

EFFECTOS DE D-PENICILAMINA SOBRE SINOVIAL DE ARTRITICOS

Dra. Hilda L. Montrull* - Dr. Carlos I. Meirovich** - Dr. Alberto M. Strusberg

RESUMEN

Los mecanismos farmacodinámicos y tóxicos de la d-penicilamina son desconocidos.

En 12 pacientes adultos con artritis reumatoidea y derrame sinovial de rodilla, se estudió la eficacia de un tratamiento prolongado con d-penicilamina. Los criterios de inclusión adoptados exigieron que la evolución de la genusinovitis llevara un mínimo de 3 meses; que el factor reumatoideo fuera positivo en una dilución de 1/160 o más, y que los pacientes no tuvieran tratamiento, excepto corticoterapia en dosis equivalentes a 7,5 mg diarios de prednisona o menos. Fueron excluidos los pacientes con nefropatías, con enteropatías, con alguna oftalmopatía o que hubieran presentado intolerancia al oro.

El tratamiento se administró durante 6 meses, con una dosificación de 250 a 750 mg diarios.

Se estudió el comportamiento de prostaglandinas (PGE_2 y $PGF_{2\alpha}$), y dialinas (DM y DGT) en el líquido de derrame sinovial; factor reumatoideo en sinovial y plasma, e inmunoglobulinas y fracción de complemento C'3 en plasma.

Prostaglandinas y dialinas fueron estudiadas por cromatografía y ensayo biológico contra testigos, sobre miometrio y miogastrio de rata, *in vitro*. Los niveles de ambas prostaglandinas disminuyeron; otro tanto ocurrió con la dialogastrotonina (DGT). En cambio, dialometrina (DM) incrementó su concentración sinovial.

Asimismo, tanto el factor reumatoideo como IgG, IgA e IgM plasmáticas mostraron descensos inconstantes, mientras que no se modificó la fracción C'3 de complemento.

Estos resultados agregan evidencia al criterio que sostiene que las diferencias en eficacia y selectividad reiteradamente observadas con los medicamentos antirreumáticos, obedecen a que sus mecanismos de acción pueden ser distintos.

SUMMARY

D-penicillamine is a chelating drug used in arthritis treatment. Its pharmacodynamic and toxicologic mechanisms are unknown. We studied long-term efficacy of d-penicillamine in 12 adult patients suffering from rheumatoid arthritis and knee synovial effusion.

Inclusion criteria were 3 months or more knee synovitis evolution; 1/160 or more rheumatoid factor dilution, and low corticotherapy (equivalent prednisone 7.5 mg/day or less) as only drug treatment. Exclusion criteria were nephropathy, enteropathy, ocular pathology and previous gold intolerance.

The dosage schedule was 250 to 750 mg daily during 6 months.

*Before treatment, prostaglandins (PGE_2 and $PGF_{2\alpha}$) and dialynes (DM and DGT) were shown in synovial fluid, by chromatography and biological assays against controls. After treatment, dialynes activity on myometrial and gastric *in vitro* contractility changes significantly ($p < 0.001$); dialometrine increased and DGT decreased. Besides, both prostaglandins levels decreased.*

On the other hand, plasma and synovial fluid rheumatoid factor and plasma IgG, IgA and IgM showed inconstant fall. Complement fraction C'3 did not change.

These results support a new point of view about antiinflammatory mechanism, and offers an explanation on observed differences among several antirheumatic drugs efficacy and selectivity.

La D-penicilamina es un fármaco quelante, primitivamente aplicado para tratar la enfermedad hepatolenticular de Wilson,^(1, 19, 21, 23, 43, 44) y diversas intoxicaciones por metales pesados, tales como Pb, Au, Cu, Hg y Zn.^(3, 4, 12, 21, 23, 41, 50) Ha sido probado con éxito en esclerodermia,^(15, 44) cistinuria^(27, 42) y artritis reumatoidea.^(17, 18, 34, 38, 46)

Con esta última finalidad su empleo se ha extendido considerablemente en los últimos años, no obstante la frecuencia comprobada de sus reacciones adversas.^(1, 5, 9, 10, 14, 24) Sus características farmacológicas han hecho que hoy se le juzgue jefe de fila de un grupo de antiinflamatorios y antirreumáticos no esteroideos⁽⁸⁾ calificados como "droga tipo penicilamina" por Huskisson⁽¹⁸⁾ y como NSA1 grupo E por

Nickander, McMahon y Ridolfo.⁽³⁹⁾ Sin embargo, no hay acuerdo sobre sus mecanismos de acción farmacológicos ni tóxicos, y se ignoran muchos aspectos farmacodinámicos y cinéticos que permitan definir con claridad sus ventajas, indicaciones específicas y riesgos en la terapia antirreumática.^(11, 23, 44, 46)

En esta presentación se aportan evidencias sobre acciones de D-penicilamina en el comportamiento de proteínas, autocoides, sistema inmunitario y factores reumatoideos en plasma y sinovial de artríticos.

MATERIAL Y METODOS

De acuerdo con los criterios de inclusión que se enumeran en la tabla I, de un grupo de 50 enfermos que padecían artritis reumatoidea definida, seropositiva, se

* Profesor Titular de la Cátedra de Farmacología y Terapéutica, Facultad de Medicina, Universidad Católica de Córdoba.

** Profesor Titular de la Cátedra de Farmacología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.

Instituto de Farmacología. Universidad Nacional de Córdoba

Dirección postal: Santa Rosa 1085 - 5000 Córdoba, Argentina.

seleccionaron 12 pacientes adultos voluntarios, de ambos sexos, cuyas edades fluctuaron entre 25 y 51 años. Conforme a las normas éticas internacionales que rigen la investigación farmacológica,⁽³⁰⁾ se informó a cada uno de las características adversas de la D-penicilamina y de su derecho a abandonar la prueba en cualquier circunstancia.

TABLA I
Criterios de inclusión

1. *Genusinovitis* (evolución mínima 3 meses).
2. *Corticoterapia previa máxima*: equivalente 7,5 mg prednisona.
3. *Factor reumatoideo* >1/160
4. *Ausencia de nefropatías, gastroenteropatías, oftalmopatías y serositis.*
5. *Aureorreacciones adversas no constatadas.*
6. *Sin citostáticos* en los últimos 6 meses.

Cada paciente recibió D-penicilamina durante 6 meses, en dosis que variaron entre 250 y 750 mg diarios, siguiendo el plan de dosificación que detalla la tabla II. Se suprimió toda otra medicación para evitar cualquier tipo de interacciones durante el desarrollo del experimento, excepto paracetamol, que se empleó como coadyuvante analgésico, según necesidad, en dosis de hasta 2 g diarios.

TABLA II
D-penicilamina - Plan de dosificación

Periodo	Prodi	Prodie	Por 48 hs.	Por semana
Primera semana	250 mg	250 mg	500 mg	1.750 mg
Segunda semana	250 mg	500 mg	1.000 mg	3.500 mg
Tercera semana	250 mg	750 mg	1.500 mg	5.250 mg
Desde 12ª semana	250 mg	625 mg	1.250 mg	4.375 mg

La eficacia terapéutica se comprobó por la respuesta clínica en las zonas de lesión, y midiendo antes y después del tratamiento parámetros plasmáticos y sinoviales. En plasma se determinaron IgG, IgM, IgA y fracción de complemento C'3, por inmunodifusión radial cuantitativa; factor reumatoideo (FR) por aglutinación en placa según Singer y Plotz;⁽²⁰⁾ eritrosedimentación y proteína C reactiva. En líquido sinovial, extraído por paracentesis de rodilla, se investigaron dialinas por el procedimiento de Meirovich;^(29, 31, 32) prostaglandinas PGE₁ y PGF_{2-α} por el método de Anggard,⁽²¹⁾ modificado;⁽²⁶⁾ FR, complemento C'3, proteínas (por electroforesis); células y porcentaje de neutrófilos, por microscopía común.

Los ensayos biológicos requeridos para cuantificar los autocoides previamente detectados por cromatografía,^(2, 35) se realizaron en miometrio^(26, 31) y miogastrio^(29, 49) aislado de rata cepa "suquia", instalando las tiras musculares en baños de órgano conteniendo solución nutritiva,^(29, 37) termostatizados a 37 ± 1° C con un thermomix Braun II y conectadas para registro de actividad mediante un transductor de tensión *strain-gage* tipo Stat-ham, a un Dynograph Beckman.

Los resultados fueron evaluados por cálculo estadístico, midiéndose en porcentaje de cambio los resultados de

la relación dosis/efecto de los ensayos biológicos. Probabilidad y significatividad se valoraron según Fisher y Yates.^(6, 26, 28)

RESULTADOS

La tabla III sintetiza los resultados obtenidos en plasma, midiendo los parámetros reumatológicos corrientes, antes y después del tratamiento. Se advierte que la D-penicilamina genera en 6 meses significativa disminución de proteína C reactiva (50 %, p<0,001); eritrosedimentación (57 %, p<0,001), e IgA (20 %, p<0,01). FR e IgG se redujeron en forma inconstante, no apareciendo modificación significativa del complemento ni de IgM.

TABLA III
Modificación de parámetros sanguíneos con penicilamina

Parámetro	Previo a Pa.	Posterior a Pa.	Diferencias porcentuales promedio
V. S. hemat.	94 ± 12	53 ± 7	↓ 57
P. C. react.	++++	++	↓ 50
			40 % casos
F. R.	1/544 ± 30	1/416 ± 30	↓ 50 % dism.
Compl. C'3	234 ± 35	213 ± 30	N. S.
IgG	1136 ± 110	968 ± 95	↓ 13
IgA	227 ± 30	167 ± 12	↓ 20
IgM	104 ± 20	85 ± 7	N. S.

En el líquido sinovial (tabla IV), el número total de células disminuyó significativamente (p<0,005), no así neutrófilos, proteínas totales ni complemento. En algunos casos el Fr descendió hasta 75 %, mientras que en otros no se modificó.

TABLA IV
Modificación de líquido sinovial con penicilamina

Parámetro	Previo a Pa.	Posterior a Pa.	Diferencias porcentuales promedio
Células	51.700 ± 12.000	33.480 ± 3.500	29
Neutrófilos	75 % ± 3	66 % ± 7	N. S.
Compl. C'3	1/254 ± 22	1/177 ± 20	18
F. R.	725	360	Variable 75 0
Proteínas	359 ± 25	340 ± 21	N. S.

Las pruebas cromatográficas y biológicas certificaron la presencia de PGE₂ y PGF_{2-α} en el líquido sinovial de pacientes sin tratamiento. Por contraste, no se pudo demostrar su presencia ni en los cromatogramas ni en los ensayos *in vitro*, en los extractos sinoviales de pacientes tratados durante 6 meses con D-penicilamina (gráfico 1), estableciendo una p<0,0001.

Por cromatografía y valoración biológica se pudo probar que el líquido sinovial de pacientes no tratados contiene escasa actividad dialométrica (DM), pero abundante dialogastrotonina (DGT) y peristaltina (PS). Sin embargo, 6 meses de D-penicilamina modificaron el cuadro: DGT desciende a menos de 25 % de la actividad inicial (p<0,001); DM aumenta (p<0,001) y PS desaparece (gráfico 2).

GRAFICO 1
 Dialinas en líquido sinovial
 Efecto de la penicilamina (625 mg/día)

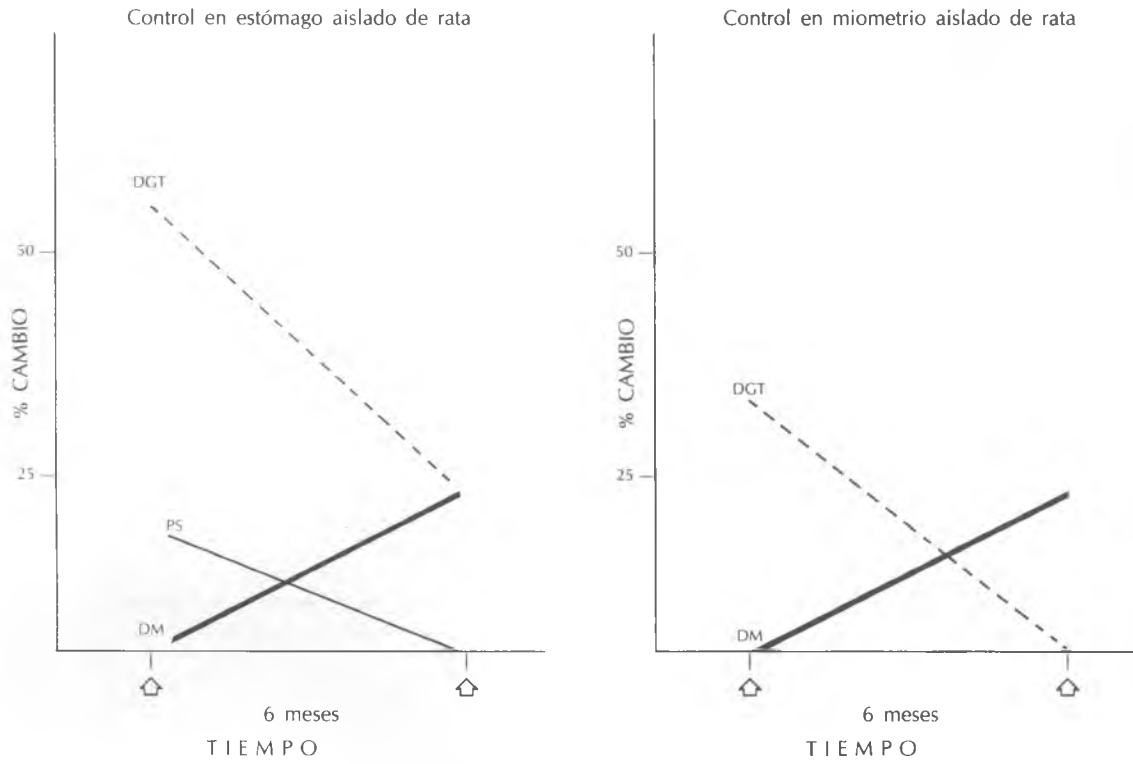
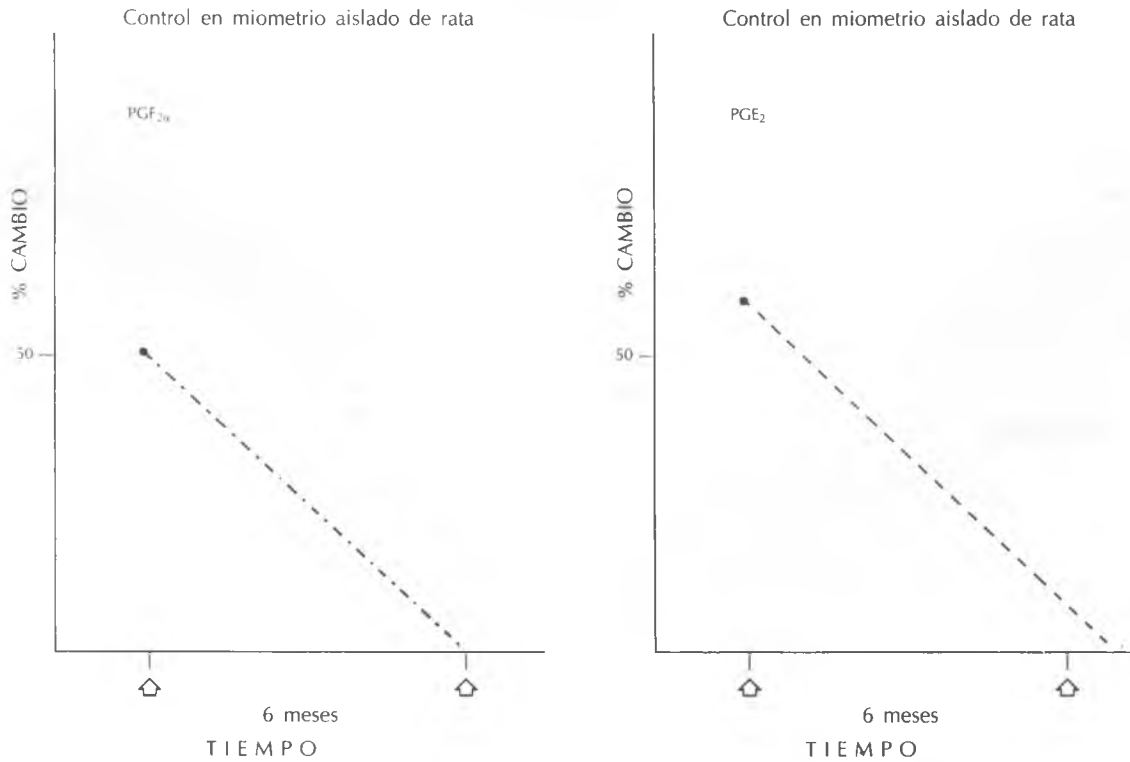


GRAFICO 2
 Prostaglandinas en líquido sinovial
 Acción de la penicilamina (625 mg/día)



Estos resultados descritos para prostaglandinas y dialinas se presentan sea cual fuere la relación entre el volumen de líquido sinovial acumulado o extraído de la articulación antes y después del tratamiento.

D-penicilamina agregada directamente al baño de órgano, o cromatografiada sobre papel con acetona-agua 80-2- (RF 0,65), luego eluida de la zona de mancha y agregada al preparado de músculo liso, fue inactiva sobre útero como sobre estómago aislado de rata.

DISCUSION

La D-penicilamina es la D-beta-beta-dimetilcisteína, producto de degradación hidrolítica de la penicilina, que ha perdido su capacidad antibacteriana, adquiriendo en cambio eficacia quelante sobre diversos metales pesados. Es un producto relativamente estable *in vivo* pues, a diferencia del aminoácido cisteína no metalizado, es moderadamente resistente ante la acción de las enzimas cisteindesulfhidrasa y L-aminoácido-oxidasa.^(23, 45)

Aunque admitida su eficacia antiartrítica,^(17, 18, 25) que se manifiesta tras tratamientos relativamente prolongados,^(34, 43, 44) los mecanismos de acción que explican esa eficacia son motivo de agudas controversias, pues es más lo que se supone que lo que se ha probado.^(11, 12, 15, 19, 21, 22, 23, 44, 45)

En ese sentido un análisis de nuestros resultados puede ser útil. En primer lugar, al cabo del tratamiento se observó significativa mejoría clínica de los pacientes, aunque hubo que descartar 4 casos (33 %) que se retiraron de la prueba por el desarrollo de reacciones adversas: 1 albuminuria persistente, 1 diarrea con enterocolitis, 1 urticaria gigante que desaparecía al suprimir la droga y reaparecía con su readministración, y 1 dermatitis tipo eczemátide.

Llama la atención la inconstancia de respuesta del factor reumatoideo (FR). Salva,⁽⁴⁴⁾ Jaffe,⁽²⁰⁾ nosotros mismos⁽³³⁾ y otros autores ya hemos advertido que FR no parece ser un parámetro que indique eficacia ni oriente sobre el mecanismo de acción. Similar respuesta impredecible a nivel plasmático y sinovial se reiteró para IgG.

En cambio, IgA cayó significativamente, mientras que IgM no se modificó. Si agregamos a ello la disminución altamente significativa de la proteína C reactiva, así como la inalterabilidad del complemento tanto plasmático como sinovial, y de las proteínas sinoviales totales, el panorama de la respuesta proteica a la D-penicilamina aparece muy distorsionado, haciendo presumir que podría estarse frente a formas etiopatogénicas

distintas agrupadas bajo el solo rótulo genérico de artritis reumatoidea (AR). Este aspecto, que se apoya por observaciones parciales realizadas en otros pacientes artríticos que hemos tratado con el mismo fármaco (integrantes del grupo inicial), merece reestudiarse.

De cualquier manera, la desaparición de la actividad prostaglandínica, de las dialinas DGT y DS, y la significativa reducción del número total de células en líquido sinovial, admiten interrelación si se supone que las acciones de la D-penicilamina se ejercen sobre sistemas celulares conectados con la mitosis y la liberación de autacoides.

Frente a ello exige explicación la elevación de dialometrina, probablemente originada en las proteínas del medio, así como la no modificación del número de neutrófilos. Este último hecho puede sostener la hipótesis de que penicilamina y los fármacos de su grupo (levamisol, sales de oro, etc.) actúan por mecanismos distintos de los NSAÍ antiprostaglandínicos clásicos (aspirina, diclofanac, indometacina, piroxican, naproxeno, etc.).

La desaparición de la actividad prostaglandínica contradice observaciones de Dieppe y col. y Vapaatalo y col. [cit. Capasso y col.⁽⁸⁾], quienes atribuyen a D-penicilamina y otros antiartríticos de administración prolongada un incremento en la síntesis de prostaglandinas. Es posible que tal contradicción sea sólo aparente, ya que las observaciones citadas se refieren a condiciones distintas (inflamación por pertussis, etc.). El incremento en la síntesis de PGs se produce en los primeros meses de tratamiento, revirtiéndose en los últimos.

Analizando los mecanismos previamente propuestos sobre la acción antirreumática de penicilamina, Boeni sugiere tres: quelación, competición con cisteína y acción antiautoinmunitaria. Para este y otros autores los mecanismos farmacodinámicos y tóxicos estarían relacionados.^(5, 7, 10, 12, 13, 15, 16, 19, 21, 40, 44, 46)

Ninguno de esos mecanismos parece aplicarse aquí ni explicar lo que hemos encontrado, exceptuando la intervención inmunológica en las reacciones adversas.

Asimismo intentamos averiguar en qué difieren los distintos antirreumáticos en sus efectos sobre la formación de superóxido y tromboxanos, habida cuenta que varía la respuesta y localización de acción antiprostaglandínica según los niveles de superóxidos, lo cual también modifica la orientación de la cascada araquidónica; lo que puede tener alguna relación con la responsabilidad atribuida al tromboxano A₂ en la cronificación de la inflamación artrítica.

BIBLIOGRAFIA

- ADAMS, D. A.; GOODMAN, R.; MAXWELL, M. H., y LATTA, H.: Nephrotic syndrome associated with penicillamine therapy of Wilson's disease. *Am. J. Med.*, 36:330-336, 1964.
- ANGGARD, E.: The isolation and determination of prostaglandin in lungs of sheep, Guinea pig, monkey and man. *Biochem. Pharmacol.*, 14:1507, 1965.
- APOSHIAN, H. V.: Protection by d-penicillamine against the lethal effects of mercuric chloride. *Science*, 128:93, 1956.
- APOSHIAN, H. V., y APOSHIAN, M. M.: N-acetyl-DL-penicillamine, a new oral protective agent against the lethal effects of mercuric chloride. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 126:131-135, 1959.
- AYMARD, J. P.; NETTER, P.; WITZ, F.; COLOMB, J. N.; LEDERLIN, P.; POUREL, J.; GAUCHER, A., y HERBEUVAL, R.: Cytopenies sanguines induites par la D-penicillamine. *Thérapie*, 36:337-341, 1981.
- BANCROFT, H.: Introducción a la bioestadística. Eudeba, 1ª edición española traducida de la 1ª edición inglesa. Buenos Aires, 1960.
- BURRES, S. A.; KANTER, M. E.; RICHMAN, D. P., y ARNASON, B. G. W.: Studies on the pathophysiology of chronic D-penicillamine-induced myasthenia. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 377:640-651, 1981.
- CAPASSO, F.; MASCOLO, N., y AUTORE, G.: Enhancement by levamisole of the contractions induced by prostaglandin E₂ in the Guinea pig isolated ileum.
- CAMUS, J. P.; CROUZET, J.; PRIER, A., y LECA, A. P.: Complications du traitement de la polyarthrite rhumatoïde par la D-penicillamine. *Thérapie*, 31:385-397, 1976.
- DAWKINS, R. L.; CHRISTIANSEN, F. T., y GARLEPP, M. J.: Autoantibodies and HLA antigens in ocular, generalized and penicillamine-induced myasthenia gravis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 377:372-384, 1981.
- ENGLEMAN, E. P.: Slow acting drugs in the treatment of rheumatoid arthritis. *Rev. Rhumat. XV^e Cong. Internat. Rhumat., Moderator's synthesis.* A3-I/0100, Paris, 1981.

- 12 GOLBUS, J.; CRANE, K.; SAGER, D.; MOSTELLO, N., y WARNOLD: Penicillamine therapy (PCNH₂) in rheumatoid arthritis. Relationships between PCNH₂ toxicity and previous gold therapy. *Rev. Rhumat. XV^e Cong. Internat. Rhumat.* A3-I/0118, París, 1981.
- 13 GOLDING, J. R.; HICKLING, P., y MARTIN, M. F. R.: Penicillamine in the treatment of rheumatoid arthritis. A review of 7 years experience with 511 patients. *Rev. Rhum XV^e Cong. Internat. Rhumat.*, A3-I/0101, París, 1981.
- 14 GROB, D.: Use of drugs in myopathies. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 16:215-229, 1976.
- 15 HARRIS, E. D., y SJORDEMA, A.: Effect of penicillamine on human collagen and its possible application to treatment of scleroderma. *Lancet*, 2:996-999, 1966.
- 16 HEDDLE, J. G.; McHENERY, E. W., y BEATON, G. H.: Penicillamine and vitamine B₆ interrelationships in the rat. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 41:1215-1222, 1953.
- 17 HILL, H. F. M.: La penicilamina en el tratamiento de la artritis reumatoidea. *Rheum. Rev. Rep.* (ed. esp.), 2:179-199, 1982.
- 18 HUSKISSON, E. C.: Specific therapy rheumatoid arthritis. *Actas J. W. Conf. Clin. Pharmacol. Ther.*, 1:298-303, Londres, 1980.
- 19 JACOBUS, D.; GREANAN, M.; WAGNER, B.; MARGOLIS, C., y JAFFE, I.: Osteoathrogenic effect of penicillamine. *Amer. J. Pathol.*, 54:21-32, 1969.
- 20 JAFFE, I. A.: Intraarticular dissociation of the rheumatoid factor. *J. Lab. Clin. Med.*, 60:409-421, 1962.
- 21 JAFFE, I. A.: Cooper: relation to penicillamine-induced defect in collagen. *Science*, 161:1016-1017, 1968.
- 22 JAFFE, I. A.: The antivitamin B₆ effect of penicillamine: clinical and immunological implications.
- 23 KLAASEN, C. D.: Heavy metals and heavy-metal antagonists. En: Goodman y Gilman's: "The pharmacological basis of therapeutics". MacMillan Pub. Co., 6^a edición, pp. 1615-1637, Nueva York, 1980.
- 24 KNUDSEN, L., y WEISSMANN, K.: Taste dysfunction and changes in zinc and copper metabolism during penicillamine therapy for generalized scleroderma. *Acta. Med. Scand.* 204:75-79, 1978.
- 25 KRIKUNOV, V. P.; ANDERSON, A. A., y SHIBARIN, V. D.: The use of acetylation reaction with the help of sulfodimesin in patients with rheumatoid arthritis for correction of D-penicillamine dosis. *Rev. Rhumat. XV^e Cong. Internat. Rhumat.*, A3-I/0122, París, 1981.
- 26 LIMA, F.; GIMENO, M. F.; GOLDRAIJ, A.; BEDNERS, A., y GIMENO, A. L.: PGF₂-alpha and motility of myometrium isolated from ovariectomized rats. Effects of 17-beta-estradiol. *Life Sci.*, 10:990-1008, 1971.
- 27 MacDONALD, W. S., y FELLERS, F.: Penicillamine in the treatment of patients with cystinuria. *JAMA*, 197:396-402, 1966.
- 28 MEIROVICH, C. I.: Synthèse et libération de leucino-amino-peptidase par les glandes parathyroïdiennes de rat in vitro. *Ann. Biol. Clin.*, 24:831-836, 1966.
- 29 MEIROVICH, C. I.: Fundamentos de farmacología clínica. Arpon, 1^a edición, Córdoba, 1980.
- 30 MEIROVICH, C. I., y BLANK, B.: Aislamiento cromatográfico de una nueva sustancia oocitócica: dialometrina. *Obst. Ginec. Lat. Amer.* 29:384-392, 1971.
- 31 MEIROVICH, C. I., y MONTRULL, H. L.: Dialinas en líquido sinovial: *Actas III Cong. Reg. Lat. Amer. Farmacol.*, p. 107. Montevideo, 1970.
- 32 MEIROVICH, C. I.; MONTRULL, H. L., y STRUSBERG, A. M.: Actividad de D-penicilamina sobre autacoides en sinovial de pacientes con artritis reumatoidea. *Actas III Cong. Reg. Lat. Amer. Farmacol.*, p. 106. Montevideo, 1980.
- 33 MEIROVICH, C. I.; MONTRULL, H. L.; STRUSBERG, A. M., y ARROYO, A.: D-penicillamine activity on synovia autocooids, in rheumatoid arthritis. *Proc. I. W. Conf. Clin. Pharmacol. Ther.*, 2(0756). Londres, 1980.
- 34 MEIROVICH, C. I., y SPINA, H. A.: Efecto de la purificación cromatográfica sobre una fracción plasmática oocitócica, in vitro. *Actas XIII Cong. Argent. Obst. Ginec.*, 2:243-244, 1970.
- 35 MULTICENTRE TRIAL GROUP: Controlled trial of D-penicillamine in severe rheumatoid arthritis. *Lancet*, 1:275-280, 1973.
- 36 NICKANDER, R.; McMAHON, F. G., y RIDOLFO, A. S.: Nonsteroidal anti-inflammatory agents. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 19:469-490, 1979.
- 37 OKECHUKWU, C., y KELENTEY, B.: The pharmacological properties of penicillamine. *Actas 4th Internat. Cong. Pharmacol.*, 1:471. Basilea, 1969.
- 38 PRASSAD, A. S.: Clinical, biochemical and pharmacological rols of zinc. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 19:393-426, 1976.
- 39 ROSEMBERG, L. E., y HAYSLETT, J. P.: Nephrotoxic effect of penicillamine in cystinuria. *JAMA*, 201:696-699, 1967.
- 40 ROTÉS QUEROL, J.: Avances farmacológicos en el tratamiento de la artritis reumatoidea. *Av. Terap.*, 6:73-87, 1975.
- 41 SALVA, J. A.: Posibilidades terapéuticas de la d-penicilamina. *Av. Terap.*, 7:114-126, 1982.
- 42 SAWYER, W.H., y MANNING, M.: Synthetic analogs of oxytocin and the vasopressins. *Ann. Rev. Pharmacol.*, 13:5-17, 1973.
- 43 SKOSEY, J. L., y CHOW, D. C.: Protection by D-penicillamine (PEN). Gold salts and other drugs of alpha-proteinase inhibitor (alpha₁-PI) from oxidative damage: A mechanism for the prevention on inflammatory tissue damage. *Rev. Rhumat. XV^e Cong. Internat. Rhumat.* A3-I/0121. París, 1981.
- 44 VANE, J. R.: A sensitive method for the assay of 5-hydroxytryptamine. *Brit. J. Pharmacol.*, 12:344-349, 1957.
- 45 WADDELL, W. J.: Localization of drugs in tissues with respect to their physiological actions. *Ann. Rev. Pharmacol.*, 13:153-168, 1973.