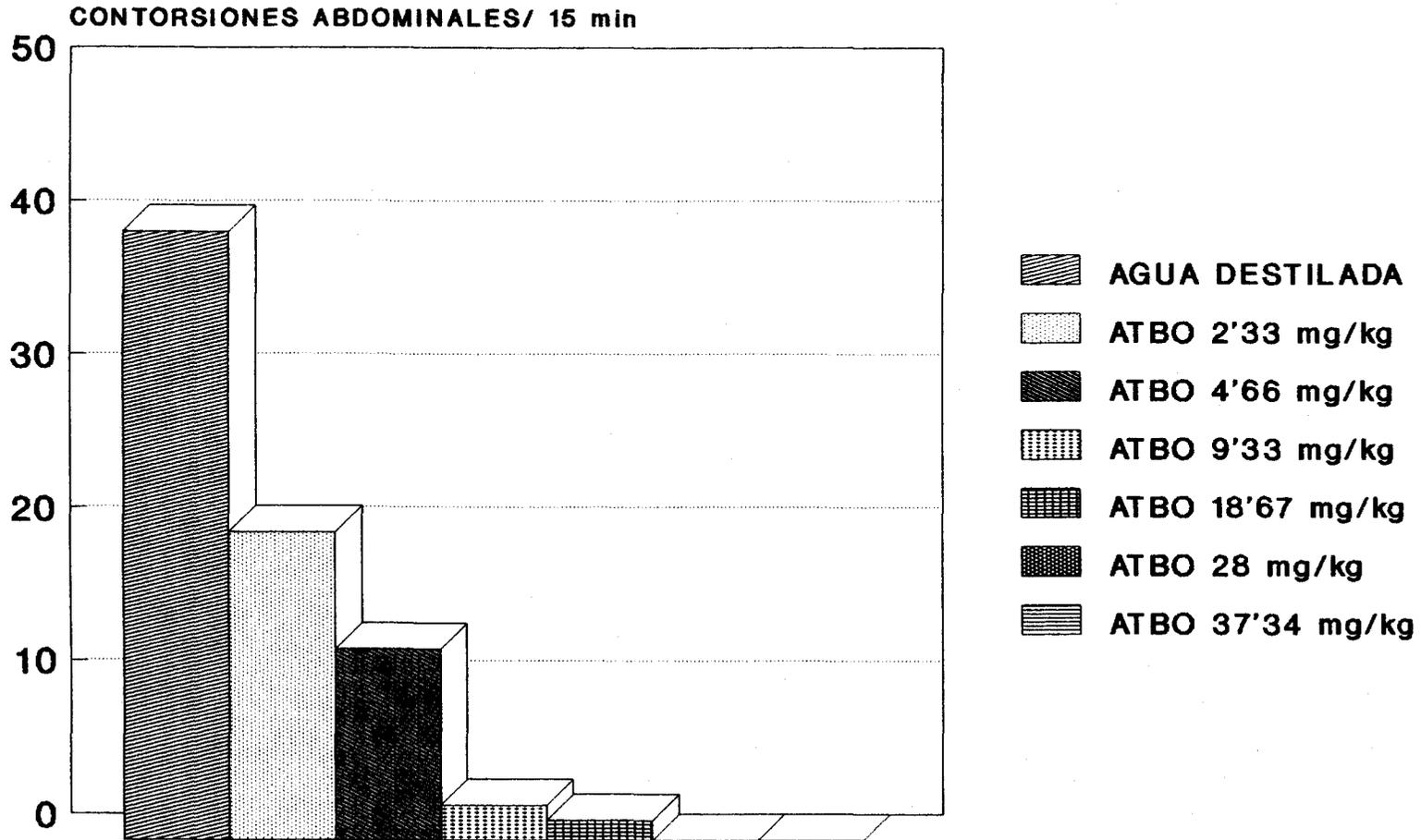


FIGURA 2 : TEST DEL ACIDO ACETICO METAMIZOL

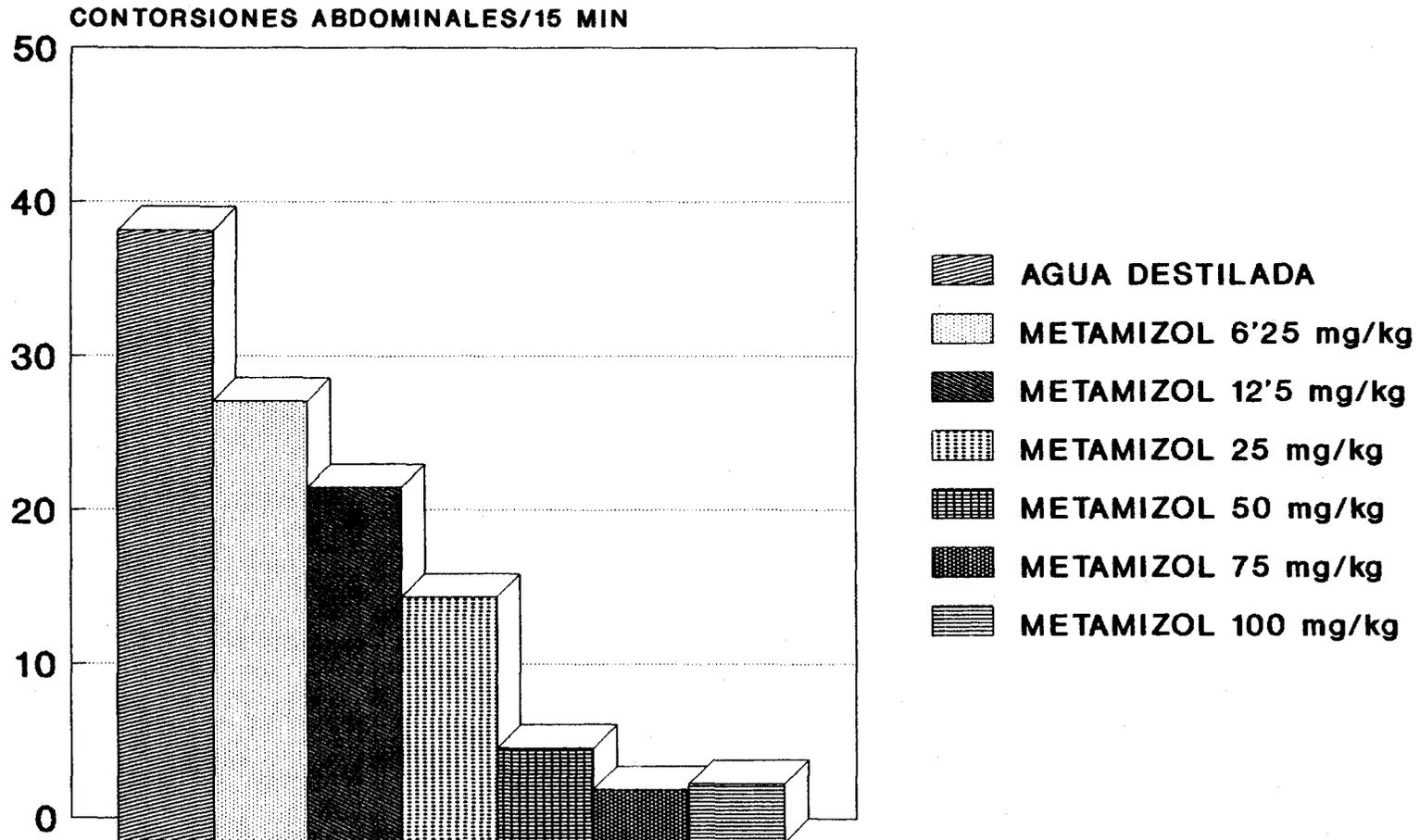
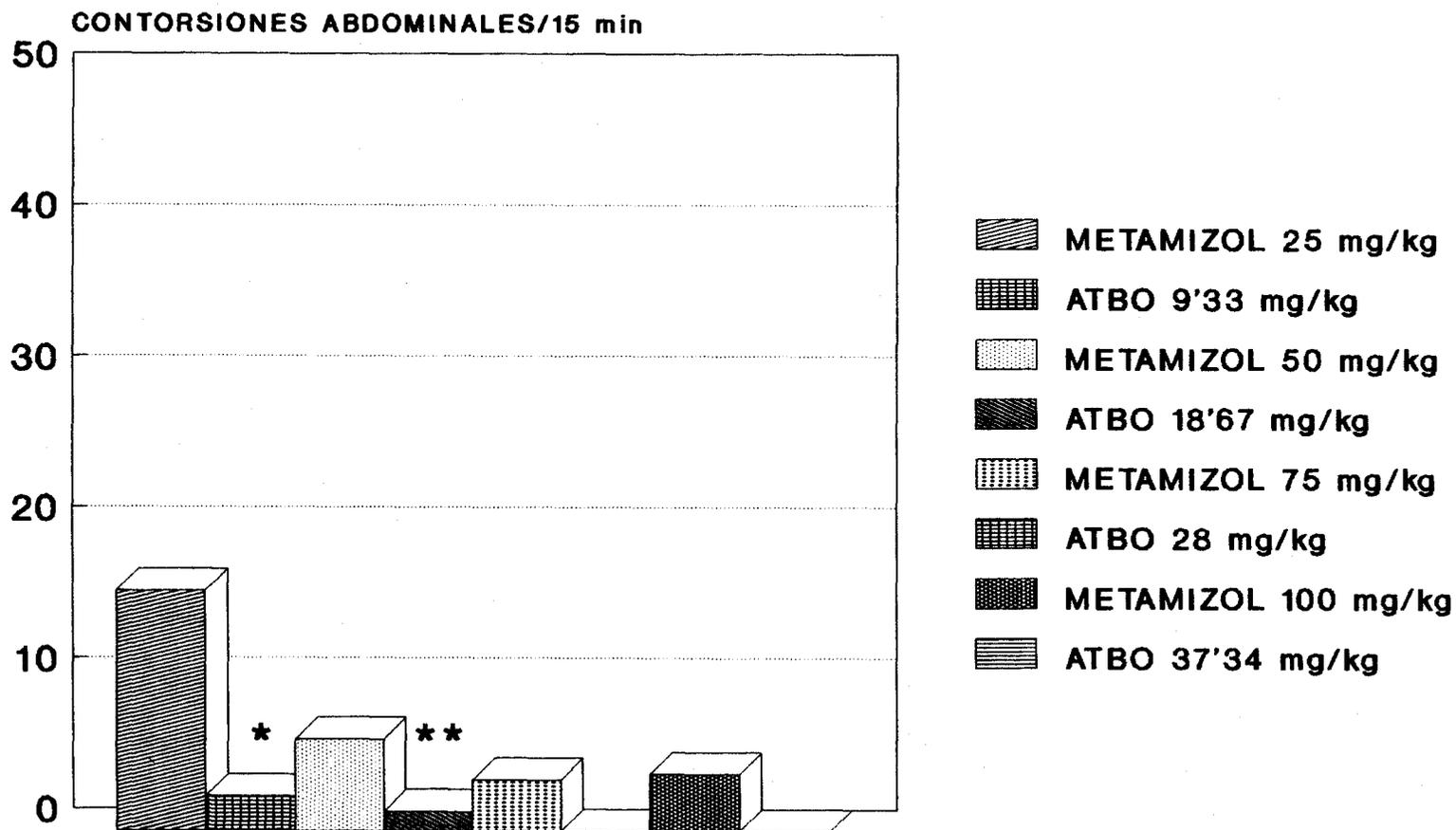


FIGURA 3 : TEST DEL ACIDO ACETICO METAMIZOL VS. ATBO



* $p < 0'003$ ATBO vs. METAMIZOL

** $p < 0'05$ ATBO vs. METAMIZOL

FIGURA 4: TEST DEL ACIDO ACETICO METAMIZOL + ATBO DE50

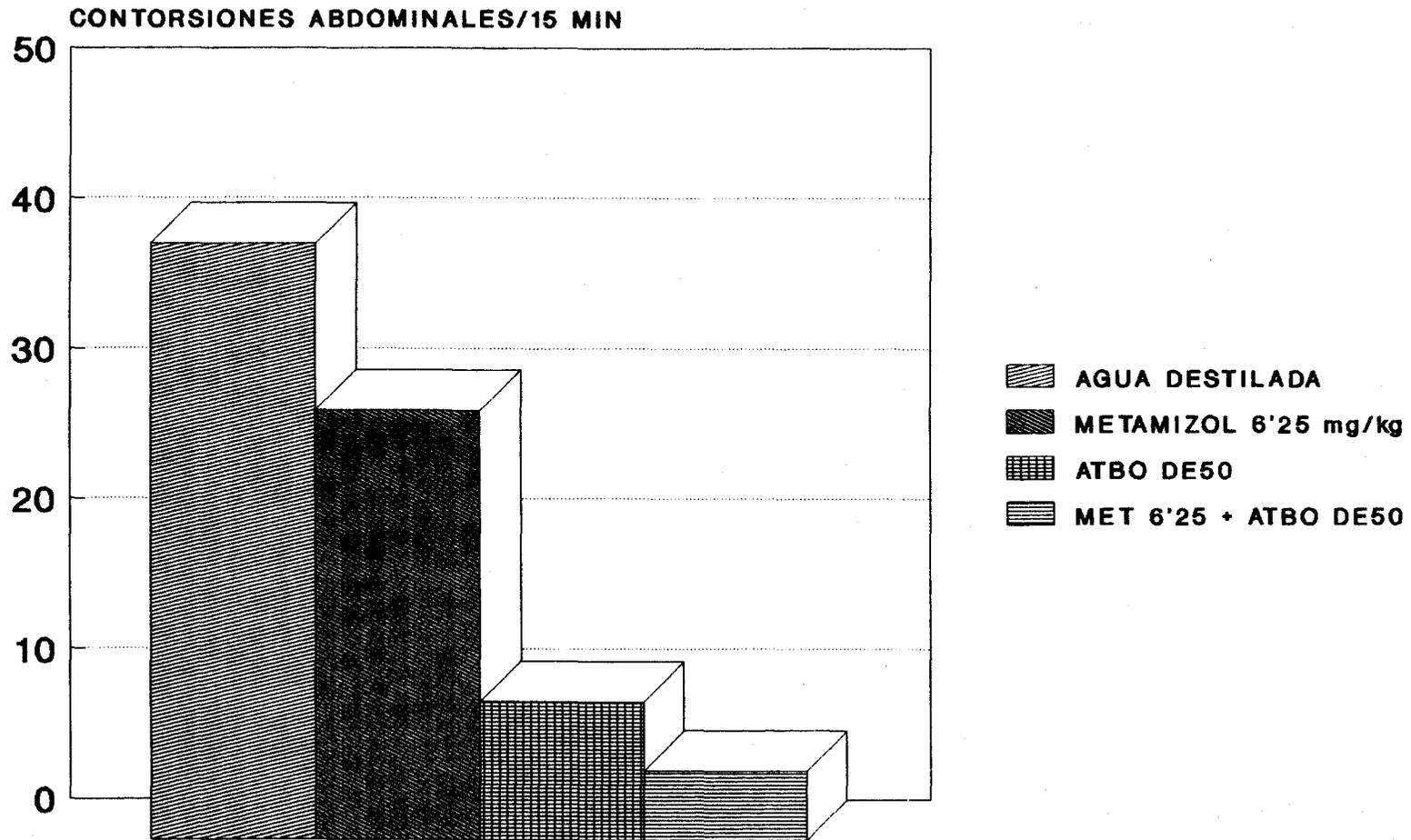


FIGURA 5 : TEST DEL ACIDO ACETICO MORFINA + ATBO DE50

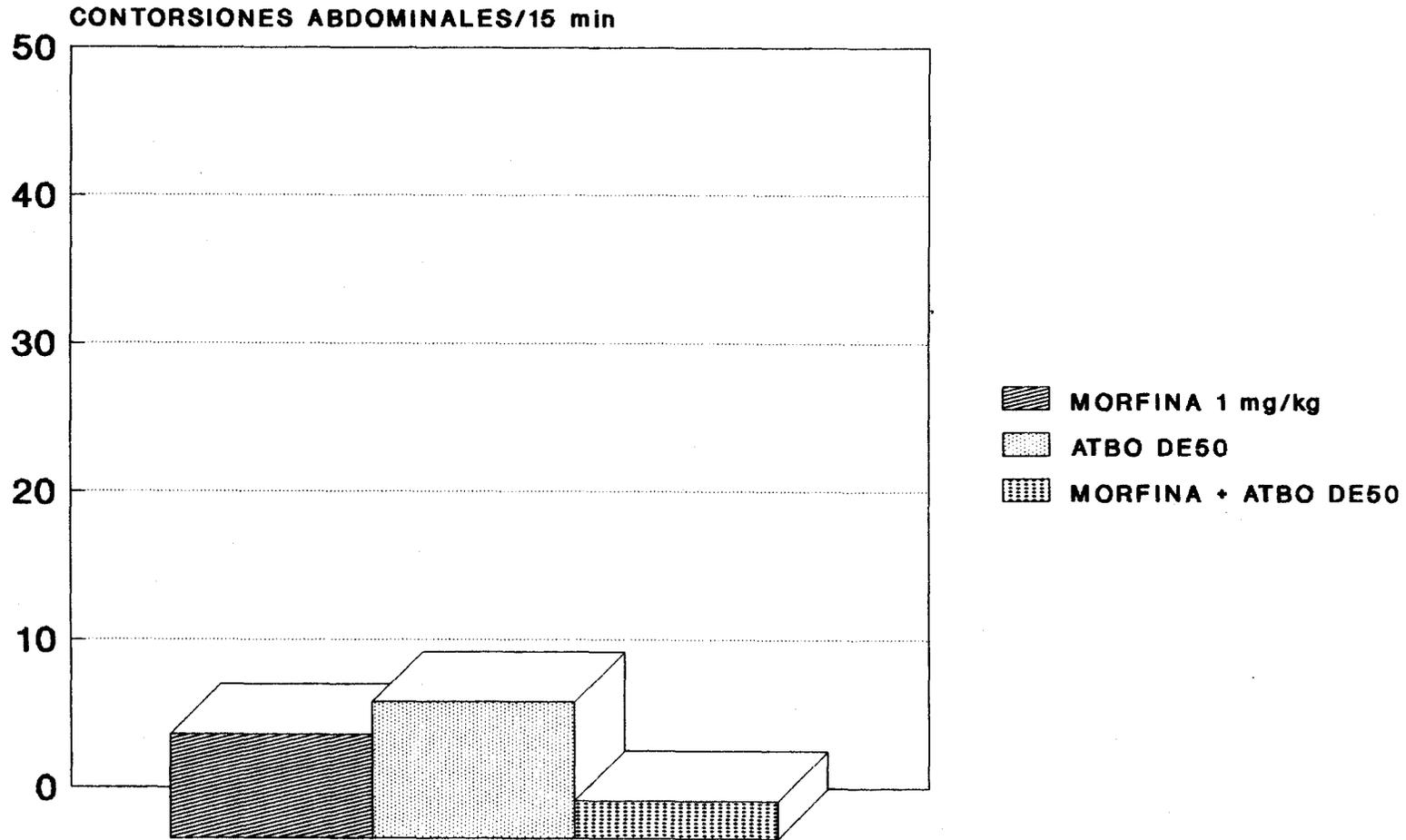


FIGURA 6 : TEST DEL ACIDO ACETICO NALOXONA 1 mg/kg + ATBO

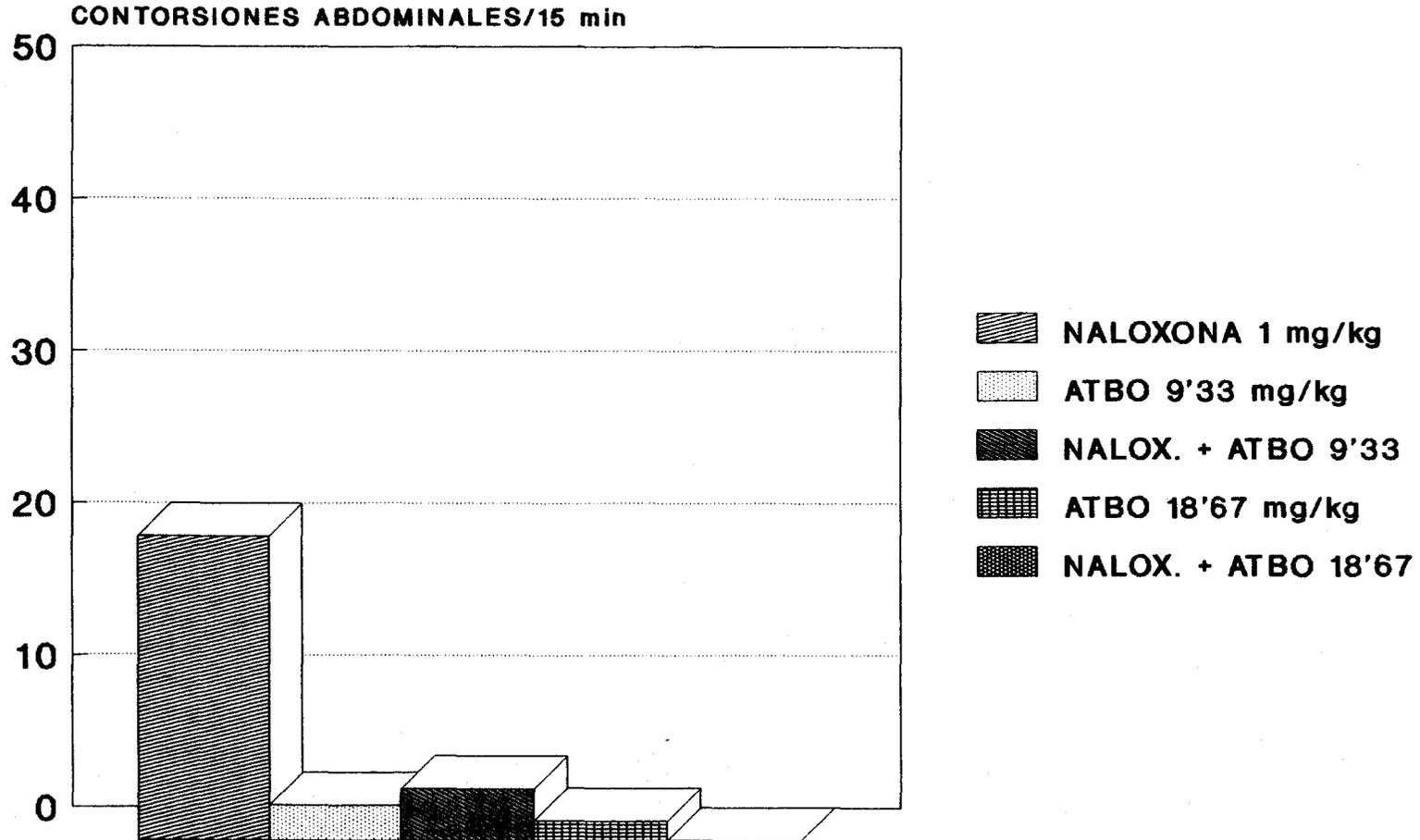


FIGURA 7 : TEST DEL ACIDO ACETICO NALOXONA 2 mg/kg + ATBO DE50

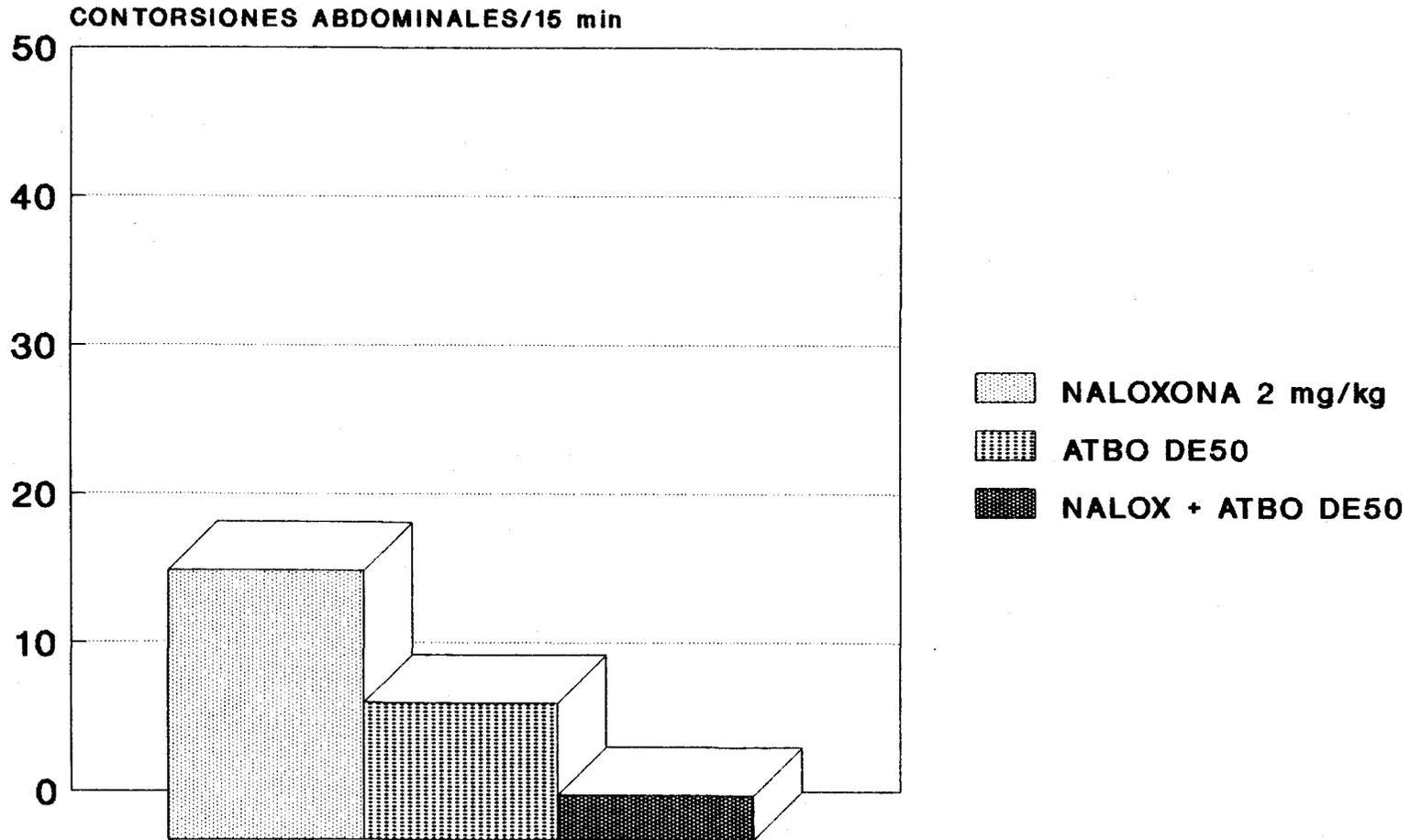


FIGURA 8 : TEST DEL ACIDO ACETICO FIT

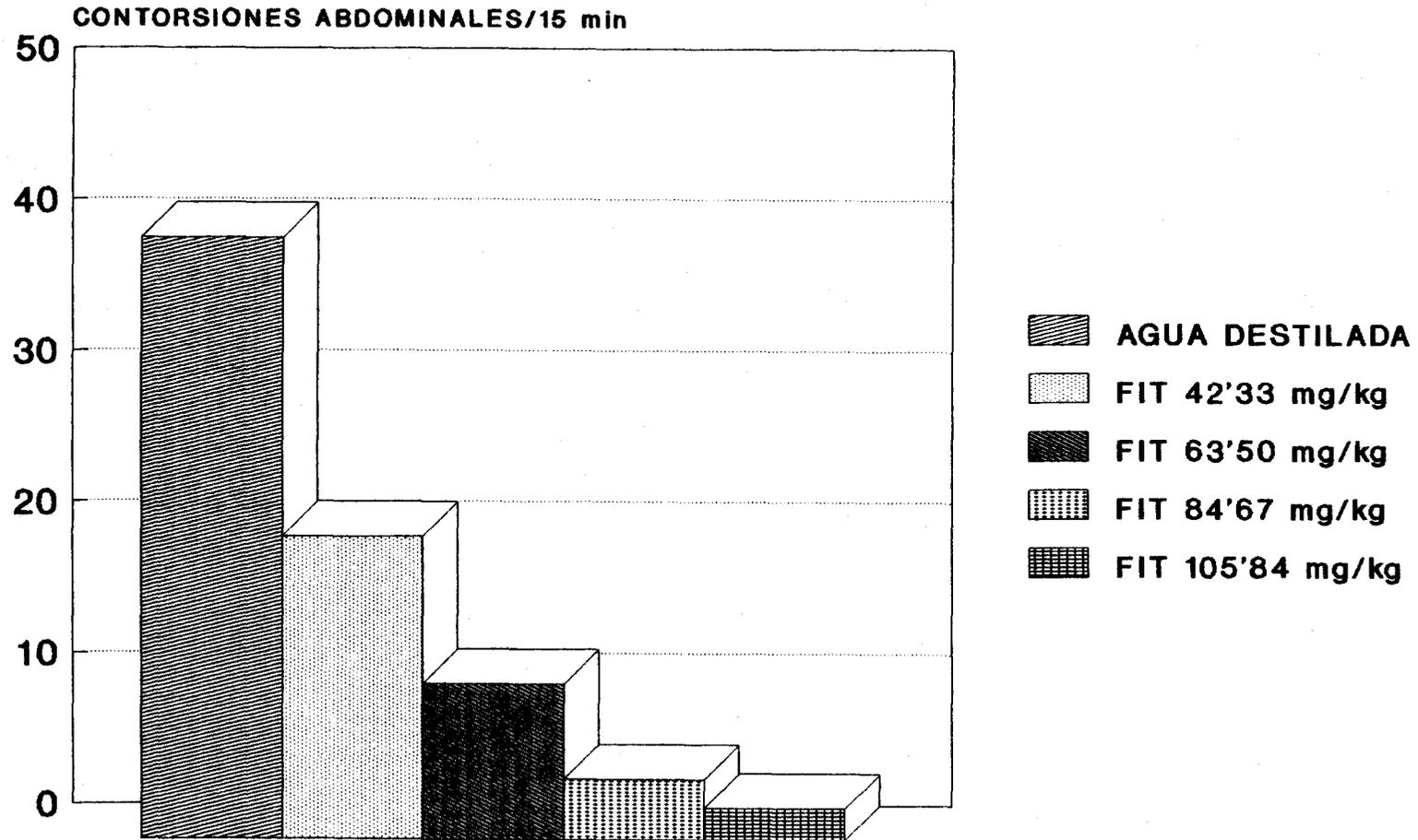
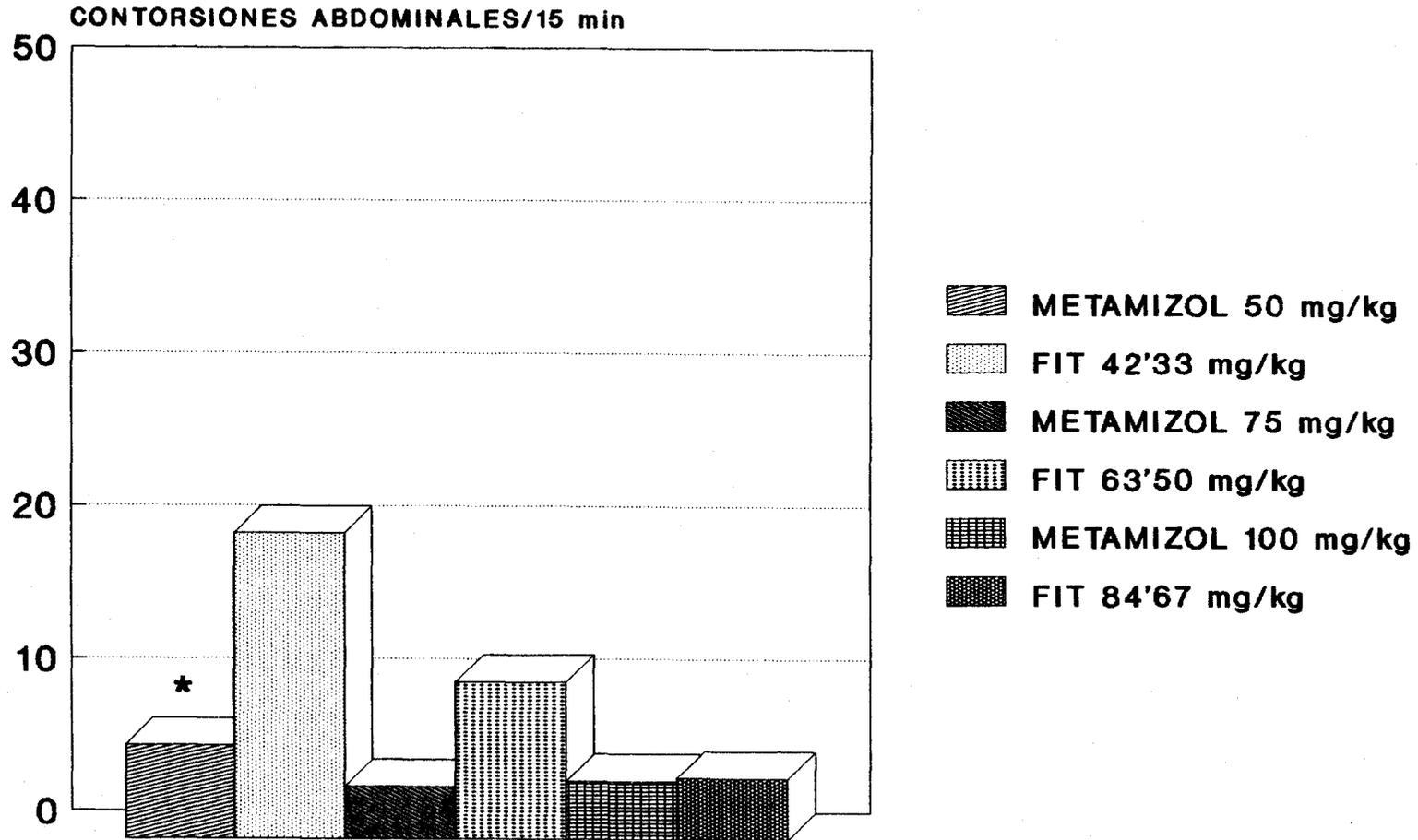


FIGURA 9 : TEST DEL ACIDO ACETICO METAMIZOL VS FIT



* p < 0'05 vs. FIT

FIGURA 10 : TEST DE LA PLANCHA CALIENTE ATBO

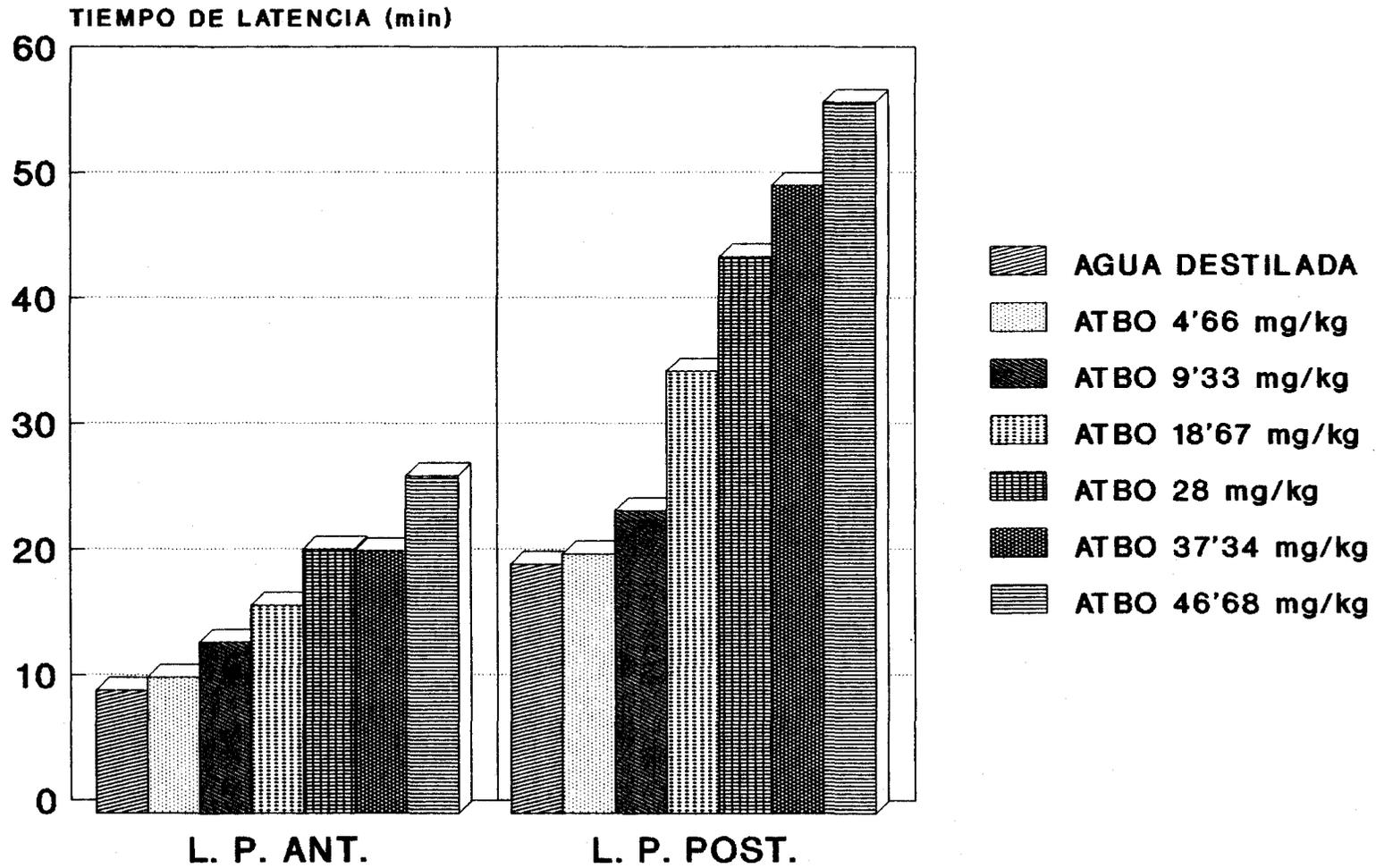


FIGURA 11 : TEST DE LA PLANCHA CALIENTE METAMIZOL

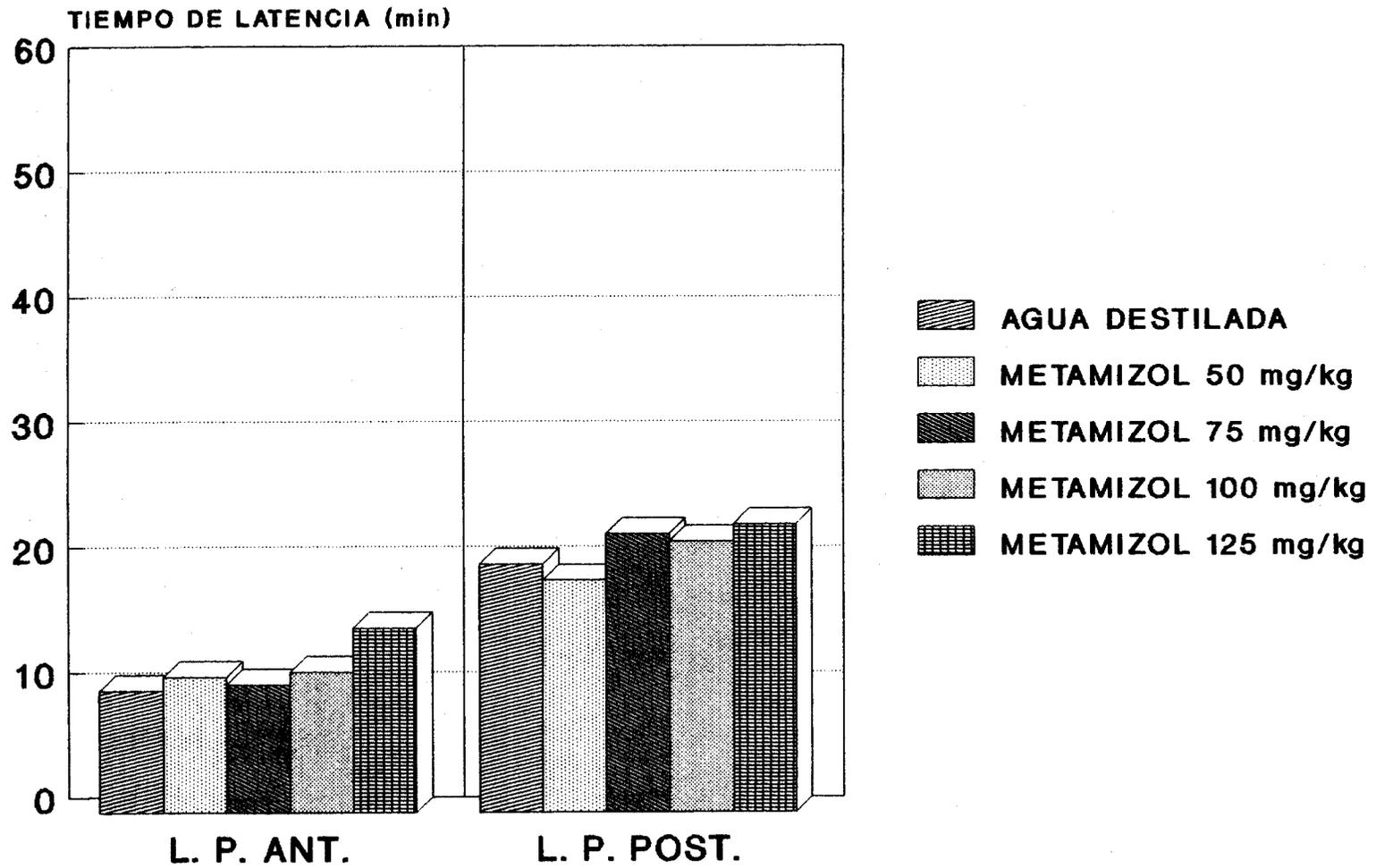


FIGURA 12 : TEST DE LA PLANCHA CALIENTE METAMIZOL VS. ATBO

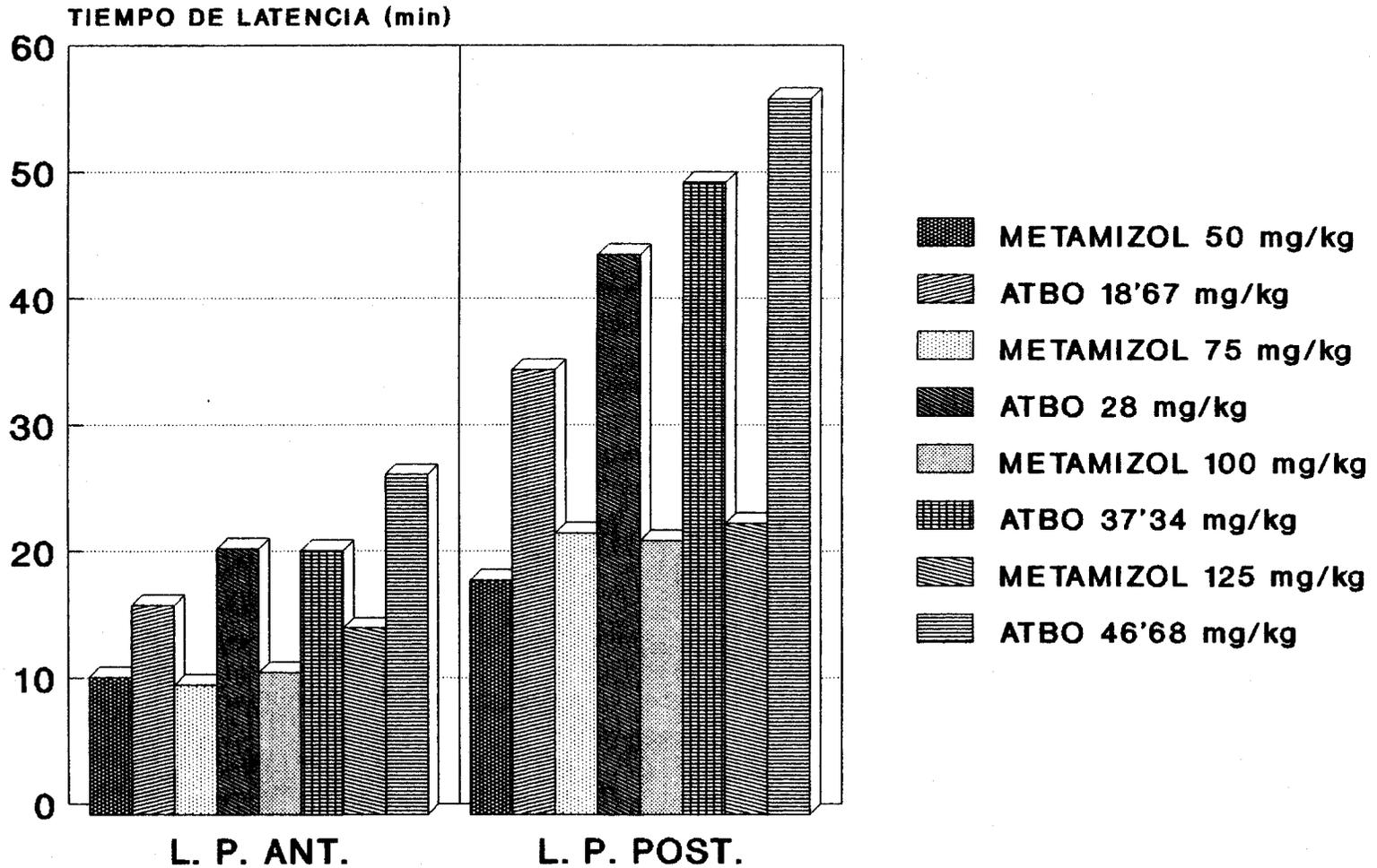


FIGURA 13 : TEST DE LA PLANCHA CALIENTE METAMIZOL 50 VS. ATBO DE50

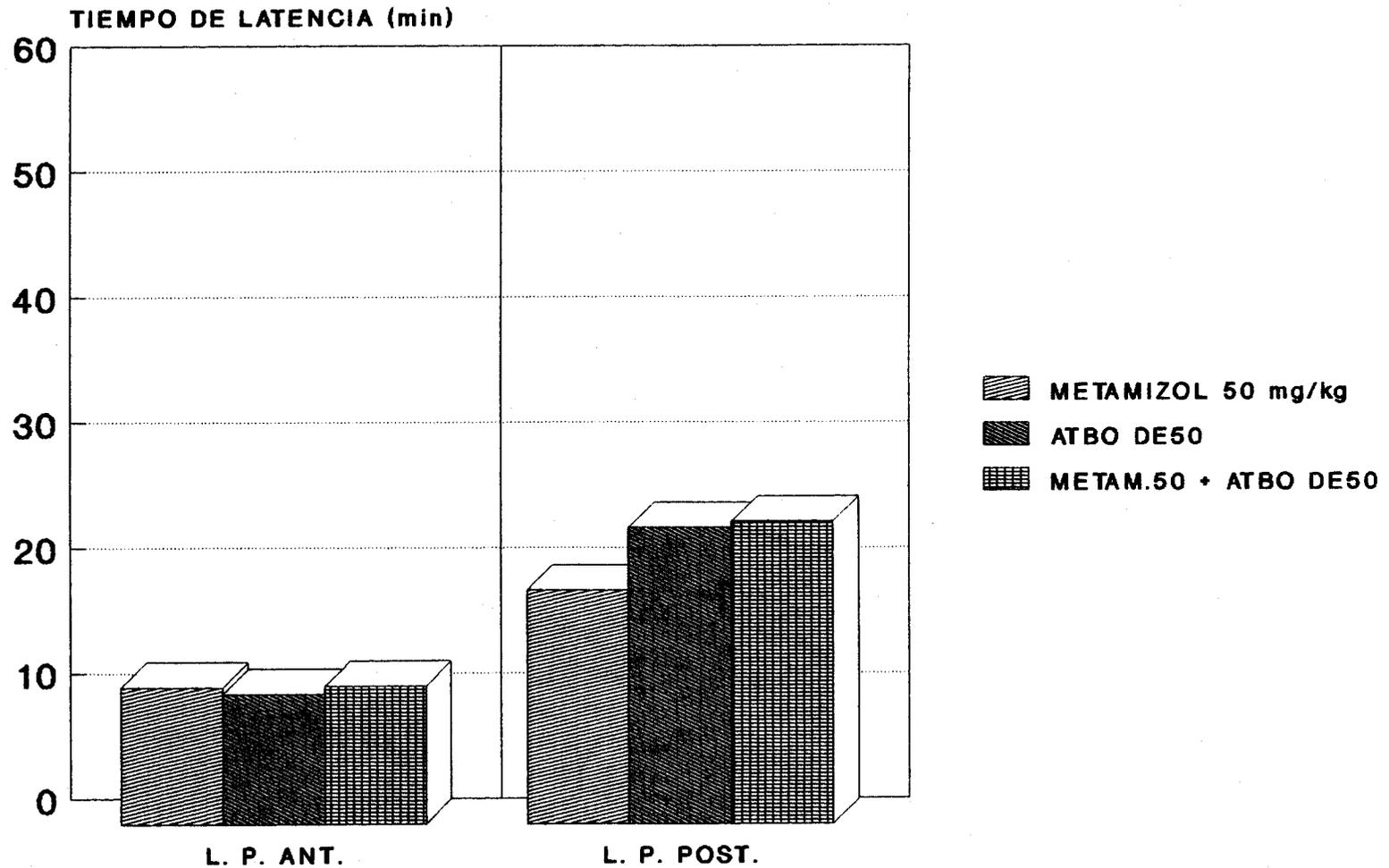


FIGURA 14 : TEST DE LA PLANCHA CALIENTE MORFINA VS. ATBO DE50

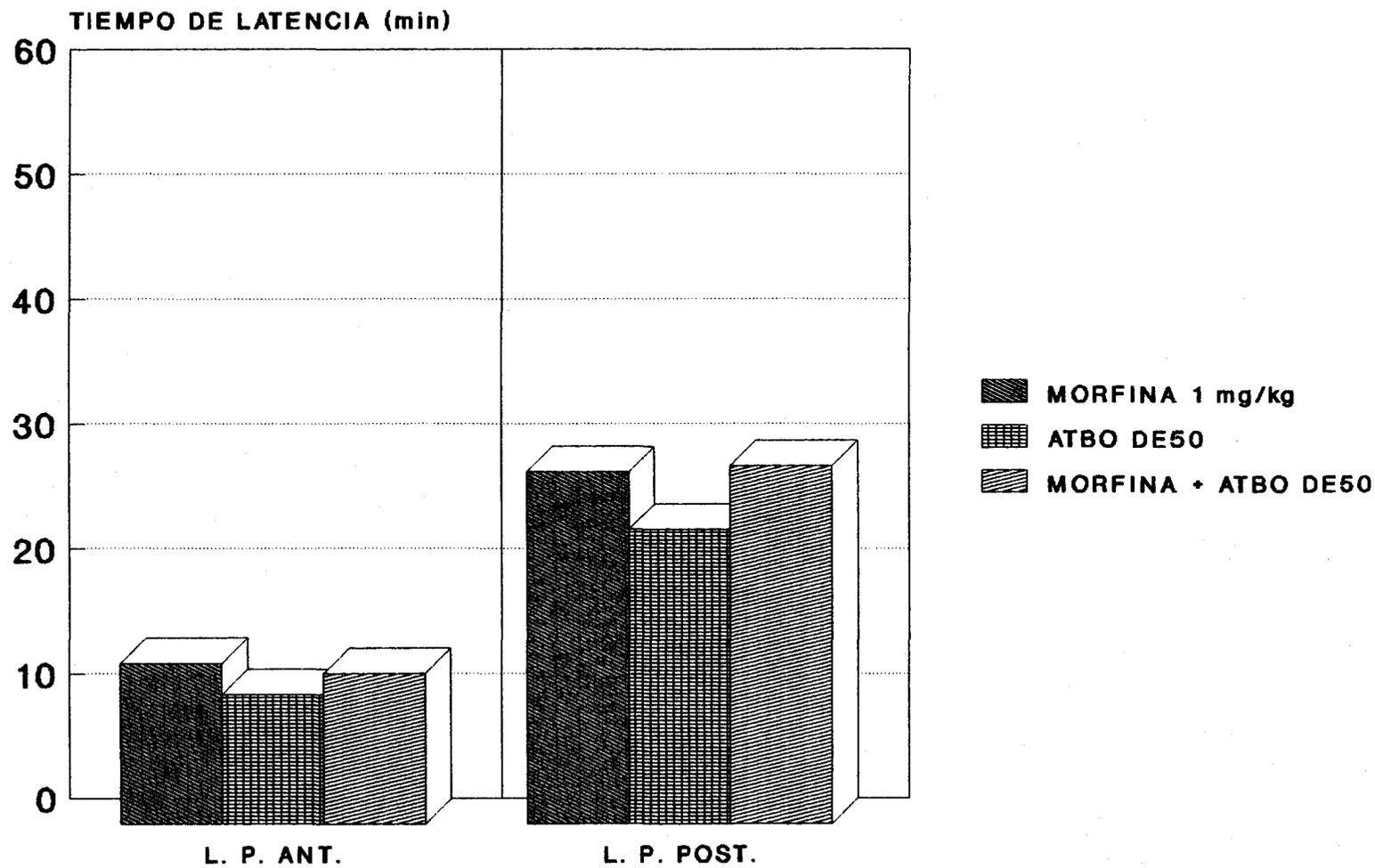


FIGURA 15 : TEST DE LA PLANCHA CALIENTE NALOXONA + ATBO

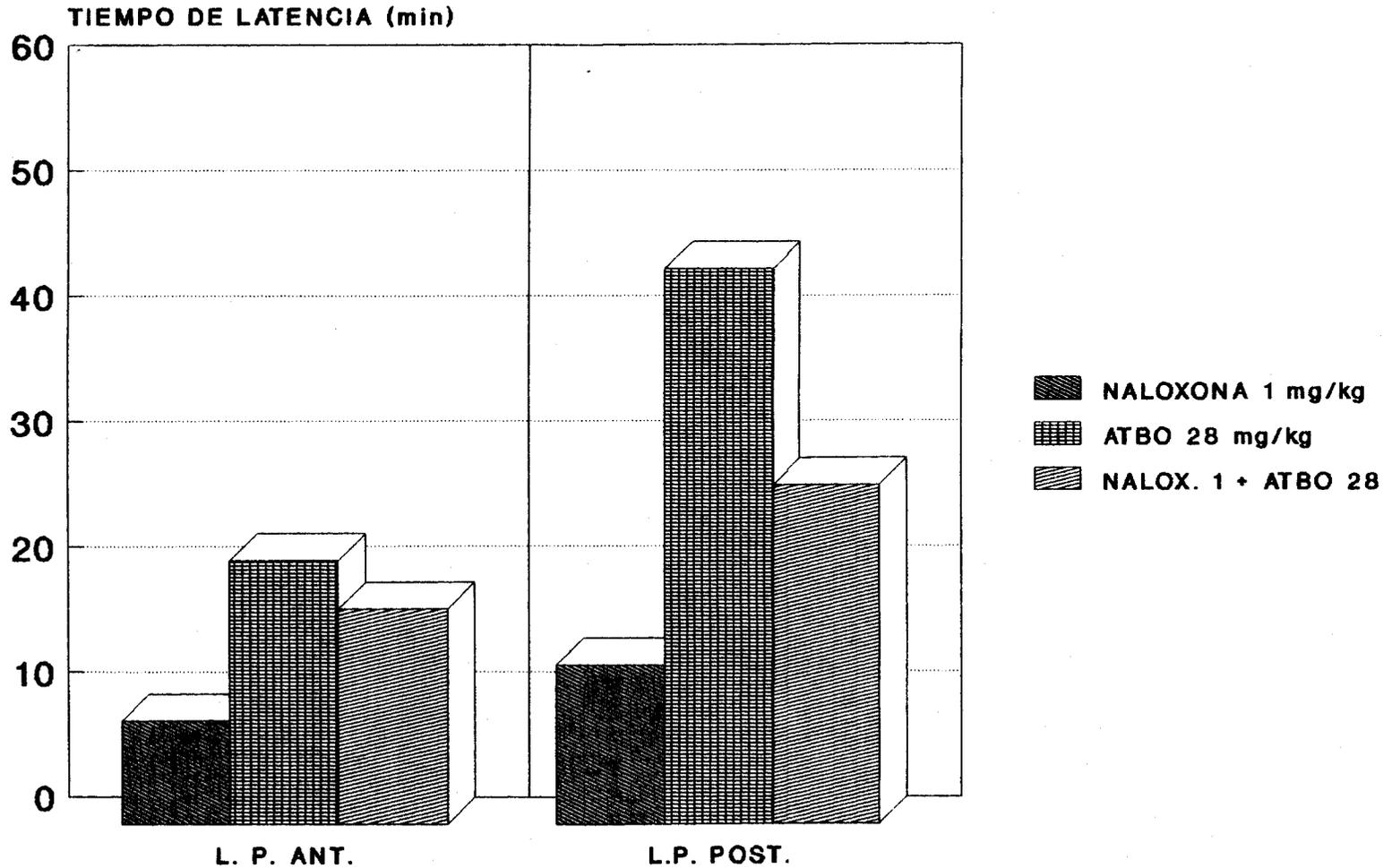


FIGURA 16 : TEST DE LA PLANCHA CALIENTE FIT

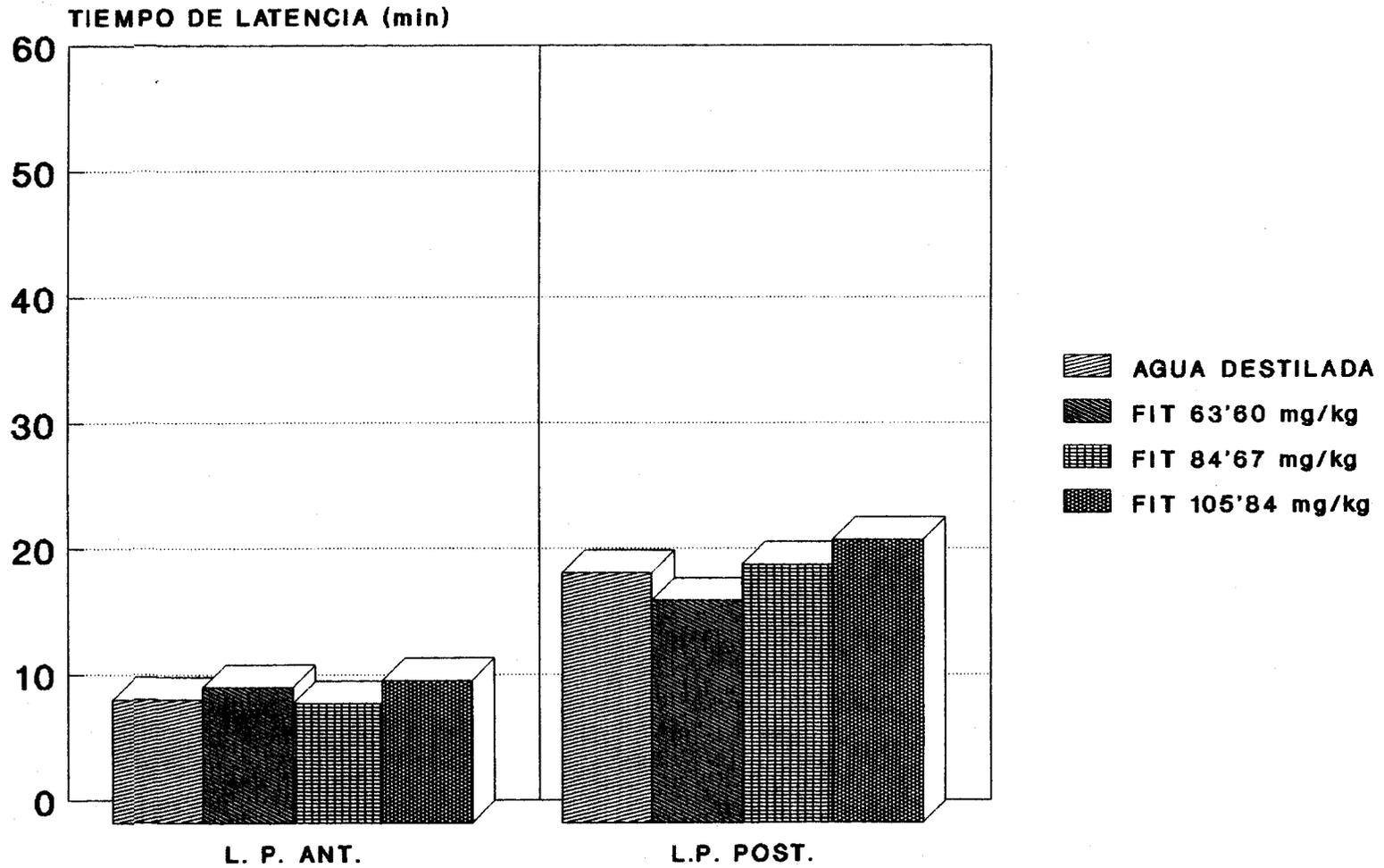


FIGURA 17: TEST DE LA PLANCHA CALIENTE METAMIZOL VS. FIT

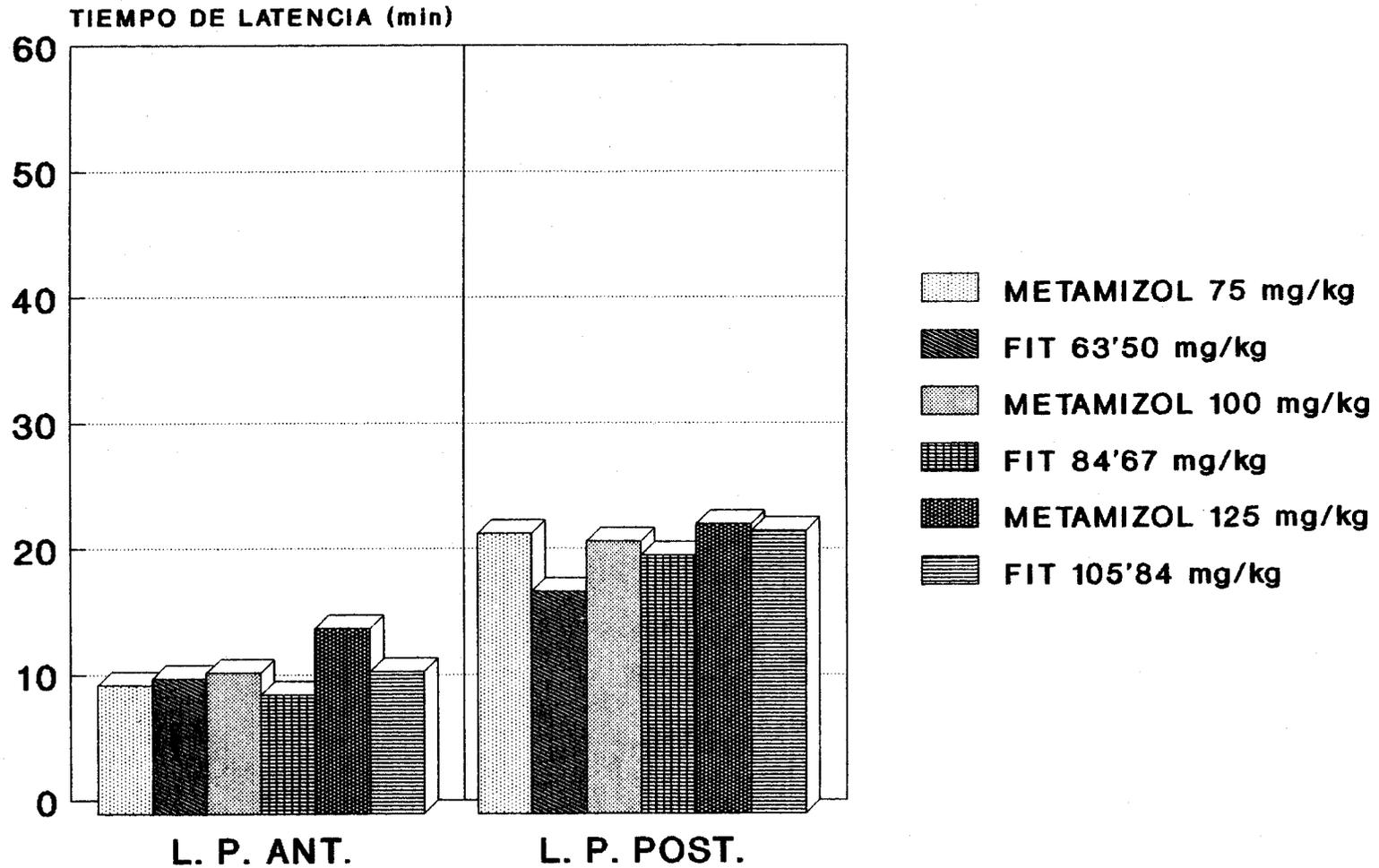


FIGURA 18: TEST DEL TAIL-FLICK ATBO

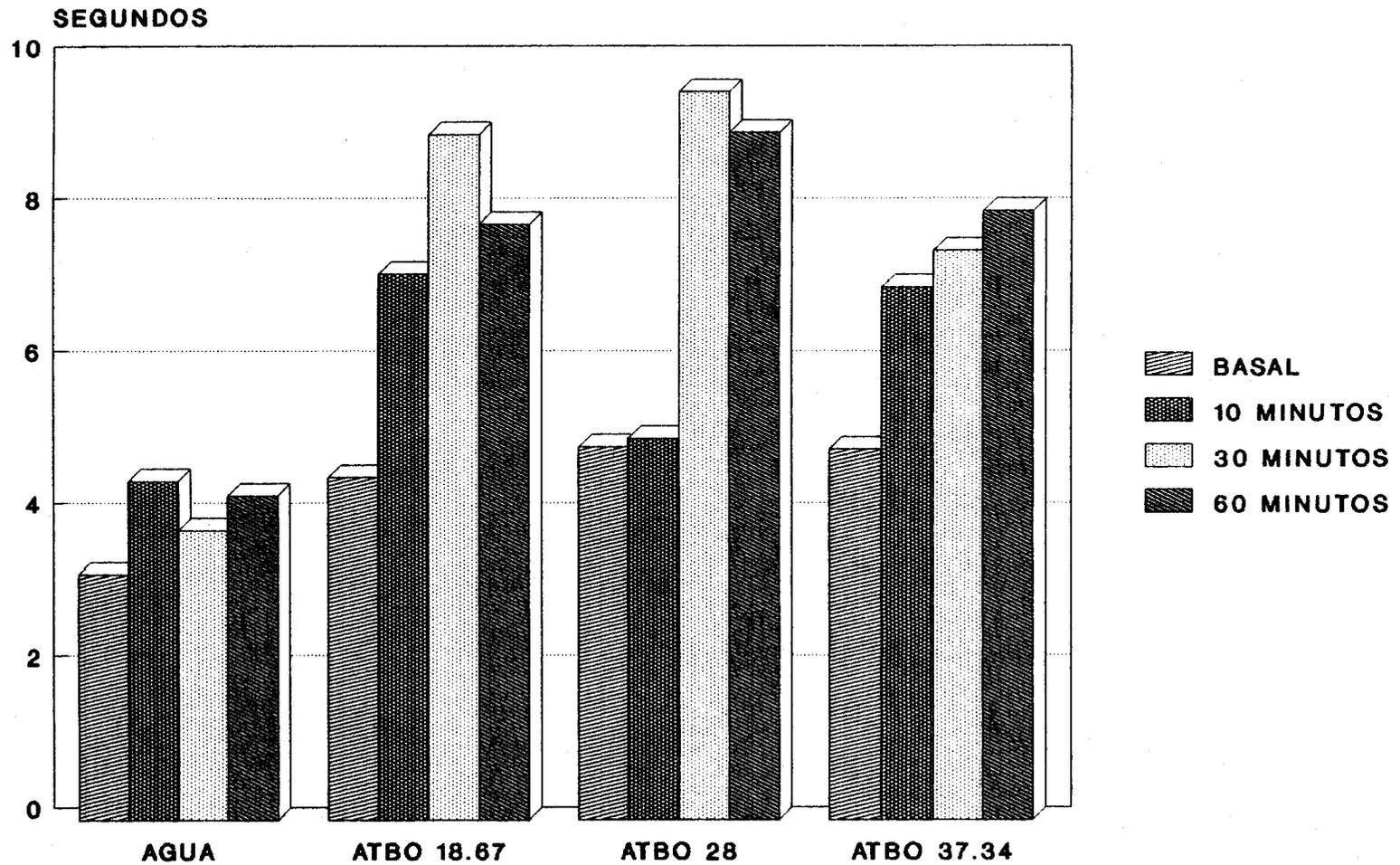
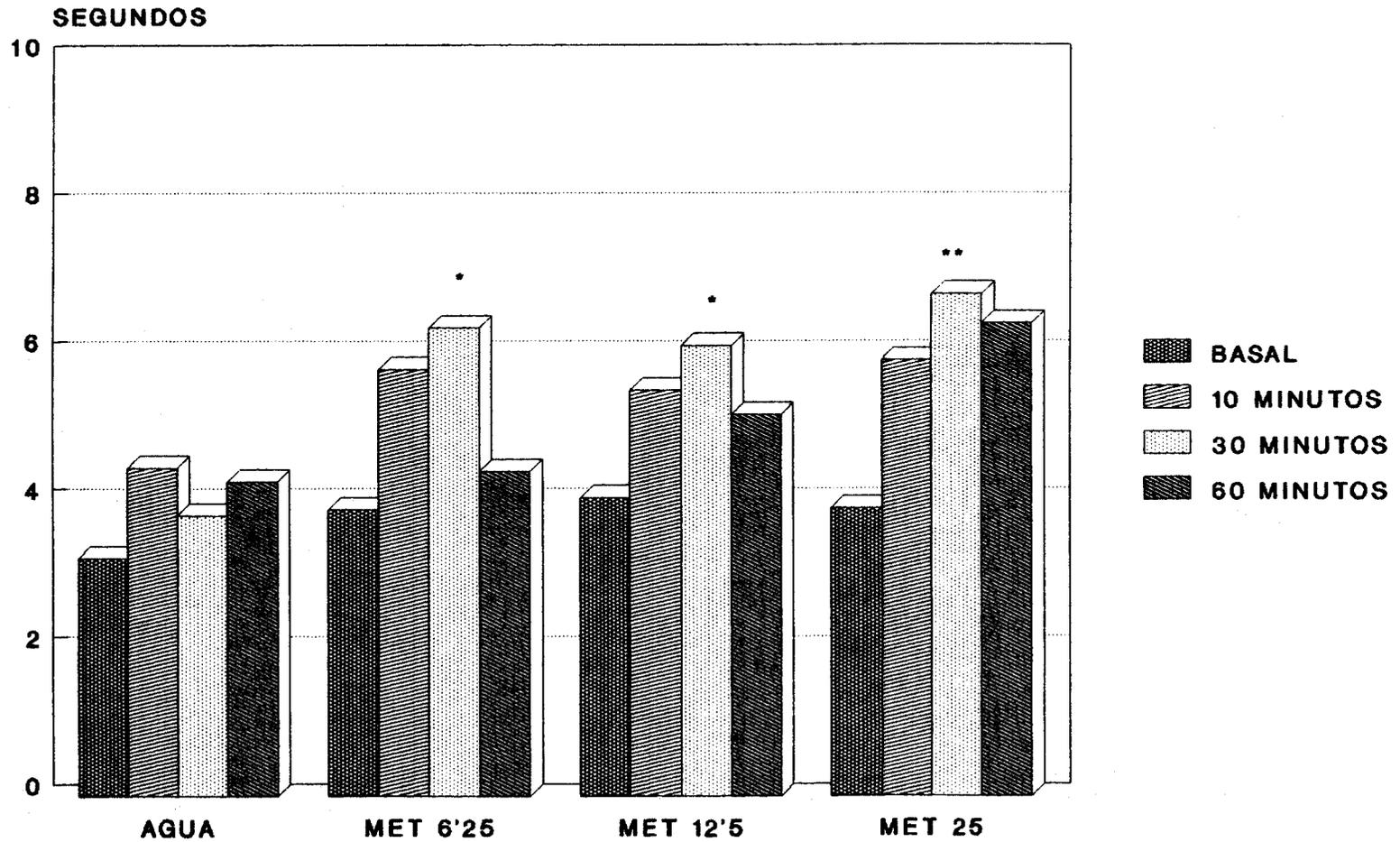


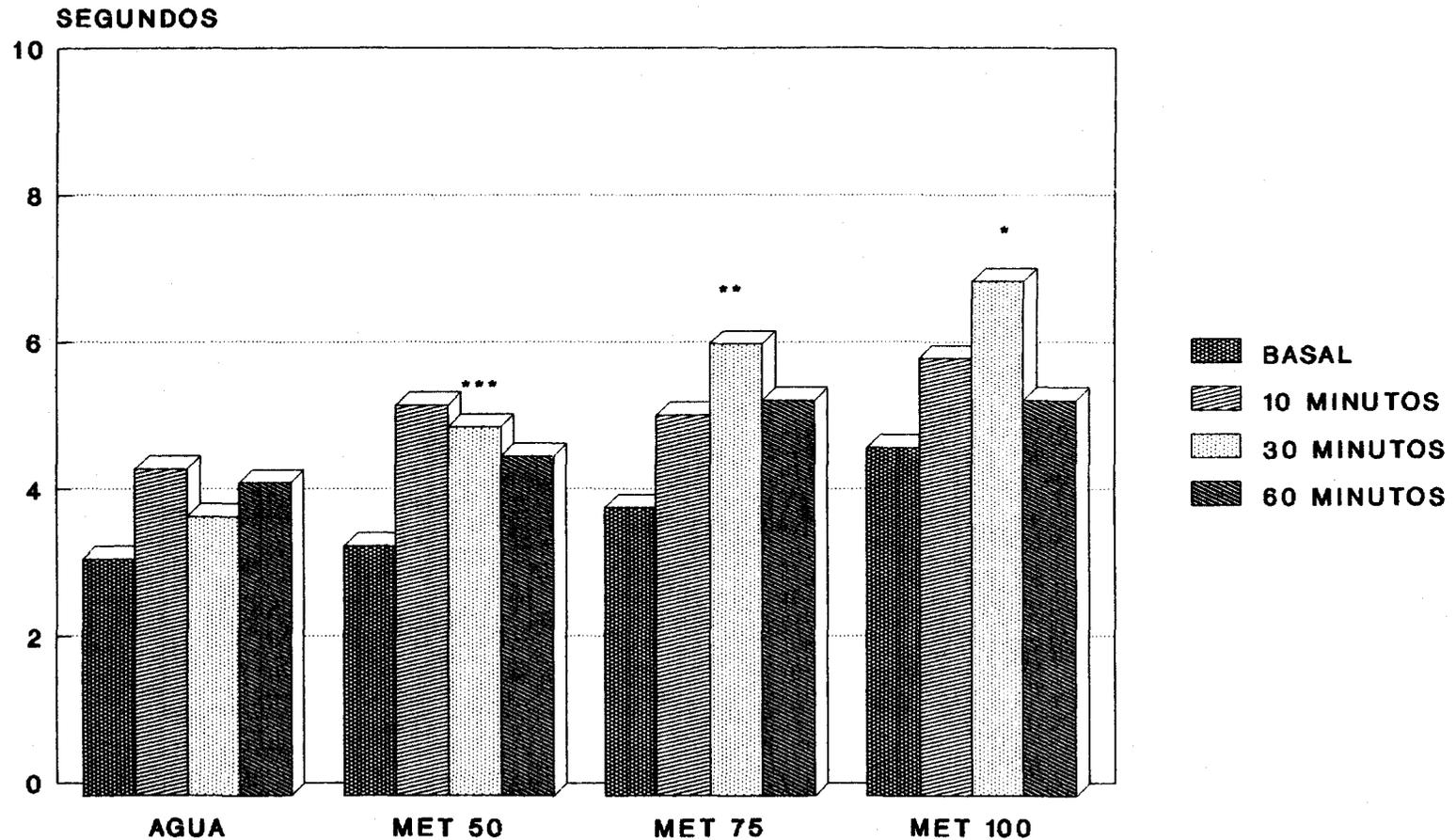
FIGURA 19: TEST DEL TAIL-FLICK METAMIZOL



* $p < 0.01$ vs. CONTROL

** $p < 0.003$ vs. CONTROL

FIGURA 20: TEST DEL TAIL-FLICK METAMIZOL



* $p < 0.01$ vs. CONTROL
** $p < 0.006$ vs. CONTROL
*** $p < 0.005$ vs. CONTROL

FIGURA 21: TEST DEL TAIL-FLICK METAMIZOL VS. ATBO

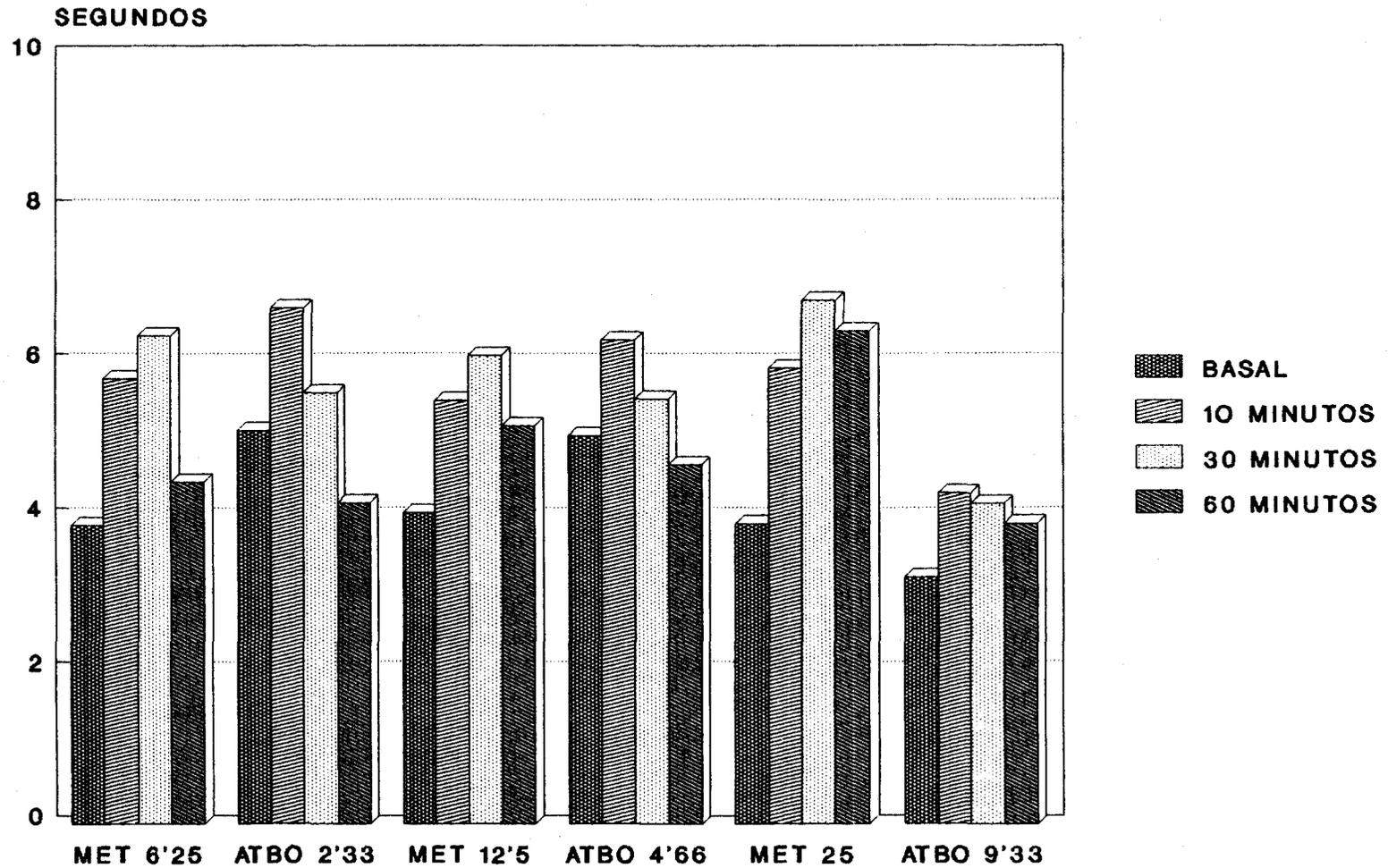
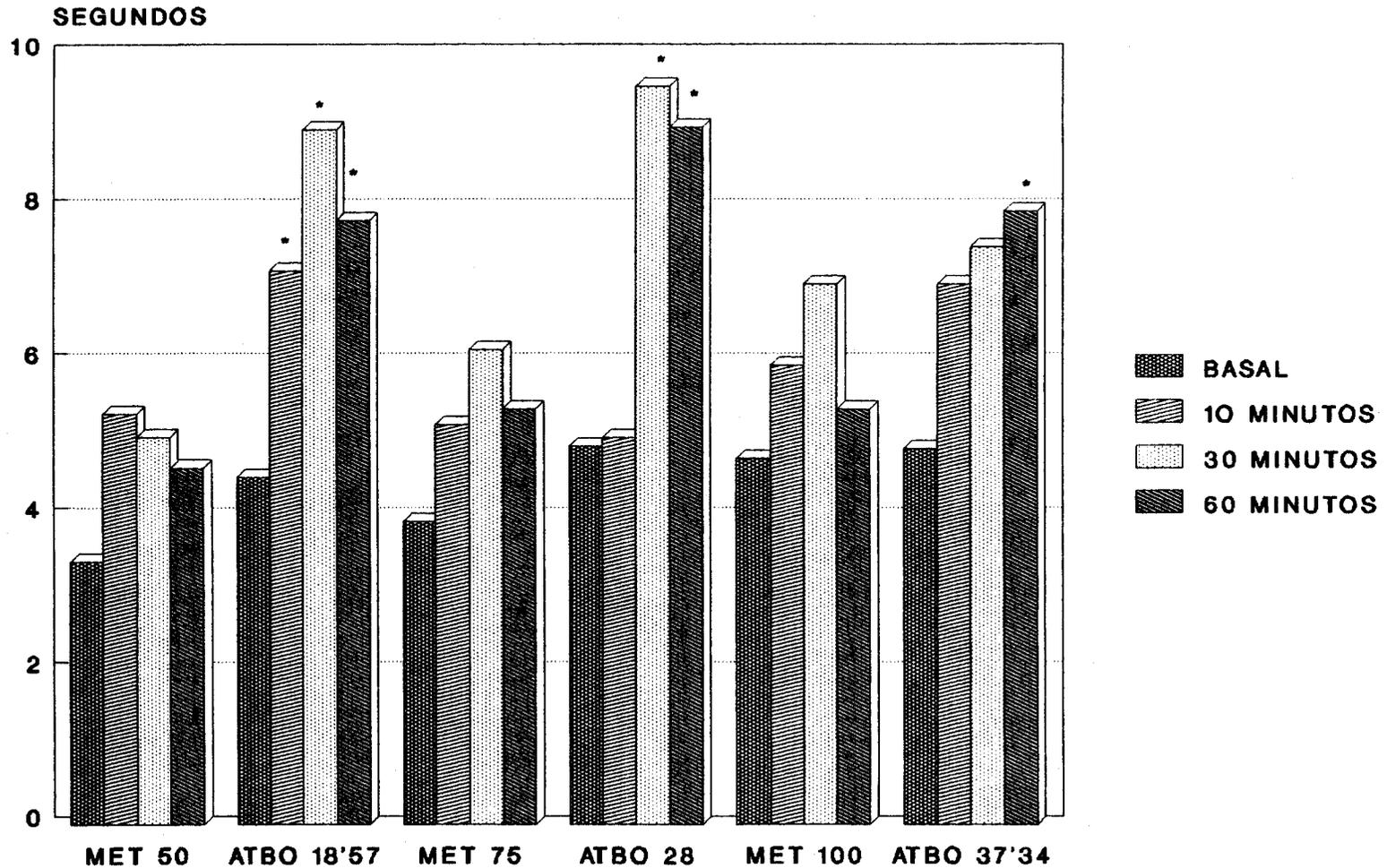
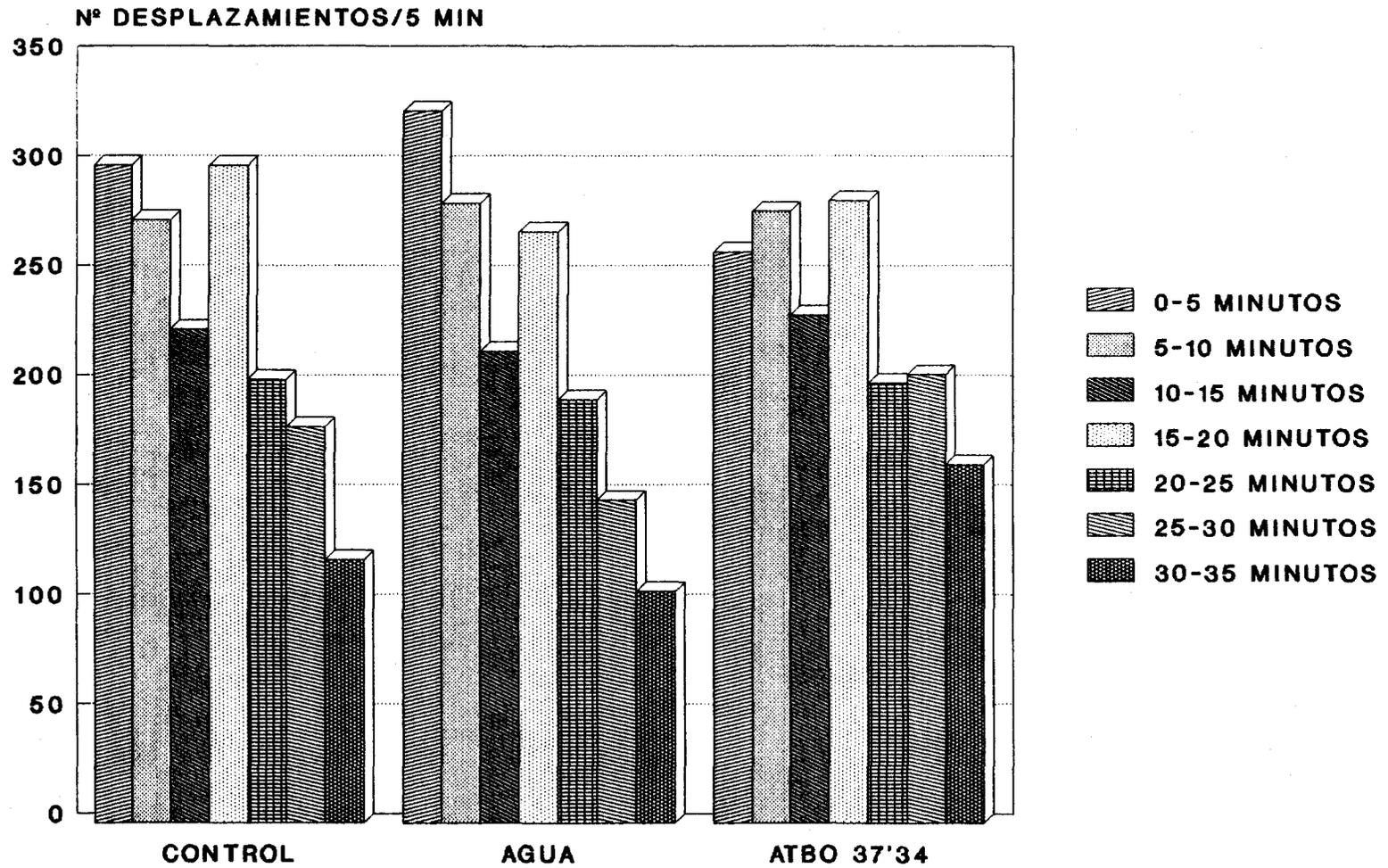


FIGURA 22: TEST DEL TAIL-FLICK METAMIZOL VS. ATBO



* $p < 0.05$ vs. EQUIMOLECULAR METAMIZOL

FIG. 23: ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD MOTORA ATBO



DISCUSSION

Las moléculas 2-Amino-5-tert-butil-2-oxazolina (ATBO) y 1-Fenil-imidazolina-2-tiona (FIT) están incluidas en un proyecto conjunto de análisis farmacológico de nuevas moléculas de síntesis con potencial actividad.

Nuestro estudio sobre la posible acción antinociceptiva se ha centrado fundamentalmente en el ATBO , debido a que el otro compuesto evidenció menor acción antinociceptiva en los ensayos preliminares.

Como analgésico de referencia se utilizó el Metamizol, derivado pirazolónico que posee una acción antinociceptiva periférica y central (112). La vía de administración elegida de este compuesto en nuestro estudio fue la oral, al tener referencia por nuestros estudios previos del rango de dosis efectiva así como, duración de efecto. Asimismo, se había demostrado por ambas vías una eficacia similar (131).

Los resultados obtenidos en el test de las contorsiones por ácido acético, nos demuestran que ambos compuestos ensayados a dosis equimoleculares con el metamizol poseen una acción antinociceptiva, siendo dosis dependiente en el caso del ATBO.

La elección de este test para valorar la acción antinociceptiva periférica, está justificada porque existe una

concordancia entre los resultados obtenidos en él y la potencia analgésica en clínica, y no implicarse en su respuesta algógena mecanismos colinérgicos (132), que en el caso de estos compuestos de síntesis desconocíamos si tendrían acción anticolinérgica. Otros tests químicos de amplia utilización, que emplean como agente algógeno bromuro de acetilcolina o fenilbenzoquinona tienen a nuestro juicio una serie de limitaciones en este estudio en particular como puede ser, en el primer caso, que las sustancias con actividad anticolinérgica que pueden poseer actividad antinociceptiva por su acción anestésica local, pueden darnos resultados falsos positivos o introducir un disolvente menos fisiológico (alcohol) en el segundo (36, 133, 134).

La actividad antinociceptiva del ATBO, en el test elegido es superior a la demostrada para el metamizol, siendo evidente a partir de la dosis de 2,33 mg/kg, equimolecular con 6,25 mg/kg del analgésico de referencia que no exhibía efecto en este test químico (tablas 1 y 2). El efecto antinociceptivo observado con las dosis restantes de ATBO fue igualmente superior al obtenido con las dosis equimoleculares de metamizol, existiendo diferencias significativas entre las dosis

equimoleculares de ambos compuestos (tabla y figura 3).

En el caso del metamizol también se observó en este test esta dosis dependencia, aunque su actividad antinociceptiva aparece a partir de la dosis de 12,5 mg/kg.

El pretratamiento con metamizol a la dosis inferior (6,25 mg/kg), que carecía de actividad antinociceptiva, incrementó la acción de la DE50 ATBO, siendo el efecto sinérgico aditivo.

Estos resultados inducen a pensar que el ATBO posee un efecto antinociceptivo periférico semejante al del derivado pirazolónico, aunque de mayor intensidad, siendo clasificado como sustancia tipo aspirina e implicando la participación de la inhibición de la síntesis de prostaglandinas en su mecanismo de acción.

La efectividad del metamizol a dosis inferiores puede ser importante desde el punto de vista clínico, ya que se disminuyen los riesgos de toxicidad gastrointestinal y otros descritos para este grupo de sustancias (135). En este sentido en nuestras experiencias no se observaron alteraciones macroscópicas ni microscópicas de la mucosa gástrica de los animales tratados con ATBO, por vía oral o intraperitoneal

con la dosis superior ensayada para los estudios de analgesia.

En la acción antinociceptiva periférica pueden participar mecanismos opioides, ya que diferentes tipos de receptores opiáceos se han localizado en peritoneo de ratón (107). Esta hipótesis viene avalada por la observación de que la morfina (1 mg/kg), ejerce un efecto aditivo con la DE50 de ATBO. Sin embargo, los resultados de que disponemos por el momento no son concluyentes, ya que la morfina a esta dosis y en este test exhibe un efecto antinociceptivo propio, estadísticamente significativo. Por otra parte el antagonista opioide naloxona, no antagonizó el efecto antinociceptivo de ATBO (9,33 y 18,67 mg/kg), que produce una inhibición de la respuesta algógena del 94,2 % y del 96,7 % respectivamente.

En este último ensayo, la naloxona exhibió un efecto antinociceptivo en este test, que ha sido demostrado también por otros autores, lo que podría enmascarar la respuesta (figura 6) (106, 136, 137).

En el caso de la FIT, se demostró actividad antinociceptiva a partir de la dosis de 47,33 mg/kg equimolecular con 50 mg/kg de metamizol, exhibiendo el analgésico patrón un

efecto mayor que la sustancia motivo de estudio a las dosis equimoleculares con 50 y 75 mg/kg, aunque no se encontró diferencia significativa a las dosis más altas.

Habida cuenta que con algunas aminooxazolininas se había demostrado un efecto estimulante central en conejos (90), y este efecto podía interferir en algunos de los tests de analgesia (tail-flick, hot-plate) falseando los resultados, se investigó el efecto del ATBO, sobre la actividad y coordinación motoras y otros tests psicofarmacológicos. Los resultados obtenidos en estos ensayos, empleando la dosis superior de las utilizadas en los estudios de nocicepción, demostraron que este compuesto no modificaba ninguno de los dos parámetros, lo que induce a pensar que el efecto antinociceptivo es propio y no participaba un efecto depresor o estimulante central.

Con el fin de investigar si en la acción antinociceptiva del ATBO, estaban implicados otros mecanismos, independientes del periférico, se evaluó la eficacia de este compuesto en el test de la plancha caliente y tail-flick, que evalúan mecanismos supraespinales y espinales (116, 138).

En el test de la plancha caliente, el ATBO, exhibió un efecto antinociceptivo dosis - dependiente a partir de la dosis de 9,33 mg/kg, incrementando tanto el tiempo de latencia del lamido de patas anteriores como posteriores (figura 10). En el caso del metamizol, el efecto antinociceptivo sólo se observó con la dosis superior ensayada (125 mg/kg), que modificó el tiempo de lamido de las patas anteriores. Estos resultados inducen a pensar que en la acción antinociceptiva del ATBO, independientemente de participar mecanismos periféricos están implicados los supraespinales. Por el contrario este mecanismo se puede descartar para el metamizol en el rango de dosis por nosotros ensayado. A diferencia de lo que ocurría en el test químico, el metamizol no modificó la DE 50 de ATBO en este test.

Los mecanismos opioides centrales podrían estar implicados , ya que se observa una prolongación del tiempo del lamido de patas anteriores, tras la administración de ATBO y este parámetro ha sido propuesto como indicativo de la participación opioide (117). Asimismo, el efecto de la dosis superior de ATBO (28 mg/kg), fue antagonizado por naloxona, pero afectando sólo el lamido de las patas posteriores.

Los resultados son poco concluyentes ya que aunque en

este test existía diferencia significativa entre los animales tratados con ATBO sólo y los pretratados con morfina, el efecto puede deberse a la acción de la morfina, que como es conocido potencia también a analgésicos no opiáceos.

El antagonismo parcial de naloxona afectando solamente el tiempo de lamido de patas posteriores puede deberse al efecto descrito para este antagonista, que es capaz de antagonizar sustancias no opioides (103, 139).

En el caso de la FIT en el test de la plancha caliente, los resultados son similares a los obtenidos con metamizol en este test. Con ambas sustancias la única dosis efectiva es la superior, 125 mg/kg del analgésico de referencia y su equimolecular.

Para estudiar la participación espinal, se utilizó el test del tail-flick en ratas. Este estudio viene apoyado por trabajos previos que demuestran que el metamizol posee una acción central y espinal, prolongando el tiempo de latencia en el tail-flick de forma dosis dependiente, tanto tras su administración intracerebroventricular, como intraperitoneal. En nuestro estudio no se pudo demostrar esta dosis dependencia utilizando la vía oral aunque se obtuvo una prolongación de este tiempo a

dosis inferiores a las ensayadas por los otros autores (112). Este hecho puede deberse a modificaciones de tipo farmacocinético, o bien a diferencias en las cepas de ratas empleadas, siendo en nuestro estudio las Wistar, mientras que los otros autores emplean Sprague - Dawley / SIV. Por otra parte, nosotros elegimos para nuestras experiencias animales machos, mientras que los otros autores utilizaron animales de ambos sexos.

A fin de comprobar si el efecto observado con la aminooxazolina era semejante al obtenido con metamizol, se realizó un estudio comparativo de ambas sustancias, utilizando dosis equimoleculares. Los resultados obtenidos nos demuestran que el efecto antinociceptivo del ATBO en este test a la dosis de 18,67 y 28 mg/kg era superior al que exhibió el metamizol a las dosis equimoleculares a los 30 y 60 minutos post administración.

Con la dosis superior ensayada de aminooxazolina (37,34 mg/kg), sólo se encontró diferencia con la equimolecular de metamizol a los 30 minutos. Esto puede deberse a que esta dosis se administró en forma de suspensión, y por tanto su absorción puede ser irregular influyendo otra serie de factores.

Sin embargo, la dosis de 9,33 mg/kg de ATBO no fue efectiva en este test, mientras que la equimolecular de metamizol (25 mg/kg), exhibió un efecto antinociceptivo a los tres tiempos ensayados. De estas experiencias podemos concluir, que en este test el metamizol muestra mayor actividad que la aminooxazolina aunque las dosis altas del compuesto de síntesis, sean más activas.

Si como se demuestra por nuestros ensayos la aminooxazolina posee una acción antinociceptiva semejante al metamizol, aunque estén participando además otros mecanismos, sería interesante comprobar si comparte otras de las acciones de este analgésico como la antiinflamatoria, la antipirética, etc, o si los efectos indeseables usuales que exhiben los compuestos derivados de las pirazolonas, se minimizan con estos compuestos de síntesis. Estos estudios se salían de los objetivos previstos para este trabajo.

No obstante, un aspecto que se ha ensayado de forma preliminar ha sido su efecto sobre la temperatura corporal, ya que está descrito que la hipotermia puede modificar la respuesta en el tail-flick (64, 140).

Los resultados obtenidos en este sentido ensayando las

dosis superiores nos demostraron que el ATBO, no modificó la temperatura corporal de los animales normales.

A fin de caracterizar de forma más completa la acción de la aminooxazolina, sería conveniente evaluar si la acción antinociceptiva descrita está mediada por mecanismos de otra índole - serotoninérgicos, dopaminérgicos o noradrenérgicos - y en esta línea se sigue trabajando. Todos ellos, como es bien conocido, pueden estar implicados en la nocicepción. Su ensayo está justificado, ya que como hemos mencionado, este compuesto exhibe un efecto antinociceptivo en el test de la plancha caliente prolongando el tiempo de lamido de las patas posteriores. En este parámetro parece intervenir un mecanismo noradrenérgico, como lo demuestra el hecho de que fármacos que actúan sobre la recaptación de serotonina y noradrenalina, en algunos casos, no empiezan a ser efectivos en la plancha caliente hasta dosis que comienzan a incrementar la noradrenalina (141, 142).

CONCLUSIONES

1. - La 2-Amino-5-tert-butil-2-Oxazolina (ATBO), posee actividad antinociceptiva dosis dependiente, en diferentes tests de nocicepción. En el test del tail-flick, este efecto es además tiempo dependiente.

2. - El efecto antinociceptivo de ATBO, es significativamente superior al obtenido con dosis equimoleculares de Metamizol en el test del ácido acético y en el de la plancha caliente en los dos parámetros valorados (tiempo de lamido de patas anteriores y posteriores).

3. - La aminooxazolina estudiada (ATBO), puede producir un efecto antinociceptivo central además de su efecto periférico, al igual que el Metamizol, siendo además este efecto antinociceptivo, superior al del derivado pirazolónico.

4. - Respecto al mecanismo de acción implicado en la acción antinociceptiva periférica del ATBO, podemos descartar la participación de un mecanismo opiáceo, ya que la naloxona (1 mg/kg), no fue capaz de antagonizar el efecto antinociceptivo de las dos dosis utilizadas de la aminooxazolina (9,34 y 18,67 mg/kg).

5. - Un posible mecanismo antinociceptivo por inhibición de la síntesis de prostaglandinas, no puede

descartarse de estos experimentos y requeriría una investigación adicional.

6. - Sin embargo, en el estudio de la acción de ATBO, no se observaron alteraciones macroscópicas ni microscópicas de la mucosa gástrica, careciendo de estos efectos indeseables propios de los AINEs, tan ligados a su mecanismo de acción.

7. - El ATBO no exhibe efectos estimulantes ni depresores del S.N.C. que interfieran en su acción antinociceptiva.

8. - Los estudios preliminares sobre el posible mecanismo de la acción central del ATBO, parecen indicar que en la acción antinociceptiva a este nivel, pueden participar mecanismos opioides, ya que la naloxona (1 mg/kg), antagoniza de forma significativa la dosis superior de la aminooxazolina en el test de la plancha caliente.

9. - La 1-Fenil-Imidazolina-2-Tiona (FIT), posee actividad antinociceptiva en el rango de dosis estudiado, en los tests químicos y térmicos.

10. -La actividad antinociceptiva de la FIT, es inferior a la observada con el derivado pirazolónico utilizado a dosis equimoleculares.

RESUMEN



La 2-Amino-5-tert-butyl-2-oxazolona (ATBO), y la 1-Fenil-Imidazolona-2-tiona (FIT), son dos derivados oxazólicos e imidazólicos heterocíclicos que poseen actividad farmacológica diversa de utilización terapéutica potencial.

Por ejemplo, antihipertensivos, estimulantes del Sistema Nervioso Central, inmunodepresores, antitiroideos y antiinflamatorios.

Estas sustancias se incluyen en un proyecto conjunto de análisis farmacológico de nuevas moléculas de síntesis con diversa actividad potencial y se sometieron a un screening de actividad antinociceptiva frente a dos tests de nocicepción (químico y térmicos), tomando como analgésico de referencia al metamizol a dosis equimoleculares.

Se demuestra que tanto ATBO como FIT, poseen en ratones una actividad antinociceptiva en dos tests de analgesia experimental (ácido acético y plancha caliente), en el rango de dosis ensayado. El análisis global de los datos mostró que el efecto antinociceptivo era dosis y tiempo dependiente.

En este trabajo se estudió si el efecto antinociceptivo estaba influido por modificaciones de la conducta del animal, valorándose la actividad y coordinación motoras (Actímetro y

Rota-rod). Los resultados demuestran que la aminooxazolina estudiada no modifica ni la actividad ni la coordinación motora en el animal de experimentación.

Para explorar una posible participación opioide en el efecto analgésico, se ha evaluado el efecto de la naloxona (1 y 2 mg/kg), sobre la acción antinociceptiva del ATBO en ratones. La naloxona no antagonizó significativamente el efecto del ATBO en los tests del ácido acético y de la plancha caliente.

Además, se ha evaluado el efecto del ATBO en el test del tail-flick en ratas durante un período de 60 minutos. Respecto a su eficacia en el test del tail-flick, se demuestra que el ATBO es efectivo a las dosis superiores ensayadas, exhibiendo un efecto influido significativamente en relación al tiempo.

Los resultados indican una participación periférica, espinal y supraespinal en la acción antinociceptiva del ATBO, no estando implicados mecanismos opiáceos en la analgesia periférica.

BIBLIOGRAFIA

1.- **Barraquer, L.** El dolor. Anatomofisiología, clínica y terapéutica farmacológica. Ed. Paz Montalvo, Madrid, 1968.

2.- **Valdecasas, F.G.** Fisiopatología y Tratamiento del Dolor. Curso Monográfico para postgraduados, 1980 : 8 - 20.

3.- **Lander, J.** Clinical Judgments in pain management. Pain, 1990 ; 42 : 15 - 22.

4.- **Micó, J.A.** Mecanismos implicados en la acción antinociceptiva de la Nomifensina. Estudio de su asociación a analgésicos habituales. Tesis Doctoral, 1986. Facultad de Medicina. Universidad de Cádiz.

5.- **Merskey, H.** Pain Terms. A list with definitions and notes on usage. IASP, Subcommittee on Taxonomy. Pain, 1979 ; 6 : 249 - 252.

6.- **Basbaum, A.I., Fields, H.L.** Endogenous Pain Control Mechanisms : Review and Hypothesis. Ann. Neurol., 1978 ; 4 : 451-462.

7.- **Lipman, A.G.** Progress and Problems with Pain. Eds. Clin. Pharm., 1985 ; 4 : 80 - 81.

8.- Doherty, N.S., Wong, S. Pain & Inflammation (Meeting Report). Agents and Actions, 1988 ; 24 : 120 - 122.

9.- Liebeskind, J.C., Paul, L.A. Psychological and Physiological Mechanisms of Pain. Ann. Rev. Psychol., 1977 ; 28 : 41- 60.

10.- Guyton, A.C. Sensaciones Somáticas : II. Dolor, dolor visceral, cefalea y temperatura. En Tratado de Fisiología Médica, 5a Edición. Ed. Interamericana, 1976 : 663.

11.- Kelly, D.D. Central Representations of Pain and Analgesia. En Principles of Neural Science. 2a Edición. Edit. Kandel, E.R. and Schwartz, J.H. Elsevier, Nueva York, 1989 : 331-343.

12.- Melzack, R., Wall, D. Pain Mechanisms : A New Theory. Science, 1965 ; 50 : 971 - 979.

13.- Loeser, J.D., Cousins, M.J. Contemporary Pain Managements. Med. J. Aust. 1990 ; 153 : 208 - 216.

14.- Seeman, B. Man against Pain. En JANO, Medicina y Humanidades. 1986 ; 708 : 111 - 122.

15.- **Benson, H.** The mind/body effect. Ed. Simon y Schuster, 1979.

16.- **Casas, J.L.** Tratamiento del dolor postoperatorio. En JANO, Medicina y Humanidades. 1983 ; 566 : 113 - 118.

17.- **Alamo, C.** Aportación al Mecanismo de la Acción antinociceptiva de la TRH y de la Morfina. Tesis Doctoral 1979. Facultad de Medicina. Universidad de Cádiz.

18.- **Piercey, M.F., Schroeder, L.A.** A Quantitative Analgesic Assay in the Rabbit, Based on the Response to Tooth Pulp Stimulation. Arch. Int. Pharmacodyn. 1980 ; 248 : 294 - 304.

19.- **Loew, F.M.** Alleviation of Pain : The Researcher's Obligation. Lab. Anim. 1981 ; 10 : 136 - 138.

20.- **Albe-Fessard, D., Giamberardino, M.A., Rampin, O.** Comparison of Different Animal Models of Chronic Pain. Advances in Pain Research & Therapy. Ed. Lipton, S. Raven Press. Nueva York. 1990 ; 13 : 11 - 27.

21.- **García Miravete, J.J.** Animales de Laboratorio, Víctimas del Progreso I. En El Médico. 1990 ; 374 : 38 - 80.

22.- García Miravete, J.J. Animales de Laboratorio, Víctimas del Progreso II. En El Médico. 1990 ; 376 : 45 - 52.

23.- Voegelin, M.R., Paoli, G., Zoppi, M. The Measurement of Experimental Pain. En The Pain Clinic. Advances in Pain Research and Therapy. Eds. Lipton, S., Tunks, E., Zoppi, M. Raven Press. Nueva York. 1987 ; 13.

24.- Hamm, R.J., Kinesely, J.S. The Analgesia Produced by Food Deprivation in 4 - Month old, 14 - Month old and 24 - Month old Rats. Life Sci. 1986 ; 39 : 1509 - 1515.

25.- Kulkarni, S.K. Heat and other Physiological Stress-induced Analgesia : Catecholamine mediated and Naloxone Reversible Response. Life Sci. 1980 ; 27 : 185 - 188.

26.- Osgood, P.F., Carr, D.B. Kazianis, A., Kemps, J.W., Atchinson, J.W., Szyfelbein, S.K. Antinociception in the Rat induced by a Cold Environment. Brain Res. 1990 ; 507 : 11 - 16.

27.- Romero, M.T., Kepler, K.L., Bodnar, R.J. Gender Determinants of Opioid Mediation of Swin Analgesia in Rats. Pharmacol. Biochem. Behav. 1988 ; 29 : 705 - 709.

28.- Koster, R., Anderson, M., Beer, E.I.de. Acetic Acid for Analgesic Screening. Fed. Proc. 1959 ; 18 : 412.

29.- Horák, P., Mašek, K. Analgesic Activity of two Synthetic Immunomodulators, Muramyl Dipeptide and Adamantylamide Dipeptide in Mice and Rats. Meth. and Find. Exptl. Clin. Pharmacol. 1988 ; 10 : 569 - 574.

30.- Shaw, J.C., Rourke, J.D., Burns, K.M. Differential Sensitivity of Antinociceptive Tests to Opioid Agonists and Partial Antagonists. B. J. Pharmacol. 1988 ; 95 : 578 - 584.

31.- Drower, E.J., Stapelfeld, A., Mueller, R.A. Hammond, D.L. The Antinociceptive Effects of Prostaglandin Antagonists in the Rat. European J. Pharmacol. 1987 ; 133 : 249 - 256.

32.- Singh, P.P., Junnarkar, A.Y., Rao, C.S., Varma, R.K., Shridhar, D.R. Acetic Acid and Phenylquinone Writhing Test : A Critical Study in Mice. Meth. and Find. Exptl. Clin. Pharmacol. 1983 ; 5 : 601 - 606.

33.- Guash, J., Graw, M., Montero, J.L., Felipe, A.

Pharmaco-Toxicological Effects of Acetaminophen in Rodents. Battery of Tests to Screen Potential Analgesic Acetaminophen Derivatives. Meth. and Find. Exptl. Clin. Pharmacol. 1990 ; 12 : 141 - 148.

34.- Schweizer, A., Brom, R., Scherrer, H. Combined Automated Writhing/Motility Test for Testing Analgesics. Agents And Actions. 1988 ; 23 : 29 - 31.

35.- Fujiyoshi, T., Hayashi, I., Oh-Ishi, S., Kuwashima, M., Iida, H., Dozen, M., Taniguchi, N., Ikeda, K., Ohnishi, H. Kaolin-induced Writhing in Mice, a New Model of Possible Bradykinin-induced Pain for Assessment of Analgesic Agents. Agents and Actions. 1989 ; 27 : 332 - 334.

36.- Collier, H.O.J., Dinneen, L.C., Johnson, C.A., Schneider. The Abdominal Constriction Response and its Supression by Analgesic Drugs in the Mouse. Brit. J. Pharmacol. 1968 ; 32 : 295 -310.

37.- Cuenca, E., Tormos, M.E., Puig, P., Valdecasas, F.G. Acción analgésica de un activador de la fosfodiesterasa (Imidazol).Abstr. Soc. Esp. C. Fisiol. 1970 ; 12 : 205 - 207.

38.- Levine, A.S., Wilcox, G.L., Grace, M., Morley, J.E. Tail Pinch Induced Consummatory Behaviors are Associated with Analgesia. *Physiol. Behav.* 1982 ; 28 : 959 - 962.

39.- Singh, P.P., Junnarkar, A.Y., Varma, R.K. A Test for Analgesics : Incoordination in Writhing Mice. *Meth. and Find. Exptl. Clin. Pharmacol.* 1987 ; 9 : 9 - 11.

40.- Labelle, A., Tislow, R. A Method for Evaluating Analgesics on the Antiarthralgic Type in the Laboratory Animal. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1950 ; 98 : 19 - 32.

41.- Gutiérrez, M. Análisis de las diferencias intersexo en modelo de dolor crónico experimental, e influencia de fármacos antidepressivos y su asociación a analgésicos opiáceos. Tesis Doctoral. 1991. Facultad de Medicina. Universidad de Cádiz.

42.- Vinegar, R., Truax, J.F., Selph, J.L., Johnston, P.R. New Analgesic Assay Utilizing Trypsin-Induced Hyperalgesia in the Hind Limb of the Rat. *J. Pharmacol. Methods.* 1990 ; 23 : 51 - 61.

43.- Bustamante, D., Miranda, H.F., Pelissier, T.,

Paeile. C. Analgesic Action of Clonixin, Nifedipine and Morphine Using the Formalin Test. *Gen. Pharmac.* 1989 ; 20 : 319 - 322.

44.- **Dubuisson, D., Dennis, S.G.** The Formalin Test : A Quantitative Study of the Analgesic effects of Morphine, Meperidine and Brain Stem Stimulation in Rats and Cats. *Pain.* 1977 ; 4 : 161 - 174.

45.- **Murray, C.W., Porreca, F., Cowan, A.** Methodological Refinements to the Mouse Paw Formalin Test. An animal Model of Tonic Pain. *J. Pharmacol. Methods.* 1988 ; 20 : 175 - 186.

46.- **Pertovaara, A., Tukeva, T.** Effect of Subcutaneous Formalin Treatment on Responses to Bulboreticular Nociceptive Neurons in the Rat. *Brain. Res. Bull.* 1989 ; 23 : 457 - 462.

47.- **Randall, L.O., Selitto, J.J.** A Method for Measurement of Analgesic Activity on Inflamed Tissue. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 1957 ; 111 ; 409 - 419.

48.- **Klamt, J.G., Prado, W.A.** An Improved Pinch Test for Assessing Pain and Antinociception in Rats. *Brazilian. J. Med. Biol. Res.* 1990 ; 23 : 73 - 77.

49.- Eddy, N.B., Leimbach, D. Synthetic Analgesics II. Dithienylbutenyl and Dithienylbutylamines. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1953 ; 107 : 385 - 398.

50.- Woolfe, G., Mc. Donald, A. D. The Evaluation of the Analgesic Action of Pethidine Hydrochloride. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1944 ; 80 : 300 - 307.

51.- Dickenson, A.H., Oliveras, J.L., Besson, J.M. Role of the Nucleus Raphe Magnus in Opiated Analgesia as Studied by Microinjection Technique in the rat. Brain. Res. 1979 ; 170 : 96.

52.- Frederickson, R.C.A., Burgis, V., David, J.E. Hyperalgesia Induced By Naloxone Follows Diurnal Rhythm in Responsivity to Painful Stimuli. Sci. 1977 ; 198 : 756 - 758.

53.- Gamble, G.D., Milne, R.J. Repeated Exposure to Sham Testing Procedures Reduces Reflex Withdrawal and Hot - Plate Latencies : Attenuation of Tonic Descending Inhibition. Neurosci. Letter. 1989 ; 96 ; 312 - 317.

54.- Kitchen, I., Crowder, M. Assessment on the Hot-Plate Antinociceptive Test in Mice. A New method for the

Statistical Treatment of Graded Data. Journal of Pharmacological Methods. 1985 ; 13 : 1 - 7.

55.- Minor, B.G., Post, C., Archer, T. Blockade of Intrathecal 5-Hydroxytryptamine-Induced Antinociception in Rat by Noradrenaline Depletion. Neurosci. Letter. 1985 ; 54 : 39 - 44.

56.- Taulbee, J.D., Kasting, G.B. A Nonparametric Method for Evaluating Results from Laboratory Antinociceptive Tests. J. Pharmacol. Methods. 1988 ; 20 : 197 - 206.

57.- Rodgers, R.J., Randall, J., Pittcock, F. Hot - Plate Learning in Mice is Unaltered by Immediate Post-training Administration of Naloxone, Naltrexone or Morphine. Neuropharmacol. 1985 ; 4 : 333 - 336.

58.- Belnap, J.K., Lamé, M., Danielson, P.W. Inbred Strain Differences in Morphine-Induced Analgesia with the Hot - Plate Assay. Behav. Genet. 1990 ; 20 ; 333 - 338.

59.- Tj/olsen, A., Lund, A., Eide, P.K., Berge, O.G., Hole, K. The Apparent Hyperalgesic Effect of a Serotonin Antagonist in the Tail-Flick Test is Mainly Due to Increased Tail

Skin Temperature. Pharmacol. Biochem. & Behav. 1989 ; 32 : 601 - 605.

60.- D'Amour, F.E., Smith, D.L. A Method for Determining Loss of Pain Sensation. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1941 ; 72 : 74 - 79.

61.- Lund, A., Tj/olsen, A., Hole, K. Desipramine in Small Doses Induces Antinociception in the Increasing Temperature Hot - Plate Test, but not in the Tail - Flick Test. Neuropharmacol. 1989 ; 28 : 1169 - 1173.

62.- Tj/olsen, A., Berge, O.G., Eide, P.K., Broch, O.J., Hole, K. Apparent Hyperalgesia after Lesions of the Descending Serotonergic Pathways is Due to Increased Tail Skin Temperature. Pain. 1988 ; 33 : 225 - 231.

63.- Berge, O.G., García-Cabrera, I., Hole, K. Response Latencies in the Tail - Flick Test Depend on Tail Skin Temperature. Neurosci. Letter. 1988 ; 86 : 284 - 288.

64.- Tj/osen, A., Lund, A., Berge, O.G., Hole, K. An Improved Method for Tail - Flick Testing with Adjustment for Tail

Skin Temperature. Journal of Neuroscience Methods. 1989 ; 26 : 259 - 265.

65.- Harris, D.P., Burton, R., Sinclair, J.G. A Simple Microcomputer Interface for Tail - Flick Determinations. J. Pharmacol. Methods. 1988 ; 20 : 103 - 108.

66.- Janssen, P.A.J., Wiemegeers, C.J.E., Donny, J.G.H. The Inhibitory Effect of Fentanyl and other Morphine - Like Analgesics on the Warm Water Induced Tail Withdrawal Reflex in Rats. Arzneim. Forsch. Drug. Res. 1963 ; 13 : 502 - 507.

67.- Farré, A.J., Colombo, M., Gutiérrez, B. Maximum Tolerated Temperature in the Rat Tail : A Broadly Sensitive Test to Analgesic Activity. Meth. and Find. Exp. Clin. Pharmacol. 1989 ; 11 : 303 - 307.

68.- Hargreaves, K., Dubner, R., Brown, F., Flores, C., Joris, J. A New and Sensitive Method for Measuring Thermal Nociception in Cutaneous Hyperalgesia (Basic section). Pain. 1988 ; 32 : 77 - 78.

69.- Carrol, M.N., Lim, R.K.S. Observation on the

Neuropharmacology of Morphine and Morphine Like Analgesia. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 1960 ; 125 : 343 - 383.

70.- Nilsen, L. Studies on Analgesimetry by Electrical Stimulation of the Mouse Tail. Act. Pharmacol. Toxicol. 1961 ; 18 : 10 - 22.

71.- Chahl, L.A., Thornton, C.A. Locomotor Activity and Contracture of Isolated Ileum Precipitated by Naloxone Following Treatment of Guinea-Pigs with a Single Dosis of Morphine. J. Pharm. Pharmacol. 1987 ; 39 : 52 - 54.

72.- Bartolini, A., Galli, A., Ghelardini, C., Giotti, A., Malcangio, M., Malmberg-Aiello, P., Zucchi, P.L. Antinociception Induced by Systemic Administration of Local Anaesthetics Depends on a Central Cholinergic Mechanism. B. J. Pharmac. 1987 ; 92 : 711 - 721.

73.- Serrano, J.S. Fármacos analgésicos- antitérmicos y antiinflamatorios. En Farmacología y su Proyección a la Clínica. B.L. Velázquez. Ed. Oteo, 15a edición. Madrid. 1987 : 417 - 435.

74.- Ferreira, S.H. Inflammatory Pain, Prostaglandin

Hyperalgesia and the Development of Peripheral Analgesics. TIPS.
1981 ; 2 : 183 - 186.

75.- Nuki, G. Non-Steroidal Analgesic and
Antiinflammatory Agents. Br. Med. J. 1983 ; 287 : 39 - 43.

76.- Insel, P.A. Agentes Analgésicos- Antipiréticos y
Antiinflamatorios ; Drogas Empleadas en el Tratamiento de la
Artritis Reumatoidea y la Gota. En : Las Bases Farmacológicas de
la Terapéutica. Goodman y Gilman. Ed. Médica Panamericana. 8a
Edición. 1991 : 624 - 663.

77.- Anonymous : Which NSAID ¿. Dru. Ther. Bull. 1987 ;
25 : 81 - 84.

78.- Buckley, M.M.T., Brogden, R.N. Ketoralac : Revisión
de sus propiedades farmacodinámicas y farmacocinéticas, y
potencial terapéutico. Drugs. 1990 ; 39 : 86 - 109.

79.- Faccioli, A.M., Meduri, F., Bedendo, F., Wool, C.
Ketoralac i.v. en el tratamiento del dolor postoperatorio
intenso. Giornale Italiano de Ricerche Cliniche e Terapeutiche.
1990 ; 11 : 1 - 9.

80.- Smith, T.W., Chapple, D.J. Opiáceos y Analgésicos Potentes. En Fármacos en Anestesia. Mecanismo de Acción. Feldman, S.A., Scurr, C.F., Paton, W. Ed. Salvat. Barcelona. 1990 : 315.

81.- Florez, J., Armijo, J.A., Mediavilla, A. Fármacos Analgésicos Opiáceos. En Farmacología Humana I. EUNSA. Pamplona. 1987 : 287 - 299.

82.- Noval, J.F. Influencia de los Antidepresivos en la Analgesia Morfínica. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Cádiz.

83.- Bond, M.R. Dolor, Naturaleza, Análisis y tratamiento . Longman Group Limited. Churchill Livingstone Inc. 1984 : 160 - 162.

84.- Planas, M.E. Antidepresivos en el Tratamiento del Dolor. Dolor. 1986 ; 1 : 57 - 60.

85.- Ruiz, R. Antidepresivos y Analgesia. Rev. 7 Días Médicos. 1991 ; 90 : 27 - 28.

86.- Felipe, M.C.de, Ceballos, M.L.de, Fuentes, J.A. Hypoalgesia Induced by Antidepressants in Mice : A Case for

Opioids and Serotonin. European. J. Pharmacol. 1986 ; 125 :
193 - 199.

87.- Pfeiffer, R.F. Drugs for Pain in the Elderly.
Geriatrics. 1982 ; 37 : 67 - 75.

88.- Vallejo-Pareja, M.A. Tratamiento Psicológico del
Dolor Crónico. En Dolor & Inflamación. 1989 ; 2 : 155 - 166.

89.- Frump, J.A. Oxazolines, Their Preparation,
Reactions and Applications. Chem. Rev. 1971 ; 71 : 483 - 499.

90.- Poos, G.I., Wittekind, P.R. Certain 2-Alkylamino
Polymethylene Oxazolines. United States Patent Office. Patented.
Mar. 10, 1964.

91.- García, J.M. Síntesis de Derivados Heterocíclicos
de D. Aldosas. Estudio de Precursores Químicos y Compuestos
Modelos. Tesis Doctoral. Facultad de Química. Universidad de
Sevilla. 1988.

92.- Hassner, A., Hoblitt, R.P., Heathcock, C., Kropp,
J.E., Lorber, M. Electronic vs. Steric Effects in the Addition
of Iodine Isocyanate to Olefins. J. Am. Chem. Soc. 1970 ; 92 :

1332 - 1362.

93.- García, F., Fernández, J., Ruiz, J. J. Ann. Real. Soc. Españ. Fís. y Quím. 1951 ; 47 : 299.

94.- García, F., Fernández, J., Pradera, M.A. An. Quím. 1974 ; 70 : 57.

95.- Jiménez-Garay, R., López, A., Márquez, R. Act. Crys. 1974 ; 30 : 180.

96.- Davies, T.F., Weis, I., Hidaka, H. J. Clin. Invest. 1984 ; 73 : 397. C.A. 100 : 150871.

97.- Nagasaka, A., Hidaka, H. J. Clin. Endocrin. Metab. 1976 ; 43 : 152. C.A. 85 : 116550.

98.- Weetman, A.P., Mc. Gregor, A.M., Hall, R. Clin. Immunol. Immunopathol. 1983 ; 28 : 39. C.A. 99 : 82304.

99.- Rennie, D.P., Mc. Gregor, A.M., Keats, D., Weetman, A.P., Ford, S.M., Dieguez, C., Williams, E.O., Hall, R. Endocrinology. 1983 ; 112 : 326. C.A. 99 : 65309.

100.- Davies, T.F., Weis, I., Gesber, M.A. J. Clin.

Invest. 1984 ; 73 : 397. C.A. 100 : 150871.

101.- **Esteban, M.** 4-D-Arabinotetrahidroxibutilimidazolina-2-tiona. Caracterización Espectroscópica y Estudio de sus Propiedades Farmacológicas. Tesis de Licenciatura. Universidad de Cádiz. 1978.

102.- **MERCK Index** An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biological. 10a Edición. 1983 : 912.

103.- **Sawynok, J., Pinsky, C., Labella, F.S.** Minireview on the Specificity of Naloxone as an Opiate Antagonist. Life. Sci. 1979 ; 25 : 1621 - 1632.

104.- **Ramarao, P., Bargava, H.N.** Evidence for the Involvement of Central Opioidergic System in L-Tyrosine Methyl Ester Induced Analgesia in the Rat. Pharmacology. 1988 ; 37 : 1 - 7.

105.- **Serrano, J.S., Serrano, M.I., Guerrero, M.R., Ruiz, R., Polo, J.** Antinociceptive Effect of Taurine and its Inhibition by Naloxone. Gen. Pharmac. 1990 ; 21 : 333 - 336.

106.- **Serrano, J.S., Serrano, M.I., Fernández, A., Ruiz,**

R.M. Modification of L-Tyrosine Methyl Ester-Induced Analgesia by Opioid Drugs. Pharmacology. 1992 (en prensa).

107.- Bentley, G.A., Newton, S.M., Starr, I. Evidence for an Action of Morphine and the Enkephalins on Sensory Nerve Ending in the Mouse Peritoneum. Br. J. Pharmacol. 1981 ; 73 : 325 - 332.

108.- Misra, A.L. Metabolism of Opiates. En : Factors Affecting the Actions of Narcotics. Adler, M.L., Manara, L., Samanin, R. Ed. Raven Press. Nueva York. 1987 : 297 - 343.

109.- Jaffé, J.H., Martin, W.R. Analgésicos y Antagonistas Opioides. En : Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Goodman y Gilman. Ed. Panamericana. 8a Edición. 1991. 475 - 512.

110.- MERCK Index. An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biological. 10a Edición. 1983 : 490.

111.- Campos, D.I., Cunha, F.Q., Ferreira, S.H. A New Mechanism of Action of Dypirone : Blockade of the Release of a Nociceptive Factor from Macrophages. Brazilian J. Med. Biol. Res.

1988 ; 21 : 565 - 568.

112.- Carlsson, K.H., Helmreich, J., Jurna, I.
Activation of Inhibition from the Periaqueductal Grey Matter
Mediates Central Analgesic Effect of Metamizol (Dipyrone).
Pain. 1986 ; 27 : 373 - 390.

113.- O'Hara, D.O., Fragen, R.J., Kinzer, M., Pemberton,
D. Comparación entre Ketoralac Trometamina y el Sulfato de
Morfina en el Tratamiento del Dolor Postoperatorio. Clin.
Pharmacol. Ther. 1987 ; 41 : 556 - 561.

114.- Puig, P., Puig, P., Estévez M. Aspectos
Bioquímico-Farmacológicos del Imidazol. Laboratorios PEYVA. 1972.

115.- Tyers, M.B. A Classification of Opiate Receptors
That Mediate Antinociception in Animals. Br. J. Pharmac. 1980 ;
69 : 503 - 512.

116.- Yaksh, T.L. Direct Evidence that Spinal Serotonin
and Noradrenaline Terminals Mediate the Spinal Antinociceptive
Effects of Morphine in the Periaqueductal Gray. Brain. Res.
1979 ; 160 : 180 - 185.

117.- **Watkins, L.R., Mayer, D. I.** Organization of Endogenous Opiate and Non-Opiate Pain Control System. Science. 1982 ; 216 : 1185 - 1192.

118.- **Romero, M.T., Cooper, M.L., Komisaruk, B.R., Bodnar, R.J.** Gender-Specific and Gonadectomy-Specific Effects upon Swin Analgesia. Role of Steroid Replacement Therapy. Physiol. Behav. 1988 ; 44 : 257 - 265.

119.- **Jackson, H.C., Kitchen, I.** Swin-Stress-Induced Antinociception in Young Rats. B.J. Pharmacol. 1989 ; 96 : 617 - 622.

120.- **Wong, C.L.** The Involvement of B-Endorphin in Swin-Induced Antinociception in Female Mice. Arch. Int. Pharmacodyn. 1989 ; 300 : 22 - 28.

121.- **Bar-Or, A., Brown, G.M.** Pineal Involvement in the Diurnal Rhythm of Nociception in the Rat. Life. Sci. 1989 ; 44 : 1067 - 1075.

122.- **Sandermus Producción.** Cereales y Piensos Compuestos, S.A. Ctra. de Andalucía, km. 18. Polígono Industrial

" Las Arenas ". 28320 Pinto (Madrid). 1991.

123.- Refinetti, R., Carlisle, H.J. Complementary Nature of Heat Intake During Behavioral Thermoregulation in the Rat. Behav. Neur. Biol. 1986 ; 46 : 64 - 70.

124.- Tseng, L.L.F., Tang, R. Differential Actions of the Blockade of Spinal Opioid, Adrenergic and Serotonergic Receptors on the Tail-Flick Inhibition Induced by Morphine Microinjected into Dorsal Raphe and Central Gray in Rats. Neuroscience. 1989 ; 33 : 93 - 100.

125.- Porro, C.A., Carli, G. Immobilization and Restraint Effects on Pain Reactions in Animal. Pain. 1988 ; 32 : 289 - 307.

126.- Kavaliers, M. Brief Exposure to a Natural Predator, the Short-Tailed Weasel, Induces Benzodiazepine-Sensitive Analgesia in White-Footed Mice. Physiol. Behav. 1988 ; 43 : 187 - 193.

127.- Ramabadran, K., Bansinath, M., Turndof, M., Puig, M.M. Tail Immersion Test for the Evaluation of a Nociceptive

Reaction in Mice (Methodological Considerations). Journal of Pharmacological Methods. 1989 ; 21 : 21 - 31.

128.- Winner, B.J. Statiscal Principles in Experimental Design. Ed. Mc. Graw Hill. Nueva York. 1971.

129.- SPSS User's Guide. 2nd. Inc. SPSS. Ed. Mc. Graw Hill. Nueva York. 1986.

130.- Litchfield, J.R., Wilcoxon, F.W., Tallanda, R.J., Murray, R.D. Manual of Pharmacologic Calculations Springer-Verlag. Nueva York. 1981.

131.- Cuenca, E., Galiana, J., Serrano, M.I., Gibert-Rahola, J., Alamo, C., Estaban, J., Casais, L., Lafuente, L. Algunos Aspectos Farmacológicos y Bioquímicos de la TRH y MIF 125-145 en Investigación con Nuevos Psicofármacos I. Progresos en Psicofarmacología. M. Ruiz Ruiz. CEPYP. 1979.

132.- Baird-Lambert, J., Jamieson, D.D. Possible Mediators of the Writhing Response Induced by Acetic Acid or Phenylbenzoquinone. Clin. Exptl. Pharmacol. & Physiol. 1983 ; 10 : 15 - 20.

133.- Siegmund, E., Cadmus, R., Lu, G. A Method for Evaluating both Non-Narcotic and Narcotic Analgesics. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1957 ; 95 : 729 - 731.

134.- Henderhot, L.C., Forsaith, J. Antagonism of the Frequency of Phenilquinona Induced Writhing in Mouse by Weak Analgesics and non Analgesics. J. Pharmacol. 1959 ; 125 : 237 - 240.

135.- Laporte, J.R. Criterios para la Selección y la Revisión de Antiinflamatorios no Esteroides, 1-24. En Avances en Terapéutica 13. J. Laporte, J.R. Laporte. Ed. Salvat. Barcelona. 1985.

136.- Greeley, J.D., Lè, A.D., Poulos, C.X., Cappell, H. " Paradoxical " Analgesia Induced by Naloxone and Naltrexone. Psychopharmacol. 1988 ; 96 : 36 - 39.

137.- Vaccarino, A.L., Tasker, R.A.R., Melzack, R. Analgesia Produced by Normal Dosis of Opioids Antagonists Alone and in Combination with Morphine. Pain. 1989 ; 36 : 103 - 109.

138.- Yaksh, T.L., Rudy, T.B. Studies on the Direct

Spinal Action of Narcotics in the Production of Analgesia in the Rat. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1977 ; 202 : 411 - 428.

139.- Hine, B. Naloxone Antagonism of Responses to Morphine and Non-Opiate Drugs in the Mouse Hot-Plate Test. Res. Comm. Subs. Abuse. 1989 ; 3 : 201 - 203.

140.- Lund, A., Tj/olsen, A., Hole, K. The Apparent Antinociceptive Effect of Desipramine and Zimelidine in the Tail-Flick Test in Rats is Mainly Caused by Changes in Tail Skin Temperature. Pain. 1989 ; 38 : 65 - 69.

141.- Rochat, C., Cervo, R., Romandini, S., Samanin, R. Evidence that M-Meclorphenylpiperazine Inhibits some Nociceptive Responses of Rats by Activating 5-Hydroxitriptamine Mechanisms. J. Pharm. Pharmacol. 1982 ; 34 : 325 - 327.

142.- Gibert-Rahola, J., Micó, J.A., Maldonado, R., Quiroga, A., Esteban, J. Antinociceptive Effect of a Selective Inhibitor of Serotonine-Uptake : Fluvoxamine. Abst. International. CINP. Florencia. 1984.

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Reunido el Tribunal integrado por los abajo firmantes
en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de
D. José M^a Sanchez - Canario Curadi
sobre el estudio de la actividad antineoplásica
de unos nuevos derivados imidazólicos y oxazólicos
de interés
acordó otorgarle la calificación de "cum laude"

Sevilla, 7 de octubre de 1992

El Vocal,

El Vocal,

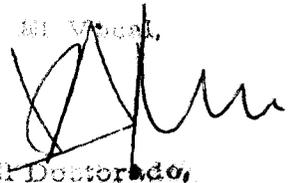
El Vocal,



El Presidente



El Secretario,



El Doctorado,

