

“Influencia de algunos depresores sinápticos sobre la analgesia por morfina.

(Con 4 gráficos).

por

Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Tamayo, R. L., Aguayo, Y. N.

INTRODUCCION

Desde el año 1950 es preocupación de este Laboratorio, estudiar en forma crítica las diferentes teorías que han tratado de explicar la acción analgésica de la Morfina y derivados.

Una de las primeras teorías analizadas fué la propuesta por Frommel y col. (1), para quienes la estimulación parasimpática producida por la Morfina, sería la responsable de su efecto analgésico, por otro lado es de nuestro conocimiento que otros autores (2-3-4-5) atribuyen por el contrario la acción analgésica de la Morfina a una liberación de adrenalina.

Junto a estas hipótesis se han planteado otras posibilidades, entre ellas, la existencia de un mecanismo en el cual participe la Histamina, acerca de cuya influencia sobre la conducción y producción del estímulo doloroso existen datos de gran valor (6-7-8). También en el fenómeno de la analgesia se ha invocado la intervención de un mecanismo hormonal del tipo hipófisis-corteza suprarrenal (9-10-11). Finalmente se ha tratado de explicar la acción última de la Morfina por interferencia de distintas etapas enzimáticas del metabolismo del sistema nervioso central (S. N. C.), especialmente al nivel de la cadena de los citocromos.

Nos pareció conveniente estudiar la participación del sistema neuro vegetativo sobre la analgesia inducida por la Morfina, en una serie de comunicaciones presentadas a la Sociedad de Biología de Concepción (12-13-14), hemos analizado esta participación y llegado a la conclusión que en general no existe relación entre el tipo de efecto ejercido sobre el sistema neuro vegetativo y la modificación producida sobre la analgesia morfínica, pues cualquiera que ella sea por lo general se traduce en un aumento de ésta.

Esta modalidad de acción nos llevó a plantear algunas hipótesis de trabajo, entre ellas consideramos la posibilidad que estos fármacos actúen modificando la transmisión sináptica en el S. N. C.

Al respecto diremos dos palabras sobre el llamado "Sistema reticular activante del istmo del encéfalo" (S. R. A.), esta formación del cerebro cuyo rol sólo en los últimos tiempos ha sido analizado (15-16-17-18-19-20), parece tener una gran importancia en los procesos anestésicos y analgésicos y según **Sonnenschein**, sería la responsable de las modificaciones del umbral del dolor y las respuestas al dolor.

El S. R. A. muy rico por lo demás en sinápsis, controlaría por procesos de facilitación o inhibición, el funcionamiento de gran parte del S. N. C. y esto explica entre otros, el mecanismo de acción de la Myanesina, cuyo efecto depresor sobre la médula, se debería fundamentalmente a su acción sobre el S. R. A.

Nos ha parecido oportuno incluir estos conocimientos en nuestra investigación sobre el mecanismo de acción de la Morfina.

Así ensayamos asociar a la Morfina la Myanesina, por estar estudiada su acción sobre el S. R. A., la Clorpromazina cuyo efecto sináptico está bien establecido (21) y un compuesto de acción bloqueadora de los ganglios del sistema nervioso vegetativo (22-23-24), el Hexametonio.

En la presente comunicación hemos empleado dos técnicas analgesiométricas ya comprobadas por nosotros que permiten determinar el lugar de acción de un analgésico, ellas son: la Técnica de la Superficie Caliente y la de Presión Caudal; la primera que implica reacciones encefálicas y la segunda determina preferentemente reacciones medulares, como ha sido discutido ampliamente en trabajos anteriores (11-25-26).

M E T O D I C A

1. — Técnicas utilizadas.

a) Técnica de la Superficie Caliente.

El fundamento de este método es la modificación del tiempo de reacción a un estímulo térmico, aplicado en las patas de las lauchas, por medio de una superficie termorregulada a 53.5°C como ha sido presentado en detalle en trabajos anteriores (11-25-26).

b) Técnica de Presión Caudal.

Realizamos nuestras experiencias en un aparato construido en este Laboratorio, siguiendo las ideas dadas por **Green y Young** (27) con algunas modificaciones introducidas por nosotros.

El fundamento de esta técnica consiste en la medición de la presión ejercida sobre la cola del animal, necesaria para

provocar en éste una respuesta específica, cual es un movimiento de huida que se inicia con un brusco giro de la cabeza.

2. — Animales empleados.

Los animales utilizados fueron lauchas blancas pertenecientes a la misma cepa empleada en trabajos anteriores. Aproximadamente de igual peso y edad.

Usamos para el método de presión, lauchas hembras y para el de superficie caliente grupos de machos o de hembras.

Previamente los animales fueron sometidos a un período de adiestramiento con el objeto de acostumbrarlos a las manipulaciones y a los aparatos, obteniendo en esta forma respuestas más homogéneas.

3. — Soluciones empleadas.

Las distintas soluciones utilizadas se prepararon con solución de ClNa al 9% y fueron inyectadas intraperitonealmente. Estas soluciones fueron calculadas de tal modo que se inyectaba 0.01 ml. por cada gramo de laucha.

Empleamos: Clorhidrato de Morfina (May Baker L. T. D.); Mefenesina. (Myanesina. Farmo Química del P); Cloro-3 (dimetilamino-3 propil)-10 fenothiazina. Clorpromazina (Largactil Specia), Bromuro de hexameten bis- trimetilamonio. Hexametonio (Laboratorio Sanitas).

4. — Cálculos estadísticos.

Nuestros cálculos estadísticos fueron orientados a determinar las D. E. 50 de los distintos fármacos ensayados. Según lo indicado por Burn (28) y Finney (29) utilizamos el método de "tres ensayos" buscando porcentajes cercanos al 50% en tres dosis diferentes, convirtiendo luego las dosis en logaritmos y los porcentajes en probits.

En las determinaciones de D. E. 50 hicimos los cálculos de linealidad de los valores obtenidos en cada caso.

Para disminuir la variabilidad de las respuestas individuales empleamos un elevado número de animales según las indicaciones de Cahen y col. (30), 60 animales para cada determinación de D. E. 50.

La determinación de umbral de analgesia se hizo en la forma habitual según lo descrito por Bonnycastle y Cook (31).

Para controlar el efecto de los fármacos asociados a la Morfina, hicimos los cálculos de expectancia en la forma indicada por Fisher (32).

RESULTADOS

Nuestros resultados aparecen muy resumidos y por lo general, en forma de tablas estadísticas o de gráficos.

1.—Acción del 3-(2'etilfenoxi) propano-1, 2-diol. Myanesina.

a) **Ensayo preliminar.** — Inyectamos dosis crecientes, a partir de 100 mg/Kg. se observó ligera somnolencia; con 150 mg/Kg. principio de parálisis en las extremidades posteriores, pérdida del equilibrio, recuperación rápida con ligera incoordinación en los movimientos; con 450 mg/Kg., somnolencia con parálisis completa y respiración difícil; y con 600 mg/Kg. muerte a los 10 minutos.

b) **Acción de la Myanesina sobre el efecto analgésico de la Morfina.** — Se procedió a determinar previamente la D. E. 50 (analgésica) de la Morfina en ambas técnicas analgesiométricas.

TABLA N.º 1

Droga: Morfina.

Concentraciones: 425-250-500 microgramos por ml.

Técnica: Superficie Caliente.

D	x	n	r	Probits		Peso n. w.	Probits Elaborados	
				p Empíricos	Teóricos			
4.25	0.62839	20	7	35	4.61	4.60	12.0200	4.61
4.50	0.65321	20	8	40	4.75	4.77	12.4740	4.75
5.60	0.69897	21	10	52	5.05	5.04	13.3518	5.05

Resultados del cálculo de regresión:

\bar{x} : 0.6614 M : 0.69134 VM : 0.03678
 \bar{y} : 4.8113 b : 6.30180 D. E. 50 : 4.912 ± 0.01529

TABLA N.º 2

Droga: Morfina.

Concentraciones: 400-450-500 microgramos por ml.

Técnica: Presión Caudal.

D	x	n	r	Probits		Peso n. w.	Probits Elaborados	
				p Empíricos	Teóricos			
4.0	0.6021	18	8	44	4.85	4.847	11.3452	4.87
4.5	0.6532	20	11	55	5.13	5.134	12.6224	5.13
5.0	0.6990	20	13	65	5.39	5.388	12.0560	5.39

Resultados del Cálculo de regresión:

\bar{x} : 0.6524 b : 5.37000 VM : 0.001359789
 \bar{y} : 5.1351 M : 0.62725 D. E. 50 : 4.239 ± 0.3594

TABLA N.º 3
Resultados de la asociación Morfina-Myanesina

Droga (1)	Dosis (mg/Kg) (2)	Efecto (3)	Nº anim. (4)	Técnica (5)
Morfina	3.5	17.6% *	60	Sup. Caliente
Myanesina	60	5 %	20	„
Myanesina	30	0 %	20	„
Morfina-Myanesina	3.5-60	60 %	20	„
Morfina-Myanesina	3.5-30	60 %	20	„
Morfina (D. E. 50)	4.239	50 %	60	Presión Caudal
Morfina	2.8	15 % *	60	„
Myanesina	30	0 %	20	„
Morfina-Myanesina	4.239-30	55 %	20	„
Morfina-Myanesina	2.8 -30	30 %	20	„

NOTA.—Las cifras marcadas con asteriscos (*), son valores de expectancia calculados a partir de previas determinaciones de D. E. 50 de Morfina que por razones de limitación de espacio no incluimos.

Los resultados de la asociación Morfina-Myanesina, obtenidos en la Técnica de la Superficie Caliente son estadísticamente significativos, (tabla N.º 4) no así los de la Técnica de Presión Caudal.

TABLA N.º 4

TIPO DE ENSAYO		Nº anim. analgesia	Nº anim. sin analgesia	Total ani- males
Morfina-Myanesina	Expectancia (m)	3.5	16.5	20
Téc.: S. Caliente	Observ. (m + x)	12	8	20
	x^2/m	20.6	4.37	$X^2: 24.97$
Morfina-Myanesina	Expectancia (m)	10	10	20
Téc.: P. Caudal	Observ. (m + x)	11	9	20
	x^2/m	0.1	0.1	$X^2: 0.2$
Morfina-Myanesina	Expectancia (m)	3	17	20
Téc.: P. Caudal	Observ. (m + x)	6	14	20
	x^2/m	3	0.529	$X^2: 3.529$

NOTA :

a) En los resultados de expectancia, trabajando en 20 animales, los valores de X^2 superior a 3.841 son significativos a un nivel de probabilidad de 5%.

b) Tablas de este tipo no se incluirán más en la presentación de este trabajo, sólo se indicarán los valores de X^2 en cada caso.

c) **Determinación de la D. E. 50 de Myanesina.** — Se determinó la D. E. 50 de Myanesina en la Técnica de la Superficie Caliente; lo que no fué posible en la Técnica de Presión Caudal dado la irregularidad de resultados obtenidos.

TABLA N.º 5

Droga: Myanesina.

Concentraciones: 7500-8000-9000 microgramos por ml.

Técnica: Superficie Caliente.

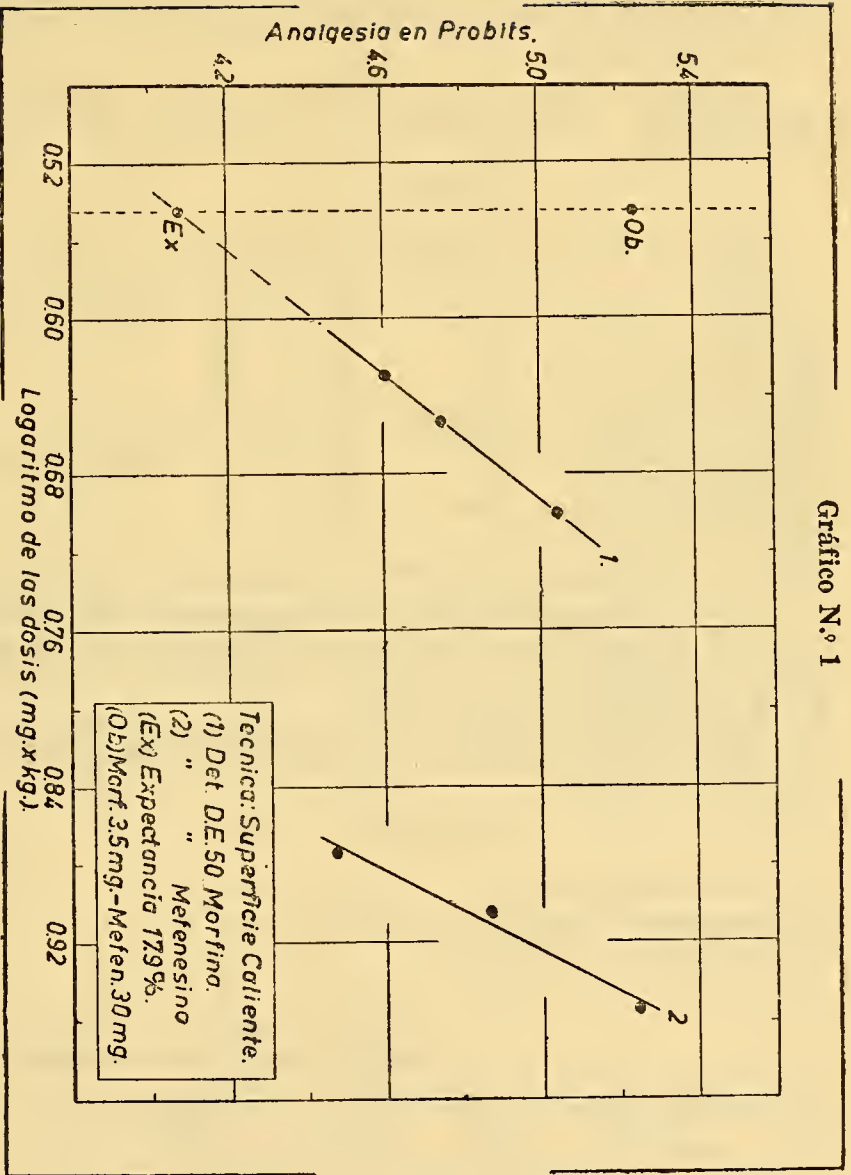
D	x	n	r	p	Probits Empíricos	Probits Tóricos	Peso n. w.	Probits Elaborados
75	1.97506	20	6	30	4.48	4.520	11.7000	4.48
80	1.90309	20	9	45	4.87	4.792	12.5224	4.87
90	1.95424	20	12	60	5.25	2.588	12.3464	5.25

Resultados del cálculo de regresión:

\bar{x} : 1.9114 b : 9.2186 VM: 0.00032732
 \bar{y} : 4.8735 M : 1.9251 D. E. 50 : 84.16 ± 3.502

Para visualizar estos resultados presentamos el gráfico siguiente:

Gráfico N.º 1



3) **Acción del Cloro-3 (dimetilamino-3' propil)-10 fenothiazina. Clorpromazina.**

a) **Ensayo preliminar.**—Se ensayó dosis de 1 a 5 mg/Kg; observándose con la última dosis, una depresión semejante a la con barbitúricos junto con un notorio enfriamiento. Este efecto se prolongó más de 3 horas, notándose a intervalos ciertas actividad en los animales.

b) **Acción de la Clorpromazina sobre el efecto analgésico de la Morfina.** — Los resultados se presentan resumidos en la Tabla N.º 6.

TABLA N.º 6

DROGA (1)	Dosis (mg/Kg) (2)	Efecto (3)	Nº anim. (4)	Técnica (5)
Morfina (D. E. 50)	4.479	50%	60	Sup. Caliente
Clorpromazina	1	15%	20	„
Clorpromazina	0.75	5%	20	„
Morfina-Clorpromazina	4.479-0.75	70% (a)	20	„
Morfina (D. E. 50)	4.239	50%	60	Presión Caudal
Clorpromazina	1	10%	20	„
Morfina-Clorpromazina	4.239-0.75	70% (b)	20	„

NOTA: En la columna (3) el valor de X^2 para (a) y (b) es 3.2.

c) **Determinación de la D. E. 50 de Clorpromazina.**—Se determinó la D. E. 50 de Clorpromazina en la Técnica de la Superficie Caliente, obteniéndose los resultados presentados en la Tabla N.º 10 y Gráfico N.º 3.

En la Técnica de Presión Caudal, se obtuvo sólo hasta 30% de analgesia (2 mg/Kg); con dosis mayores hubo disminución de dicho porcentaje.

TABLA N.º 7

Droga: Clorpromazina.

Concentraciones: 125-175-255 microgramos por ml.

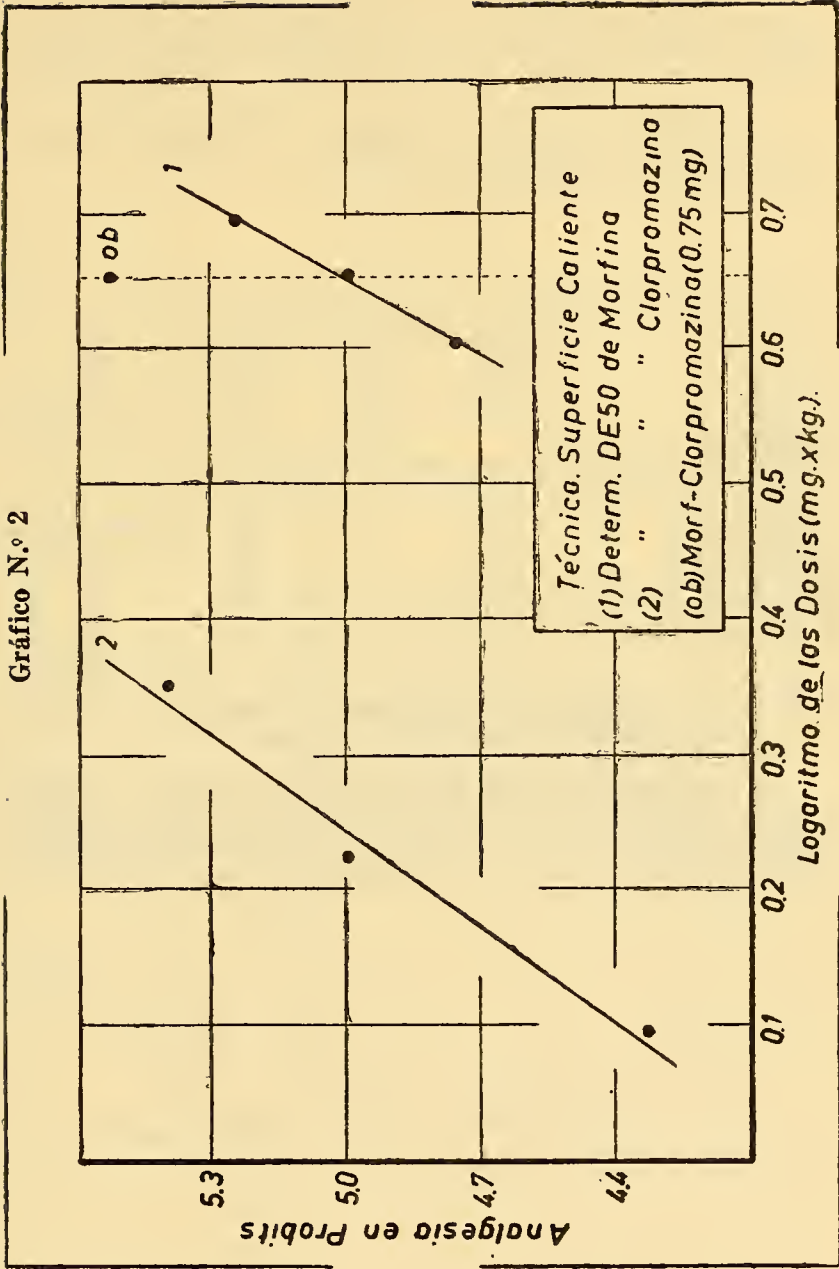
Técnica: Superficie Caliente.

D	x	n	r	p	Probits Empíricos	Probits Teóricos	Peso n. w.	Probits Elaborados
1.25	0.09691	20	5	25	4.33	4.345	10.8740	4.33
1.75	0.24304	20	10	50	5.00	4.977	12.7262	5.00
2.25	0.35218	20	13	65	5.39	5.402	12.0120	5.39

Resultados del cálculo de regresión:

$$\begin{array}{lll} \bar{x} : 0.15710 & b : 0.9219 & VM: 0.3807055 \\ \bar{y} : 4.92696 & M : 0.2363 & D. E. 50: 1.723 \pm 0.7732 \end{array}$$

Gráfico N.º 2



3. — Acción del Bromuro de hexameten bis-trimetil amonio.
Hexametonio.

a) Ensayo preliminar.—Se ensayó dosis de 15-45-58 y 75 mg/Kg. Con la segunda dosis se observó somnolencia con relajación muscular que fué de mayor duración con la tercera y acompañados por dificultad respiratoria con la última dosis.

b) Acción del Hexametonio sobre el efecto analgésico de la morfina.—Los resultados se presentan resumidos en la Tabla N.º 8 y gráficos N.º 3 y 4.

TABLA N.º 8

DROGA (1)	Dosis (mg/Kg) (2)	Efecto (3)	Nº anim. (4)	Técnica (5)
Morfina	3.5	17.6% *	60	Sup. Caliente
Hexametonio	15	5	20	„
Morfina-Hexametonio	3.5 -15	55 (a)	20	„
Morfina (D. E. 50)	3.938	50 %	60	Presión Caudal
Hexametonio	15	15	20	„
Hexametonio	10	0	20	„
Morfina-Hexametonio	3.938-10	30 (b)	20	„
Morfina-Hexametonio	3.938-15	15 (c)	20	„

NOTA: En la columna (3) los valores de X^2 para (a), (b) y (c), son respectivamente: 19.47, 3.2 y 9.8.

c) Determinación de la D. E. 50 de Hexametonio.—Se trató de determinar la D. E. 50 de Hexametonio en ambas técnicas analgesiométricas, pero no fué posible dado que las dosis requeridas ya producían depresión general del animal.

Gráfico N.º 3

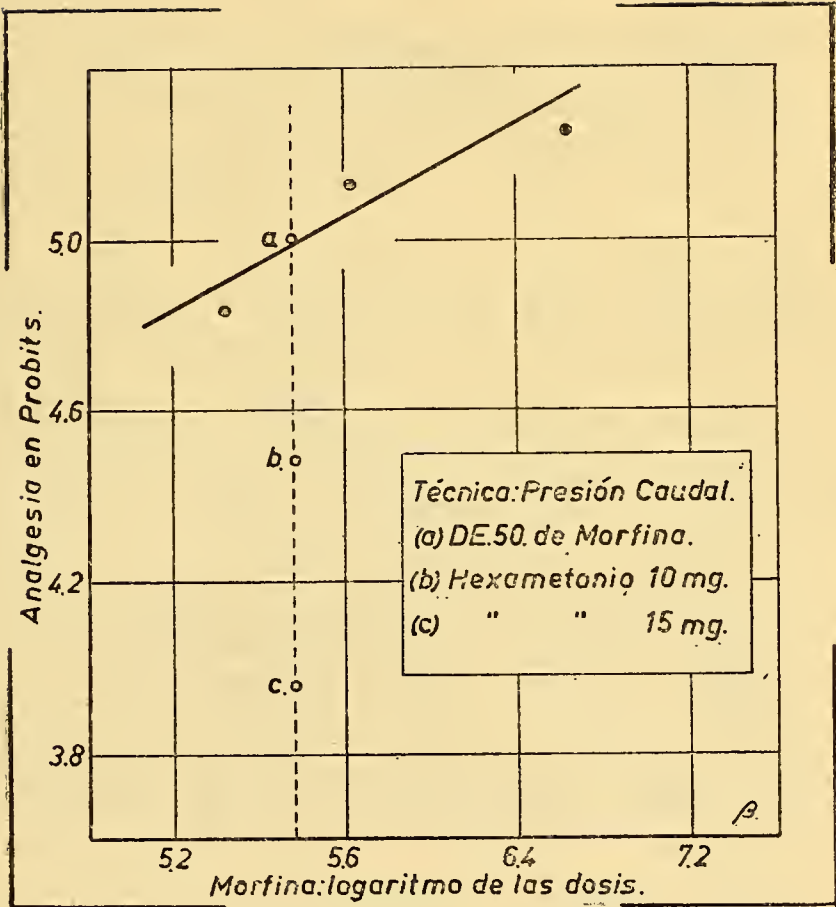
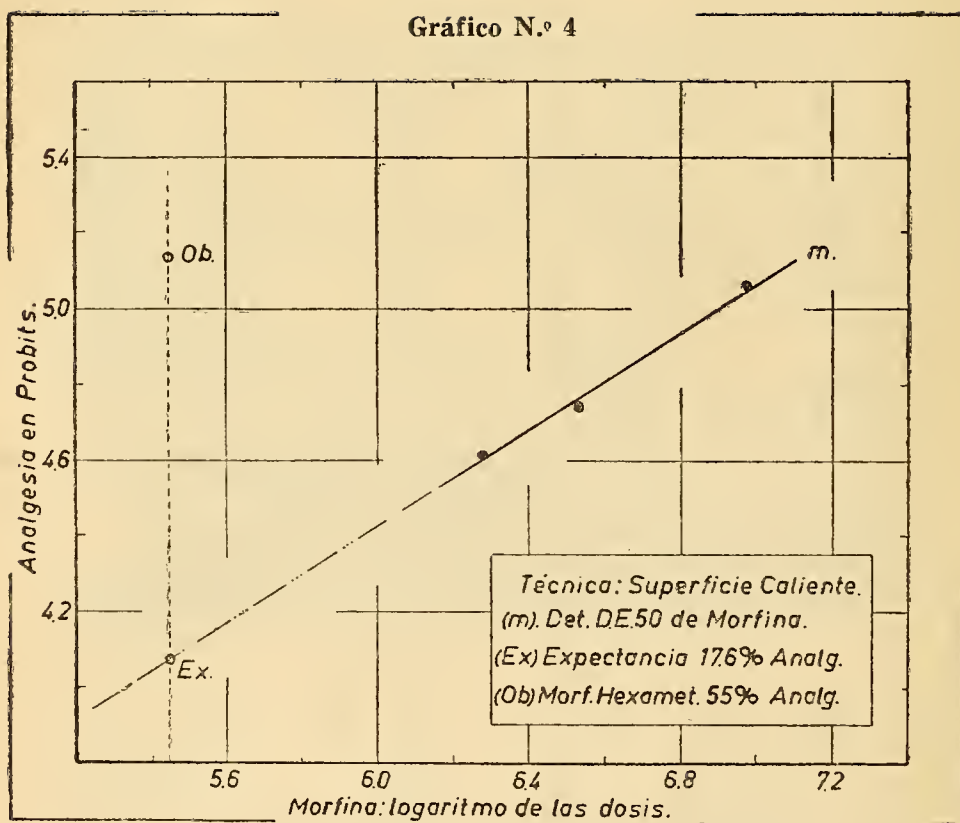


Gráfico N.º 4



DISCUSION DE RESULTADOS

Hemos estudiado la posibilidad que la Morfina produzca su efecto analgésico actuando a nivel de las sinapsis del sistema nervioso central, y en particular en el sistema reticular activante del istmo del encéfalo (S. R. A.), formación ésta mucho más sensible que el resto del sistema nervioso central a los fármacos depresores (17).

Con el objeto de avanzar en este sentido, en el presente trabajo se estudió la asociación de la Morfina a fármacos que poseen una conocida actividad ganglio pléxica y depresora de la sinapsis.

Es interesante hacer notar que la depresión de la transmisión sináptica puede ser debida al efecto directo del fármaco o en forma secundaria, por acción sobre el S. R. A., el cual es responsable de los fenómenos de facilitación e inhibición en los más variados niveles del sistema nervioso central (16).

Los resultados obtenidos con los fármacos ensayados se discuten a continuación:

1.—Efecto de la Myanesina.—El efecto depresor de la Myanesina sobre la médula es bien conocida (33-34), pero algunos autores han sostenido que este efecto es la resultante de la acción de la Myanesina en el S. R. A. (16). En estas circunstancias nos pareció la Myanesina uno de los fármacos de elección para nuestros ensayos.

En nuestros experimentos la Myanesina mostró poseer una acción analgésica a dosis marcadamente inferiores a las necesarias para producir depresión notoria del animal, —utilizando la Técnica de Superficie Caliente, pero al tratar de determinar su efecto con la Técnica de Presión Caudal nos encontramos con que es necesario obtener depresión general y principio de parálisis para observar efectos analgésicos, siendo de todos modos estos irregulares y no dependientes estrictamente de la dosis.

Al asociar la Morfina con la Myanesina encontramos una confirmación de lo anterior, pues en dosis incapaces de producir analgesia, la Myanesina potencia la acción de la Morfina, medida ésta por la Técnica de Superficie Caliente. En cambio, aún a dosis más elevadas no la modifica al hacer los controles con la Técnica de Presión Caudal. Estos resultados harían pensar en la posibilidad que el efecto depresor de la Myanesina sobre la médula fuera indirecto.

2.—Efecto de la Clorpromazina.—Conocidas las propiedades gangliopléxicas de algunos derivados de la dibenzoparatiagina y dada la gran importancia que estas sustancias tienen en algunas recientes aplicaciones terapéuticas, como ser la anestesia potencializada y la invernación artificial, y su asociación a la morfina en algunos cuadros dolorosos crónicos, nos pareció conveniente estudiar su efecto en relación a la Morfina.

Encontramos que la Clorpromazina tiene acción analgésica propia. En nuestras experiencias con la Técnica de Superficie Caliente parece ser 3 y 4 veces más activa que la morfina mien-

tras que en la Técnica de Presión Caudal produce sólo una leve analgesia, que al aumentar la dosis demostró ser variable.

Al asociar la Clorpromazina con la Morfina se notó un aumento de la acción de ésta, que sin embargo no alcanza a un nivel significativo, seguramente porque usamos dosis de esta droga incapaces de producir por sí sola analgesia. En la Técnica de Presión Caudal no hubo variación de la D. E. 50 de la Morfina.

3.—Efecto del Hexametonio.—En el caso del Bromuro de Hexametonio observamos que este fármaco manifiesta un efecto depresor, produce somnolencia con relajación muscular. Además pudimos comprobar que aumenta en forma significativa el efecto analgésico de la Morfina medido por la Técnica de Superficie Caliente y en cambio, lo disminuye, también en forma significativa en la Técnica de Presión Caudal. Sin embargo, con ninguno de ambos métodos fué posible determinar la D. E. 50 analgésica propia.

Sólo la Myanesina y el Bromuro de Hexametonio producen fenómenos que podríamos considerar como de potenciación y esto en lo que se refiere a las mediciones con la Técnica de la Superficie Caliente. La Clorpromazina es capaz de producir analgesia y provocar en estas dosis fenómenos aditivos también con la misma técnica. Con el método de Presión Caudal los resultados son muy distintos. En ningún caso pudimos determinar la D. E. 50 analgésica de los fármacos estudiados.

En la presente comunicación establecemos la posibilidad que la Morfina, pueda ejercer su acción analgésica por un efecto sináptico depresor, en especial sobre el Sistema Reticular Activante.

RESUMEN

Se estudia el efecto de la Myanesina, Clorpromazina y Bromuro de Hexametonio sobre la analgesia morfínica. Estos fármacos aumentan la analgesia morfínica medida por la Técnica de la Superficie Caliente, en cambio estos resultados no se reproducen en la Técnica de Presión Caudal.

Tanto la Myanesina como la Clorpromazina tienen acción analgésica propia medible por la Técnica de Superficie Caliente no así por la Técnica de Presión Caudal.

Se plantea la hipótesis que la morfina ejerza su acción analgésica por un efecto sináptico depresor, especialmente sobre el sistema reticular activante.

SUMMARY

The effect of Myanesin, Chlorpromazine and Hexametonium Bromide upon morphinic analgesia is studied. These drugs increase the morphinic analgesia measured by the Hot Plate Technic but these results are not given by the Caudal Pressure Technic.

Both Myanesine and Chlorpromazine have analgetic actions of their own able to be measured by the Hot Plate Technic even not by the Caudal Pressure one.

The hipotesis that morphine may act as analgetic through a synaptic depressor action, specially on the reticular activating system is given.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—Frommel, E.—III Série Actualités Pharmacologiques, 157-181 (1950).
- 2.—Frances, Y., Friends, M. S., Harris, S. C.—*J. Pharmacol.* 93: 161-167 (1948).
- 3.—Gross, E. G., Holland, H., Carter, H. R., Christiansen, E. M.—*Anesthesiology* 9: 459-475 (1948).
- 4.—Slomka, M. B., Schueler, F. W.—*J. Am. Pharm. Ass.* 41: 618-622 (1952).
- 5.—Schueler, F. W., Gross, E. G.—*J. Am. Pharm. Ass.* 38: 34-81 (1949).
- 6.—Rosenthal, S. R.—*Fed. Proc.* 12: 120 (1953).
- 7.—Rosenthal, S. R.—*Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 74: 167 (1950).
- 8.—Rosenthal, S. R.—*Am. J. Physiol.* 155: 186 (1948).
- 9.—Szerb, J., Jacob, J.—*Experientia.* 7/12: 466 (1951).
- 10.—Hudley, C. A., Mayer, J. H.—*Fed. Proc.* 10: 305 (1951).
- 11.—Bergeret, R. I.—Tesis de Químico-Farmacéutico, Concepción (1952).
- 12.—Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Tamayo, R. L.—*Bol. Soc. Biol.* 28: 73-82 (1953).
- 13.—Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Tamayo, R. L.—*Bol. Soc. Biol.* 28: 83-88 (1953).
- 14.—Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Tamayo, R. L., Game, G. I., Reyes, R. R.—*Bol. Soc. Biol. Concepción* (en prensa).
- 15.—Sonnenschein, R. R., Ph. D.—*Anesthesiology.* 15: 19-27 (1954).
- 16.—Magoun, H. W.—*Physiol. Rev.* 30: 459-474 (1950).
- 17.—Arduini, A. and Arduini, M. G.—*J. Pharmacol.* 110: 76-85 (1954).
- 18.—Martin, R. W., Vernier, G. V. and Unna, R. K.—*J. Pharmacol.* 110: 35 (1954).
- 19.—King, E. E., Unna, K. R.—*Pharmacol.* 111: 293-301 (1954).
- 20.—Longo, G. V., Von Berger, P. C., Bovet, D.—*J. Pharmacol.* 111: 349-359 (1954)..
- 21.—Reuse, J. J.—*C. R. Soc. Biol.* 148: 192 (1954).
- 22.—Pocidalgo, J. J., Hímbert, J., Tardien, C.—*Arch. Int. Pharm.* 42: 305-361 (1953).
- 23.—Wien, R., Mason, D. F. J.—*Brit. J. Pharmacol.* 6: 611-629 (1951).
- 24.—Paton, M. D. W., Zaimis, J. E.—*Brit. J. Pharmacol.* 6: 155-168 (1951).
- 25.—Muñoz, J.—Tesis Químico-Farmacéutico, Concepción (1953).
- 26.—Picero, S. D.—Tesis Químico-Farmacéutico, Concepción (1952).
- 27.—Green, A. F., Young, P. A.—*Brit. J. Pharmacol. & Chem.* 6: 572-587 (1951).
- 28.—Burn, J. H., Finney, D. J., Goodwin, L. G.—*Biological Standardization.* Oxford Univ. Press. II Ed. 26-175 (1951).
- 29.—Finney, D. J.—*Probit Analysis.* Cambridge Univ. Press. 20-61 (1947).
- 30.—Cahen, R. L., Epstein, H. J., Kremetz, C. S.—*J. Pharmacol.* 94: 328-337 (1948).
- 31.—Bonnycastle, D. D., Cook, C. S.—100: 141-145 (1950).
- 32.—Fisher, R. A.—*Métodos estadísticos para investigadores.* Aguilar S. A. de Ediciones, Madrid (1949).
- 33.—Berger, F. M., M. D.—*Pharmacol. Rev.* 1: 249-267 (1949).
- 34.—Koizumi, K., Browks, Mc C. C.—*Am. J. Physiol.* 171: 740 (1952).

