

UNIVERSIDAD DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS
Sección de Biológicas. inéditas



TESIS DOCTORAL

**Acción de la morfina y otros fármacos sobre las
interrelaciones metabólicas de catecolaminas y
corticosteroides**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

José Borrell Andrés

Madrid, 2015

T 577.17

BOR
acc

UNIVERSIDAD DE MADRID

Facultad de Ciencias, Sección Biológicas

BIBLIOTECA UCM



530670526X

Acción de la morfina y otros fármacos
sobre las interrelaciones metabólicas de cateco-
laminas y corticosteroides.

Tesis que para optar al Grado de Doctor en
Ciencias presenta JOSE BORRELL ANDRES.

Madrid, 1973



R.23.597

El presente estudio ha sido realizado en la Sección de Esteroides del Instituto "G. Marañón" del C.S.I.C., bajo la dirección de la Dra. Sara Borrell Ruiz, Profesor de Investigación, a quien deseo expresar mi agradecimiento por su ayuda en la realización de este trabajo.

Así mismo agradezco al Prof. Dr. A. Fraile Ovejero, Catedrático de Fisiología Animal de la Facultad de Ciencias de Madrid por hacerse cargo de esta Tesis.

Quiero dar las gracias a todos mis compañeros de laboratorio que con su colaboración han hecho posible la realización del trabajo.

I N D I C E

INTRODUCCION:	<u>Páginas</u>
Consideraciones generales	2
Planteamiento del trabajo	16
 MATERIALES Y METODOS;	
Animales de experimentación	22
Determinación de corticosteroides en glándula suprarrenal y plasma	25
Determinación de noradrenalina y adrena <u>l</u> lina en glándula suprarrenal	30
Determinación de ácido ascórbico en glándula suprarrenal	34
Determinación de glucosa en plasma . .	37
Determinación de corticosteroides en orina	39
Determinación de noradrenalina y adrena <u>l</u> lina en orina	42
Aparatos	45
Método estadístico	46

RESULTADOS:

Páginas

Administración de morfina en dosis única	49
Administración de pentobarbital	62
Administración de pentobarbital y mor- fina	68
Administración de pentobarbital, morfi- na y ACTH	81
Administración prolongada de morfina .	93
Animales control	113
Figuras correspondientes a variaciones (tanto por ciento frente a controles) producidas por los distintos tratamien- tos	114
Tablas correspondientes a resultados <u>in</u> dividuales	117
DISCUSION	165
CONCLUSIONES	191
BIBLIOGRAFIA	198

INTRODUCCION

Aún cuando el estudio de la embriología, histología y de los productos de secreción de la corteza y médula de la glándula suprarrenal indica que nos encontramos ante dos órganos distintos, el por qué al ascender en la escala filogenética se encuentra una relación anatómica cada vez más intensa entre ambos, hasta llegar a los mamíferos en que la corteza suprarrenal engloba a la médula, ha sido motivo de estudio desde hace tiempo. La corteza suprarrenal deriva del epitelio celómico y sus hormonas, los esteroides, son compuestos liposolubles; en situaciones fisiológicas, los niveles circulantes de glucocorticoides se mantienen entre estrechos límites, gracias a un sistema de retroinhibición ejercido en el hipotálamo e hipófisis por la hormona adrenocorticotropa (ACTH) y los corticosteroides y su biosíntesis y liberación se encuentra aumentada frente a situaciones de stress o alarma del organismo. La médula de la glándula suprarrenal deriva del ectodermo neural y sus hormonas, las catecolaminas, son compuestos hidrosolubles; los niveles circulantes de estas hormonas, aún cuando regulados en distinta forma que los glucocorticoides, aumentan también

en situaciones de stress. La médula suprarrenal es un transductor neuroendocrino que segrega sus hormonas en respuesta a un impulso neural que induce la liberación de acetilcolina en la sinapsis de las neuronas preganglionares con las células cromafines.

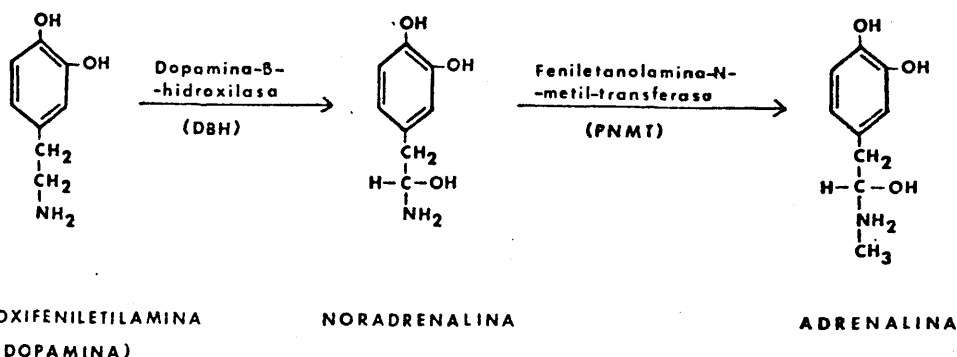
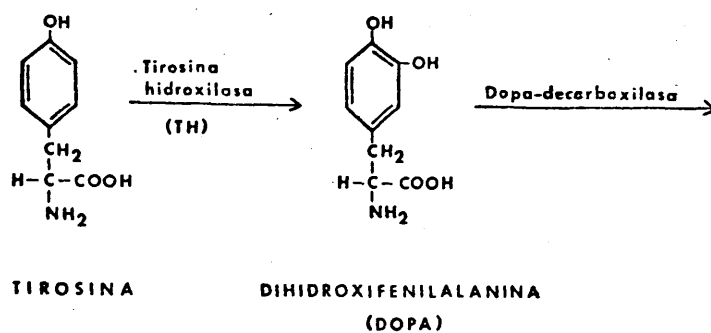
El que en la reacción del organismo animal frente a situaciones de stress se produzca un aumento en la liberación de catecolaminas y corticosteroides por la glándula suprarrenal, unido a que muchos de los efectos de las catecolaminas no pueden ponerse de manifiesto en ausencia de hormonas adrenocorticales (11,12,55,92), ha conducido a la idea de que además de actuar como una unidad fisiológica, existe una interrelación funcional entre ambos grupos de hormonas.

Han pasado más de dos décadas desde que Shepherd y West (103) y Coupland (20) señalaron que la proximidad del tejido cortical y medular y la proporción relativa de ambos pudiera tener cierta relación con la proporción adrenalina/noradrenalina existente en la glándula suprarrenal de distintas especies animales. Posteriormente, Coupland y McDougall (22) observaron que determinados esteroides, al ser adicionados a cultivos de células cromafines de origen extra adrenal aumentaban la concentración de adrenalina. Por otro lado, según Cooper y col. (18), la

dihidroxifenilalanina, noradrenalina y adrenalina estimulan, en determinadas posiciones, la hidroxilación de los esteroides.

Aún cuando la formación de noradrenalina y adrenalina a partir de la tirosina se ha demostrado en la médula adrenal (49,59), en los nervios y ganglios simpáticos (48) y en el animal intacto (118,119), se conoce muy poco acerca de los procesos que controlan la biosíntesis de catecolaminas en las células cromafines de la médula suprarrenal.

Los pasos hasta llegar a la formación de adrenalina son los siguientes:



Paralelo al problema de la biosíntesis de catecolaminas, está el no menos importante de su liberación y almacenamiento en la médula adrenal. Mediante la determinación de catecolaminas en la vena adrenal bajo diferentes situaciones experimentales, se ha llegado a postular la existencia de una secreción preferencial para la noradrenalina o adrenalina (30,39,93,98). En diversos trabajos, se ha podido comprobar que no sólo las cantidades de catecolaminas por unidad de peso de glándula, sino también la proporción relativa adrenalina/noradrenalina difiere sensiblemente en las distintas especies animales (Tabla A), y que una elevada proporción de adrenalina respecto a su precursor la noradrenalina, va normalmente acompañada de una actividad elevada del enzima feniletanolamina-N-metil-transferasa (PNMT) (3). Los roedores tienen un pequeño porcentaje de noradrenalina, mientras que en los animales agresivos la relación adrenalina/noradrenalina está desplazada en el sentido de la noradrenalina; este hecho hizo sugerir a Goodhall (47), que la noradrenalina podía actuar en estos animales como agente específico estimulante necesario para su forma de vida.

Según Kvetnansky y col. (65), la denervación de la glándula suprarrenal no causa descensos en la actividad de la tirosina hidroxilasa (TH), pero impide el aumento de la actividad

Tabla A.- Contenido de catecolaminas y proporción relativa Adrenalina/Noradrenalina en diferentes especies animales.

<u>Especie</u>	<u>CA[¶]</u>	<u>A/NA</u>	
León	0,5	0,8	(47)
Cerdo	2,2	1,0	(131)
Gato	1,0	1,4	(131)
	2,0	1,0	(95)
Oveja	1,6	2,0	(47)
	0,8	2,0	(131)
Vaca	1,8	2,4	(131)
	4,2	2,6	(37)
Perro	1,5	2,7	(131)
Ratón	1,0	3,0	(131)
Mono	0,3	4,3	(35)
Hombre	0,6	4,9	(131)
	0,6	5,2	(36)
Rata	1,2	10,1	(131)
Hamster	0,4	10,5	(131)
Cobaya	0,2	49,0	(38)
Conejo	0,5	49,0	(131)

[¶] catecolaminas (adrenalina + noradrenalina) expresado en mg/g tejido.

En paréntesis cita bibliográfica.

de este enzima que se produce al someter al animal a determinadas situaciones de stress. Así mismo, los niveles del enzima metilante de la noradrenalina están significativamente disminuidos después de la denervación, si bien al someter al animal a una situación repetida de stress se produce un aumento, tanto en la glándula denervada como en la intacta.

Wurtman y Axelrod (133,134), trabajando en ratas hipofisectomizadas observaron descensos en la actividad del enzima PNMT, que sin embargo podía ser restaurada hasta el nivel casi normal por la administración de ACTH o glucocorticoides; esto les llevó a concluir que los esteroides procedentes de la corteza suprarrenal que en una elevada proporción perfunden la médula, deben controlar la actividad de la feniletanolamina-N-metil-transferasa. No obstante, Fuller y Hunt (42) encontraron que en la rata intacta la actividad de la PNMT parece ser máxima y por ello, una estimulación del eje hipófisis-suprarrenal por situaciones de stress no es capaz de aumentar la actividad del enzima. Leach y Lipscomb (67), estudiando este mismo problema indicaron que la elevación de la actividad del enzima metilante de la noradrenalina por los glucocorticoides sólo se produce después de una situación de hipofunción corticosuprarrenal. Más recientemente, Ciaranello (16), estudiando en ratas hipofi-

sectomizadas la cinética del papel mediador de los glucocorticoides sobre el proceso de metilación de la noradrenalina, excluye este mecanismo como crítico en respuesta a situaciones de stress.

Kvetnansky y col. (64) han observado que la inmovilización y por tanto mayor liberación de ACTH debido al stress, produce un descenso del contenido de adrenalina en la glándula sin que varíe la concentración de noradrenalina; por repetición del mismo tipo de stress, la disminución inicial de los niveles de adrenalina se recupera, al mismo tiempo que se produce un aumento en la concentración de noradrenalina; este efecto, unido a que la eliminación diaria de ambas bioaminas aparece significativamente elevada desde un principio pudiera ser indicativo de un proceso de adaptación del animal a la situación repetida de stress.

Weinshilboun y Axelrod (129) han indicado que la hipofisectomía en ratas causa descensos en la actividad del enzima dopamina- β -hidroxilasa (DBH) y otros autores (63) han observado que la denervación de la glándula suprarrenal produce descensos en la actividad de este enzima e incluso que son mas pronunciados si a la esplacnetomía de los animales se une la ablación de la hipófisis (45).

Thoenen y col. (116) han observado que un aumento en la actividad del nervio esplácnico producido por diversas drogas lleva consigo un aumento de los enzimas tirosina hidroxilasa y feniletanolamina-N-metil-transferasa, que no se produce si la glándula suprarrenal ha sido previamente denervada (117). Estos mismos autores han encontrado que en el animal hipofisectomizado, la actividad de la TH decrece en menor proporción que la de la PNMT y no puede ser restaurada por altas dosis de glucocorticoides sintéticos, que en cambio son capaces de restablecer la actividad del enzima metilante de la noradrenalina hasta niveles casi normales (81). Estos hechos les han llevado a concluir que la actividad de la tirosina hidroxilasa está principalmente regulada por la actividad del nervio esplácnico, mientras que los niveles normales de PNMT deben ser mantenidos por los glucocorticoides procedentes de la corteza suprarrenal, si bien un aumento sobre el nivel normal de este enzima sólo es posible conseguirlo por un aumento en la actividad del nervio esplácnico.

Rivas y Borrell (95), estudiando los niveles tisulares de corticosteroides y catecolaminas en el gato, han sugerido que el descenso de adrenalina observado por el tratamiento prolongado con ACTH, podía ser atribuido a un previo descenso

en el contenido adrenal de noradrenalina y por tanto, que aún cuando los niveles de glucocorticoides puedan influir en la actividad de la PNMT, no debe ser este el factor único primordial implicado en la formación de adrenalina en dicha especie.

Se ha demostrado que bloqueando la esteroidogénesis con aminoglutetimida, es decir, practicando una corticosuprarenalectomía química, en el perro y en la rata se produce una elevación en la actividad del enzima metilante de la noradrenalina, observándose además aumentos en el contenido adrenal de catecolaminas, hecho que también parece restar importancia al papel que los glucocorticoides puedan tener en el proceso de activación de la PNMT (29).

Otros investigadores (61) han estudiado la actividad del enzima metilante de la noradrenalina en ratas a las que se administró insulina y/o glucagón, no encontrando relación entre el aumento observado en la actividad del enzima y los niveles de glucocorticoides o glucosa. Lloréns y col. (71), estudiando la acción de estas mismas hormonas sobre los niveles de corticosteroides y catecolaminas en la glándula suprarrenal del gato intacto, observaron marcados descensos no solo de adrenalina, sino también de noradrenalina independientemente de que el nivel de corticosteroides de la glándula suprarrenal y de glucosa

en plasma estuviese o no significativamente elevado.

Estos y otros trabajos, en su mayoría realizados empleando la rata como animal de experimentación, han conducido a la idea de que en la actividad de los enzimas que regulan la biosíntesis adrenal de catecolaminas parecen influir en mayor o menor proporción, según el escalón de la biosíntesis, factores neurales -integridad de la inervación de la médula suprarrenal- y humorales -ACTH y/o glucocorticoides de la corteza suprarrenal- y que el equilibrio entre unos y otros debe ser responsable de la biosíntesis normal de catecolaminas en esta glándula.

Elliot en 1912 (34) observó que en el gato, la morfina producía descensos en el contenido adrenal de catecolaminas en la glándula intacta, pero que estas variaciones no se producían si la glándula había sido previamente denervada, postulando que la administración de morfina debía causar una estimulación del sistema nervioso simpático.

Más recientemente, Vedernikov (122) ha visto que fármacos como la cocaína, que inhibe el proceso de recaptación de la noradrenalina, o el pirogalol, que disminuye la actividad del enzima catecol-O-metil-transferasa, potencian el efecto

analgésico de la morfina en la rata y que el disulfiram, fármaco inhibidor de la dopamina- β -hidroxilasa, paralelamente a un descenso en la formación de noradrenalina, inhibe el efecto analgésico de la morfina; ante estos resultados, sugieren que drogas capaces de aumentar la concentración de noradrenalina en los receptores, potencian la acción analgésica de la morfina, mientras que aquellas que disminuyen los niveles de dicha bioamina poseen un efecto contrario.

Desde que Vogt (125) observó que la administración aguda de morfina causaba una disminución en la concentración de noradrenalina en cerebro, se vienen estudiando las variaciones tisulares de catecolaminas bajo muy distintas condiciones experimentales para intentar aclarar los fenómenos de dependencia y tolerancia que acompañan a la administración de morfina, sin que hoy, 20 años más tarde sepamos todavía el por qué de estos procesos.

Gunne (51), estudiando las variaciones de noradrenalina y adrenalina en la glándula suprarrenal de la rata intacta, observó que la administración aguda de morfina producía una reducción en el contenido adrenal de adrenalina, al que acompañaba un descenso de noradrenalina si era aumentada la dosis. Al encontrar este autor niveles normales de catecolaminas en la su

prarrenal al final del tratamiento prolongado con la droga, sugirió que la administración continuada de morfina debía producir un aumento en la síntesis de catecolaminas.

Estudiando los niveles de noradrenalina en cerebro durante la administración crónica con morfina y en condiciones de abstinencia a la droga, Maynert y Klingman (76) observaron que en el perro y en el conejo, la adicción producía un aumento en el contenido de noradrenalina y que la situación de abstinencia causaba descensos de esta bioamina; estos resultados les llevaron a postular que la elevación en los niveles de noradrenalina en cerebro producidos por la adicción a la morfina, pudieran tener un papel antagonista con el efecto de tolerancia a la misma.

Akera (1), compara los efectos de la morfina y el levorfanol (droga que también produce síntomas de adicción) y observa una respuesta parecida a la obtenida por Maynert (76) sobre los niveles de noradrenalina en cerebro para el tratamiento prolongado con morfina; al no encontrar cambios por la administración de levorfanol, indica que, al menos en la rata, no debe existir relación entre la adicción a las drogas y los niveles de catecolaminas en cerebro.

Que existe una cierta relación entre el efecto de la morfina y el eje hipófisis-suprarrenal, fue indicado ya por

Lewis (69) al observar que la adrenalectomía en ratas las hacía mucho más sensibles a la droga. Sin embargo, para otros autores (127) la integridad de las glándulas suprarrenales no parece ser esencial en el desarrollo de tolerancia a la morfina.

Briggs y Munson en 1955 (10,82) indicaron que en la rata intacta, la administración en dosis única de morfina causaba una depleción de ácido ascórbico en la glándula suprarrenal, como consecuencia de un aumento en la liberación de ACTH. Nakao y col. (83) encontraron aumentos de corticosterona en la glándula suprarrenal de la rata intacta, si bien este efecto no se producía en el animal hipofisectomizado, concluyendo que la administración aguda de morfina causaba una estimulación en la producción de corticosteroides a través de un aumento en la liberación de ACTH.

Aunque algunos autores (11,85) han observado que la morfina no interfiere directamente con la respuesta de la corteza suprarrenal a la estimulación con adrenocorticotropina, por trabajos realizados "in vitro" Paroli y Melchiori (88) men
cionan que la droga disminuye la producción de esteroides al incubar tejido suprarrenal y testicular con diferentes cantida
des de morfina, hecho que atribuyen a un posible efecto inhibi
dor de la droga sobre el enzima 3-beta-ol-dehidrogenasa. Otros

autores, estudiando en el hombre los efectos del tratamiento crónico con morfina, encontraron descensos en la eliminación diaria de 17-cetosteroides (33,87), e incluso descensos del nivel de corticosteroides en plasma (32,127), aún cuando la glándula suprarrenal tenía una respuesta normal al ACTH exógeno.

Al interpretar los resultados que aparecen en la bibliografía acerca de los cambios bioquímicos y de comportamiento que siguen a la administración de morfina, es necesario tener muy en cuenta las condiciones experimentales y ciertos aspectos de farmacología comparada; así, mientras que en algunas especies animales, el efecto de la droga es principalmente analgésico, produciendo en mayor o menor grado sedación, en otras, el efecto de la morfina es principalmente excitante.

X925079085

PLANTEAMIENTO DEL TRABAJO

Aún cuando el sistema nervioso y el endocrino poseen una manera distinta de operar, hace tiempo se ha reconocido que debe existir una cierta relación entre ambos, de forma que frente a un estímulo que distorsione el equilibrio homeostático, el organismo responde con una reacción neuroendocrina. Desde los estudios de Cannon (15) en que abogó por el papel que el sistema nervioso simpático podía tener en los mecanismos de defensa del organismo y los de Selye (101) en que asoció la adaptación a situaciones de stress con una activación del eje hipófisis-suprarrenal, se viene investigando el papel que las catecolaminas adrenomedulares y del cerebro y las hormonas adrenocorticales puedan tener en los procesos de defensa y adaptación del organismo animal. Más recientemente, debido a la relación anatómica existente entre la corteza y médula suprarrenal en los mamíferos, unido a la relación fisiológica observada entre las hormonas de ambos órganos en las respuestas a situaciones de stress del organismo animal, también se viene estudiando si existe una cierta interrelación en su biosíntesis (18,20,67,72,90,123,134).

Se sabe que la morfina causa alteraciones en el sistema nervioso y endocrino y si bien son numerosos los trabajos

en que se ha estudiado el papel de las catecolaminas del cerebro en la acción de la morfina, son escasos aquellos en que se ha investigado la influencia que las hormonas de la médula o corteza suprarrenal puedan tener respecto a la acción de esta droga; que nosotros sepamos, no se ha publicado ningún trabajo en que de manera conjunta se haya estudiado el efecto de la morfina sobre el metabolismo de corticosteroides y catecolaminas. Por ello consideramos interesante utilizar esta droga, para en el gato estudiar paralelamente las variaciones de hormonas de la corteza y médula suprarrenal, su posible interrelación y el papel que pudieran tener en los efectos que acompañan a la administración de morfina.

La razón de utilizar el gato como animal de experimentación se debe por un lado a que en esta especie animal, la biosíntesis de corticosteroides está esencialmente dirigida hacia la formación de 17-hidroxycorticosteroides (hidrocortisona) (27,113,115) y no de 17-desoxicorticosteroides (corticosterona) como sucede en la rata y otros roedores (13,27,53). Por otro lado debido quizás a que los roedores y otras especies animales de uso más común en el laboratorio contienen en la glándula suprarrenal un pequeño porcentaje de noradrenalina, son pocos los trabajos en que se estudie la variación adrenal de esta bioamina.

En trabajos realizados con animales en que la acción de la morfina es sedante, se dice que la administración aguda de la droga es un estímulo para la secreción de hormona adrenocorticotropa (10,82,83,85); en el presente trabajo estudiáramos en una especie en que el efecto de la morfina es excitante, si la administración en dosis única tenía una acción semejante sobre la secreción de ACTH. Toda vez que para algunos autores las hormonas de la corteza suprarrenal ejercen una acción positiva en el proceso de metilación de la noradrenalina (67,72,123,134), mientras que para otros no parece ser éste el factor único primordial implicado en la formación de la adrenalina en el animal intacto (16,29,42,61,71,95), estas experiencias nos permitirían estudiar además si variaciones en el contenido adrenal de corticosteroides pueden influir sobre los niveles suprarrenales de noradrenalina y adrenalina.

Son bastantes los trabajos en que para estudiar los efectos de una cierta situación experimental que produzca en el animal intacto variaciones en el sistema nervioso o endocrino, se anestesia previamente a los animales; esto, unido a que según algunos estudios el pentobarbital puede modificar el nivel en plasma de corticosteroides (62,94), nos ha llevado a investigar el efecto que el anestésico sólo y el previo tratamiento con el mismo a la morfina pudiera tener sobre los

parámetros de nuestro estudio. Como una vez realizadas estas experiencias, encontramos era posible causar un descenso adrenal de corticosteroides por el tratamiento con pentobarbital y morfina, nos planteamos estudiar el efecto que la administración de ACTH en esta situación pudiera tener sobre el contenido de catecolaminas; estas experiencias nos permitirían conocer al mismo tiempo, si la acción del pentobarbital se realiza o no a nivel corticosuprarrenal.

Al ser escasos los datos en la bibliografía acerca de los efectos que la administración prolongada de morfina pueda tener en el gato, nos propusimos realizar otras experiencias en que estudiaríamos no sólo las variaciones tisulares de noradrenalina, adrenalina y corticosteroides, sino además la eliminación en orina de catecolaminas y de 17 α ,21-dihidroxi-20-cetosteroides por el tratamiento con la droga durante una y dos semanas. Mediante estas experiencias pretendíamos conocer también si las hormonas de la corteza y/o médula suprarrenal pueden estar relacionadas con los fenómenos de tolerancia y dependencia a la morfina.

En nuestro estudio, determinaríamos al mismo tiempo, los niveles de glucosa y corticosteroides en plasma y las variaciones de ácido ascórbico suprarrenal, toda vez que este

compuesto utilizado en algunos trabajos como reflejo de la secreción de hormona adrenocorticotropa, tiene un discutido papel en la biosíntesis de corticosteroides.

M A T E R I A L E S Y M E T O D O S

ANIMALES DE EXPERIMENTACION

Se han utilizado gatos adultos de ambos sexos con un peso comprendido entre 2,5 y 3,0 Kg. Se dejó transcurrir un pe ríodo no inferior a tres semanas desde que los animales eran traídos al laboratorio y el comienzo de cualquier experiencia, siendo sometidos hasta el momento de ser sacrificados a dieta y temperatura constante.

Los animales destinados a tratamiento prolongado, en los cuales proyectamos estudiar en orina los niveles de corticosteroides y catecolaminas, fueron operados según técnica de Arteta y Borrell (2) para situar la vejiga entre la piel y la capa muscular del abdomen, con el fin de poder recoger la orina total de 24 horas. Estos animales nunca fueron utilizados hasta haber transcurrido al menos 20 días de la intervención quirúrgica.

Todos los animales fueron sacrificados por un golpe se co en la cabeza y sangrados inmediatamente por sección de la yugular. Sin pérdida de tiempo las glándulas suprarrenales son extirpadas del animal y seguidamente, habiendo eliminado previamente cualquier resto de grasa que pudieran tener adherido son pesadas; se toman a continuación partes alícuotas de las mismas

para las distintas determinaciones a realizar en nuestro estudio. La sangre, recogida sobre heparina, es centrifugada durante 20 minutos a 3.000 r.p.m. y separado el plasma.

Todo el material biológico a utilizar en nuestro estudio, es mantenido en hielo durante su manipulación o conservado en nevera, no transcurriendo más de 48 horas desde el momento de sacrificar los animales y el de dar comienzo a las determinaciones de cada experiencia.

Homogeneizado de los tejidos:

El homogeneizado de las glándulas suprarrenales se realiza en agua bidestilada al 4% y al 1% (peso tejido/volumen de agua) para la determinación de corticosteroides y ácido ascórbico respectivamente y con ácido clorhídrico 0,01N al 3% (gramos/mililitro) para la determinación de noradrenalina y adrenalina. En los tres casos se emplea un homogeneizador totalmente de vidrio.

Administración de compuestos:

Para obviar variaciones que pudieran ser atribuidas al ritmo circadiano de las hormonas que nos proponemos estudiar, la administración de los diferentes compuestos se realizó siempre entre las 8,30 y 9,30 de la mañana, utilizando las dosis que a continuación se indican:

- Morfina clorhidrato (UQUIFA, S.A.E., Barcelona): 10 mg/Kg.
- Pentobarbital sódico (C.I.D., Madrid): 30 mg/Kg.
- Adrenocorticotropina (Schering A.G., Berlín): 10 UI/gato.
- A los animales controles se inyectó 0,5 ml de solución salina al 0,9%.

Todos los compuestos fueron inyectados por vía intraperitoneal.

DETERMINACION DE CORTICOSTEROIDES EN GLANDULA
SUPRARRENAL Y PLASMA.

Hemos utilizado el método de Matsumura y col. (74) para la determinación de corticosteroides (hidrocortisona) en la glándula suprarrenal y plasma.

El plasma o tejido homogeneizado es extraído con dicloruro de metileno y parcialmente purificado con hidróxido sódico para eliminar las sustancias ácidas. Una vez desecado, el extracto se hace reaccionar con reactivo T de Girard para separar los esteroides cetónicos de los no cetónicos. Toda vez que los compuestos formados se descomponen fácilmente a la temperatura ambiente si el pH es inferior a 6, inmediatamente de terminada la reacción se enfrían en hielo y se adiciona carbonato sódico que neutraliza el ácido acético del reactivo T de Girard. Con el fin de extraer los compuestos que no han reaccionado, correspondientes a los esteroides no cetónicos, se hace una extracción con éter etílico, desechándose la fase etérea. La hidrolización de las hidrazonas formadas se efectúa acidificando con ácido clorhídrico a temperatura ambiente. Se hace una nueva extracción con éter de petróleo; la fase acuosa es extraída de nuevo con dicloruro de metileno. Una parte alícuota del extrac-

to obtenido se hace reaccionar con mezcla ácido sulfúrico/etanol, con el fin de obtener el correspondiente compuesto fluorescente cuya intensidad se determina exactamente a los 15 minutos de haber adicionado el reactivo, tiempo en que el desarrollo de la fluorescencia para la hidrocortisona es máximo.

Técnica seguida:

- 7 ml de plasma ó 1 ml del homogenado son llevados en un Erlenmeyer hasta un volumen final de 7,5 ml con agua bidestilada y extraídos con 15 ml de dicloruro de metileno durante 15 minutos por agitación circular lenta en un extractor rotatorio.
- Pasar a tubos de centrifuga y centrifugar 15 minutos a 2.000 r.p.m.. Separar la fase acuosa.
- Lavar con 2 ml de NaOH 0,1N agitando durante 20 segundos. Centrifugar 15 minutos a 2.000 r.p.m. y eliminar la fase alcalina.
- Lavar con 2 ml de agua bidestilada, agitando durante 20 segundos. Centrifugar 15 minutos a 2.000 r.p.m. y eliminar la fase acuosa.
- Desecar con 1 g de SO_4Na_2 anhidro.
- Evaporar a sequedad una parte alícuota de 10 ml en atmósfera de nitrógeno y a 37°C.

- Añadir al residuo 5 ml de reactivo T de Girard dejándolo resbalar por las paredes, e incubar en baño de agua a 37°C, durante 30 minutos.
- Enfriar rápidamente introduciendo los tubos en hielo; una vez fríos, adicionar 3 ml de CO_3Na_2 0,4M.
- Extraer por agitación intensa durante 1 minuto con 3 ml de éter etílico. Centrifugar y desechar la capa etérea.
- Añadir 0,5 ml de ClH 6N; mezclar suavemente y dejar 30 minutos a temperatura ambiente.
- Extraer por agitación durante 1 minuto con 3 ml de éter de petróleo. Centrifugar y eliminar la fase orgánica.
- Extraer una parte alícuota de 3,5 ml, con 15 ml de dicloruro de metileno agitando intensamente 2 minutos. Centrifugar 15 minutos a 2.000 r.p.m. y eliminar la fase acuosa.
- Desecar con 1 g de SO_4Na_2 anhidro.
- Separar una alícuota del extracto correspondiente a 10 ml; añadir 2 ml de reactivo sulfúrico/etanol (recientemente preparado) y agitar durante 20 segundos. Eliminar la capa correspondiente al dicloruro de metileno.
- Determinar la intensidad de la fluorescencia a los 15 minu-

tos de haber adicionado el reactivo sulfúrico/etanol, a una activación de 470 m μ y emisión de 525 m μ .

A lo largo de todo el método se lleva un blanco, un patrón de 0,5 μ g de hidrocortisona así como internal standard, por adición de 0,5 μ g de patrón a muestras de plasma y tejido suprarrenal. A partir de la última extracción, llevamos un nuevo blanco y patrón de 0,5 μ g de hidrocortisona. En función de las lecturas obtenidas para la fluorescencia de los blancos, patrones, muestras problemas e internal standard, se calcula el tanto por ciento de recuperación y la concentración de hidrocortisona para cada muestra.

Reactivos:

- Dicloruro de metileno (D[°]Hemio); redestilado.
- Hidróxido sódico (Merck); solución 0,1 N.
- Sulfato sódico anhidro (British Drug House).
- Reactivo de Girard T (cloruro de trimetilaminoacético hidrazida; 100 mg se disuelven en 0,5 ml de ácido acético glacial y se completan con etanol redestilado hasta un volumen final de 5 ml).
- Eter etílico (Abelló, para anestesia); recientemente redestilado sobre sulfato ferroso.
- Carbonato sódico (Merck); solución 0,4 M.
- Acido clorhídrico (May & Baker); solución 6 N.

- Eter de petróleo (British Drug House); redestilado y recogiendo solamente la fracción que destila de 30°C a 40°C.
- Acido sulfúrico (Merck); $d = 1,84$.
- Alcohol etílico (Compañía de Alcoholes); previamente purificado (hervir a reflujo con KOH durante 8 horas y destilar; adicionar a este alcohol una mezcla de NO_3Ag y KOH, agitar varias veces y redestilar de nuevo pasadas 24 horas).
- Solución ácido sulfúrico/etanol al 75% (v/v).
- Solución patrón de hidrocortisona (pregnen-4-eno 11β -17 α , 21-trihidroxi-3,20-diona) (Merck & Co. Ltd., U.S.A.). La solución "stock" en etanol (5 mg/5 ml), preparando a partir de ella una solución diluida de concentración 1 μg /1 ml con agua bidestilada.
- Agua bidestilada en aparato totalmente de vidrio.

DETERMINACION DE NORADRENALINA Y ADRENALINA EN
LA GLANDULA SUPRARRENAL.

Para la determinación de noradrenalina y adrenalina en la glándula suprarrenal, hemos utilizado el método de Shore y Olin (104), modificado por Callingham y Cass (14).

El homogeneizado de tejido suprarrenal es extraído con butanol saturado de cloruro sódico, pasando así las catecolaminas a la fase orgánica; una parte alícuota de ésta es extraída con n-heptano y ácido clorhídrico, de forma que las catecolaminas pasan de nuevo a la fase ácida que es separada y utilizada para la reacción fluorimétrica de ambas bioaminas.

Para la formación de los correspondientes compuestos fluorescentes se utiliza la reacción del trihidroxiindol a pH 3 y pH 5 ya que la adrenalina se oxida a ambos pH y la noradrenalina sólo a pH 5, pudiendo así determinar diferencialmente ambas bioaminas. En partes alícuotas del extracto tamponadas a los correspondientes pH se forman los cromocompuestos mediante la adición de solución de iodo; el exceso de reactivo iodado es neutralizado con tiosulfato sódico; por adición de solución alcalina de ascorbato, los cromocompuestos son

transformados en las correspondientes trihidroxiindol lutéinas que se determinan a continuación. Bajo luz ultravioleta se activa la fluorescencia y se determina la intensidad.

Técnica seguida:

- 0,1 ml de homogeneizado es llevado hasta un volumen final de 1,5 ml con ClH 0,01N y extraído por agitación intensa durante 1 hora con 15 ml de butanol saturado y 2,5 g de ClNa en agitador mecánico. Después de centrifugar durante 10 minutos a 2.000 r.p.m., 10 ml del sobrenadante son extraídos con 20 ml de heptano y 3,5 ml de ClH 0,01 N por agitación intensa durante 5 minutos. Centrifugar 5 minutos a 2.000 r.p.m. y desechar la fase orgánica.
- A dos series de tubos que contienen 0,25 ml de buffer pH 3 y pH 5 respectivamente, se añade 0,75 ml del extracto ácido.
- Adicionar 0,025 ml de solución alcohólica de iodo y dejar reaccionar durante 5 minutos.
- El exceso de iodo es neutralizado con 0,05 ml de $S_2O_3Na_2$ y a continuación se adiciona 0,25 ml de solución alcalina de ascorbato recientemente preparada.
- Paralelamente y por cada muestra oxidada, se hace el correspondiente blanco de la reacción impidiendo la formación del

cromocompuesto correspondiente al adicionar una mezcla de iodosulfato sódico en la misma proporción que en las muestras problema.

- Una vez terminada la reacción, se activa la fluorescencia poniendo los tubos bajo luz ultravioleta durante 10 minutos.
- La intensidad de la fluorescencia se determina a una activación de 410 m μ y emisión de 520 m μ para la adrenalina y a 400 m μ de activación y 510 m μ de emisión para la noradrenalina.

A lo largo del método son llevados los correspondientes patrones de noradrenalina y adrenalina de 1 μ g así como internal standard de la misma concentración, lo cual permite conocer la recuperación del método y calcular la concentración de noradrenalina y adrenalina en las muestras.

Reactivos:

- Acido clorhídrico (May & Baker); solución 0,01 N.
- n-Butanol (May & Baker) saturado de ClNa (Merck) y ClH 0,01 N (1 litro de n-butanol se agita con 175 ml de ClH 0,01 N hasta que el ácido se haya disuelto; añadir luego 125 g de ClNa y volver a agitar).
- Heptano (May & Baker); redestilado.
- Buffer acetato de pH 3.
- Buffer acetato de pH 5.

- Solución de iodo (May & Baker) 0,1 N en alcohol etílico del 95%.
- Solución de tiosulfato sódico (Merck) 0,1 M.
- Acido ascórbico, solución alcalina (British Drug House); 10 mg de ácido ascórbico/1 ml de H₂O bidestilada/2 ml de NaOH 5 N.
- Soluciones patrones: L-noradrenalina y adrenalina (British Drug House) en la concentración de 1 mg/1 ml en ClH 0,01 N (conservar en nevera).
- Agua bidestilada.

DETERMINACION DE ACIDO ASCORBICO SUPRARRENAL

Hemos seguido el método de Roe y Kuether (97), según modificación de Borrell y Estévez (9).

Después de precipitar las proteínas del homogeneizado con ácido tricloroacético, se añade carbón activo con el fin de transformar el ácido L-ascórbico a dehidroascórbico, el cual, por reacción con 2,4-dinitrofenilhidrazina en presencia de tiourea forma la correspondiente osazona. Una vez verificada esta reacción se adiciona ácido sulfúrico, para disolver el precipitado determinándose a continuación la absorbancia.

Técnica seguida:

- Añadir lentamente 6 ml de ácido tricloroacético a 2 ml de homogeneizado; dejar reposar 5 minutos. Centrifugar 15 minutos a 2.000 r.p.m..
- Separar el sobrenadante y adicionar 0,75 g de carbón activo; agitar durante 1 minuto.
- Filtrar y separar alícuotas de 2 ml del filtrado para muestra problema y blanco.

- Adicionar a las muestras problema 0,5 ml de solución de 2,4-dinitrofenilhidrazina e incubar 24 horas a 37°C. Conservar los blancos en nevera.
- Transcurrido el tiempo de incubación introducir los tubos en hielo y una vez fríos, añadir 2,5 ml de ácido sulfúrico al 85%, agitando continuamente con una varilla hasta que el precipitado se haya disuelto. A los blancos, añadir 0,5 ml de 2,4-dinitrofenilhidrazina después de haber adicionado el ácido sulfúrico.
- Sacar del hielo y dejar 30 minutos a temperatura ambiente. De terminar después la absorbancia a 520 m μ .
- Paralelamente se lleva un patrón de 20 μ g de ácido ascórbico tratado de la misma forma que las muestras problema.

Reactivos:

- Acido tricloroacético (Riedel); soluciones al 4% y 6%.
- Acido sulfúrico (Merck); solución al 85%.
- 2,4-dinitrofenilhidrazina (British Drug House); solución al 2% en ácido sulfúrico al 25% (v/v) a la que se añade tiourea (L. Light) para tener una concentración final del 4%.
- Carbón activo (Riedel); lavado con ácido clorhídrico al 10% según Roe y Kuether.
- Solución patrón de ácido ascórbico (British Drug House) la solución "stock" en ácido tricloroacético al 4% en concen-

tración de 1 mg/l ml; a partir de ella se prepara una solución diluída de concentración 20 μ g/l ml también en ácido tricloroacético al 4%.

DETERMINACION DE GLUCOSA EN PLASMA

Utilizamos el método descrito por Werner y col. (130).

El plasma es desproteínizado con ácido perclórico. La glucosa, por acción de la glucosa oxidasa pasa a glucosa- δ -lactona, compuesto poco estable que se descompone en ácido glucónico; en la reacción se libera peróxido de hidrógeno, que en presencia de peroxidasa oxida un cromógeno, la sal de amonio del ácido 2,2-azino-di-(3-etil-benzotiazolina-(6)-sulfónico) (ABTS), dando un compuesto coloreado cuya absorbancia se determina.

Técnica seguida:

- A 0,1 ml de plasma se adiciona 1 ml de solución 0,33 N de ácido perclórico. Centrifugar 10 minutos a 2.000 r.p.m..
- Tomar 0,2 ml del sobrenadante y añadir 5 ml del reactivo. Dejar transcurrir 60 minutos a temperatura ambiente.
- Determinar la absorbancia del compuesto formado a 560 m μ .
- Paralelamente se lleva un blanco con agua bidestilada y un patrón de glucosa de 18,2 μ g.

Reactivos:

- Acido perclórico (British Drug House); d = 1,70, solución 0,33N.

- Solución patrón de glucosa (Boehringer Mannheim GMBH) con una concentración de 9,1 mg de glucosa/100 ml.
- Reactivo de color (Boehringer Mannheim GMBH) que consta de buffer fosfato pH 7,0; 20 $\mu\text{g/ml}$ de peroxidasa, 180 $\mu\text{g/ml}$ de glucosa oxidasa y 1 mg/ml de ABTS.
- Agua bidestilada.

DETERMINACION DE CORTICOSTEROIDES EN ORINA

Hemos seguido la modificación al método de Silber y Porter (105) descrita por Borrell (8).

Una parte alícuota de la orina total de 24 horas se extrae por agitación con cloroformo, siendo recuperada la fase orgánica y posteriormente lavada con hidróxido sódico y agua. El extracto obtenido es evaporado a sequedad, se redissuelve en cloroformo y se lava nuevamente con agua. Los 17 α ,21-dihidroxi-20-cetosteroides se determinan con fenilhidrazina en solución sulfúrica, incubando a temperatura y tiempo adecuados las muestras.

Técnica seguida:

- 25 ml de orina se ajustan a pH 6,5 y se añade 10 ml de buffer fosfato 0,1 M de este mismo pH.
- Extraer en embudo de separación con 100 ml de CHCl_3 por agitación intensa durante 45 segundos. Pasar a tubos de centrifuga y centrifugar 5 minutos a 2.000 r.p.m.; desechar la fase acuosa.

- Lavar la fase orgánica con 2 ml de NaOH 0,1 N. Centrifugar 5 minutos a 2.000 r.p.m. y eliminar la fase acuosa.
- Lavar con 2 ml de H₂O bidestilada. Centrifugar 5 minutos a 2.000 r.p.m.; eliminar la fase acuosa.
- El extracto es evaporado a presión reducida y 45°C en un evaporador rotatorio.
- Redisolver el extracto seco en 25 ml de CHCl₃.
- Lavar con 2 ml de agua bidestilada. Centrifugar 5 minutos a 2.000 r.p.m. y desechar la fase acuosa.
- Tomar una alícuota de 10 ml del extracto y añadir 1 ml de reactivo fenilhidrazina-ácido sulfúrico-etanol. Agitar intensamente 20 segundos.
- Alícuotas de 10 ml del mismo extracto son utilizadas como blancos añadiéndoles 1 ml de mezcla sulfúrico-etanol.
- Incubar las muestras durante 30 minutos a 60°C.
- Leer la absorbancia del compuesto formado a 410 mμ.

Paralelamente se determina la absorbancia de patrones de 5 y 10 μg de cortisona.

Reactivos:

- Cloroformo (Panreac), lavado con solución de clorhidrato de hidroxilamina y redestilado.

- Buffer fosfato a pH 6,5.
- Hidróxido sódico (Merck); solución 0,1 N.
- Alcohol etílico redestilado sobre 2,4-dinitrofenilhidrazina.
- Acido sulfúrico (Merck); $d = 1,84$.
- Acido sulfúrico/etanol en la proporción 2:1 (v/v).
- Clorhidrato de fenilhidrazina (May & Baker); recristalizado.
- Reactivo de fenilhidrazina: disolver 1 mg de fenilhidrazina en 1 ml de ácido sulfurico-etanol.
- Cortisona (Pregnen-4-eno 17 α ,21 dihidroxi 3,11,20 triona) (Merck & Co. Ltd., U.S.A.) en la concentración de 2 μ g/1 ml de agua.

DETERMINACION DE NORADRENALINA Y ADRENALINA EN
ORINA.

La orina total de 24 horas se recoge sobre 5 ml de ClH 2 N; previamente habíamos comprobado que este volumen era adecuado para que el pH de la orina estuviese comprendido entre 2 y 3.

Para nuestro estudio hemos utilizado el método descrito por Crout (24).

Una parte alícuota de la orina correspondiente a 24 horas se agita con alúmina, manteniéndose el pH necesario para que las catecolaminas se fijen a la alúmina. Posteriormente, la alúmina se pone en una columna de cromatografía, se la va con agua y las catecolaminas son eluidas con ácido acético. Sobre el extracto ácido obtenido, se realiza la valoración cuantitativa.

Técnica seguida:

- El volumen total de las 24 horas de orina se divide en tres fracciones iguales; la primera es utilizada como muestra problema y a la segunda y tercera respectivamente, se adiciona 1 μ g

de noradrenalina y 1 μ g de adrenalina con el fin de conocer la recuperación a través del método.

- Cada una de las fracciones de orina se completan hasta 200 ml con agua bidestilada y 10 ml de EDTA.
- Agitar con 3 g de alúmina en agitador magnético durante 7 minutos manteniendo el pH a 8,4 por adición de NaOH.
- Dejar depositar la alúmina durante 5 minutos y decantar el sobrenadante.
- Pasar la alúmina a una columna de cromatografía (1,2 cm de diámetro y placa de vidrio poroso número 1).
- Lavar con 40 ml de agua bidestilada.
- Lavar con 4 ml de ácido acético 0,2 M.
- Eluir las catecolaminas con 9,5 ml de ácido acético 0,2 M.
- Añadir al eluido 0,5 ml de EDTA y en él realizar la valoración cuantitativa (según se describe en el apartado de glándulas suprarrenales).

Reactivos:

- Acido clorhídrico (Merck); solución 2 N.
- EDTA (British Drug House); (sal disódica del ácido etilendiaminotetra-acético); solución 0,2 M.

- Oxido de aluminio (British Drug House) para cromatografía.
- Hidróxido sódico (Merck); soluciones 0,5 N y 5 N.
- Acido acético (Merck); solución 0,2 N.
- Para la formación y valoración de los adrenocromos se emplean los reactivos ya mencionados en el apartado de glándulas suprarrenales.
- Agua bidestilada.

A P A R A T O S

La fluorescencia fue medida en un espectrofotofluorímetro Aminco-Bowman.

Para determinar la absorbancia empleamos un espectrofotómetro Unicam SP 600.

En las extracciones fueron utilizados un extractor rotatorio Gyrotor Shaker (New Brunswick, Scientific Company, N.J.) y un agitador mecánico Griffin (Griffin & George Ltd, G.B.) según necesidades de las distintas técnicas.

METODO ESTADISTICO

Para el análisis estadístico de los resultados de cada grupo de experiencias, hemos estimado la media aritmética y el error standard de la siguiente forma:

Sean x_i los valores individuales obtenidos para cada parámetro de nuestro estudio en un grupo de experiencias de n animales:

$$\text{Media aritmética: } \bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

$$\text{Error standard de la media: } \text{E.S.} = \sqrt{\frac{\sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n}}{n(n-1)}}$$

Con el fin de conocer si la media aritmética de un grupo de experiencias difiere significativamente de la hallada en otro relacionable, hemos utilizado el parámetro "t" de Student (108). Sean \bar{x}_a y \bar{x}_b las medias aritméticas encontradas para un cierto parámetro de nuestro estudio en dos grupos de experiencias a y b, de n_a y n_b número de animales respectivamente, y x_a y x_b los valores individuales de cada grupo:

$$t = (\bar{x}_a - \bar{x}_b) \sqrt{\frac{\frac{n_a n_b (n_a + n_b - 2)}{n_a + n_b}}{\left(\sum x_a^2 - \frac{(\sum x_a)^2}{n_a} \right) + \left(\sum x_b^2 - \frac{(\sum x_b)^2}{n_b} \right)}}$$

Una vez obtenido el valor de "t", en las tablas correspondientes, se determina el grado de significancia para $N = (n_a + n_b - 2)$ grados de confianza, que viene dado por el valor P.

En nuestro estudio, estimamos que la diferencia entre dos medias aritméticas es significativa cuando encontramos para P un valor menor a 0,05 y como tal es reflejado en las correspondientes tablas y figuras.

Otro parámetro que creemos es indicativo, es el tanto por ciento de variación que la media aritmética de un parámetro de un grupo de experiencias pueda representar respecto a otro relacionable, y por ello también se da en las tablas y en las figuras correspondientes a tantos por ciento de variación.

RESULTADOS

ADMINISTRACION DE MORFINA EN DOSIS UNICA

En primer lugar estudiamos cual era la dosis mínima de morfina que deberíamos utilizar para obtener una respuesta reproducible en el trabajo que nos planteamos; para ello realizamos una serie de experiencias preliminares determinando unos parámetros que reflejan respectivamente el grado de activación de la corteza y médula de la glándula suprarrenal, la concentración de corticosteroides y glucosa en plasma. Determinamos la respuesta a la administración de 1, 5 y 10 mg/Kg de morfina y los animales fueron sacrificados 1 y 3 horas después de la inyección; como puede verse en la Figura 1, con 10 mg/Kg de morfina se obtiene respuesta 1 hora después de la inyección y permanece al menos hasta las 3 horas, por lo que ésta fué la dosis utilizada en nuestro estudio. Paralelamente se realizaron dos grupos de animales controles a los que se administró 0,5 ml de solución salina, sacrificándolos a los mismos tiempos que después de la inyección de morfina.

En las Tablas I, II y III vemos cómo la administración de morfina en dosis única produce un aumento significativo de corticosteroides, tanto en glándula ($P < 0,01$ expresado en $\mu\text{g/g}$

tejido; $P < 0,001$ expresado en $\mu\text{g}/\text{peso glándulas}$) como en plasma ($P < 0,001$) 1 hora después de la inyección y el efecto permanece todavía a las 3 horas (Tablas IV, V y VI; Figuras 2 y 4).

El contenido de ácido ascórbico suprarrenal en los animales sacrificados 1 hora después de la inyección de morfina no difiere significativamente del observado en los respectivos controles (Tablas I y II; Figura 2); en los animales sacrificados a las 3 horas (Tablas IV y V; Figura 2) el contenido es significativamente ($P < 0,02$) mayor al de los controles sacrificados al mismo intervalo de tiempo al expresar los resultados en $\mu\text{g}/\text{g}$ tejido.

El contenido, tanto de noradrenalina como de adrenalina en la glándula suprarrenal de los animales sacrificados 1 hora después de la administración de morfina, es siempre significativamente inferior al de los controles (Tablas I y II; Figura 3). La relación A/NA que en los animales controles es 0,8, continúa siendo prácticamente igual en los tratados con morfina ($A/NA=0,9$). En los animales sacrificados 3 horas después de la administración de morfina (Tablas IV y V; Figura 3), el contenido en glándula de noradrenalina y adrenalina, aunque inferior al de los respectivos controles, no difiere significativamente de éstos, manteniéndose sensiblemente semejante la relación A/NA que de 1,0 en los contro

les pasa a ser 0,9 en los animales tratados.

El nivel de glucosa en plasma es significativamente superior ($P < 0,001$) al observado en los animales controles tanto 1 como 3 horas después de la administración de morfina (Tablas III y VI; Figura 4).

El peso de las glándulas suprarrenales aumenta significativamente ($P < 0,05$) 1 hora después de la administración de la droga (Tabla II) pero a las 3 horas es semejante al de los controles (Tabla V).

Entre 5 y 10 minutos después de la administración de la droga, se observa una intensa midriasis y un aumento en la motilidad que perdura a las 3 horas de la inyección.

La elevación observada en la concentración de corticteroides tanto en glándula como en plasma después de la administración de morfina en dosis única, pueden ser reflejo de un efecto estimulante de la droga sobre el eje hipófisis-suprarrenal, que persiste a las 3 horas. El hecho de que 1 hora después de la inyección de la droga se observe un descenso significativo en el contenido de noradrenalina y adrenalina en la glándula supra-renal, unido al elevado nivel de glucosa en plasma, puede reflejar un efecto adrenomedulotrópico de la morfina.

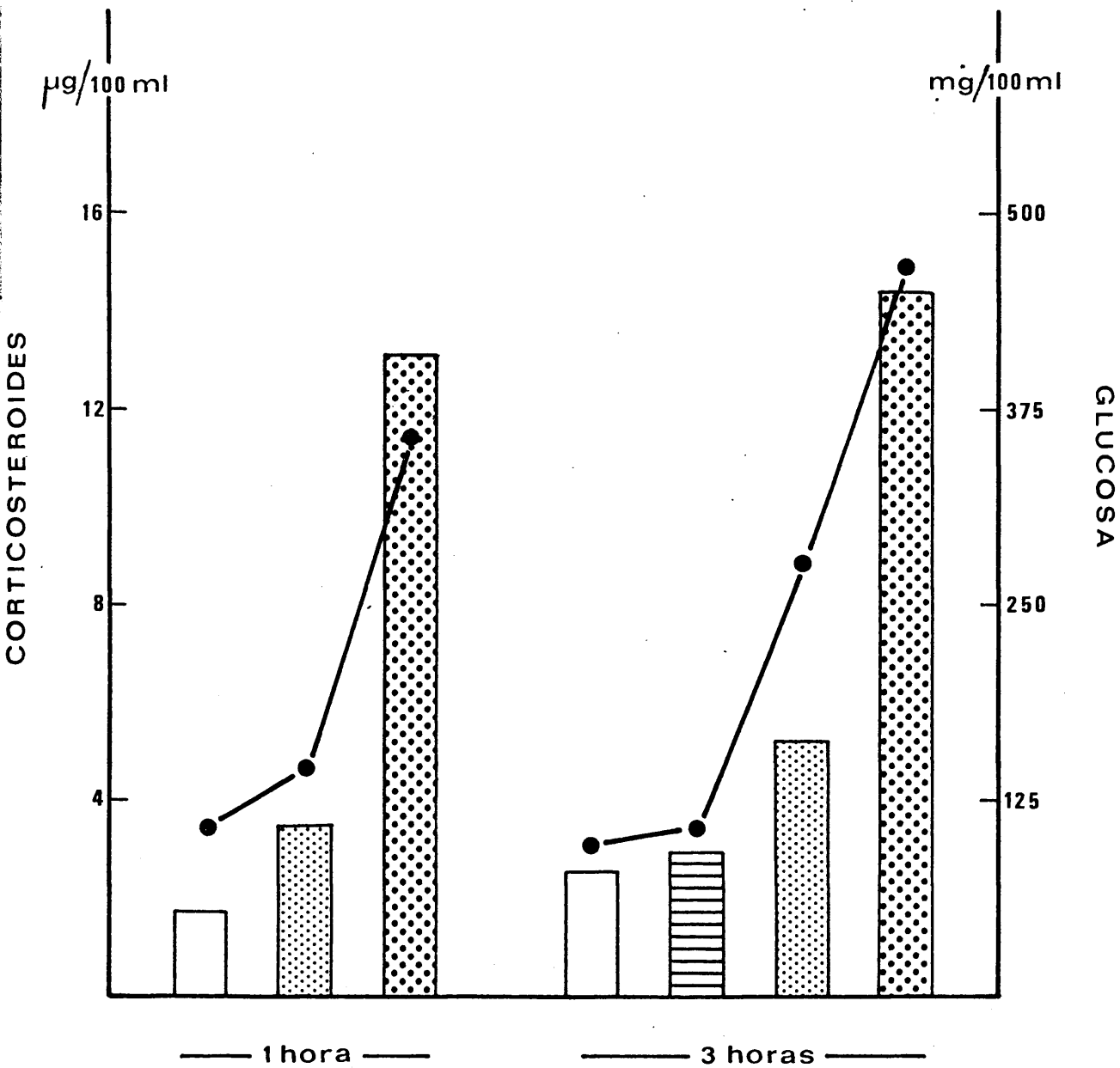


Figura 1

Efecto de la administración de diferentes dosis de morfina sobre los niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma.

Promedio \pm ES.

- Controles;
- ▨ Morfina 1 mg/Kg;
- ▤ Morfina 5 mg/Kg;
- ▥ Morfina 10 mg/Kg
- Glucosa

Tabla I

Efecto de la administración de MORFINA -dosis única- sobre el contenido de Corticosteroides, Acido Ascórbico, Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal. (Resultados expresados en µg/g tejido).

Animales sacrificados 1 hora después de la inyección.

	Control	Morfina	"p"	% variación*
	Promedio ± ES (6)	Promedio ± ES (7)		
Corticosteroides	12,26 ± 1,26 (6)	28,88 ± 3,52 (7)	<0,01	+136
Acido Ascórbico	1.425 ± 60 (6)	1.292 ± 80 (7)	ns	-9
Noradrenalina	1.325 ± 112 (7)	712 ± 100 (7)	<0,01	-46
Adrenalina	1.083 ± 137 (7)	648 ± 99 (7)	<0,05	-40

*respecto a controles

En paréntesis número de animales

Tabla II

Efecto de la administración de MORFINA -dosis única- sobre el contenido de Corticosteroides, Acido Ascórbico, Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal. (Resultados expresados en µg/peso glándulas).

Animales sacrificados 1 hora después de la inyección.

	Control	Morfina	"P"	% variación ^{##}
	Promedio ± ES	Promedio ± ES		
Corticosteroides	2,72 ± 0,33	7,33 ± 0,86	< 0,001	+169
Acido Ascórbico	370 ± 20	428 ± 52	ns	+16
Noradrenalina	342 ± 16	218 ± 20	< 0,001	-36
Adrenalina	273 ± 32	193 ± 16	< 0,05	-29

Peso glándulas ^{##}	261 ± 12	323 ± 23	< 0,05	+24

[#] respecto a controles

^{##} expresado en miligramos

Tabla III

Efecto de la administración de MORFINA -dosis única- sobre los niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma.
 Animales sacrificados 1 hora después de la inyección.

	Control	Morfina	"p"	% variación*
	Promedio + ES	Promedio + ES		
Corticosteroides (μ G/100 ml)	1,92 \pm 0,30 (6)	10,82 \pm 0,89 (7)	<0,001	+464
Glucosa (mg/100 ml)	106 \pm 5 (6)	441 \pm 17 (7)	<0,001	+316

* respecto a controles

En paréntesis número de animales

Tabla IV

Efecto de la administración de MORFINA -dosis única- sobre el contenido de Corticosteroides, Acido Ascórbico, Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal. (Resultados expresados en µg/g tejido).

Animales sacrificados 3 horas después de la inyección.

	Control		Morfina		"p"	% variación*
	Promedio + ES		Promedio + ES			
Corticosteroides	7,98 ± 1,32 (7)		35,71 ± 6,29 (7)		<0,001	+347
Acido Ascórbico	1.006 ± 26 (7)		1.123 ± 31 (7)		<0,02	+12
Noradrenalina	613 ± 38 (9)		496 ± 63 (7)		ns	-19
Adrenalina	599 ± 57 (9)		460 ± 97 (7)		ns	-23

* respecto a controles

En paréntesis número de animales

Tabla V

Efecto de la administración de MORFINA -dosis única- sobre el contenido de Corticosteroides, Acido Ascórbico, Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal. (Resultados expresados en µg/peso glándulas).

Animales sacrificados 3 horas después de la inyección.

	Control	Morfina	"p"	% variación ^{##}
	Promedio ± ES	Promedio ± ES		
Corticosteroides	2,65 ± 0,36	11,53 ± 2,24	<0,01	+335
Acido Ascórbico	345 ± 20	356 ± 23	ns	+7
Noradrenalina	206 ± 15	158 ± 24	ns	-23
Adrenalina	202 ± 21	148 ± 36	ns	-27

Peso glándulas ^{##}	336 ± 19	320 ± 27	ns	-5

[#] respecto a controles

^{##} expresado en miligramos

Tabla VI

Efecto de la administración de MORFINA -dosis única- sobre los niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma.
 Animales sacrificados 3 horas después de la inyección.

	Control	Morfina	"P"	% variación*
	Promedio ± ES	Promedio ± ES		
Corticosteroides (µg/100 ml)	2,56 ± 0,46 (8)	12,36 ± 2,09 (7)	<0,001	+383
Glucosa (mg/100 ml)	98 ± 4 (8)	414 ± 35 (7)	<0,001	+322

*respecto a controles

En paréntesis número de animales.

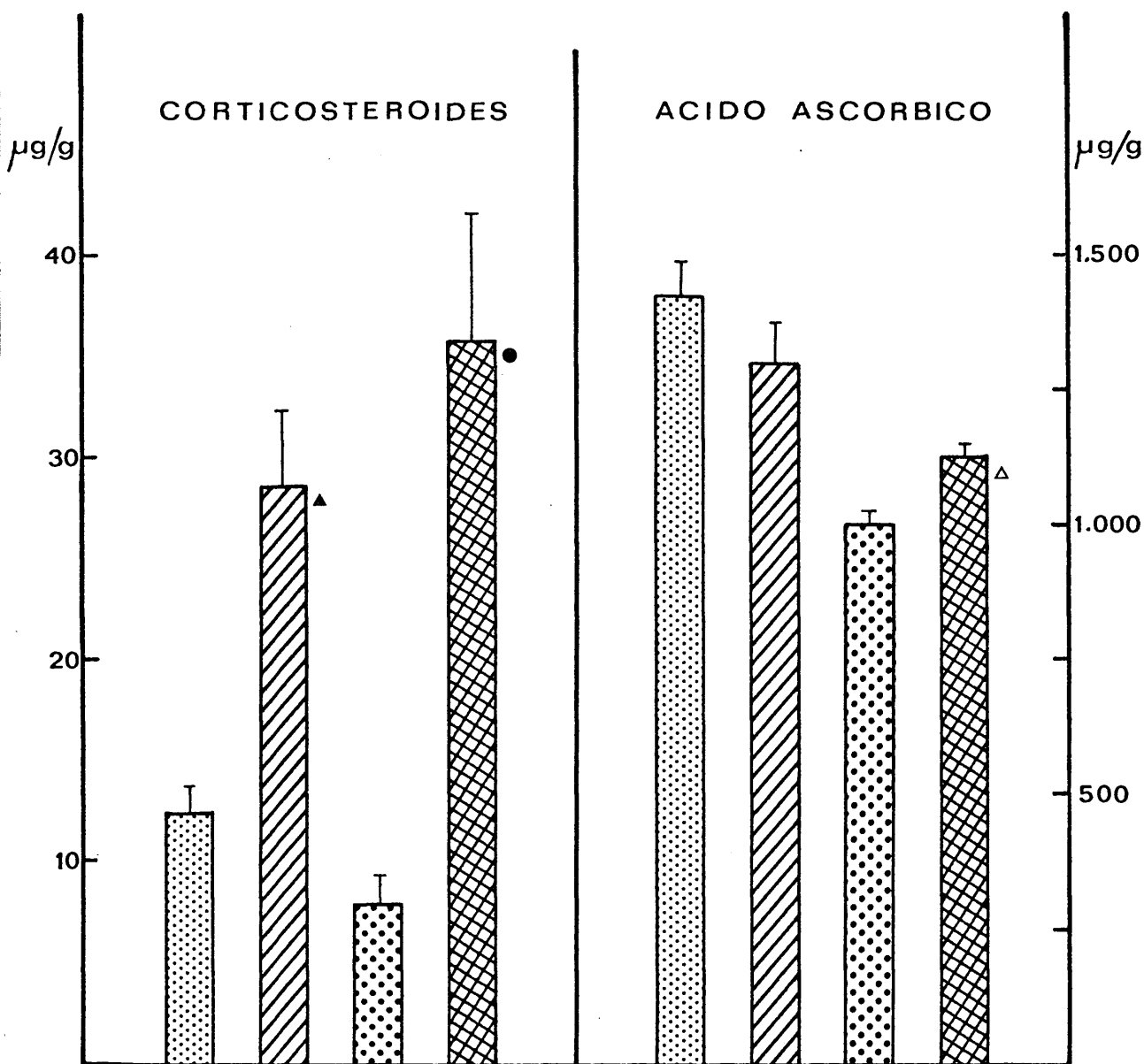


Figura 2

Contenido de Corticosteroides y Acido Ascórbico en glándula suprarrenal de animales sacrificados después de la administración de solución salina y morfina. Promedio \pm ES.

☐ Control 1 h; ▨ Morfina 1 h; □ Control 3 h; ▩ Morfina 3 h.

● $P < 0,001$ respecto Control 3 h; ▲ $P < 0,01$ respecto Control 1 h;

△ $P < 0,02$ respecto Control 3 h.

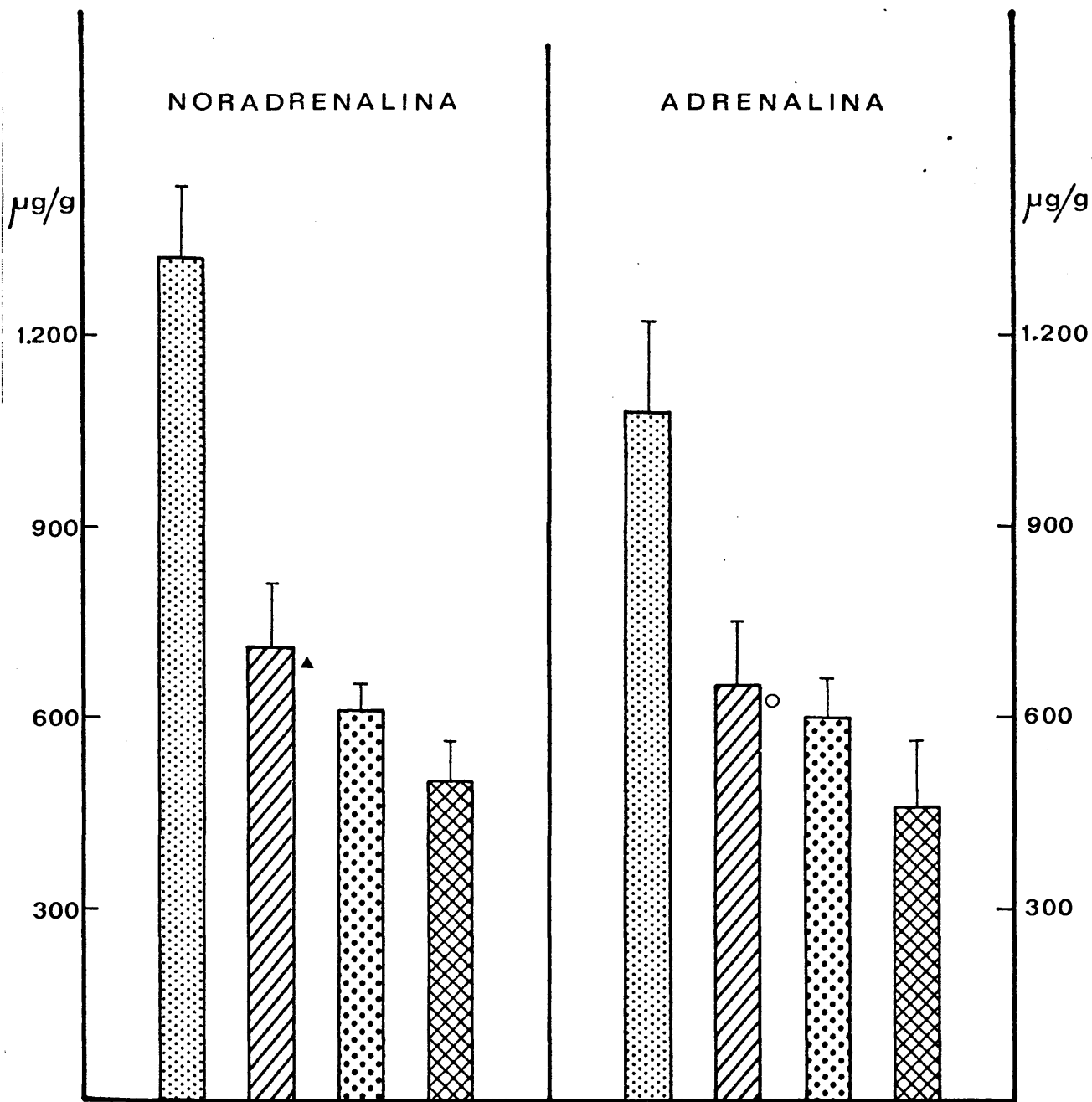


Figura 3

Contenido de Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal de animales sacrificados después de la administración de solución salina y morfina. Promedio \pm ES.

☐ Control 1 h; ▨ Morfina 1 h; ◻ Control 3 h; ▩ Morfina 3 h.

▲ $P < 0,01$ respecto Control 1 h; ○ $P < 0,05$ respecto Control 1 h.

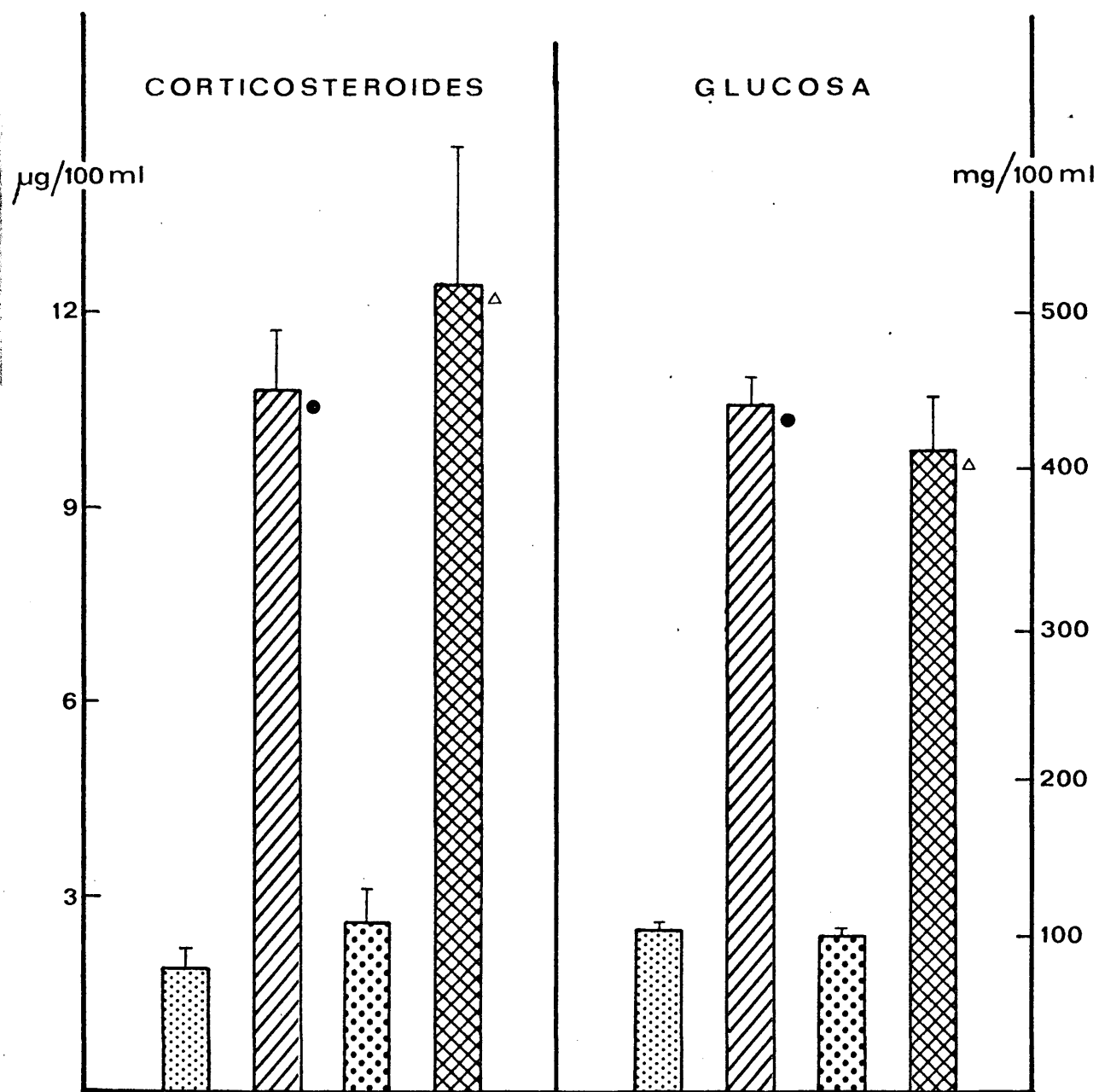


Figura 4

Contenido de Corticosteroides y Glucosa en plasma de animales sacrificados después de la administración de solución salina y morfina. Promedio + ES.

☐ Control 1 h; ▨ Morfina 1 h; ☐ Control 3 h; ▨ Morfina 3 h.

• $P < 0,001$ respecto Control 1 h; Δ $P < 0,001$ respecto Control 3 h.

ADMINISTRACION DE PENTOBARBITAL

Con el fin de estudiar el efecto del tratamiento con un grupo de pentobarbital y morfina sobre el contenido de corticosteroides y catecolaminas en la glándula suprarrenal, realizamos en primer lugar un grupo de experiencias para conocer la acción del anestésico sobre los parámetros de nuestra investigación. Observamos que la administración de 30 mg/Kg de pentobarbital por vía intraperitoneal, anesthesiaba a los animales en tre 5 y 10 minutos después de la inyección, persistiendo la anestesia durante 2,5 a 3 horas; por tanto, este grupo de experiencias se realizó inyectando dicha dosis de pentobarbital y sacrificando los animales 1 hora después de comenzar el efecto anestésico. Para el análisis estadístico, comparamos los resultados obtenidos en este grupo de experiencias con los hallados en el grupo de animales sacrificados 1 hora después de la administración de solución salina.

Como puede verse en la Tabla VII y Figura 5, la sola administración de pentobarbital es capaz de producir una depleción significativa ($P < 0,02$) del contenido de corticosteroides en glándula suprarrenal al expresar los resultados en $\mu\text{g/g}$ teji

do; el nivel en plasma es superior (+27%) a en los animales controles aún cuando la diferencia no llega a ser significativa (Tabla IX; Figura 6).

No encontramos diferencia significativa en el contenido de ácido ascórbico suprarrenal entre los animales tratados con pentobarbital y los inyectados con solución salina (Tablas VII y VIII; Figura 7).

La concentración tanto de noradrenalina como de adrenalina en la glándula suprarrenal, no se diferencia significativamente de la hallada en los controles (Tablas VII y VIII; Figuras 8 y 9).

El pentobarbital no modifica el nivel de glucosa en plasma (Tabla IX; Figura 10), habiéndose encontrado los mismos promedios en los animales tratados con este compuesto que en los controles.

El aumento del 10% en el peso de las glándulas suprarrenales observado en los animales sacrificados 1 hora después de anestesiados (Tabla VIII), no es significativo; a esta ligera diferencia puede ser atribuido el que la concentración de corticosteroides en la glándula, expresada en $\mu\text{g}/\text{peso glándulas}$, no llegue a ser significativa.

La acción observada del pentobarbital sobre los niveles de corticosteroides en plasma, podría ser reflejo de una liberación de hormonas corticosuprarrenales producido por el estado de agitación de los animales que se observa en los primeros momentos que siguen a la administración del anestésico; el bajo contenido de corticosteroides en glándula pudiera ser debido a un efecto de supresión en el eje hipófisis-suprarrenal por parte del pentobarbital.

Tabla VII

Efecto de la administración de PENTOBARBITAL sobre el contenido de Corticosteroides, Acido Ascórbico, Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal. (Resultados expresados en $\mu\text{g/g}$ tejido).

Animales sacrificados 1 hora después de anestesiados (ver texto).

	Control		Pentobarbital		"p"	% variación*
	Promedio + ES		Promedio + ES			
Corticosteroides	12,26 ± 1,26 (6)		7,45 ± 1,08 (6)		< 0,02	-39
Acido Ascórbico	1.425 ± 60 (6)		1.593 ± 121 (6)		ns	+12
Noradrenalina	1.325 ± 112 (7)		1.056 ± 121 (6)		ns	-20
Adrenalina	1.083 ± 37 (7)		981 ± 57 (6)		ns	-10

* respecto a controles

En paréntesis número de animales

Tabla VIII

Efecto de la administración de PENTOBARBITAL sobre el contenido de Corticosteroides, Acido Ascórbico, Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal. (Resultados expresados en µg/peso glándulas).

Animales sacrificados 1 hora después de anestesiados (ver texto).

	Control	Pentobarbital	"p"	% variación*
	Promedio ± ES	Promedio ± ES		
Corticosteroides	2,72 ± 0,33	2,14 ± 0,41	ns	-21
Acido Ascórbico	370 ± 20	458 ± 44	ns	+24
Noradrenalina	342 ± 16	282 ± 19	ns	-18
Adrenalina	273 ± 32	281 ± 7	ns	+3

Peso glándulas**	261 ± 12	286 ± 18	ns	+10

* respecto a controles

** expresado en miligramos

Tabla IX

Efecto de la administración de PENTOBARBITAL sobre los niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma.
 Animales sacrificados 1 hora después de anestesiados (ver texto).

	Control		Pentobarbital		"p"	% variación*
	Promedio + ES		Promedio + ES			
Corticosteroides (µg/100 ml)	1,92 ± 0,30 (6)		2,44 ± 0,23 (6)		ns	+27
Glucosa (mg/100 ml)	106 + 5 (6)		106 + 3 (6)		ns	-

* respecto a controles
 En paréntesis número de animales

ADMINISTRACION DE PENTOBARBITAL Y MORFINA

Conocido el efecto del tratamiento independiente con pentobarbital o morfina, estudiamos la acción que la administración conjunta de ambos fármacos podía tener sobre el contenido de corticosteroides y catecolaminas en la glándula suprarrenal. Para ello se inyectó a los animales la misma dosis de pentobarbital que en el grupo de experiencias anterior (30 mg/Kg) y una vez anestesiados, les fue administrado 10 mg/Kg de morfina, siendo sacrificados 1 hora después de esta inyección. Para el análisis estadístico, los resultados obtenidos en este grupo de experiencias serán comparados con los de los animales sacrificados 1 hora después de la inyección de solución salina, con los tratados con pentobarbital y con aquellos a los que sólo les fué administrado morfina.

En las Tablas X y XI y Figura 5 puede verse, que al comparar los resultados de los animales tratados con pentobarbital y morfina con los obtenidos en los controles, se produce un descenso altamente significativo ($P < 0,001$) en el contenido de corticosteroides en la glándula suprarrenal, sin que se observe variación en los niveles de hidrocortisona en plasma (Tabla XII; Figura 6).

Al comparar estos resultados con los obtenidos por el tratamiento único con pentobarbital (Tablas XIII y XIV) o con morfina (Tablas XVI y XVII), hallamos que por la administración conjunta de ambos fármacos, el contenido de hormonas adrenocorticales en la glándula es también significativamente inferior al encontrado por la sola administración de pentobarbital ($P < 0,01$ expresado en $\mu\text{g/g}$ tejido; $P < 0,02$ expresado en $\mu\text{g/peso glándulas}$) o de morfina ($P < 0,001$), (Figura 5).

No se observan variaciones significativas en el contenido suprarrenal de ácido ascórbico (Figura 7) al comparar los resultados de este grupo de experiencias con los obtenidos para los animales controles (Tablas X y XI), o después de la administración de pentobarbital (Tablas XIII y XIV) o de morfina (Tablas XV y XVII).

El contenido de noradrenalina adrenal (Figura 8) en los animales tratados con pentobarbital y morfina es significativamente inferior ($P < 0,01$) al observado en los controles (Tablas X y XI). Si comparamos los resultados con el de los animales a los que sólo se administró pentobarbital (Tablas XIII y XIV), encontramos un descenso del 28%, próximo al límite de significancia (el valor de P está comprendido entre 0,05 y 0,1). Por el tratamiento previo de pentobarbital a la administración de morfina,

no varía el contenido de noradrenalina adrenal respecto a los animales tratados solamente con morfina (Tablas XVI y XVII). El contenido de adrenalina suprarrenal (Figura 9) en los animales tratados con pentobarbital y morfina no varía significativamente en ninguno de los tres casos es decir cuando los resultados son comparados frente a los animales control (Tablas X y XI), a los tratados con pentobarbital (Tablas XIII y XIV) o con morfina (Tablas XVI y XVII).

El nivel de glucosa en plasma (Figura 10) en los animales tratados con pentobarbital y morfina es significativamente inferior ($P < 0,001$) al obtenido en los animales a los que sólo se administró morfina (Tabla XVIII), siendo semejante al hallado en los controles (Tabla XII) o en los sacrificados después del tratamiento único con pentobarbital (Tabla XV).

El peso de las glándulas suprarrenales, sin llegar a ser significativo ($0,05 < P < 0,1$), es inferior al observado después de la sólo administración de morfina (Tabla XVII), siendo semejante al observado en los animales control (Tabla XI) o en los que sólo se administró pentobarbital (Tabla XIV).

El tratamiento con pentobarbital, anterior a la administración de morfina, inhibe el aumento del contenido de corticosteroides que se observa por la administración de morfina (do-

sis única), así como el efecto hiperglucemiante de la droga; paralelamente, el anestésico es capaz de contrarrestar, al menos en parte, el efecto que la morfina ejerce sobre el contenido de adrenalina en la glándula suprarrenal, si bien no modifica la acción de la droga sobre el contenido de noradrenalina adrenal. La acción anestésica del pentobarbital, no aparece modificada, bajo nuestras condiciones experimentales, por la administración de morfina.

Tabla X

Efecto de la administración de PENTOBARBITAL y MORFINA sobre el contenido de Corticosteroides, Acido Ascórbico, Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal. (Resultados expresados en $\mu\text{g/g}$ tejido).

Animales sacrificados 1 hora después de la inyección de Morfina.

	Control		Pentobarbital + Morfina		"p"	% variación*
	Promedio \pm ES		Promedio \pm ES			
Corticosteroides	12,26 \pm 1,26 (6)		3,63 \pm 0,87 (8)		<0,001	-70
Acido Ascórbico	1.425 \pm 60 (6)		1.463 \pm 73 (8)		ns	+3
Noradrenalina	1.325 \pm 112 (7)		758 \pm 98 (7)		<0,01	-43
Adrenalina	1.083 \pm 37 (7)		804 \pm 95 (7)		ns	-26

*respecto a controles

En paréntesis número de animales

Tabla XI

Efecto de la administración de PENTOBARBITAL y MORFINA sobre el contenido de Corticosteroides, Acido Ascórbico, Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarenal. (Resultados expresados en µg/peso glándulas).

Animales sacrificados 1 hora después de la inyección de Morfina.

	Control	Pentobarbital + Morfina	"p"	% variación ^{**}
	Promedio + ES	Promedio + ES		
Corticosteroides	2,72 + 0,33	0,98 + 0,17	<0,001	-64
Acido Ascórbico	370 + 20	389 + 27	ns	+5
Noradrenalina	342 + 16	220 + 29	<0,01	-36
Adrenalina	273 + 32	226 + 33	ns	-17

Peso glándulas ^{**}	261 + 12	267 + 16	ns	+2

^{*} respecto a controles

^{**} expresado en miligramos

Tabla XII

Efecto de la administración de PENTOBARBITAL y MORFINA sobre los niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma.

Animales sacrificados 1 hora después de la inyección de Morfina.

	Control		Pentobarbital + Morfina		"p"	% variación*
	Promedio	+ ES	Promedio	+ ES		
Corticosteroides ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)	1,92	$\pm 0,30$ (6)	1,79	$\pm 0,43$ (8)	ns	-7
Glucosa ($\text{mg}/100 \text{ ml}$)	106	± 5 (6)	96	± 2 (8)	ns	-9

* respecto a controles

En paréntesis número de animales

Tabla XIII

Efecto de la administración de MORFINA -dosis única- sobre el contenido de Corticosteroides, Acido Ascórbico, Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarenal de animales previamente tratados con PENTOBARBITAL. (Resultados expresados en µg/g tejido).

Animales sacrificados 1 hora después de la administración de Morfina.

	<u>Pentobarbital</u> <u>Promedio + ES</u>	<u>Pentobarbital</u> <u>+ Morfina</u> <u>Promedio + ES</u>	"p"	% variación*
Corticosteroides	7,45 ± 1,08 (6)	3,63 ± 0,67 (8)	<0,01	-51
Acido Ascórbico	1.593 ± 121 (6)	1.463 ± 73 (8)	ns	-8
Noradrenalina	1.056 ± 121 (6)	758 ± 98 (7)	ns	-28
Adrenalina	981 ± 57 (6)	804 ± 95 (7)	ns	-18

* respecto a pentobarbital

En paréntesis número de animales

Tabla XIV

Efecto de la administración de MORFINA -dosis única- sobre el contenido de Corticosteroides, Acido Ascórbico, Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarenal de animales previamente tratados con PENTOBARBITAL. (Resultados expresados en µg/peso glándulas).

Animales sacrificados 1 hora después de la administración de Morfina.

	Pentobarbital		Pentobarbital + Morfina		"p"	% variación*
	Promedio + ES		Promedio + ES			
Corticosteroides	2,14 ± 0,41		0,98 ± 0,17		< 0,02	-54
Acido Ascórbico	458 ± 44		389 ± 27		ns	-15
Noradrenalina	282 ± 19		220 ± 29		ns	-22
Adrenalina	281 ± 7		226 ± 33		ns	-20

Peso glándulas**	286 ± 18		267 ± 16		ns	-7

* respecto a pentobarbital

** expresado en miligramos

Tabla XV

Efecto de la administración de MORFINA -dosis única- sobre los niveles de Corticosteroides y Glucosa en Plasma de animales previamente tratados con PENTOBARBITAL.

Animales sacrificados 1 hora después de la administración de Morfina.

	<u>Pentobarbital</u> <u>Promedio ± ES</u>	<u>Pentobarbital</u> <u>+ Morfina</u> <u>Promedio ± ES</u>	"p"	% variación*
Corticosteroides (µg/100 ml)	2,44 ± 0,23 (6)	1,79 ± 0,43 (8)	ns	-27
Glucosa (mg/100 ml)	106 ± 3 (6)	96 ± 2 (8)	ns	-9

*respecto a pentobarbital

En paréntesis número de animales

Tabla XVI

Efecto que el tratamiento previo con PENTOBARBITAL produce en la acción que la MORFINA tiene sobre el contenido de Corticosteroides, Acido Ascórbico, Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal. (Resultados expresados en µg/g tejido).

Animales sacrificados 1 hora después de la administración de Morfina.

	Morfina		Pentobarbital + Morfina		"p"	% variación*
	Promedio ± ES	(n)	Promedio ± ES	(n)		
Corticosteroides	28,88 ± 3,52	(7)	3,63 ± 0,67	(8)	< 0,001	-87
Acido Ascórbico	1.292 ± 80	(7)	1.463 ± 73	(8)	ns	+13
Noradrenalina	712 ± 100	(7)	758 ± 98	(7)	ns	+6
Adrenalina	648 ± 99	(7)	804 ± 95	(7)	ns	+24

* respecto a morfina

En paréntesis número de animales

Tabla XVII

Efecto que el tratamiento previo con PENTOBARBITAL produce en la acción que la MORFINA tiene sobre el contenido de Corticosteroides, Acido Ascórbico, Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal. (Resultados expresados en µg/peso glándulas).

Animales sacrificados 1 hora después de la administración de Morfina.

	Morfina	Pentobarbital + Morfina	"p"	% variación*
	Promedio ± ES	Promedio ± ES		
Corticosteroides	7,33 ± 0,86	0,98 ± 0,17	<0,001	-87
Acido Ascórbico	428 ± 52	389 ± 27	ns	-9
Noradrenalina	218 ± 20	220 ± 29	ns	+1
Adrenalina	193 ± 16	226 ± 33	ns	+17

Peso glándulas**	323 ± 23	267 ± 16	ns	-17

* respecto a morfina

** expresado en miligramos

Tabla XVIII

Efecto que el tratamiento previo con PENTOBARBITAL produce en la acción que la MORFINA tiene sobre los niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma. Animales sacrificados 1 hora después de la administración de Morfina.

	Morfina		Pentobarbital + Morfina		"p"	% variación [*]
	Promedio ± ES	(n)	Promedio ± ES	(n)		
Corticosteroides (µg/100 ml)	10,82 ± 0,89	(7)	1,79 ± 0,43	(8)	<0,001	-83
Glucosa (mg/100 ml)	441 ± 17	(7)	96 ± 2	(8)	<0,001	-78

^{*}respecto a morfina

En paréntesis número de animales

ADMINISTRACION DE PENTOBARBITAL, MORFINA Y ACTH

Como los resultados de las experiencias anteriores, parecen indicar que el pentobarbital ejerce una acción sobre el eje hipófisis-suprarrenal, capaz de inhibir el aumento de hormonas corticosuprarrenales producido por la sola administración de morfina, para estudiar si la acción del anestésico se producía a nivel de la glándula suprarrenal, planteamos otro grupo de experiencias en que animales previamente tratados con pentobarbital y morfina serían después inyectados con 10 UI de hormona adrenocorticotropa. Esta dosis, sabíamos era adecuada en el gato para estimular la biosíntesis y liberación de corticosteroides. Con estas experiencias estudiaríamos también el efecto que el ACTH exógeno, administrado en situación de hipofunción corticosuprarrenal, pudiera tener sobre el contenido de noradrenalina y adrenalina en la glándula suprarrenal del animal intacto.

Las experiencias se realizaron inyectando a los animales pentobarbital (30 mg/Kg) y una vez anestesiados, morfina (10 mg/Kg); pasada 1 hora, se administró el ACTH en la dosis mencionada y los animales fueron sacrificados 1 hora después de esta última inyección.

Para poder determinar bajo estas condiciones experimentales, cual era en sí el efecto del ACTH, fué necesario hacer otro grupo de experiencias inyectando únicamente pentobarbital y morfina y sacrificando los animales 2 horas después de la administración de esta última droga.

En las Tablas XIX, XX y XXI y Figuras 5 y 6, vemos que por la administración de ACTH se produce un aumento significativo del contenido de corticosteroides tanto en glándula ($P < 0,01$ expresado en $\mu\text{g/g}$ tejido y $P < 0,001$ expresado en $\mu\text{g/peso}$ glándulas), como en plasma ($P < 0,01$).

El nivel de ácido ascórbico suprarrenal, aún cuando ligeramente inferior en los animales inyectados con ACTH, no difiere significativamente del promedio observado en los tratados solamente con pentobarbital y morfina (Tablas XIX y XX; Figura 7).

Las variaciones halladas en la concentración de noradrenalina y adrenalina adrenal (Tablas XIX y XX; Figuras 8 y 9) de los dos grupos de experiencias que ahora estudiamos no llegan a ser significativamente diferentes.

Los niveles de glucosa en plasma (Tabla XXI; Figura 10), no difieren significativamente entre los animales sometidos al tratamiento con ACTH y los que sólo fueron inyectados con pentobarbital y morfina.

Por la administración de ACTH observamos un aumento en el peso de las glándulas suprarrenales que no llega a ser significativo (Tabla XX).

Al igual que en los dos grupos de experiencias anteriores, tanto los animales a los que se administró ACTH como los que fueron sometidos sólo al tratamiento con pentobarbital y morfina, permanecen bajo la acción de la anestesia en el momento de ser sacrificados.

Los resultados hallados parecen excluir que en el animal intacto, el pentobarbital tenga una acción directa sobre la corteza suprarrenal. El aumento de corticosteroides que sigue a la administración de ACTH en una situación de hipofunción adrenocortical no parece alterar el contenido de catecolaminas en la glándula.

Tabla XIX

Efecto de la administración de ACTH sobre el contenido de Corticosteroides, Acido Ascórbico, Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal de animales previamente tratados con PENTOBARBITAL y MORFINA. (Resultados expresados en $\mu\text{g/g}$ tejido).

Animales sacrificados 1 hora después de la administración de ACTH (ver texto).

	<u>Pentobarbital + Morfina</u>	<u>Pentobarbital + Morfina + ACTH</u>	<u>"p"</u>	<u>% variación^z</u>
	<u>Promedio + ES</u>	<u>Promedio + ES</u>		
Corticosteroides	7,92 \pm 0,63 (6)	23,15 \pm 2,31 (5)	< 0,01	+192
Acido Ascórbico	1.285 \pm 64 (6)	1.168 \pm 78 (5)	ns	-9
Noradrenalina	606 \pm 82 (7)	664 \pm 106 (5)	ns	+10
Adrenalina	990 \pm 91 (7)	861 \pm 150 (5)	ns	-13

^z respecto a pentobarbital + morfina

En paréntesis número de animales

Tabla XX

Efecto de la administración de ACTH sobre el contenido de Corticosteroides, Acido Ascórbico, Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal de animales previamente tratados con PENTOBARBITAL y MORFINA. (Resultados expresados en μg /peso glándulas).
Animales sacrificados 1 hora después de la administración de ACTH (ver texto).

	Pentobarbital + Morfina	Pentobarbital + Morfina + ACTH	"p"	% variación ¹²
	Promedio \pm ES	Promedio \pm ES		
Corticosteroides	2,23 \pm 0,64	8,14 \pm 0,64	<0,001	+265
Acido Ascórbico	442 \pm 28	418 \pm 42	ns	-5
Noradrenalina	198 \pm 34	229 \pm 28	ns	+16
Adrenalina	319 \pm 38	289 \pm 29	ns	-9

Peso glándulas ¹²	299 \pm 18	365 \pm 46	ns	+22

¹² respecto a pentobarbital + morfina

¹² expresado en miligramos

Tabla XXI

Efecto de la administración de ACTH sobre los niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma de animales previamente tratados con PENTOBARBITAL y MORFINA. Animales sacrificados 1 hora después de la administración de ACTH (ver texto).

	Pentobarbital + Morfina	Pentobarbital + Morfina + ACTH	"p"	% variación ²²
	Promedio ± ES	Promedio ± ES		
Corticosteroides (µg/100 ml)	4,19 ± 0,85 (6)	11,31 ± 1,83 (5)	<0,01	+170
Glucosa (mg/100 ml)	127 ± 13 (6)	143 ± 33 (5)	ns	+13

²²respecto a pentobarbital + morfina
En paréntesis número de animales

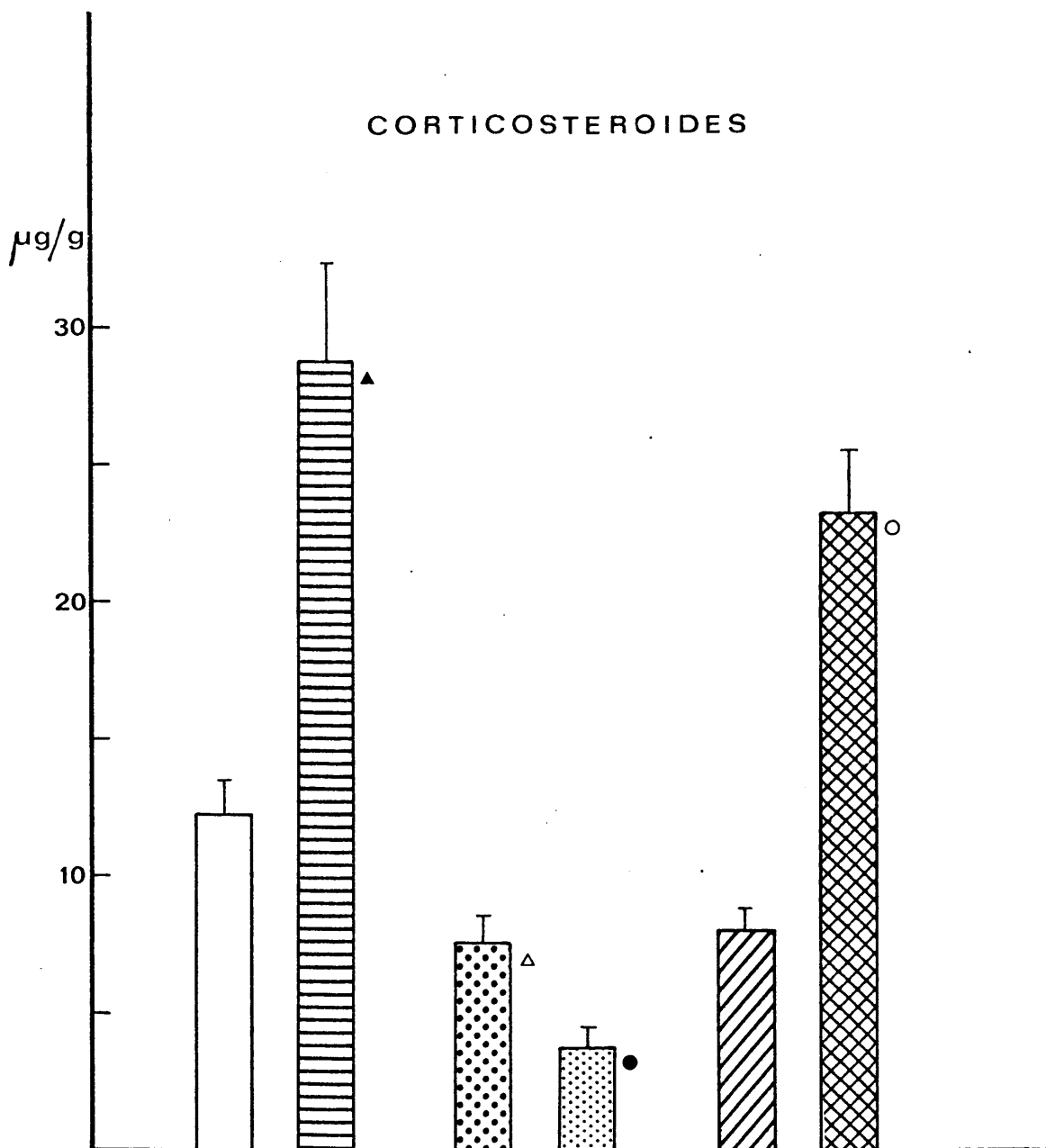


Figura 5

Contenido de Corticosteroides en glándula suprarrenal de animales sacrificados después de la administración de solución salina, morfina, pentobarbital, pentobarbital + morfina y pentobarbital + morfina + ACTH. Promedio \pm ES.

- Control 1 h; ▨ Morfina 1 h; ◻ Pentobarbital 1 h;
 ▤ Pentobarbital + Morfina 1 h; ▩ Pentobarbital + Morfina 2 h;
 ▩ Pentobarbital + Morfina + ACTH.

- ▲ $P < 0,01$ respecto Control; △ $P < 0,02$ respecto Control;
 ● $P < 0,001$ respecto Control; ● $P < 0,01$ respecto Pentobarbital;
 ● $P < 0,01$ respecto Morfina; ○ $P < 0,01$ respecto Pentobarbital + Morfina 2 h.

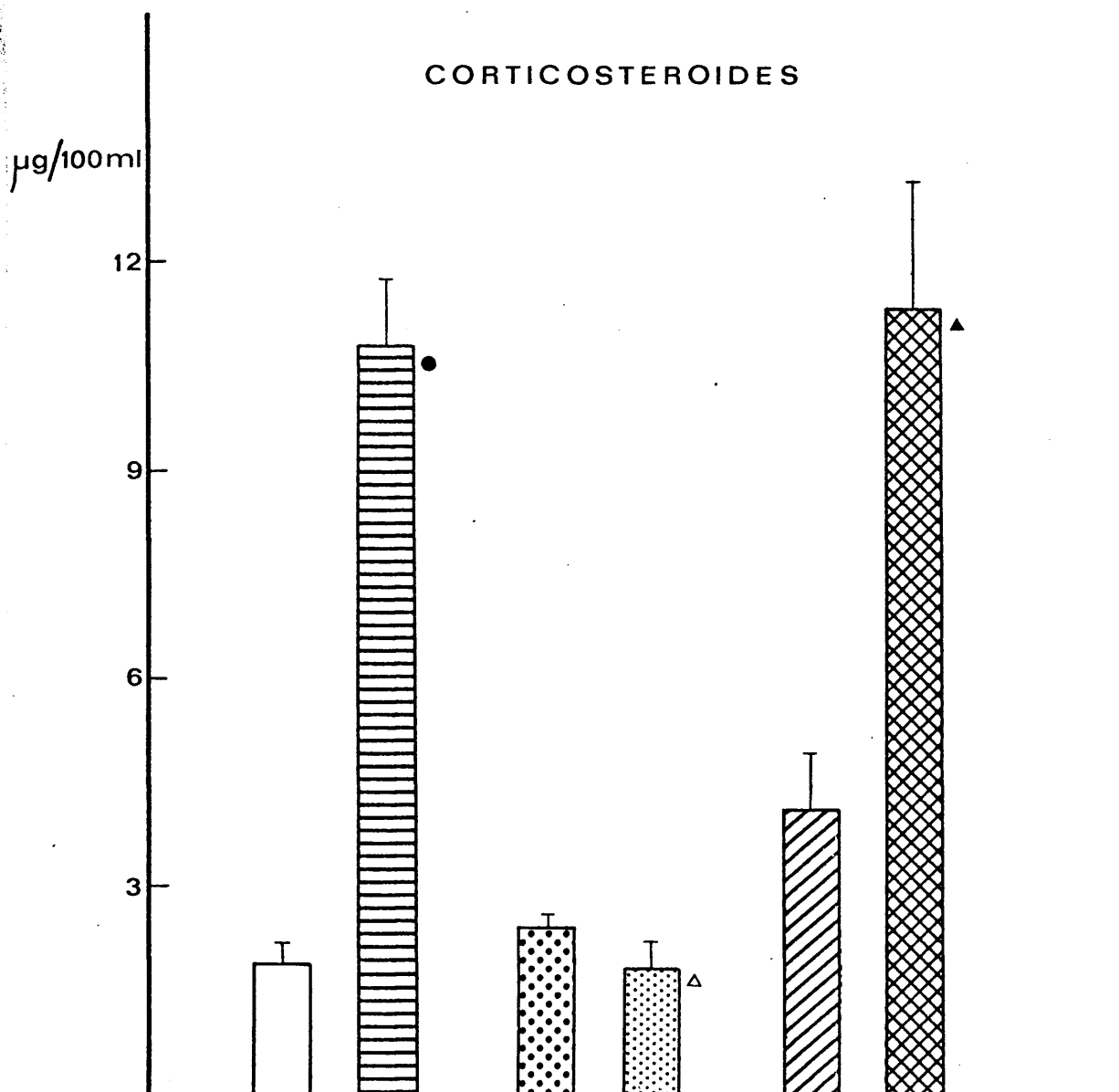


Figura 6

Contenido de Corticosteroides en plasma de animales sacrificados después de la administración de solución salina, morfina, pentobarbital, pentobarbital + morfina y pentobarbital + morfina + ACTH. Promedio \pm ES.

- Control 1 h; ▨ Morfina 1 h; ▤ Pentobarbital 1 h;
- ▧ Pentobarbital + Morfina 1 h; ▩ Pentobarbital + Morfina 2 h;
- ▨ Pentobarbital + Morfina + ACTH.

● $P < 0,001$ respecto Control; ▲ $P < 0,001$ respecto Morfina.

▲ $P < 0,01$ respecto Pentobarbital + Morfina 2 h.

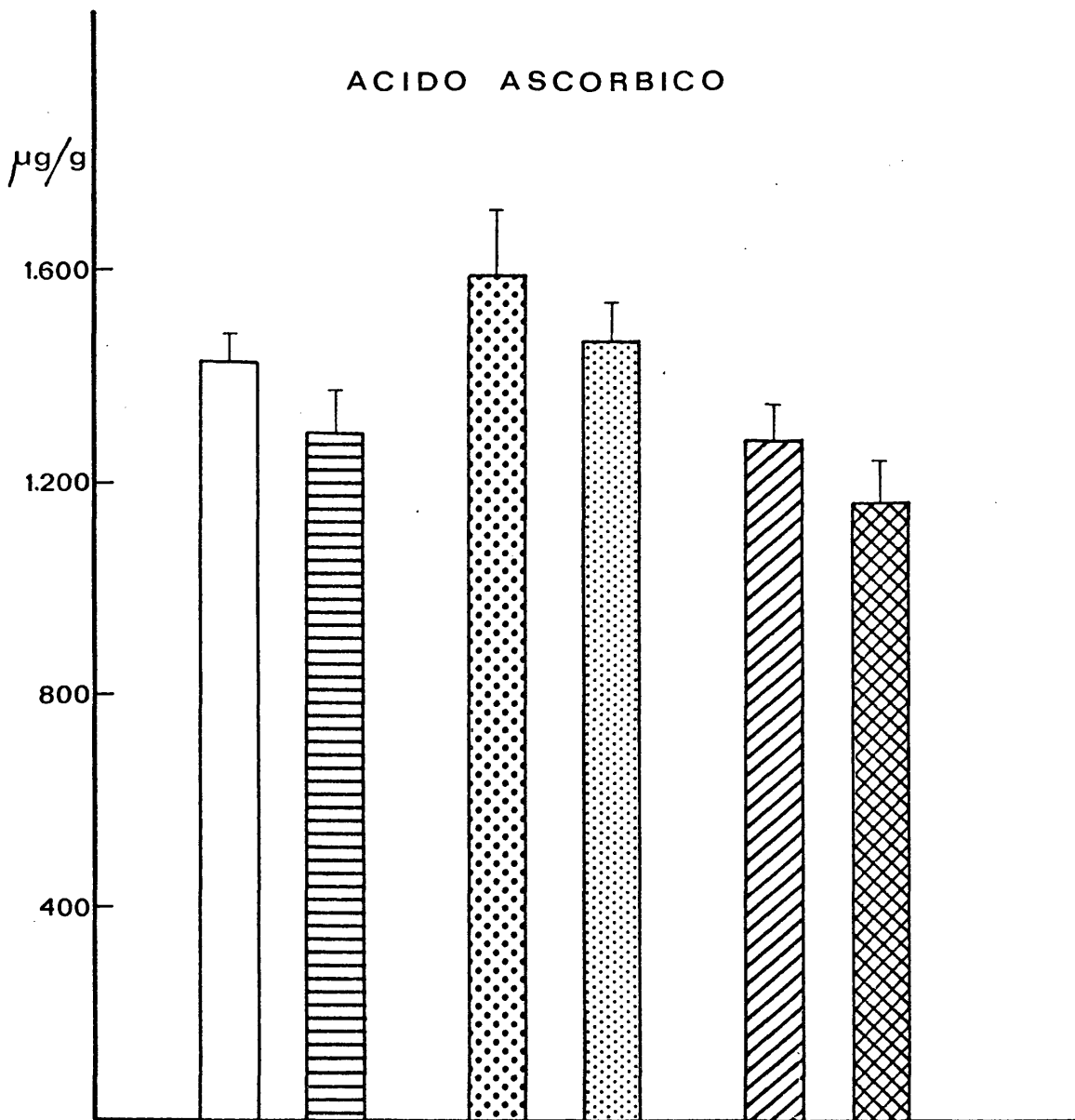


Figura 7

Contenido de Acido Ascórbico en glándula suprarrenal de animales sacrificados después de la administración de solución salina, morfina, pentobarbital, pentobarbital + morfina y pentobarbital + morfina + ACTH. Promedio + ES.

- Control 1 h; ▨ Morfina 1 h; ▩ Pentobarbital 1 h;
- ▤ Pentobarbital + Morfina 1 h; ▦ Pentobarbital + Morfina 2 h;
- ▧ Pentobarbital + Morfina + ACTH.

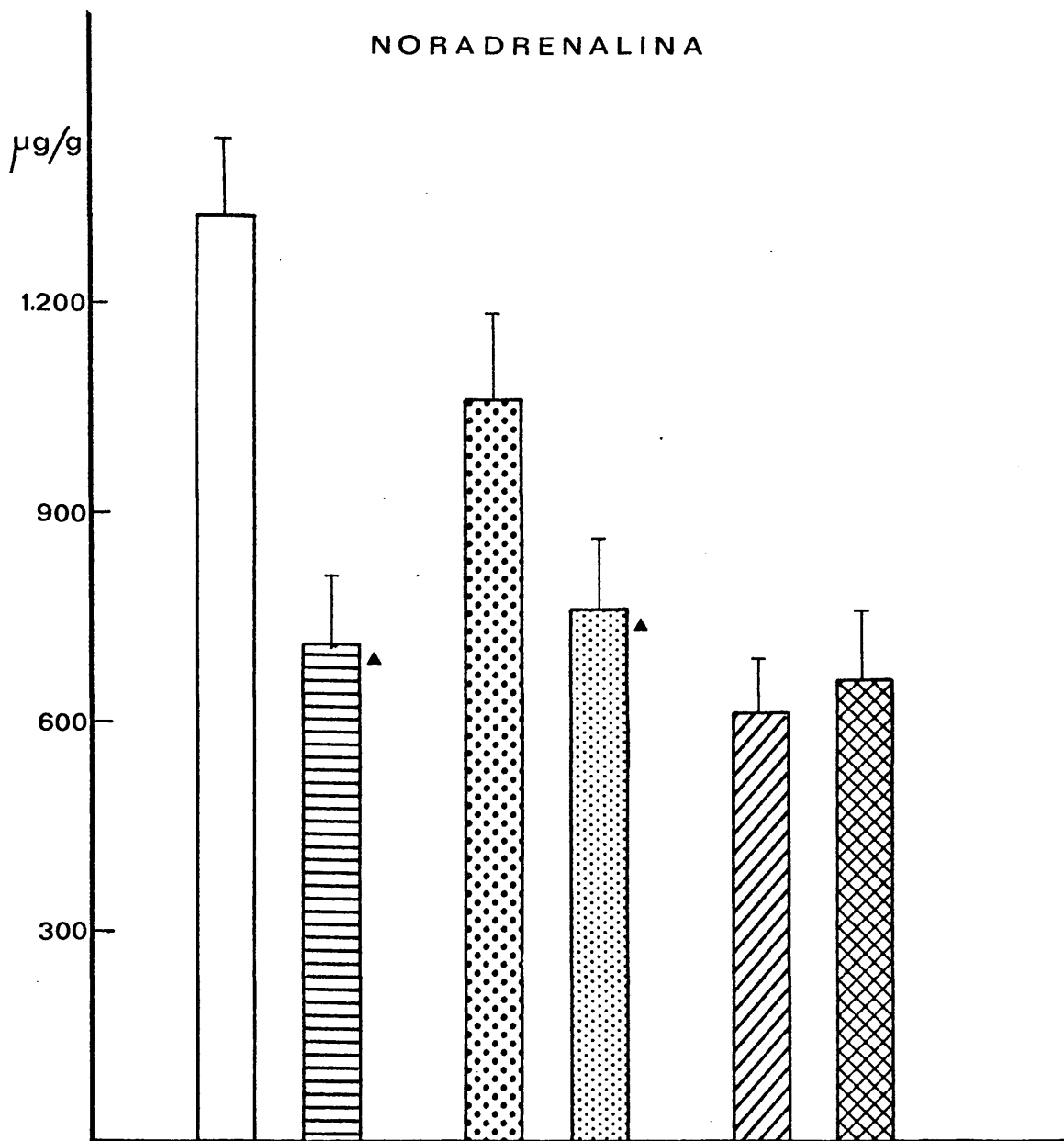


Figura 8

Contenido de Noradrenalina en glándula suprarrenal de animales sacrificados después de la administración de solución salina, morfina, pentobarbital, pentobarbital + morfina y pentobarbital + morfina + ACTH. Promedio \pm ES.

- Control 1 h;
 Morfina 1 h;
 Pentobarbital 1 h;
- Pentobarbital + Morfina 1 h;
 Pentobarbital + Morfina 2 h;
- Pentobarbital + Morfina + ACTH.

[△]P < 0,01 respecto Control.

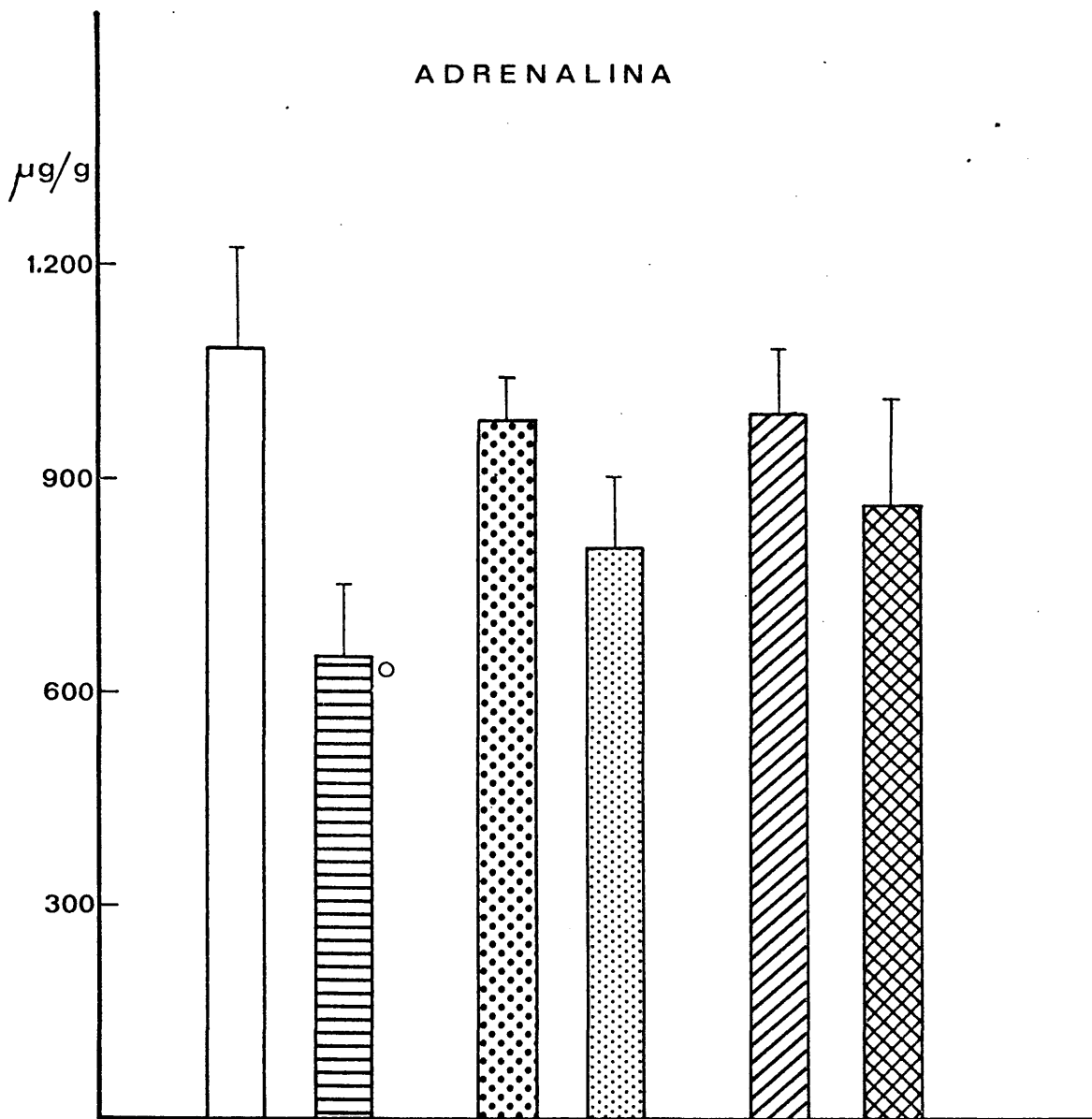


Figura 9

Contenido de Adrenalina en glándula suprarrenal de animales sacrificados después de la administración de solución salina, morfina, pentobarbital, pentobarbital + morfina y pentobarbital + morfina + ACTH. Promedio \pm ES.

- Control 1 h; ▨ Morfina 1 h; ▩ Pentobarbital 1 h;
- ▤ Pentobarbital + Morfina 1 h; ▥ Pentobarbital + Morfina 2 h;
- ▦ Pentobarbital + Morfina + ACTH.

○ $P < 0,05$ respecto Control.

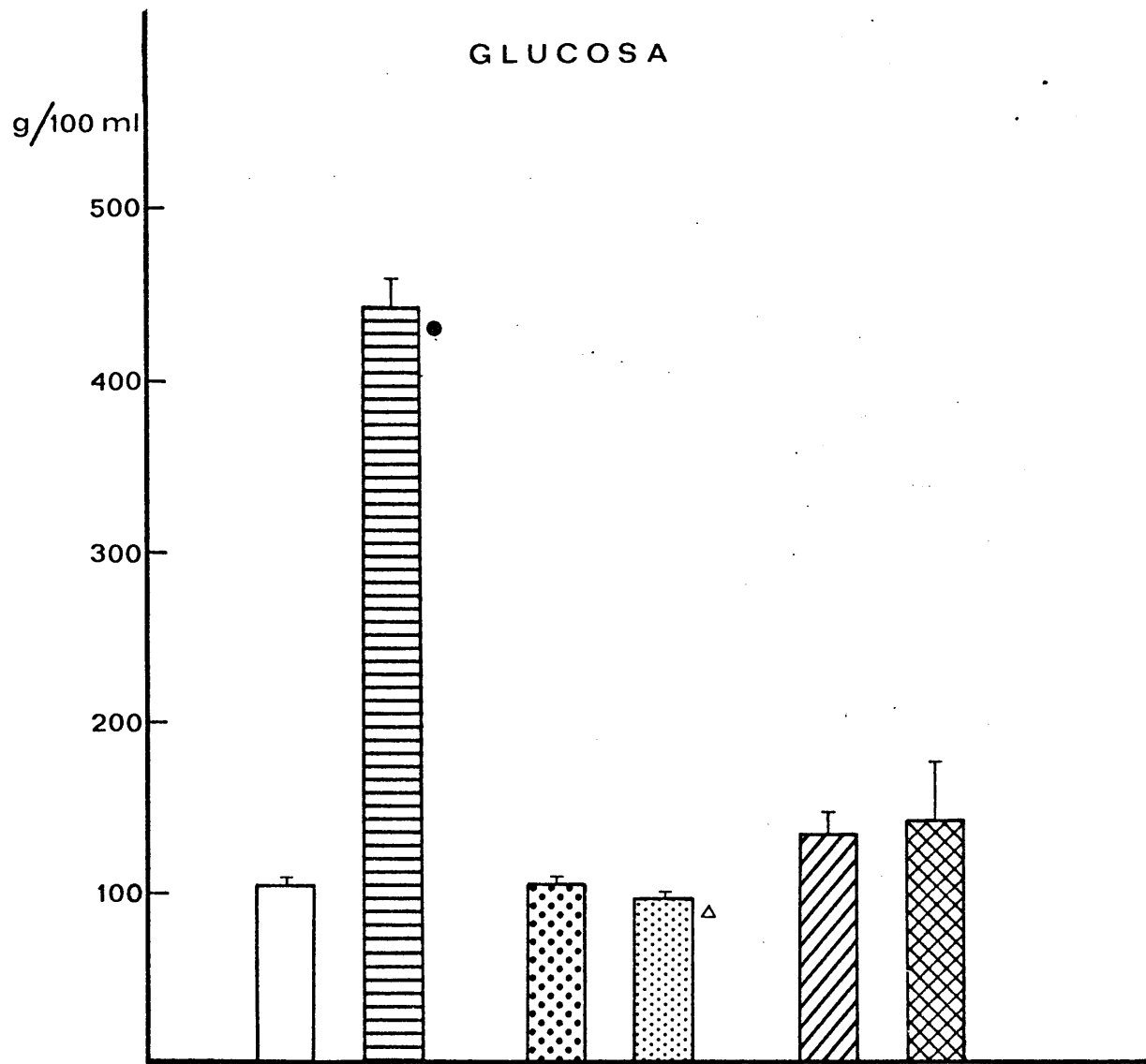


Figura 10

Contenido de Glucosa en plasma de animales sacrificados después de la administración de solución salina, morfina, pentobarbital, pentobarbital + morfina y pentobarbital + morfina + ACTH. Promedio ± ES.

- Control 1 h; ▨ Morfina 1 h; ▤ Pentobarbital 1 h;
- ▩ Pentobarbital + Morfina 1 h; ▧ Pentobarbital + Morfina 2 h;
- ▦ Pentobarbital + Morfina + ACTH.

• $P < 0,001$ respecto Control; Δ $P < 0,001$ respecto Morfina.

ADMINISTRACION PROLONGADA DE MORFINA

Conocida la acción que la administración de morfina en dosis única produce sobre los niveles de corticosteroides y catecolaminas en la glándula suprarrenal, consideramos interesante proseguir nuestra investigación estudiando conjuntamente el efecto que sobre las hormonas de la corteza y médula de las glándulas suprarrenales pudiera tener el tratamiento prolongado con la droga. Para ello realizamos dos grupos de experiencias en que la administración de morfina (10 mg/Kg por día) fue prolongada durante 7 y 14 días, siendo sacrificados los animales 1 hora después de la última inyección. Paralelamente se realizaron otros dos grupos de animales controles a los que se inyectó solución salina (0,5 ml por día) durante los mismos periodos de tiempo sacrificándose también 1 hora después de la última inyección.

Se recogió la orina de los animales sometidos a tratamiento prolongado con morfina o solución salina para determinar la eliminación diaria de corticosteroides, noradrenalina y adrenalina.

La administración prolongada de morfina produce en

glándula suprarrenal un descenso del contenido de corticosteroides (Tablas XXII, XXIII, XXV y XXVI; Figura 11) que a los 14 días de tratamiento es un 54% menor del valor promedio obtenido para los controles ($P < 0,01$) al expresar los resultados en $\mu\text{g/g}$ tejido. Los niveles en plasma (Tablas XXIV y XXVII; Figura 13) de estas hormonas son del mismo orden para los animales sacrificados después de la administración de morfina que para los respectivos controles.

A los 7 días de tratamiento no encontramos variaciones en la concentración de ácido ascórbico adrenal (Tablas XXII y XXIII; Figura 11); en el grupo de animales tratados durante 14 días con morfina, observamos un aumento altamente significativo ($P < 0,001$) del contenido suprarrenal de este compuesto (Tablas XXV y XXVI; Figura 11).

La noradrenalina en la glándula suprarrenal de los animales sometidos al tratamiento con morfina durante 7 días está significativamente aumentada ($P < 0,01$); paralelamente encontramos un descenso también significativo ($P < 0,01$ expresado en $\mu\text{g/g}$ tejido y $P < 0,001$ expresado en $\mu\text{g/peso glándulas}$) del contenido de adrenalina, de forma que la relación A/NA que en los controles es 1,4 pasa a ser 0,2 en los animales tratados con morfina (Tablas XXII, XXIII, XXV y XXVI; Figura 12). Es interesante resal-

tar que el contenido de catecolaminas totales (adrenalina + noradrenalina) en la suprarrenal de los animales sometidos durante 1 semana a tratamiento con morfina (1.292 $\mu\text{g/g}$ tejido y 422 $\mu\text{g/peso glándulas}$) es prácticamente igual al hallado para los animales control (1.342 $\mu\text{g/g}$ tejido y 459 $\mu\text{g/peso glándulas}$). A las 2 semanas de tratamiento continuado con la droga, el contenido tanto de noradrenalina como de adrenalina ha retornado hacia el promedio control.

Los niveles de glucosa en plasma (Tabla XXIV; Figura 13) a los 7 días están significativamente elevados ($P < 0,01$); a los 14 días de tratamiento con morfina, no difieren ya del grupo control respectivo (Tabla XXVII; Figura 13).

El peso de las glándulas suprarrenales (Tabla XXIII), a los 7 días de tratamiento es semejante al de los controles; a los 14 días observamos un aumento significativo ($P < 0,001$), que puede ser la causa de que el descenso de corticosteroides que sigue a la administración de morfina a este intervalo de tiempo no llegue a ser significativo al expresar los resultados en $\mu\text{g/peso glándulas}$ (Tabla XXVI).

Por la administración diaria de solución salina no varía significativamente la eliminación de corticosteroides o catecolaminas en orina respecto al promedio de la eliminación ba-

sal, es decir, la eliminación en los animales antes de ser sometidos a tratamiento; por ello, el análisis estadístico se ha realizado comparando el promedio obtenido para cada día de tratamiento con la droga, con el promedio de basales-solución salina. Durante la primera semana de tratamiento se realizaron las determinaciones de corticosteroides y catecolaminas diariamente y en la segunda en días alternos.

La administración diaria de morfina produce un aumento de la eliminación de corticosteroides (Tabla XXVIII; Figura 14) altamente significativo en los seis primeros días de tratamiento, cuyo máximo (99%) se observa entre las 24 y 48 horas. A partir de la primera semana la eliminación retorna paulatinamente hacia el valor promedio normal, al que se llega en el día trece de administración prolongada.

La eliminación diaria de noradrenalina (Tabla XXIX; Figura 15) está significativamente elevada ($P < 0,001$) durante todos y cada uno de los 14 días de administración de morfina; durante el segundo día es cuando se observa un mayor incremento (679%) y a partir del tercero va descendiendo, si bien el día catorce todavía es un 81% superior. La eliminación de adrenalina (Tabla XXX; Figura 15) es también significativamente alta ($P < 0,001$) durante todo el tratamiento, observándose el máximo en

las primeras 24 horas (1.409%) y un paulatino descenso en los días siguientes, siendo todavía de un 121% el aumento observado en el último día.

El volumen de orina (Tabla XXXI; Figura 14) presenta fluctuaciones a lo largo de la administración continuada de morfina, observándose aumentos significativos en los últimos días.

A partir de la primera semana parece ir disminuyendo en intensidad y duración la excitación que en un principio se observa en los animales.

El descenso del contenido de corticosteroides en glándula suprarrenal observado a los dos intervalos de tiempo en que son sacrificados los animales, parece indicar que el tratamiento prolongado con morfina tiene posiblemente un efecto bloqueante sobre el eje hipófisis-suprarrenal que se hace más patente al ir progresando los días de administración. El que la relación A/NA en los animales sacrificados después de 7 días de administración prolongada esté marcadamente desplazada en el sentido de la noradrenalina, y que a los 14 días esta relación esté de nuevo en el promedio de los animales control, unido a que la eliminación diaria de noradrenalina y adrenalina va disminuyendo paulatinamente, pudiera indicar un efecto de adaptación de la médula adrenal a la administración prolongada de morfina.

Tabla XXII

Efecto de la administración prolongada de MORFINA -7 días- sobre el contenido de Corticosteroides, Acido Ascórbico, Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal. (Resultados expresados en µg/g tejido).

Animales sacrificados 1 hora después de la última inyección.

	Control	Morfina	"P"	% variación [#]
	Promedio ± ES	Promedio ± ES		
Corticosteroides	10,96 ± 1,59 (7)	7,78 ± 0,70 (5)	ns	-29
Acido Ascórbico	1.332 ± 74 (7)	1.294 ± 70 (5)	ns	-3
Noradrenalina	569 ± 91 (7)	1.069 ± 74 (5)	<0,01	+88
Adrenalina	773 ± 107 (7)	223 ± 54 (5)	<0,01	-71

[#] respecto a controles

En paréntesis número de animales

Tabla XXIII

Efecto de la administración prolongada de MORFINA -7 días- sobre el contenido de Corticosteroides, Acido Ascórbico, Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal. (Resultados expresados en μg /peso glándulas).

Animales sacrificados 1 hora después de la última inyección.

	Control	Morfina	"p"	% variación [#]
	Promedio \pm ES	Promedio \pm ES		
Corticosteroides	3,76 \pm 0,41	2,88 \pm 0,40	ns	-23
Acido Ascórbico	430 \pm 32	434 \pm 49	ns	+1
Noradrenalina	193 \pm 26	365 \pm 24	< 0,01	+89
Adrenalina	266 \pm 34	57 \pm 10	< 0,001	-79

Peso glándulas ^{##}	325 \pm 13	334 \pm 31	ns	+3

[#] respecto a controles

^{##} expresado en miligramos

Tabla XXIV

Efecto de la administración prolongada de MORFINA -7 días- sobre los niveles de

Corticosteroides y Glucosa en plasma.

Animales sacrificados 1 hora después de la última inyección.

	Control		Morfina		"p"	% variación*
	Promedio ± ES		Promedio ± ES			
Corticosteroides (µg/100 ml)	2,30 ± 0,35 (7)		2,60 ± 0,46 (5)		ns	+13
Glucosa (mg/100 ml)	86 ± 5 (7)		113 ± 5 (5)		<0,01	+31

* respecto a controles

En paréntesis número de animales

Tabla XXV

Efecto de la administración prolongada de MORFINA -14 días- sobre el contenido de Corticosteroides, Acido Ascórbico, Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal. (Resultados expresados en µg/g tejido).

Animales sacrificados 1 hora después de la última inyección.

	Control		Morfina		"P"	% variación [±]
	Promedio ± ES		Promedio ± ES			
Corticosteroides	10,64 ± 1,57 (5)		4,88 ± 0,71 (7)		<0,01	-54
Acido Ascórbico	1.131 ± 54 (5)		1.616 ± 133 (7)		<0,001	+57
Noradrenalina	771 ± 92 (5)		745 ± 87 (7)		ns	-3
Adrenalina	762 ± 58 (5)		613 ± 79 (7)		ns	-20

[±] respecto a controles
En paréntesis número de animales

Tabla XXVI

Efecto de la administración prolongada de MORFINA -14 días- sobre el contenido de Corticosteroides, Acido Ascórbico, Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal. (Resultados expresados en µg/peso glándulas).

Animales sacrificados 1 hora después de la última inyección.

	Control	Morfina	"P"	% variación ^{xx}
	Promedio ± ES	Promedio ± ES		
Corticosteroides	2,67 ± 0,45	1,93 ± 0,28	ns	-28
Acido Ascórbico	274 ± 28	614 ± 20	< 0,001	+124
Noradrenalina	244 ± 23	299 ± 48	ns	+23
Adrenalina	198 ± 5	207 ± 29	ns	+5

Peso glándulas ^{xxx}	246 ± 11	388 ± 16	< 0,001	+58

^x respecto a controles

^{xxx} expresado en miligramos

Tabla XXVII

Efecto de la administración prolongada de MORFINA -14 días- sobre los niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma.

Animales sacrificados 1 hora después de la última inyección.

	Control	Morfina	"p"	% variación [#]
	Promedio ± ES	Promedio ± ES		
Corticosteroides (µg/100 ml)	2,53 ± 0,21 (5)	2,53 ± 0,21 (7)	ns	-
Glucosa (mg/100 ml)	96 ± 3 (5)	111 ± 6 (7)	ns	+16

[#] respecto a controles

En paréntesis número de animales

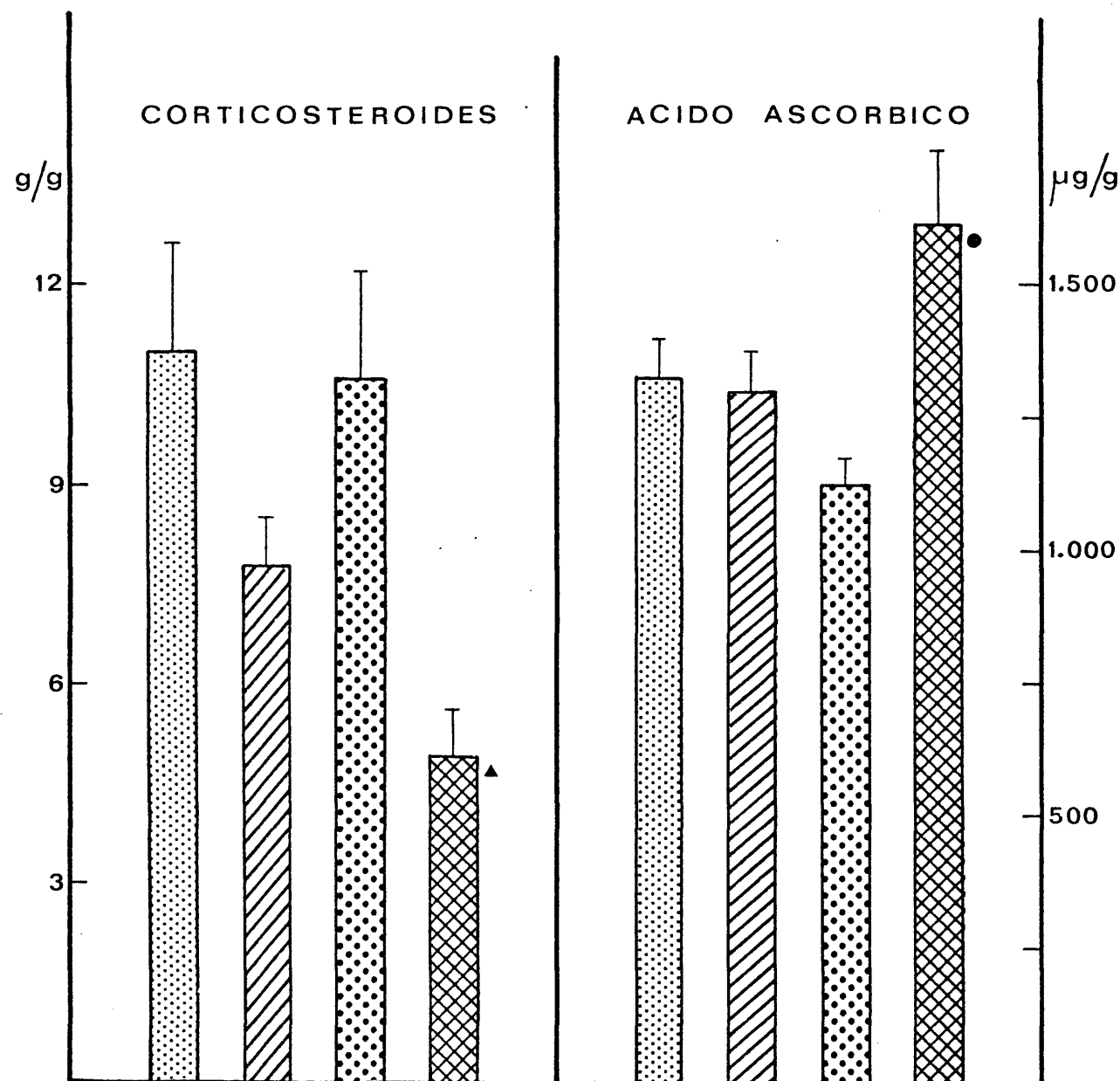


Figura 11

Contenido de Corticosteroides y Acido Ascórbico en glándula su
 prarrenal de animales sacrificados después de la administración pro
 longada de solución salina y morfina, Promedio \pm ES.

- ☐ Control 7 días; ▨ Morfina 7 días;
- ☐ Control 14 días; ▩ Morfina 14 días.

● $P < 0,001$ respecto Control 14 días;

▲ $P < 0,01$ respecto Control 14 días.

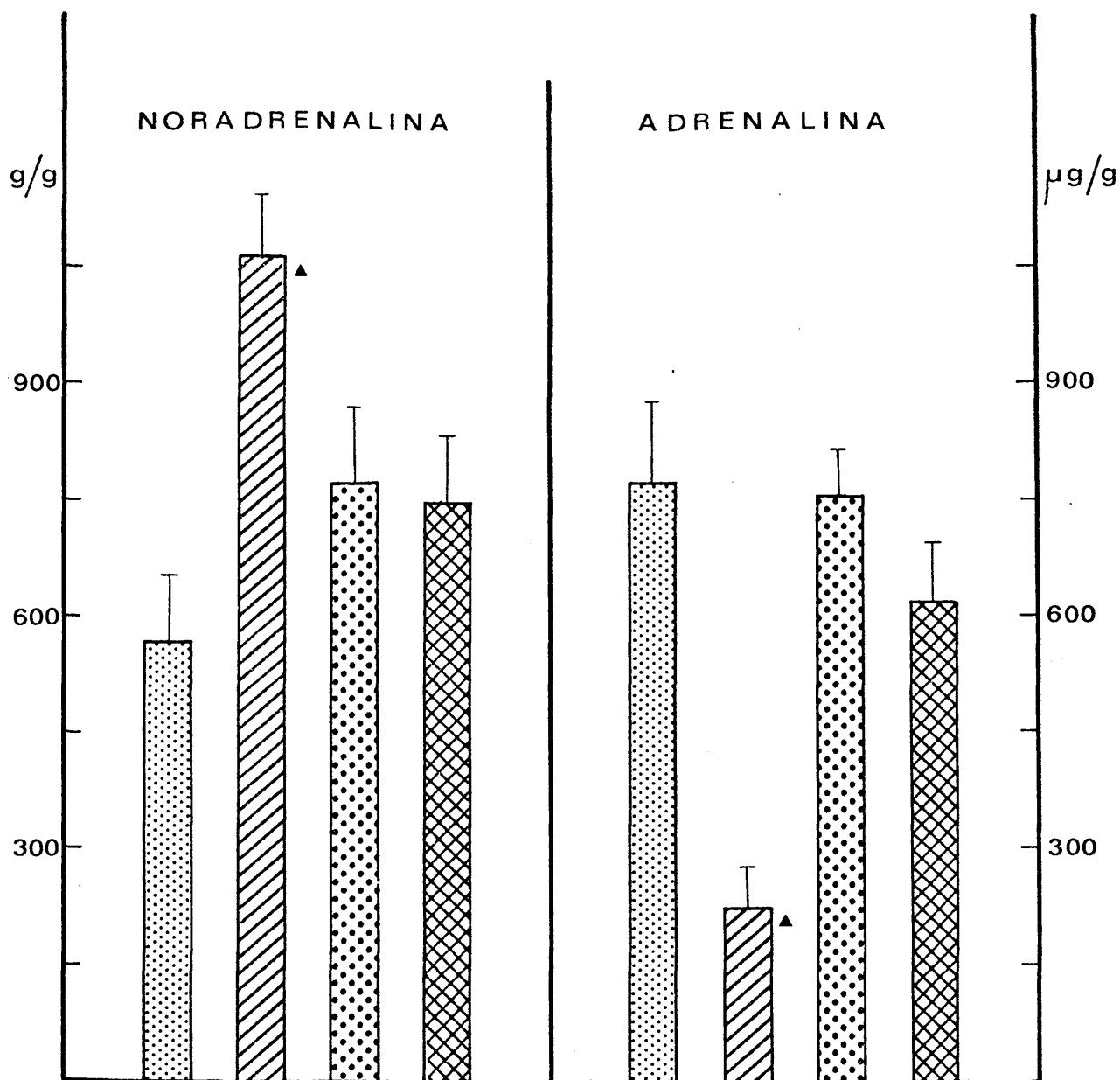


Figura 12

Contenido de Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal de animales sacrificados después de la administración prolongada de solución salina y morfina. Promedio \pm ES.

Control 7 días;
 Morfina 7 días;

Control 14 días;
 Morfina 14 días.

[▲]P < 0,01 respecto Control 7 días.

Tabla XXVIII

Efecto de la administración prolongada de MORFINA sobre la eliminación diaria de Corticosteroides en orina. (Resultados expresados en $\mu\text{g}/24$ horas).

<u>Días</u>	<u>Promedio \pm ES^{SE}</u>	<u>"p"</u>	<u>% variación^{NS}</u>
1	14,25 \pm 1,04	<0,001	+74
2	16,29 \pm 2,02	<0,001	+99
3	13,93 \pm 1,25	<0,001	+70
4	13,19 \pm 0,97	<0,001	+61
5	12,16 \pm 0,85	<0,001	+48
6	12,01 \pm 1,05	<0,001	+46
7	11,52 \pm 1,21	<0,01	+40
9	10,90 \pm 1,38	<0,01	+33
11	10,64 \pm 1,63	<0,02	+30
13	8,03 \pm 1,23	ns	-2

^{SE} los promedios proceden de la eliminación diaria de 4-6 gatos.
^{NS} calculados frente al promedio (8,10 \pm 0,26) de los basales-con-
 troles (ver texto).

Tabla XXIX

Efecto de la administración prolongada de MORFINA sobre la eliminación diaria de Noradrenalina en orina. (Resultados expresados en $\mu\text{g}/24$ horas).

<u>Días</u>	<u>Promedio \pm ES^{XX}</u>	<u>"p"</u>	<u>% variación^{XX}</u>
1	6,16 \pm 1,37	< 0,001	+297
2	12,08 \pm 3,38	< 0,001	+679
3	8,78 \pm 1,53	< 0,001	+466
4	7,96 \pm 1,76	< 0,001	+414
5	6,58 \pm 1,00	< 0,001	+325
6	5,03 \pm 1,05	< 0,001	+225
7	4,95 \pm 0,55	< 0,001	+219
8	3,74 \pm 0,51	< 0,001	+141
10	2,91 \pm 0,23	< 0,001	+88
12	2,97 \pm 0,29	< 0,001	+92
14	2,80 \pm 0,09	< 0,001	+81

^{XX} los promedios proceden de la eliminación diaria de 4-6 gatos.
^{XX} calculados frente al promedio (1,53 \pm 0,06) de los basales-con-
 troles (ver texto).

Tabla XXX

Efecto de la administración prolongada de MORFINA sobre la eliminación diaria de Adrenalina en orina. (Resultados expresados en $\mu\text{g}/24$ horas).

<u>Días</u>	<u>Promedio \pm ES^{IE}</u>	<u>"p"</u>	<u>% variación^{IE}</u>
1	4,98 \pm 1,19	< 0,001	+1.409
2	2,45 \pm 0,33	< 0,001	+642
3	1,93 \pm 0,17	< 0,001	+485
4	1,50 \pm 0,15	< 0,001	+355
5	1,30 \pm 0,10	< 0,001	+294
6	1,30 \pm 0,15	< 0,001	+294
7	1,04 \pm 0,07	< 0,001	+215
8	1,01 \pm 0,13	< 0,001	+206
10	0,90 \pm 0,08	< 0,001	+173
12	1,09 \pm 0,18	< 0,001	+230
14	0,73 \pm 0,04	< 0,001	+121

^{IE} los promedios proceden de la eliminación diaria de 4-6 gatos.
^{IE} calculados frente al promedio (0,33 \pm 0,02) de los basales-con-
 troles (ver texto).

Tabla XXXI

Efecto de la administración prolongada de MORFINA sobre el volumen diario de orina. (Resultados expresados en ml/24 horas).

<u>Días</u>	<u>Promedio \pm ES[¶]</u>	<u>"p"</u>	<u>% variación^{¶¶}</u>
1	109 \pm 7	ns	+8
2	98 \pm 10	ns	+3
3	106 \pm 5	ns	+5
4	101 \pm 6	-	-
5	112 \pm 7	ns	+11
6	117 \pm 10	ns	+16
7	113 \pm 6	ns	+12
8	113 \pm 19	ns	+12
9	135 \pm 12	< 0,001	+34
10	126 \pm 5	< 0,001	+24
11	117 \pm 4	< 0,01	+16
12	127 \pm 5	< 0,001	+26
13	116 \pm 9	< 0,02	+15
14	116 \pm 12	< 0,05	+15

[¶] los promedios proceden de la eliminación diaria de 4-13 gatos.
^{¶¶} calculados frente al promedio (101 \pm 2) de los basales-contr-
 les (ver texto).

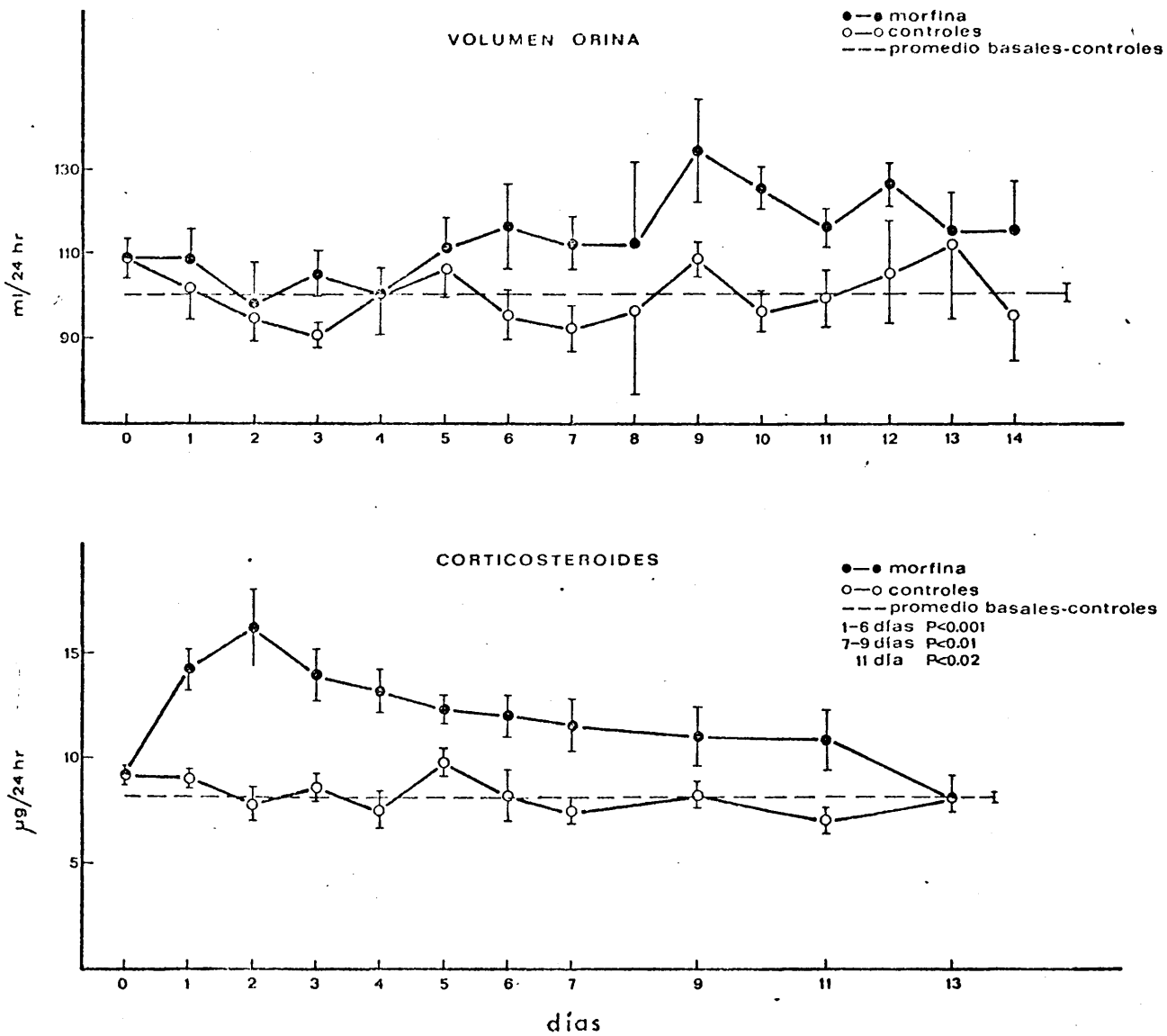


Figura 14

Volumen de orina y eliminación diaria de Corticosteroides en animales sometidos a la administración prolongada de solución salina y morfina. Promedio \pm ES; (significancias estadísticas calculadas frente al promedio de los basales-controles).

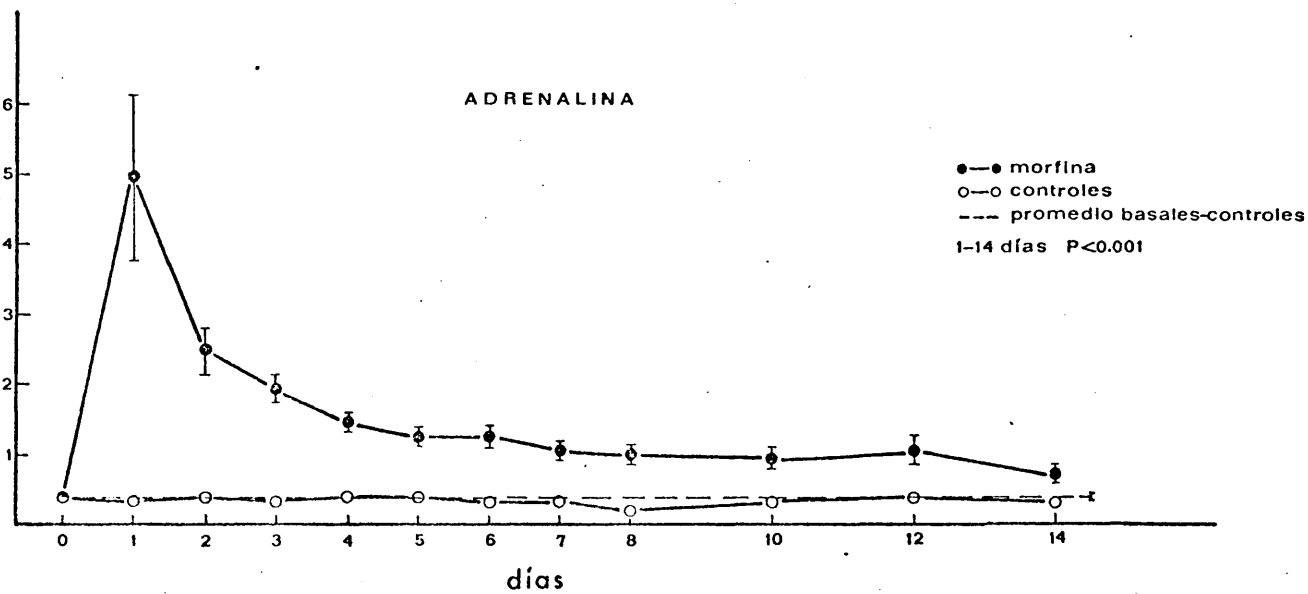
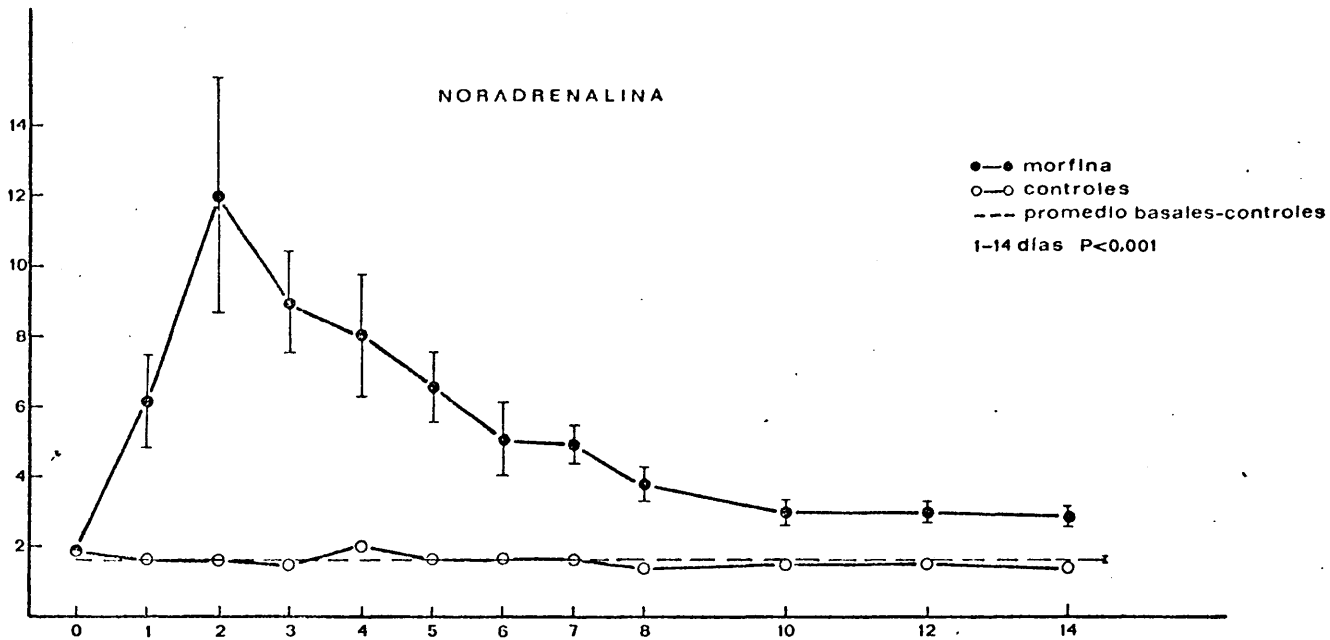


Figura 15

Eliminación diaria en orina de Noradrenalina y Adrenalina en animales sometidos a la administración prolongada de solución salina y morfina. Promedio \pm ES; (significancias estadísticas calculadas frente al promedio de los basales-controles).

ANIMALES CONTROL

Las variaciones en los niveles de corticosteroides, noradrenalina, adrenalina, ácido ascórbico y glucosa encontradas en los animales a los que sólo se administró solución salina y que son reflejadas en las tablas correspondientes a cada grupo de experiencias, ponen de manifiesto que para interpretar correctamente los resultados de estudios como el presente, es necesario realizar paralelamente los correspondientes grupos de animales control, toda vez que el solo hecho de coger al animal e inyectarle, supone un stress que lógicamente produce variaciones en el metabolismo de las hormonas de la corteza y médula de la glándula suprarrenal, íntimamente relacionadas con los mecanismos de adaptación y defensa del organismo.

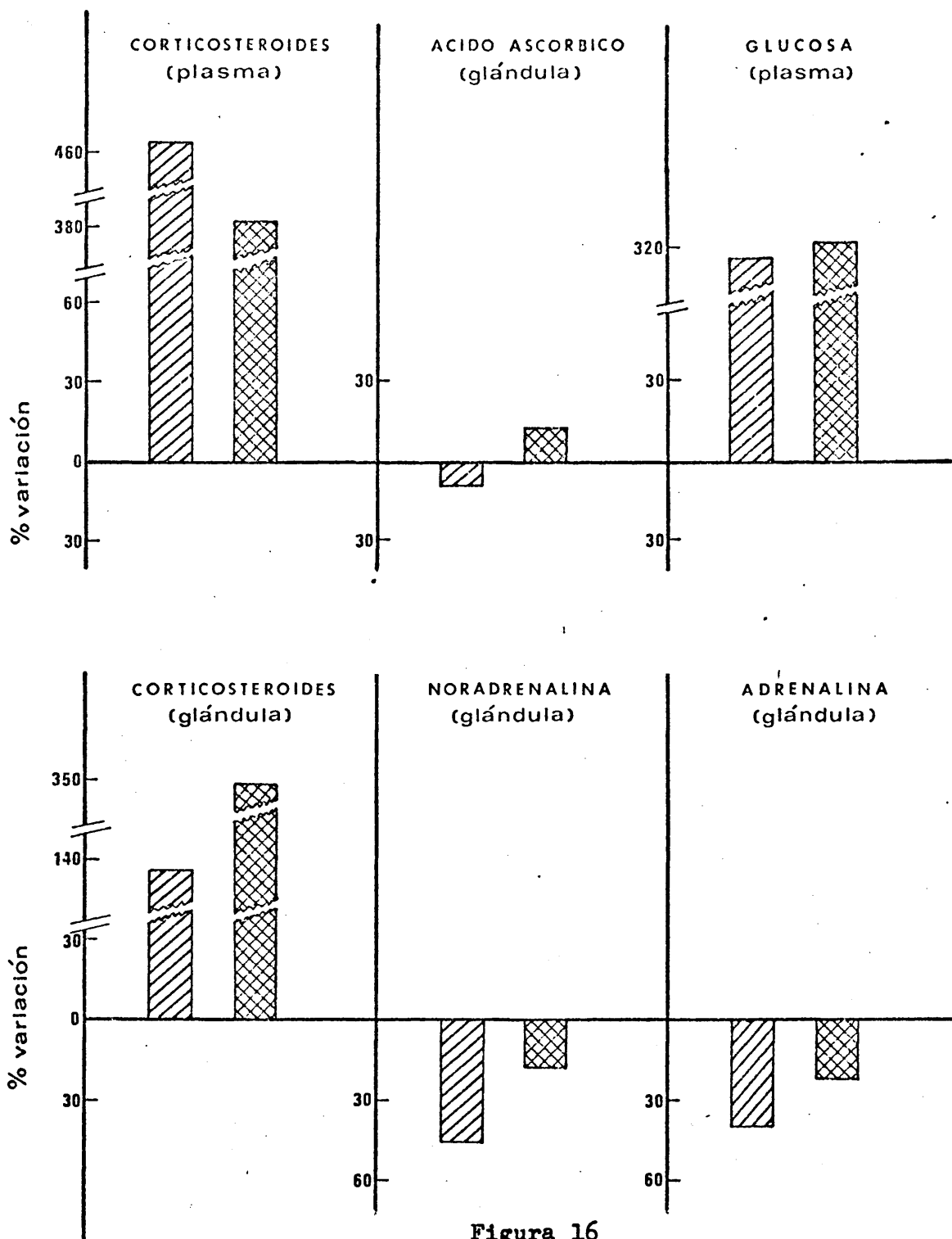


Figura 16

Variaciones (% frente a controles) producidas por la administración de morfina en dosis única.

▨ Morfina 1 h;

▩ Morfina 3 h.

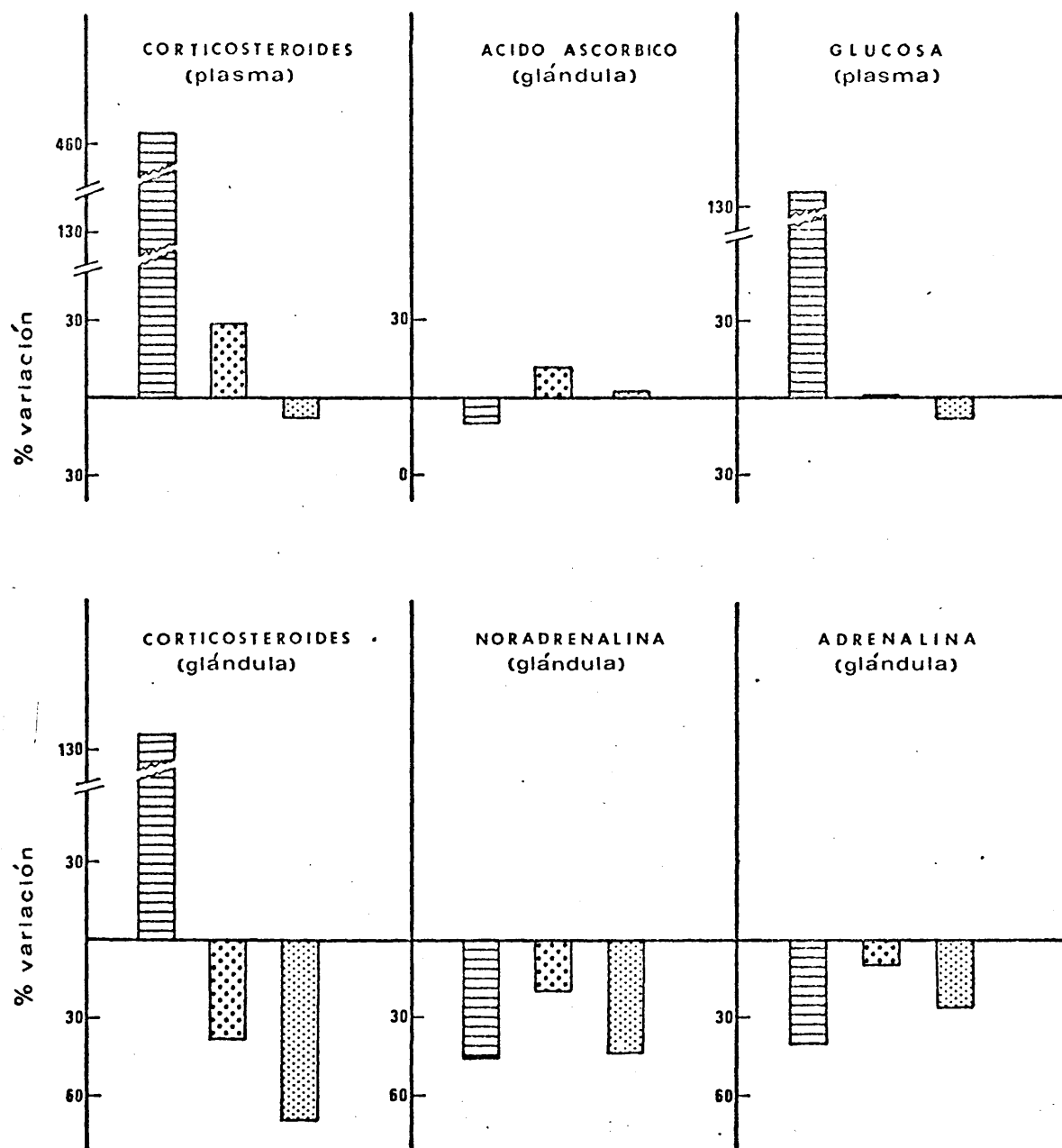


Figura 17

Variaciones (% frente a control 1 h) producidas por la administración de morfina, pentobarbital y pentobarbital + morfina.

▨ Morfina 1 h; ▩ Pentobarbital 1 h; ▧ Pentobarbital + Morfina 1 h.

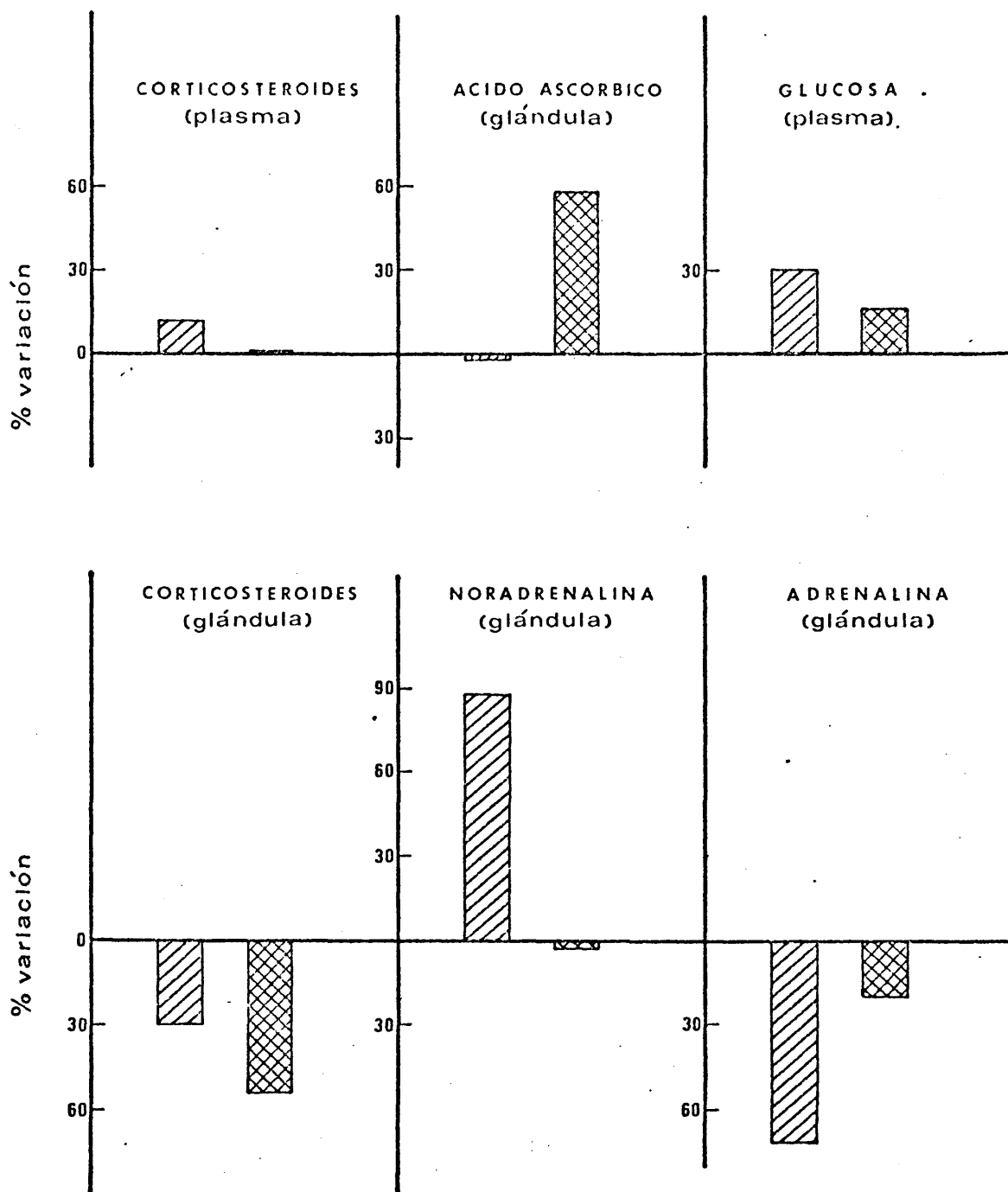


Figura 18

Variaciones (% frente a controles) producidas por la administración prolongada de morfina.

▨ Morfina 7 días;

▩ Morfina 14 días.

TABLAS CORRESPONDIENTES A RESULTADOS
INDIVIDUALES

Tabla 1

Contenido de Corticosteroides y Acido Ascórbico en glándula suprarrenal de animales sacrificados 1 hora después de la administración de SOLUCION SALINA (dosis única).

	Corticosteroides		Acido Ascórbico	
	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>
	15,36	3,21	1.680	466
	9,02	1,66	1.512	324
	14,00	3,60	1.344	354
	8,13	1,75	1.392	351
	15,00	3,35	1.280	356
	12,04	2,72	1.344	367
romedios	12,26	2,72	1.425	370
<u>+ES</u>	<u>+ 1,26</u>	<u>+0,33</u>	<u>+ 60</u>	<u>+ 20</u>

Tabla 2

Contenido de Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal de animales sacrificados 1 hora después de la administración de SOLUCION SALINA (dosis única).

Noradrenalina		Adrenalina		
<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	
1.661	318	1.061	222	
1.637	421	1.817	456	
897	306	674	239	
1.076	318	815	235	
1.518	310	1.000	230	
1.147	349	1.117	222	
1.336	371	1.094	304	
romedios	1.325	342	1.083	273
<u>+ES</u>	<u>± 112</u>	<u>± 16</u>	<u>± 137</u>	<u>± 32</u>

Tabla 3

Niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma de animales sacrificados 1 hora después de la administración de SOLUCION SALINA (dosis única).

	Corticosteroides ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)	Glucosa ($\text{mg}/100 \text{ ml}$)
	1,50	101
	1,71	125
	2,40	103
	1,07	110
	3,14	107
	1,71	89
Promedios	1,92	106
<u>±</u> ES	<u>±</u> 0,30	<u>±</u> 5

Tabla 4

Contenido de Corticosteroides y Acido Ascórbico en glándula suprarrenal de animales sacrificados 1 hora después de la administración de MORFINA (dosis única).

	Corticosteroides		Acido Ascórbico	
	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>
	21,63	5,03	1.560	526
	16,12	4,00	1.560	302
	21,63	9,73	1.040	287
	28,88	6,50	1.200	595
	39,88	9,53	1.336	549
	36,63	7,29	1.064	268
	37,38	9,23	1.284	468
Promedios	28,88	7,33	1.292	428
<u>+ES</u>	<u>+ 3,52</u>	<u>+0,86</u>	<u>+ 80</u>	<u>+ 52</u>

Tabla 5

Contenido de Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal de animales sacrificados 1 hora después de la administración de MORFINA (dosis única).

Noradrenalina		Adrenalina		
<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	
958	283	457	154	
378	160	394	142	
711	203	898	202	
546	203	460	171	
494	170	501	206	
1.123	294	1.071	270	
776	212	757	205	
Promedios	712	218	648	193
<u>+ES</u>	<u>+100</u>	<u>+ 20</u>	<u>+ 99</u>	<u>+ 16</u>

Tabla 6

Niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma de animales sacrificados 1 hora después de la administración de MORFINA (dosis única).

	<u>Corticosteroides</u> ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)	<u>Glucosa</u> ($\text{mg}/100 \text{ ml}$)
	13,28	517
	13,07	469
	7,85	453
	7,93	413
	10,50	382
	12,92	418
	10,21	435
Promedios	10,82	441
\pm ES	$\pm 0,89$	± 17

Tabla 7

Contenido de Corticosteroides y Acido Ascórbico en glándula suprarrenal de animales sacrificados 3 horas después de la administración de SOLUCION SALINA (dosis única).

	Corticosteroides		Acido Ascórbico	
	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>
	14,75	4,47	1.056	388
	6,00	2,26	1.056	392
	6,88	2,19	1.056	370
	10,13	2,89	1.016	301
	8,00	3,09	896	277
	5,38	2,02	1.048	393
	4,75	1,64	917	291
Promedios	7,98	2,65	1.006	345
<u>+ES</u>	<u>+1,32</u>	<u>+0,36</u>	<u>+ 26</u>	<u>+ 20</u>

Tabla 8

Contenido de Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal de animales sacrificados 3 horas después de la administración de SOLUCION SALINA (dosis única).

Noradrenalina		Adrenalina		
<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	
623	189	445	135	
485	183	561	212	
745	238	445	153	
454	129	646	184	
723	253	807	282	
497	192	399	154	
610	171	575	161	
638	239	603	226	
746	258	910	315	
Promedios	613	206	599	202
<u>+ES</u>	<u>+ 38</u>	<u>+ 15</u>	<u>+ 57</u>	<u>+ 21</u>

Tabla 9

Niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma de animales sacrificados 3 horas después de la administración de SOLUCION SALINA (dosis única).

	<u>Corticosteroides</u> ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)	<u>Glucosa</u> ($\text{mg}/100 \text{ ml}$)
	1,43	85
	1,43	85
	1,43	112
	4,40	104
	3,80	111
	2,00	100
	1,86	104
	4,14	85
Promedios	2,56	98
<u>\pmES</u>	<u>$\pm 0,46$</u>	<u>± 4</u>

Tabla 10

Contenido de Corticosteroides y Acido Ascórbico en glándula suprarrenal de animales sacrificados 3 horas después de la administración de MORFINA (dosis única).

Corticosteroides		Acido Ascórbico		
<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	
40,25	11,59	1.056	304	
32,13	9,54	1.176	349	
56,13	14,93	1.176	313	
14,75	6,07	1.024	277	
45,12	15,48	1.152	395	
48,62	20,18	1.040	420	
13,00	2,90	1.240	432	
Promedios	35,71	11,53	1.123	356
<u>±</u> ES	<u>±</u> 6,29	<u>±</u> 2,24	<u>±</u> 31	<u>±</u> 23

Tabla 11

Contenido de Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal de animales sacrificados 3 horas después de la administración de MORFINA (dosis única).

	Noradrenalina		Adrenalina	
	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>
	691	199	128	37
	300	89	461	137
	436	116	594	158
	639	262	590	242
	601	206	878	301
	270	112	195	81
	538	120	372	83
Promedios	496	158	460	148
<u>+ES</u>	<u>+ 63</u>	<u>+ 24</u>	<u>+ 97</u>	<u>+ 36</u>

Tabla 12

Niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma de animales sacrificados 3 horas después de la administración de MORFINA (dosis única).

	<u>Corticosteroides</u> ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)	<u>Glucosa</u> ($\text{mg}/100 \text{ ml}$)
	13,28	469
	6,57	579
	12,21	379
	5,14	306
	15,07	406
	21,78	320
	12,50	440
Promedios	12,36	414
<u>+ES</u>	<u>$\pm 2,09$</u>	<u>± 35</u>

Tabla 13

Peso de las glándulas suprarrenales de animales sometidos a la administración de SOLUCION SALINA y MORFINA (dosis única). Resultados expresados en mg/peso glándulas.

	1 hora		3 horas	
	Control	Morfina	Control	Morfina
	209	337	303	288
	257	312	377	297
	288	239	319	266
	230	372	285	410
	278	411	350	343
	295	252	386	415
	267	338	280	223
			375	
			346	
Promedios	261	323	336	320
<u>±</u> ES	<u>±</u> 12	<u>±</u> 23	<u>±</u> 14	<u>±</u> 27

Tabla 14

Contenido de Corticosteroides y Acido Ascórbico en glándula suprarrenal de animales sacrificados después de la administración de PENTOBARBITAL (ver texto).

	Corticosteroides		Acido Ascórbico	
	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>
	9,62	2,37	1.808	513
	6,75	1,96	1.176	318
	3,50	0,84	1.472	342
	5,50	1,28	2.024	605
	9,00	2,69	1.456	482
	10,31	3,69	1.620	488
Promedios	7,45	2,14	1.593	458
<u>+ES</u>	<u>+1,08</u>	<u>+0,41</u>	<u>+ 121</u>	<u>+ 44</u>

Tabla 15.

Contenido de Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal de animales sacrificados después de la administración de PENTOBARBITAL (ver texto).

Noradrenalina		Adrenalina		
<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	
628	225	985	291	
1.148	333	1.048	304	
934	264	1.182	292	
1.311	295	977	266	
1.431	332	756	266	
883	241	936	264	
Promedios	1.056	282	981	281
<u>+ES</u>	<u>+ 121</u>	<u>+ 19</u>	<u>+ 57</u>	<u>+ 7</u>

Tabla 16

Niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma de animales sacrificados después de la administración de PENTOBARBITAL (ver texto).

	<u>Corticosteroides</u> ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)	<u>Glucosa</u> ($\text{mg}/100 \text{ ml}$)
	2,86	100
	2,07	100
	2,07	107
	3,36	111
	1,93	115
	2,37	100
Promedios	2,44	106
<u>+ES</u>	<u>+0,23</u>	<u>+ 3</u>

Tabla 17

Contenido de Corticosteroides y Acido Ascórbico en glándula suprarrenal de animales sacrificados 1 hora después de la administración de MORFINA y previamente anestesiados con PENTOBARBITAL.

Corticosteroides		Acido Ascórbico	
<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>
6,88	1,65	1.688	428
3,25	1,12	1.472	405
3,25	0,88	1.344	364
4,00	1,42	1.440	385
1,25	0,39	1.792	508
5,12	1,22	1.272	276
4,00	0,85	1.176	302
1,25	0,27	1.520	443
Promedios	3,63	1.463	389
<u>+ES</u>	<u>+0,67</u>	<u>+ 73</u>	<u>+ 27</u>

Tabla 18

Contenido de Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal de animales sacrificados 1 hora después de la administración de MORFINA y previamente anestesiados con PENTOBARBITAL.

	Noradrenalina		Adrenalina	
	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>
	967	232	876	210
	971	247	853	216
	443	120	469	127
	515	123	619	219
	548	242	1.200	378
	1.095	335	995	294
	764	241	615	136
Promedios	758	220	804	226
<u>+ES</u>	<u>+ 98</u>	<u>+ 29</u>	<u>+ 95</u>	<u>+ 33</u>

Tabla 19

Niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma de animales sacrificados 1 hora después de la administración de MORFINA y previamente anestesiados con PENTOBARBITAL.

	<u>Corticosteroides</u> ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)	<u>Glucosa</u> ($\text{mg}/100 \text{ ml}$)
	0,36	92
	0,86	104
	1,64	92
	0,79	93
	2,36	107
	1,79	100
	2,43	96
	4,08	86
Promedios	1,79	96
<u>\pmES</u>	<u>$\pm 0,43$</u>	<u>± 2</u>

Tabla 20

Contenido de Corticosteroides y Acido Ascórbico en glándula suprarrenal de animales sacrificados 2 horas después de la administración de MORFINA y previamente anestesiados con PENTOBARBITAL.

	Corticosteroides		Acido Ascórbico	
	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>
	2,75	1,00	1.136	398
	6,00	1,86	1.296	379
	18,25	4,67	1.104	373
	4,75	1,71	1.224	518
	2,38	0,60	1.472	530
	13,37	3,52	1.456	453
Promedios	7,92	2,23	1.281	442
<u>+ES</u>	<u>+2,63</u>	<u>+0,64</u>	<u>+ 64</u>	<u>+ 28</u>

Tabla 21

Contenido de Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal de animales sacrificados 2 horas después de la administración de MORFINA y previamente anestesiados con PENTOBARBITAL.

Noradrenalina		Adrenalina		
<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	
275	100	460	167	
849	367	1.101	480	
466	122	1.141	307	
432	134	984	299	
656	236	1.125	405	
824	211	1.066	273	
737	215	1.055	301	
Promedios	606	198	990	319
<u>+ES</u>	<u>± 82</u>	<u>± 34</u>	<u>± 91</u>	<u>± 38</u>

Tabla 22

Niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma de animales sacrificados 2 horas después de la administración de MORFINA y previamente anestesiados con PENTOBARBITAL.

	<u>Corticosteroides</u> ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)	<u>Glucosa</u> ($\text{mg}/100 \text{ ml}$)
	2,36	111
	4,64	96
	6,78	170
	4,14	150
	1,28	93
	5,93	143
Promedios	4,19	127
\pm ES	$\pm 0,85$	± 13

Tabla 23

Contenido de Corticosteroides y Acido Ascórbico en glándula su
 prarrenal de animales sacrificados 1 hora después de la admi-
 nistración de ACTH y previamente tratados con PENTOBARBITAL y
 MORFINA.

	Corticosteroides		Acido Ascórbico	
	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>
	18,75	9,94	1.080	572
	29,38	8,61	1.368	401
	22,63	8,64	1.128	431
	17,63	6,19	944	331
	27,38	7,34	1.320	354
Promedios	23,15	8,14	1.168	418
<u>±</u> ES	<u>±</u> 2,31	<u>±</u> 0,64	<u>±</u> 78	<u>±</u> 42

Tabla 24

Contenido de Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal de animales sacrificados 1 hora después de la administración de ACTH y previamente tratados con PENTOBARBITAL y MORFINA.

Noradrenalina		Adrenalina		
<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	
419	222	400	212	
874	256	997	292	
416	159	631	241	
906	318	1.054	370	
705	189	1.223	328	
Promedios	664	229	861	289
<u>±ES</u>	<u>±106</u>	<u>± 28</u>	<u>±150</u>	<u>± 29</u>

Tabla 25

Niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma de animales sacrificados 1 hora después de la administración de ACTH y previamente tratados con PENTOBARBITAL y MORFINA.

	<u>Corticosteroides</u> (μ G/100 ml)	<u>Glucosa</u> (mg/100 ml)
	8,35	104
	7,71	93
	15,21	143
	16,28	270
	9,00	107
Promedios	11,31	143
<u>±</u> ES	<u>±</u> 1,83	<u>±</u> 33

Tabla 26

Peso de las glándulas suprarrenales de animales sometidos a la administración de PENTOBARBITAL, PENTOBARBITAL + MORFINA y PENTOBARBITAL + MORFINA + ACTH.

Resultados expresados en mg/peso glándulas.

	Pentobarbital 1 h	Pentobarbital + Morfina 1 h	Pentobarbital + Morfina 2 h	Pentobarbital + Morfina + ACTH
	290	240	363	530
	241	345	289	293
	232	271	262	382
	299	315	310	351
	352	239	360	268
	304	217	250	
		221	256	
		284		
Promedios	286	267	299	365
+ES	+ 18	+ 16	+ 18	+ 46

Tabla 27

Contenido de Corticosteroides y Acido Ascórbico en glándula suprarrenal de animales sometidos a la administración prolongada de SOLUCION SALINA -7 días- y sacrificados 1 hora después de la última inyección.

	Corticosteroides		Acido Ascórbico	
	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>
	17,38	4,76	1.240	340
	8,50	2,93	1.080	373
	9,50	3,77	1.272	382
	7,00	3,44	1.528	553
	15,38	5,41	1.320	465
	6,50	2,14	1.552	464
	12,44	3,87		
Promedios	10,96	3,76	1.332	430
<u>+ES</u>	<u>+ 1,59</u>	<u>+0,41</u>	<u>+ 74</u>	<u>+ 32</u>

Tabla 28

Contenido de Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal de animales sometidos a la administración prolongada de SOLUCION SALINA -7 días- y sacrificados 1 hora después de la última inyección.

Noradrenalina		Adrenalina		
<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	
872	239	967	265	
806	278	1.061	366	
503	151	917	275	
273	151	1.025	371	
574	202	483	267	
264	79	574	207	
694	250	381	114	
Promedios	569	193	773	266
<u>+ES</u>	<u>+ 91</u>	<u>+ 26</u>	<u>+107</u>	<u>+ 34</u>

Tabla 29

Niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma de animales sometidos a la administración prolongada de SOLUCION SALINA -7 días- y sacrificados 1 hora después de la última inyección.

	<u>Corticosteroides</u> ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)	<u>Glucosa</u> ($\text{mg}/100 \text{ ml}$)
	2,07	71
	2,43	71
	4,07	85
	1,79	89
	1,36	81
	2,78	107
	1,57	100
Promedios	2,30	86
<u>+ES</u>	<u>+0,35</u>	<u>+ 5</u>

Tabla 30

Contenido de Corticosteroides y Acido Ascórbico en glándula suprarrenal de animales sometidos a la administración prolongada de MORFINA -7 días- y sacrificados 1 hora después de la última inyección.

	Corticosteroides		Acido Ascórbico	
	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>
	8,88	3,18	1.432	548
	9,37	3,59	1.336	405
	8,38	3,41	1.424	538
	5,75	1,37	1.056	401
	6,50	2,84	1.224	279
Promedios	7,78	2,88	1.294	434
<u>+ES</u>	<u>+0,70</u>	<u>+0,40</u>	<u>+ 70</u>	<u>+ 49</u>

Tabla 31

Contenido de Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal de animales sometidos a la administración prolongada de MORFINA -7 días y sacrificados 1 hora después de la última inyección.

	Noradrenalina		Adrenalina	
	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>
	851	326	188	72
	1.033	313	129	39
	1.185	448	101	38
	1.276	388	382	87
	1.000	349	314	51
Promedios	1.069	365	223	57
<u>+ES</u>	<u>+ 74</u>	<u>+ 24</u>	<u>+ 54</u>	<u>+10</u>

Tabla 32

Niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma de animales sometidos a la administración prolongada de MORFINA -7 días- y sacrificados 1 hora después de la última inyección.

	<u>Corticosteroides</u> ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)	<u>Glucosa</u> ($\text{mg}/100 \text{ ml}$)
	2,21	100
	4,28	131
	1,50	106
	2,64	115
	2,36	115
Promedios	2,60	113
<u>+ES</u>	<u>+0,46</u>	<u>+ 5</u>

Tabla 33

Contenido de Corticosteroides y Acido Ascórbico en glándula suprarrenal de animales sometidos a la administración prolongada de SOLUCION SALINA -14 días- y sacrificados 1 hora después de la última inyección.

Corticosteroides		Acido Ascórbico		
<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	
6,38	1,52	1.038	251	
13,13	2,86	1.200	330	
7,50	2,03	912	199	
11,88	2,79	1.032	348	
14,31	4,17	924	243	
Promedios	10,64	2,67	1.031	274
<u>+ES</u>	<u>+ 1,57</u>	<u>+0,45</u>	<u>+ 54</u>	<u>+ 28</u>

Tabla 34

Contenido de Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal de animales sometidos a la administración prolongada de SOLUCION SALINA -14 días- y sacrificados 1 hora después de la última inyección.

Noradrenalina		Adrenalina		
<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	
651	203	684	188	
623	179	862	194	
702	261	568	188	
749	265	855	201	
1.128	310	839	217	
Promedios	771	244	762	198
<u>±</u> ES	<u>±</u> 92	<u>±</u> 23	<u>±</u> 58	<u>±</u> 5

Tabla 35

Niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma de animales sometidos a la administración prolongada de SOLUCION SALINA -14 días- y sacrificados 1 hora después de la última inyección.

	<u>Corticosteroides</u> ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)	<u>Glucosa</u> ($\text{mg}/100 \text{ ml}$)
	1,93	104
	3,14	89
	2,43	89
	2,86	100
	2,28	98
Promedios	2,53	96
<u>+ES</u>	<u>+0,21</u>	<u>+ 3</u>

Tabla 36

Contenido de Corticosteroides y Acido Ascórbico en glándula suprarrenal de animales sometidos a la administración prolongada de MORFINA -14 días- y sacrificados 1 hora después de la última inyección.

Corticosteroides		Acido Ascórbico		
<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	
5,50	2,05	1.920	617	
1,38	0,56	1.416	571	
4,75	2,63	1.392	557	
4,00	1,73	1.832	601	
6,25	2,11	2.072	714	
7,25	2,80	1.064	593	
5,00	1,65	1.616	648	
Promedios	4,88	1,93	1.616	614
<u>±</u> ES	<u>±</u> 0,71	<u>±</u> 0,28	<u>±</u> 133	<u>±</u> 20

Tabla 37

Contenido de Noradrenalina y Adrenalina en glándula suprarrenal de animales sometidos a la administración prolongada de MORFINA -14 días- y sacrificados 1 hora después de la última inyección.

Noradrenalina		Adrenalina		
<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	<u>µg/g tejido</u>	<u>µg/glándulas</u>	
546	220	352	125	
859	475	532	142	
653	282	819	230	
619	177	892	276	
1.172	462	708	301	
524	173	370	122	
840	307	619	255	
Promedios	745	299	613	207
<u>+ES</u>	<u>± 87</u>	<u>± 48</u>	<u>± 79</u>	<u>± 29</u>

Tabla 38

Niveles de Corticosteroides y Glucosa en plasma de animales sometidos a la administración prolongada de MORFINA -14 días- y sacrificados 1 hora después de la última inyección.

	<u>Corticosteroides</u> ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)	<u>Glucosa</u> ($\text{mg}/100 \text{ ml}$)
	1,79	133
	1,79	96
	2,86	126
	3,07	92
	1,64	121
	1,43	99
	5,14	113
Promedios	2,53	111
<u>+ES</u>	<u>+0,49</u>	<u>+ 6</u>

Tabla 39

Peso de las glándulas suprarrenales de animales sometidos a la administración prolongada de SOLUCION SALINA y MORFINA. Resultados expresados en mg/peso glándulas.

	7 días		14 días	
	Control	Morfina	Control	Morfina
	274	383	231	372
	345	303	275	403
	300	278	218	432
	362	380	271	337
	342	228	235	425
	352			330
	299			420
Promedios	325	334	246	388
<u>+ES</u>	<u>+ 13</u>	<u>+ 31</u>	<u>+ 11</u>	<u>+ 16</u>

Tabla 40

Eliminación diaria en orina de Corticosteroides, Noradrenalina y Adrenalina de animales antes de ser sometidos a tratamiento²⁴.

Corticosteroides ($\mu\text{g}/24 \text{ hr}$)	Noradrenalina ($\mu\text{g}/24 \text{ hr}$)	Adrenalina ($\mu\text{g}/24 \text{ hr}$)	Volumen Orina (ml/24 hr)	
7,31	1,25	0,28	103	123
11,70	2,34	0,28	120	89
10,62	2,03	0,35	109	119
9,90	2,12	0,46	78	115
8,39	1,91	0,33	88	150
7,17	2,70	0,45	97	115
10,40	1,88	0,52	142	112
8,38	1,02	0,30	78	119
9,04	1,53	0,32	106	100
10,48	1,74	0,47	105	70
8,54	1,69	0,42	80	166
8,82			125	115
8,24				
Promedios	9,15	1,84	0,38	109
+ES	+0,37	+0,14	+0,03	± 5

²⁴ cada resultado expresa al menos el promedio de 3 determinaciones previas por animal.

Tabla 41

Eliminación diaria de Corticosteroides en orina de animales sometidos a la administración prolongada de SOLUCION SALINA. Resultados expresados en $\mu\text{g}/24$ horas; (ver texto).

días	1	2	3	4	5	6	7	9	11	13
	8,93	5,32	10,36	6,60	10,21	5,41	8,80	6,42	5,97	6,36
	9,50	10,04	9,15	9,48			7,26	8,28	6,48	7,72
	8,48	7,13	7,36	7,87	11,42	8,38	5,76	9,79	9,14	10,02
	9,83	7,06	7,73	5,60	9,66	10,20		8,95	7,39	8,98
	8,11	9,08	8,18		8,05	7,84	7,50	7,84	5,62	7,17
Promedios	8,97	7,73	8,56	7,39	9,83	7,96	7,33	8,26	6,92	8,05
+ES	+0,32	+0,83	+0,54	+0,84	+0,70	+0,99	+0,63	+0,57	+0,64	+0,65

Tabla 42

Eliminación diaria de Noradrenalina en orina de animales sometidos a la administración prolongada de SOLUCION SALINA. Resultados expresados en $\mu\text{g}/24$ horas; (ver texto).

días	1	2	3	4	5	6	7	8	10	12	14
	0,84	1,77	1,29	2,22	0,99	1,53	1,53	1,17	1,56	1,23	1,44
	1,14	1,47	1,47	0,96	1,56	2,22	1,32	1,53	1,26	1,59	1,47
	2,10	1,20	1,80	1,86	2,22	1,65		1,17	1,17	1,41	1,41
	1,95	1,74	1,53	2,82	1,47	1,83	2,73	1,26	1,51	1,49	1,14
	1,71	1,65	0,93	2,04	1,53	0,66	0,99	1,14	1,53		1,47
Promedios	1,55	1,59	1,40	1,98	1,55	1,58	1,64	1,28	1,41	1,43	1,39
+ES	+0,24	+0,13	+0,14	+0,30	+0,19	+0,25	+0,37	+0,09	+0,08	+0,08	+0,06

Tabla 43

Eliminación diaria de Adrenalina en orina de animales sometidos a la administración prolongada de SOLUCION SALINA. Resultados expresados en $\mu\text{g}/24$ horas; (ver texto).

días	1	2	3	4	5	6	7	8	10	12	14
	0,15	0,21	0,18	0,36	0,30	0,39	0,18	0,15	0,36	0,42	0,33
	0,15		0,24	0,36	0,27	0,36	0,18	0,30	0,42	0,27	0,39
	0,27	0,48	0,36	0,36	0,48	0,33			0,36	0,48	0,36
	0,39	0,24	0,42	0,33	0,42	0,24	0,66	0,21	0,30	0,39	0,30
	0,60	0,57	0,33	0,45	0,36	0,42	0,30	0,15	0,36		0,24
Promedios	0,31	0,37	0,31	0,37	0,37	0,35	0,33	0,20	0,36	0,39	0,32
+ES	+0,08	+0,09	+0,04	+0,02	+0,04	+0,03	+0,11	+0,04	+0,02	+0,04	+0,03

Tabla 44

Volumen diario de orina de animales sometidos a la administración prolongada de SOLUCION SALINA. Resultados expresados en ml/24 horas; (ver texto).

días	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
120	114	100	100	76	105	94	78	110	110	90	90	116	116	
88	94	76	82	82			94		124	109	109	152	152	
80	100	80	84	84	78	86	110		105	111	111	134	134	
96	81	88	80	80	86	105			98	78	78	120	120	
108	100	105			138	80	95		110	114	114	44	44	
87	74	90	158	158	102	90	84	72		75		80	80	82
70		85	72	72	134	102	120	92		100		135	135	86
135	100	110	119	119	105	140				110		113	113	138
98	76	84	138	138	95	86	98	154		100		98	98	95
140	114	96	100	100	121	80	68	68		102				80
Promedios	102	95	91	101	107	96	93	97	109	97	100	106	113	96
+ES	+ 7	+ 5	+ 3	+ 10	+ 7	+ 6	+ 6	+ 20	+ 4	+ 6	+ 7	+ 12	+ 18	+ 11

Tabla 45

Eliminación diaria de Corticosteroides en orina de animales sometidos a la administración prolongada de MORFINA. Resultados expresados en $\mu\text{g}/24$ horas; (ver texto).

días	1	2	3	4	5	6	7	9	11	13
	12,66	11,80	10,30	8,29	12,18	8,93	7,94	13,21	10,97	7,98
	12,20	13,69	14,70	12,60	15,26	13,25	15,46	12,44	14,97	11,43
	13,02	10,82	12,55	13,51	11,17	9,92	7,12	10,93	7,25	7,08
	12,32	19,87	12,90	14,42	10,01	12,00	13,65	7,02	9,36	5,62
	13,19	12,38	20,16	16,22	15,32	14,89	12,73			
	18,95	21,70	11,28	15,10	10,62	15,84	9,98			
	17,41	23,80	15,60	12,20	10,56	9,24	13,77			
Promedios	14,25	16,29	13,93	13,19	12,16	12,01	11,52	10,90	10,64	8,03
+ES	+ 1,04	+ 2,02	+ 1,25	+ 0,97	+ 0,85	+ 1,05	+ 1,21	+ 1,38	+ 1,63	+ 1,23

Tabla 46

Eliminación diaria de Noradrenalina en orina de animales sometidos a la administración prolongada de MORFINA. Resultados expresados en $\mu\text{g}/24$ horas; (ver texto).

días	1	2	3	4	5	6	7	8	10	12	14
	8,22	12,03	12,36	13,26	10,29	8,91	6,99	2,22	3,27	3,07	2,91
	12,12	21,42	13,65	12,96	9,09	5,61	5,19	4,41	2,61	2,13	2,55
	3,94		5,37	4,47	4,89	3,15	3,99	4,17	3,34	3,48	2,97
	3,66	9,30	10,05	8,34	5,49	3,66	3,99	4,17	2,41	3,22	2,79
	4,86	5,58	6,09	5,22	4,59						
	4,11		5,13	3,48	5,13	3,84	4,59				
Promedios	6,16	12,08	8,78	7,96	6,58	5,03	4,95	3,74	2,91	2,97	2,80
+ES	+1,37	+ 3,38	+1,53	+1,76	+1,00	+1,05	+0,55	+0,51	+0,23	+0,29	+0,09

Tabla 47

Eliminación diaria de Adrenalina en orina de animales sometidos a la administración prolongada de MORFINA. Resultados expresados en $\mu\text{g}/24$ horas; (ver texto).

días	1	2	3	4	5	6	7	8	10	12	14
8,73	1,41	2,04	2,13	1,65	1,77	0,99	0,63	1,11	0,63	0,82	0,82
8,34	2,22	2,04	1,32	1,41	1,47	0,90	1,08	0,93	1,00	0,78	0,78
2,82	1,11	1,26	1,11	1,17	1,47	1,26	1,20	0,81	1,38	0,63	0,63
2,13	2,70	2,46	1,53	0,96	0,99	0,93	1,14	0,75	1,35	0,67	0,67
4,95	3,48	2,07	1,68	1,11	1,08						
2,91	1,71	1,20	1,47	1,17	1,10						
Promedios	4,98	2,45	1,93	1,50	1,30	1,30	1,04	1,01	0,90	1,09	0,73
+ES	+1,19	+0,33	+0,17	+0,15	+0,10	+0,15	+0,07	+0,13	+0,08	+0,18	+0,04

Tabla 48

Volumen diario de orina de animales sometidos a la administración prolongada de MORFINA.
 Resultados expresados en ml/24 horas; (ver texto).

días	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
103	115	96	86	114	120	105	141	108	99					
93	80	120	94	120	123	119	116	140						
147	110	115	84	105	56	104	112	110						
105	91	76	70	84	126	98								
146	104	100	120	144	190	116								
90	103	132	102	114	150	95								
104	95	112	88	138	106	140								
135	100	115	126	66	112	80								
135	90	125	87	94		151								
76		83	140	122	135	118	100	133	112					
72	103	96	130	135	90	114	64	125	112	85				
104	91	116	75	70	66		150	135	136	142				
111		98	116	146	132	107	136	111	129	123				
Promedios	109	98	106	101	112	117	113	113	135	126	117	127	116	116
+ES	+7	+10	+5	+6	+7	+10	+6	+19	+12	+5	+4	+5	+9	+12

D I S C U S I O N

Gran parte de los trabajos que se han realizado para estudiar el efecto que la morfina pudiera tener sobre el eje hipófisis-suprarrenal, se han llevado a cabo determinando en animales de experimentación las variaciones de ácido ascórbico suprarrenal que siguen a la administración de la droga. No obstante, la relación existente entre la producción de corticosteroides en la glándula y la variación de ácido ascórbico no está todavía claramente definida, y así, situaciones que llevan a un aumento del nivel de corticosteroides en la suprarrenal y plasma, no siempre van acompañadas de descensos del contenido de ascórbico suprarrenal (26).

Briggs y Munson (10,82), encontraron que la administración de morfina en dosis única causaba en la rata intacta una depleción de ácido ascórbico; sin embargo estos autores no estudiaron las variaciones del contenido de corticosteroides en la glándula suprarrenal y/o plasma.

Nuestros resultados, en que frente a un aumento altamente significativo de corticosteroides en suprarrenales y plas

ma, no se observan descensos significativos del contenido de ácido ascórbico en esta glándula, parecen confirmar (54,71) que el grado de activación de la corteza suprarrenal no siempre puede ser determinado por las variaciones de ácido ascórbico y por tanto cabe poner objeciones a ciertos trabajos (44,84) en los que sólo se utilizó este parámetro para determinar los efectos de la morfina sobre el metabolismo corticosuprarrenal. Si en el presente estudio, hubiésemos determinado solamente las variaciones de ácido ascórbico, habríamos llegado a la conclusión de que la administración de morfina en dosis única carece de acción sobre la secreción de ACTH bajo nuestras condiciones experimentales.

Nakao y col. (83) hacen un estudio más amplio que el de Briggs y Munson, determinando además las variaciones de corticosterona en plasma y suprarrenales de la rata intacta; estos autores encuentran aumentos en los niveles de corticosteroides y una depleción de ácido ascórbico en glándula una hora después de la administración intraperitoneal de morfina; a las tres horas de la inyección, ven persiste la depleción de ascórbico suprarrenal pero los niveles de corticosteroides han retornado al nivel de los animales inyectados con solución salina. En nuestro estudio empleando dosis semejantes de morfina (por kilo de peso) y la misma vía de administración que Nakao y col., nunca hallamos

depleción de ácido ascórbico y a las 3 horas de administrar la droga persiste significativamente elevado el nivel de hidrocortisona tanto en plasma como en glándula suprarrenal. Esto parece indicar, que la sensibilidad del gato a la acción de la morfina, al menos en cuanto a respuesta adrenocortical se refiere, es mayor que en la rata, toda vez que se observa una mayor duración del efecto de la droga sobre los niveles de corticosteroides.

Se ha pensado que el efecto de la morfina sobre la producción de corticosteroides pudiera ser debido a una acción directa de la droga sobre la glándula suprarrenal (88). Para tratar de aclarar este problema, Nakao y col. (83) estudiaron la respuesta suprarrenal en ratas hipofisectomizadas, hallando que bajo estas condiciones, la administración de morfina no modificaba el bajo nivel de corticosteroides de la glándula, consecuencia de la ablación de la hipófisis; esto les llevó a concluir que el efecto de la administración aguda de morfina no debía ser atribuído a una acción directa de la droga sobre la glándula suprarrenal.

Se sabe que en la rata, el conejo, el ratón, el perro y otras especies animales utilizadas en trabajos experimentales (75,76,86,122,126), la administración de morfina ejerce una acción sedante y analgésica en mayor o menor grado, según dosis y situación experimental; sin embargo, en el gato la administración

de morfina en dosis única tiene un claro efecto excitante (77), hecho que también hemos comprobado en nuestro trabajo. No obstante, tanto en la rata (83) como en el gato, según se demuestra en el presente estudio, la inyección inicial de morfina produce un aumento del contenido de corticosteroides en suprarrenales y plasma; esto, parece apuntar una falta de relación entre el efecto que la morfina en dosis única tiene sobre las hormonas corticosuprarrenales y la acción sedante o excitante de la droga.

Algunos autores han indicado que las catecolaminas del cerebro y de la médula suprarrenal parecen responder paralelamente como partes del eje simpático-adrenomedular (75,77,125) y que la mayor labilidad de las catecolaminas de la glándula suprarrenal pudiera ser atribuida a una menor capacidad de realmacenamiento en la glándula que en el cerebro (106); ahora bien, hay que tener presente que el contenido de catecolaminas, tanto en el cerebro como en las suprarrenales, representa el efecto neto de las velocidades de biosíntesis, recaptación y liberación de dichas bioaminas.

Los resultados obtenidos respecto a las variaciones de catecolaminas adrenales por la administración inicial de morfina están en cierto modo de acuerdo con los trabajos clásicos de Vogt (125). Este autor, empleando la vía subcutánea, dosis seis veces

superiores a la nuestra y una metodología para la determinación de catecolaminas (23,124) diferente a la que nosotros seguimos, halla tres horas después de la administración de morfina descensos paralelos del contenido de catecolaminas en suprarrenales y cerebro. El que una hora después de la inyección encontremos una caída significativa del contenido de adrenalina y noradrenalina en las suprarrenales, logicamente puede ser atribuido a una mejor y más rápida absorción de la droga, dada la vía de administración que utilizamos; sin embargo, el problema de la dosis requiere un estudio más amplio, toda vez que en la rata dosis elevadas de morfina producen menor sedación que pequeñas dosis (76).

Que el efecto de la morfina sobre las catecolaminas de la médula suprarrenal se debe realizar a través de una estimulación simpático-adrenomedular fue ya mencionado por Elliot (34). Posteriormente Vogt (125), encontró descensos paralelos en los niveles de catecolaminas en glándula suprarrenal e hipotálamo; observó también que aún cuando la denervación de la suprarrenal impedía el descenso del contenido de catecolaminas en la glándula, no influenciaba los descensos observados en el hipotálamo. Borison (5) postula más tarde que la morfina debe actuar en áreas del cerebro capaces de estimular el sistema nervioso simpático, habiendo sido demostrado que la liberación de catecolaminas por la

glándula suprarrenal es el responsable primario de la hiperglucemia producida por la morfina (121).

Paralelamente a los descensos del contenido de noradrenalina y adrenalina en la glándula suprarrenal del gato que siguen a la administración inicial de morfina, encontramos aumentos altamente significativos en la eliminación urinaria de ambas bioaminas durante las primeras veinticuatro horas que siguen a la administración de la droga; esto, unido al intenso efecto hiperglucemiante que observamos por la administración inicial de morfina, nos hace compartir la hipótesis de que la droga causa un aumento en la liberación de las hormonas adrenomedulares, debido a una activación en la estimulación simpática (34,51,76).

Es interesante resaltar, que la depleción de catecolaminas que hallamos en la glándula suprarrenal, es aproximadamente del mismo orden para la adrenalina que para la noradrenalina, de forma que la relación normal existente en la glándula entre ambas bioaminas es mantenida tras la administración en dosis única de morfina, lo que parece indicar que bajo esta situación, en el gato intacto se estimula la secreción adrenal de ambas bioaminas en un grado semejante.

Por otro lado, se sabe que un aumento de la actividad del sistema nervioso simpático, inducido por estimulación direc-

ta (100) o bien la administración de drogas como la reserpina o 6-hidroxidopamina, aumentan la actividad del enzima tirosina hidroxilasa (4,116), que interviene en el paso de tirosina a dopa y que según algunos autores (65,68) debe ser el escalón limitante en la formación de catecolaminas tanto en la glándula suprarrenal como en el cerebro. Smith y col. (106), utilizando como animal de experimentación el ratón, han demostrado que la administración de morfina en una sola dosis, no solo aumenta casi al doble la incorporación de ^{14}C -tirosina a ^{14}C -catecolaminas (^{14}C -adrenalina + ^{14}C -noradrenalina) en la glándula suprarrenal, sino que disminuye aproximadamente a una tercera parte el tiempo de máxima incorporación de la tirosina, tiempo que en los animales no sometidos a tratamiento es aproximadamente de dos horas. Estos mismos autores observaron un efecto parecido en el cerebro, pero no en el corazón y bazo.

El hecho de que bajo nuestras condiciones experimentales, a las tres horas de haber inyectado la droga el nivel, tanto de noradrenalina como de adrenalina en la glándula suprarrenal sea semejante al de sus respectivos controles, pudiera ser atribuido a un aumento en la síntesis de catecolaminas en la glándula, producido por una elevación de la tirosina hidroxilasa, como consecuencia de la estimulación simpática producida por la morfina.

Algunos autores (72,123,133,134) basados principalmente en estudios realizados en ratas hipofisectomizadas, han afirmado que los corticosteroides que procedentes de la corteza perfunden la médula suprarrenal deben regular la actividad del enzima PNMT que interviene en la metilación de la noradrenalina. Ante nuestros resultados en los que a las 3 horas de inyectar la droga no encontramos variaciones significativas del contenido de catecolaminas y no hallamos desplazada a favor de la adrenalina la relación adrenalina/noradrenalina, parecen indicar que a este intervalo de tiempo, aún cuando el nivel de corticosteroides en la glándula suprarrenal está significativamente elevado, la formación de adrenalina no parece estar aumentada.

En los animales anestesiados con pentobarbital encontramos descensos del contenido de corticosteroides en la glándula aún cuando el nivel en plasma es ligeramente superior a en los animales control. Esta diferencia entre el nivel de hidrocortisona en plasma y glándula pudiera atribuirse a que en los primeros minutos que siguen a la inyección del anestésico se produce un estado de agitación en el animal y probablemente esta situación dé lugar a una liberación adrenal de esteroides, hecho que también ocurre cuando comienza a desaparecer el efecto del anestésico (94). El descenso de corticosteroides que bajo nues-

tras condiciones experimentales se observa en la glándula suprarrenal puede correlacionarse con los resultados aportados por Krieger y col. (62); estos autores observaron que la administración de pentobarbital, al mismo tiempo de producir anestesia en el gato, causaba la abolición del ritmo circadiano de hormonas corticosuprarrenales, e indican que el efecto pudiera ser atribuido a una acción bloqueante del pentobarbital sobre zonas del sistema nervioso central relacionadas con el control de la secreción de hormona adrenocorticotropa.

También Rerup y Hedner (94), estudiando en la rata el efecto del pentobarbital encontraron que este anestésico, a diferencia del éter, reduce los niveles de corticosteroides en plasma mientras el animal está anestesiado; bajo esta situación, la administración de solución salina por vía subcutánea, intraperitoneal o intravenosa no modifica el bajo nivel de corticosterona, si bien intervenciones quirúrgicas de pequeño grado como es una incisión cutánea, aumenta el nivel de corticosteroides en sangre. Opuestamente Nakao y col. (83), observaron que la administración de pentobarbital a ratas produce una depleción de ácido ascórbico suprarrenal y un aumento de corticosterona en suprarrenales y plasma; ésto les llevó a decir que el pentobarbital, debe producir una estimulación del eje hipófisis-suprarrenal, e

indican que la discrepancia de sus resultados con los de otros autores debe atribuirse a diferencias entre las variedades de ratas utilizadas en los distintos laboratorios.

En trabajos recientes se ha visto que en animales sometidos a anestesia con pentobarbital, la actividad de neuronas noradrenérgicas y dopaminérgicas del cerebro se encuentra disminuida (19,89). Sharkawi (102) demuestra que el pentobarbital como consecuencia de descensos en la actividad neural, aumenta la concentración de acetilcolina en la corteza cerebral por una reducción de la liberación de este neurotransmisor. Nuestros resultados indican, que la administración de pentobarbital no modifica significativamente el contenido de noradrenalina y de adrenalina en la glándula suprarrenal.

Por otro lado, hemos visto que en el gato intacto el pentobarbital es capaz de inhibir la acción que la morfina tiene sobre la producción de corticosteroides en la glándula suprarrenal; como se ha dicho, el efecto de la morfina sobre la producción de hormonas corticosuprarrenales debe ser ejercido a nivel de centros del sistema nervioso relacionados con el control de la secreción de ACTH y ante nuestros resultados cabe pensar que el pentobarbital ejerce su acción en estos mismos centros u otros directamente relacionados. A diferencia de lo que ocurre con

otros estímulos (administración de adrenalina, histamina, vasopresina o laparatomía del animal), que se sabe producen hipersecreción de adrenocorticotropina aún en animales anestesiados (11), en nuestro estudio encontramos que la morfina potencia el descenso de glucocorticoides a que lleva la anestesia con pentobarbital. El por qué de esta diferencia creemos requiere un estudio a fondo de los efectos que estos tratamientos puedan tener sobre neurotransmisores de zonas específicas del cerebro.

Maynert y Levi (77), observaron que el previo tratamiento con pentobarbital a la administración de morfina inhibía en gatitos de cría la depleción de adrenalina suprarrenal que se produce por la inyección única de morfina. Sin embargo, estos autores no encontraron que la administración única de morfina produjese descensos en el contenido adrenal de noradrenalina, ni tampoco por el tratamiento conjunto de pentobarbital y morfina. En el presente estudio, si bien encontramos que el pentobarbital bloquea el descenso que la morfina produce sobre el contenido de adrenalina adrenal, la concentración de noradrenalina continúa siendo significativamente inferior a la de los animales control. El hecho de que el nivel de glucosa en plasma por este tratamiento sea semejante al observado en los controles o en los animales únicamente tratados con pentobarbital y significativamente inferior al obser

vado en los animales a los que sólo se administró morfina, apoya la idea (121) de que la hiperglucemia producida por la administración inicial de morfina debe ser reflejo de un aumento en la liberación de adrenalina suprarrenal.

Rubin y Miele (98) perfundiendo glándulas suprarrenales con diferentes fármacos, encontraron que la relación adrenalina/noradrenalina liberada por la glándula dependía del fármaco, concentración utilizada y duración del estímulo. Feurstein y Gutman (39), observaron que la hemorragia lleva a una liberación preferencial de noradrenalina, mientras que en la hipoglucemia insulínica es liberada principalmente adrenalina, habiéndose postulado (28,30,93) que la médula suprarrenal puede liberar preferencialmente adrenalina o noradrenalina, posiblemente por la existencia de diferentes terminaciones nerviosas espláncicas para los dos tipos de células cromafines existentes en la suprarrenal que almacenan estas bioaminas y cuyo control debería realizarse por diferentes centros del sistema nervioso central (39). El hecho de que bajo nuestras condiciones experimentales, el pentobarbital sea capaz de inhibir el descenso del contenido adrenal de adrenalina pero no de noradrenalina que siguen a la administración inicial de morfina, apoya la hipótesis mencionada acerca de una secreción preferencial de ambas bioaminas, al menos para determinados estímulos.

Recientemente se ha indicado que el pentobarbital puede afectar la esteroidogénesis suprarrenal, posiblemente por interferir en la conversión de pregnenolona a progesterona (58); frente a estos resultados obtenidos por experiencias realizadas "in vitro", en nuestro estudio, hallamos que la suprarrenal de los animales tratados con pentobarbital y morfina responde normalmente a una estimulación exógena con adrenocorticotropina, por lo que pensamos que en el animal intacto, el efecto del pentobarbital no parece tenga lugar a nivel cortico suprarrenal.

Se debe tener en cuenta que la administración de ACTH en nuestras experiencias se ha realizado una hora después de la inyección de morfina a animales previamente anestesiados y cuando el contenido de corticosteroides en la glándula estaba disminuído; en estas condiciones, tanto la concentración de noradrenalina como de adrenalina no difiere significativamente de la hallada en los animales a los que no se administró ACTH, pero sí pentobarbital y morfina y sacrificados al mismo intervalo de tiempo. Según Leach y Lipscomb (67), sólo cuando previamente existe una función adrenocortical disminuída (hipofisectomía), los glucocorticoides pueden aumentar la actividad del enzima metilante de la noradrenalina y el contenido de adrenalina. En

nuestras experiencias la administración de ACTH a los animales en un momento de hipofunción adrenocortical, no modifica el contenido adrenal de adrenalina, lo que corrobora trabajos anteriores (71,95) en que se ha dicho que al menos en el gato intacto, los glucocorticoides no parecen ser factor primordial en el proceso de metilación de la noradrenalina.

Algunos autores determinaron el peso de las suprarrenales con el propósito de conocer si la administración prolongada de morfina tenía un efecto depresor sobre el lóbulo anterior de la hipófisis. Sung y col. (109) y Tanabe y Cafruni (111) observaron que en la rata intacta, la administración repetida de morfina producía una hipertrofia suprarrenal. Las variaciones de peso de las suprarrenales encontradas en nuestro estudio son poco demostrativas para con solo este dato inclinarnos en favor o en contra del criterio anteriormente expuesto.

Durante el tratamiento crónico con morfina, Akera y Brody (1) no encuentran aumento del peso de las suprarrenales en la rata; según estos autores, la administración de morfina (en dosis progresivas 5-30 mg/Kg por día) deberán repetirse al menos tres veces durante el día, ya que la duración de la acción de esta droga es inferior a ocho horas y por ello cualquier cambio que resulte al administrar morfina una o dos veces

por día, debería ser atribuido al fenómeno de abstinencia en la rata más que al efecto de la administración crónica de mor
fina en sí.

No obstante, según Nikodijevic y Maickel (85), la administración repetida de morfina tres veces en las veinticuatro horas en dosis no elevadas tiene muy poco efecto sobre el nivel de ACTH en la rata, mientras que dosis elevadas (30 mg/Kg, 3 veces en las 24 horas), causa un marcado descenso. Hay que tener en cuenta que estos últimos autores determinan ácido ascórbico suprarrenal y corticosteroides en sangre, mientras que Akera y Brody determinan sólo como respuesta adreno-cortical el peso de las suprarrenales.

Eisenman y col. (32,33), observaron que la administración continuada de morfina producía en el hombre una disminución en la eliminación diaria en orina de 17-cetosteroides y de 17-hidroxycorticosteroides; esto les llevó a concluir que el efecto era debido a una reducción en la producción de corti
costeroides. Opinamos con Eisenman que efectivamente, la administración continuada de morfina produce una disminución en la formación adrenal de corticosteroides toda vez que en los animales sacrificados una semana después de la administración dia
ria de morfina, encontramos una disminución del contenido de

hidrocortisona en suprarrenales, siendo este descenso significativo cuando la administración se prolonga durante 14 días; a este intervalo de tiempo está significativamente elevado el nivel suprarrenal de ácido ascórbico, hecho que según algunas hipótesis (60) indica deficiencia en la esteroidogénesis suprarrenal.

Diversos autores (78,85) han observado que en los animales tratados crónicamente con morfina se produce una respuesta suprarrenal normal a la estimulación exógena con adrenocorticotropina. Por ello, en nuestro estudio la administración prolongada de morfina, inversamente a lo que ocurre por la administración en dosis única, creemos, causa una disminución de ACTH endógeno, hecho que por otro lado también ocurre con ciertos tranquilizantes.

Si bien Eisenman y col. (32) indicaron que en el hombre la administración continuada de morfina produce un descenso de corticosteroides en plasma, nosotros encontramos que a los 14 días de tratamiento, el gato mantiene todavía dentro de los valores normales el nivel de hidrocortisona circulante; cabe pensar en procesos metabólicos distintos entre las especies, si bien hay que tener presente que los resultados de Eisenman proceden de un estudio realizado con solamente dos personas que voluntariamente aceptaron someterse a la prueba y no pueden consi

derarse como concluyentes. Creemos que la deficiente estimulación corticosuprarrenal consecuencia de una disminución de ACTH producida por la administración prolongada de morfina, podría dar lugar a un desequilibrio entre la velocidad de síntesis y liberación de corticosteroides, liberación que para mantener el nivel circulante dentro de límites próximos a la normalidad, acentuaría la disminución del contenido suprarrenal de corticosteroides que se observa por la administración continuada de morfina.

El camino principal para la detoxicación de la morfina en el hombre es el de su conjugación al estado de glucurónido (56); después de la administración intravenosa de morfina el nivel circulante alcanza un dintel máximo y luego declina progresivamente mientras que uno de sus conjugados, la morfina-3-glucurónido aumenta durante cierto tiempo para luego iniciar también un descenso. Una elevada proporción de morfina conjugada y pequeñas cantidades de morfina libre son determinadas en la orina y aún cuando trazas de la droga pueden detectarse a las cuarenta y ocho horas de su administración, el noventa por ciento de la eliminación tiene lugar en las primeras veinticuatro horas. Además, cierta proporción de morfina conjugada puede hallarse en la bilis y la pequeña proporción que eventualmente aparece en las heces procede casi exclusivamente de aquella.

La administración crónica de morfina produce un descenso de la actividad de la UDP-glucuroniltransferasa del hígado de la rata (110). Se ha visto que el gato no excreta cantidades apreciables de glucurónidos después de la administración de drogas glucuronidogénicas (96) y que el hígado de este animal no forma glucurónidos o lo hace a muy bajo nivel (52); según Dutton (31), ésto se debe a una manifiesta deficiencia de UDP-glucuroniltransferasa en el hígado. Estos mamíferos son capaces de formar glucurónido de bilirrubina (66), no conjugan con el ácido glucurónico los salicilatos (99), pueden excretar a través de la bilis determinados esteroides (114,115) pero se ha demostrado la falta de eliminación en orina de corticosteroides conjugados al estado de glucurónidos (6).

Aún cuando la morfina-3-glucurónido es el principal metabolito de la morfina, en algunos mamíferos entre ellos el hombre y la rata (136), se elimina también en la orina morfina-6-glucurónido, metabolito que según Mori (80) tiene un poder analgésico mucho mayor que la propia morfina; sin embargo, según Fujimoto y Haarstad (40) y Yeh y col. (135) el gato tampoco elimina la morfina conjugada al estado de glucurónido.

La conjugación al estado de sulfato es también un método de detoxicación del organismo animal frente a compuestos

que en su molécula poseen grupos hidroxilo; en algunas especies, la morfina-6-sulfato tiene un efecto analgésico semejante al 6-glucurónido, pero este metabolito tampoco ha sido identificado en la orina del gato (80); según Fujimoto y Haarstad (40), el principal metabolito excretado por el gato es la morfina-3-sulfato.

Aún teniendo en cuenta que en la especie animal con que trabajamos, la conjugación de la morfina y de los corticosteroides así como la eliminación de éstos (7,8,114,115) es diferente a en el hombre y especies animales de uso más frecuente en el laboratorio, cabría pensar el si la mayor eliminación en orina de corticosteroides que observamos durante los primeros días de tratamiento con morfina pudiera ser atribuido a un problema competitivo de conjugación entre los corticosteroides y la droga.

El aumento en la eliminación diaria de noradrenalina y adrenalina en orina que observamos durante todo el tratamiento con morfina, creemos debe ser reflejo de una estimulación prolongada del sistema simpático-adrenomedular producido por la droga (1,51,128). El hecho de que la eliminación urinaria de ambas bioaminas sea mucho más pronunciado en los primeros días y que dicha respuesta vaya siendo progresivamente menor al ir aumentando los días de tratamiento, parece indicar, de acuerdo con la hipó-

tesis mantenida por Gunne (51), la existencia de una cierta relación entre la adaptación del animal al tratamiento prolongado con morfina y la liberación de catecolaminas.

Estudiando el efecto de la administración crónica con morfina, Maynert (76) encontró aumentos del contenido de noradrenalina en cerebro y de catecolaminas en la glándula suprarrenal de la rata intacta. Sin embargo, Gunne (51), estudiando este mismo problema, observó que el contenido adrenal de adrenalina era normal en animales sometidos a tratamiento prolongado con la droga.

Kvetnansky y col. (64,65) han encontrado en la rata, que por inmovilización repetida durante varios días consecutivos, paralelamente a un aumento en la liberación de adrenalina, se producen aumentos en el contenido adrenal de noradrenalina debido a una mayor actividad de la tirosina hidroxilasa; estos resultados les llevaron a sugerir que existe una adaptación de la médula suprarrenal frente a situaciones de stress que se refleja en un aumento de la síntesis de catecolaminas en la glándula suprarrenal.

Nuestros resultados obtenidos en animales sometidos a la administración prolongada de morfina durante, precisamente, períodos de tiempo inferiores a los que generalmente han sido

utilizados en otros trabajos (y en los que por tanto se ha omitido el estudio de las variaciones adrenomedulares de catecolaminas a que conduce en sus primeros estadios la administración prolongada de morfina), creemos pueden ser reflejo de los cambios que se producen en el contenido y liberación de catecolaminas de la glándula suprarrenal en una fase en que pudiera tener comienzo en el gato un proceso de adaptación a la droga.

La elevación del contenido de noradrenalina adrenal observado en los animales sacrificados a los siete días de tratamiento prolongado con morfina pudiera atribuirse a un aumento en la síntesis de noradrenalina producido por la estimulación simpática de la morfina. Sin embargo, el hecho de que la concentración de adrenalina en la glándula sea a este intervalo de tiempo significativamente inferior a la encontrada en los controles, aún cuando el nivel de su precursor, la noradrenalina, está significativamente elevado, indica que la velocidad de liberación de la adrenalina es mayor que la de su síntesis, posiblemente por una deficiencia en la metilación de su precursor. Si tenemos en cuenta que el nivel de corticosteroides en la glándula suprarrenal es ahora inferior a el observado en los animales control, y que por la administración de morfina durante catorce días se observa una disminución progresiva en la activi-

dad del eje hipófisis-suprarrenal, nuestros resultados apoyan el criterio de otros autores (117,133,134) que en ratas hipofisectomizadas observan descensos en la actividad del enzima metilante de la noradrenalina e incluso ligeros aumentos en el contenido adrenal de esta bioamina (132); no obstante puesto que una situación de hipofunción corticosuprarrenal de corta duración inducida por la administración conjunta de pentobarbital y morfina, no parece producir como hemos indicado, estos mismos efectos, creemos se requiere un período de tiempo relativamente largo de hipofunción del sistema hipófisis-suprarrenal para inducir descensos en el proceso de metilación de la noradrenalina (16).

El hecho de que a las dos semanas de inyección continuada de morfina, el contenido adrenal de noradrenalina y adrenalina sea aproximadamente igual al encontrado en los animales control, indica se ha restablecido el equilibrio entre la biosíntesis y liberación de ambas bioaminas en la médula suprarrenal.

En relación a la acción farmacológica de la morfina, se han observado marcadas diferencias entre las distintas especies animales; mientras en el hombre, el mono, el perro, el conejo, el ratón y la rata, el efecto de la droga es en mayor o

menor grado analgésico, produciendo sedación, depresión en la respiración y miosis, en otros como el caballo, la vaca, el gato, el cerdo y la cabra, el efecto de la droga es excitante, causando hiperactividad, estimulación en la respiración y mi-driasis.

Bajo nuestras condiciones experimentales hemos compro-bado que la administración de morfina en dosis única conduce a un estado de agitación que dura aproximadamente de 8 a 10 horas. El porqué de esta diferencia entre el gato y otras especies ani-males comunmente utilizadas en el laboratorio, creemos, de acuer-do con Maynert (77) puede ser debido a una mayor y más fácil li-beración de catecolaminas en la especie animal que estudiamos. La administración de morfina en dosis mayores a las que normal-mente producen sedación en algunas especies (74,75) producen pa-ralelamente descensos del contenido de noradrenalina en cerebro y menor sedación que dosis menores; este hecho parece apuntar que una liberación supranormal de noradrenalina pudiera ser efec-tivamente el factor implicado en los efectos excitantes de la morfina.

Para explicar los fenómenos de tolerancia y adaptación a la morfina han sido postuladas diversas hipótesis. Así Martin (73) dice que la tolerancia podría ser el resultado de reaccio-

nes homeostáticas del organismo frente a los estímulos que induce la administración de la droga; Jaffe y Sharpless (57) indican que la dependencia a la droga podría representar una adaptación del sistema nervioso a las alteraciones de la actividad neural que produce la morfina y Collier (17) ha sugerido también que puede ser el resultado de cambios en los receptores que participan en la regulación humoral del organismo. Otros autores (51,76), han indicado que en la tolerancia a la morfina pudiera estar implicado un aumento en la síntesis de catecolaminas.

Al igual que con la administración aguda de morfina, se han observado diferencias entre las distintas especies en relación al desarrollo de tolerancia a la droga y así en aquellos animales en que el efecto de la morfina es principalmente sedante, se observa tolerancia al efecto analgésico (32,41,51,76,122), mientras que en el gato Maynert (77) y Lewis y col. (70), refiriéndose a trabajos de 1929 (46,112) dicen que sólo se ha observado un pequeño grado de tolerancia a la administración de morfina en estos animales.

Al ir aumentando los días de tratamiento, encontramos que el efecto excitante que sigue a la administración aguda de morfina va siendo gradualmente menor en intensidad y duración, hecho que, en nuestras condiciones experimentales, creemos pare-

ce ser indicio de un cierto grado de desarrollo de tolerancia a la acción excitante de la morfina. Sin embargo, a diferencia de lo observado en otras especies animales, al no incrementar durante el tratamiento la dosis de morfina, no hallamos síntomas de abstinencia a la droga (1,32,75,88,128) como serían una mayor excitación de los gatos antes de la inyección de cada día y aumentos bruscos en la eliminación en orina de catecolaminas y corticosteroides. Esto parece indicar la posibilidad de que en el gato se desarrolle tolerancia a la morfina, si bien en un grado mucho menor al observado en otras especies; por otro lado mediante el tratamiento durante dos semanas con esta droga, no parecen desarrollarse síntomas de dependencia a la misma. El por qué de las diferencias entre el gato y otras especies animales en relación a los efectos que se observan tanto por la administración aguda como crónica de morfina, creemos requiere un más amplio estudio.

El hecho de que una respuesta parecida a la encontrada para los síntomas de excitación, se observe en la eliminación de catecolaminas en orina, unido a que a las dos semanas de tratamiento el contenido adrenal de catecolaminas es normal, nos hace pensar que la síntesis y/o liberación de catecolaminas parecen estar implicadas en los mecanismos de adaptación del organismo a la morfina (51,77).

C O N C L U S I O N E S

Hemos estudiado el efecto que la administración de morfina en dosis única de pentobarbital, su previo tratamiento a la administración de morfina y la administración de adrenocorticotropina a animales previamente tratados con el anestésico y la droga tiene sobre el contenido de corticosteroides, noradrenalina, adrenalina y ácido ascórbico en la glándula suprarrenal y de corticosteroides y glucosa en plasma. Así mismo se ha estudiado la eliminación en orina de 17 α -21-dihidroxi-20-cetosteroides, noradrenalina y adrenalina en animales sometidos durante dos semanas a la administración prolongada de morfina. También ha sido determinado el contenido en glándula suprarrenal y plasma de los parámetros antes mencionados en animales sacrificados a los siete y catorce días de tratamiento continuado con la droga. Como animal de experimentación hemos utilizado el gato.

Por los resultados del presente estudio puede concluirse:

1.- La administración de morfina en dosis única causa un aumento en el contenido de corticosteroides tanto en glándula suprarrenal como en plasma que consideramos es debido a una estimulación en la secreción de adrenocorticotropina.

Al no observar paralelamente una depleción significativa del contenido de ácido ascórbico suprarrenal, opinamos que este parámetro no debe ser siempre considerado como índice de activación de la secreción de ACTH.

2.- El descenso del contenido adrenal de noradrenalina y adrenalina que se observa una hora después de la administración inicial de morfina, unido a la elevada eliminación en orina de ambas bioaminas, debe ser atribuído a un aumento en la liberación de catecolaminas en respuesta a una actividad simpática aumentada por la morfina.

3.- Opinamos que la administración de una sola dosis de morfina estimula en un grado semejante la liberación adrenal de noradrenalina y adrenalina, ya que los descensos del contenido de ambas bioaminas en la glándula suprarrenal son aproximadamente del mismo orden.

4.- El efecto hiperglucemiante observado en los animales sacrificados tanto una como tres horas después de la inyec-

ción de morfina es atribuible a la liberación aumentada de adrenalina por la glándula suprarrenal.

5.- El hecho de que a las tres horas de administrar la droga, el contenido adrenal de catecolaminas es semejante al observado en los animales control; indica que a este intervalo de tiempo se ha restablecido el equilibrio entre la biosíntesis y liberación de catecolaminas en la glándula suprarrenal.

6.- Tanto una como tres horas después de la inyección de una sola dosis de morfina, cuando el contenido suprarrenal de corticosteroides está aumentado, no encontramos que la relación normal adrenalina/noradrenalina en la glándula suprarrenal del gato esté desplazada en el sentido de la adrenalina; opinamos que bajo esta situación experimental, las hormonas de la corteza suprarrenal no parecen influenciar la formación de adrenalina al menos en un grado capaz de aumentar el contenido en la glándula de dicha bioamina.

7.- El pentobarbital produce descensos en el contenido adrenal de corticosteroides que creemos son debidos a una acción bloqueante del anestésico sobre la liberación de ACTH.

8.- El hecho de que la estimulación suprarrenal con ACTH exógeno a los animales previamente tratados con pentobarbital y morfina sea capaz de aumentar el contenido de corticosteroides en la glándula y plasma, indica que en el gato, el anestésico no ejerce su acción bloqueante sobre el efecto que la morfina tiene en la producción de corticosteroides a nivel de la glándula suprarrenal.

9.- Puesto que la administración de ACTH a los animales en una situación de hipofunción corticosuprarrenal no aumenta el contenido adrenal de adrenalina, parece que bajo esta situación, los glucocorticoides tampoco ejercen una acción positiva en la formación de adrenalina.

10.- Después del tratamiento prolongado con morfina, observamos que el contenido adrenal de corticosteroides decrece progresivamente, hecho que pensamos es atribuible a una liberación disminuída de hormona adrenocorticotropa causada por la administración continuada de morfina.

11.- La eliminación diaria en orina de $17\alpha,21$ -dihidroxi-20-cetosteroides (P.S.) está aumentada durante los primeros once días de tratamiento, aún cuando el nivel de hidrocortisona en la glándula está disminuído, lo que pensamos pudie-

ra ser debido a un problema competitivo de conjugación entre la morfina y los corticosteroides.

12.- El hecho de que el contenido adrenal de catecolaminas esté intensamente desplazado en el sentido de la noradrenalina a los siete días de tratamiento con morfina, pudiera ser reflejo de un aumento en la síntesis y/o una disminución en la metilación de dicha bioamina, si bien creemos que es una falta en la formación de adrenalina lo que principalmente ocurre.

A las dos semanas de tratamiento, parece haberse restablecido el equilibrio entre la biosíntesis y liberación tanto de adrenalina como de noradrenalina, toda vez que a este intervalo de tiempo, el contenido adrenal de catecolaminas es semejante a en los animales control. Estos resultados pueden ser reflejo de un proceso de adaptación del gato a los efectos que sobre las hormonas de la médula suprarrenal produce la administración de morfina.

13.- Por la administración prolongada de morfina durante dos semanas, los síntomas de excitación que siguen a la administración inicial van siendo progresivamente menores en intensidad y duración; esto nos hace pensar que en el gato

se produce un cierto desarrollo de tolerancia a la acción excitante de la morfina. Sin embargo, no encontramos que en las dos semanas de tratamiento con la morfina se hayan desarrollado síntomas de dependencia a la administración prolongada de la droga.

Puesto que la eliminación en orina de catecolaminas va siendo también gradualmente inferior a la observada en las primeras veinticuatro horas que siguen a la administración inicial de morfina, pensamos que el metabolismo de estas hormonas puede estar relacionado con el desarrollo de la tolerancia a la morfina en la especie animal de nuestro estudio.

B I B L I O G R A F I A

- (1) Akera, T. y Brody, T.M.; *Biochem. Pharmacol.*, 17, 675, 1968.
- (2) Arteta, J.L. y Borrell, S.; *Rev. Ibérica Endocrinol.*, 5, 511, 1958.
- (3) Axelrod, J.; *J. Biol. Chem.*, 237, 1657, 1962.
- (4) Bhagat, B., Burke, W.J. y Davis, J.W.; *Br. J. Pharmacol.*, 43, 819, 1971.
- (5) Borison, H.L., Fishburn, B.R., Bhide, N.K. y McCarthy, L.E.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 138, 229, 1962.
- (6) Borrell, S.; *Biochem. J.*, 70, 727, 1958.
- (7) Borrell, S.; *Biochem. J.*, 89, 51, 1963.
- (8) Borrell, S.; *Biochem. J.*, 89, 54, 1963.
- (9) Borrell, S. y Estévez, C.; *Zschr. Versuchstierk. Bd.*, 9, 124, 1967.
- (10) Briggs, F.N. y Munson, P.L.; *Endocrinology*, 57, 205, 1955.

- (11) Britton, S.W.; *Physiol. Rev.*, 37, 155, 1957.
- (12) Brodie, B.B., Davies, J.I., Hynie, S., Krishna, G. y Weis, B.; *Pharmacol. Rev.*, 18, 273, 1966.
- (13) Bush, J.E.; *J. Endocr.*, 9, 95, 1953.
- (14) Callingham, B.A. y Cass, R.; *Clinical Chemistry of Monoamines*, Eds. Varley, H. y Gowenlock, A.H., Elsevier, Amsterdam, p.19, 1963.
- (15) Cannon, W.B.; *Am. J. Physiol.*, 33, 356, 1914.
- (16) Ciaranello, R.D. y Black, I.B.; *Biochem. Pharmacol.*, 20, 3529, 1971.
- (17) Collier, H.D.J.; *Nature*, 220, 228, 1968.
- (18) Cooper, D.Y., Rosenthal, O., Pileggi, V.J. y Blakemore, W.S.; *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 104, 52, 1960.
- (19) Corrodi, H., Fuxe, K. y Hökfelt, T.; *J. Pharm. Pharmacol.*, 18, 556, 1966.
- (20) Coupland, R.E.; *J. Endocr.*, 9, 194, 1953.
- (21) Coupland, R.E.; *J. Endocr.*, 41, 487, 1968.
- (22) Coupland, R.E. y McDougall, J.D.B.; *J. Endocr.*, 36, 317, 1966.

- (23) Crawford, T.B.B. y Outschoorn, A.S.; Br. J. Pharmac., 6, 8, 1950.
- (24) Crout, J.R.; Standard Methods of Clinical Chemistry, Ed. Seligson, D., Academic Press, N.Y., 3, p.62, 1961.
- (25) De Schaepdryver, A., Preziosi, P. y Scapagnini, U.; Br. J. Pharmac., 35, 460, 1969.
- (26) Deane, H.W.; The Adrenocortical Hormones, Ed. Deane, H.W., Springer Verlag, part. I, p.85, 1962.
- (27) Dorfman, R.I.; Comparative Endocrinology, Ed. Gorbman, A., N.Y., p.613, 1959.
- (28) Douglas, W.W. y Poisner, A.M.; Nature, 208, 1102, 1965.
- (29) Duckworth, W.C. y Kitabchi, A.E.; Endocrinology, 88, 384, 1971.
- (30) Duner, H.; Acta Physiol. Scand., 32, 63, 1954.
- (31) Dutton, G.J. y Grieg, C.G.; Biochem. J., 66, 52P, 1957.
- (32) Eisenman, A.J., Fraser, H.F. y Brooks, J.W.; J. Pharmacol. Exp. Ther., 132, 226, 1961.
- (33) Eisenman, A.J., Fraser, H.F., Sloan, J. y Isbell, H.; J. Pharmacol. Exp. Ther., 124, 305, 1958.
- (34) Elliott, T.R.; J. Physiol., 44, 374, 1912.

- (35) von Euler, U.S.; Neuroendocrinology, Eds. Martini, L. y Ganong, W.F., Academic Press, N.Y., vol. II, p.283, 1967.
- (36) von Euler, U.S., Franksson, C. y Hellström, J.; Acta Physiol. Scand., 31, 6, 1954.
- (37) von Euler, U.S. y Hamberg, U.; Nature, 163, 642, 1949.
- (38) von Euler, U.S. y Hökfelt, B.; Br. J. Pharmac., 8, 66, 1953.
- (39) Feurstein, G. y Gutman, Y.; Br. J. Pharmac., 43, 764, 1971.
- (40) Fujimoto, J.M. y Haarstad, V.B.; J. Pharmacol. Exp. Ther., 165, 45, 1969.
- (41) Fukui, K. y Takagi, H.; Br. J. Pharmac., 44, 45, 1972.
- (42) Fuller, R.W. y Hunt, J.M.; Life Sci., 6, 1107, 1967.
- (43) Ganong, W.F.; The Hypothalamus, Eds. Martini, L., Motta, M. y Fraschini, F., Academic Press, N.Y. p.313, 1970.
- (44) George, R. y Way, E.L.; Br. J. Pharmac., 10, 260, 1955.
- (45) Gewirtz, G.P., Kvetnansky, R., Weise, V.K. y Kopin, I.J.; Mol. Pharmacol., 7, 163, 1971.

- (46) Gold, H.; J. Pharmacol. Exp. Ther., 35, 355, 1929.
- (47) Goodhall, McC.; Acta Physiol. Scand., 24, Supl. 85, 1951.
- (48) Goodhall, McC. y Kirshner, N.; Fed. Proc., 16, 49, 1957.
- (49) Goodhall, McC. y Kirshner, N.; J. Biol. Chem., 226, 213, 1957.
- (50) Gunne, L.M.; Nature, 184, 1950, 1959.
- (51) Gunne, L.M.; Acta Physiol. Scand., 58, Supl. 204, 1963.
- (52) Hartiala, K.J.V.; Ann. Med. Exp. Biol. Fenn., 33, 239, 1955.
- (53) Hechter, O. y Pincus, G.; Physiol. Rev., 34, 459, 1954.
- (54) Hedner, P. y Rerup, C.; Acta Endocr., 39, 527, 1962.
- (55) Hockaday, T.D.R.; Nature, 203, 1242, 1964.
- (56) Jaffe, J.H.; The Pharmacological Basis of Therapeutics, Eds. Goodman, L.S. y Gilman, A., Macmillan Co., N.Y., p.247, 1965.
- (57) Jaffe, J.H. y Sharpless, S.K.; J. Pharmacol. Exp. Ther., 150, 140, 1965.

- (58) Karavolas, H.J., Gupta, C. y Meyer, R.K.;
Endocrinology, 91, 157, 1972.
- (59) Kirshner, N. y Goodhall, McC.; Fed. Proc., 15, 110,
1956.
- (60) Kitabchi, A.E.; Nature, 215, 1385, 1967.
- (61) Kitabchi, A.E., Solomon, S.S. y Williams, R.H.;
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 127, 296, 1968.
- (62) Krieger, D.T., Silverberg, A.I., Rizzo, F. y Krieger,
H.P.; Am. J. Physiol., 215, 959, 1968.
- (63) Kvetnansky, R., Gewirtz, G.P., Weise, V.K. y Kopin,
I.J.; Mol. Pharmacol., 7, 81, 1971.
- (64) Kvetnansky, R. y Mikulaj, L.; Endocrinology, 87,
738, 1970.
- (65) Kvetnansky, R., Weise, V.K. y Kopin, I.J.;
Endocrinology, 87, 744, 1970.
- (66) Lathe, G.H. y Walker, M.; Biochem. J., 70, 705, 1958.
- (67) Leach, C.S. y Lipscomb, H.S.; Proc. Soc. Exp. Biol.
Med., 130, 448, 1969.
- (68) Levitt, M., Spector, S., Sjoerdsma, A. y Udenfriend, S.;
J. Pharmacol. Exp. Ther., 148, 1, 1965.

- (69) Lewis, J.T.; Rev. Asoc. Med. Argent., 33, 147, 1920.
- (70) Lewis, J.W., Bentley, K.W. y Cowan, A.; Ann. Rev. Pharmacol., 11, 241, 1971.
- (71) Lloréns, I., Borrell, J. y Borrell, S.; Hormones (en prensa).
- (72) Margolis, F.L., Roffi, J. y Jost, A.; Science, 154, 275, 1966.
- (73) Martin, W.R.; Pharmacol. Rev., 19, 463, 1967.
- (74) Matsumura, M., Kurosawa, A. y Ogawa, Y.; Steroids, 2, 537, 1967.
- (75) Maynert, E.W.; Fed. Proc., 26, 1111, 1967.
- (76) Maynert, E.W. y Klingman, G.I.; J. Pharmacol. Exp. Ther., 135, 285, 1962.
- (77) Maynert, E.W. y Levi, R.; J. Pharmacol. Exp. Ther., 143, 90, 1964.
- (78) McDonald, R.K., Evans, F.T., Weise, V.K. y Patrick, R.W.; J. Pharmacol. Exp. Ther., 125, 241, 1959.
- (79) Moore, K.E., McCarthy, L.E. y Borison, H.L.; J. Pharmacol. Exp. Ther., 148, 169, 1965.
- (80) Mori, M., Oguri, K., Yoshimura, H., Shimomura, K., Kamata, O. y Ueki, S.; Life Sci., 11, 525, 1972.

- (81) Mueller, R.A., Thoenen, H. y Axelrod, J.;
Endocrinology, 86, 751, 1970.
- (82) Munson, P.L. y Briggs, F.N.; Recent Progr. Hormone
Research, 11, 83, 1955.
- (83) Nakao, T., Hiraga, K., Inaba, M. y Urata, Y.;
Steroid Dynamics, Eds. Pincus, G., Nakao, T. y Tait,
J.F., Academic Press, N.Y. p.179, 1966.
- (84) Nasmith, P.A.; Br. J. Pharmac., 9, 95, 1954.
- (85) Nikodijevic, O. y Maickel, R.P.; Biochem. Pharmacol.,
16, 2137, 1967.
- (86) Paalzow, L. y Paalzow, G.; Acta Pharmacol. et
Toxicol., 30, 104, 1971.
- (87) Paroli, E. y Melchiorri, P.; Biochem. Pharmacol., 6,
1, 1961.
- (88) Paroli, E. y Melchiorri, P.; Biochem. Pharmacol., 6,
18, 1961.
- (89) Persson, T. y Waldeck, B.; J. Pharm. Pharmac., 23,
377, 1971.
- (90) Philpott, J.E., Zarrow, M.X., Denenberg, V.H., Lu,
K-H., Fuller, R.W. y Hunt, J.M.; Life Sci., 8, 367,
1969.

- (91) Pohorecky, L.A. y Wurtman, R.J.; *Pharmacol. Rev.*, 23, 1, 1971.
- (92) Ramey, E.R. y Goldstein, M.S.; *Physiol. Rev.*, 37, 155, 1957.
- (93) Redgate, E.S. y Gellhorn, E.; *Am. J. Physiol.*, 174, 475, 1953.
- (94) Rerup, C. y Hedner, P.; *Acta Endocr.*, 39, 518, 1962.
- (95) Rivas, C. y Borrell, S.; *J. Endocr.*, 51, 283, 1971.
- (96) Robinson, D. y Williams, R.T.; *Biochem. J.*, 68, 23P, 1958.
- (97) Roe, J.H. y Kuether, C.A.; *J. Biol. Chem.*, 147, 399, 1943.
- (98) Rubin, R.P. y Miele, E.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 164, 115, 1968.
- (99) Schachter, D., Kass, D.J. y Lannon, T.J.; *J. Biol. Chem.*, 234, 201, 1959.
- (100) Sedvall, G.C. y Kopin, I.J.; *Biochem. Pharmacol.*, 16, 39, 1967.
- (101) Selye, H.; *Nature*, 138, 32, 1936.
- (102) Sharkawi, M.; *Br. J. Pharmac.*, 40, 86, 1970.

- (103) Shepherd, D.M. y West, G.B.; Br. J. Pharmac., 6, 665, 1951.
- (104) Shore, P.A. y Olin, J.S.; J. Pharmacol. Exp. Ther., 122, 295, 1958.
- (105) Silver, R.H. y Porter, C.C.; J. Biol. Chem., 210, 923, 1954.
- (106) Smith, C.B., Sheldon, M.I., Bednarczyk, J.H. y Villarreal, J.E.; J. Pharmacol. Exp. Ther., 180, 547, 1972.
- (107) Smith, C.B., Villarreal, J.E., Bednarczyk, J.H. y Sheldon, M.I.; Science, 170, 1106, 1970.
- (108) Snedecor, G.W.; Statistical Methods, Ed. Ames, Iowa State University Press, 1956.
- (109) Sung, C.Y., Way, E.L. y Scott, K.G.; J. Pharmacol. Exp. Ther., 107, 12, 1953.
- (110) Takemori, A.E. y Glowacki, G.A.; Biochem. Pharmacol., 11, 867, 1962.
- (111) Tanabe, T. y Cafruny, E.J.; J. Pharmacol. Exp. Ther., 122, 148, 1958.
- (112) Tatum, A.L., Seevers, M.H. y Collins, K.H.; J. Pharmacol. Exp. Ther., 36, 447, 1929.

- (113) Taylor, W.; *Biochem. J.*, 113, 259, 1969.
- (114) Taylor, W. y Scratcherd, T.; *Biochem. J.*, 81, 398, 1961.
- (115) Taylor, W. y Scratcherd, T.; *Biochem. J.*, 86, 114, 1963.
- (116) Thoenen, H., Mueller, R.A. y Axelrod, J.; *Nature*, 221, 1264, 1969.
- (117) Thoenen, H., Mueller, R.A. y Axelrod, J.; *Biochem. Pharmacol.*, 19, 669, 1970.
- (118) Udenfriend, S., Cooper, J.R., Clark, C.T. y Baer, J.E.; *Science*, 117, 663, 1953.
- (119) Udenfriend, S. y Wyngaarden, J.B.; *Biochim. Biophys. Acta*, 20, 48, 1956.
- (120) Van Loon, G.R., Scapagnini, U., Moberg, G.P. y Ganong, W.F.; *Endocrinology*, 89, 1464, 1971.
- (121) Vassalle, M.; *Am. J. Physiol.*, 200, 530, 1961.
- (122) Vedernikov, Y.P. y Africanov, I.I.; *J. Pharm. Pharmacol.*, 21, 845, 1969.
- (123) Vernikos-Danellis, J., Ciaranello, R. y Barchas, J.; *Endocrinology*, 83, 1357, 1968.

- (124) Vogt, M.; Br. J. Pharmac., 8, 193, 1953.
- (125) Vogt, M.; J. Physiol., 123, 451, 1954.
- (126) Watanabe, K., Matsui, Y. y Iwata, H.; Experientia, 25, 950, 1969.
- (127) Way, E.L., Sung, C-Y. y Fujimoto, J.M.; J.Pharmacol. Exp. Ther., 110, 51, 1954.
- (128) Weil-Malherbe, H., Smith, E.R.B., Eisenman, A.J. y Fraser, H.F.; Biochem. Pharmacol., 14, 1621, 1965.
- (129) Weinshilboum, R. y Axelrod, J.; Endocrinology, 87, 894, 1970.
- (130) Werner, W., Rey, R-G. y Wielinger, H.; Z. analyt. Chem., 252, 224, 1970.
- (131) West, G.B.; Quart. Rev. Biol., 30, 116, 1955.
- (132) Wurtman, R.J.; Endocrinology, 79, 608, 1966.
- (133) Wurtman, R.J. y Axelrod, J.; Science, 150, 1464, 1965.
- (134) Wurtman, R.J. y Axelrod, J.; J. Biol. Chem., 241, 2301, 1966.
- (135) Yeh, S.Y., Chernov, H.I. y Woods, L.A.; J. Pharm. Sci., 60, 469, 1971.

- (136) Yoshimura, H., Oguri, K. y Tsukamoto, H.; Biochem. Pharmacol., 18, 279, 1969.