

24/61



U. N. A. M.
FACULTAD DE CIENCIAS

INTERACCION DE LA MELATONINA Y
ANALOGOS CON LA ANALGESIA
POR MORFINA EN RATONES

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

PRESENTA

OSCAR DURAN LEON

FALLA DE CR. GEN

1989



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

1. INTRODUCCION.....	1
1.1. RECEPTORES DEL DOLOR	3
1.2. EL DOLOR COMO UNA RESPUESTA	6
1.3. NEUROTRANSMISORES Y NEURORREGULADORES DEL DOLOR	9
1.3.1. OPIOIDES ENDOGENOS	9
1.3.2. DOPAMINA Y NORADRENALINA	10
1.3.3. SEROTONINA Y MELATONINA	12
1.4. ANESTESICOS Y ANALGESICOS	16
1.4.1. ANESTESICOS	16
1.4.2. ANALGESICOS DE TIPO NO OPIOIDE	17
1.4.3. ANALGESICOS DE TIPO OPIOIDE	18
2. OBJETIVOS	20
3. MATERIAL	21
4. METODO	22
5. RESULTADOS	25
5.1. MORFINA	25
5.2. GRUPO 1 (sin efecto aparente).....	26
5.3. GRUPO 2 (aparente antagonismo).....	27
5.4. GRUPO 3 (aparente potenciación).....	27
5.5. GRUPO 4 (efecto bifásico)	28
5.6. REPETICION DE ALGUNOS EXPERIMENTOS	30
5.7. COMPUESTOS DE REFERENCIA	32
6. FIGURAS	36
6.1 CURVAS DOSIS RESPUESTA A LA MORFINA	36
6.2 CURSO TEMPORAL DEL EFECTO DE MORFINA.....	37
6.3 CURVAS DEL GRUPO 1 (sin efecto aparente).....	38
6.4 CURVAS DEL GRUPO 2 (aparente antagonismo) ...	46
6.5 CURVAS DEL GRUPO 3 (aparente potenciación)...	51
6.6 CURVAS DEL GRUPO 4 (efecto bifásico)	55
6.7 CURVAS DE EXPERIMENTOS REPETIDOS	58
6.8 CURVAS DE LOS COMPUESTOS DE REFERENCIA	64
7. DISCUSION	74
8. CONCLUSIONES	79
9. APENDICES	81
10. BIBLIOGRAFIA	88

INTRODUCCION

Desde siempre el hombre ha padecido de las enfermedades, a las que consideró como una fatalidad haciéndoles frente de muy distintas maneras. Con el reconocimiento mismo de las enfermedades la humanidad comenzó a desarrollar mecanismos que le permitieran prevenirlas y curarlas.

Aunque la ausencia de toda enfermedad no es siempre obtenible, pueden controlarse las enfermedades o sus manifestaciones al grado en que permitan al individuo la capacidad de funcionar óptimamente y mantener la armonía de sus facultades dentro de un ambiente determinado, disfrutando de un bienestar individual y sirviendo con eficiencia al progreso común. Esta es la definición de Salud en que muchos convendríamos (Hernán, 1968).

Como en todas las demás áreas de empeño humano, se ha logrado acumular una gran cantidad de conocimiento que ha llevado a la necesidad de dividir el conocimiento y de formar especialistas que dominen cada una de éstas divisiones. Así, por ejemplo, la atención directa de los enfermos en la actualidad se delega en el médico. La profesión médica tiene como principales actividades las siguientes: 1) Prevención de la enfermedad, 2) Diagnóstico, 3) Tratamiento y 4) Rehabilitación del individuo (Hernán, 1968).

Muchas otras disciplinas tienen que ver con la salud humana. Actualmente se realizan esfuerzos científicos, tecnológicos y administrativos para este fin en todos los países del mundo. La actividad humana que estudia las acciones de las sustancias químicas sobre los organismos y las transformaciones que sufren las sustancias por los organismos vivos, utilizados o no con fines terapéuticos se denomina farmacología.

En cuanto a las sustancias que son objeto de estudio de la farmacología pueden ser compuestos de cualquier tipo, o incluso elementos químicos.

Aunque casi cualquier sustancia puede ser objeto de estudio de la farmacología, se prefieren o hay más probabilidad de que sean estudiadas las que tienen un efecto claro sobre el organismo en pequeñas cantidades. La probabilidad de que una sustancia dada sea estudiada farmacológicamente depende de que tenga o pueda tener efectos medicinales o tóxicos, y muchísimas sustancias pueden tener uno u otro, o ambos tipos de efectos.

Lo que se reconoce como enfermedad cambia dependiendo de múltiples factores y hasta llega a ser motivo de controversia el decir si tal o cual estado es o no una enfermedad. Pero fuera de estas controversias que no son motivo de este estudio, se puede

concordar en varias condiciones para las cuales la mayoría de los humanos buscamos alivio. Una de estas afecciones es el dolor.

El dolor muy frecuentemente acompaña a la enfermedad o puede ser la enfermedad misma. Generalmente se convierte en la verdadera causa por la que se consulta al médico o por y para lo que se busca alivio. Para el alivio del dolor se a recurrido a muchos remedios a lo largo de la historia de la humanidad, para poder erradicarlo o en su defecto hacerlo más tolerable. Algunos de estos remedios se han encontrado efectivos a la larga, como en el caso del opio que contiene morfina, codeína y papaverina. Estas substancias aún resultan de la mayor utilidad para el tratamiento del dolor, aunque sólo algunos miles de años después hemos empezado a entender porqué y cómo es que funcionan. Sin embargo, no todos los remedios que alguna vez se han usado han permanecido y muchos han quedado como simples anécdotas en la historia de nuestra lucha contra el dolor y la enfermedad.

Muchas enfermedades que padece el hombre se han logrado controlar de un modo satisfactorio, pero no así el dolor que sigue siendo uno de los principales problemas por resolver, de tal manera que empezaremos por conocer y entender algunas descripciones de la naturaleza del dolor.

La experiencia del dolor, es algo que la mayoría de los seres humanos hemos tenido en algún momento de la vida y de acuerdo con las condiciones en que se presente, podrá tener muy diversos significados para el individuo que lo percibe.

El dolor es una sensación corporal muy útil, que indica la presencia de una anomalía, su localización o la posibilidad de un daño físico, lo cual implica una adaptación protectora de la supervivencia del individuo o de la especie misma. Así por ejemplo un dolor agudo, generalmente induce un comportamiento evasivo (Levine, 1982; Sternbach, 1968; Gildenberg y col., 1985).

El dolor es una percepción subjetiva que comunicamos imperfectamente de una u otra manera. Lo que otro organismo percibe es el comportamiento y no la sensación misma (Sternbach, 1968). El dolor modifica el comportamiento de quien lo percibe afectando parcial o totalmente sus actividades.

En la mayoría de los casos el dolor es el resultado de una respuesta apropiada del sistema nervioso a un estímulo nocivo, que daña o potencialmente puede dañar a un tejido (Gildenberg y col., 1985).

El dolor de importancia médica, es un síndrome doloroso o sea una manifestación clínica que se forma de un conjunto de síntomas y signos tanto fisiológicos como psicológicos, y no como una serie de eventos que ocurren por separado.

RECEPTORES DEL DOLOR.

La percepción del dolor es debida a la presencia de receptores en muchas partes del cuerpo como, la piel, las vísceras, los vasos sanguíneos, el músculo esquelético, la córnea y otros órganos. Los receptores del dolor pueden responder a estímulos de tipo térmico, eléctrico, químico y mecánico, que potencialmente dañen la integridad del individuo. Los estímulos de tipo endógeno generalmente indican algún trastorno de tipo patológico y su naturaleza puede asociarse con la localización, continuidad e intensidad del estímulo (Winter, 1965).

Cualquiera que sea el tipo de estímulo provocará un impulso sensorial, el cual es propiamente integrado y trasladado como una señal al sistema nervioso central. Desde niveles espinales puede originar una respuesta de evitación refleja y al llegar al cerebro puede generar conductas más o menos complejas dependiendo de las circunstancias particulares en que se perciba.

Los receptores sensoriales al dolor son los llamados nociceptores, que son terminaciones nerviosas libres no encapsuladas. Pero no todas las terminales nerviosas libres transportan la sensación del dolor, ni presentan la misma sensibilidad o son capaces de responder a cualquier tipo de energía, así la respuesta al dolor va a depender de las características de los receptores involucrados, por que el dolor puede originarse en terminales nerviosas, fibras nerviosas o desde el mismo sistema nervioso central. La intensidad, duración y la propia naturaleza del estímulo, son factores importantes para la respuesta del organismo.

Hay receptores que son excitados por estímulos físicos además de los que responden a estímulos químicos, aunque la vía nerviosa hacia el sistema nervioso central probablemente sea la misma para ambos (Keele, 1964).

Las fibras que inervan a los nociceptores son principalmente de calibre delgado y pueden ser fibras A δ (mielínicas) o fibras C (amielínicas). En el primer tipo de fibras, la conducción del impulso nervioso es favorecida por la capa aislante de mielina lo cual implica una velocidad de conducción relativamente alta (12 a 30 m/s). En cambio, las fibras amielínicas tienen una velocidad de conducción mucho menor (0.5 a 3 m/s).

La actividad evocada en los nociceptores es transmitida al sistema nervioso central, donde son activados circuitos neuronales en la médula espinal o en el núcleo del trigémino, ascendiendo por vías más o menos especializadas que transmiten la información concerniente al estímulo nocivo, al tallo cerebral, al tálamo y a la corteza cerebral para su procesamiento.

Un nociceptor debiera distinguir la diferencia entre un esti-

mulo nocivo y uno inocuo, existiendo los que responden sólo al estímulo dañino y los que responden a ambos.

Se han descrito dos clases principales de nociceptores en la piel, los A δ y los polimodales C. Los nociceptores A δ han sido descritos en la piel de gatos, ratas, conejos, monos y humanos (Willis, 1985).

Los nociceptores A δ son sensibles a los estímulos de tipo mecánico, pero no a los estímulos químicos o térmicos. La estimulación repetida en la zona de un campo receptivo, identificado como un nociceptor mecánico A δ en la piel de mono provoca fatiga en los receptores (Willis, 1985). Pueden ser sensibilizados al producirse una quemadura en la piel, pero también una exposición prolongada a temperaturas de 55 a 60 °C puede inactivarlos (Fitzgerald y Lynn, 1977).

Los nociceptores polimodales C, responden a estímulos mecánicos, térmicos y químicos. Su axón aferente no tiene mielina. Su velocidad de conducción es de 2.5 m/s. Estímulos mecánicos y térmicos aplicados en forma repetida a estos receptores, causan fatiga. La histamina, la bradicinina, la acetilcolina, los ácidos o iones como el potasio activan a estos nociceptores en grados muy variables (Willis 1985).

Otros nociceptores cutáneos responden a estímulos de frío intenso y tienen un umbral alto, al parecer están inervados por fibras aferentes tipo A δ y polimodales C que son insensibles a la estimulación mecánica. En sí, el papel de los nociceptores cutáneos es el de recibir, la estimulación dolorosa de tipo quemante y de picadura. En la piel normal el dolor por picadura parece ser mediado por nociceptores A δ y el de tipo quemante por nociceptores polimodales C. Sin embargo otros receptores pudieran estar involucrados (Willis, 1985).

Los nociceptores musculares son terminaciones libres que se encuentran en el tejido conectivo del músculo, entre las fibras musculares, paredes de vasos sanguíneos y tendones. Incluyen dos grupos de fibras aferentes, mielinizadas (grupo III o fibras A δ), y no mielinizadas (grupo IV o fibras C) (Willis, 1985).

La posibilidad de que el grupo III, participe en la transmisión del dolor, en músculo esquelético, todavía es discutida, se sugiere que son activados por la contracción muscular y son más activos durante el ejercicio que el grupo IV y su papel puede ser más ergorreceptivo que nociceptor (Mense y Stohne, 1983).

Es probable que el dolor muscular se deba a la activación de fibras aferentes del grupo IV que tienen un alto umbral a la estimulación mecánica y pueden ser excitadas por compuestos químicos algésicos así como soluciones hipertónicas de NaCl o KCl y por activación del músculo en condiciones isquémicas. Es claro

que estos nociceptores musculares perciben el dolor profundo agudo o sordo que puede ser pulsátil o sostenido.

Los nociceptores de las articulaciones están formados por fibras aferentes del grupo III y IV. Los movimientos normales de la articulación en exceso pueden producir dolor, además son sensibilizados por sustancias químicas que produzcan inflamación en la articulación, minimizando así su movimiento.

De los nociceptores viscerales se conoce muy poco, a pesar de la importancia que representan en la clínica de las enfermedades viscerales que provocan dolor.

El dolor visceral presenta varias facetas una de las más importantes es que no se puede localizar fácilmente su lugar de origen por que comúnmente es referido a una región somática. Otra faceta del dolor visceral es el disparo de reflejos autonómicos y somáticos (Bowman y Rand, 1985; Willis, 1985).

Existen varias teorías de porqué el dolor visceral es pobremente localizado, una de ellas explica que las fibras aferentes que inervan a las vísceras son usadas para propósitos reflejos y no para procesos de sensación (Willis 1985).

Se propone también una teoría de convergencia de proyección, en donde muchas de las células del tracto espinotalámico reciben una convergencia de estímulos de los nociceptores cutáneos y viscerales, así el cerebro podría interpretar erróneamente el curso de entrada de los estímulos nocivos viscerales al basarse en las experiencias aprendidas más comunes que son las de los nociceptores cutáneos en la misma vía, siguiendo así un perfil de entrada de tipo dérmico y no visceral (Willis 1985).

Sinclair en 1948, estableció que los nociceptores individuales de una misma rama aferente inervan ambas estructuras, somáticas y profundas. Algunos estudios que se han realizado apoyan esta teoría, como el de Pierau que en 1982 demuestra, que células ganglionares de la raíz dorsal son activadas algunas veces por la estimulación de dos nervios periféricos diferentes (Willis, 1985).

En el corazón se han identificado varios tipos de receptores que incluyen a barorreceptores, macanorreceptores, y quimiorreceptores, dentro de los nociceptores es probable que estén inervados por fibras aferentes A δ y C que se activan durante la oclusión coronaria (Brown, 1967; Brown y Malliani, 1971; Uchida y Murao, 1974).

En la angina de pecho se activan los nociceptores cardíacos durante la isquemia. Esta causa la liberación de prostaglandinas del corazón sensibilizando a los nociceptores (Willis, 1985).

Otras sustancias algésicas que podrían contribuir a la angina de pecho son la bradiginina, el potasio y los iones de hidrógeno (Uchida y Murao, 1974).

EL DOLOR COMO UNA RESPUESTA.

En la clínica, la evaluación del dolor como un síntoma es una actividad fundamental en el diagnóstico. Se hace necesario que el paciente pueda describir su sensación dolorosa para que el médico pueda más fácil o rápidamente establecer la naturaleza de la enfermedad que está produciendo el dolor. Gruesamente el dolor puede dividirse en 3 categorías: 1) Dolor agudo, 2) Dolor crónico y 3) Dolor por malignidad (Gildenberg, 1985).

El dolor agudo es aquel que se produce por la acción de un estímulo nocivo que potencialmente puede dañar a un tejido, como el pinchar la piel, las cortaduras, quemaduras, choques eléctricos y en la práctica clínica se incluyen las fracturas, laceraciones y otros traumas. El dolor agudo es temporal y va desapareciendo paulatinamente al ser curado el tejido que ha sido dañado. Aunque no por esto deja de requerirse tratamiento para este tipo de dolores.

El dolor crónico es aquel que persiste durante un largo tiempo. Gildenberg (1985) lo establece a partir de los 6 meses en forma arbitraria. Este tipo de dolor suele perder su utilidad biológica funcional por que sobrepasa su función protectora y se vuelve un problema en sí mismo.

El dolor por malignidad se presenta por la acción de procesos cancerosos. Generalmente es de tipo crónico, y es por compresión al crecer desordenadamente los tejidos. También suele haber trastornos metabólicos locales y producción de sustancias algógenas o sensibilizantes.

Dentro de estas tres categorías el dolor puede ser de tipo quemante, punzante, prensante o picante.

Existen varias respuestas francas del cuerpo que pueden ser consideradas para la evaluación del síndrome doloroso, de las cuales mencionaremos algunas: gritos o lamentos, cambios de postura, contracción abdominal que acompaña a dolores internos, expresiones faciales y reflejos súbitos de retirada.

Otros aspectos del síndrome doloroso son las respuestas fisiológicas y las respuestas periféricas del sistema nervioso autónomo, que implican cambios en los latidos del corazón, presión sanguínea, actividad gástrica, náuseas, sudoración, excitabilidad muscular excesiva, actividad electro-encefalográfica, secreción hormonal, composición química de la sangre y de la orina. También

se incluyen las reacciones psíquicas al dolor, que junto con las anteriores son las más sutiles y difíciles de observar como la ansiedad, depresión, angustia y miedo (Sternbach, 1974).

Pero todas estas manifestaciones a evaluar sólo nos dan una aproximación que difícilmente puede cuantificarse ya que la percepción de cada individuo es única a diferentes tiempos y no puede ser completamente igual a la de otro. Se ha encontrado que en varias personas a las que se les aplica un mismo estímulo nocivo reaccionan en forma diferente.

Esto es de esperarse por las diferencias estructurales, funcionales y las distintas experiencias, existentes entre los individuos, que incluyen su sistema neuroendócrino, que dá como resultado una mayor o menor sensibilidad personal. Las experiencias al dolor que haya sufrido en otras ocasiones, la situación en que se experimente y la importancia que tenga para el individuo, provocarán también diferencias en la respuesta al estímulo nocivo.

Todos estos hechos constituyen dificultades para la cuantificación del dolor. La cuantificación debiera ser objetiva y reproducible para poder generalizar los resultados. Sin embargo, dados los antecedentes presentados, esto no es fácil.

En las respuestas fisiológicas, existe una posible ventaja: que pueden ser menos influenciadas por factores psicósomáticos. Están menos sujetas a control o alteración por el mismo organismo que lo padece, en comparación a una respuesta verbal.

Con todo esto cabe la pregunta de si es posible estudiar el dolor desde el punto de vista científico. Y la respuesta es sí. Tomando en cuenta aspectos conductuales del individuo en relación al dolor a un nivel celular en el sistema nervioso, a nivel fisiológico, del comportamiento o afectivo que pueden ser medibles y observables.

Estos estudios se pueden realizar en el mundo de los animales, ya que en él se opera de un modo que no sería posible entre los humanos por razones obvias. También surge la duda de si es pertinente el comparar la respuesta del dolor en humanos y en animales ya que el dolor es una experiencia subjetiva universal del género humano. Pero no sabemos si los animales comparten con nosotros esta experiencia. En los animales, al igual que en los humanos, el dolor lo debemos inferir de su conducta.

Para interpretar los efectos de un estímulo nocivo en los animales de laboratorio, sólo es necesario observar las respuestas somáticas. Por ejemplo al colocar una pinza en alguna de las extremidades de un ratón provocará en éste una serie de flexiones y sacudidas de la misma. Si se coloca en la base de la cola el animal girará y morderá la pinza intentando retirarla. Además, puede emitir una serie de chillidos en ambos casos, en función de la

magnitud del estímulo.

Una solución hipertónica que cause dolor en el hombre, si es inyectada intradermalmente en el cobayo provocará lamido y mordisqueo en la zona inyectada. En el ratón, la inyección de acetilcolina por vía intraperitoneal, provocará también lamido y mordisqueo, además de una serie de estiramientos del cuerpo de manera tal que las extremidades posteriores las extiende hacia atrás completamente, observándose también una serie de contracciones de los músculos abdominales.

En un animal con sección espinal alta se pueden observar algunas de las respuestas somáticas a los estímulos nocivos. Lewis (1942), en un gato decapitado observó que al dañar la piel se daban vigorosos patataleos y al estimular zonas profundas somáticas y viscerales se daban contracciones locales de la musculatura del tronco (Willis, 1985).

Así, el término de dolor en animales intactos y espinales tiene una connotación afectiva de validez no conocida. Por esta razón Sherrington (1906), introdujo el adjetivo nociceptivo para los nervios terminales sensorios en la estimulación dada por un estímulo nocivo y su reflejo (Willis, 1985). Aplicando esta terminología al hombre la nocicepción se establece para un estímulo nocivo que concierne a un nociceptor terminal.

Pese a lo anterior, podríamos afirmar que tanto los humanos como los animales presentamos mecanismos y respuestas a estímulos que los humanos consideramos dolorosos. Puede ser que el significado sea en algunos casos diferente, pero es claro que en alguna medida existe el dolor en los diversos grupos de animales.

El ser humano fácilmente puede reconocer que un dolor de tipo experimental no representa un peligro, en cambio un dolor con un origen desconocido que se interpreta como patológico puede tener consecuencias más serias y posiblemente amenazar su vida, lo cual sería un motivo de preocupación extrema, influyendo en cierto modo en su evaluación. En cambio, un animal escasamente puede establecer esta diferencia y por lo tanto sus respuestas al estímulo doloroso probablemente sean las mismas en ambos casos, por lo que puede resultar más fiel, para una evaluación real de la sensación dolorosa.

Tal vez el dolor en los animales no sea de la misma naturaleza que en el humano, pero el estímulo que provoca dolor en el hombre, comúnmente provoca una respuesta de algún tipo de movimiento reflejo que puede ser observable y cuantificable. Además, el curso de este comportamiento se ve influenciado por la administración de un analgésico, siendo por lo tanto de gran utilidad para algún tipo de evaluación farmacológica.

NEUROTRANSMISORES Y NEURORREGULADORES DEL DOLOR

En la transmisión del dolor están involucrados diversos procesos fisiológicos y varias sustancias que participan como neurotransmisores, moduladores y factores sensibilizantes.

Las sustancias que pudieran ser clasificadas como neurotransmisores o neuromoduladores del dolor son aquellas que determinan la transmisión del estímulo o modifican su curso e integración en alguna parte de las vías hacia el sistema nervioso central. De las sustancias a que hacemos referencia, las siguientes son algunas de ellas:

OPIOIDES ENDOGENOS. En las últimas dos décadas se han descrito sustancias que estructuralmente son diferentes a la morfina, pero en lo que respecta a su acción analgésica, son muy semejantes.

Se han aportado evidencias muy claras de la existencia de dos sistemas peptidérgicos que actúan como neurotransmisores o moduladores cerebrales endógenos que interactúan con los mismos receptores con los que interactúa la morfina, controlando el nivel de percepción del dolor.

El primer sistema está formado por las encefalinas que son cadenas peptídicas cortas y el segundo sistema lo forman las endorfinas que son también compuestos peptídicos pero de cadena más larga.

Algunos de estos péptidos se han clasificado de la manera siguiente (Stimmel, 1983):

ENCEFALINAS	ENDORFINAS
Metionina - Encefalina	α Endorfina
Leucina - Encefalina	β Endorfina
	τ Endorfina
	δ Endorfina
	Dinorfina

Hughes y Kosterlitz en 1975 aislaron de cerebros de cerdos a las encefalinas. La distribución de estos pentapéptidos, parece tener una correlación con los sitios y los efectos asociados con opioides como la analgesia, depresión respiratoria, cambios endocrinos, efectos motores (Stanley y Barchas, 1979).

Carecen de acción sobre tejidos que no contienen receptores para morfina y sus efectos son impedidos o cancelados por antagonistas de la morfina como la naloxona. Las encefalinas se encuentran distribuidas principalmente en tejidos cerebrales (Frederickson, 1977).

Las β endorfinas se encuentran con una mayor concentración en la pituitaria y en menor proporción en el cerebro (Stimmel, 1983).

Todas las endorfinas son semejantes en su habilidad para producir analgesia induciendo también tolerancia y dependencia. Sus efectos también son cancelados o impedidos por antagonistas de la morfina.

El mecanismo responsable de los efectos antinociceptivos de las endorfinas y las encefalinas no está completamente claro todavía.

Se tienen algunas evidencias de sus efectos sobre la liberación de otros neuroreguladores que intervienen en la respuesta del dolor, tanto para endorfinas como para encefalinas (Stimmel, 1983).

Varios estudios han revelado que los opioides endógenos actúan como neuroreguladores del dolor. Algunos autores han mostrado que al ser estimuladas ciertas regiones del sistema nervioso central, ricas en endorfinas y encefalinas, se provoca un alivio prolongado del dolor tanto en la rata como en el humano (Mayer y col., 1971; Stanley y Barchas, 1979).

La administración de encefalinas y endorfinas en dosis altas dentro del sistema ventricular del cerebro, médula espinal y algunos sitios del cerebro, provoca una analgesia semejante a la producida por morfina cuando es administrada por la misma vía (Goldstein, 1979).

Sin embargo, se sugiere que el sistema antinociceptivo opioide interno no es activado rápida o fácilmente por estímulos nocivos agudos o de intensidad moderada si no que, posiblemente, es requerido un dolor crónico de tipo patológico o en asociación con un estrés abrumador (Kelly, 1987).

Polipéptidos de este tipo no han podido ser utilizados como analgésicos, pues no es probable que atraviesen la barrera hematoencefálica además de que son rápidamente degradados por el organismo. Sin embargo, pueden descubrirse drogas útiles entre los análogos sintéticos.

DOPAMINA Y NORADRENALINA. La síntesis de estas catecolaminas se lleva a cabo en neuronas adrenérgicas simpáticas, en diversas áreas del sistema nervioso central y en las células de las médulas suprarrenales y en las células cromafines de otros tejidos. El punto de partida propuesto por Blaschko hace más de treinta años para la síntesis de las catecolaminas está en los aminoácidos esenciales fenilalanina y tirosina (ver apéndice "A"). La vía sintética llega hasta noradrenalina en los nervios simpáticos y en algunas neuronas del sistema nervioso central. En otras neuronas centrales la síntesis se interrumpe con la formación de dopamina, el transmisor de los llamados nervios dopaminérgicos (Mayer, 1982; Bowman y Rand 1985).

La participación de ambas catecolaminas en la actividad de los opioides ha sido revelada mediante varios estudios. Takemori y col. (1975), proponen que el sistema dopaminérgico es un modulador negativo de la analgesia morfínica. Varios estudios y la experiencia clínica coinciden con este punto de vista. Así por ejemplo Calcutt y Spencer (1971), dicen que la inyección intraventricular de dopamina, en ratones, reduce la actividad antinociceptiva de morfina. Van der Werde y Spoerlein en 1973, mostraron que en ratones, agonistas dopaminérgicos como la apomorfina son antagonistas de los efectos analgésicos de morfina y antagonistas dopaminérgicos, (que no son antagonistas adrenérgicos) potencian la analgesia por morfina (Pepeau, 1976).

Paalzow y col. (1974), describe que el tratamiento con L-Dopa, un precursor directo de la dopamina y la inhibición de la β -hidroxilasa de dopamina, la enzima que convierte a la dopamina en noradrenalina, provoca un incremento en la concentración de dopamina y una disminución de la noradrenalina, antagonizando la acción antinociceptiva de la pentazocina en ratas. Similarmente, la administración de L-Dopa esta asociada con un incremento del dolor y contracciones de áreas previamente convertidas en analgésicas por medio de rizotomía (Stimmel, 1983).

Con respecto a la noradrenalina se ha dicho que tiene un efecto antagónico de la analgesia por opioides. Así por ejemplo Stimmel (1983), refiere que al ser inyectada en forma intraventriculocerebral en ratas, produce una atenuación del efecto analgésico producido por morfina. También Sparkes y Spencer (1971), encuentra que la administración intraventricular reduce la actividad antinociceptiva de morfina en ratas. En otra especie (ratones) Calcutt y Spencer (1971), Sewel y Spencer (1974) y Sparkes y Spencer (1969), han confirmado este mismo hallazgo. Aparte de la morfina el fenómeno se ha encontrado también con otros analgésicos de tipo opioide como la pentazocina y la ciclazocina en ratones (Sewell y Spencer, 1974).

Existen reportes que hablan de una acción contraria de ambas catecolaminas sobre la actividad antinociceptiva de los opioides, por ejemplo Liebeskind (1976), dice que la analgesia producida por la administración de morfina en la materia gris periacueductal o por estimulación eléctrica en esta misma zona, en ratas, se ve potenciada cuando los niveles de dopamina son altos y los de noradrenalina son bajos. Posiblemente este efecto sólo se da en este tipo de analgesia.

Contrariamente, en otras regiones como en el área gris periacueductal del tallo cerebral, la liberación de noradrenalina puede estar asociada con una potenciación de la analgesia por morfina. Similarmente, la liberación de esta misma catecolamina en la médula espinal provoca una inhibición en la transmisión del impulso aferente del dolor en las neuronas de la raíz dorsal y

varias vías espinales ascendentes, provocando así un efecto anti-nociceptivo (Stimmel, 1983). La elevación de noradrenalina cerebral produce analgesia o un aumento de la analgesia por morfina (Wei, 1975).

La manera en que intervienen la dopamina y la noradrenalina sobre la actividad antinociceptiva de los opioides depende de las condiciones de prueba y manipulaciones específicas. Las diferencias encontradas por los autores citados podrían atribuirse a varios factores que incluyen: los métodos de evaluación analgésica, las diferentes especies y los distintos sitios anatómicos de administración.

SEROTONINA Y MELATONINA. La serotonina se forma en las neuronas llamadas triptaminérgicas del sistema nervioso central. También se encuentra distribuida en el sistema nervioso periférico actuando en ambos como neurotransmisor o modulador de actividad neuronal o de transmisión sináptica.

La serotonina participa en funciones de los sistemas cardiovascular, respiratorio y gastrointestinal. Estimula los nervios eferentes autónomos provocando la liberación de noradrenalina y acetilcolina en las terminaciones nerviosas (William, 1982).

En el sistema nervioso central se ha identificado como un neurotransmisor dentro del encéfalo. El 90% de la serotonina existente en los mamíferos se aloja en el tracto gastrointestinal principalmente en células enterocromafines y similares, el 10% restante está distribuido en las plaquetas y en el sistema nervioso central.

La serotonina se sintetiza in situ a partir del aminoácido esencial triptófano, que se hidroxila para formar el 5-hidroxi-triptófano y luego se descarboxila proporcionado así la amina que después será captada por los gránulos o vesículas secretoras que la almacenan para su posterior liberación (ver apéndice "B").

Los estudios en animales de laboratorio han puesto en evidencia el papel mediador de la serotonina, en el mecanismo inhibitorio del dolor, en el sistema nervioso central. Los resultados muestran que a bajos niveles de serotonina cerebral, provocados por procedimientos farmacológicos o por lesiones selectivas de neuronas cerebrales que contengan serotonina, se antagonizan los efectos analgésicos producidos por morfina y que el incremento de los niveles serotoninérgicos producen una potenciación analgésica (Hynes y col., 1985). La morfina por sí misma produce incremento en el recambio de serotonina (Yarbrough y col., 1971, 1973; Haubrich y Blake, 1973).

Samanin y col. (1973), encontraron que al lesionar el sistema del rafé en el cerebro medio se produce un marcado agotamiento de serotonina en el cerebro anterior, antagonizando el efecto anal-

gésico de morfina, aunque curiosamente no se produce el mismo efecto con metadona, meperidina, codeína o propoxifeno. Sin embargo, los resultados de estos autores deben tomarse con precaución puesto que las comparaciones las hacen entre dosis no equianalgésicas. Los métodos de evaluación analgésica utilizados por estos autores fueron, el de la plancha caliente y el de compresión de la cola en ratas.

También se reporta que la inyección intraventricular de serotonina potencia la actividad antinociceptiva de morfina en ratas (Sparkes y Spencer, 1971), en ratones (Sparkes y Spencer, 1969; Calcutt y Spencer, 1974; Sewell y Spencer, 1974) o que prolonga y potencia los efectos antinociceptivos de ciclazocina, nalorfina y pentazocina en ratones (Sewell y Spencer, 1974).

Kelly y Franklin (1987), concluyen a partir de uno de sus trabajos de analgesia por estrés en ratas, que un mecanismo triptamínérgico, probablemente actúa como un amplificador de la analgesia de tipo opioide.

En el hombre el dolor crónico esta asociado con la depresión, planteándose así la hipótesis de la existencia de un mecanismo común del dolor y la depresión y que por la cronicidad, este efecto pudiera estar provocado por un agotamiento de las reservas o disminución de la actividad serotoninérgica en el cerebro. Sternbach y col. (1976), realizando estudios en humanos, sugieren que el incremento de serotonina cerebral provoca la disminución del dolor crónico.

Otros estudios mencionan que la inhibición de la biosíntesis de serotonina con para-clorofenilalanina incrementa la sensibilidad al dolor y la administración intraperitoneal de 5-hidroxitriptófano, el precursor inmediato de la serotonina, restablece el nivel interno de serotonina y el nivel umbral del dolor. Además, la inyección intraventricular de serotonina eleva el umbral del dolor en ratas y ratones (Sternbach y col., 1976).

Se cree que la analgesia producida por estimulación eléctrica del área gris periacueductal también depende de la integridad del sistema serotoninérgico ya que al inhibir la síntesis de serotonina con para-clorofenilalanina, en ratas, se reduce la analgesia y aumenta al administrar su precursor, el 5-Hidroxitriptófano (Liebeskind, 1976). Este mismo autor concluye que la serotonina posiblemente facilita la analgesia producida por la estimulación central. La analgesia producida por la estimulación central puede durar varios minutos o hasta horas, afortunadamente el alivio del dolor en el hombre por medio de este mecanismo, puede ser por varias horas después de haber estimulado unos cuantos minutos.

La serotonina también participa en el mecanismo que desencadena la migraña. Estudios bioquímicos que prueban los niveles de concentración de serotonina en plaquetas, así como la excreción

urinaria de serotonina y de sus metabolitos, han demostrado una variación en el recambio de serotonina durante un ataque de migraña. Existe la hipótesis de que la deficiencia existente en el recambio de serotonina del tallo cerebral rompe la modulación central del dolor y lo facilita, siendo probable que los que sufren este tipo de dolor, pudieran presentar en ese momento una deficiencia de serotonina a nivel central.

La ergotamina y la metisergida son compuestos que se utilizan para aliviar un ataque de migraña, los cuales actúan posiblemente en una forma indirecta dada por una potenciación de la serotonina en estructuras nerviosas involucradas en la modulación del dolor a nivel central (Franchi y col., 1976).

Además de su papel como neurotransmisor, la serotonina es un precursor de la hormona pineal llamada melatonina.

En 1917 McCord y Allen descubrieron que el extracto de la glándula pineal de bovino contenía una sustancia que blanqueaba la piel de anfibios y reptiles (Vaughan, 1984). Cuarenta años después, Lerner y sus colegas aislaron el compuesto responsable de dicho fenómeno el cual recibió el nombre de melatonina (5-metoxi-N-acetiltriptamina), (Reiter, 1985).

En los mamíferos la glándula pineal se encuentra entre los dos hemisferios cerebrales, sin formar parte del sistema nervioso central. Pesa alrededor de 100 mg en el hombre y 1 mg en la rata. Las células parenquimales de la pineal son inervadas por nervios simpáticos que contienen como neurotransmisor a la noradrenalina, cuyos axones posganglionares simpáticos terminales son procedentes del ganglio cervical superior (Axelrod, 1974).

En la pineal se han identificado dos grupos de compuestos, polipéptidos e indoles. En donde la melatonina y la serotonina pertenecen a los indoles (Reiter y Vaughan, 1977). La melatonina se sintetiza dentro de los pinealocitos, partiendo del aminoácido triptófano y es secretada dentro de la circulación sistémica (Pang, 1983); ver apéndice "B".

Mediante varios estudios se ha demostrado que la glándula pineal tiene una multifuncionalidad que conduce inevitablemente a afirmar que esta glándula actúa como un sincronizador general que estabiliza y modera la funcionalidad de otros órganos en el desempeño de varios procesos fisiológicos (Romijn, 1978; Reiter, 1987).

La actividad biosintética de la glándula pineal se ve claramente influenciada por procesos fisiológicos, neuronales, factores ambientales (Wu y col., 1987; Vollrath y Horst, 1988), compuestos químicos (Ho y col., 1985), la periodicidad e intensidad de la luz (Thiele y col., 1983; Lynch y col., 1984) y la edad del organismo; Kavaliers y col., en 1983 demuestran que existe dismi-

nución de los niveles de melatonina en plasma, registrada en una gran variedad de animales, conforme la edad del organismo aumenta, incluyendo al hombre (Brown y col., 1979).

Quay en 1964, usando un método fluorométrico mostró que el ritmo de melatonina en la glándula pineal de la rata presenta un ciclo circádico con niveles más altos en el período de oscuridad y niveles más bajos en el período luminoso (Reiter, 1985). Estos resultados concuerdan con estudios hechos en diferentes especies como la codorniz, el pollo (Lynch, 1971), la ardilla y el ratón (Reiter y col., 1983 y Reiter, 1985), hámster (Reiter, 1987) y el hombre (Lynch y col., 1978; Tetsuo y col., 1980).

Los resultados anteriores juntos con otra serie de estudios permiten inferir la existencia de un reloj biológico endógeno dependiente del ciclo luz-obscuridad, que es guiado internamente mediante cambios en la liberación de noradrenalina, por los nervios simpáticos que inervan a la glándula pineal (Brownstein, 1975). Además, se piensa en la participación de un circuito neuronal entre el sistema nervioso central y la glándula pineal que incluye ambos componentes nerviosos, central y periférico según se describe a continuación:

El ciclo luz-obscuridad es captado en el organismo por las retinas y transmitido por el haz retino-hipotálamico a el núcleo supraquiasmático del hipotálamo. Emergiendo señales neuronales de células intermediolaterales de la columna espinal hacia el ganglio cervical superior del que por último, sus axones llegarán hasta la glándula pineal. Sin embargo, aún no se tiene bien definida la conexión precisa entre el núcleo supraquiasmático y la médula espinal (Vaughan, 1984; Olcese, 1986; Klein, 1981).

Lakin y col. (1981) encontraron en ratones que existe relación entre los niveles internos de melatonina y la respuesta a estímulos nocivos, siendo menos sensibles al dolor los ratones durante la noche que durante el día, asociando esta disminución en la sensibilidad a un incremento nocturno en la producción de melatonina por la glándula pineal. En este mismo estudio muestran que existe diferencia en la respuesta analgésica por morfina, siendo mayor el tiempo promedio de respuesta al estímulo térmico durante el período obscuro.

Estos autores sugieren que la información derivada de la luz ambiental regula la sensibilidad al dolor vía glándula pineal, al aumentar o disminuir la síntesis de la melatonina y que además puede influir en la respuesta analgésica de tipo opiode.

Kavaliers en 1983 utilizando el mismo modelo experimental, reforzó esta idea al mostrar que los niveles de la analgesia por morfina en ratones se reducen con la edad del organismo, encontrando un menor efecto analgésico por morfina en los ratones más viejos y que además la analgesia se restablecía en estos animales

en forma significativa con la administración de melatonina por vía intraperitoneal.

Con estas pruebas se plantea que la glándula pineal y la melatonina están involucradas en la modulación de los ritmos diarios de la analgesia por morfina y que ésta también es influenciada por la edad del organismo (Kavaliers, 1983).

ANESTESICOS Y ANALGESICOS.

Los fármacos para el tratamiento del dolor pertenecen a distintos grupos. La primera y más gruesa clasificación que debe hacerse es la de los anestésicos y los analgésicos.

ANESTESICOS. Los anestésicos son fármacos que han eliminado el horror del dolor quirúrgico. La palabra anestesia deriva del griego, que significa falta de sensibilidad la cual implica una ausencia de toda percepción de cualquier tipo de estímulo.

Los anestésicos generales actúan sobre el cerebro produciendo pérdida del conocimiento y por lo tanto de todas las sensaciones.

El mecanismo por el cual producen esta pérdida de la conciencia no se conoce completamente. Meyer (1899) y Overton (1901) observaron que la potencia anestésica se correlaciona directamente con la liposolubilidad que presente el compuesto. Probablemente su punto de acción es sobre la doble capa lipídica de las membranas neuronales o un receptor protéico que se encuentra en esta localización (Bowman y Rand, 1985).

Los anestésicos locales como la cocaína impiden en forma reversible la producción o la conducción del impulso nervioso sobre cualquier parte del sistema nervioso y sobre cualquier tipo de fibra nerviosa. Su principal sitio de acción es la membrana celular.

Como regla general, las fibras de menor diámetro son más sensibles que las de mayor diámetro a la acción de los anestésicos y las fibras sensitivas del dolor generalmente suelen ser las más delgadas, lo que evidentemente se reflejará como una disminución de la sensación dolorosa, antes que, sobre otras sensaciones como el calor, frío, tacto y presión profunda. Con todo esto se sugiere el nombre de analgésicos locales en lugar de anestésicos locales (Bowman y Rand, 1985).

ANALGESICOS. Los fármacos que atenúan o suprimen el dolor sin afectar las sensaciones en general se denominan analgésicos y pueden dividirse en dos grupos principales: opioides y no opioides.

ANALGESICOS DE TIPO NO OPIOIDE. Este grupo está integrado principalmente por compuestos cuyo prototipo es el ácido acetil salicílico. Genéricamente se les suele denominar como analgésicos antiinflamatorios no esteroideos o como analgésicos antipiréticos por que suelen tener además de sus propiedades analgésicas, estas otras cualidades. El ácido acetil salicílico fué producido en forma eficaz por el doctor Félix Hoffmann (1867-1946). Introducido bajo el nombre de aspirina por Bayer el primero de febrero de 1899 en Alemania.

Los principales analgésicos antipiréticos son derivados del ácido salicílico, la anilina, la pirazolona, el isoindazol, el ácido antranílico, el ácido propiónico y la dihidrobenzoxacina.

Este tipo de analgésicos se utiliza generalmente para aliviar el dolor constante y poco intenso de origen circunscrito o difuso como las cefaleas, mialgias, artralgias, dolor de muelas, traumatismos ligeros, trastornos músculo esqueléticos, infecciones generales, insuficiencia vascular periférica, dolor ligero postoperatorio o por neoplasia, dolor postparto y la dismenorrea. Tienen menor efecto sobre el dolor de tipo visceral o el causado por traumatismos graves.

Estos analgésicos se caracterizan por no inducir tolerancia importante, ni predisposición a la dependencia física con el uso crónico.

El principal mecanismo de acción que se les reconoce es el de la inhibición de la síntesis de unas sustancias lipídicas llamadas prostaglandinas descubiertas en 1930 (Dundee, 1983; Bowman y Rand, 1985; Odile y Boris, 1987).

Las prostaglandinas presentan propiedades biológicas y farmacológicas muy variadas, son producidas en el organismo por la mayoría de los tejidos al término de un proceso enzimático muy complejo y sintetizadas en el hombre a partir del ácido araquidónico presente en los fosfolípidos de las membranas celulares.

Este ácido es liberado por una enzima llamada fosfolipasa A2, luego es transformado por dos grandes vías metabólicas llamadas de la lipooxigenasa y de la ciclooxigenasa llevando respectivamente a dos grupos de moléculas; los leucotrienos y las prostaglandinas (Odile y Boris, 1987).

Las prostaglandinas no son almacenadas en las células, sino sintetizadas de novo en respuesta a cualquier lesión celular de origen químico o mecánico.

Las prostaglandinas participan en numerosísimos procesos, como el desencadenamiento de las contracciones uterinas (se reducen antes del parto y aumentan en el transcurso del mismo), en la

hemostasis, provocan la contracción del músculo liso de las vías biliares y aumentan así la presión intraluminal dándose el cólico biliar, contribuyen a la patología de las metástasis destructoras del tejido óseo y sobre todo desempeñan un papel muy importante en la producción del dolor mediante un aumento en la percepción de las excitaciones algógenas por medio de un descenso de su umbral facilitando así la transmisión de los impulsos dolorosos, además de participar en el proceso inflamatorio.

Los fármacos del tipo de la aspirina bloquean pues la síntesis de las prostaglandinas en grado variable a nivel de la enzima ciclooxigenasa que transforma al ácido araquidónico en sustancias inestables, los endoperóxidos cíclicos, de donde derivan las prostaglandinas.

Se ha sugerido que también existe una acción central de los salicilatos que quizá sea subcortical a nivel del tálamo (Bowman y Rand, 1985).

ANALGESICOS DE TIPO OPIOIDE. Los analgésicos de tipo opiode son actualmente un grupo muy numeroso. Inicialmente estos fármacos fueron derivados del opio, como la morfina y la codeína al igual que muchos análogos semisintéticos de la morfina. Posteriormente fué desarrollada una serie de compuestos totalmente sintéticos con acciones muy semejantes a la morfina.

Así la palabra opiode sirve ahora para designar en un sentido genérico a todos los compuestos naturales o sintéticos que se unen específicamente a una o varias subespecies de receptores que se unen a la morfina o a sus antagonistas.

La morfina es extraída del opio que se obtiene del exudado lechoso de las cápsulas incididas inmaduras de la planta Papaver somniferum, originaria del Asia menor. El jugo lechoso se seca al contacto con el aire y forma una masa parda gomosa que se deshidrata y pulveriza para fabricar el opio oficial en polvo que contiene numerosos alcaloides en donde sólo algunos presentan utilidad terapéutica.

Los alcaloides del opio se clasifican en dos clases químicas: los fenantrenos (que contienen a la morfina, codeína y tebaina) y las bencilisoquinolinas (que contienen a la papaverina y a la noscapina).

Los opioides son analgésicos potentes que actúan sobre la percepción del dolor en el sistema nervioso central.

Este tipo de compuestos se utiliza para los dolores agudos intensos como el cólico biliar o renal, infarto del miocardio, y quemaduras o heridas graves. El efecto analgésico puede estar acompañado con somnolencia, supresión de la angustia y euforia. Recientemente se han empezado a utilizar opioides sintéticos muy

potentes de acción corta en combinación con neurolépticos también de acción corta (fentanil y droperidol) para intervenciones quirúrgicas especiales.

Algunos efectos colaterales no deseados de los opioides son la depresión respiratoria, náusea, vómito, mareo, constipación. La administración repetida de estos compuestos lleva a sus peores complicaciones; la tolerancia, la dependencia física y la autoadministración compulsiva. El fenómeno denominado como tolerancia es una disminución de la magnitud del efecto analgésico con la misma dosis, siendo necesario aumentarla para obtener el mismo efecto analgésico de la primera administración. La dependencia física se manifiesta ante la supresión del fármaco que la indujo, como una serie de trastornos fisiológicos que pueden llegar a ser muy severos y con gran sufrimiento por parte del paciente si ha recibido dosis altas por periodos prolongados. La autoadministración compulsiva no suele ocurrir en sujetos que reciben el opioide con propósitos terapéuticos, sino en sujetos que se lo autoadministran con lo que algunos autores llaman propósitos "recreacionales".

OBJETIVO

En vista de la existencia de un sistema nociceptivo central, al cual se integran una multiplicidad de sistemas endógenos que modulan la percepción y reacción a un estímulo nocivo, surge el interés de probar algunos compuestos que presentan ciertas analogías en su estructura química con una de las monoaminas cerebrales y con una hormona de la glándula pineal. Los productos a los que hacemos referencia son la serotonina y la melatonina, respectivamente. Sustancias de las cuales ya se han mostrado evidencias muy claras sobre su participación integrativa en el sistema modulador del dolor.

La razón del interés resulta clara, ya que existe la probabilidad de que por su analogía estructural, estos compuestos al interaccionar con morfina, pudieran cambiar su actividad analgésica.

Así, el trabajo está encaminado hacia una búsqueda exploratoria de un fármaco que en combinación con un analgésico de tipo opioide, pudiera modular en forma positiva su actividad antinociceptiva y que además nos permitiera entender de manera más clara, un mecanismo tan complejo, como lo es el sistema que modula la percepción del dolor y su respuesta.

Específicamente, se desea probar la interacción de una veintena de compuestos entre los que se encuentran la melatonina, algunos análogos, precursores químicos y otros compuestos que actúan sobre aminas cerebrales, en su interacción con morfina en un modelo de dolor en ratones.

Para realizar lo anterior fue necesario cubrir los siguientes objetivos:

- 1) Implementar el modelo experimental apropiado en ratones para evaluar la respuesta analgésica de tipo opioide (modelo de la plancha caliente).
- 2) Determinar la relación dosis-respuesta de analgesia para morfina, en el modelo de prueba.
- 3) Determinar una dosis de morfina en el modelo, que nos permita apreciar cambios en su actividad analgésica en las diferentes interacciones con los compuestos de prueba.
- 4) Determinar si la melatonina, el indorrenato y demás análogos o precursores químicos interactúan con la morfina, modulando su respuesta analgésica.

MATERIAL

1.- Material biológico:

Ratones machos, cepa Taconic, edad 5-9 semanas, peso corporal 20-40 gr.

2.- Equipo:

Balanza analítica ("Mettler" hasta décimas de mg).
Balanza granataria ("Ohaus" Mod. Triple Beam Balance).
Plancha caliente (Eléctrica con indicador de temperatura y cronómetro).

3.- Fármacos y compuestos utilizados:

Morfina (Clorhidrato), SSA.
Indorrenato, CINVESTAV.
Melatonina, U.A.M.
Clorpromazina (Clorhidrato), RHONE-POULENC.
Haloperidol, JANSSEN.
Reserpina.
Diazepam, HOFFMAN-La ROCHE INC.
Clonidina (Clorhidrato), SIGMA.
Alcohol etílico absoluto, J.T. BAKER.
17 Precursores químicos y análogos de melatonina y Serotonina, U.A.M.

Los precursores químicos y análogos que se probaron, fueron identificados mediante una clave para su mejor manejo. Clave que se mencionará a continuación junto con sus respectivos nombres químicos. Dentro del grupo se incluyó a la melatonina. La clave correspondiente a la melatonina fue revelada al final de la etapa experimental. Las estructuras químicas de estos compuestos se muestran en el apéndice "C".

CLAVE	NOMBRE QUIMICO
JH 1.	2,6-Piperidindiona-3-p-metoxifenilhidrazona.
JH 2.	6-Metoxi-3-oxo-1,2,3,4-tetrahydro-9H-pirido [3,4-b] indol.
JH 3.	3-(2-Aminoetil)-5-metoxi-1H-indol-2- ácido carboxílico.
JH 4.	5-Metoxi-1H-indol-3-etanamina.
JH 5.	N-acetil-5-metoxi-triptamina = (MELATONINA).
JH 6.	3-(2-Acetamidoetil)-5-metoxi-1H-indol- ácido carboxílico.

- JH 7. 6-Nitro-3-oxo-1,2,3,4-tetrahidro-9H-pirido [3,4-b] indol.
- JH 8. 3-(2-Aminoetil)-5-nitro-1H-indol-2- ácido carboxílico.
- JH 9. 6-Cloro-3-oxo-1,2,3,4-tetrahidro-9H-pirido [3,4-b] indol.
- JH 10. 3-(2-Aminoetil)-5-cloro-1H-indol-2- ácido carboxílico.
- JH 11. 5-Cloro-1H-indol-3-etanamina hidrociorada.
- JH 12. 1H-Indol-3-etanamina.
- JH 13. N-[2-(1H-indol-3-il)etil] acetamida.
- JH 14. 4-(Indol-3-il) butan-2-ona.
- JH 15. 4-(1H-indol-3-il)-2-butanona oxima.
- JH 16. 1H-indol-3-propanóico.
- JH 17. 1H-Indol-3-propanamida.
- JH 18. N-[2-(5-metoxi-1H-indol-3-il)etil]-(Z)-4-amino-4-ácido oxobutenóico.

Indorrenato. 5-Metoxitriptamina-Beta-carboximetilester.

METODO.

ACONDICIONAMIENTO.

Los ratones fueron mantenidos en un cuarto, con temperatura regulada (21-23 °C) y un fotoperiodo 12 h de iluminación (7am-7pm) y 12 h de oscuridad (7pm-7am). Se formaron grupos de 10 animales, en jaulas de acrílico, con agua y alimento ad libitum. Utilizando alimento purina para animales de laboratorio y cambiando la cama cada tres días durante el periodo de iluminación. Se mantuvieron en esas condiciones de dos a tres semanas antes de realizarse el experimento.

TRABAJO EXPERIMENTAL.

Se realizaron las curvas dosis respuesta y las curvas temporales de morfina con diferentes dosis, para determinar que dosis de morfina nos permitiría observar algún cambio en su efecto

antinociceptivo.

Administración de fármacos: los fármacos se administraron por vía subcutánea utilizando las siguientes dosis, de acuerdo a otros estudios realizados en el laboratorio. Morfina 3.16, 5.62, 10, 17.62 mg/Kg. Melatonina 10, 20, 40 mg/Kg. Indorrenato 10, 20 mg/Kg. Precursores químicos y análogos de melatonina 10, 20 mg/Kg. Haloperidol 1 mg/kg. Clorpromacina 1, 3 mg/kg. Diazepam 10 mg/kg. Clonidina 316 mcg/kg, 1 mg/kg. Reserpina 1, 2, 3, 10 mg/kg. Alcohol 10%. El volumen de la solución administrada fue de 0.1 ml por cada 10 g de peso corporal.

Los experimentos se realizaron durante la fase luminosa después del medio día, con un tiempo de duración de cinco horas. Los animales utilizados fueron desechados después de cada prueba. En todos los casos se utilizaron ratones machos, sólo hubo una excepción, observación que será indicada en su momento. Este cambio no tuvo un fin determinado, sino que fue debido a las circunstancias de producción en la granja, en ese momento.

Se formaron grupos de 10 individuos c/u, registrando su peso y marcándolos para su posterior identificación. Cada grupo fue tratado de la siguiente manera:

Grupo 1 (control). Recibía el vehículo del compuesto de prueba + el vehículo de morfina.

Grupo 2. Recibía la solución de morfina + el vehículo del compuesto de prueba.

Grupo 3. Se le administró la solución de morfina + el compuesto de prueba en su dosis correspondiente.

Grupo 4. Se le administraba morfina + el compuesto de prueba en su dosis correspondiente.

Grupo 5. Recibió la solución del compuesto de prueba + el vehículo de morfina.

El tiempo para la administración de los compuestos en los cinco grupos fue de media hora, seguido por el registro de la evaluación analgésica al estímulo nociceptivo, en donde los tiempos de lectura fueron a los 30, 60, 90, 150, y 210 minutos después de la administración de los compuestos.

EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANALGESICA.

El método para la evaluación analgésica fue el de la plancha caliente (Hot Plate), descrito por Woolfe y MacDonald en 1944 y Eddy and Leimbach en 1953 (Turner, 1965). Los ratones eran colocados sobre la plancha que estaba limitada por un cilindro de

cristal de 21 cm de diámetro y 21 cm de altura. La plancha se mantuvo a una temperatura constante de 55 ± 0.5 °C.

Se consideraron tres tipos de respuesta al estímulo térmico: 1) El lamido de las extremidades delanteras o traseras, 2) El intento de escalamiento sobre las paredes del cilindro, 3) El brinco, que se considera cuando ninguna extremidad corporal toca la superficie metálica. Registrando en segundos el momento en que apareciera cualquier de los tres tipos de respuesta.

El tiempo máximo de permanencia del ratón sobre la plancha caliente fue de 30 segundos, con el fin de no provocar algún posible daño tisular, que pudiera alterar la respuesta del ratón al estímulo térmico. Los animales que no dieron respuesta antes de este tiempo fueron retirados inmediatamente y se les asignó un tiempo de respuesta de 40 segundos.

De los tiempos de latencia registrados para cada ratón, en sus diferentes lecturas, se obtuvieron las medias y los errores estándar, para graficar sus curvas dosis respuesta o sus curvas temporales según los objetivos del experimento. Así cada gráfica muestra las curvas de los compuestos que fueron probados el mismo día en forma simultánea.

TRABAJO DE GABINETE.

Para el análisis estadístico, se obtuvo el área bajo la curva de cada una de las curvas temporales, por el método de los trapecios (Scraton, 1984). Con estos resultados se procedió a comparar las áreas bajo la curva de los compuestos químicos, en sus diferentes dosis, en interacción con morfina y de morfina sola; utilizando para esto el método de análisis de varianza (ANOVA) de una vía y así poder determinar si las diferencias, que pudieran observarse gráficamente entre ellas eran debidas al azar o a una acción de los compuesto químicos.

Si del procedimiento anterior las diferencias entre las curvas resultaban ser estadísticamente significativas, se continuaba con la prueba de Dunnett; comparando ahora el área de cada curva del compuesto solo y en interacción con morfina, en sus diferentes dosis, contra la curva de morfina sola. El compuesto en su forma individual se comparaba, siempre y cuando, por sí mismo provocara un cambio importante en la latencia de respuesta de los ratones al estímulo térmico. Con éste método confirmamos, si la diferencia existente entre la curva del compuesto químico en interacción con morfina y la curva de morfina sola, es debida al azar o provocada por el compuesto químico, en sus diferentes dosis, al interactuar con morfina.

RESULTADOS

En la realización de las curvas dosis respuesta de morfina, se utilizaron cuatro dosis (3.16, 5.62, 10, y 17.62 mg/kg). Se representan con diferentes símbolos y se unen con líneas los promedios de las respuestas a diferentes tiempos después de su administración. Teniendo la latencia de la respuesta en segundos contra el logaritmo de la dosis (ver figura 1). Todas las dosis de morfina elevaron el nivel de respuesta al estímulo térmico en forma proporcional a la dosis. El efecto máximo para las diferentes dosis de morfina se dió 30 minutos después de iniciada la prueba. En las lecturas posteriores, se observa una caída gradual con el paso del tiempo.

Para las curvas temporales, se utilizaron las mismas dosis de morfina. Registrándose ahora, la latencia de la respuesta en segundos contra el tiempo en minutos (ver fig 2). De acuerdo con los registros de las figuras 1 y 2, podemos notar que el aumento en la latencia de la respuesta depende directamente de la dosis administrada, correspondiendo el mayor efecto a la dosis de 17.62 mg/kg, con la que treinta minutos después de su administración se dió una elevación promedio de 35 segundos que sobrepasa el tiempo de permanencia del ratón en la plancha caliente.

Como se recordará, en material y métodos se mencionó que para evitar o reducir posibles daños o alteraciones tisulares en las extremidades de los ratones, que pudieran cambiar su sensibilidad a la prueba, se estableció un límite en el tiempo de permanencia de los animales en contacto con la plancha caliente. Este límite fue de 30 segundos, siendo retirados inmediatamente después de transcurrido este tiempo, si no daban respuesta alguna al estímulo térmico. A estos animales que rebasaron el tiempo de permanencia se les asignó una latencia de 40 segundos. Por esta razón, los promedios de la dosis más alta de morfina y algunas de sus interacciones, en las siguientes figuras, rebasan el tiempo límite de permanencia en algunos puntos de sus curvas.

Siguiendo con la figura 2, podremos ver que con el paso del tiempo la latencia de la respuesta va disminuyendo en forma gradual, hasta hacerse casi igual a la de los animales no tratados con morfina. Pasando ahora con el grupo control, podemos apreciar que su respuesta al estímulo térmico no varía en forma determinante en las cuatro lecturas registradas, lo cual nos permite suponer que no se está provocando un daño importante en la piel, que pudiera influenciar la percepción del estímulo térmico y así afectar la respuesta.

Basándonos en las respuestas a las diferentes dosis de morfina, se decidió que la dosis de 10 mg/kg de morfina sería adecuada para poder llevar a cabo las interacciones con los distintos compuestos químicos a probar y así poder ver si alguno o algunos de los compuestos aumentan o disminuyen el efecto antino-

ciceptivo de la morfina. Además, en vista de que era previsible que algunos de los tratamientos conjuntos prolongaran el efecto de la morfina (ver fig. 2), se determinó aumentar el tiempo de la prueba experimental hasta 210 minutos, en lugar de los 150 minutos originales, aumentando con ésto el número de lecturas a cinco en lugar de cuatro.

Para el tiempo cero, la latencia de la respuesta al estímulo térmico en el grupo control fue de once segundos (11.16 ± 2.5 , $N=170$). En la literatura se reporta que el tiempo promedio de reacción en 10,000 ratones, en la prueba de la plancha caliente con una temperatura de 55°C es de 10 segundos, para el lamido de sus extremidades (Turner, 1965). Por las razones anteriores y para evitar un mayor gasto de material biológico, se consideró un valor constante de respuesta de once segundos, para el grupo control y el tiempo cero, en cada grupo de prueba.

El siguiente grupo de figuras (de la 3 a la 38) son curvas temporales que registran la latencia de la respuesta contra el tiempo en minutos. Cada figura muestra las curvas de los compuestos que se probaron simultáneamente, el mismo día.

Se presentan tres o cuatro curvas en cada figura, una corresponde al grupo que recibe el compuesto de prueba, otra curva es del grupo que sólo recibe morfina y la o las siguientes curvas son las interacciones de morfina con el o los compuestos químicos en sus diferentes dosis.

Las gráficas de los compuestos de la serie JH, se clasificaron en cuatro grupos, de acuerdo a la acción que tuvieron sobre el efecto antinociceptivo de la morfina: 1) Sin efecto aparente, 2) Aparente antagonismo, 3) Aparente potenciación, 4) Efecto bifásico.

GRUPO 1 (sin efecto aparente): La figura 3 corresponde a la interacción de morfina con el compuesto JH 1. El grupo que sólo recibió el compuesto JH 1 no cambió la latencia de la respuesta, lo cual muestra que por sí mismo no tiene ningún efecto. Ahora, si comparamos las interacciones del compuesto con morfina y la curva de morfina sola, veremos que no hay ninguna diferencia relevante entre ellas. La interacción con 20 mg/kg de JH 1, en la tercera y cuarta lectura, se mantiene por arriba de la curva de morfina, pero esta diferencia no es estadísticamente significativa. Al final, las tres curvas presentan tiempos promedios de respuesta muy aproximados entre sí.

Las interacciones de morfina con los compuestos con claves JH 3, JH 10, JH 12, JH 13 y JH 16 corresponden respectivamente a las figuras 4, 5, 6, 7, y 8. Estos compuestos tampoco mostraron tener un efecto que cambiara la acción de la morfina sobre la respuesta de los ratones al estímulo nociceptivo. Los grupos que

sólo recibieron el compuesto de prueba tampoco cambiaron el tiempo promedio de respuesta que se mantuvo entre los 10 y 12 segundos. El único compuesto que pareció producir algún cambio por sí solo fue el JH 10 en su última lectura, registrando un tiempo de 14.4 segundos (ver fig. 5).

Las pruebas con melatonina se hicieron de dos maneras; una en forma ciega, con el compuesto con la clave JH 5 y la otra conociendo la identidad de la misma. La interacción del compuesto JH 5 con morfina no dió ningún efecto importante. Con la dosis de 20 mg/kg de JH 5 y la dosis de 10 mg/kg disminuye el efecto de la morfina sin ser la diferencia, estadísticamente significativa. Como se puede ver en la figura 9.

La interacción de melatonina no codificada y morfina se muestra en la figura 10. La melatonina se utilizó en tres dosis de, 10, 20 y 40 mg/kg. Las dosis de 10 y 40 mg/kg no modificaron la acción de la morfina y la dosis de 20 mg/kg disminuye el efecto de morfina. La prueba estadística tampoco resultó ser significativa en este caso.

GRUPO 2 (aparente antagonismo): Los compuestos JH 2, JH 6, JH 8, JH 17 y JH 18 se caracterizaron en sus interacciones con morfina, por producir un efecto antagonista sobre la acción antinociceptiva producida por la misma, como lo podemos apreciar en las gráficas de las figuras 11, 12, 13, 14 y 15 que corresponden respectivamente a los compuestos de prueba. Las respuestas a las combinaciones de morfina con estos compuestos se mantuvieron por debajo de la curva que describió la morfina sola durante todo el tiempo que duró el experimento. El aparente antagonismo del efecto de morfina por estos compuestos no se presentó en todas las dosis. Así por ejemplo, con los compuestos JH 8, JH 17, y JH 18 en sus dosis de 20 mg/kg más morfina, dió un efecto casi igual al de morfina.

A pesar de las diferencias que se pueden observar fácilmente en las gráficas, el análisis de varianza de las áreas bajo las curvas, no indicó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre las áreas bajo la curva de morfina y las de sus diferentes combinaciones con los otros compuestos. Una excepción a esto fue el caso del compuesto JH 6 cuyo análisis de varianza dió una F estadísticamente significativa ($F=3.357$, $gl=2,27$, $P<0.05$). Sin embargo, la prueba posterior de Dunnett no señala diferencias significativas, entre los efectos en interacción y el de morfina sola. Tampoco hubo algún compuesto que por sí mismo tuviera algún efecto sobre la respuesta al estímulo nocivo en los ratones, manteniendo un tiempo promedio de respuesta entre 9 y 12 segundos.

GRUPO 3 (aparente potenciación): La interacción entre morfina y el compuesto químico JH 7, la podremos encontrar en la figura

16. Al ver la gráfica podemos notar que el efecto antinociceptivo de morfina fue bajo. Su promedio de respuesta al estímulo térmico a los treinta minutos fue de 18.5 segundos, si lo comparamos con el promedio de 42 experimentos con la misma dosis de morfina que es de 25 segundos será más clara esta diferencia.

En esta misma figura, la interacción de morfina y el compuesto en su dosis menor (10 mg/kg), dá un efecto que no es muy distinto del de morfina. En cambio, con la dosis de 20 mg/kg del compuesto, se potencia el efecto de la morfina, provocando que su curva se desplace muy por arriba de la curva de la morfina sola. También vemos que el compuesto por sí mismo no presenta efecto sobre la reacción al estímulo térmico.

La prueba estadística de Dunnett de las Áreas bajo las curvas entre el grupo de morfina y su interacción con el compuesto a la dosis de 20 mg/kg indicó una diferencia significativa.

Del compuesto JH 9, se encuentran sus resultados en la figura 17. Sólo mostró diferencia la interacción del compuesto a 10 mg/kg con morfina, potenciando el efecto de la misma, la otra dosis fue igual en su desarrollo con la curva de morfina y por sí sola dió una ligera elevación de la latencia, a partir de la cuarta lectura, efecto que se mantiene hasta el final de la prueba. La prueba estadística no resultó ser significativa con ninguna de las interacciones.

Las interacciones del compuesto JH 14, en ambas dosis, elevan el efecto de la morfina durante los primeras dos horas y media. El aumento en el efecto de morfina fue relacionado con la dosis de JH 14. Los ratones que recibieron sólo el compuesto no cambiaron su promedio de respuesta, ver fig. 18. Las diferencias no fueron estadísticamente significativas mediante el análisis de varianza. Cabe mencionar que la curva de morfina en esta gráfica también mostró un efecto antinociceptivo bajo, dando una respuesta máxima de 16.4 segundos, treinta minutos después de su administración.

La administración simultánea de morfina y JH 15 en su dosis de 20 mg/kg elevó un poco más la latencia de la respuesta a los 60 y 90 minutos que la dosis menor de JH 15 y morfina. El compuesto por sí solo no hace variar la latencia de respuesta, ver fig. 19. También en este último compuesto que se describe, a pesar de que visualmente las curvas del compuesto químico en interacción parecen ser diferentes a la de morfina sola, teniendo un efecto potenciador sobre el efecto de morfina, en la prueba estadística resultó no ser significativa esta diferencia.

GRUPO 4 (efecto bifásico): Figura 20. Esta gráfica muestra la interacción entre morfina y el compuesto denominado como JH 4. Es un compuesto que en ambas dosis de interacción con morfina mostró

un efecto bifásico importante.

Al comparar las curvas de interacción del compuesto con la curva de morfina sola, podremos notar que en la primera lectura que se efectúa 30 minutos después de administrar los compuestos, las interacciones con morfina reducen en forma clara la respuesta dada por morfina, que fue de 23.6 segundos, a un tiempo promedio de respuesta de 12.8 segundos para la dosis de 10 mg/kg de JH 4 más morfina y de 10.7 segundos para la dosis de 20 mg/kg. A los 60 minutos las tres curvas casi se igualan. Después de esta lectura se eleva muy claramente la respuesta de los animales que recibieron ambas dosis del compuesto en combinación con morfina. Incluso, llegan a rebasar la respuesta máxima de morfina registrada en la lectura de los treinta minutos. Dos horas y media después de la administración combinada se presenta el efecto máximo (cuarta lectura). Los animales que recibieron 10 mg/kg de JH 4 y morfina alcanzan un tiempo promedio de respuesta de 23.5 segundos y los de 20 mg/kg alcanzan un promedio de 27.7 segundos, que para este mismo tiempo el grupo de morfina presenta una latencia de respuesta de 13.3 segundos. A partir de la cuarta lectura se observa una declinación gradual del efecto de la combinación de ambas dosis, pero manteniéndose ambas curvas hasta el final de la prueba por arriba de la curva de morfina sola.

El grupo que recibió sólo el compuesto, muestra un comportamiento en cierta forma análogo, aunque muy leve, al bajar la latencia de respuesta al estímulo nocivo hasta 7.9 segundos en promedio, a los 60 minutos, restableciéndose después a 11.7 segundos al final de la prueba.

Para el análisis estadístico de esta figura, las curvas se dividieron de acuerdo al efecto que provocó el compuesto sobre la acción de la morfina. Primero se compararon las áreas bajo la curva de morfina sola y sus interacciones, desde el tiempo cero hasta los noventa minutos, tiempo que corresponde al efecto antagonista y desde los noventa minutos en adelante, que es donde se observa el efecto potenciador. El resultado fue estadísticamente significativo, tanto para el efecto antagonista como para el efecto potenciador y en ambas dosis del compuesto, en interacción con morfina.

Con este compuesto (JH 4) al interactuar con morfina se presentaron los siguientes efectos colaterales, siendo de mayor importancia con la dosis de 20 mg/kg. Poca actividad motriz espontánea fuera de la plancha caliente. En la plancha caliente se muestran muy inquietos, levantando las extremidades en apariencia de marcha. Generalmente no se presenta la primera respuesta que es el lamido de las extremidades. Presentan respiración lenta y vasodilatación periférica, visible como enrojecimiento tanto en las orejas como en la cola. No hay conducta de escape a la manipulación, al grado de que un ratón se dejó rodar completamente, conducta que se observó cuando fue realizada la

tercera lectura que se efectúa 90 minutos después de administrados los compuestos. Algunos ratones presentaron aparente hinchazón de la cara. Al final de la prueba, la mayoría de los ratones se recuperaron en forma parcial de estos efectos.

El compuesto JH 11 que aparece en la figura 21, dió un resultado similar al presentado por el compuesto JH 4, aunque no muy marcado, pero sí se aprecia el mismo desplazamiento bifásico. Primero antagoniza y después potencia el efecto de morfina. El efecto es más pronunciado con la dosis mayor del compuesto y no hay cambio sobre la respuesta al estímulo en los ratones que no recibieron morfina. La prueba estadística no dió diferencias significativas entre sus áreas.

Con este compuesto al interactuar con morfina se presentaron algunos efectos colaterales que son: una ligera hinchazón de la cara en algunos ratones, la respuesta al estímulo térmico se retardó y en algunos existió una gran inquietud durante el estímulo.

El indorrenato junto con la morfina produjo un efecto que pudiéramos considerar como bifásico en ambas dosis (ver figura 22). Inicialmente tiende a reducir la respuesta por debajo de la respuesta a morfina sola y después, claramente potencia la respuesta, manifestándose este efecto en forma más importante con la dosis mayor del indorrenato. La potenciación con ambas dosis se mantuvo el resto de la prueba estando, aún al final de la misma, por arriba de la curva de morfina.

El indorrenato en su dosis de 20 mg/kg por sí mismo elevó la latencia hasta un promedio de 13 segundos (2 segundos encima de los controles), manteniéndose muy cerca de este tiempo en las últimas dos horas de la prueba.

La prueba estadística resultó ser significativa al comparar las áreas entre la curva de morfina y su interacción con el indorrenato a 20 mg/kg, en el efecto potenciador. En el efecto antagonista no fue significativa para ambas dosis del compuesto.

Los efectos colaterales que se presentaron fueron: coloración rojiza en la piel (vasodilatación), mucha actividad en la plancha al momento del estímulo térmico sin dar una respuesta rápida. El lamido de las extremidades no se presentó frecuentemente. Al final del experimento el color de la piel regresó a la normalidad. Estos efectos se presentaron en forma más aguda con la dosis mayor del indorrenato.

REPETICION DE ALGUNOS EXPERIMENTOS.

Se repitieron las pruebas con algunos compuestos en una segunda etapa experimental, con los compuestos que resultaron ser im-

portantes en primera instancia, ya sea que tuvieran un efecto agonista, antagonista o bifásico, sobre el efecto antinociceptivo que provoca la morfina en los ratones. Los resultados de estas pruebas se mencionan a continuación.

El compuesto JH 5 (melatonina codificada) y la melatonina conocida como tal, se repitieron en sus dosis de 20 y 10 mg/kg respectivamente y en ambos casos (ver figuras 23 y 24), provoca una ligera potenciación del efecto antinociceptivo de morfina, sobre todo, en los primeros 60 minutos. Siendo este resultado contradictorio con los resultados que se obtuvieron en experimentos anteriores (9 y 10). Esta ligera potenciación no resultó ser estadísticamente significativa.

En la figura 23 también se encuentra la interacción de morfina con el compuesto JH 14 en su dosis de 20 mg/kg. No repite los efectos que se obtuvieron en la primera fase experimental (ver fig. 18), siendo contradictorios ya que se observa un ligero antagonismo de este compuesto sobre la acción de morfina durante los primeros 60 minutos, cabe mencionar que el efecto antinociceptivo provocado por morfina sola fue mayor que el presentado comúnmente en los demás experimentos realizados. La diferencia entre el efecto de morfina sola y en interacción con el JH 14 no fue estadísticamente significativa.

El indorrenato y el JH 11 en sus dosis de 20 mg/kg reprodujeron los resultados iniciales, figuras 24 y 25 respectivamente. Con el indorrenato el efecto antagonista fue muy ligero. La potenciación producida por ambos compuestos fue significativa, no siendo el caso, para el efecto antagonista, en ambos compuestos.

En la figura 26, se encuentran graficados los resultados de los compuestos JH 9 y JH 17, y en la figura 25, el compuesto JH 8. De los tres compuestos se administró una dosis de 10 mg/kg en interacción con morfina también a la misma dosis. Los tres compuestos elevan la respuesta de morfina, pero con los dos primeros, su efecto se da durante los primeros 60 minutos y después las curvas de ambos compuestos se igualan con la de morfina sola. En cambio el efecto del tercer compuesto se da casi durante toda la prueba, emparejándose con la curva de morfina sola a las dos horas y media.

El compuesto JH 9 muestra en esta figura el mismo comportamiento que en la primera fase de experimentos (ver fig. 17), un aumento del efecto de morfina. En cambio, los compuestos JH 8 y JH 17 produjeron resultados contrarios al primer resultado (ver figuras 13 y 14). Con los tres compuestos, las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Los compuestos JH 2 y 4 en su dosis de 20 mg/kg muestran sus mismos efectos. El JH 2 disminuye el efecto provocado por morfina (ver figuras 11 y 27) y el JH 4 presenta respuesta bifásica en

ambos casos (ver figuras 20 y 27). La prueba estadística sólo dió diferencia significativa para el antagonismo provocado por el compuesto JH 4.

También se repitieron las pruebas con los compuestos JH 6 y 7 a 20 mg/kg, el compuesto JH 6 que inicialmente había producido una disminución del efecto de morfina (ver fig. 12), en la segunda fase de pruebas no produjo cambio alguno (ver fig 28). En cambio el compuesto JH 7 que inicialmente había producido un aumento del efecto de morfina, lo reprodujo en el segunda fase de experimentos (ver figuras 16 y 28). Las diferencias no fueron estadísticamente significativas para ambos compuestos.

PRUEBAS CON COMPUESTOS DE REFERENCIA.

Se hicieron algunas pruebas asociando la administración de morfina con compuestos que tienen efectos más ampliamente conocidos, con el fin de comparar los resultados de estas interacciones con los resultado que se obtuvieron con los compuestos de la serie JH, el indorrenato y la melatonina, tanto en su forma individual como en sus interacciones con morfina. Los compuestos de referencia son los siguientes: Haloperidol, Clorpromacina, Diazepam, Reserpina y Clonidina.

HALOPERIDOL: En la figura 29 se muestran los efectos del haloperidol solo y en interacción con morfina. El haloperidol se dió a la dosis de 1 mg/kg y la morfina a 10 mg/kg en interacción y en forma individual. Los animales que sólo recibieron haloperidol no modificaron su respuesta al estímulo en forma significativa. En cambio, en combinación con morfina elevó el promedio de la latencia de la respuesta casi hasta los 40 segundos manteniéndose muy cerca de este valor durante los primeros 90 minutos del experimento. El efecto de la morfina sola en la primera lectura fue de 27.3 segundos y en la tercera fue de 17.1 segundos. Además, la caída del efecto de morfina comienza a darse treinta minutos después de su administración, mientras que en la interacción con haloperidol se da más allá de los 90 minutos y se mantiene por arriba del efecto de la morfina hasta el final de la prueba.

La diferencia de áreas entre la curva de morfina y la interacción con el haloperidol fue estadísticamente significativa.

Los efectos colaterales que se observaron fueron los siguientes: Haloperidol + el vehículo; Pupila constreñida (miosis), respiración rápida (taquipnea), sin actividad motriz. Se abole la respuesta del lamido de las extremidades y el escalamiento de las paredes del cilindro y sólo se presentó el brinco. Por lo regular, las primeras dos respuestas se presentan antes que la del brinco.

Haloperidol + Morfina. Sin actividad motriz, respiración lenta (bradipnea), la pupila a la mitad de su diámetro aproximadamente, muy indiferentes al estímulo térmico.

CLORPROMACINA: Este compuesto se administró en las dosis de 1 y 3 mg/kg solo y junto con 10 mg/kg de morfina. Si vemos la figura 30, de clorpromacina en su dosis menor, apreciaremos que sola no eleva en forma importante la latencia de respuesta en los ratones y se encuentra muy abajo de la curva de morfina, mientras que la interacción con morfina produce una elevación de la latencia de respuesta mayor que morfina sobre todo en los primeros 60 minutos, sin rebasar un tiempo promedio de 31.4 segundos.

La clorpromacina en forma individual, a 3 mg/kg, provoca una elevación importante del tiempo de respuesta al estímulo nocivo alcanzando los 25 segundos de tiempo promedio, 90 minutos después de administrado el fármaco, ver fig. 31. Esta respuesta se mantiene casi igual durante el resto del tiempo de la prueba que en este caso se prolongó hasta cuatro horas y media después de administrados los compuestos.

Esta elevación de la latencia provocada por la clorpromacina a 3 mg/kg, es claramente mayor que la que se da con morfina a 10 mg/kg.

En la misma figura 31, se observa que la interacción de morfina con clorpromacina a las dosis probadas incrementa la latencia de la respuesta mucho más que cualquiera de estos fármacos en forma individual, llegando a un máximo en la segunda lectura y luego declinando en forma gradual pero siempre manteniéndose por arriba de las curvas de los fármacos solos hasta el final del experimento. La prueba estadística resultó ser significativa.

La clorpromacina a las dosis probadas (1 y 3 mg/kg), presenta por sí sola y en combinación con morfina una serie de efectos que podemos considerar colaterales y que fueron los siguientes:

Clorpromacina 1 mg/kg + vehículo, poca actividad motriz durante los primeros 90 minutos después de su administración.

Clorpromacina 3 mg/kg + vehículo, frecuencia respiratoria lenta, no hay escape, no desarrolla exploración, pupila constreñida, poca actividad motriz, movimientos lentos, saltos espontáneos, extremidades abiertas.

Clorpromacina 1 mg/kg + morfina 10 mg/kg, poca actividad en los primeros treinta minutos, no presentan el característico arqueo de la cola que presentan los ratones que reciben solamente morfina, su actividad se restablece a las dos horas y media.

Clorpromacina 3 mg/kg + morfina 10 mg/kg, sin actividad mo-

triz, no hay el típico arqueado de cola que se presenta con esta dosis de morfina, no desarrolla exploración, movimientos lentos, frecuencia respiratoria lenta, no hay escape, pupila a la mitad de su diámetro aproximadamente, comienzan a tener mayor actividad después de la tres horas y media que se inicia la prueba.

DIAZEPAM: El efecto de la administración simultánea de morfina y diazepam a una dosis de 10 mg/kg, por cada compuesto, se muestra en la figura 32. El diazepam eleva en forma ligera la latencia de respuesta a un tiempo promedio de 13.9 segundos. La interacción de ambos compuestos aumenta la latencia de la respuesta más que morfina por separado durante los primeros 90 minutos; después las curvas se igualan. La prueba estadística no dió diferencia significativa entre sus áreas.

Los efectos colaterales que se observaron fueron los siguientes: Diazepam 10 mg/kg + el vehículo de la morfina: con el estímulo nocivo mostraron una gran inquietud antes de dar alguna de las respuestas criterio, pupila constreñida y poca actividad motriz.

En contraste con lo que ocurre con el diazepam solo, con la combinación se presenta una actividad normal con exploración. Con el estímulo térmico se mueven inquietos dando vueltas tomando como eje las patas traseras arrastrando el abdomen antes de dar una respuesta.

CLONIDINA: En las figuras 33 y 34 se dan los resultados obtenidos con la morfina a 10 mg/kg más clonidina en dos dosis; 316 µg/kg y 1 mg/kg. La clonidina más el vehículo, de la morfina en ambas dosis aumenta el tiempo de respuesta hasta 16 segundos en los primeros 90 minutos después de iniciado el experimento, sobre todo en la dosis alta. La dosis menor de clonidina también muestra este efecto durante los primeros treinta minutos, después se mantiene en un tiempo promedio de 13 segundos aproximadamente.

Ambas dosis de clonidina potencian en forma importante el efecto de la morfina, siendo más clara esta potenciación con la dosis mayor de clonidina, la prueba estadística resultó ser significativa. La morfina en ambas gráficas muestra un efecto moderado

Efectos colaterales: Clonidina 316 µg/kg + vehículo de morfina, en los primeros treinta minutos se presenta una ligera piloerección, poca actividad que se restablece dos horas después, desapareciendo la piloerección.

Clonidina 316 mcg/kg + morfina 10 mg/kg; ligera piloerección, poca actividad y aparece una ligera opacidad en los ojos, desapareciendo estos efectos dos horas después.

Clonidina 1 mg/kg + vehículo, poca actividad motriz, pupila a la mitad de su diámetro, después de dos horas su actividad comienza a restablecerse.

Clonidina 1 mg/kg más morfina 10 mg/kg, movimientos lentos, poca actividad motriz, cola no arqueada, encogen su cuerpo en forma de bola caminando de esa manera con tambaleo, pupila a la mitad de su diámetro. Después de los treinta minutos su actividad es mayor, con el estímulo nocivo hay inquietud pero no dan respuesta. A los 60 minutos los ojos comenzaron a tornarse blanquecinos mostrando resequead extrema. Dan la apariencia de cataratas (8 ratones de 10 presentaron este fenómeno), 90 minutos después la opacidad ha desaparecido completamente en dos ratones, en los demás se observa aún opacidad no uniforme. A las 2 horas ha disminuido notablemente esta opacidad en varios animales, quedando una media luna y observándose como un precipitado blanco. Con el estímulo térmico hay marcha intensa, pero la respuesta es muy retardada, con sacudida de sus extremidades. Al final de la prueba, la opacidad desapareció en todos los ratones y la secreción ocular se veía normal.

RESERPINA: Figuras 35, 36, 37 y 38. En estas figuras están los resultados de la interacción entre morfina 10 mg/kg más reserpina a cuatro dosis, 1 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg y 10 mg/kg. En estas pruebas la administración de la reserpina fue diferente a la de los compuestos anteriores. No fue en forma simultánea con la morfina sino de la manera siguiente: la dosis de 1 mg/kg se administró 24 horas antes de la prueba; para la dosis de 2 mg/kg se administró primero un miligramo 48 horas antes y el segundo, 24 horas antes; para la dosis de 3 mg/kg, también fue en forma sucesiva; un miligramo 72 horas antes, el segundo 48 horas antes y el tercero 24 horas y por último, la dosis de 10 mg/kg de reserpina se administró 24 horas antes del experimento. La morfina siempre se administró media hora antes de la prueba.

Si observamos las curvas de reserpina más morfina notaremos un ligero efecto antagonista sobre la acción antinociceptiva que produce la morfina en todos los casos. La mayor disminución se observó en los primeros treinta minutos del experimento. Así, las curvas de morfina sola están ligeramente arriba de las curvas de los animales con reserpina en todas las pruebas.

La reserpina por sí misma eleva ligeramente la latencia de la respuesta en las últimas dos horas, sobre todo en la dosis de 2 mg/kg y 3 mg/kg con un tiempo promedio de respuesta entre 14 y 15 segundos. Sin embargo, en ningún caso por separado, las diferencias llegan a ser estadísticamente significativas.

CURVA DOSIS - RESPUESTA MORFINA

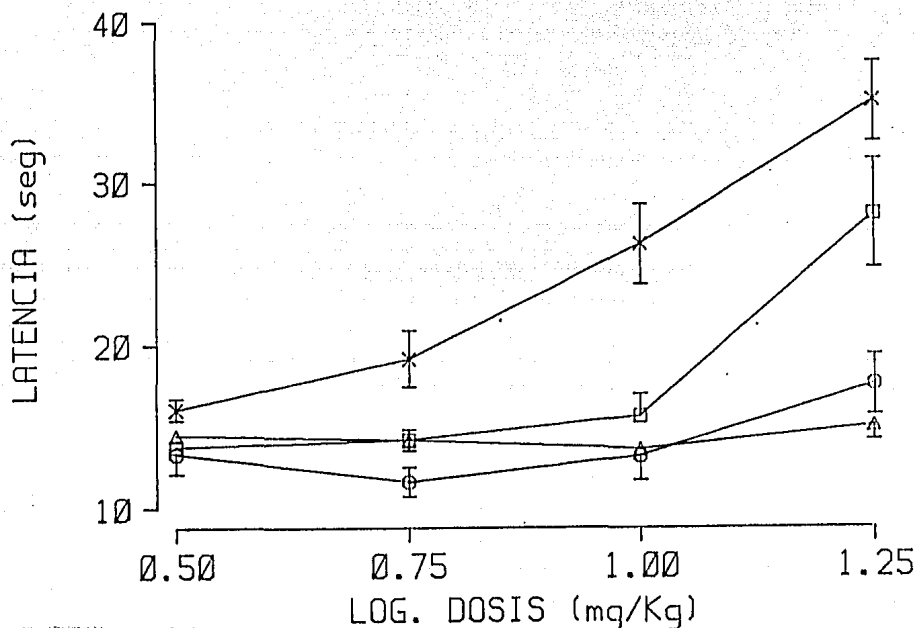


Fig. 1. Curvas dosis respuesta a morfina con el modelo de la plancha caliente (55 °C), en ratones machos. Se grafica en las ordenadas la latencia de respuesta en segundos y en las abscisas el logaritmo de la dosis de morfina en mg/kg. Cada punto representa la media \pm el error estándar de 10 ratones. Curva de morfina 30 min. después de su administración (x---x); a los 60 min. (□---□); a los 90 min. (○---○) y 150 min. después (Δ---Δ). El efecto de morfina sobre la latencia de respuesta disminuye en forma gradual con el transcurso del tiempo.

CURSO TEMPORAL MORFINA

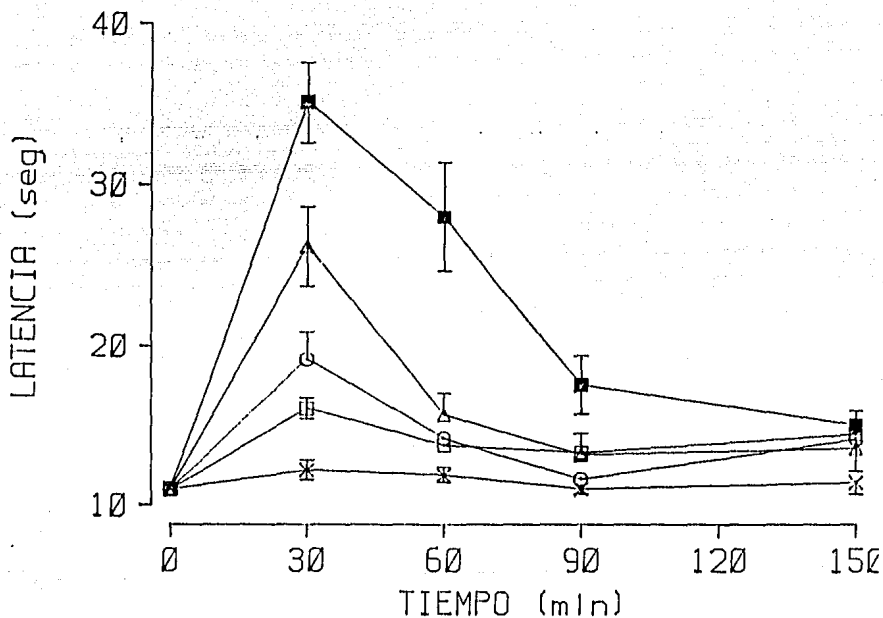


Fig. 2. Curso temporal del efecto de morfina sobre la latencia de respuesta en el modelo de la plancha caliente (55 °C), con ratones machos. Se grafica en la ordenada la latencia de respuesta y en la abscisa el tiempo en minutos. Cada punto representa la media \pm el error estándar de 10 ratones. Grupo control (x--x); morfina 3.16 mg/kg (o---o); morfina 5.62 mg/kg (Δ --- Δ) y morfina 17.62 mg/kg (■---■). La respuesta sigue una relación monótonica con la dosis, dentro de la primera hora y se observa un máximo a los 30 minutos.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- JH 1

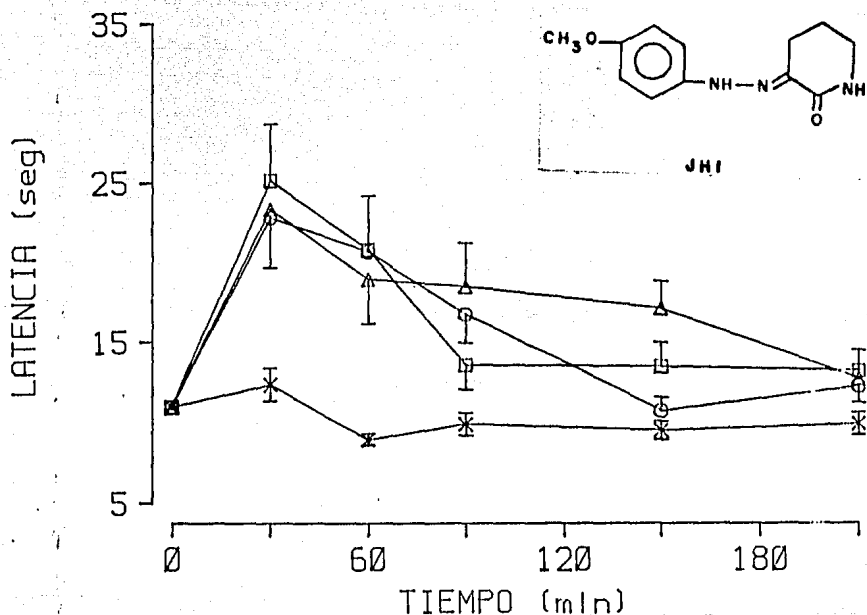


Fig. 3. Curso temporal del efecto de morfina del compuesto JH1 y de la interacción de ambos. En las ordenadas se encuentra la latencia de respuesta en segundos y en las abscisas el tiempo en minutos. JH1 20 mg/kg + vehículo (x--x); morfina 10 mg/kg + vehículo (□--□); morfina 10 mg/kg + JH1 10 mg/kg (o--o) y morfina 10 mg/kg + JH1 20 mg/kg (Δ--Δ). Cada punto representa la media ± el error estándar con 10 ratones. El compuesto JH1 no parece modificar el efecto de la morfina, ni tener efecto por si mismo.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- JH 3

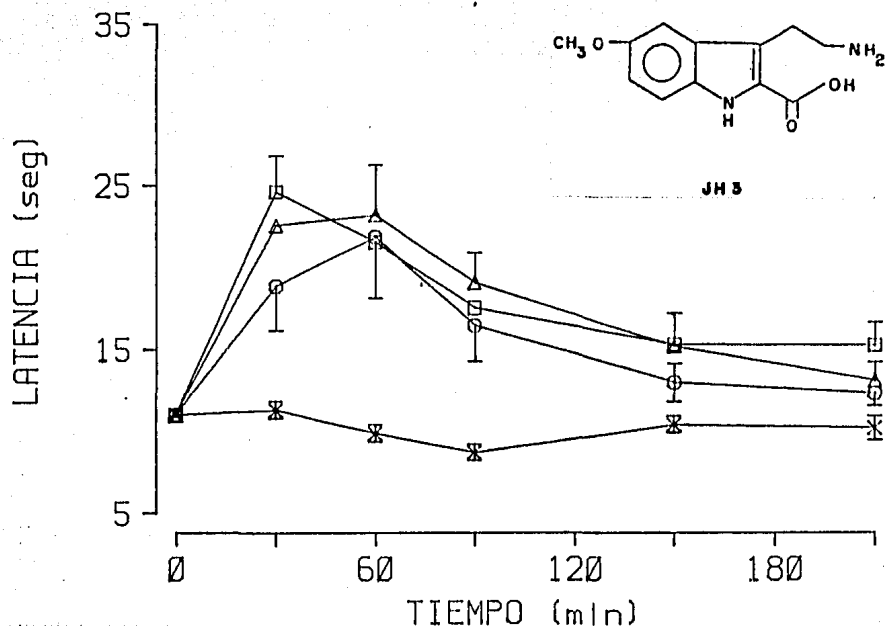


Fig. 4. Curso temporal de morfina, del compuesto JH3, solos y en interacción. En las ordenadas se encuentra la latencia de respuesta en segundos y en las abscisas el tiempo en minutos. JH3 20 mg/kg + vehículo (x--x); morfina 10 mg/kg + vehículo (□--□); morfina 10 mg/kg + JH3 10 mg/kg (○--○) y morfina 10 mg/kg + JH3 20 mg/kg (Δ--Δ). Cada punto representa la media ± el error estándar de 10 ratones. No parece haber efecto alguno del compuesto.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- JH 10

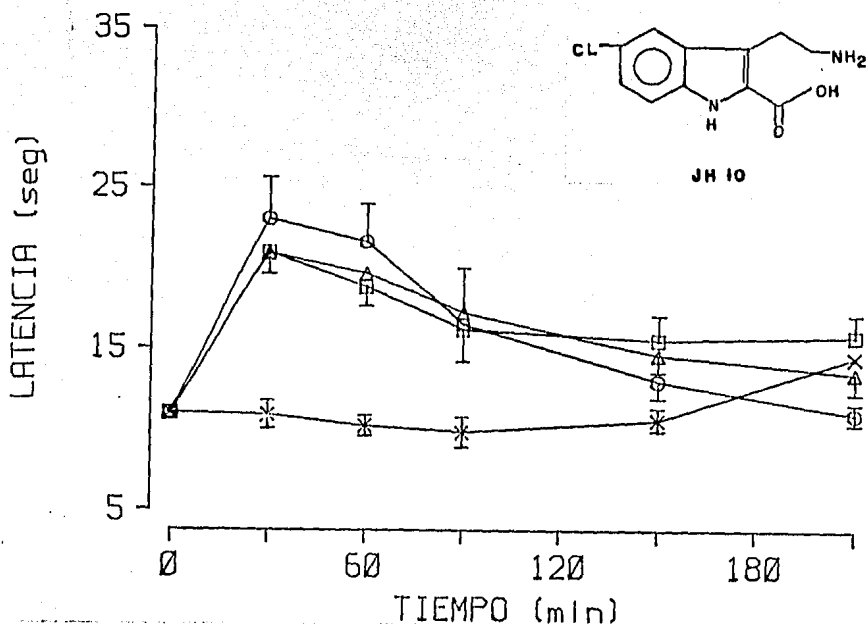


Fig. 5. Curso temporal. JH10 20 mg/kg + vehículo (×--×); morfina 10 mg/kg + vehículo (□--□); morfina 10 mg/kg + JH10 10 mg/kg (○--○); morfina 10 mg/kg + JH10 20 mg/kg (Δ--Δ). En la ordenada se grafica la latencia de respuesta en segundos y en la abscisa el tiempo en minutos, representando en cada punto la media ± el error estándar de 10 ratones. Este compuesto tampoco parece tener ningún efecto sobre la morfina, aunque en la última lectura, por sí solo, eleva su promedio para caer entre los demás promedios del experimento. Las pruebas estadísticas no señalan esta diferencia como significativa.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- JH 12

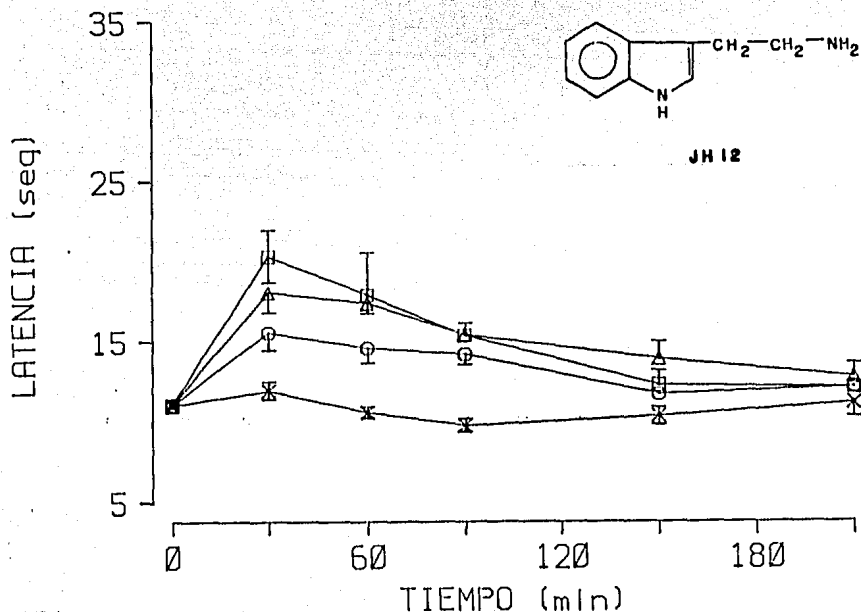


Fig. 6. Se grafican las curvas temporales de una dosis de morfina y de su interacción con el compuesto JH12, así como del compuesto solo. JH12 20 mg/kg + vehículo (x--x); morfina 10 mg/kg + vehículo (□--□); morfina 10 mg/kg + JH12 10 mg/kg (○--○); morfina 10 mg/kg + JH12 20 mg/kg (Δ--Δ). Se señala en cada punto la media de 10 ratones ± el error estándar. El compuesto parece que tiene un ligero efecto negativo sobre la acción de la morfina durante los primeros 60 minutos, la prueba estadística no fué significativa para este efecto.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- JH 13

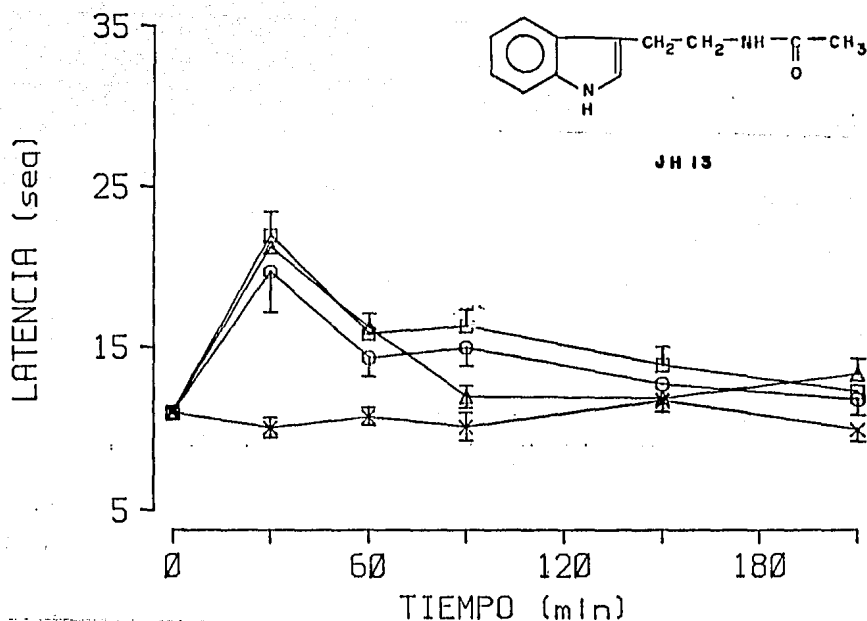


Fig. 7. JH13 20 mg/kg + vehículo (x--x); morfina 10 mg/kg + vehículo (□--□); morfina 10 mg/kg + JH13 10 mg/kg (○--○); morfina 10 mg/kg + JH13 20 mg/kg (Δ--Δ). Se señala en cada punto la media ± el error estándar de 10 ratones. En la ordenada se grafica la latencia de respuesta en segundos y en la abscisa el tiempo en minutos. El compuesto no presenta ningún efecto sobre la acción de la morfina.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- JH 16

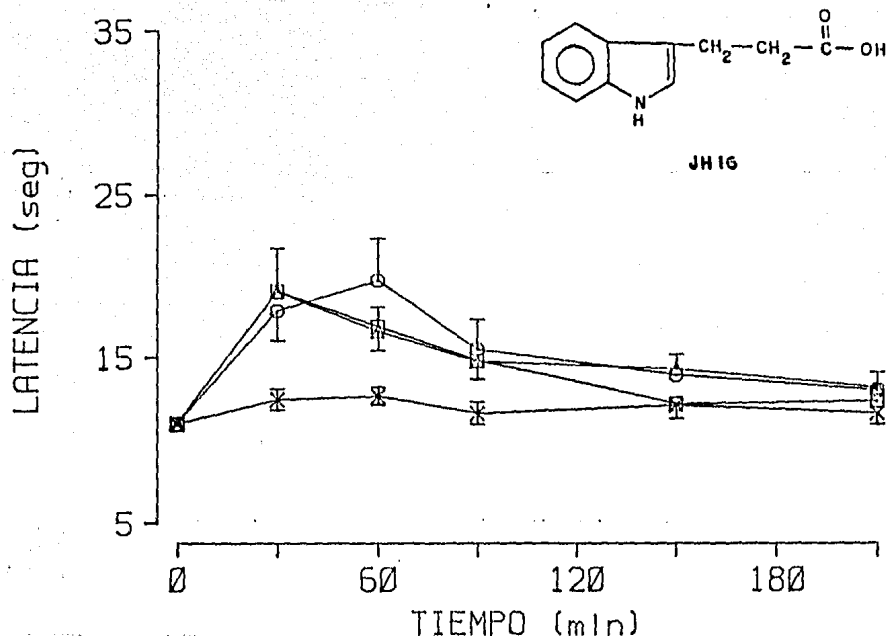


Fig. 8. Curso temporal de morfina y JH16 solos y en interacción. En la abscisa se registra el tiempo en minutos y en las ordenadas la latencia de respuesta en segundos. JH 16 20 mg/kg + vehículo (x--x); morfina 10 mg/kg + vehículo (□--□); morfina 10 mg/kg + JH16 10 mg/kg (○--○); morfina 10 mg/kg + JH16 20 mg/kg (△--△). Cada punto es la media ± el error estándar en 10 ratones. No hay ningún efecto del compuesto JH16.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- JH 5

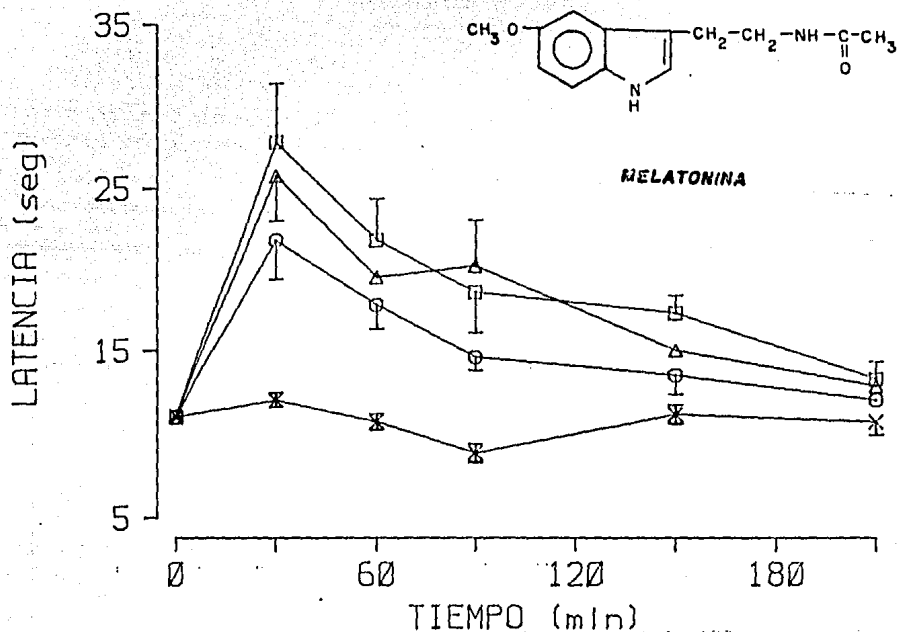


Fig. 9. Cursos temporales del compuesto JH5 (melatonina), de morfina solos y en interacción. JH5 20 mg/kg + vehículo (×--×); morfina 10 mg/kg + vehículo (□--□); morfina 10 mg/kg + JH5 10 mg/kg (○--○); morfina 10 mg/kg + JH5 20 mg/kg (Δ--Δ). Cada punto de las curvas es la media de 10 ratones ± el error estándar. El compuesto JH5 no modifica en forma importante la actividad de la morfina, sólo se observa un ligero efecto negativo con la dosis menor del compuesto.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- MELATONINA

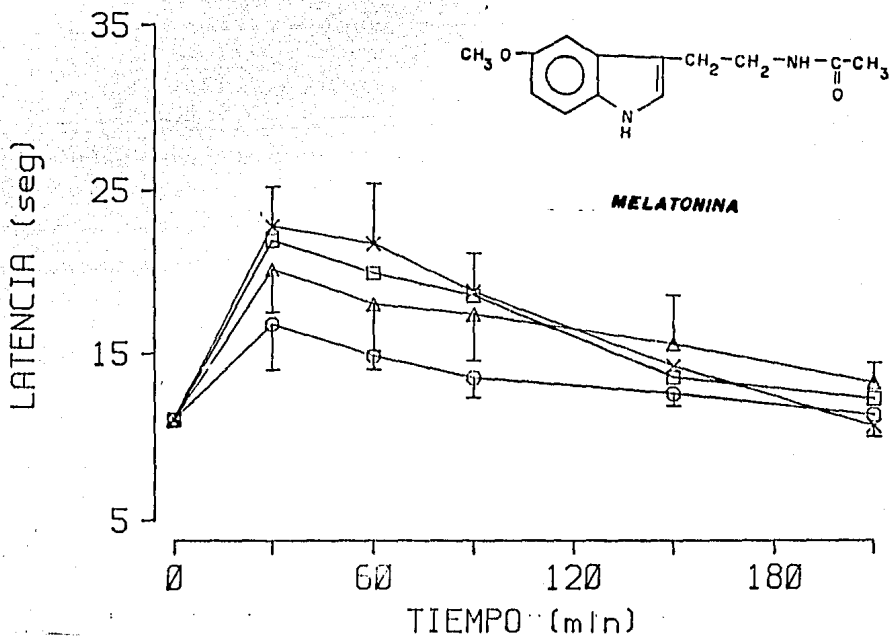


Fig. 10. Muestra las curvas temporales de morfina y melatonina solas y en forma conjunta. Cada punto representa la media con su error estándar de 10 ratones. Morfina 10 mg/kg + vehiculo (□---□); morfina 10 mg/kg + melatonina 10 mg/kg (X---X); morfina 10 mg/kg + melatonina 20 mg/kg (O---O); morfina 10 mg/kg + melatonina 40 mg/kg (Δ---Δ). Las diferencias que se observan entre las combinaciones de morfina-melatonina con la curva de morfina, no fueron estadísticamente significativas.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- JH 2

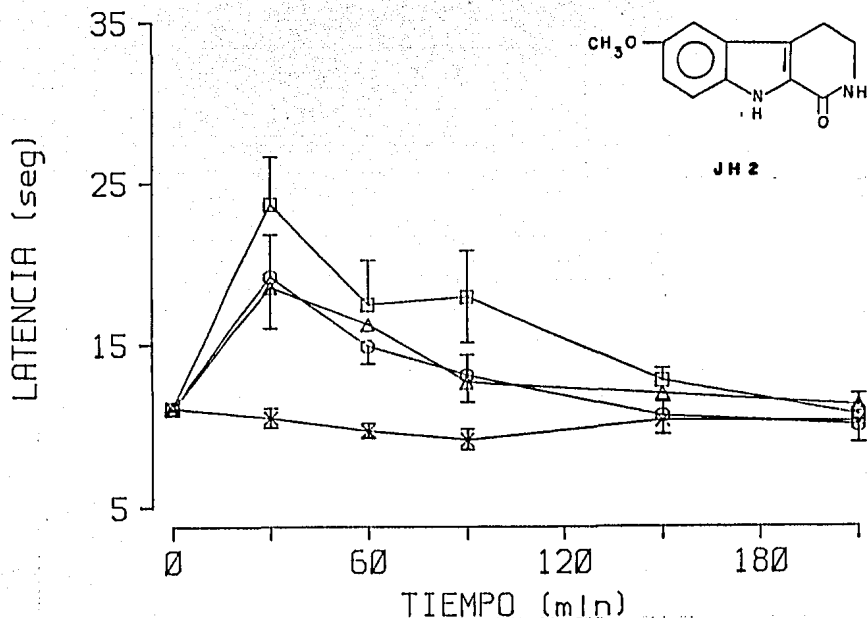


Fig. 11. Se grafica el curso temporal de dos compuestos, solos y en interacción. JH2 20 mg/kg + vehiculo (x-x); morfina 10 mg/kg + vehiculo (□-□); morfina 10 mg/kg + JH2 20 mg/kg (○-○); morfina 10 mg/kg + JH2 20 mg/kg (△-△). En las ordenadas se registra la latencia de respuesta en segundos y en las abscisas el tiempo en minutos. Cada punto es la media \pm el error estándar. El compuesto JH2 parece que provoca una ligera atenuación del efecto antinociceptivo de morfina, aunque no resultó ser estadísticamente significativa.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- JH 6

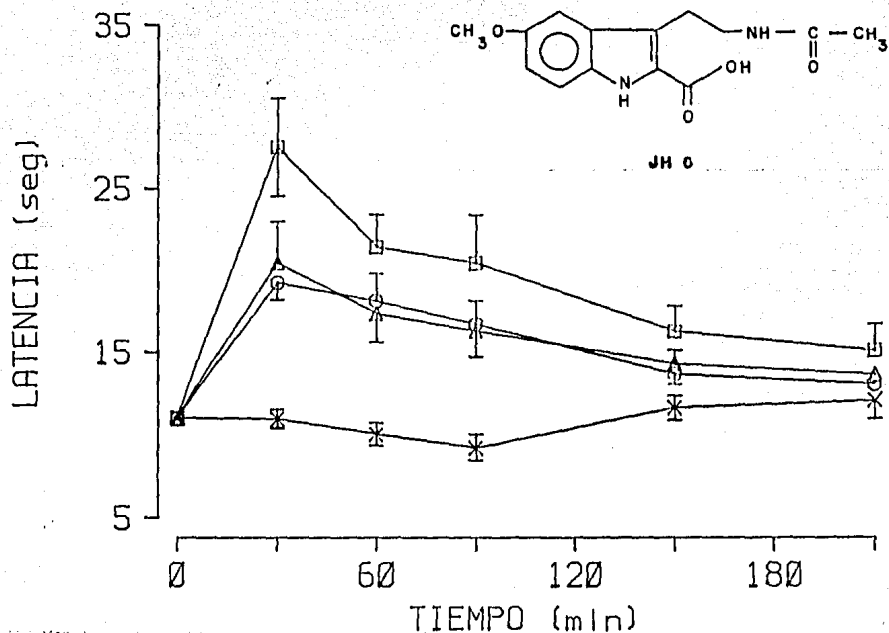


Fig. 12. Se grafica el curso temporal de morfina sola, el compuesto JH6 solo y en interacción con morfina. Cada punto representa la media \pm el error estándar de 10 ratones. JH6 20 mg/kg + vehículo (x--x); morfina 10 mg/kg + vehículo (□--□); morfina 10 mg/kg + JH6 10 mg/kg (o--o); morfina 10 mg/kg + JH6 20 mg/kg (Δ--Δ). En la ordenada se registra la latencia de respuesta en segundos y en la abscisa el tiempo en minutos. El compuesto de prueba produce un ligero efecto negativo sobre la acción de morfina. El análisis de varianza dió una F estadísticamente significativa, sin embargo la prueba de Dunnett no alcanza a dar diferencias significativas.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- JH 8

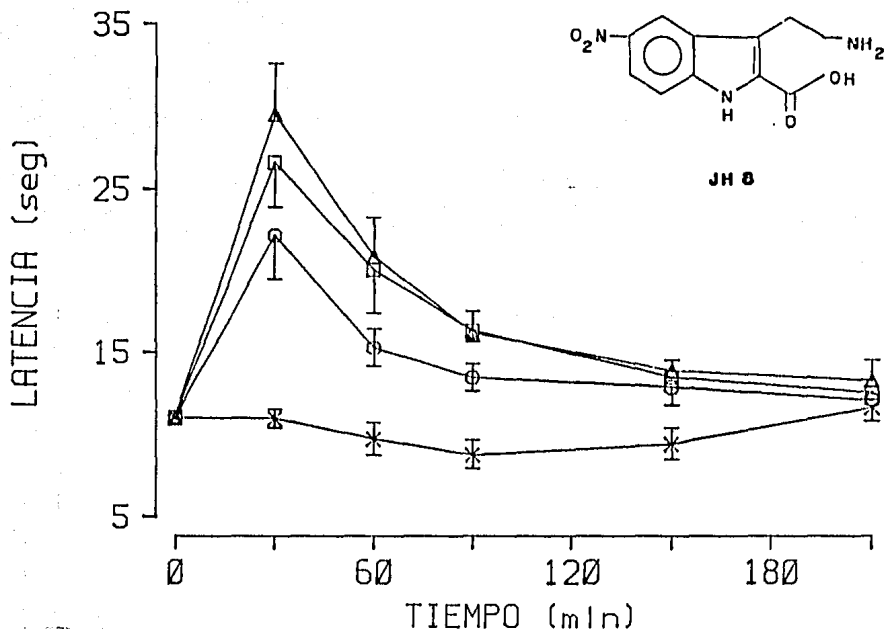


Fig. 13. Curso temporal de morfina y JH8 solos y en interacción. En la ordenada se encuentra la latencia de respuesta en segundos y en la abscisa el tiempo en minutos. Cada punto representa la media de 10 ratones \pm el error estándar. JH8 20 mg/kg + vehículo (x--x); morfina 10 mg/kg + vehículo (□--□); morfina 10 mg/kg + JH8 10 mg/kg (○--○); morfina 10 mg/kg + JH8 20 mg/kg (Δ--Δ). El compuesto de prueba en su dosis menor antagoniza ligeramente el efecto de morfina y en la otra dosis lo potencia en los primeros 60 minutos, no siendo significativos estos efectos.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- JH 17

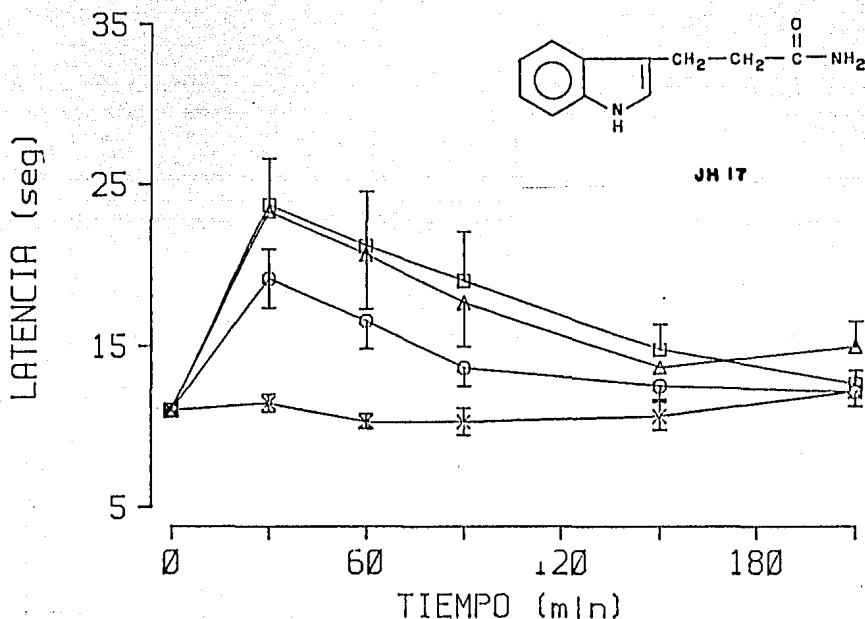


Fig. 14. Curso temporal de morfina y JH17 solos y en interacción. En las ordenadas se encuentra la latencia de respuesta en segundos y en las abscisas el tiempo en minutos. JH17 20 mg/kg + vehículo (×--×); morfina 10 mg/kg + vehículo (□--□); morfina 10 mg/kg + JH17 10 mg/kg (○--○); morfina 10 mg/kg + JH17 20 mg/kg (Δ--Δ). Cada punto representa la media ± el error estándar de 10 ratones. El compuesto sólo muestra un ligero efecto negativo en su dosis más baja sobre la acción de la morfina. La prueba estadística no fué significativa.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- JH 18

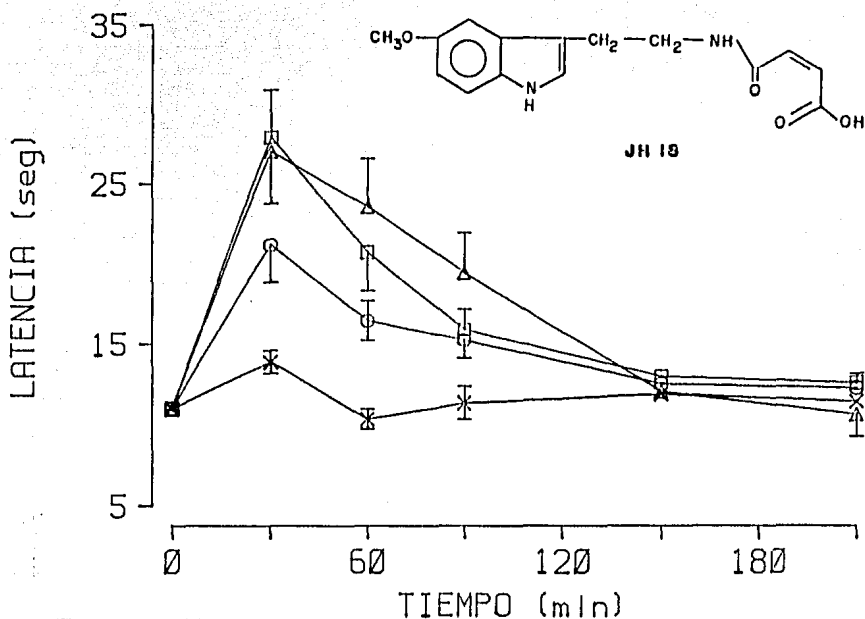


Fig. 15. Curso temporal. JH18 20 mg/kg + vehículo (x--x); morfina 10 mg/kg + vehículo (□--□); morfina 10 mg/kg + JH18 10 mg/kg (○--○); morfina 10 mg/kg + JH18 20 mg/kg (△--△). En la ordenada se grafica la latencia de respuesta en segundos y en la abscisa el tiempo en minutos, representando en cada punto la media \pm el error estándar de 10 ratones. El compuesto de prueba en su dosis más baja disminuye el efecto de la morfina sobre la latencia de respuesta en los primeros 60 minutos y por si solo la aumenta ligeramente, no son estadísticamente significativos estos cambios.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- JH 7

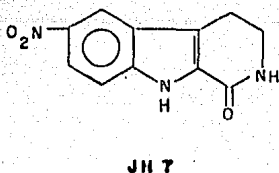
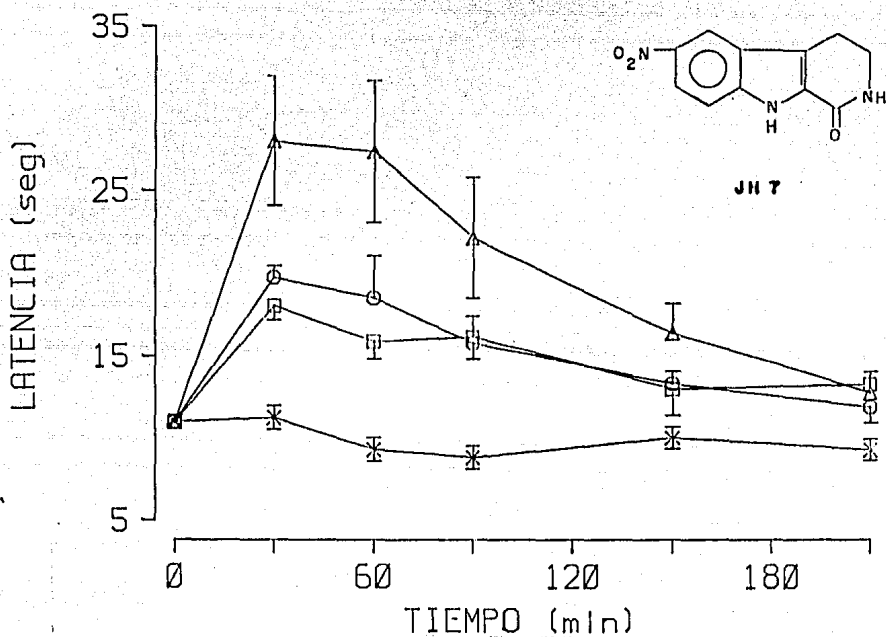


Fig. 16. Se grafica el curso temporal en una dosis de morfina y de JH7 solos y en interacción. JH7 20 mg/kg + vehículo (x---x); morfina 10 mg/kg + vehículo (□---□); morfina 10 mg/kg + JH7 10 mg/kg (o---o); morfina 10 mg/kg + JH7 20 mg/kg (Δ---Δ). Se señala en cada punto la media ± el error estándar de 10 animales. El compuesto JH7 aumenta la latencia de respuesta provocada por morfina indicando una diferencia significativa, en su dosis mayor.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- JH 9

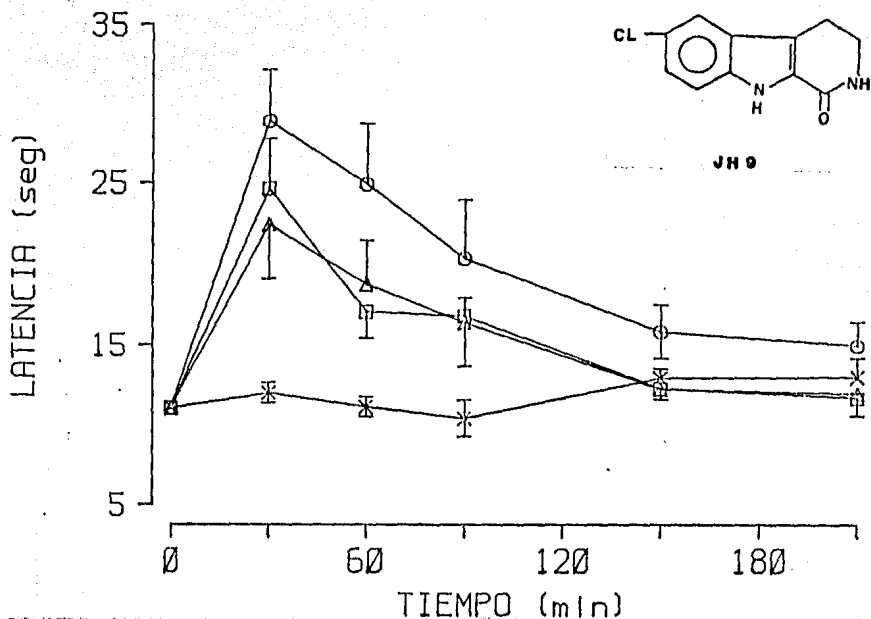


Fig. 17. Curso temporal de morfina y del compuesto JH9 solos y en interacción. JH9 20 mg/kg + vehículo (x--x); morfina 10 mg/kg + vehículo (□--□); morfina 10 mg/kg + JH9 10 mg/kg (○--○); morfina 10 mg/kg + JH9 20 mg/kg (Δ--Δ). En cada punto es señalada la media obtenida con los valores de 10 ratones. Se observa un efecto positivo sobre la latencia de respuesta provocada por morfina con la dosis de 10 mg/kg de JH9, que se mantiene hasta el final del experimento. Esta diferencia no fué estadísticamente significativa.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- JH 14

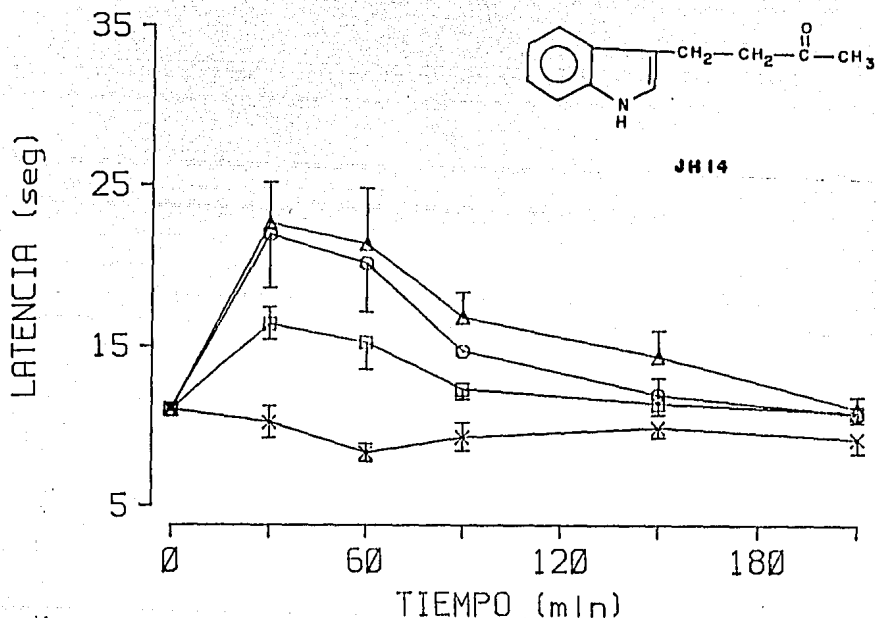


Fig. 18. Curso temporal de morfina y del compuesto JH14, solos y en forma conjunta. En la abscisa se registra el tiempo en minutos y en la ordenada la latencia de respuesta en segundos. Cada punto es la media y el error estándar en 10 ratones. JH14 20 mg/kg + vehículo (×---×); morfina 10 mg/kg + vehículo (□---□); morfina 10 mg/kg + JH14 10 mg/kg (○---○); morfina 10 mg/kg + JH14 20 mg/kg (△---△). El compuesto JH14 parece que aumenta la latencia de respuesta dada por morfina, en ambas dosis. Pero este aumento no fué estadísticamente significativo y además el efecto producido sobre la latencia de respuesta provocada por morfina fué menor que en otros experimentos.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- JH 15

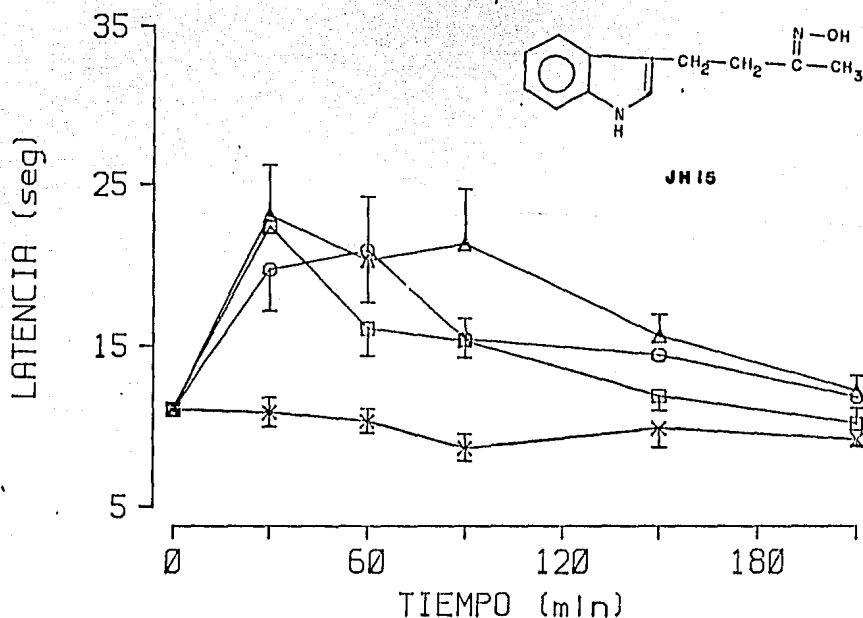


Fig. 19. Se grafica el curso temporal de morfina y del compuesto JH15, solos y en interacción. Cada punto es la media \pm el error estándar de 10 ratones. En las ordenadas se registra la latencia de respuesta en segundos y en las abscisas el tiempo en minutos. JH15 20 mg/kg + vehículo (×---×); morfina 10 mg/kg + vehículo (□---□); morfina 10 mg/kg + JH15 10 mg/kg (○---○); morfina 10 mg/kg + JH15 20 mg/kg (△---△). El efecto positivo provocado por el compuesto JH15 sobre la acción de la morfina no es estadísticamente significativo.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- JH 4

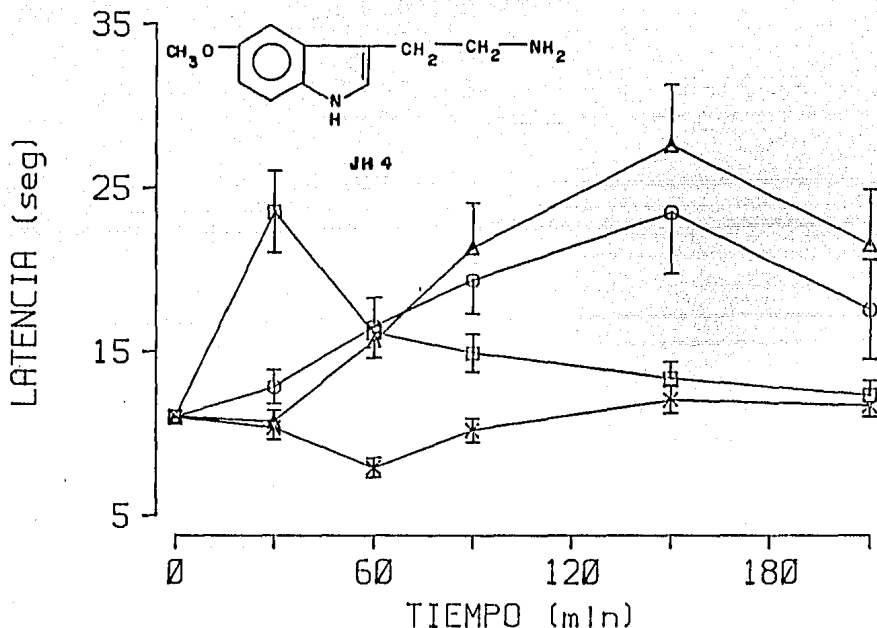


Fig. 20. Se grafica el curso temporal de dos compuestos, solos y en interacción. JH4 20 mg/kg + vehiculo (x--x); morfina 10 mg/kg + vehiculo (□--□); morfina 10 mg/kg + JH4 20 mg/kg (Δ--Δ); morfina 10 mg/kg + JH4 20 mg/kg (○--○). Cada punto es la media ± el error estándar de 10 ratones. En la ordenada se registra la latencia de respuesta en segundos y en la abscisa el tiempo en minutos. El compuesto provoca dos efectos sobre la acción de la morfina. El primero es un efecto negativo, por que disminuye la latencia de respuesta durante los primeros 60 minutos y el segundo efecto es positivo a partir de los 60 minutos, que se mantiene hasta el final del experimento. Los dos efectos fueron estadísticamente significativos.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- JH 11

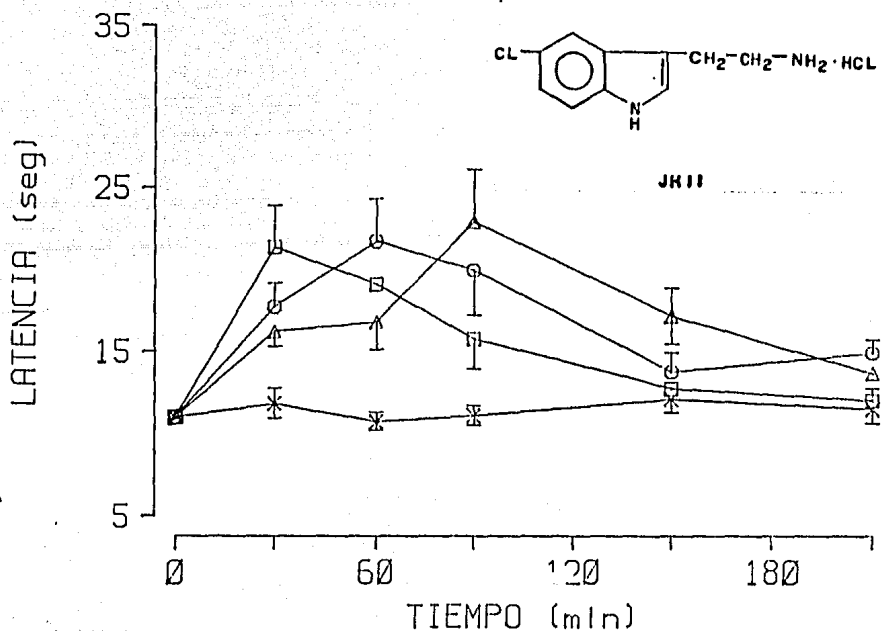


Fig. 21. Se presenta el curso temporal de morfina y del compuesto JH11, solos y en forma conjunta. Cada punto en las curvas representa la media \pm el error estándar de 10 ratones. JH11 20 mg/kg + vehículo (x--x); morfina 10 mg/kg + vehículo (o--o); morfina 10 mg/kg + JH11 10 mg/kg (o--o); morfina 10 mg/kg + JH11 20 mg/kg (Δ -- Δ). Este compuesto produce un efecto similar al anterior, solo que en menor escala y además no fué estadísticamente significativo.

CURSO TEMPORAL MORFINA -- INDORRENATO

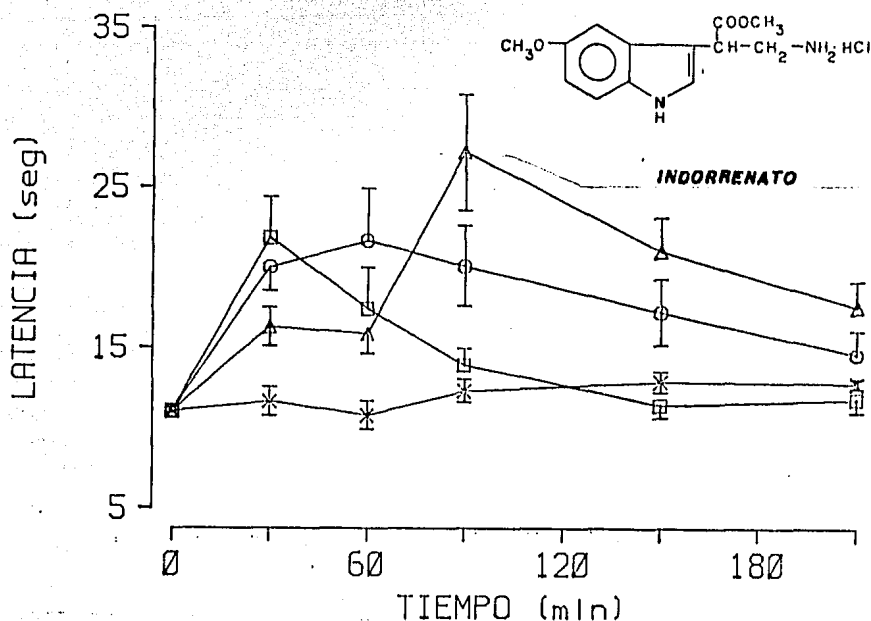


Fig. 22. En esta figura se muestra el curso temporal del efecto de morfina y el indorrenato, solos y en interacción, sobre la latencia de respuesta en ratones hembra. Los puntos de cada curva representan la media \pm el error estándar de 10 animales. Indorrenato 20 mg/kg + vehículo (x--x); morfina 10 mg/kg + vehículo (o--o); morfina 10 mg/kg + indorrenato 10 mg/kg (Δ--Δ). El indorrenato provoca un efecto positivo sobre la latencia de respuesta dada por morfina en ambas dosis a partir de los 60 minutos aprox. Este efecto es estadísticamente significativo con la dosis mayor del indorrenato. El efecto negativo durante los primeros 60 minutos en ambas dosis del indorrenato no fué estadísticamente significativo.

CURSO TEMPORAL
MORFINA - JH 5 - JH 14

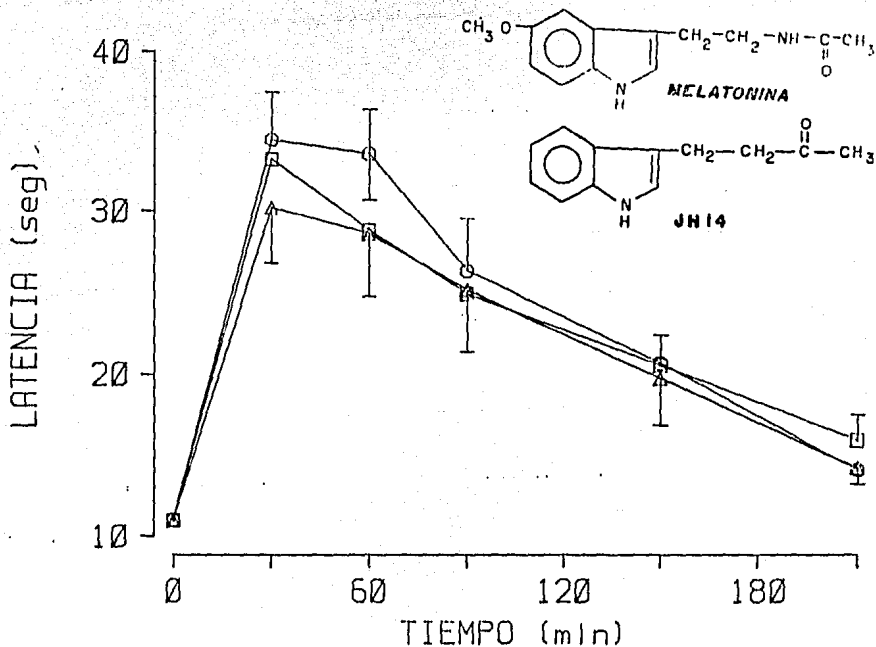


Fig. 23. Se grafican los resultados de morfina sola y en interacción con los compuestos JH5 (melatonina) y JH14. Morfina 10 mg/kg + vehiculo (□--□); morfina 10 mg/kg + JH5 20 mg/kg (○--○); morfina 10 mg/kg + JH14 20 mg/kg (Δ--Δ). El compuesto JH5 no da el mismo resultado que en la primera fase experimental y el efecto positivo, que dió el compuesto JH14 sobre la latencia de respuesta dada por morfina, no se repite en esta segunda fase de experimentos (ver figs. 9 y 18).

CURSO TEMPORAL
MORFINA - INDORRENATO - MELATONINA

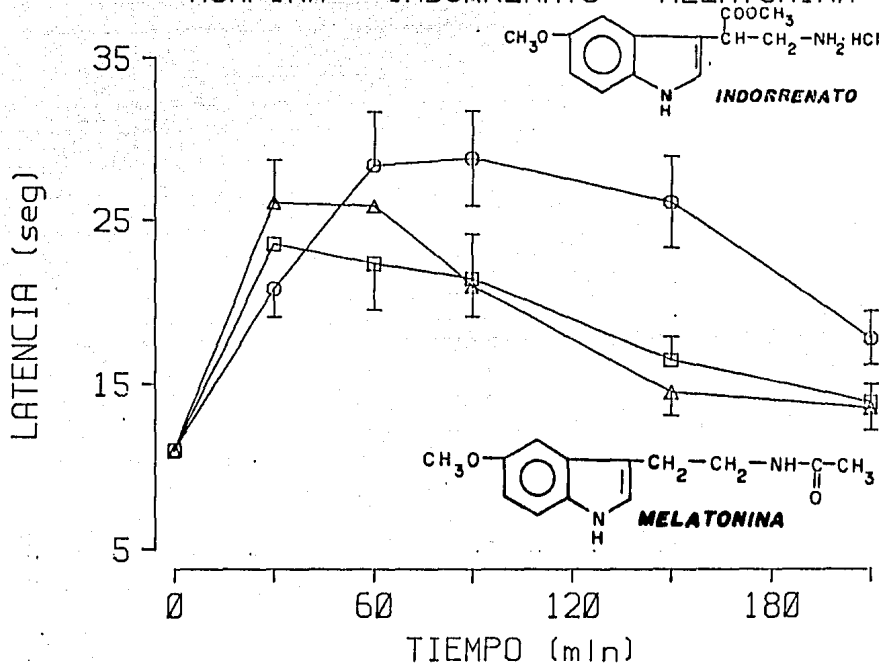


Fig. 24. Se dan los cursos temporales de morfina 10 mg/kg + vehículo (□---□), de morfina 10 mg/kg + indorrenato 20 mg/kg (○---○) y de morfina 10 mg/kg + melatonina 10 mg/kg (△---△). En las ordenadas se registra la latencia de respuesta en segundos y en las abscisas el tiempo en minutos, representando en cada punto la media ± el error estándar de 10 ratones. El indorrenato repite su efecto sobre la latencia de respuesta dada por morfina, siendo estadísticamente significativa su potenciación y la melatonina provoca una ligera potenciación.

CURSO TEMPORAL
MORFINA - JH 11 - JH 8

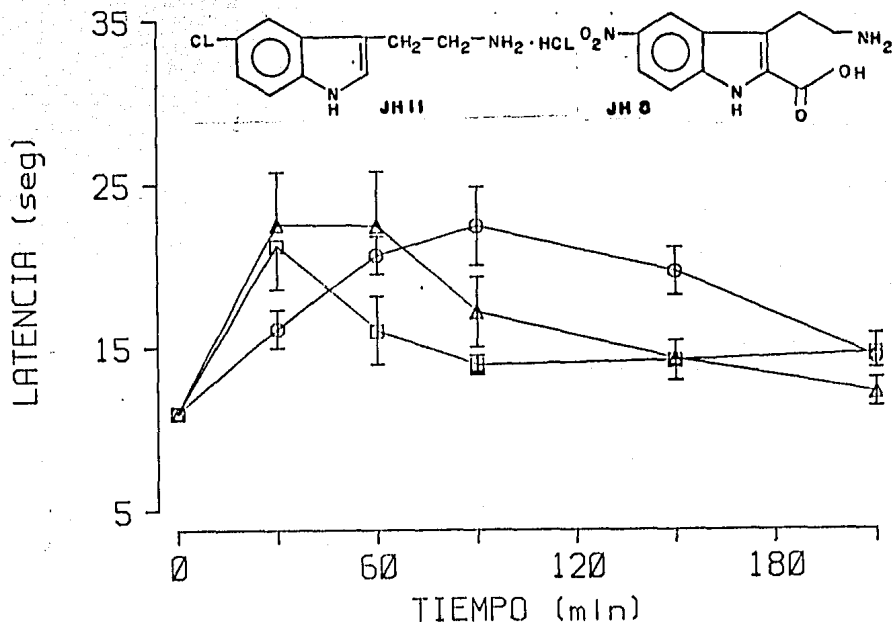


Fig. 25. Se grafica el curso temporal de morfina sola y en interacción con los compuestos JH11 y JH8. Morfina 10 mg/kg + vehículo (□--□); morfina 10 mg/kg + JH11 20 mg/kg (○--○); morfina 10 mg/kg + JH8 10 mg/kg (Δ--Δ). Cada punto representa la media ± el error estándar en 10 ratones. El compuesto JH11 repite su efecto sobre la acción de morfina, en un mayor grado, pero la prueba estadística resultó de nuevo no ser significativo. El compuesto JH8 en la dosis de 10 mg/kg dió el efecto contrario que el encontrado en la primera fase experimental, dando un ligero efecto positivo que estadísticamente no fué significativo.

CURSO TEMPORAL
MORFINA - JH 9 - JH 17

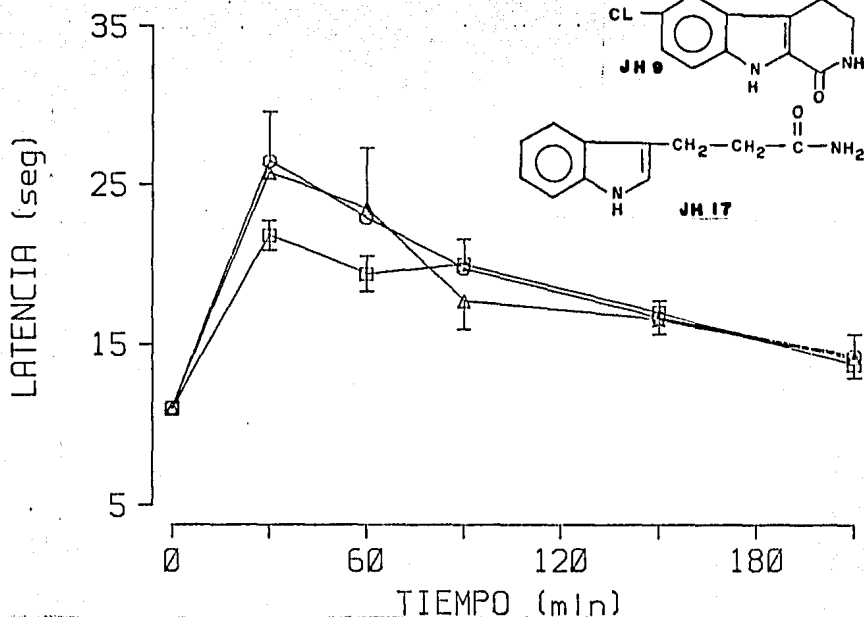


Fig. 26. Cursos temporales de morfina 10 mg/kg + vehículo (□---□), de morfina 10 mg/kg + JH9 10 mg/kg (○---○) y de morfina 10 mg/kg + JH17 10 mg/kg (Δ---Δ). Las barras verticales indican el error estándar de la media de respuesta en un grupo de 10 ratones. En las ordenadas se grafica la latencia de respuesta en segundos y en las abscisas el tiempo en minutos. El compuesto JH9 reprodujo el efecto positivo en los primeros 90 minutos, aunque no resulto ser estadísticamente significativo. El efecto del compuesto JH17 fué contrario al primer efecto obtenido, no es estadísticamente significativo este resultado.

CURSO TEMPORAL
MORFINA - JH 2 - JH 4

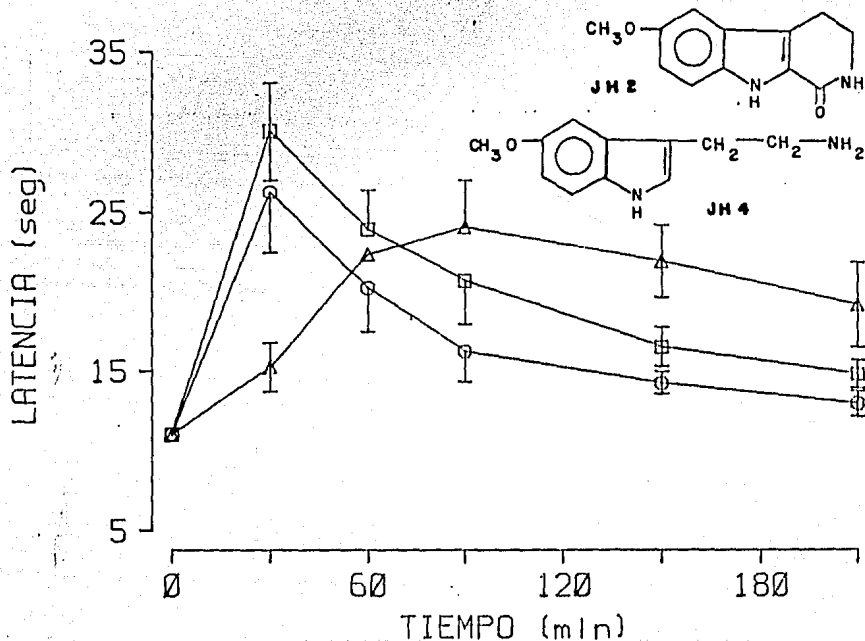


Fig. 27. Curso temporal de morfina 10 mg/kg + vehículo (□---□), de morfina 10 mg/kg + JH2 20 mg/kg (○---○) y de morfina 10 mg/kg + JH4 20 mg/kg (△---△). Cada punto representa un valor medio para 10 ratones con su error estándar. La latencia de respuesta dada en segundos se registra en la ordenada y el tiempo en minutos en la abscisa. Ambos compuestos replican sus resultados, el compuesto JH2 disminuye el efecto provocado por morfina y el JH4 presenta de nuevo la respuesta bifásica. La prueba estadística sólo dió diferencia significativa para el antagonismo provocado por el compuesto JH4.

CURSO TEMPORAL
MORFINA - JH 6 - JH 7

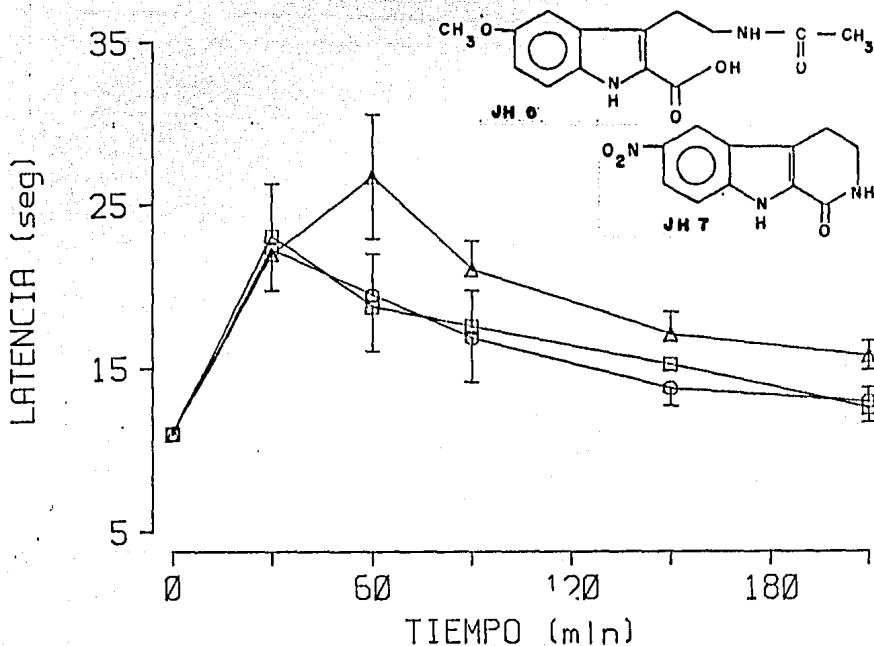


Fig. 28. Cada punto de los cursos temporales representa la media determinada en 10 ratones y la barra indica el error estándar. Morfina 10 mg/kg + vehículo (□---□); morfina 10 mg/kg + JH6 20 mg/kg (○---○); morfina 10 mg/kg + JH7 20 mg/kg (△---△). En la ordenada se encuentra la latencia de respuesta registrada en segundos y en la abscisa el tiempo en minutos. El compuesto JH6 no reprodujo los primeros resultados y el compuesto JH7 sí dió el mismo efecto, aunque no es estadísticamente significativo.

CURSO TEMPORAL MORFINA -- HALOPERIDOL

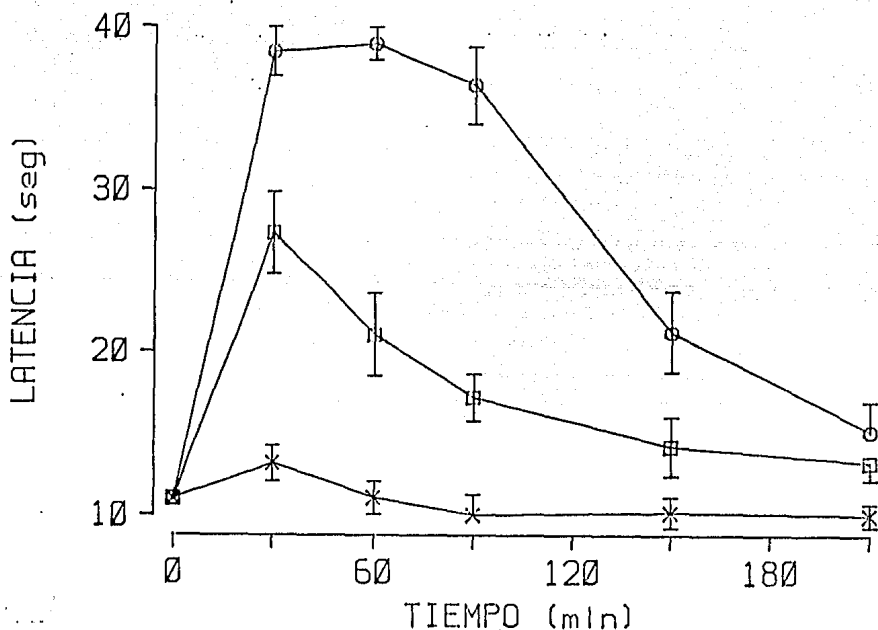


Fig. 29. Cursos temporales con morfina sola y haloperidol solo y en combinación. Haloperidol 1 mg/kg + vehiculo (X--X); morfina 10 mg/kg + vehiculo (□--□); morfina 10 mg/kg + haloperidol 1 mg/kg (○--○). Cada punto representa la media \pm el error estándar de 10 ratones. La latencia de respuesta en segundos se grafica en la ordenada y en la abscisa el tiempo en minutos. El haloperidol por si solo no produce un cambio importante en la latencia de respuesta, en cambio, al combinarse con morfina potencia su efecto, siendo estadísticamente significativa esta potenciación.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- CLORPROMACINA

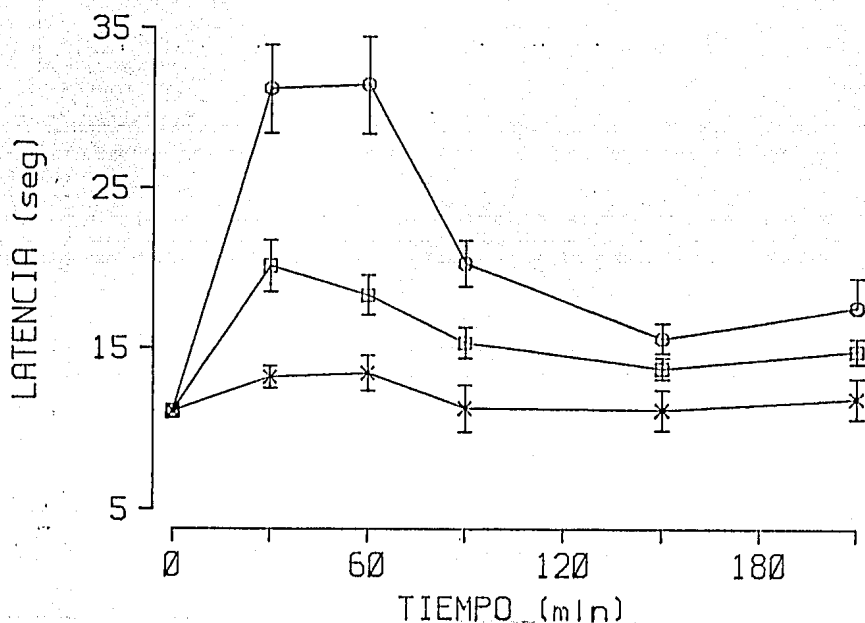


Fig. 30. Curso temporal de clorpromacina 1 mg/kg + vehículo (×--×), de morfina 10 mg/kg + vehículo (□--□) y de morfina 10 mg/kg + clorpromacina 1 mg/kg (○--○). En los puntos de cada curva se encuentran la media \pm el error estándar de 10 ratones. La clorpromacina por si sola no eleva mucho la latencia de respuesta y en combinación con morfina potencia el efecto de este fármaco. Esta potenciación es estadísticamente significativa.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- CLORPROMACINA

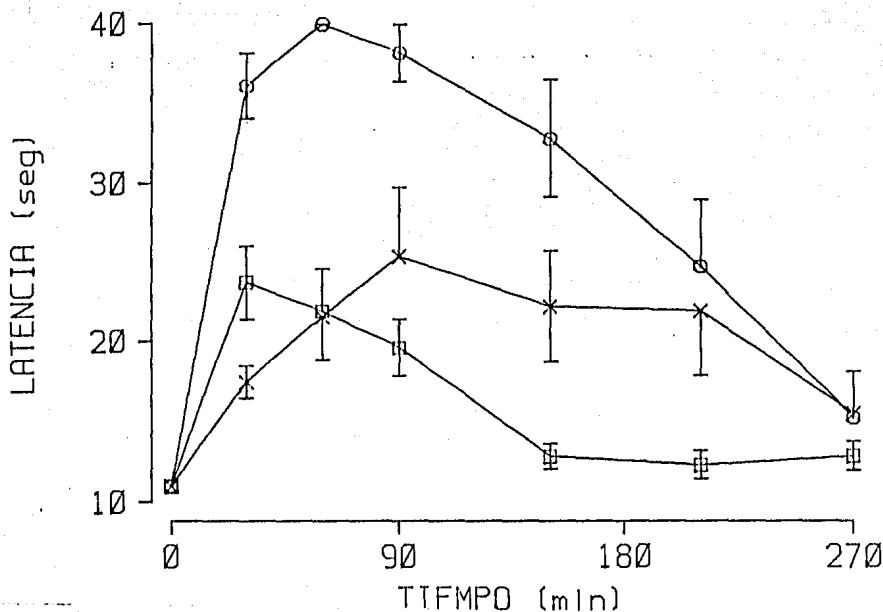


Fig. 31. Curso temporal de clorpromacina 3 mg/kg + vehiculo (X--X), de morfina 10 mg/kg + vehiculo (□--□) y de morfina 10 mg/kg + clorpromacina 3 mg/kg (O--O). Las barras verticales representan el error estándar de la media obtenida en 10 ratones. La clorpromacina en esta dosis sí eleva mucho la latencia de respuesta de los animales y al combinarse potencia el efecto de la morfina, siendo estadísticamente significativa esta potenciación.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- DIAZEPAM

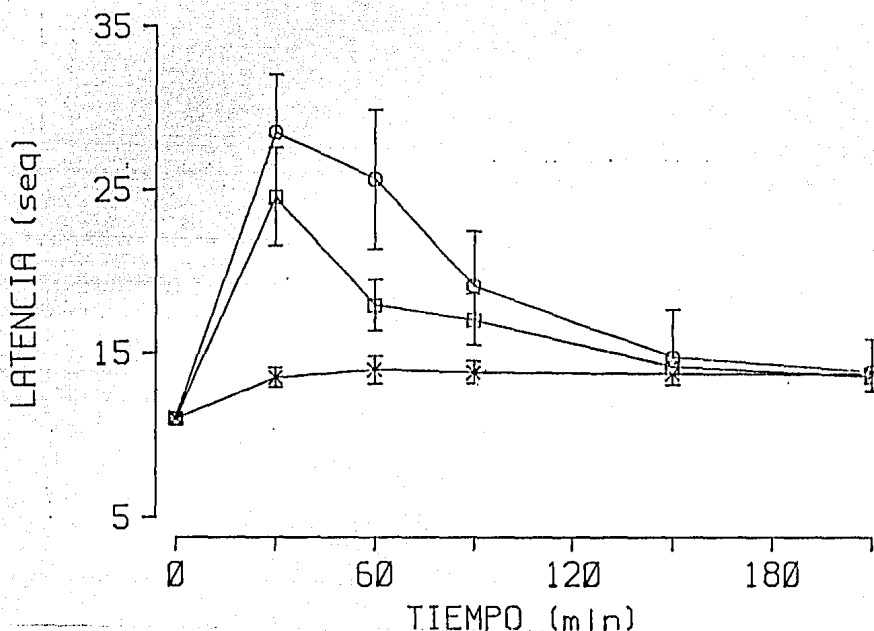


Fig. 32. Curso temporal de morfina y diazepam, solos y en interacción. Los puntos indican la media y el error estándar de 10 ratones. La latencia de respuesta registrada en segundos se marca en la ordenada y sobre la abscisa el tiempo en minutos. Diazepam 10 mg/kg + vehículo (X--X); morfina 10 mg/kg + vehículo (□--□); morfina 10 mg/kg + diazepam 10 mg/kg (O--O). El diazepam eleva en forma muy ligera pero persistente, la latencia de respuesta y en combinación con morfina potencia su actividad. La potenciación provocada por el diazepam no fué estadísticamente significativa.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- CLONIDINA

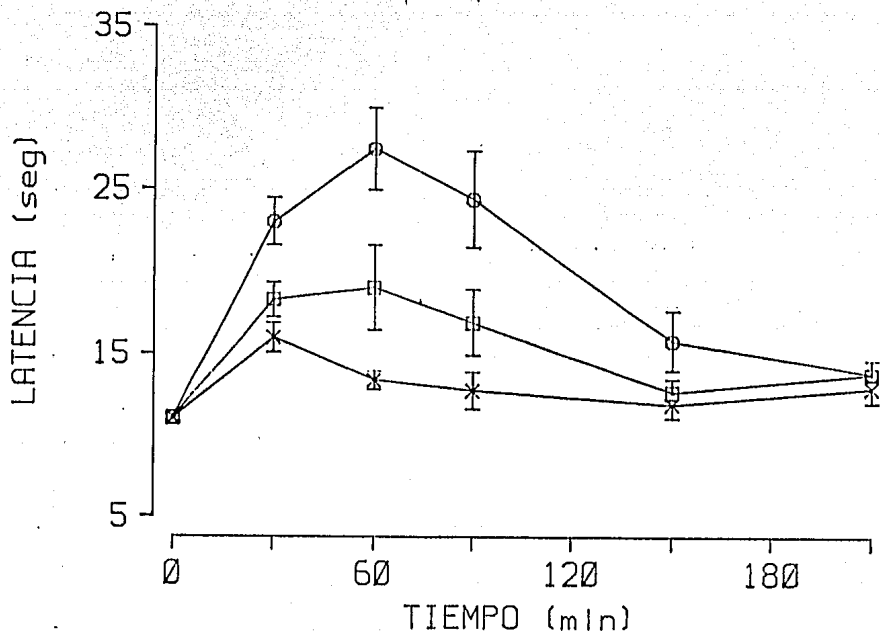


Fig. 33. Se grafica el curso temporal de clonidina 316 mcg/kg + vehículo (x---x), de morfina 10 mg/kg + vehículo (□---□) y de morfina 10 mg/kg + clonidina 316 mcg/kg (○---○). Las barras verticales indican el error tipo de la media de respuesta de un grupo de 10 ratones. La clonidina eleva ligeramente la latencia de respuesta durante los primeros 60 minutos y en combinación con morfina potencia sus efectos antinociceptivos, siendo estadísticamente significativa esta potenciación.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- CLONIDINA

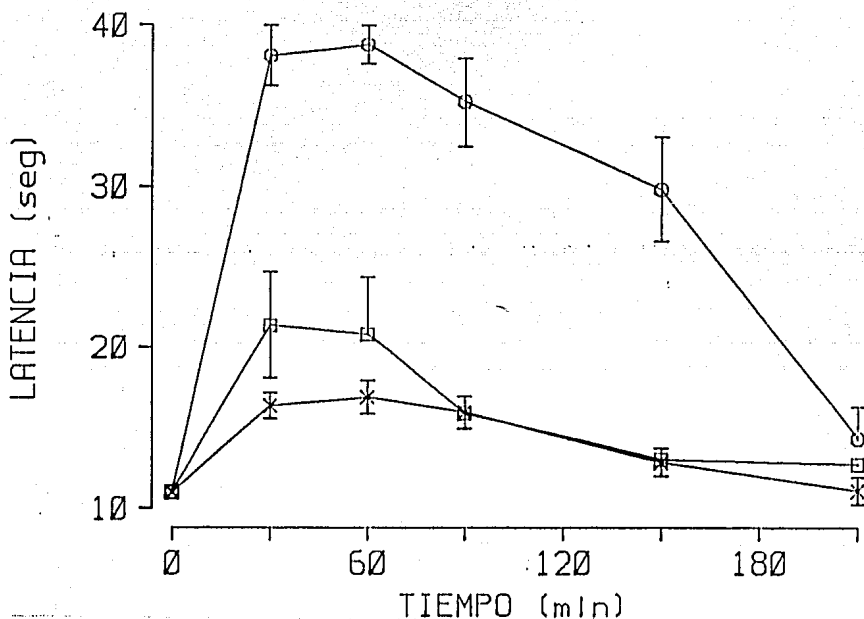


Fig. 34. Cursos temporales de clonidina 1 mg/kg + vehiculo (×--×), de morfina 10 mg/kg + vehiculo (□--□) y de morfina 10 mg/kg + clonidina 1 mg/kg (○--○). Se señala en cada punto la media ± el error tipo de un grupo de 10 ratones, en la ordenada la latencia de respuesta registrada en segundos y en la abscisa el tiempo en minutos. La clonidina vuelve a presentar los mismos efectos que en la grafica anterior sólo que en mayor grado. El efecto propio de la clonidina es de casi la mitad del efecto de la morfina en este caso. La potenciación es estadísticamente significativa.

CURSO TEMPORAL
MORFINA -- RESERPINA

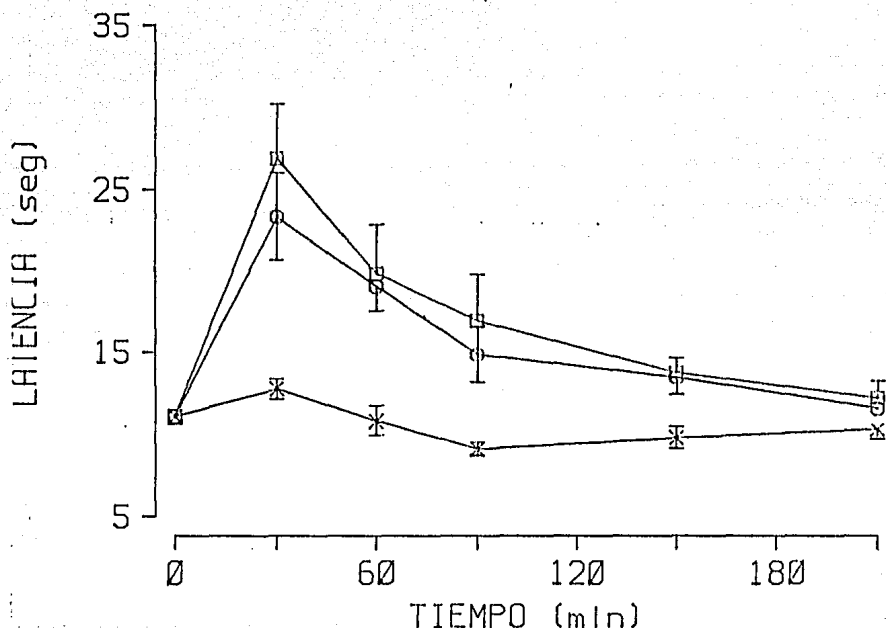


Fig. 35. Se grafica el curso temporal de reserpina 1 mg/kg + vehículo (×---×), de morfina 10 mg/kg + vehículo (□---□) y de morfina 10 mg/kg + reserpina 1 mg/kg (○---○). La reserpina se administro 24 horas antes de la prueba. Cada punto representa la media ± el error estándar. La reserpina modifica ligeramente la latencia de respuesta y en combinación con morfina produce un pequeño efecto negativo sobre la actividad de morfina.

CURSO TEMPORAL MORFINA -- RESERPINA

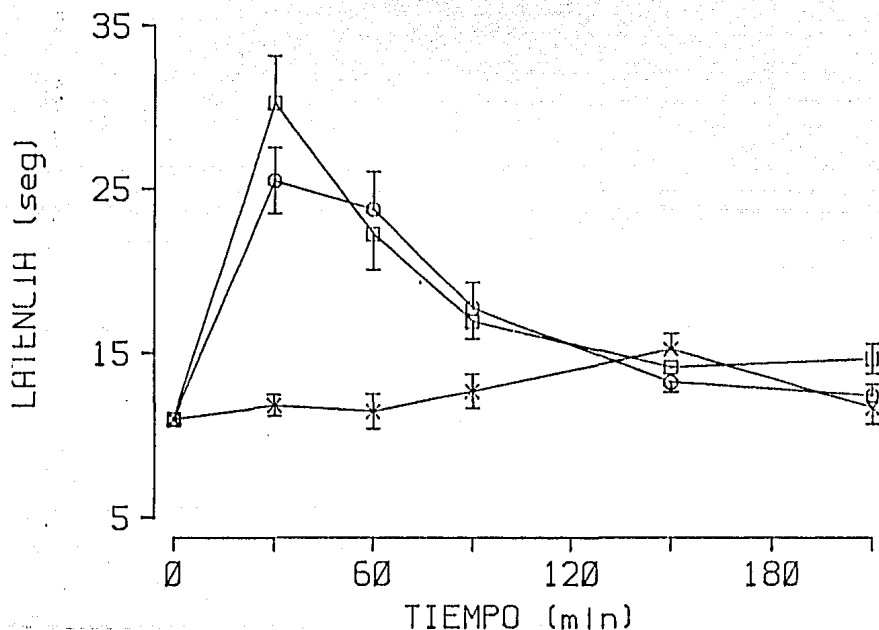


Fig. 36. Cursos temporales de morfina y reserpina, solas y en combinación. La reserpina se administró en dos etapas, 1 mg 48 horas antes y el segundo mg 24 horas antes del experimento. Los puntos de cada curva indican la media \pm el error estándar. En la ordenada se registra la latencia de respuesta y en la abscisa el tiempo. Reserpina 2 mg/kg + vehículo (X--X); morfina 10 mg/kg + vehículo (O--O); morfina 10 mg/kg + reserpina 2 mg/kg (O--O). La reserpina por sí sola eleva la latencia de respuesta, principalmente después de los 60 minutos y en combinación con morfina produce un efecto negativo, sin importancia, sobre su actividad antinociceptiva.

CURSO TEMPORAL MORFINA -- RESERPINA

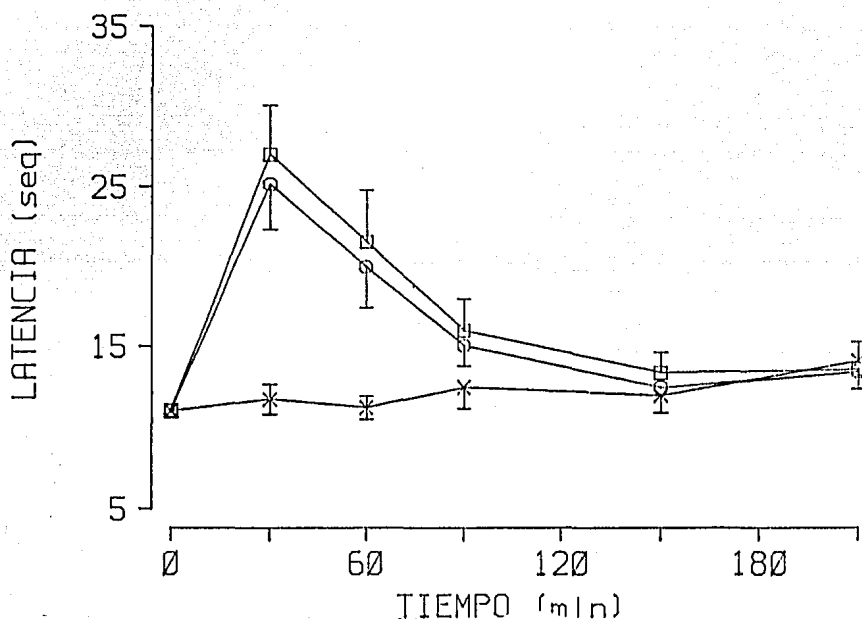


Fig. 37. Cursos temporales de morfina y reserpina. solas y en combinación. Reserpina 3 mg/kg + vehículo (X--X); morfina 10 mg/kg + vehículo (□--□); morfina 10 mg/kg + reserpina 3 mg/kg (o--o). Se administraron los 3 mg de reserpina en tres etapas, 1 mg 72 horas antes, el segundo mg 48 horas antes y el tercer mg 24 horas antes de la prueba. Los puntos representan la media \pm el error estándar de 10 ratones. La reserpina en forma individual eleva ligeramente la latencia de respuesta al final de la prueba y en combinación con morfina baja su efecto antinociceptivo, aunque no en forma importante ni significativa.

CURSO TEMPORAL MORFINA -- RESERPINA

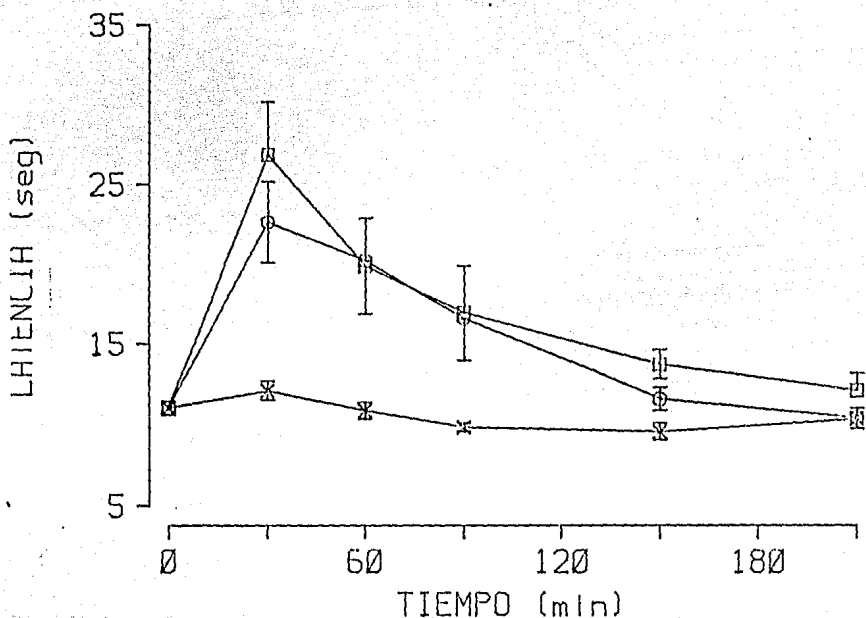


Fig. 38. Curso temporal de morfina y reserpina, solas y en combinación. Reserpina 10 mg/kg + vehiculo (X--X); morfina 10 mg/kg + vehiculo (□---□); morfina 10 mg/kg + reserpina 10 mg/kg (O---O). Las barras verticales indican el error tipo de la media de 10 ratones. En las ordenadas se encuentra la latencia de respuesta y en las abscisas el tiempo. La reserpina se administró 24 horas antes de la prueba. La reserpina por si misma no modifica la latencia de respuesta y en combinación con morfina produce un ligero efecto antagónico.

DISCUSION

Los compuestos químicos como la morfina constituyen los mejores analgésicos hasta ahora conocidos. Por tal motivo se han realizado diversos estudios tanto en este como en otros laboratorios con el fin de buscar compuestos que pudieran aumentar su efectividad analgésica o esclarecer los mecanismos de acción y los sistemas fisiológicos involucrados en la transmisión, procesamiento e interpretación del dolor.

Precisamente, en el desarrollo de algunos de estos estudios han surgido ideas interesantes sobre el funcionamiento de los sistemas involucrados en el dolor y su posible participación en la propiedad antinociceptiva de la morfina. Se plantea que la actividad analgésica por morfina afecta y se ve afectada por la producción de diferentes neurotransmisores como noradrenalina, dopamina, serotonina, acetilcolina, así como por algunas otras substancias como la melatonina. Diversos estudios sugieren que los niveles de estas substancias en el sistema nervioso determinan que la actividad analgésica de tipo opioide se mantenga, disminuya o se potencie. Inclusive, es posible que algunos compuestos cercanamente relacionados a neurotransmisores puedan producir analgesia por sí mismos. Recientemente se reportó la participación de la N-acetilserotonina en el sistema modulador del dolor. Encontrándose que por sí misma eleva la latencia de respuesta a un estímulo térmico, en ratas, al ser administrada por vía intraventriculocerebral (Psarakis, 1983). La N-acetilserotonina es un producto inmediato de la serotonina y precursor inmediato de la melatonina (ver apéndice "B"). Se menciona en el estudio, que el efecto producido por esta substancia requirió de la presencia del grupo acetilo, en la cadena terminal de la amina, así como del grupo hidroxilo en el carbono cinco del anillo indólico; ya que la substitución del grupo N-acetilo, para dar serotonina y del grupo hidroxilo para dar melatonina, abolió su efecto analgésico.

Los datos que obtuvimos con los precursores químicos y análogos de serotonina y melatonina pueden agruparse en cuatro tipos de respuesta sobre el efecto antinociceptivo que provoca la morfina. El primer tipo agrupa a los compuestos químicos con las claves JH 1, JH 3, JH 5 (melatonina codificada), JH 10, JH 12, JH 13, JH 16 y melatonina no codificada. Estos compuestos al interactuar con morfina no modificaron el efecto que produce este opioide sobre la latencia de respuesta en ninguna de las dosis administradas y además por sí mismos no elevan la latencia de respuesta.

Analizando las estructuras químicas de los compuestos (ver apéndice "C"), podremos notar que dos de ellos, el JH 3 y JH 10 son parecidos estructuralmente entre sí. Su diferencia estriba en la substitución del carbono cinco del anillo indólico. El JH 3

tiene un metoxilo, mientras que el JH 10 tiene un cloro.

Otro de los compuestos que no tuvieron efecto, el JH 12 es la triptamina, un metabolito que resulta de la descarboxilación del triptófano. Aminoácido esencial que inicia la cascada de síntesis de serotonina o melatonina (ver apéndice "B"). El compuesto químico JH 13 es muy semejante a la N-acetilserotonina, la única diferencia se da en la ausencia del radical hidroxilo en el anillo indólico. El compuesto JH 16 es muy similar al triptófano, siendo diferente sólo por la ausencia del grupo amino en la cadena terminal.

En el caso de la hormona de la glándula pineal, la melatonina, Salazar y col. (1986), reportaron en dos modelos de dolor; el del pinzamiento de la base de la cola en ratones y el de disfunción inducida por dolor en ratas. Que la administración simultánea de melatonina y morfina, produce una elevación del efecto máximo del opioide en el primer modelo y en el de disfunción inducida por dolor, la melatonina sólo prolonga el efecto analgésico de la morfina. La melatonina por sí sola no produce efecto analgésico en ambos modelos.

Los resultados obtenidos tanto con melatonina codificada (JH 5) y no codificada, no mostraron que esta sustancia tenga un efecto importante sobre la acción antinociceptiva de la morfina, sólo en dos experimentos potenciación en forma ligera el efecto de morfina, pero sin ser estadísticamente significativa dicha potenciación. Esto está de acuerdo con la afirmación de Kavaliers y col. (1983), de que el efecto de melatonina sobre la actividad analgésica del opioide no es de importancia, en ninguna de las dos fases del ciclo circádico en ratones jóvenes o maduros, pero que en ratones viejos (30 meses) durante la fase oscura tiene un gran efecto de potenciación.

La melatonina por sí misma tampoco elevó la latencia de respuesta al estímulo térmico. En este caso los resultados obtenidos no concuerdan con los reportados por Kavaliers y col. (1983), quien encuentra durante la fase diurna (niveles endógenos mínimos) una analgesia importante. Cabe mencionar, que la temperatura utilizada para el estímulo térmico, en nuestras pruebas fué cinco grados centígrados más alta que la utilizada en el trabajo de Kavaliers. Este hecho pudiera explicar las diferencias observadas.

El siguiente grupo de compuestos se caracterizó por tener un efecto antagonico, en una de sus dosis o en ambas, sobre la capacidad antinociceptiva de la morfina, provocando una respuesta nociceptiva más rápida en los animales en que se daban estos compuestos en combinación con morfina que en aquellos en que se daba la morfina sola. Este grupo lo integran los compuestos JH 2, JH 16, JH 8, JH 17, y JH 18. El antagonismo sólo se aprecia en la gráfica ya que estadísticamente la diferencia no fué significati-

va. Además, al repetir las pruebas experimentales sólo el compuesto JH 2 persistió en su efecto. Ninguno de estos compuestos por sí solo cambió la respuesta de los animales al estímulo nociceptivo. Los compuestos de este grupo difieren mucho en cuanto a su estructura química.

El tercer tipo de efecto que provocó la interacción de los compuestos JH con el opiode, fué el de potenciar el efecto antinociceptivo de la morfina. Dos de estos compuestos, el JH 7 y JH 9, son similares estructuralmente y repitieron su efecto en una segunda ronda de experimentos. La diferencia estructural entre ellos radica en el tipo de sustitución en el carbono cinco del anillo indólico. El JH 7 tiene un nitrito y el JH 9 un cloro (ver apéndice "C").

Los compuestos JH 14 y JH 15, que tiene un cierto parecido estructural con la melatonina también elevaron el efecto de la morfina, sin repetir este resultado posteriormente. Ambos compuestos presentan una gran semejanza estructural entre sí (ver apéndice "C").

El cuarto tipo de respuesta fué la del efecto bifásico. Los compuestos que la produjeron son: JH 4, JH 11 y el indorrenato. Las estructuras químicas de estos tres compuestos son muy similares, variando en el tipo de sustitución en el carbono cinco del anillo indólico, en donde el JH 4 y el indorrenato tienen un grupo metoxilo mientras que el JH 11 tiene un cloro. Adicionalmente, el indorrenato difiere de estos dos en que tiene un carboximetilester en el carbono β de la cadena lateral (ver apéndice "C").

El compuesto con la clave JH 4 es la 5-metoxi-triptamina, un producto endógeno, metabolito de la serotonina. Mientras que el compuesto con la clave JH 11 es la 5-cloro-triptamina (ver apéndice "B").

Los efectos, tanto del compuesto JH 4, como del indorrenato fueron estadísticamente significativos, sobre la acción antinociceptiva de la morfina.

El indorrenato es un compuesto antihipertensivo, cuyo efecto parece estar dado por una acción agonista sobre receptores en el sistema nervioso central a serotonina (receptores S_{1A}) Hong (1981); Hong y col. (1983).

Salazar y col. (1986), probaron la interacción del indorrenato y morfina en otro modelo experimental del dolor; el pinzamiento de la base de la cola en ratones machos de cinco semanas de edad. Encontrando que el indorrenato en la dosis de 1 mg/kg, antagoniza el efecto analgésico de morfina y la dosis de 10 mg/kg produce un efecto bifásico, muy similar al que aquí se reporta con el modelo de la plancha caliente.

Antón-Tay y col. (1986); Benítez-King y col. (1988), reportaron que el indorrenato induce elevación de los niveles de serotonina en algunas zonas del tallo cerebral y del cuerpo estriado, en ratas, con disminución del contenido de ácido 5-hidroxi-indolacético y los metabolitos de dopamina. Siendo la disminución más moderada en estos últimos. Esto indica que la administración de indorrenato modifica la actividad de vías serotoninérgicas y catecolaminérgicas centrales.

Aunque estas determinaciones todavía no se han realizado en ratones, los resultados nos hacen pensar que probablemente el indorrenato presente un efecto agonista sobre los receptores presinápticos serotoninérgicos a dosis bajas, y a tiempos tempranos en dosis altas. Provocando así una disminución de la analgesia por morfina y la potenciación que se produce después de un cierto tiempo a dosis altas, posiblemente sea por un efecto agonista sobre los receptores postsinápticos serotoninérgicos sumado con un efecto antipaminérgico.

Los compuestos JH 4 y JH 11, que también presentan los mismos efectos que el indorrenato, probablemente estén actuando de la misma manera y en los mismos sitios que el indorrenato. Ambos compuestos tienen una gran analogía estructural con el indorrenato.

COMPUESTOS DE REFERENCIA.

HALOPERIDOL: El haloperidol es una butirofenona neuroléptica que se utiliza para el tratamiento de la esquizofrenia y síntomas psicóticos de excitación y agitación. También se usa en la neuroleptoanalgesia, la cual consiste en administrar una droga neuroleptica como el droperidol o el haloperidol, con un analgésico opiáceo como el fentanyl logrando sedación y analgesia suficientes para intervenciones quirúrgicas, pero manteniendo conciente al paciente para cooperar con el cirujano.

En las pruebas realizadas, la administración conjunta de morfina y haloperidol elevó en forma significativa la latencia de la respuesta dada por los ratones. Dando una potenciación del efecto antinociceptivo de la morfina, posiblemente por la participación del efecto sedante del haloperidol con el efecto analgésico de morfina. Esto se refleja en la conducta de los ratones que no presentan actividad exploratoria y además en el momento de la aplicación del estímulo térmico se mostraron indiferentes. Los animales que llegaron a responder generalmente no presentaron la conducta de lamido de extremidades, sino que pasaron directamente a las dos respuestas que suelen ser las más tardías, el intento de escalar las paredes del cilindro y el brinco.

El efecto sedante del haloperidol en la dosis probada no fué

tan importante en forma individual ya que no cambió la latencia de respuesta.

CLORPROMACINA: Es una droga neuroléptica del tipo de las fenotiacinas, tiene una acción sedante y disminuye la actividad motora. Al igual que el haloperidol, y desde antes, se la utiliza para el tratamiento de la esquizofrenia y síntomas psicóticos de excitación y agitación.

Se asume que la clorpromacina y el haloperidol, al igual que la mayoría de los neurolépticos, bloquean el efecto de la dopamina aumentando así el efecto de la morfina (Grossman y col., 1973).

Las pruebas realizadas mostraron que la clorpromacina en su dosis de 1 mg/kg, por sí misma, no produce efecto importante pero con la dosis de 3 mg/kg, eleva la latencia de respuesta en forma significativa, alcanzando su máximo noventa minutos después de su administración. La combinación de clorpromacina más morfina supera claramente el efecto de morfina sola. Con estos datos podríamos extendernos sobre la generalidad de una acción analgésica por morfina, que se ve aumentada por una acción sedante de fármacos como la clorpromacina.

DIAZEPAM: Es un ansiolítico del tipo de las benzodiazepinas que produce relajación muscular y aumento en la duración total del sueño, potencia el efecto de los analgésicos de tipo opioide. Se sugiere que la potenciación es debida más a un aumento de la acción sedante que a un incremento analgésico. El diazepam a las dosis de 2, 5 y 10 mg/kg producen una marcada sedación, así como una pronunciada relajación muscular, pero no da un efecto antinociceptivo en ratas (Pizziketti y col., 1985). Los resultados concuerdan con las notas bibliográficas, por que el diazepam no elevó la latencia de respuesta por sí solo, pero al interactuar con la morfina, se incrementó el efecto de ésta. Aunque estadísticamente no resultó ser significativa está potenciación.

CLONIDINA: Es un fármaco que se utiliza como antihipertensivo con una acción vasoconstrictora local (Bowman y Rand, 1985). Tiene una gran acción sedante y se ha reportado una acción analgésica en algunas pruebas para analgésicos de tipo opioide. Se le atribuye una acción adrenergica bifásica sobre los receptores adrenergicos α_2 . En el sistema nervioso central de ratas eleva los niveles de serotonina en el rafe dorsal y en el estriado, sin alterar significativamente los niveles de serotonina en el rafe medio y en el hipocampo (Lee, 1986).

Los resultados del trabajo mostraron que la clonidina en forma individual eleva la latencia de respuesta, en ambas dosis proba-

das. Al administrarse en forma simultánea con morfina, la clonidina potencia notablemente su acción analgésica. Además, potencia la opacidad lenticular que produce la morfina. Normalmente, esta opacidad se produce con dosis muy altas de morfina, pero con la adición de clonidina se pudieron observar en forma muy importante con la dosis de 10 mg/kg.

RESERPINA: Es un compuesto que se utiliza, aunque poco, como antihipertensor o para el tratamiento de la esquizofrenia. Agota las reservas intraneuronales de noradrenalina, dopamina y serotonina (Samanin y col., 1970). Antagoniza la acción de morfina y meperidina (Nott, 1968; Samanin y col., 1970, 1973; Grossmann y col., 1973). Dosis bajas producen sedación y un marcado efecto tranquilizante (Levine, 1982). La interacción morfina-reserpina, se caracterizó por un ligero antagonismo durante la primera media hora del experimento, sin ser significativa esta diferencia al compararla con la curva de morfina. La reserpina por sí sola no mostró tener un efecto antinociceptivo, sobre el estímulo doloroso.

CONCLUSIONES

1.- Ningún compuesto de la serie JH por sí solo mostró tener un efecto antinociceptivo.

2.- Los efectos, tanto de antagonismo como de potenciación de la analgesia morfínica del indorrenato, del JH 4 y del JH 11, indican claramente que afectan los mecanismos de la analgesia por opíoides, al menos de los del tipo de la morfina. El efecto de estos compuestos es doble por lo que su interacción es seguramente compleja y muy probablemente debida a modificación en los niveles monoaminérgicos en el sistema nervioso central. Por lo anterior se considera conveniente proseguir el estudio de estos efectos para ver, por ejemplo, si los mismos se reproducen en otros modelos de dolor o si se pueden hacer extensivos a otros tipos de analgésicos.

3.- Los compuestos de la serie JH, que en la segunda etapa experimental, dieron respuestas contrarias a las obtenidas en primera instancia. Se podría decir que este resultado se debe a la variabilidad biológica, ya que en ningún caso resultó ser estadísticamente significativa la diferencia observada entre los experimentos.

4.- La reserpina en este modelo no mostró ni el efecto antagonista ni el efecto de potenciación que se reporta en la literatura, posiblemente esto se deba a diferencias en el modelo utilizado (Plancha caliente *vs.* Sacudida de la cola).

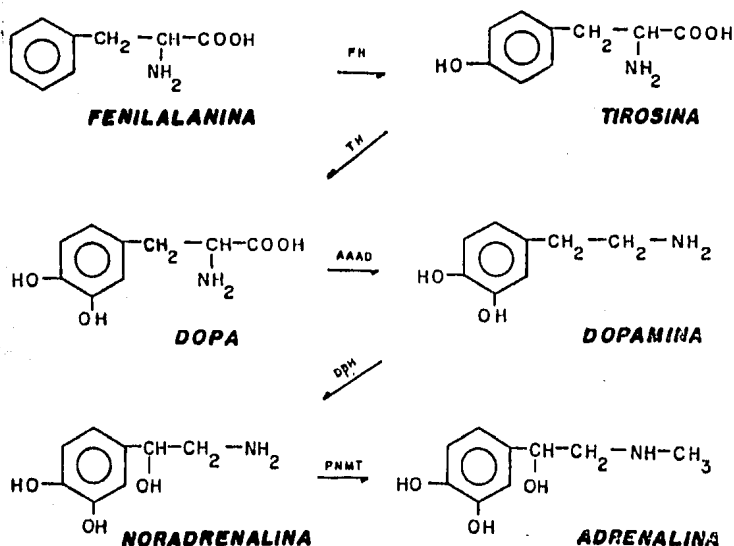
5.- La melatonina no eleva la latencia de respuesta por sí misma en el modelo y condiciones utilizadas en este trabajo.

6.- La melatonina no potencia el efecto antinociceptivo de morfina en ratones jóvenes durante la fase luminosa, en el modelo de la plancha caliente, a una temperatura de 55 °C. Este dato coincide con lo reportado por Kavaliers y col. (1983).

7.- El haloperidol, la clorpromacina y la clonidina, en dosis que por sí mismas tienen poco efecto, definitivamente tienen un importante efecto potenciador de la analgesia por morfina. Este efecto de los neurolepticos es ampliamente conocido y utilizado pero no es así en el caso de la clonidina. Aunque muy probablemente, la administración conjunta de ambos compuestos no fuera aconsejable en humanos por que tanto la morfina como la clonidina tienen efectos hipotensores que pudieran ser indeseables. El diazepam, aunque mostró un aparente efecto de potenciación, no presentó un efecto estadísticamente significativo y su efecto propio no es despreciable.

8.- La analogía estructural de los compuestos que tuvieron un efecto potenciador o bifásico, con moléculas del sistema triptamínérgico, muestran la importancia de la participación del mismo, en el sistema modulador del dolor y de la analgesia de tipo opiode.

SINTESIS DE CATECOLAMINAS



FH · HIDROXILASA DE FENILALANINA

TH · HIDROXILASA DE TIROSINA

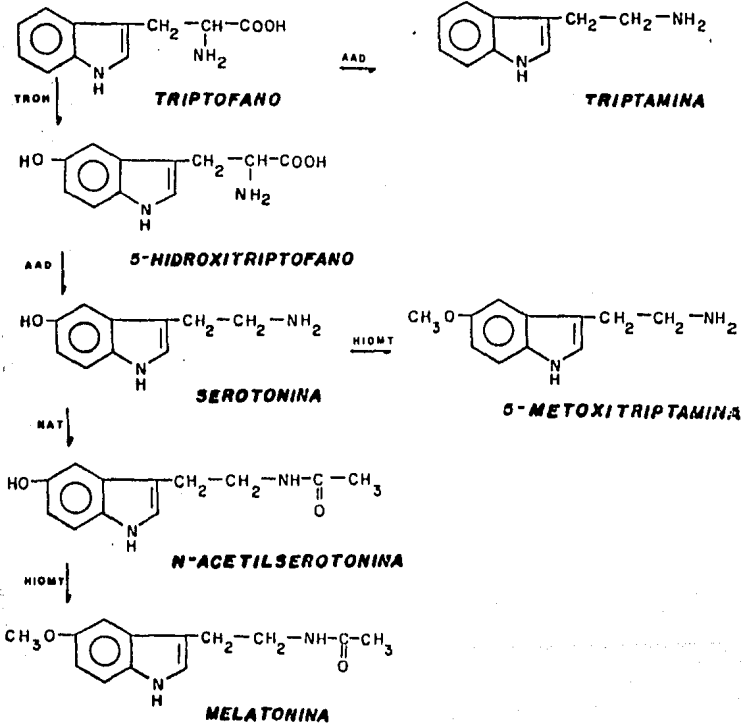
AAAD · DESCARBOXILASA DE L-DOPA

DPH · *p*-HIDROXILASA DE DOPAMINA

PNMT · FENETANOLAMINA N-METILTRANSFERASA

Biosíntesis de catecolaminas: Los sistemas enzimáticos que catalizan la formación de catecolaminas existen en neuronas adrenérgicas simpáticas, en diversas neuronas del sistema nervioso central y en células de las médulas suprarrenales y las cromafines en otros tejidos. El punto de partida para la síntesis está en los aminoácidos esenciales fenilalanina y tirosina.

SINTESIS DE MELATONINA

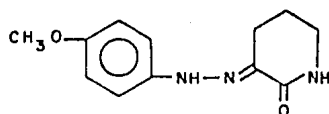


TROH • HIDROXILASA DE TRIOPTOFANO
 AAD • DESCARBOXILASA DE L-AMINOACIDOS AROMATICOS
 NAT • N-ACETILTRANSFERASA
 HIOMT • HIDROXINDOL-O-METILTRANSFERASA

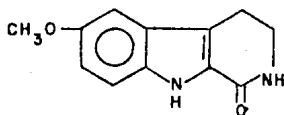
Biosíntesis de melatonina: La síntesis de esta hormona se lleva a cabo en los pinealocitos, partiendo del triptofano, un aminoácido esencial. El cuerpo pineal está situado cerca del centro del encéfalo pero sin formar parte del sistema nervioso central.

APENDICE "C"

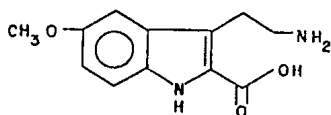
PRECURSORES QUIMICOS Y ANALOGOS DE
SEROTONINA Y MELATONINA



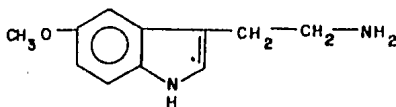
JH1, 2,6-Piperidindiona-3-p-metoxifenilhidrazona.



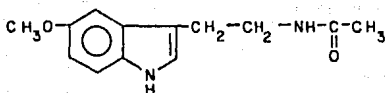
JH2, 6-Metoxi-3-oxo-1,2,3,4-tetrahidro-9H-pirido [3,4-b] indol.



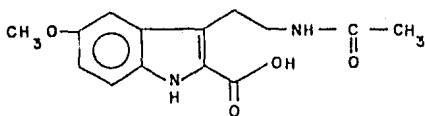
JH3, 3-(2-Aminoetil)-5-metoxi-1H-indol-2-ácido carboxílico.



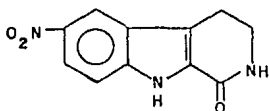
JH4, 5-Metoxi-1H-indol-3-etanamina.



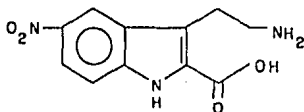
JH5. N-acetil-5-metoxi-triptamina = (Melatonina).



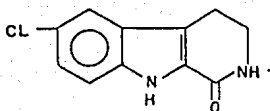
JH6. 3-(2-Acetamidoetil)-5-metoxi-LH-indol-ácido carboxílico.



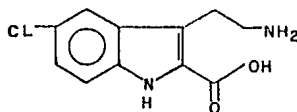
JH7. 6-Nitro-3-oxo-1,2,3,4-tetrahidro-9H-pirido [3,4-b] indol.



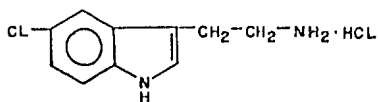
JH8. 3-(2-Aminoetil)-5-nitro-LH-indol-2-ácido carboxílico.



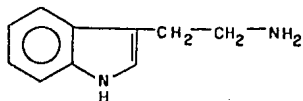
JH9. 6-Cloro-3-oxo-1,2,3,4-tetrahidro-1H-pirido [3,4-b] Indol.



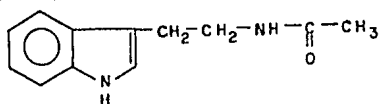
JH10. 3-(2-Aminostil)-5-cloro-1H-Indol-2-ácido carboxílico.



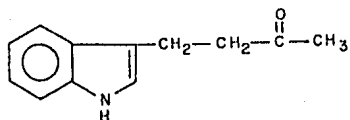
JH11. 6-Cloro-1H-Indol-3-etanamina hidrocloreto.



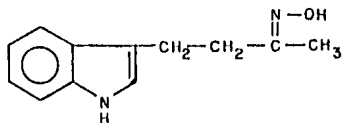
JH12. 1H-Indol-3-etanamina.



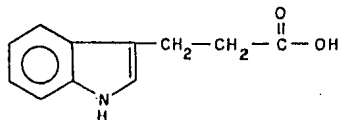
JH13. N- [2-(1H-Indol-3-yl)etil] acetamida.



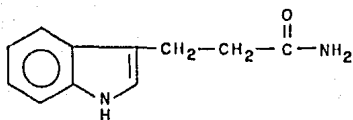
JH14. 4-(1H-Indol-3-yl) butan-2-ona.



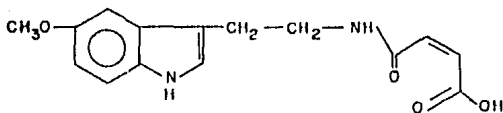
JH15. 4-(1H-Indol-3-yl)-2-butanona oxima.



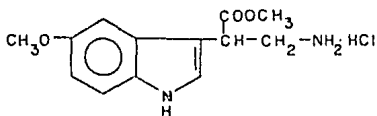
JH16. 1H-Indol-3-propanoico.



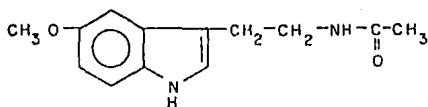
JH17. 5H-Indol-3-propanamida.



JH18. N- [2-(5-metoxi-1H-Indol-3-Il)etil] - (L)-4-amino-4-ácido oxobutenóico.



Indorrenato, 5-Metoxitriptamina-Beta-carboximetiléster.



MELATONINA

BIBLIOGRAFIA

- Axelrod, J. (1974).: The pineal gland: A neurochemical transducer. *Science*. 184:341-348.
- Antón-Tay, F., Benítez, G., Rión, R., y Hong, E. (1986).: Cambios en la concentración de aminas cerebrales en ratas tratadas con indorrenato. *Memorias del X Congreso Nacional de Farmacología*.
- Benítez-King, G., Solís, F., Chávez, J.L., Hong, E., y Antón-Tay. (1988).: Efectos del indorrenato sobre la actividad de la MAO y la recaptura de dopamina en el cerebro de la rata. *Memorias del XII Congreso Nacional de Farmacología*.
- Bowman, W.C., y Rand, M.J. (1985).: *Farmacología bases Bioquímicas y Patológicas*. pp.5.1-16.36 Ed. Interamericana. Mex, D.F.
- Brown, A.M. (1967).: Excitation of afferent cardiac sympathetic fibres during myocardial ischaemia. *J. Physiol.* 190:35-53.
- Brown, A.M., Malliani, A. (1971).: Spinal sympathetic reflexes initiated by coronary receptors. *J. Physiol.* 212:685-705.
- Brown, M.G., Young, N.S., Gauthier, S., Tsui, H., y Grotá, J.L. (1979).: Melatonin in human cerebrospinal fluid in daytime; its origin and variation with age. *Life Sciences*. 25:929-936.
- Brownstein, J.M. (1975).: The Pineal Gland. *Life Sciences*. 16:1363-1374.
- Calcutt, R.C., y Spencer J.S.P. (1971).: Activities of narcotic and narcotic-antagonist analgesics following the intraventricular injection of various substances. *Br. J. Pharmac.* 41:401-402.
- Dundee, W.J., y McCaughey. (1983).: Fármacos empleados en anestesia. en Avery, S.G.: *Farmacología Clínica y Terapéutica*. pp.259-293. Salvat Editores, S.A. México.
- Fitzgerald, M., y Lynn, B. (1977).: The sensitization of high threshold mechanoreceptors with myelinated axons by repeated heating. *J. Physiol.* 265:549-563.
- Franchi, G., Fanciullaci, M., Galli, P., y Sicuteri, F. (1976).: Possible Monoamine Mediation of the Analgesic Activity of Ergotamine and other Lysergic Derivatives in Migraine: In *Advances in Pain Research and Therapy*, vol. 1. edited by J.J Bonica and D. Albe-Fessard. pp. 881-885. Raven Press. New York.
- Frederickson, R., Burgis, G., y Edwards, S.D. (1977).: Hyperalgesia induced by naloxone follows diurnal rhythm in responsivity to painful stimuli. *Science*. 198:756-758.
- Gildenberg, L.P., y DeVaul, A.R. (1985).: The chronic pain patient. pp.1-47. Edited by Karger. New York.

- Goldstein, A. (1979).: Endorphins and Pain: A critical Review.: In Mechanism of Pain and Analgesic Compounds, edited by R.F. Beers, Jr., and E.G. Bassett. pp.595-600. Raven Press, New York.
- Grossmann, W., Jurna, I., Nell, T., y Theres, C. (1973).: The dependence of the anti-nociceptive effect of morphine and other analgesic agents on spinal motor activity after central monoamine depletion. *Eur. J. Pharmacol.* 24:67-77.
- Haubrich, R.D., y Blake, E.D. (1973).: Modification of serotonin metabolism in rat brain after acute or chronic administration of morphine. *Biochem Pharmacol.* 22:2753-2759.
- Hernán S, M. (1968).: Salud y enfermedad. pp.1-37. La prensa médica mexicana. 2ª Ed. Mex, D.F.
- Ho, K. A., Chik, L.C., Joshi, G.M., y Brown, M.G. (1985).: Differential effects of isoproterenol injections on the levels of pineal N-acetyltransferase, serum N-acetylserotonin and melatonin. *Life Sciences.* 36:2137-2143.
- Hong, E. (1981).: A serotonergic antihypertensive agent. Molecular bases of drug action edited by T.P. Singer., y R.N. Ondarza. pp.247-252. Elsevier North Holland.
- Hong, E., Rion, R., y Vidrio, H. (1983).: Stimulation of central serotonin receptors as a novel mechanism of antihypertensive activity. *Vascular Neuroeffector Mechanisms.* edited by John A. Bevan, et al. Raven Press. New York. 22:133-137.
- Hynes, D. M., Lochner, A.M., Bemis, G.K., y Hymson, L.D. (1985).: Fluoxetine, a selective inhibitor of serotonin uptake, potentiates morphine analgesia without altering its discriminative stimulus properties or affinity for opioid receptors. *Life Sciences.* 36:2317-2323.
- Kavaliers, M., Hirst, M., y Teskey, C.G. (1983).: Ageing, opioid analgesia and the pineal gland. *Life Sciences.* 32:2279-2287.
- Keele, C.A. (1964).: Substances producing pain and itch. pp. 1-29. Camelot press LTD, London and Southampton.
- Kelly, J. S., y Franklin, K.B.J. (1987).: Role of peripheral and central opioid activity in analgesia induced by restraint stress. *Life Sciences.* 41:789-794.
- Klein, C.D., Namboodiri, M.A.A., y Auerbach, D.A. (1981).: The Melatonin Rhythm Generating System: Developmental Aspects. *Life Sciences.* 28:1975-1986.
- Lakin, L.M., Miller, C.H., Stott, M.L y Winters, W.D. (1981).: Involvement of the pineal gland and melatonin in murine analgesia. *Life Sciences.* 29:2543-2551.
- Lee, Y.H.E. (1986).: Additive effects of apomorphine and clonidine on serotonin neurons in the dorsal raphe. *Life Sciences.* 40:635-642.

- Levine, R.R., y Clark, B.B. (1982).: Farmacología, acciones y reacciones medicamentosas. pp.453-481 Salvat, 2' Ed. Mex, D.F.
- Liebeskind, C.J. (1976).: Pain modulation by central nervous system stimulation.: In Advances in Pain Research and Therapy. vol. 1. edited by J.J. Bonica and D. Albe-Fessard. pp.445-453. Raven Press, New York.
- Lynch, J.H. (1971).: Diurnal oscillations in pineal melatonin content. Life Sciences. 10:791-795.
- Lynch, J.H., Jimerson, C.D., Ozaki, Y., Post, M.R., Bunney, E.W., y Wurtman, J.R. (1978).: Entrainment of rhythmic melatonin secretion in man to a 12-hour phase shift in the light/dark cycle. Life Sciences. 23:1557-1564.
- Lynch, J.H., Deng, M., y Wurtman, J.R. (1984).: Light intensities required to suppress nocturnal melatonin secretion in albino and pigmented rats. Life Sciences. 35:841-847.
- Mayer, J.D., Wolfle, L.T., Akil, H., Carder, B., y Liebeskind, C.J. (1971).: Analgesia from electrical stimulation in the brainstem of the rat. Science. 174:1351-1354.
- Mayer, S.E. (1982). Trasmisión neurohumoral y sistema nervioso autónomo: en Goodman, L.S., Gilman, A.: Las bases Farmacológicas de la Terapéutica. pp.72-104 Ed. Médica Panamericana. 6' Ed. Mex, D.F.
- Mense, S., y Stohnke, M. (1983).: Responses in muscle afferent fibers of slow conduction velocity to contractions and ischaemia in cat. J. Physiol. 342:383-397.
- Nott, W.M. (1968).: Potentiation of morphine analgesia by cocaine in mice. European Journal of Pharmacology. 5:93-99.
- Odile, R. y Boris, B.V. (1987).: Mundo Científico: La Aspirina. La Recherche. Ed. Fontalba, S.A. vol. 7 (65) pp.84-93.
- Olcese, J., Reuss, S., y Steinlechner, S. (1986).: Electrical stimulation of the hypothalamic nucleus paraventricularis mimics the effects of light on pineal melatonin synthesis. Life Sciences. 40:455-459.
- Paalzow, G., Paalzow, L., y Stalby, B. (1974).: Pentazocine analgesia and regional rat brain catecholamines. Eur. J. Pharmacol. 27:78-88.
- Pang, F.S. (1983).: Regional concentrations of melatonin in the rat brain in the light and dark period. Life Sciences. 33:1199-1204.
- Pepeau, G. (1976).: Involvement of central transmitters in narcotic analgesia: In Advances in Pain. Research and Therapy. vol. 1. edited by J.J. Bonica and D. Albe-Fessard. pp.595-600. Raven Press. New York.

- Pizziketti, J.R., Pressman, S.N., Geller, B.E., Cowan, A., y Adler, W.M. (1985).: Rat cold water tail-flick: A novel analgesic test that distinguishes opioid agonists from mixed agonist-antagonists. *Eur. J. Pharmacol.* 119:23-29.
- Psarakis, S., Gregory, M.B., y Lee, J.G. (1988).: Analgesia induced by N-acetylserotonin in the central nervous system. *Life Sciences.* 42:1109-1116.
- Reiter, J.R., y Vaughan, K.M. (1977).: Pineal antinociceptive substances: polypeptides and indoles. *Life Sciences.* 21:159-172.
- Reiter, J.R., Steinlechner, S., Richardson, A.B., y King, S.T. (1983).: Differential response of pineal melatonin levels to light at night in laboratory-raised and wild-captured 13-lined ground squirrels (*Spermophilus tridecemlineatus*). *Life Sciences.* 32:2625-2629.
- Reiter, J.R. (1985).: Pineal research reviews. pp.69-201. Vol 3. edit by Alan R. Liss, Inc., Nueva York.
- Reiter, J.R. (1987).: The melatonin message: Duration versus coincidence hypotheses. *Life Sciences.* 40:2119-2131.
- Romijn, J.H. (1978).: The pineal, a tranquillizing organ?. *Life Sciences.* 23:2257-2274.
- Salazar, L.A., Antón-Tay, F., Lopez, J.F., Herrera, H.J., y Villarreal, E.J. (1986).: Potenciación de la analgesia morfinica por la melatonina en dos modelos de dolor. Memorias del X Congreso Nacional de Farmacología.
- Samanin, R., Gumulka, W., y Valzelli, L. (1970).: Reduced Effect of Morphine in midbrain raphe lesioned rats. *Eur. J. Pharmacol.* 10:339-343.
- Samanin, R., Ghezzi, D., Mauron, C., y Valzelli, L. (1973).: Effect of midbrain raphe lesion on the antinociceptive action of morphine an other analgesics in rats. *Psychopharmacologia.* 33:365-368.
- Sewell, E.D.R., y Spencer, J.S.P. (1974).: Modification of the antinociceptive activity of narcotic agonists and antagonists by intraventricular injection of biogenic amines in mice. *Proceedings of the B.P.S.* 140-141.
- Sparkes, G.C., y Spencer, J.S.P. (1969).: Modification of morphine analgesia in the rat by biogenic amines administered intraventricularly. *Br. J. Pharmac.* 35:362-363.
- Sparkes, G.C., y Spencer, J.S.P. (1971).: Antinociceptive activity of morphine after injection of biogenic amines in the cerebral ventricles of the conscious rat. *Br J. Pharmac.* 42:230-241.
- Stanley, J.W., y Barchas, D.J. (1979).: Anatomy of the Endogenous opioid Peptides and Related Substances: The Enkephalins, beta-Endorphin, beta-Lipoprotein, and ACTH.: In *Mechanisms of Pain and Analgesic Compounds* edited by R.F. Beers, Jr., and E.G. Basset. pp. 227-237. Raven Press. New York.

- Sternbach, A.R. (1968).: Pain a psychophysiological analysis. pp.1-45. Academic Press. New York.
- Sternbach, A.R. (1974).: Pain Patient: Traits and treatment. Academic Press. New York.
- Sternbach, A.R., Janowsky, S.D., Huey, Y.L., y Segal, S.D. (1976).: Effects of Altering brain serotonin activity on human chronic pain: In Advances in Pain Research and Therapy. vol. 1. edited by J.J. Bonica and D. Albe-Fessard. pp.601-606. Raven Press. New York.
- Stimmel, B. (1983).: Pain, Analgesia, and Addiction: The Pharmacologic Treatment of Pain. pp.1-303. Raven Press. New York.
- Takemori, E.A., Tulunay, C. F., y Yano, I. (1975).: Differential effects on morphine analgesia and naloxone antagonism by biogenic amine modifiers. Life Sciences. 17:21-28.
- Tetsuo, M., Markey, P.S., y Kopin, J.I. (1980).: Measurement of 6-hydroxymelatonin in human urine and its diurnal variations. Life Sciences. 27:105-109.
- Thiele, G., Holtorf, A., Steinlechner, S., y Reiter J.R. (1983).: The influence of different light irradiances on pineal N-acetyltransferase activity and melatonin levels in the cotton rat, Sigmodon hispidus. Life Sciences. 33:1543-1547.
- Turner, A.R. (1965).: Screening methods in Pharmacology. pp. 100-117. Academic Press. New York and London.
- Uchida, Y., y Murao, S. (1974).: Excitation of afferent cardiac sympathetic nerve fibers during coronary occlusion. Am. J. Physiol. 226:1094-1099.
- Vaughan, M.G. (1984).: Melatonin in humans. Pineal Research Reviews, 2:141-201. New York.
- Vollrath, L., y Welker, A.H. (1988).: Day-to-day variation in pineal serotonin N-acetyltransferase activity in stressed and non-stressed male sprague-dawley rats. Life Sciences. 42:2223-2229.
- Wei, E. (1975).: Resemblance of morphine antinociception to the central depressant actions of norepinephrine. Life Sciences. 17:17-18
- William, W.D. (1982).: Histamina y 5-hidroxitriptamina (serotonina) y sus antagonistas: en Goodman, L.S., Gilman, A.: Las bases Farmacológicas de la Terapéutica. pp. 604-639 Ed. Médica Panamericana. 6ª Ed. Mex, D.F.
- Willis, D.W. (1985).: The Pain: System. The Neural Basis of Nociceptive Transmission in the Mammalian Nervous System. vol. 8:1-74. Ed Karger. New York.
- Winter, A.C. (1965).: The physiology and pharmacology of pain and its relief. en deStevens, G.: Analgetics. pp. 10-174. Academic Press New York and London.

- Wu, W., Reiter, J.R., Troiani, E.M., y Vaughan, M.G., (1987).: Elevated daytime rat pineal and serum melatonin levels induced by isoproterenol are depressed by swimming. *Life Sciences*. 41:1473-1479.
- Yarbrough, G.G., Buxbaum, D.M., y Sanders-Bush, E. (1971).: Increased serotonin turnover in the acutely morphine treated rat. *Life Sciences*. 10:977-983.
- Yarbrough, G.G., Buxbaum, D.M., y Sanders-Bush, E. (1973).: Biogenic amines and narcotic effects. II. Serotonin turnover in the rat after acute and chronic morphine administration. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 185:328-335.