



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
FACULTAD DE MEDICINA
LABORATORIO DEL DOLOR

“PERFIL ANALGÉSICO DE METAMIZOL Y KETOPROFENO EN DOLOR OROFACIAL EXPERIMENTAL”

Daniela Soledad Pérez George

TRABAJO DE INVESTIGACION

REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE

CIRUJANO-DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL:

Prof. Dr. Hugo F. Miranda G.

TUTOR ASOCIADO:

Prof. Dr. Fernando A. Sierralta G.

Santiago de Chile

2011

INDICE

I. Introducción.....	1
II. Marco Teórico.....	4
1. Dolor.....	4
2. Clasificación del dolor.....	4
2.1. Según su duración.....	4
2.2. Según la discriminación espacial o características somatosensoriales..	4
2.3. Según características temporales del dolor.....	5
2.4. Según sitio de origen.....	5
2.5. Según fisiología.....	5
3. Neurofisiología del dolor.....	6
4. Dolor en el territorio trigeminal.....	8
5. Fármacos utilizados en la analgesia.....	10
6. Antiinflamatorios no esteroidales.....	10
6.1. Clasificación de los AINEs.....	12
6.2. Reacciones adversas de los AINEs.....	14
6.3. Ketoprofeno.....	14
6.4. Metamizol o dipirona.....	15
7. Interacción de fármacos.....	17
III. HIPOTESIS.....	18
IV. OBJETIVO GENERAL.....	18
V. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
VI. Materiales y Métodos.....	19
1. Cuantificación del dolor en animales.....	20
2. Test de la formalina.....	20

3. Análisis	
Isobolográfico.....	21
4. Evaluación de la analgesia.....	24
VII. Resultados.....	24
1. Grupo Control.....	24
2. Grupo Tratado con Metamizol.....	25
3. Grupo Tratado con Ketoprofeno.....	27
4. Paralelismo de los AINEs.....	29
5. Análisis isobolográfico de la interacción metamizol con Ketoprofeno.....	30
VIII. Discusión.....	32
IX. Conclusiones.....	34
X. Sugerencias.....	35
XI. Referencias Bibliográficas.....	36
Anexos.....	41

RESUMEN

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son uno de los grupos más utilizados en el tratamiento del dolor, es por ello que en este estudio se ha analizado la interacción entre dos de ellos, el metamizol y el ketoprofeno. Para tal propósito se utilizó el análisis isoblográfico en el test de la formalina orofacial al 2% en ratones. La administración de los fármacos se realizó vía intraperitoneal (i.p.) en 120 ratones *Mus Musculus* de la cepa CF/1, obteniéndose una respuesta tipo dosis dependiente tanto en fase I como en fase II. Al combinar los fármacos utilizados en una proporción 1:1 de sus correspondientes dosis efectivas 50 (DE_{50}) se logró una interacción de tipo supraaditiva, sinérgica o superaditiva en ambas fases disminuyendo significativamente la dosis a utilizar. Este sinergismo puede tener relación con el diferente mecanismo de acción para cada fármaco, ya que el metamizol es un inhibidor preferencial de COX-3, en cambio el ketoprofeno sería un inhibidor preferencial de COX-1. Esto cobra gran importancia en la clínica, pues podemos reducir significativamente las dosis a emplear, disminuyendo considerablemente con esto las reacciones adversas.

I. INTRODUCCIÓN

Los fármacos más usados en el tratamiento farmacológico del dolor son los analgésicos antiinflamatorios no-esteroidales (AINES) y los opioides. Además, existen agentes coanalgésicos o coadyuvantes como los antidepresivos, los antiepilépticos, los anestésicos locales, los cannabinoides, etc. (1-5).

De los fármacos antes citados, los AINEs son los más utilizados en los diferentes tipos de dolor, tanto agudo como crónico, y por lo tanto los más estudiados en varias especialidades médicas y en especial, en el campo odontológico, tanto en el preoperatorio como postoperatorio, en diversos cuadros clínicos odontológicos álgidos o inflamatorios (6). Es importante hacer notar que independientemente de su eficacia clínica como analgésicos, antiinflamatorios, antipiréticos o antiplaquetarios, presentan una serie de reacciones adversas que limitan su uso o en algunos casos, lo contraindican. Entre ellas se pueden mencionar: úlcera gástrica o duodenal, dispepsia, náuseas, vómitos, epigastalgias, constipación, flatulencia, diarrea, angioedema, broncoespasmo, insuficiencia renal moderada a severa, insuficiencia hepática grave, trastornos de la coagulación. A nivel cutáneo prurito, exantema, urticaria, reacciones de hipersensibilidad. Además, se describe cefaleas, palpitaciones, acúfenos, mareos, somnolencia. Se han comunicado reacciones de hipersensibilidad cruzada entre los antiinflamatorios no esteroidales. Deben indicarse con precaución en sujetos con antecedentes de enfermedades gastrointestinales, en ancianos, en pacientes bajo tratamiento anticoagulante oral, y en aquellos que presenten insuficiencia renal o hepática. Por otra parte, los antiinflamatorios no esteroidales pueden descompensar la hipertensión arterial, debido a una inhibición de la síntesis de prostaglandinas vasodilatadoras a nivel renal (6). Es por esto que a través de la investigación se buscan alternativas que logren obtener fármacos que generen la menor cantidad de efectos adversos con las dosis más bajas que puedan administrarse, logrando así fármacos más seguros para las diversas patologías. Para lograr esto, uno de los procedimientos más utilizados es la experimentación en animales, mediante la cual, el dolor sólo puede ser medido a través de reacciones frente a cierto tipo de estímulos, ya sean térmicos,

químicos o mecánicos, con el problema de que no considera el componente afectivo-social del mismo.

Los AINEs producen sus efectos primariamente por bioinhibición de las enzimas ciclooxigenasas (COXs). Estas enzimas de naturaleza proteica catalizan reacciones químicas que generan prostanoïdes. Se han descrito 3 isoenzimas: COX-1; COX-2 y COX-3. COX-1 es una enzima constitutiva que se expresa en casi todos los tejidos, incluyendo el sistema nervioso central; por tanto posee múltiples funciones, entre las cuales se pueden destacar su acción protectora de la integridad de la mucosa del tracto gastrointestinal, la mantención de la función renal, etc. COX-2 es una enzima inducible, pero es constitutiva en el sistema nervioso central. Se induce por varias citoquinas, hormonas y mitógenos en el curso de la inflamación. La isoenzima COX-3, recientemente descrita, se encuentra en el sistema nervioso central, corazón, aorta y tracto gastrointestinal. Está relacionada con el dolor, la fiebre y la inflamación. En resumen, estas 3 isoenzimas COXs contribuyen a mantener la homeostasis del organismo y son las que permiten producir las prostaglandinas y otros prostanoïdes, a partir del ácido araquidónico. Las prostaglandinas son ácidos grasos de 20 carbonos (eicosanoïdes), constituyen una familia de mediadores celulares, con efectos diversos. Intervienen en la respuesta inflamatoria con producción de vasodilatación, aumento de la permeabilidad de los tejidos permitiendo el paso de los leucocitos; afectan la agregación plaquetaria; estimulan las terminaciones nerviosas nociceptivas; contraen la musculatura lisa - lo que es importante en la función uterina- intervienen en la regulación de la temperatura corporal, entre otras acciones (6,7,8).

Existen diferentes AINES, entre los cuales se encuentra el metamizol. El cual es un AINE que ha sido clasificado como inhibidor primariamente de la COX-3 (9,10) y que se emplea tanto por vía oral como parenteral en procesos dolorosos agudos moderados a severos. Su mecanismo de acción, es controversial, ya que existen evidencias que está relacionado tanto con la inhibición de COX-1 y COX-2, como de COX-3 (11), debido a su capacidad de analgésica, antipirética y antiinflamatoria (10,11). Por otra parte, el ketoprofeno, es un AINE que ha sido clasificado como inhibidor

primariamente COX-1 (12) y que se emplea tanto por vía oral como parenteral en procesos dolorosos agudos moderados a severos (13). Ketoprofeno es un AINE racémico que presenta eficiencia tanto como antinociceptivo como en modelos inflamatorios de dolor, hecho que ocurre en animales y en humanos. (14-15). El mecanismo de acción ha sido adscrito a la inhibición tanto de COX-1 como de COX-2, las cuales inducen una disminución de la síntesis de prostaglandinas a nivel periférico como central (16), además produce una inhibición de las lipooxigenasas conduciendo a una disminución de la producción de leucotrienos (17,18).

En este estudio se evaluará el tipo de interacción analgésica de la combinación de ketoprofeno con metamizol, usando como método algesiométrico una modificación del ensayo de la formalina orofacial de Luccarini (19). La evaluación de la interacción será estudiada por el método isobolográfico, basado en el sistema de Tallarida (2,3,20).

II. MARCO TEÓRICO

1. Dolor

El dolor ha sido definido por la Asociación internacional para el estudio del dolor (IASP) como “una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociado a un daño tisular real o potencial, o descrita en términos de dicho daño”.(21) En ciertas ocasiones fisiológicas es una función protectora o de alerta a algún problema, previniendo reacciones y comportamientos para evitar posibles daños.

2. Clasificación del dolor

Existen varias clasificaciones del dolor, entre ellas las siguientes:

2.1 Según su duración:

a) **Dolor Agudo:** Es el dolor de corta duración y presente durante el tiempo que ocurre la reparación tisular. Suele acompañarse de respuestas neurovegetativas, entre las cuales se mencionan como sudoración taquicardia, etc. Es el dolor más frecuente en odontología.

b) **Dolor Crónico:** Es el dolor que dura más de 3 meses. Es el que persiste más allá del tiempo necesario para que los tejidos sanen. Puede ser continuo o recurrente y es en el cual predominan los componentes psicológicos y conductuales teniendo poco o nulo componente neurovegetativo. Este tipo de dolor puede repercutir en la calidad de vida de las personas (22).

2.2 Según la discriminación espacial o características somatosensoriales:

a) **Epicrítico:** Es el dolor de localización precisa, superficial y no referido. Tiene carácter vivo, punzante, comienzo y terminación rápida. Conducido por fibras A delta. Este dolor incita al individuo a huir o a pelear.

b) **Protopático:** Es el dolor difuso, sordo, difícil de ubicar y no discriminativo. Es de origen más profundo, puede ser referido y es conducido por las fibras C (22).

2.3 Según características temporales del dolor:

a) **Continuo:** Es el dolor que permanece estable en una cierta intensidad durante su duración.

b) **Recurrente:** Es cuando experimenta periodos completos de alivio o agregándose momentos de dolor más intensos. Puede presentar características de periodicidad (22).

2.4 Según sitio de origen:

a) **Periférico:** Es el que se origina a nivel de los tegumentos.

b) **Visceral:** Es el que se produce por la estimulación de receptores del dolor a nivel de las vísceras pélvicas, abdominales o torácicas, cavidades serosas y articulaciones.

c) **Central:** Es el que tiene su origen en el sistema nervioso central (SNC)

2.5 Según fisiología:

a) **Fisiológico:** Es desencadenado por estímulos específicos de gran intensidad, bien localizados, de tipo transitorio. Su rol fundamental es proveer un sistema protector, advirtiendo sobre estímulos potencialmente dañinos.

b) **Inflamatorio:** Se genera por la existencia de una lesión tisular, la cual desencadena un estado inflamatorio, con la consecuente liberación de mediadores químicos y una activación permanente de las vías nociceptivas.

c) **Neuropático:** Es un dolor producido por lesión directa sobre el nervio, puede ser periférico o central. Se produce por anomalías funcionales o estructurales en el sistema nervioso periférico (SNP) o central (SNC), lo que ocasiona descargas espontáneas y paroxísticas que son interpretadas como dolor. Se presenta como una sensación basal dolorosa o quemante, con hiperalgesia y alodinia. Dolor producido por un estímulo que normalmente no lo produce). (22,23)

3. Neurofisiología del dolor

La transmisión de un estímulo nervioso desde la periferia hasta el sistema nervioso central requiere de:

- 1) Receptores periféricos o nociceptores
- 2) Sinapsis en la médula espinal
- 3) Vías de conducción desde la médula espinal hasta los centros superiores.
- 4) Vías descendentes desde los centros superiores (24,25)

Los nociceptores codifican la intensidad, localización y duración del estímulo nocivo, al liberar por el tejido lesionado (histamina o bradiquinina), o a alteraciones metabólicas, como baja de pH y aumento de concentración de ciertos iones, es por esto, que los nociceptores pueden considerarse como quimioceptores.

Los nociceptores los podemos clasificar en 2 tipos fundamentalmente:

- 1) **Fibras A δ** : Son las responsables del dolor agudo, de aparición rápida y corta duración llamado primer dolor. Secretan glutamato, el que actúa en receptores tipo AMPA. Presentan un menor umbral que las fibras C, respondiendo a estímulos intensos.
- 2) **Fibras C**: Transmiten sensación mal localizada, responsables del dolor urente y persistente llamado, segundo dolor. Son polimodales y evocan el componente afectivo de la experiencia dolorosa. Su principal neurotransmisor es el glutamato, pero libera también sustancia P y péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGPR). Los cuerpos celulares se encuentran en el ganglio de la raíz dorsal de la médula espinal. (4,8).

Los impulsos dolorosos penetran en la médula espinal por las raíces posteriores y efectúan su sinapsis en la sustancia gelatinosa estableciendo contacto con células profundas de esta estructura. Pueden distinguirse 3 haces dentro de estas fibras

- 1) Haz Neoespinotalámico:** Situado en la zona anterolateral de la médula. (Es el de desarrollo filogenético más reciente, tal como lo dice su nombre), Ascende hasta los núcleos ventral posterior o posterolateral del tálamo.
- 2) Haz Paleo-spinotalámico:** Se proyecta en forma bilateral a los núcleos inespecíficos del tálamo, para luego dirigirse a la corteza frontal.
- 3) Haz Espinoreticulotalámico:** Es el que sinapta con la formación reticular a diferentes niveles: bulbo, protuberancia reticular mesencefálica y sustancia gris periacueductal. Luego se proyecta al tálamo en forma bilateral a los núcleos inespecíficos.

El gran centro modulador es el asta posterior. Como sistemas moduladores encontramos las proyecciones de fibras centripetas de grueso calibre (periféricas), y las descendentes desde niveles superiores encefálicos como es la sustancia gris periacueductal y el bulbo rostral ventromedial (centrales), que proyectándose sobre las neuronas de conducción modifican su actividad, formándose un complejo de retroestimulación y posteriormente de inhibición, como se representa en la Figura 1.

Las neuronas que conforman las vías descendentes son de tipos: serotoninérgicas, noradrenérgicas y dopaminérgicas.

Las neuronas serotoninérgicas se ubican principalmente en el rafe magnus y sus fibras se distribuyen ampliamente en la médula espinal y núcleos trigeminales, La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5HT) es un importante neurotransmisor y neuromodulador. Su disminución o depleción por lesión de los núcleos del sistema nervioso central ricos en esta sustancia, disminuye el umbral doloroso y produce hiperalgesia, a la vez, la estimulación de los núcleos produce liberación de serotonina y analgesia (8).

El rol sobre las fibras aferentes de los nociceptores de la serotonina, podría ser mediante la estimulación de interneuronas inhibitorias locales, o bien, directamente sobre el nociceptor o la segunda neurona aferente. Los principales receptores asociados son los 5-HT₁, 5HT₂, 5HT₃, 5HT₄ (25,26).

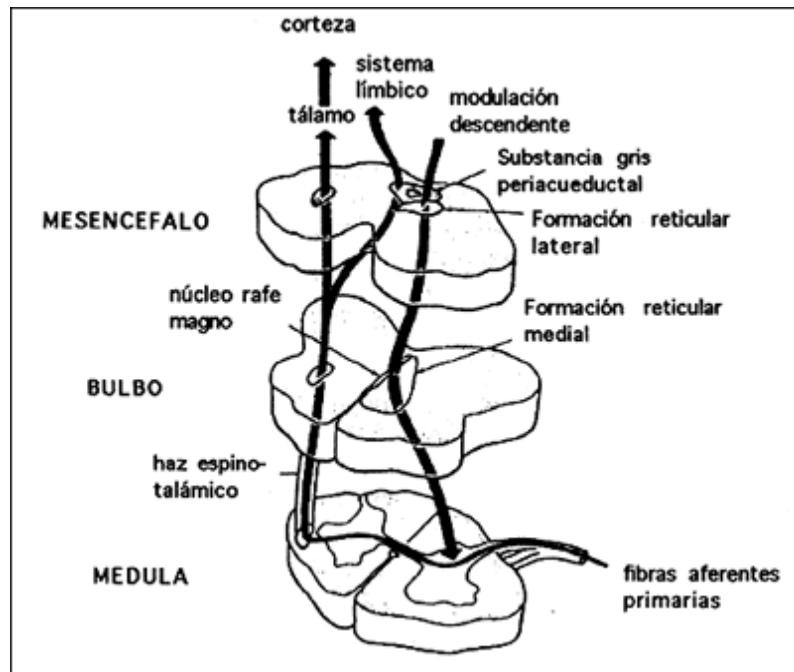


Figura 1.- Vías del dolor. (22)

4. Dolor en el territorio trigeminal

En el territorio orofacial, la información sensorial, exteroceptiva y propioceptiva se transmite desde la periferia al SNC, casi en su totalidad por el nervio trigémino, el cual se divide en 3 ramas, la rama oftálmica, maxilar y mandibular, innervado así los 3 tercios de la cara. Todo se inicia con la activación de los nociceptores, los cuales realizan la transducción del estímulo a un impulso nervioso. Estos nociceptores corresponden a terminaciones libres de una neurona bipolar o en T, cuyo núcleo se encuentra en el ganglio de Gasser. En este ganglio es donde se unen las 3 ramas del trigémino.

La proyección axonal proximal de la neurona en T, que parte en el ganglio sensitivo trigeminal (ganglio de gasser), transcurre por la fosa craneana media hasta penetrar al sistema nervioso central a través de la protuberancia anular. Una vez en el interior de la protuberancia, las fibras del trigémino se dirigen hacia los núcleos sensitivos de este nervio que se encuentran en el tronco encefálico, formando una gran columna de sustancia gris que se divide en 3 núcleos en sentido rostro – caudal: el núcleo mesencefálico, el núcleo sensitivo principal y el núcleo espinal, los cuales representan los centros segmentarios somato-sensitivos del trigémino. (13)

El núcleo espinal se subdivide en subnúcleo oral, subnúcleo interpolar y subnúcleo caudal, (ver figura 2). Los subnúcleos caudal e interpolar resumen la sensibilidad térmica y dolorosa del territorio orofacial (15). La división mandibular esta localizada en la zona dorsal o dorsomedial del núcleo sensitivo del trigémino y de los 3 subnúcleos, la rama oftálmica en la zona ventral y la rama maxilar en la zona intermedia de ellos. Desde el núcleo espinal parte la segunda neurona de la vía del dolor que puede ser de dos tipos:

1. Neuronas Nociceptivas Específicas: Solo reciben aferencias de fibras A δ y C.
2. Neuronas de amplio rango dinámico (WDR): Reciben aferencias de fibras A δ y C y además reciben aferencias que tiene que ver con la percepción táctil, mediante colaterales que emiten neuronas A β .

En el 90% de los casos el axón de la segunda neurona cruza la línea media y el 10% sube por el lado ipsilateral, llegando al núcleo ventro-pósteromedial del tálamo. Desde aquí parte la tercera neurona, la cual puede proyectarse a distintas zonas, como la corteza somatosensitiva, el sistema límbico, el sistema autónomo, etc, logrando así caracterizar el dolor (ver figura 2).

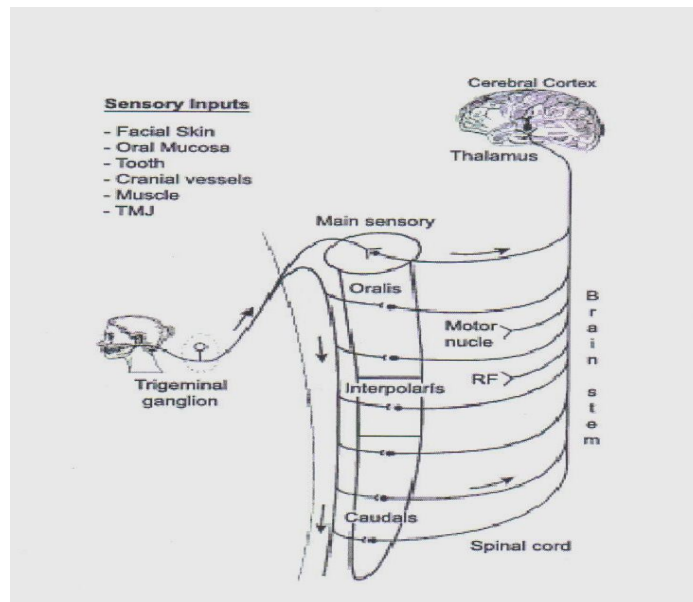


Figura 2.- Principal vía somatosensorial trigeminal (26).

5. Fármacos utilizados en la analgesia

Entre los fármacos para controlar el dolor podemos citar:

- 1) **Los anestésicos locales:** Producen un bloqueo reversible de la conducción nerviosa a través de la inyección directa de este, logrando una analgesia efectiva y segura.
- 2) **Los opioides:** Producen una disminución del dolor y de su componente emotivo, sin pérdida de la conciencia, actúan a nivel central.
- 3) **Los AINEs o analgésicos antiinflamatorios no esteroidales:** un grupo de sustancias químicas con propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias.
- 4) **Los coanalgésicos:** conjunto de diversos agentes como los antidepresivos, antiepilépticos, los cannabinoides, el alcohol, los corticoesteroides, relajantes musculares, etc.

6. Antiinflamatorios no esteroidales (AINEs)

Son los analgésicos de mayor uso en el dolor agudo y en el de mediana intensidad. Son un grupo variado y químicamente diferente, siendo su prototipo la aspirina. Pueden actuar disminuyendo el dolor, la inflamación o la fiebre, lo que caracteriza a cada uno por su variada potencia.

El mecanismo de acción de los AINEs es la inhibición reversible de las ciclooxigenasas (COXs), que son las enzimas encargadas de transformar el ácido araquidónico, proveniente de los fosfolípidos de membrana, en prostanoides: prostaglandinas (proinflamatorias) y tromboxano (vasoconstrictor, potente agente hipertensivo y facilitador de la agregación plaquetaria) (9). (Ver figura 3).

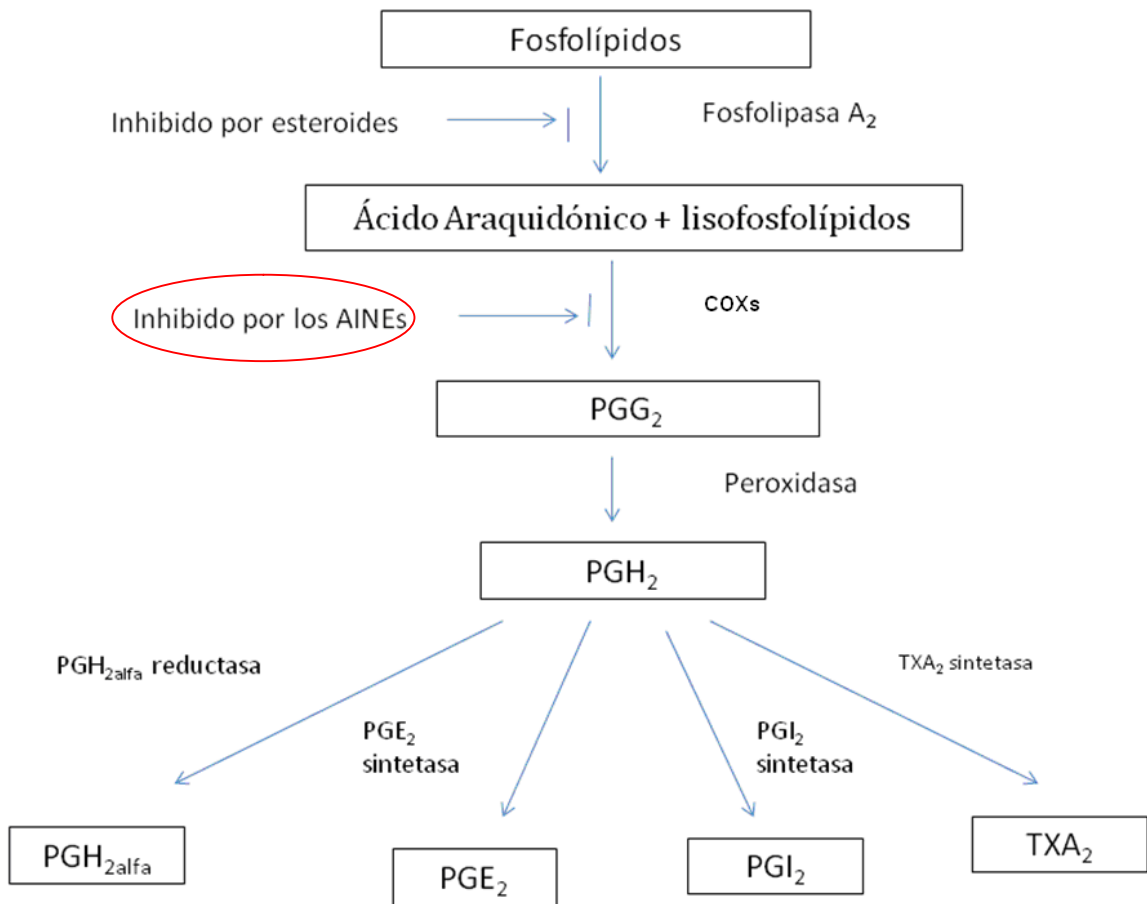


Figura 3.- Esquema de la transformación del ácido araquidónico en prostanoideos (9).

Las ciclooxigenas descritas hasta el momento son 3: COX-1, COX-2 y COX-3.

La COX-1 es constitutiva (siempre está presente en los tejidos). Los prostanoideos que sintetiza, intervienen en procesos fisiológicos de homeostasia, como la citoprotección gástrica con la producción de una capa de mucus, mecanismo de regulación del tono vascular, del tono bronquial, de la contracción uterina, de la agregación plaquetaria, etc.

La COX-2, por el contrario, es inducible ya que no se encuentra normalmente en los tejidos, sino que es producto de una respuesta rápida de expresión genómica que ocurre en células del sistema inmunológico y procesos

inflamatorios. Es inducida por múltiples estímulos, citocinas o interleucinas, interferón, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y otros mediadores de lesión tisular. Hay órganos como en el cerebro, el riñón, hueso y endotelio vascular donde la COX-2 se expresa de forma constitutiva (9).

Estas dos isoenzimas además son inhibidas en forma diferente por los fármacos, lo que es importante para la elección del fármaco a utilizar.

La COX-3 es la tercera isoforma de esta familia de enzimas. En el año 1972, Flowers y Vane tuvieron como resultado que el paracetamol lograba una inhibición efectiva de la COX en el cerebro, siendo mayor que en los otros tejidos y sugirieron que se podría explicar por una variante de la COX-1 o COX-2. Recientemente se ha descubierto una isoenzima de origen cerebral con un código de ARN que no se había caracterizado previamente con la COX-1 y a la que el grupo de Simmons denominó COX-3 (28).

La acción antipirética de los AINEs se explica por la inhibición de la síntesis de PGE₂, la acción antiinflamatoria, por la no síntesis de prostaglandinas y tromboxano, su acción analgésica por el bloqueo de la vía ciclooxigenasa inhibiendo la PGE₂ y su efecto periférico y central y la acción antiagregante por bloqueo de la formación de tromboxano. La aspirina logra un bloqueo irreversible al contrario de los demás AINEs que es reversible. Se ha descrito una acción antitumorígena, que se manifiesta en la prevención del cáncer colorrectal (9).

6.1 Clasificación de los AINEs

Existen varias clasificaciones de los AINEs basadas, en su estructura química, sus efectos adversos o bien su selectividad inhibitoria sobre las COXs.

A continuación se presenta una clasificación adaptada de Warner y Mithcell (9)

**Tabla 1.-
Inhibidores no selectivos de las COXs**

Derivados del ácido salicílico	Aspirina salicilato de sodio acetilsalicilato de lisina
Derivados del paraaminofenol	Paracetamol Propacetamol
Derivados de las pirazolonas	Metamizol Propifenazol Fenilbutazona
Derivados del ácido propiónico	Dexketoprofeno Ketoprofeno Naproxeno Ibuprofeno Dexibuprofeno fenoprofeno, etc
Derivado del ácido acético Indolacéticos Pirrolacéticos Fenilacéticos Naftilacéticos	Indometacina Ketorolaco Diclofenco Nabumetona
Derivados del ácido enólico(oxicam)	Piroxicam Tenoxicam Ampiroxicam
Derivados del ácido antránilico	ácido mefenámico ácido meclofenámico

**Tabla 2.-
Inhibidores selectivos de la COX-2**

Oxicams	Meloxicam
Sulfoanilida	Nimesulida
Indolacéticos	Etodolaco
Coxibs	Celecoxib Rofecoxib Etoricoxib. Valdecoxib

Adaptado de (9).

6.2 Reacciones adversas de los AINEs (RAMS)

Se producen a consecuencia de la inhibición de prostaglandinas que cumplen funciones fisiológicas en el organismo, pero, también aparecen con el consumo crónico y/o en grandes cantidades de los AINEs.

Las RAMs principales son a nivel gastrointestinal como úlceras, hemorragias y erosiones intramucosas. A nivel renal se ha visto disminución del índice de filtración glomerular y retención de sodio y potasio, lo que puede producir hipertensión arterial. El consumo prolongado y constante de AINEs puede provocar nefropatía intersticial crónica o insuficiencia renal crónica (9). También se ha descrito reacciones de hipersensibilidad como urticarias, edema laríngeo y ataques de asma, por inhibición de las PGE₂ y PGI₂ las cuales relajan la musculatura lisa bronquial. En relación al hígado, casi todos los AINEs se han asociado a daño hepatocelular, pero las drogas que más comúnmente se asocian a esta toxicidad son el paracetamol y la aspirina (9,28).

Otras RAMs que se han descrito son a nivel hematológicas, por los inhibidores no selectivos de la COX-2, que provocan la inhibición de la agregación plaquetaria y prolongación del tiempo de sangría pudiendo provocar hemorragias, debido a la inhibición de la formación de tromboxano A₂ (29). Pueden prolongar la gestación por inhibir a las PGE y la PGF que son potentes uterotrópicos inhibiendo de esta manera la motilidad uterina, además pueden provocar un cierre prematuro del ductus arteriosus e inducir hipertensión pulmonar persistente en el recién nacido (30).

Los AINEs puede interactuar, disminuyendo el efecto antihipertensivo de los beta-bloqueadores, los diuréticos y los inhibidores de la ECA (9).

6.3 Ketoprofeno

Este fármaco es un derivado del ácido propiónico que inhibe a las ciclooxigenasas no selectivamente (COX-1 > COX 2) y a la lipooxigenasa (9). Por ser un derivado del ácido propiónico se caracteriza por tener buen efecto analgésico, antiinflamatorio, antipirético y antiagregante plaquetario, este tipo de AINE es ampliamente utilizado en reumatología. La RAM más frecuente es

la irritación gástrica, y en el SNC puede producir cefaleas, somnolencia y mareos; sin embargo estas RAMs en el SNC son escasas (31).

El ketoprofeno, posee una efectiva y segura actividad analgésica en diversas situaciones de dolor leve a moderado. Es un fármaco racémico, es decir una mezcla entre sus enantiómeros S (+) y R (-) en cantidades equivalentes. Cada enantiómero presenta distintas actividades farmacocinéticas y farmacodinámicas (32-34).

El ketoprofeno se absorbe en forma rápida y a las dos horas se alcanza la concentración máximas en plasma. El fármaco se liga ampliamente a proteínas plasmáticas (99 %) y su vida media en plasma es de aproximadamente dos horas. Este producto se conjuga con ácido glucorónico en el hígado, y el producto conjugado se elimina por excreción renal en un 60-70 % (34).

El ketoprofeno por su buena acción analgésica y puede ser administrado por vía parenteral (intramuscular/ intravenosa), lo que constituye una buena alternativa en el tratamiento del dolor post operatorio . Además está indicado en el tratamiento de dolores agudos, por ejemplo cirugía de terceros molares, osteoartritis, artritis reumatoidea y afecciones músculo esqueléticas (32-33).

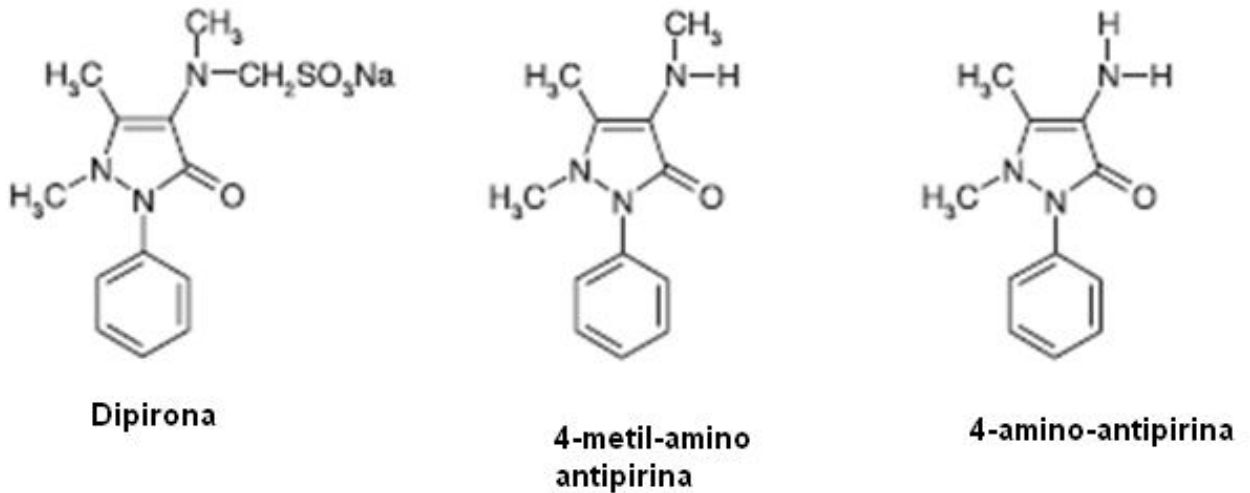
6.4 Metamizol o dipirona

El metamizol o dipirona es un fármaco ampliamente prescrito, que pertenece a la familia de los derivados pirazolónicos, y fue introducido en la práctica clínica en 1922. Existen diversas formas farmacéuticas de este AINE que puede ser administrado ya sea por vía oral, rectal o parenteral en diversos procesos dolorosos, sean de tipo agudo, moderado o severo. Asimismo, es utilizado en fiebre refractaria a otros tratamientos (9, 22, 35, 36)

El metamizol es una prodroga, que al ser ingerido, se hidroliza a 4-metil-amino-antipirina (MAA) por la acción de los jugos gástricos; este a su vez se convierte en una serie de metabolitos: 4-amino-antipirina (AA), 4-formil-antipirina (FAA) o 4-acetil-amino-pirina (AAA). De estos 4 metabolitos, sólo

MAA es un compuesto farmacológicamente activo, mientras que AA tiene un débil efecto farmacológico y FAA y AAA son inactivos (35,37). (Ver figura 4).

Figura 4.- Metamizol (dipirona) y sus metabolitos MAA y AA (30).



El metamizol se absorbe bien por vía oral, alcanzando su potencia máxima a los 60 minutos aproximadamente y con una vida media de 6-8 horas. Tiene una biodisponibilidad superior al 90% y con una unión de 40 -60 % a las proteínas plasmáticas. Posee la ventaja de una similar eficacia analgésica que la aspirina, sin embargo, no produce irritación ni hemorragias gástricas (35).

Debido a su metabolismo hepático y excreción renal, este fármaco debe ser utilizado bajo supervisión médica en pacientes con patologías renales y hepáticas. Se contraindica su uso en pacientes con antecedentes de hipersensibilidad al metamizol. El uso de este fármaco en clínica es limitado, ya que existen varios reportes de anemia aplásica y agranulocitosis asociada metamizol en Suecia y otros países europeos. No obstante, el informe epidemiológico International Aplastic Anemia and Agranulocytosis Study (IAAAS) indica que el riesgo de sufrir esta complicación es extremadamente bajo (22,35).

Su mecanismo de acción, es complejo, ya que existen evidencias que lo relacionan con la inhibición de COX-1 y COX-2, como de COX-3 (35), debido a su capacidad de analgésica, antipirética, anti-inflamatoria y antiespasmolítica

(35,38,39). Se ha propuesto en varios estudios la existencia de mecanismos centrales que explicarían su acción analgésica (39). Otros autores, en cambio, señalan que el mecanismo de acción de este fármaco estaría ligado a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas tanto a nivel periférico, como central. Se ha reportado que el metamizol actuaría de manera selectiva en la enzima COX-3, al inhibir la formación de esta enzima a través de la retención del intrón 1 en la enzima COX-1. Hinz et al. (35) encontró que el metabolito activo del metamizol MAA tiene una pronunciada inhibición tanto por COX-1 como COX-2 *in vitro*, así como *in vivo* en la sangre de pacientes a los cuales se les administró el fármaco. Algunos estudios informan que este fármaco por ser capaz de revertir, de manera dosis dependiente, la hiperalgesia causada por la inyección subplantar de carregenina y PGE₂, actuaría vía óxido nítrico. También, la activación de canales de potasio ATP dependientes y a la participación de canales de calcio, como en la activación del sistema colinérgico muscarínico, la estimulación de la vía arginina/GMPc y la interferencia en la actividad nociceptiva del glutamato a nivel espinal y finalmente, se ha comprometido en la analgesia del metamizol la participación de opioides endógenos del sistema de control descendente del dolor (35,39).

7. Interacción de fármacos

La coadministración de fármacos, los cuales pueden tener o no diferentes mecanismos de acción, pero similar efecto, da posibilidad de 3 tipos de interacción farmacodinámica:

- a) Aditiva: esta situación se obtiene, después de la coadministración de fármacos y el resultado es la simple suma algebraica de los efectos individuales de cada uno de los fármacos combinados..
- b) Subaditiva o antagónica: en este caso, la acción resultante de la coadministración de los fármacos, es menor a la suma de cada uno de los agentes individualmente.
- c) Sinérgica o supraaditiva o, superaditiva: El efecto obtenido es significativamente mayor a la suma de los efectos por separado de cada droga combinada. En este tipo de combinación se logra reducir las

dosis de los fármacos y así disminuir las RAMs que estos poseen, manteniendo la eficacia.

En el presente estudio se evaluó el comportamiento nociceptivo de la interacción de ketoprofeno y metamizol, por medio del análisis isobolográfico- El método algesiométrico utilizado fue el descrito por Luccarini (19) con la administración de una solución de la formalina al 2 % en la zona peribucal (test de la formalina orofacial).

III. HIPÓTESIS

La administración intraperitoneal (i.p.) de metamizol en combinación con ketoprofeno produce actividad antinociceptiva sinérgica, en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial.

IV. OBJETIVO GENERAL

Estudiar la actividad antinociceptiva de metamizol, ketoprofeno y de su combinación en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial en ratones.

V. OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Evaluar la antinocicepción inducida por la administración i.p. de metamizol en el test orofacial.
2. Evaluar la analgesia producida por la administración i.p. de ketoprofeno en el ensayo de formalina orofacial.
3. Estudiar el tipo de interacción analgésica al administrar la combinación de metamizol con ketoprofeno en el ensayo de la formalina orofacial mediante análisis isobolográfico.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

En este estudio, que forma parte del proyecto “Perfil Farmacológico De Analgésicos En Dolor Crónico Experimental” se utilizaron ratones (*Mus musculus*) machos de la cepa CF/1 de 28 a 30 g de peso y habituados al ambiente del laboratorio al menos dos horas antes del experimento. Los ensayos se realizaron de acuerdo al protocolo CBA N° 238 FMUCH aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina y, según éste, cada animal recibió solamente una dosis de las drogas. Las observaciones fueron efectuadas por un operador en forma ciega, solamente para los fármacos, aleatorio y controlado con solución salina. Se deja constancia que, basándose en las normas éticas internacionales que rigen este tipo de experimentación, el número de animales utilizados fue el mínimo estrictamente necesario, para un correcto análisis estadístico, los cuales fueron sacrificados inmediatamente después de realizado el ensayo mediante dislocación cervical por personal experimentado.

Los fármacos disueltos en solución salina fueron metamizol y ketoprofeno los que se administraron i.p. en un volumen constante de 10 ml/Kg, 30 minutos antes del ensayo algesiométrico, ya que existe evidencia, en estudios previos, que muestran que en ese tiempo se alcanza el efecto máximo de cada fármaco (2). Para el grupo control, inyectado con solución salina, se esperó el mismo periodo de tiempo para realizar el test de la formalina. (Ver figura 5).



Figura 5.- Inyección i.p. del fármaco de la solución salina al 0,9% (grupo control).

1. Cuantificación del dolor en animales

Analizando la definición de dolor es posible comprender la dificultad para medirlo, ya que se trata de cuantificar un fenómeno de comportamiento fundamentalmente subjetivo, sujeto a una gran variabilidad individual.

Dentro de los parámetros que se pueden utilizar para evaluar el dolor o nocicepción en los animales podemos mencionar ; cambios en la condición corporal, en la apariencia física y signos clínicos (, pero los más importantes son los indicadores fisiológicos y de conducta del animal al dolor , indicadores de conducta son: vocalización, alternaciones en la postura como quedarse inmóviles, o echarse para evitar el dolor, alteraciones en la actividad locomotora como patear, mirarse, lamerse, morderse o rascar el área afectada. Un animal con dolor puede también demostrar pérdida de curiosidad hacia el medio que lo rodea y agresividad. Indicadores fisiológicos son: cambios en la frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, temperatura, presión sanguínea y diámetro pupilar 40). En el presente estudio se utilizarán indicadores de comportamiento animal (rascado) para cuantificar la analgesia provocada por fármacos ante un estímulo doloroso, y así compararlos entre animales tratados farmacológicamente y los no tratados.

2. Test de la formalina

Por motivos éticos nuestro estudio se realizó sobre el modelo en ratones, en los cuales se evaluó la actividad antinociceptiva utilizando el test de la formalina orofacial, modificado de Luccarini (19) que permite medir dolor originado en la estimulación del nervio trigémino, uno de los nervios de mayor inervación del territorio maxilofacial. Para ello se realizó una inyección subcutánea de 20 μ L de solución de formalina al 2 % en el labio superior del animal. Ello indujo un sostenido frotamiento de la zona inyectada y un vigoroso restregamiento de la cara en el área perinasal. Los ratones se colocaron en un cilindro diseñado para la observación y con un cronómetro digital se midió el tiempo total que se frotaban el área perinasal durante los 5 minutos inmediatos a la inyección y que corresponde a la fase algésica aguda (fase I). Luego se registró por 10 minutos, a partir de los 20 minutos de la inyección y hasta los 30

minutos, el tiempo durante el cual los animales se frotaron el labio comprometido y que corresponde a la fase inflamatoria y que mide el dolor crónico (fase II). No se contabilizó el tiempo entre la fase algésica y la inflamatoria, debido a que el ratón se encontraba en un período de quietud (19).

3. Análisis isobolográfico.

Para la evaluación de las interacciones se utilizó el método isobolográfico de Tallarida (20), que corresponde a representaciones gráficas de las curvas isoeffectivas, por ejemplo la dosis que produce un 50 % del efecto máximo (DE50). Para cada combinación de las drogas se determinó la DE50 mediante el análisis de regresión lineal de su curva. Esta dosis se comparó estadísticamente con la que representa teóricamente la adición simple de efectos, que se obtiene según la siguiente fórmula:

$$\text{DE50 aditividad teórica} = \text{DE50 droga 1} / (\text{P1} + \text{R} \times \text{P2})$$

Donde:

- R: relación de potencia entre las drogas administradas solas.
- P1: proporción de metamizol.
- P2: proporción de ketoprofeno en la mezcla.

El punto experimental resultante se graficó en un sistema de coordenadas cartesianas que contienen una línea que conecta la DE50 de ketoprofeno en la abscisa con la DE50 de metamizol en la ordenada (línea de aditividad simple o teórica). La región del gráfico donde se ubicó el punto experimental determinó el tipo de interacción. Si la interacción es sinérgica (supraditiva), el punto experimental se ubica bajo la línea de aditividad. En el caso de una interacción antagónica, el punto se ubicará sobre la línea de aditividad, y por último, si el punto se ubica en un sector cercano a la línea de aditividad, la interacción será de simple aditividad. Al mismo tiempo, el programa calculó el índice de interacción (I.I.) entre las drogas, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{I.I.} = \text{DE50 experimental} / \text{DE50 teórico.}$$

Si el valor resultante es menor que 1 corresponde a una interacción sinérgica; al resultar igual a 1 la interacción es aditiva, y si es mayor que 1, es antagónica (20).

Los resultados se expresaron como promedio \pm error estándar del promedio (EEM) o bien con sus límites de confianza al 95 % (95 % LC). Los datos obtenidos se expresaron en curvas logarítmicas dosis – respuestas construidas mediante regresión lineal por cuadrados mínimos y a partir de ellas se determinó la DE50. Los parámetros estadísticos, se calcularon con el programa computacional del laboratorio, y la significancia estadística se determinó por análisis de varianza y pruebas t de Student, considerando un nivel del 5% ($p < 0,05$).

Debido a los impedimentos éticos para el estudio del dolor en seres humanos, se ha optado por la utilización del modelo en ratones, mediante el test de la formalina orofacial, modificado de Luccarini (19) para medir en forma experimental la capacidad antinociceptiva de los fármacos antes expuestos.

Este test permite medir el comportamiento frente a un estímulo nociceptivo, originado en la estimulación del nervio trigémino, uno de los nervios que otorga inervación al territorio maxilofacial. Para ello se realiza una inyección subcutánea de solución de formalina al 2%, en el labio superior del animal que otorga un índice confiable de cuantificación de sensibilidad nociceptiva, sin afectar la capacidad motora y con escasa posibilidad de producir daño en la piel (figura 6). Ello induce un sostenido frotamiento de la zona inyectada con la extremidad superior o inferior del animal. (Figura 6)

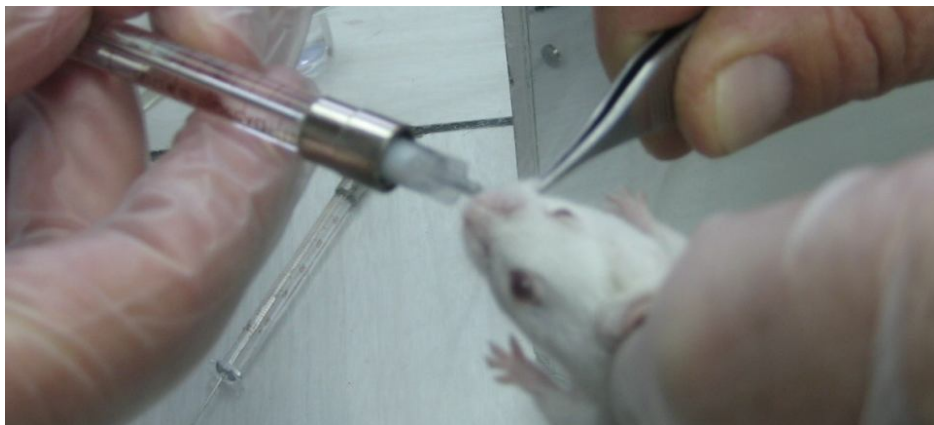


Figura 6.- Inyección subcutánea de solución de formalina al 2% en el labio superior del animal.

La respuesta dolorosa provocada es dividida en 2 fases (19).

- Fase 1: fase inicial, en que los nociceptores reciben la irritación química provocada por la formalina, la que comienza inmediatamente después de realizada la inyección de formalina (minuto 0) y termina a los 5 minutos siguientes (minuto 5).
- Fase 2: es tardía, se debe a la organización de un foco inflamatorio en el sitio de la injuria con la consecuente sensibilización central y periférica. Comienza al minuto 20 de realizada la inyección y termina en el minuto 30.

El periodo comprendido entre ambas fases, es decir, desde el minuto 5 hasta los 20 minutos corresponde a un período de quietud por lo cual no se contabiliza.

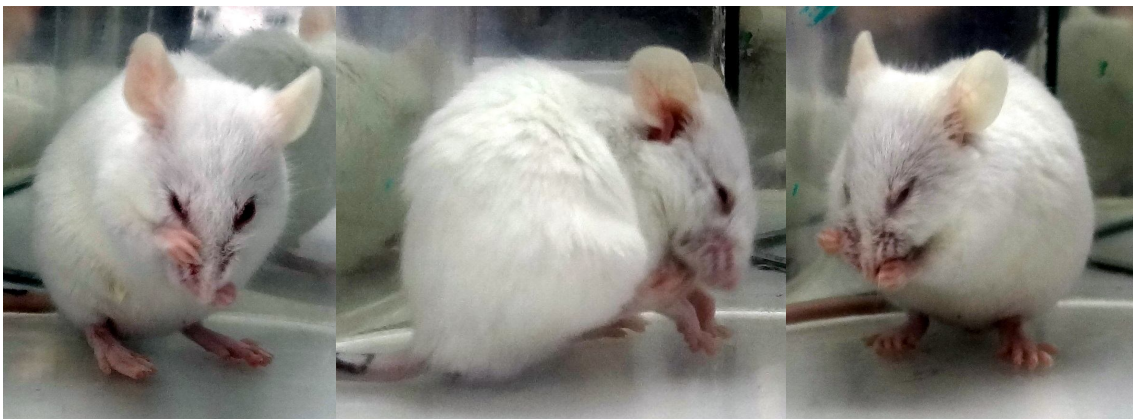


Figura 7.- Frotamiento de la región perinasal con extremidad superior e inferior.

En el experimento se utilizaron jeringas Hamilton de tuberculina con aguja de 27 Gauge, y un volumen de 20 μ l de formalina a la concentración del 2%. Inmediatamente después de la inyección orofacial los ratones se colocaron en un cilindro diseñado para la observación y con un cronómetro digital se midió el tiempo total que se frotaron el área perinasal en ambas fases (figura 7). Los resultados se expresaron en segundos de frotamiento registrados en cada intervalo.

4. Evaluación de la analgesia:

Para la evaluación de la actividad antinociceptiva, se construyeron curvas dosis-respuesta de cada AINE administrado por vía i.p. con 7 ratones por cada una, de al menos 4 dosis: 1 - 200 mg/kg i.p. Los animales controles fueron inyectados con solución salina al 0.9 %.

En primer lugar se evaluó la analgesia provocada por cada fármaco en forma individual, lo que se llevó a cabo mediante la construcción de curvas dosis respuesta de los AINEs administrados por vía i.p. Para cada droga se determinó la dosis efectiva 50 (DE₅₀) dosis que produce un 50% del máximo efecto posible (MEP). Se utiliza dicha dosis, que representa el efecto analgésico inducido por el fármaco ,porque debido a que dosis mayores no muestran un efecto significativamente superior, sin embargo, se ha observado alteraciones en las funciones motoras de los animales (2).

La DE₅₀ de cada fármaco se calculó mediante el análisis de regresión lineal por cuadrados mínimos de su curva dosis-respuesta. Estas curvas fueron construidas utilizando el logaritmo de la dosis en la abscisa y el % MEP en la ordenada. El valor de MEP se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ MPE} = 100 - [(T1/T2) \times 100] , \text{ en que}$$

T1= tiempo de rascado experimental

T2= tiempo rascado control

VII. RESULTADOS

1. Grupo Control

La administración i.p. de solución salina al 0,9%, 30 minutos antes de la administración de formalina al 2% en el labio superior, produjo frotamiento de la zona labial y perinasal de 88.25 ± 5.07 segundos en la fase I. Para la fase II 97.38 ± 5.02 segundos. Para cada fase se contó con un n= 7 ratones. Estos resultados y el curso temporal de la administración de formalina al 2% se muestran en el gráfico 1.

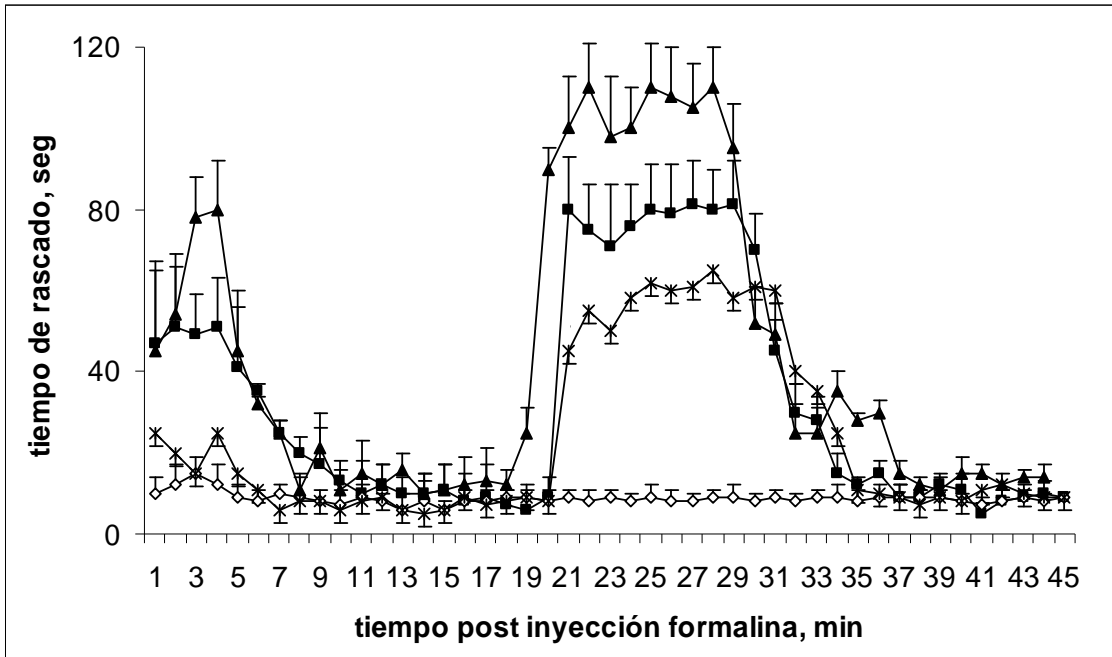


Gráfico 1.- Curso temporal del ensayo de la formalina orofacial en ratones. Control Salino (◇); formalina 1 % (*), formalina 2 % (■), formalina 5 % (▲). Cada punto es el promedio de al menos 6 animales con su respectivo EEM.

2. Grupo tratado con metamizol

La administración intraperitoneal de metamizol 30 minutos antes de la administración de formalina al 2% en el labio superior, produce una disminución en el tiempo de frotamiento, de forma dosis dependiente. Esto se pudo apreciar tanto en la fase aguda(fase I)como inflamatoria (fase II).Los resultados se presentan en la Tabla 3 y los gráficos N°s 2 y 3.

Tabla 3.- Valores del tiempo de frotamiento (promedio \pm EEM) a distintas dosis de metamizol, en la fase I y II del ensayo de la formalina orofacial en ratones.

DOSIS (mg/kg)	N	FASE I (seg)	FASE II (seg)
50	7	40,14* \pm 3,58	34,71* \pm 5,15
100	7	30,43* \pm 4,57	30,30* \pm 6,17
200	7	19,43* \pm 2,89	24,29* \pm 5,01
400	7	7,43* \pm 2,12	4,21* \pm 2,71

*Todos los valores son significativos con respecto al grupo control en cada una de sus fases ($p < 0.05$).

Para el cálculo de la DE_{50} en fase I, se realizó una curva dosis-respuesta antinociceptiva, expresada en el logaritmo de la dosis de metamizol versus el porcentaje del MPE, según muestra el gráfico 1. Desde esta curva se obtiene la DE_{50} para el metamizol que fue de $40,294 \pm 1,973$ mg/kg para la fase I.

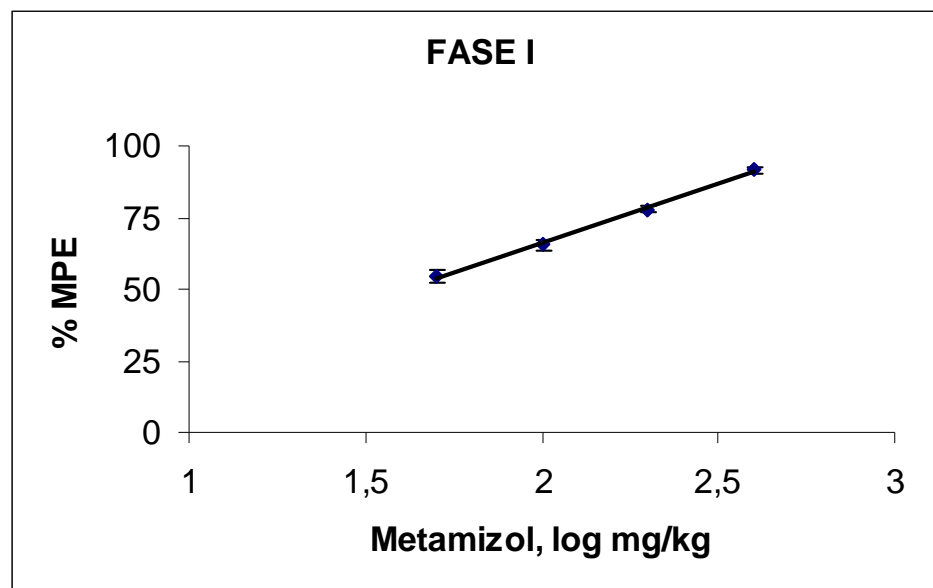


Gráfico 2.- Curva dosis respuesta para la administración i.p. de metamizol en fase I. Cada punto representa el promedio \pm EEM, de al menos 7 animales.

Para la fase II la DE_{50} resultó ser de $23,337 \pm 6,971$ mg/kg, como se observa en el gráfico 3.

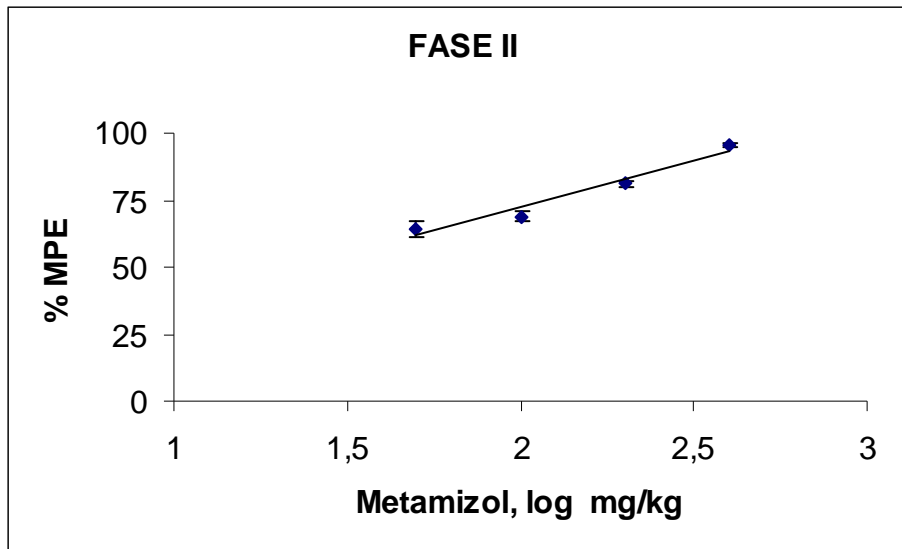


Gráfico 3.- Curva dosis- respuesta para la administración i.p. de metamizol en fase II. Cada punto representa el promedio \pm EEM de al menos 7 animales.

3. Grupo tratado con ketoprofeno

La administración intraperitoneal de ketoprofeno 30 minutos antes de la administración de formalina al 2% en el labio superior, produce una disminución en el tiempo de frotamiento, de forma dosis dependiente. Esto se pudo apreciar tanto en la fase aguda(fase I) como inflamatoria(fase II)(Tabla 4).

Tabla 4.- Valores del tiempo de frotamiento (promedio \pm EEM) a distintas dosis de ketoprofeno, en la fase I y II del ensayo de la formalina orofacial en ratones.

DOSIS mg/kg	N	FASE I(seg)	FASE II (seg)
12,5	7	53,43 \pm 3,61	43,86 \pm 4,32
25	7	40,71 \pm 3,48	32,57 \pm 5,82
50	7	29,86 \pm 1,58	26,86 \pm 5,15
100	7	13,57 \pm 1,59	10,29 \pm 3,15

*Todos los valores son significativos con respecto al grupo control en cada una de sus fases ($p < 0.05$).

El cálculo de la DE_{50} en fase I, se realiza una curva dosis-respuesta antinociceptiva, expresada en el logaritmo de la dosis de ketoprofeno versus el porcentaje del MEP, según muestra el Gráfico 4

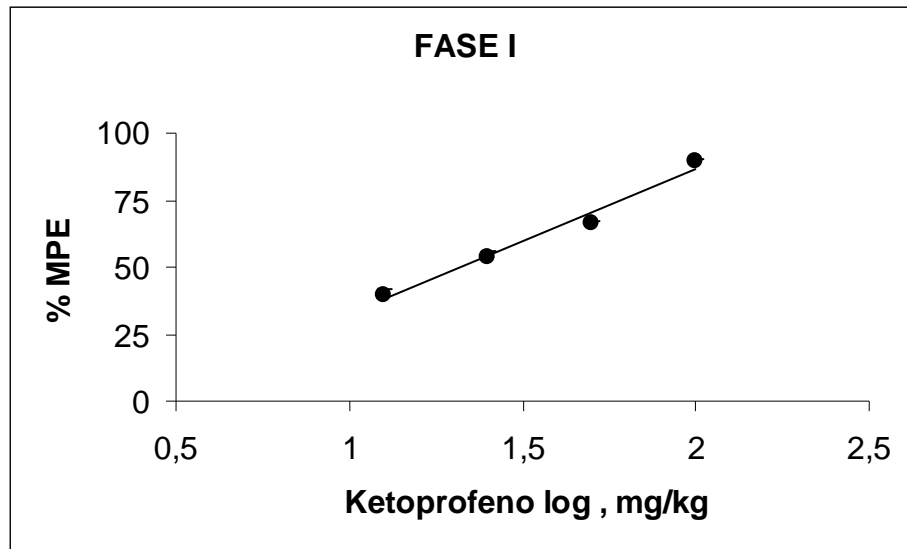


Gráfico 4.- Curva dosis- respuesta para la administración i.p. de ketoprofeno en fase I. Cada punto representa el promedio \pm EEM de al menos 7 animales.

Desde esta curva se obtiene la DE_{50} para el ketoprofeno que fue de $20,931 \pm 2,031$ mg/kg para la fase I.

Desde esta curva se obtiene la DE_{50} de la fase II se realiza la misma curva (Gráfico 5), y corresponde a $11,820 \pm 1,989$ mg/kg.

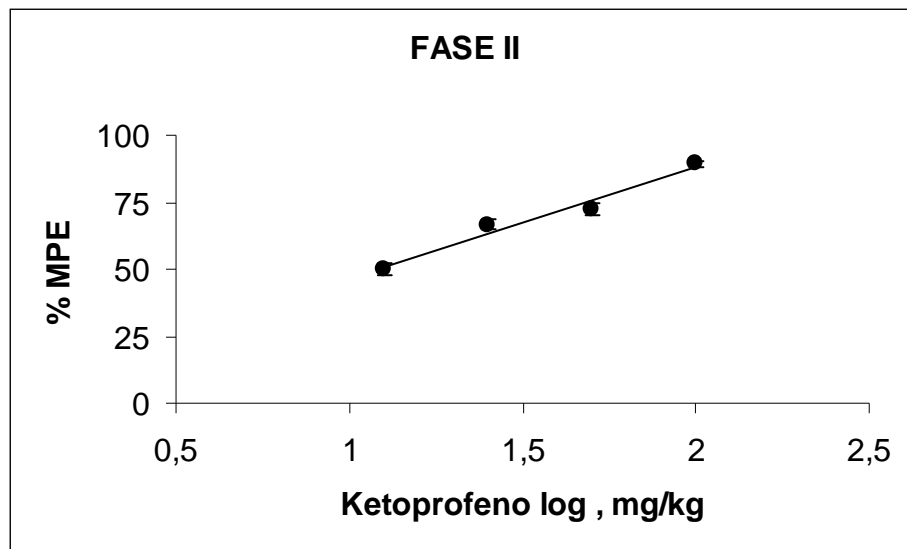


Gráfico 5.- Curva dosis-respuesta para la administración i.p. de ketoprofeno en fase II. Cada punto representa el promedio \pm EEM de al menos 7 animales.

4. PARALELISMO DE LOS AINES

El estudio del paralelismo de las curvas dosis respuestas de los AINEs estudiados en este trabajo, demostró que ellos eran estadísticamente no paralelos, como se muestra en los gráficos 6 y 7

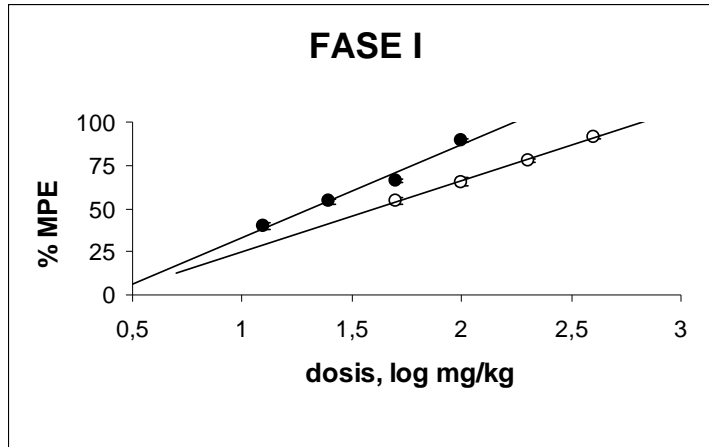


Gráfico 6. – Paralelismo de las curvas dosis-respuesta de ketoprofeno y metamizol, administrados i.p.. en el ensayo de la formalina orofacial en ratones, fase I. Cada punto representa el promedio \pm EEM de al menos 7 animales.

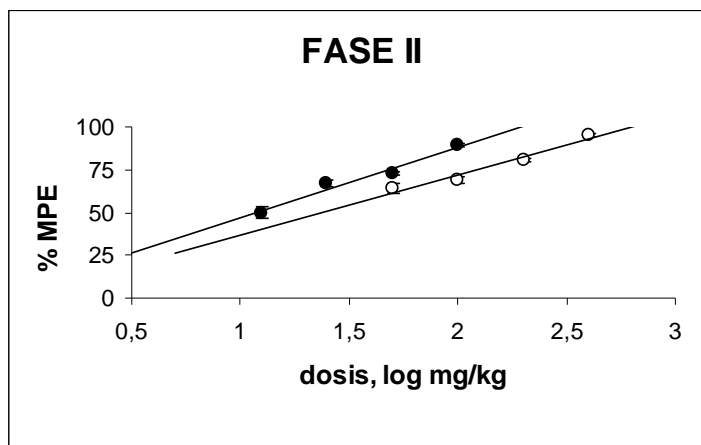


Gráfico 7. – Paralelismo de las curvas dosis-respuesta de ketoprofeno y metamizol, administrados i.p.. en el ensayo de la formalina orofacial en ratones, fase II. Cada punto representa el promedio \pm EEM de al menos 7 animales

5. Análisis isobolográfico de la interacción metamizol con ketoprofeno

Al administrar por vía i.p. la asociación de metamizol y ketoprofeno en proporción de 1:1 de cada una de sus respectivas DE_{50} , 30 minutos antes de la administración de formalina 2% en el labio superior, se obtuvo en los ratones una actividad antinociceptiva dosis dependiente y estadísticamente significativa en relación al valor de la DE_{50} teórica, tanto en las fases I y II. A partir de ellos, se obtiene la DE_{50} para la combinación de ambos fármacos, la cual es $10,594 \pm 0,424$ mg/kg. para la fase I y $9,961 \pm 0,392$ mg/kg. para la fase II. (Ver tabla 5).

Del análisis isobolográfico de la asociación de metamizol con ketoprofeno, se obtuvo como resultado una interacción antinociceptiva de tipo supraaditiva o sinérgica, tanto para la fase I como para la fase II, esto se concluye a partir de la ubicación del punto experimental, bajo la línea de aditividad, y se acompaña con índices de interacción (I.I.) estadísticamente menores a 1 en ambas fases (fase I = 0,346, fase II = 0,567)(Gráficos 8 y 9).

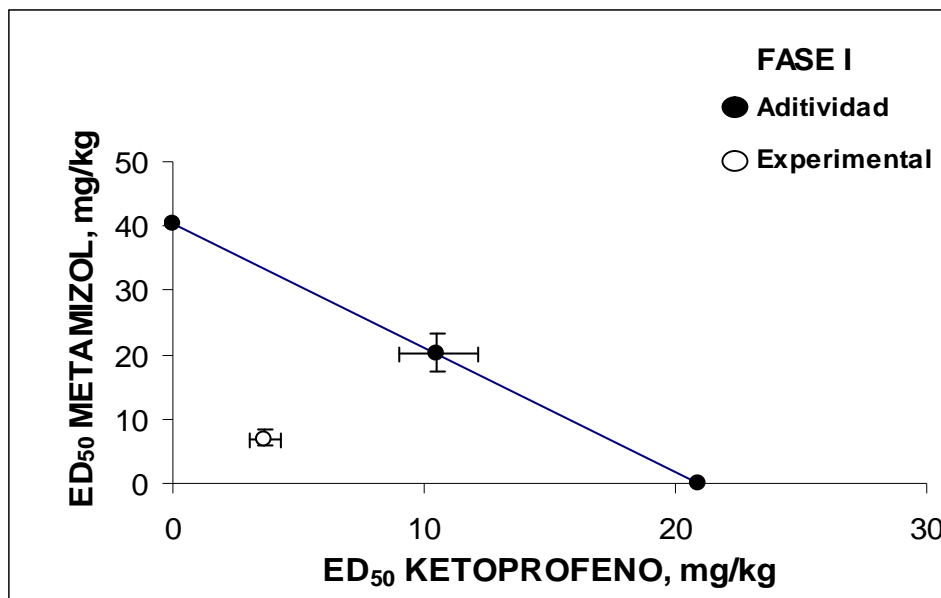


Gráfico 8.- Isoblograma de la interacción entre metamizol y ketoprofeno, en el test algiosiométrico de la formalina orofacial, en la fase I el (●) en la línea de aditividad representa el punto de aditividad teórica de la mezcla y el (○) el de aditividad experimental, cada uno con sus correspondientes LC al 95%.

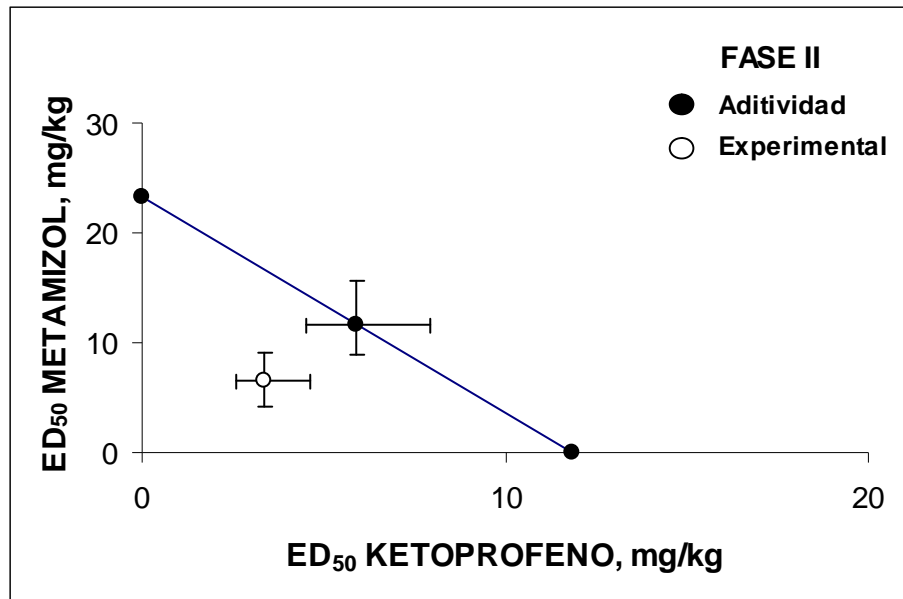


Gráfico 9.- Isoblograma de la interacción entre metamizol y ketoprofeno, en el test algiosiométrico de la formalina orofacial, en la fase II el (●) en la línea de aditividad representa el punto de aditividad teórica de la mezcla y el (○) el de aditividad experimental, cada uno con sus correspondientes LC al 95%.

Tabla 5.- Valores de dosis efectiva 50 (DE_{50}) con sus respectivos errores estándar promedio (EEM), para el efecto nociceptivo de la administración i.p., de metamizol, ketoprofeno y de la mezcla metamizol/ketoprofeno; tanto en la fase I como en la fase II, del test algiosiométrico de la formalina orofacial.

Fármacos	$DE_{50} \pm EEM$ (mg/kg., i.p.)	
	Fase I	Fase II
Metamizol	40,294 \pm 1,973 (28)	23,337 \pm 6,971* (28)
Ketoprofeno	20,931 \pm 2,031+ (28)	11,820 \pm 1,989*+ (28)
Metamizol/Ketoprofeno teórico	30,612 \pm 0,020 (28)	17,579 \pm 0,090 * (28)
metamizol/ketoprofeno experimental	10,594 \pm 0,424 (28)	9,961 \pm 0,392 *♦ (28)

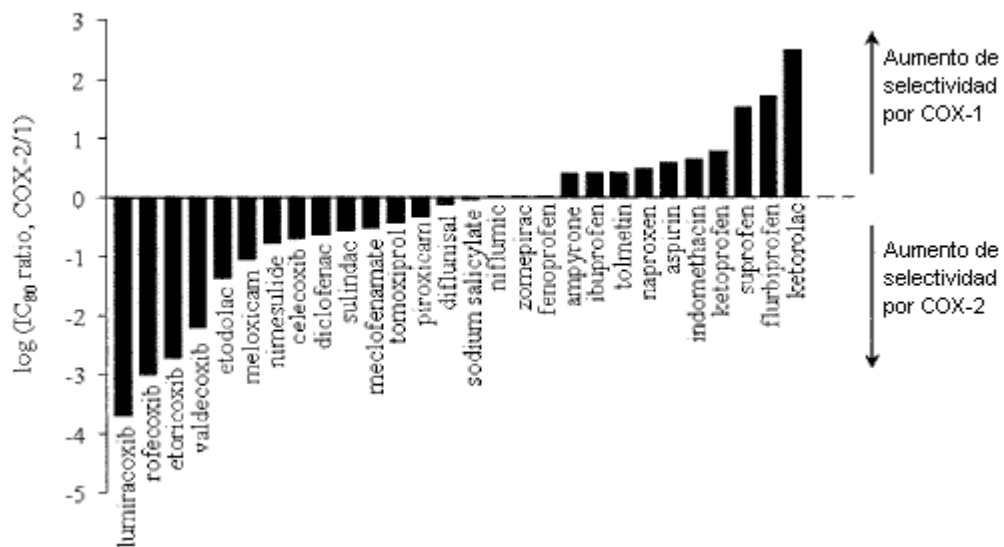
Entre paréntesis = número de animales; *= $P < 0.05$, comparado con fase I;

♦ $P < 0.05$ comparado con el teórico; +, comparado con el otro AINE en la misma fase.

VIII. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, usando como test algesiométrico la formalina orofacial al 2%, demuestran que la administración intraperitoneal de ketoprofeno y metamizol producen actividad antinociceptiva de tipo dosis dependiente, tanto en la fase I como en la fase II del ensayo. . Estos hallazgos son concordantes con trabajos previos, que en diferentes ensayos de comportamiento doloroso, que demuestran una acción analgésica dosis dependiente de ketoprofeno (41-44). Similares efectos antinociceptivos han sido descritos para metamizol, en una gran variedad de ensayos algesiométricos (36, 45-47).

Sin embargo, la falta de paralelismo confirma la diferencia de mecanismos de acción de ambos analgésicos, siendo metamizol, un AINE atípico, que se le ha asignado una actividad preferencial por COX-3 y ketoprofeno AINE de preferencia inhibidor de COX-1 (9), como se observa en la figura siguiente:



Por otra parte, el estudio de las potencias relativas demostró que en ambas fases, tanto metamizol como ketoprofeno presentan mayor potencia en la fase II comparada con la fase I (1.7 veces). Esta diferencia podría estar justificada por el mayor efecto antiinflamatorio que se ha descrito para el ketoprofeno (9) y por los recientes resultados demostrando una acción anti-inflamatoria de metamizol (35-37). Por otra parte Comparando la potencia relativa de cada AINE en cada fase, resultó ser prácticamente igual (1.9). Estos resultados se

apoyarían en la falta de selectividad de cada AINE, para actuar solamente como analgésico o como anti-inflamatorio.

Los efectos sinérgicos obtenidos después de coadministración de metamizol con ketoprofeno, son plenamente concordantes con la teoría general de interacciones de drogas (32, 33). Así, se ha establecido que después de la administración de drogas que tengan mecanismos de acción diferente, la probabilidad de obtener sinergia es muy alta. Esta condición se cumple en esta combinación, ya que mientras el ketoprofeno es capaz de inhibir las COXs 1 y 2 ; metamizol parece actuar preferentemente sobre la COX-3, además de otros mecanismos que posiblemente también comparta el ketoprofeno, como por ejemplo, la modulación por efecto en la síntesis o liberación de NO (8,36) o la intermediación a través de receptores opioides (5,25). Por los antecedentes anteriores, los mecanismos implicados en la sinergia precedente, podrían residir en diferentes funciones celulares, como por ejemplo la actividad de canales iónicos, la diferente acción de receptores, las interacciones químicas de cada fármaco con los lípidos de membrana; el control por uno de los fármacos de la transcripción génica. Por otra parte, se ha sugerido que el sinergismo depende de variables como el tipo e intensidad del estímulo; la relación relativa de las concentraciones de las drogas, la localización y amplificación que ejerce cada fármaco en los mecanismos de transducción; de propiedades cinéticas y fisicoquímicas de cada uno de los fármacos asociados, etc. (47,48). Es posible que más de uno de los mecanismos que han sido sugeridos anteriormente se cumplan en la asociación entre metamizol con ketoprofeno.

Finalmente, se puede decir que la interacción producida entre metamizol y ketoprofeno, al ser de tipo sinérgica, tiene importantes proyecciones clínicas para el tratamiento farmacológico del dolor, puesto que se puede reducir considerablemente las dosis a utilizar, lo que provocará una disminución en las reacciones adversas provocadas por estos AINEs.

IX. CONCLUSIONES

- Podemos concluir que nuestra hipótesis es verdadera ya que la administración intraperitoneal (i.p.) de metamizol en combinación con ketoprofeno produce actividad antinociceptiva sinérgica, en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial.
- La administración vía i.p. de metamizol o de ketoprofeno, en forma aislada como de su combinación, producen antinocicepción dosis dependiente, tanto para la fase aguda(fase I) como para la fase inflamatoria(fase II), en el test de la formalina orofacial.
- Ambos AINEs poseen similar potencia relativa en el ensayo de la formalina orofacial en ratones.
- La supraaditividad obtenida puede deberse al diferente mecanismo de acción de ambos fármacos.
- La administración conjunta de metamizol con ketoprofeno sugiere ventajas en cuanto a lograr un mayor efecto analgésico con menores dosis, así como la posibilidad de disminuir ciertos efectos adversos. Estos beneficios podrían ser de importancia clínica en el tratamiento farmacológico del dolor.

X. SUGERENCIAS

- Es sugerible analizar en futuras investigaciones la capacidad antinociceptiva e interacción entre ketoprofeno y metamizol mediante otras vías de administración de fármacos.
- También se sugiere evaluar la antinocicepción de ketoprofeno y de metamizol, y la naturaleza de su interacción al ser coadministrados, en otros ensayos algesiométricos.
- Se recomienda evaluar las reacciones adversas de la combinación de metamizol y ketoprofeno y compararlas con las reacciones adversas de los AINEs por separado.
- Se requieren más investigaciones que analicen las interacciones farmacocinéticas entre los fármacos metamizol y ketoprofeno.

XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Martin T J, Eisenach J.C. Pharmacology of opioid and nonopioid analgesics in chronic pain states. *J. Pharmacol. Exper. Ther.* 2001; 299: 811-817
2. Miranda HF, Sierralta F, Pinardi G. An isobolographic analysis of the adrenergic modulation of diclofenac antinociception. *Anesth. Anal.* 2001; 93: 430-435.
3. Miranda HF, Sierralta F, Pinardi G. Neostigmine interactions with non steroidal anti-inflammatory drugs. *Br. J. Pharmacol.* 2002; 135: 1591-1597.
4. Baek SJ et al. Dual function of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): inhibition of cyclooxygenase and induction of NSAID-activated gene. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2002; 301: 1126-1131. .
5. Christie MJ et al., Cellular actions of opioids and other analgesics: implications for synergism in pain relief. *Clin. Exper. Pharmacol. Physiol.* 2000; 27: 520-523.
6. Vane J, Botting RM. The mechanism of action of aspirin. *Thromb Res.* 2003; 110 :255-258.
7. Smith WL, DeWitt DL, Garavito R. M. Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. *Ann. Rev. Biochem.* 2000; 69: 145-182.
8. Florez J., Armijo J.A., Mediavilla A., 2003. *Farmacología Humana*. 4ª Edición, Barcelona, España; cap. 20, Mediadores celulares II. Eicosanoides, oxido nitrico y factor activador de las plaquetas. Espluges, JV Lopez-Jaramillo P. pag. 327-342; cap. 22, Fármacos Analgésicos antitérmicos y antiinflamatorios no esteroideos. Antiartríticos. Feria M. pag. 355-388.
9. Warner T.D., Mitchell J.A., Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *FASEB J.* 2004; 18: 790-804.
10. Klasser GD., Epstein J., Nonsteroidal Anti-inflammatory drugs: confusion, controversy and dental implications. *J. Can Dent. Assoc.* 2005; 71:575-580.

11. Vane J. Aspirin and other anti-inflammatory drugs. *Thorax*.2000; 55: 3-9.
12. Naito, H., Okumura, T., Inoue, M., Suzuki, Y., Ultrasonic vocalization response elicited in adjuvant-induced arthritic rats as a useful method for evaluating analgesic drugs. *Exp. Anim.* 2006; 55: 125–129.
13. Ossipov, M.H., Jerussi, T.P., Ren, K., Sun, H., Porreca, F., Differential effects of spinal (R)-ketoprofen and (S)-ketoprofen against signs of neuropathic pain and tonic nociception: evidence for a novel mechanism of action of (R)-ketoprofen against tactile allodynia. *Pain.* 2000; 87: 193–199.
14. Antila, H., Manner, T., Kuurila, K., Salanterä, S., Kujala, R., Aantaa, R., Ketoprofen and tramadol for analgesia during early recovery after tonsillectomy in children. *Paediatr. Anaesth.* 2006; 16: 548–553
15. Zippel, H., Wagenitz, A., Comparison of the efficacy and safety of intravenously administered dexketoprofen trometamol and ketoprofen in the management of pain after orthopaedic surgery: a multicentre, double-blind, randomised, parallel-group clinical trial. *Clin. Drug Investig.* 2006; 26: 517–528
16. Walker, J.S., NSAID: an update on their analgesic effects. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 1995; 22: 855–860.
17. Dray, A., Inflammatory mediators of pain. *Br. J. Anaesth.* 1995; 75: 125–131
18. Sigurdsson, G.H., Youssef, H.A., Owunnwanne, A., 1994. Effects of two different inhibitors of the arachidonic acid metabolism on platelet sequestration in endotoxic shock. *Res. Exp. Med. (Berl).* 1994; 194: 287–295.
19. Luccarini P. et al. The orofacial formalin test in the mouse: a behavioral model for studying physiology and modulation of trigeminal nociception. *J. Pain,* 2006; 12: 908-914

20. Tallarida RJ. Drug synergism and dose-effect data analysis. Chapman & Hall/CRC, USA 2000, pp 21-67.
21. International association for the study of pain, pain terms. http://www.iasp_pain.org (en línea)
22. Bonica JJ. "Anatomic and physiological basics of nociception and pain". En: Bonica JJ: (ed). The management of pain. 2^o ed. Pennsylvania, Lea & Febiger. 1990;pp 28-94.
23. Mc Hugh JM, Mc Hugh WB. Pain:neuroanatomy, chemical mediators,and clinicals implications.AACN Clinical Issues.2000; 11: 168-178.
24. Almeida T.F., Roizenblatt S., Tufik S., Afferent pain pathways: A neuroanatomical review. Brain Research. 2004; 1000: 40-56.
25. Millan MJ. Descending control of pain. Prog Neurobiol. 2002; 66 :355-374.
26. Sessle BJ. Peripheral and central mechanisms of orofacial pain and their clinical correlates. Minerva Anesthesiol. 2005; 71: 117-136
27. Dinarello CA. Anti-inflammatory Agents: Present and Future. Cell. 2010; 140 :935-950.
28. Chandrasekharan N.V., Dai H., Roos L.T., Evanson N.K., Tomsik J., Elton T.S., Simmons D.L., COX-3, a cyclooxygenase -1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure and expression. Proc. Natl. Acad. Sci., USA. 2002; 99: 13926-13931.
29. Ng SC, Chan FK. NSAID-induced gastrointestinal and cardiovascular injury. Curr Opin Gastroenterol. 2010; 26: 611-617.
30. Olson DM, Ammann C. Role of the prostaglandins in labour and prostaglandin receptor inhibitors in the prevention of preterm labour. Front Biosci. 2007; 12:1329-1343.
31. Dionne R.A, Berthold C.W. "Therapeutic uses of non-esteroidal anti-inflammatory drugs in dentistry". Crit Rev Oral Biol Med. 2001; 12: 315-330.
32. Martinez E. J. et al. Estudio de la eficacia analgésica del Dexketoprofeno Trometadol 25 mg vs Ibuprofeno 600 mg. Tras su administración oral en

- pacientes sometidos a una intervención quirúrgica oral. *Med Oral*. 2004; 9: 143-148.
- 33 McGurk M. Et al. Clinical comparison of dexketoprofen trometamol, ketoprofen and placebo in post operative dental pain. *J. Clin. Pharmacol*. 1998; 38: 46S-54S.
34. Barbanoj MJ, Antonijuan RM, Gich I. Clinical pharmacokinetics of dexketoprofen. *Clin. Pharmacokinet*. 2001; 40 : 245-262.
35. Hinz B, Cheremina O, Bachmakov J, Renner B, Zolk O, Martin F F, Brune K. Dipyronne elicits substantial inhibition of peripheral cyclooxygenases in humans: new insights into the pharmacology of an old analgesic. *FASEB J*. 2007; 21: 2343-2351.
36. Rezende RM, França DS, Menezes GB, Reis WGP, Bakhle YS, Francischi JN. Different mechanisms underlie the analgesic actions of paracetamol and dipyronne un a rat model of inflammatory pain. *Br. J. Pharmacol*. 2008; 153: 760-768.
37. Pierre SC, Schmidt R, Brenneis C, Michaelis M, Geisslinger G, Scholich K. Inhibition of cyclooxygenases by dypirone. *Br. J. Pharmacol*. 2007; 151: 494-503.
38. Beirith A, Santos AR, Rodrigues AL, Creczynski-Pasa TB, Calixto JB. Spinal and supraspinal antinociceptive action of dipyronne in formalin, capsaicin and glutamate tests. Study of the mechanism of action. *Eur. J. Pharmacol*. 1998; 345: 233–245.
39. Carlsson KH, Helmreich J, Jurna I. Activation of inhibition from the periaqueductal grey matter mediates central analgesic effect of metamizol (dipyronne). *Pain* 1986; 27:373-390.
40. Carstens E, Moberg G. Recognizing pain and distress in laboratory animals. *Ilar Jour* 2000; 41: 62-71.
41. McGurk M. Et al. Clinical comparison of dexketoprofen trometamol, ketoprofen and placebo in post operative dental pain. *J. Clin. Pharmacol* 1998; 38; 46S-54S.

42. Clark JO, Clark TP. Analgesia. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 1999; 15:705-723.
43. Spofford CM, Ashmawi H, Subieta A, Buevich F, Moses A, Baker M, Brennan TJ. Ketoprofen produces modality-specific inhibition of pain behaviors in rats after plantar incision. *Anesth Analg.* 2009 ;109:1992-1999.
44. Lizarraga I, Chambers JP, Johnson CB. Synergistic depression of NMDA receptor-mediated transmission by ketamine, ketoprofen and L-NAME combinations in neonatal rat spinal cords in vitro. *Br J Pharmacol.* 2008;153:1030-1042.
45. Baumgartner C, Koenighaus H, Ebner J, Henke J, Schuster T, Erhardt W. Comparison of dipyrone/propofol versus fentanyl/propofol anaesthesia during surgery in rabbits. *Lab Anim.* 2011;45:38-44.
46. Pakulska W. Influence of tiagabine on the antinociceptive action of morphine, metamizole and indomethacin in mice. *Acta Pol Pharm.* 2007;64:263-270.
47. Alves D, Duarte I. Involvement of ATP-sensitive K(+) channels in the peripheral antinociceptive effect induced by dipyrone. *Eur J Pharmacol.* 2002; 444:47-52.
48. Barrera NP, Morales B, Torres S, Villalón M. Principles: Mechanisms and modelling of synergism in cellular responses. *Trends Pharmacol. Sci.* 2005; 26: 526-532.

ANEXOS



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE BIOÉTICA SOBRE
INVESTIGACIÓN EN ANIMALES

CERTIFICACIÓN

Este Comité, certifica que en el Proyecto de Investigación titulado: **"PERFIL FARMACOLÓGICO DE ANALGÉSICOS EN DOLOR CRÓNICO EXPERIMENTAL"** cuyo investigador responsable es el **Dr. Hugo F. Miranda**, no se plantean acciones que contravengan las normas Bioéticas básicas de Manejo y Cuidados de los animales a utilizar en los procedimientos experimentales planificados (Protocolo CBA# 0238 FMUCH).

El Dr. Miranda se ha comprometido a mantener los procedimientos experimentales planteados en el Protocolo de trabajo y a no realizar ninguna modificación sin previa información y posterior aprobación por parte de este Comité.

Se otorga la presente certificación por el tiempo que dure la realización del proyecto indicado, financiado por Laboratorio Menarini.

El Comité de Bioética sobre Investigación en Animales de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile está conformado por nueve miembros con experiencia en el manejo y crianza de animales: 2 veterinarios, 6 académicos de diversas disciplinas y una periodista de esta Facultad. El certificado que emite el Comité procede de la aprobación del "PROTOCOLO DE MANEJO Y CUIDADOS DE ANIMALES DE LABORATORIO" después de un estudio acucioso por todos sus miembros y de la acogida de los investigadores o jefes de Bioterios, de las observaciones exigidas por el Comité.

Santiago, 10 de enero de 2011.


 Dr. Carlos Valenzuela Y.
 Presidente

CVY:mva.