



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
SECRETARIA DE ESTUDIOS**

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
FACULTAD DE MEDICINA
PROGRAMA DE FARMACOLOGÍA MOLECULAR Y CLINICA, ICBM**

**ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DE PARACETAMOL Y PIROXICAM EN
DOLOR AGUDO EXPERIMENTAL**

Nombre del Alumno: Marcos Rojas Peña

**TRABAJO DE INVESTIGACION
REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE
CIRUJANO-DENTISTA**

**TUTOR PRINCIPAL
Prof. Dr. Hugo F. Miranda**

**TUTORES ASOCIADOS
Prof. Dr. Gianni Pinardi**

**Santiago - Chile
2005**

INDICE

PAGINA	CONTENIDO
1	Introducción y marco teórico
4	Fisiopatología del dolor
6	Estructuras periféricas
8	Vías del dolor
12	Fármacos analgésicos
14	Aines
29	Paracetamol
34	Piroxicam
37	Naltrexona
38	Asociación de fármacos
40	Hipótesis
41	Objetivos
42	Material y Método
51	Resultados
57	Discusión
61	Conclusión
62	Sugerencias

63

Resumen

64

Bibliografía

AGRADECIMIENTOS

Doy un especial agradecimiento a mi esposa Teresa Romero, mi compañera de vida, en el día a día, quien con su apoyo continuo hizo grata esta etapa de mi vida. De la misma forma, doy gracias a la vida por mi núcleo familiar, especialmente por aquella personita que diariamente le da la trascendencia a nuestras vidas como padres, nuestra hija Shayeññ Shakinññ.

Doy gracias a mi mamá, Patricia Peña, por la educación y formación que me ha dado, para quien este logro, estoy seguro, representa una gran alegría.

Por último, agradezco a los Profesores Doctores Hugo Miranda y Gianni Pindari por su buena disposición y colaboración continua durante la realización de mi tesis.

INTRODUCCIÓN Y MARCO TEORICO

El dolor es un síntoma desagradable percibido como una molestia de intensidad variable localizada en una parte del cuerpo. Tiene su utilidad como signo de alarma de que algo funciona mal en el organismo y como orientación de la localización de la enfermedad. Al igual que la fiebre, la intensidad del dolor no va unida necesariamente a la gravedad del proceso, ya que existen muchas diferencias en su percepción y en la tolerancia al sufrimiento entre distintas personas. De muchas formas, el dolor trasciende el intento de definirlo, y es mejor considerado como una experiencia que involucra una sensación fisiológica y emocional o, como en el caso de los animales, reacciones conductuales para esa sensación. De lo anterior, se deduce que es muy difícil que pueda ser cuantificado por algún método. Debido a esta dificultad, es que la asociación internacional para el estudio del dolor (IASP) lo definió como: “una sensación sensorial y emocional desagradable asociada a un daño tisular existente o potencial, descrito en términos de daño”. Debemos también señalar que el dolor es un fenómeno multidimensional donde intervienen factores biológicos, cognitivos, emocionales y ambientales (1).

El dolor es siempre subjetivo. Cada individuo aprende el significado de la palabra dolor a través de sus experiencias dolorosas que experimenta desde temprana edad. Este puede ser evaluado en cuanto a su intensidad, duración, característica, lugar de origen y etiología, la cual puede ser traumática, física, infecciosa, neurológica o sicógena.

Para el odontólogo, el dolor representa una de las principales causas de consulta por la cual acuden los pacientes, la mayoría de las veces asociado a un cuadro de origen infeccioso, requiriendo una rápida solución, por lo que estudios enfocados a la asociación de AINEs con el objeto de otorgar un mejor tratamiento de los cuadros dolorosos disminuyendo las reacciones adversas de estos siempre resultarán beneficiosos.

Clasificación del dolor

Los tipos de dolor pueden clasificarse según:

1.- Su origen anatómico:

i) Dolor nociceptivo somático. Es el dolor que aparece luego de la estimulación nociceptiva de piel, dolor superficial, o bien si es después de la estimulación de tejido conectivo, músculo, huesos y membranas sinoviales, dolor profundo. (8,13). Además, según su características somatosensoriales,

puede ser subclasificado en dolor epicrítico o protopático. Posee la característica de ser un dolor referido, es decir, el paciente lo describe en un lugar distante del sitio desde donde ha sido generado (1).

ii) Dolor nociceptivo visceral. Usualmente es descrito por el paciente como un dolor profundo. Se origina en una estimulación nociceptiva de vísceras contenidas en las cavidades craneana, torácica, abdominal y pélvica, siendo usualmente poco localizado y acompañado de reflejos autónomos y somáticos (8).

iii) Dolor neurogénico. Dice relación con el dolor originado en el sistema nervioso periférico (SNP) ya sea por injuria o irritación de una rama nerviosa, o con el dolor derivado del daño o enfermedad en el sistema nervioso central (SNC)(8).

2.- Su duración.

i) Dolor agudo. Es aquel que comprende el tiempo estimado como necesario para que los tejidos sanen, constituye un mecanismo fisiológico de alarma para limitar el daño e iniciar los mecanismos de reparación. Es un fenómeno de carácter transitorio asociado con daño tisular real o potencial y que es útil para el resguardo de la integridad del organismo (13). Su curso

temporal es propio de la lesión que lo originó y puede presentarse con respuestas neurovegetativas como taquicardia, aumento de presión arterial, sudoración, palidez, cambios en el diámetro pupilar, estados nauseosos, llegando incluso a producir vómitos. El dolor agudo puede ser ocasional o previsible. El primero aparece en forma espontánea y su duración es por lo general de algunas horas como, por ejemplo, la cefalea tensional. En cambio, el segundo es el dolor propio que sigue, y que constituye por sí mismo un problema clínico, a los procedimientos operatorios como, por ejemplo, la extracción de terceros molares (14,15).

ii) Dolor crónico. Es aquel que tiene una duración de más de tres meses, o que por las características de su origen sobrepasa el tiempo que habitualmente podría definir un dolor agudo semejante, manteniéndose por un periodo de tiempo mayor. Carece de propiedades fisiológicas reparadoras y es un síntoma de enfermedad continua o en brotes (1).

Fisiopatología del Dolor

La fisiopatología del dolor involucra interacciones muy complejas de diferentes estructuras periféricas y centrales. Así, para percibir el dolor es

necesario una estructura periférica que actúe como receptor, una sinapsis en la médula espinal y vías de conducción ascendentes y descendentes desde la médula espinal hasta los centros superiores, como desde los centros superiores hasta la médula espinal, respectivamente (1,2,3).

La nocicepción es el mecanismo a través del cual estímulos nocivos son transmitidos al S.N.C. (4). Es la respuesta neural que aparece tras la injuria tisular. Implica la transmisión y procesamiento de la información sensorial relacionada a la injuria y sus respuestas reflejas medibles (5). El sistema nociceptivo es dual, y la sensación del dolor que se experimenta llega al sistema nervioso central por medio de dos vías:

- Un sistema *sistema discriminativo sensorial*: participa en la capacidad de analizar la naturaleza, localización, intensidad y duración de la estimulación nociceptiva, compuesto por un sistema lateral filogenéticamente más nuevo (6).

- Un componente *cognitivo-afectivo*: contribuye a la evaluación cualitativa del dolor y que también lleva el carácter displacentero de la sensación dolorosa, compuesto por un sistema medial filogenéticamente más antiguo y más primitivo (3).

Estructuras periféricas

Para que se produzca una sensación dolorosa se requiere de la estimulación de receptores específicos o nociceptores, que corresponden a terminaciones nerviosas libres (arborizaciones plexiformes carentes de mielina), especializadas, que se encuentran en la piel y el tejido celular subcutáneo, en músculos, articulaciones y vísceras, las cuales pueden ser estimuladas por una diversidad de estímulos como presión y lesión de las fibras del dolor, calor superior a 45°C, inyección de sustancias químicas o por daño tisular (7). Se diferencian de otros receptores, en que su capacidad de adaptabilidad es muy mala.

Dos categorías de nociceptores cutáneos han sido identificadas: fibras A δ y fibras C.

Fibras A δ

Este tipo de fibra mielínica es capaz de transmitir el dolor agudo, punzante y localizado a una velocidad relativamente alta de 20 m/s, sin mediación de intermediarios químicos. Este tipo de receptores está relacionado con el dolor agudo, breve, bien localizado, que dura sólo lo que

dura el estímulo. Tienen escasa capacidad de adaptación al dolor y a mayor intensidad del estímulo mayor es el efecto (7).

En general se describen dos tipos de nociceptores A δ :

Mecanorreceptor A δ de alto umbral

Este tipo de nociceptor responde a estímulos de intensidad moderada o a noxas mecánicas, pero no es capaz de responder a la noxa térmica inicial (45 a 55°C), frío intenso, o químicos algógenos. Sin embargo, la aplicación repetitiva de una noxa térmica es capaz de generar el fenómeno de sensibilización de la terminal nociceptiva, haciéndose ésta receptiva para un estímulo de menor umbral. Estas finas fibras mielínicas envían procesos no-mielínicos a la epidermis, terminando cerca de los queratocitos, y también al tejido subcutáneo. (8).

Termorreceptor A δ

Es también conocido como mecanorreceptor y es capaz de responder tanto a estímulos térmicos nocivos (mayores a 45°C) como a estímulos mecánicos intensos. Este tipo de fibra es la responsable de la primera sensación dolorosa causada por la estimulación térmica (8).

Fibra C polimodal

Se trata de fibras no-mielínicas que transmiten el dolor lento, sordo, quemante y mal localizado a una velocidad de 0.5 a 2 m/s. Este tipo de nociceptor responde no solo a estímulos mecánicos intensos, sino que también a estímulos térmicos y químicos irritantes. Están mediados por la liberación de histamina, bradicinina, serotonina, prostaglandina, sustancia P, péptido relacionado con el gen de la calcitonina, ATP, iones hidrógenos y potasio (3,9).

Las fibras A δ y C se localizan a través de la piel, peritoneo, pleura, periostio, hueso subcondral, cápsulas articulares vasos sanguíneos, músculos, tendones, fascias, y vísceras, aunque su distribución y densidad varia dependiendo de la especie en cuestión y de la localización anatómica (10).

Vías del dolor

Un estímulo doloroso se sentirá primero como dolor agudo, bien localizado, transmitido por fibras A δ , mielinizadas, gruesas y de transmisión rápida, seguido después de un pequeño retardo por un dolor ondulante, quemante, sordo, mal definido, transmitido por fibras C, delgadas, amielínicas y más lentas en su transmisión.

Las vías aferentes nociceptivas se originan en los receptores periféricos de neuronas bipolares, cuyo núcleo se encuentra en los ganglios espinales, y penetran en la médula a través de su axón por el asta posterior, que es donde se procesan e integran, por primera vez, los estímulos que ingresan y donde conectan con la segunda neurona en las diferentes láminas. Aquí es donde se produce la transmisión sináptica, desde la primera a la segunda neurona, mediada por la sustancia P, y aminoácidos, como el ácido glutámico, entre otros (9). La sustancia gris medular de las astas posteriores fue clasificada por Rexed en 6 láminas, tal como se muestra en la figura 1.

Las fibras A δ terminan en arborizaciones en las láminas I y V, y las fibras C terminan con sus arborizaciones en la lámina II y con menor densidad en la lámina I. Aquí termina la primera neurona sensitiva (9). Muchas fibras nociceptivas, antes de su ingreso a la sustancia gris, emiten colaterales descendentes y ascendentes, constituyendo parte del haz de Lissauer. Estas colaterales tienen la posibilidad de formar sinapsis hasta dos segmentos medulares inferiores o superiores al del ingreso, lo que significa que la transmisión de una neurona primaria puede propagarse a varias raíces vecinas. El soma de la segunda neurona de esta vía se puede encontrar en la lámina I de Rexed o en las láminas IV, V o VI. Es importante destacar que las segundas neuronas reciben la información nociceptiva y la someten a transformaciones,

mediante las cuales ésta va a ser filtrada y discriminada (3). Además pueden formar sinapsis con más de una primera neurona, proveniente de la piel o de una víscera, y esta sinapsis se produce siempre en la sustancia gelatinosa de Rolando, cualquiera sea la distribución del soma en el asta posterior. Las segundas neuronas dan origen a tres haces ascendentes contralaterales . El neoespinotalámico y el paleoespinotalámico, que conforman la vía espinotalámica , y el espinoreticulotalámico (3).

i) Haz neoespinotalámico.

Es el haz de desarrollo filogenético reciente, se origina mayoritariamente de neuronas ubicadas en la lámina I y V de la médula espinal. Sus fibras cruzan la línea media por el lemnisco medial, ascienden por el cuadrante anterolateral y sin interrupción sináptica se proyectan al tálamo contralateral, donde sinaptan con células de los núcleos ventro basales (ventroposterolateral y ventroposteromedial). Es aquí donde sinaptan con neuronas que se proyectan a zonas específicas (SI y SII) de la corteza parietal o somatosensorial, cuya función es la de entregar ubicación topográfica al dolor. Constituye el 30% de todas las fibras del tracto espinotalámico, son fibras mielínicas de conducción rápida, oligosinápticas, que transmiten información espacial y temporal discriminativa del estímulo doloroso (1,11).

ii) haz paleoespinalámico.

Proyecta en forma bilateral a los núcleos inespecíficos del tálamo: núcleos parafascicular, reticular, parte del centro mediano y la porción media magno celular del geniculado medio. Desde donde sinapta con la tercera neurona que lleva la información a zonas frontales de la corteza, para efectuar la evaluación cualitativa del dolor. El haz paleoespinalámico transmite el dolor lento y sordo, de tipo protopático (12).

iii) haz espinoreticulotalámico.

Hace sinapsis con la formación reticular a diferentes niveles: bulbo, protuberancia, zona mesencefálica y sustancia gris periacueductal y de allí en forma bilateral hacia los núcleos inespecíficos del tálamo, entre ellos el núcleo parafascicular, parte del centromedial y en forma especial el núcleo ventrolateral anterior. La proyección cortical de la tercera neurona es hacia la corteza inespecífica. A este haz se le atribuye mayor importancia en relación al componente afectivo del dolor. El haz espinoreticulotalámico participa en la transmisión del dolor protopático (12).

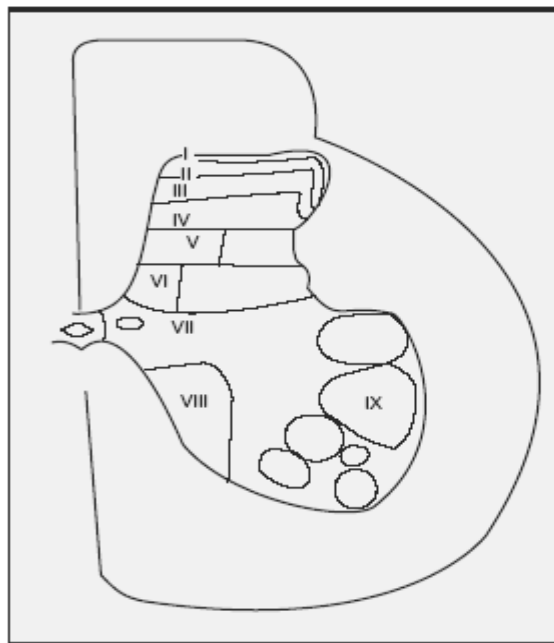


FIGURA 1: LAMINAS DE REXED

Fármacos analgésicos

Se han sintetizado una serie de fármacos con acción analgésica que actúan a diferentes niveles. Según las estructuras involucradas, los podemos clasificar en:

i) Anestésicos generales: fármacos que producen inconciencia y en consecuencia evitan el dolor, pudiendo ser afectadas todas las funciones sensoriales y motoras. Sin embargo, existen algunos que *per se* producen analgesia: éter etílico, ketamina, propofol, etc.

ii) Anestésicos locales, alcoholes y fenoles de acción prolongada: ejercen su acción analgésica actuando a nivel periférico , bloqueando en forma reversible la transmisión del impulso nervioso o en forma irreversible, utilizando alcoholes y fenoles.

iii) Analgésicos opioides o analgésicos centrales: estos fármacos poseen acción a nivel del neuroeje, de manera similar a las endorfinas, de los cuales la morfina es el fármaco tipo. Son hasta hoy los fármacos más efectivos y potentes para inhibir cuadros dolorosos. Si bien estos fármacos son los más efectivos y potentes, en cuanto a la inhibición del dolor, sus efectos colaterales, como la dependencia, los convierte en principios activos restringidos para su uso masivo.

iiii) Analgésicos no esteroideos (AINEs): ejercen su acción a nivel periférico e incluye a un grupo de fármacos de estructura química diferente, pero con acciones farmacológicas comunes. Actúan principalmente interfiriendo con la síntesis de los mediadores algésicos, principalmente a nivel periférico y algunos también a nivel central. La acción analgésica de estos fármacos es desde leve a intensa (18).

AINEs

Estos fármacos constituyen un vasto grupo de moléculas, con estructuras químicas distintas, pero con propiedades farmacológicas comunes, tales como acción analgésica, antiinflamatorias, antipiréticas, antiagregantes plaquetarios, antitumorígenos y anti Alzheimer (17,18,19,20). En la figura 2 se muestra una lista de AINEs con sus dosis, duración y efectos predominantes.

i) Clasificación de los AINEs. Los AINEs se les divide según su grupo químico en derivados:

1.-Salicílicos: Acido acetilsalicílico

2.-Pirazolónicos: Fenilbutazona, Metamizol, Propifenazona

3.-Acetanilida

4.-Ácido acético: Fenilacéticos : ej. Aceclofenaco, diclofenaco

Indolacéticos : ej. Indometacina, acetmetacina

Pirrolaceticos: ej. Ketorolaco

5.-Acido n-acetil antranilínico: Paracetamol

6.-Acido propiónico: Flurbiprofeno, Ibuprofeno, Ketoprofeno, Naproxeno

7.-Enólicos: Piroxicam, tenoxicam

8.-Metanosulfonamida

9.-Selectivos COX-2

Clase Nom. Genérico	Dosis VO (mg)	Duración	Analgesia	Anti Inflamat.	Anti Pirético
SALICILATOS					
Aspirina	325 1000	– 4 - 6	+++	+++	+++
PARAAMINOFENOLES					
Paracetamol	325 1000	– 4 – 6	+++	0	+++
DERIVADOS ACIDO INDOLACETICO					
Indometacina	25 – 76	6 – 8	+++	+++	+++
Sulindaco	150 200	– 12	+++	+++	+++
Diclofenaco	25 – 75	6 – 8	+++	+++	+++
DERIVADOS PIRAZOLONICOS					
Fenilbutazona	100 200	– 6 – 8	++	++++	++
Dipirona	300- 600	6 – 8	?	?	?
FENAMATOS					
Acido mefenámico	500	6 – 8	++	++	+
DERIVADOS ACIDO PIRROLACETICO					

Ketorolaco	15 – 30	4 – 6	+++?	+?	++++?
DERIVADOS ACIDO PROPIONICO					
Ibuprofeno	200 800	– 8 – 12	+++	+++	++
Naproxeno	250 500	– 8 – 12	+++	+++	++
Ketoprofeno	50 – 100	6 – 8	++	+++	+
DERIVADOS BENZOTIACINICOS					
Piroxicam	10 – 20	12 – 24	+++	+++	+
Tenoxicam	20	24	+++	+++	+
SULFONANILIDA					
Nimesulida	100 200	– 12	+++	?	?

Figura 2. AINEs con sus dosis habituales, duración y efectos predominantes.

ii) Mecanismo de acción de los AINEs:

Los efectos analgésicos, antiinflamatorios y antipiréticos de los AINES se deben principalmente a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas al bloquear la ciclooxigenasa, tanto a nivel central como periférico, a lo cual debe agregarse la modulación del efecto analgésico por agentes adrenérgicos, colinérgicos, serotonérgicos, nitridérgicos, etc. (2,3,21).

El metabolismo de fosfolípidos de la membrana celular, mediante la catálisis de la enzima fosfolipasa, genera ácido araquidónico, que en contacto

con la ciclooxigenasa (COX), da origen a endoperóxidos cíclicos que rápidamente se convierten en prostaglandinas y tromboxano (Figura 1). La síntesis de prostaglandinas puede iniciarse por diferentes estímulos que incluyen el colágeno, bradicinina, adrenalina, histamina, esquemia y lesión mecánica. Hay evidencia creciente que un mecanismo analgésico central, independiente de las acciones antiinflamatorias, se sumaría a los efectos periféricos descritos; este mecanismo comprendería la inhibición de la actividad neural, inducida por aminoácidos o quininas y explicaría la disociación entre la acción analgésica y la acción antiinflamatoria de algunos AINES. Las prostaglandinas, junto con la histamina, serotonina y bradicinina son los neuromedidores más destacados de la inflamación . (Figura 3).

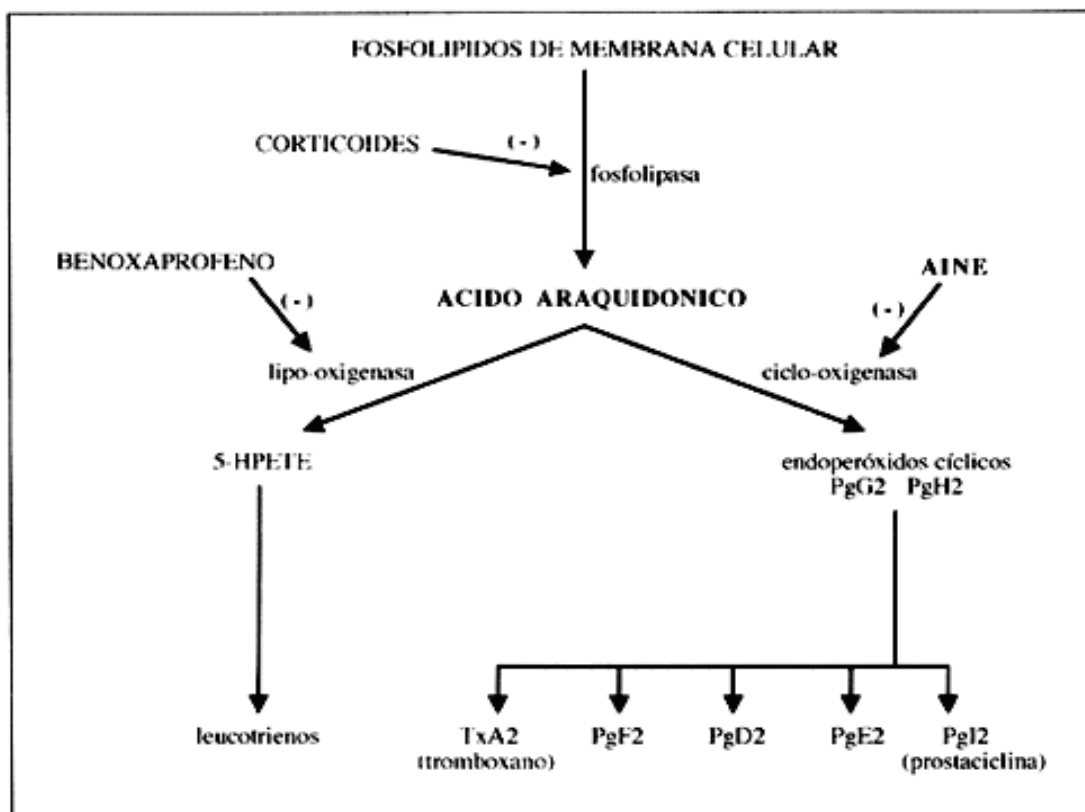


FIGURA 3 INHIBICIÓN DE SÍNTESIS DE PROSTAGLANDINAS DE LOS AINES

En cuanto a la acción analgésica de los AINEs se reconoce, además de la bioinhibición de la enzima COX a nivel periférico y central, una Interacción con neuronas periféricas y centrales involucradas en la transmisión del dolor: un gran número de ensayos sugieren que los AINEs ejercen antinocicepción al interactuar con neuronas periféricas o centrales involucradas en la transmisión de señales nociceptivas. Es así como existen trabajos que relacionan al sistema colinérgico, mediante el uso de agonistas y antagonistas, con la actividad

antinociceptiva de AINEs. Los resultados de dichos estudios proponen que los AINEs aumentarían las concentraciones de acetilcolina tanto a nivel espinal como supraespinal, lo cual sería en parte responsable de su efecto antinociceptivo (22,23,24). Existe evidencia que relaciona el efecto antinociceptivo de los AINEs como ketoprofeno, diclofenaco y piroxicam con la activación de receptores alfa-2-adrenérgicos a nivel espinal y supraespinal, mientras que paracetamol podría ejercer antinocicepción principalmente por la activación del sistema descendente inhibitorio noradrenérgico vía receptores alfa-1-adrenérgicos (23). Otro sistema involucrado en la antinocicepción generada por AINEs es el de los opiodes endógenos, lo cual es particularmente cierto para el caso del diclofenaco pues su analgesia ha sido revertida mediante naloxona (antagonista opioide) (25). Finalmente, un gran número de estudios sugiere la participación del sistema serotoninérgico en la actividad antinociceptiva de AINEs (26,27,28,29).

iii) Ciclooxygenasas

Se conocen tres isoformas de la enzima ciclooxygenasas, codificadas por genes diferentes. La COX-1 o ciclooxygenasas constitutivas, aparece en células de vasos sanguíneos, estomago y riñones, dando lugar a la síntesis de PGs, las cuales mantienen una correcta función gástrica, renal y vascular. La COX-2 o

ciclooxigenasa inducida, se presenta en situaciones de inflamación y es inducida por citoquinas y mediadores inflamatorios u provoca síntesis de PG que intervienen en procesos inflamatorios, dolorosos u febriles. Se ha sugerido recientemente que haya otra isoforma de la enzima COX formada como variante de COX-1(33). Esta enzima fue nombrada como COX-3, aunque pudo más apropiadamente haber sido nombrada COX-1b. COX-3 es formada a partir del gen COX-1 pero conserva el intrón 1 en su RNAm. En el ser humano, el RNAm COX-3 se expresa como transcripción 5.2-kb y es el más abundante en corteza cerebral y corazón. La diferencia en el nivel de proteína entre COX-3 y COX-1 es la inserción de los aminoácidos 30-34, dependiendo de la especie mamífera, en el péptido señal hidrofóbico. En COX-3 este péptido señal no se divide; la proteína es glicosilada y exhibe la actividad COX (31).

iiii) Funciones de los AINEs.

Anti-inflamatorio (a). Esta función está mediadas por la inhibición de distintos pasos en la cascada del ácido araquidónico, particularmente en la vía de las ciclooxigenasas (25).

Analgésico (a). La actividad antiálgica de los AINE es de intensidad moderada o media, alcanzándose un techo analgésico claramente inferior al de los analgésicos opioides, pero frente a éstos presentan la ventaja de no alterar

el sensorio o la percepción, lo cual redundará, en conjunto, en una utilización clínica menos comprometida (32).

Antipirético (a). La fiebre puede ser el resultado de un estado infeccioso o la secuela de un daño tisular, en ambos casos aumenta la formación de citoquinas tales como IL-1 β , IL-6, TNF α , interferones alfa y beta, estimulando la síntesis de PGE₂ en los órganos circunventriculares y cerca del área preóptica hipotalámica, que a su vez, mediante el aumento del AMP cíclico, obliga al hipotálamo a incrementar la temperatura corporal aumentando la generación de calor y disminuyendo la pérdida del mismo. Los AINEs suprimen esta respuesta al inhibir la síntesis de PGE₂. (33).

Antiagregante plaquetario. Es una acción que no comparten en la misma medida todos los AINE, aunque sea consecuencia de su efecto inhibitorio de la COX-1. Reviste especial interés terapéutico, en el caso del AAS, el hecho de que su efecto inhibitorio de la ciclooxigenasa es irreversible. Esta inhibición, que en la mayoría de las células del organismo se solventa con la síntesis de nuevas moléculas de COX, cobra un especial protagonismo, terapéutico o indeseable, en las plaquetas. Éstas son incapaces de sintetizar nuevas proteínas y una vez acetilada su COX, en el paso por la circulación portal previamente a la desacetilación hepática del AAS, resulta inhibida durante toda

la vida de la plaqueta (8-11 días). Como consecuencia de esta acción se produce un marcado descenso de los niveles de TXA2 plaquetario (responsable de parte de los mecanismos que provocan la agregación plaquetaria). Esta acción, que es utilizada terapéuticamente en la prevención a largo plazo de accidentes tromboembólicos coronarios y cerebrales puede, asimismo, devenir en reacción adversa facilitando la aparición de hemorragias, especialmente en tratamientos o situaciones concurrentes que afecten la coagulación sanguínea (32).

Antitumorígeno. Estudios epidemiológicos han establecido un fuerte vínculo entre la ingestión crónica de aspirina y un reducido riesgo a desarrollar cáncer de colon . Hoy se cree también que los tumores gástricos y mamarios son susceptibles de ser tratados con inhibidores selectivos COX-2, dado que se han demostrado altos niveles de proteína COX-2 en dichos tumores a diferencia de los tejidos circundantes (34).

Labor de parto. Los AINEs retardan el parto prematuro al inhibir la síntesis de prostaglandinas. Un ejemplo de parto prematuro es el que se produce por infección uterina, donde la liberación de factores endógenos incrementa la síntesis de prostaglandinas, desencadenando las contracciones. De esta manera, bloqueadores COX-2 selectivos pueden ser usados para

retardar el parto sin los efectos colaterales de los AINEs tradicionales no selectivos (34).

Enfermedad de Alzheimer. La enfermedad de Alzheimer está caracterizada por depósitos cerebrales de péptidos β – amiloideos, que son rodeados de células inflamatorias. Estudios epidemiológicos han mostrado que el uso prolongado de drogas anti – inflamatorias no esteroideas reducen el riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer y retarda el comienzo de la enfermedad (35).

IV) Reacciones adversas de los AINEs (RAM). Una reacción adversa a droga es cualquier respuesta no deseada y no intencionada que ocurre con la dosis terapéutica de el. Las reacciones adversas de los AINEs, son extensiones de sus acciones farmacodinámicas que se expresan en todos aquellos sistemas en las que las prostaglandinas cumplen sus funciones fisiológicas (36).

-Ulceración gastrointestinal. Es la más común de las complicaciones y frecuentemente se acompaña de anemia secundaria e hipoproteinemia debido a la pérdida sanguínea y plasmática respectivamente. Los AINE se caracterizan por provocar un elevado número de alteraciones y lesiones gastrointestinales (las más frecuentes leves, pero algunas muy graves). Son frecuentes (15-25 %) los efectos menores: pirosis, dispepsia, gastritis, dolor gástrico, diarrea o

estreñimiento. Mayor preocupación produce su capacidad para lesionar la mucosa gástrica o duodenal, causando erosiones y úlceras objetivables por endoscopia (el 40% en pacientes que consumen AINE durante 3 meses) (32). Los mecanismos del daño de la mucosa gastroduodenal son complejos y no totalmente esclarecidos. Hay un efecto local, pero más importante es el efecto sistémico de inhibición de la síntesis de prostaglandinas, lo que disminuye la secreción de mucus, lo hace menos viscoso y menos resistente al ácido, disminuye la secreción de bicarbonato, la velocidad de proliferación de la mucosa y el flujo sanguíneo a ésta.

-Bloqueo de la agregación plaquetaria. Los AINEs prolongan el tiempo de sangría al bloquear la síntesis de tromboxano A₂ plaquetario. Tromboxano y prostaciclina son dos sustancias que pertenecen a la cascada de eicosanoides generada por COXs. Su función es la de integrar en parte el sistema de hemostasia local del vaso sanguíneo junto con las plaquetas y factores de la coagulación. En este sentido la acción antiagregante y vasodilatadora es favorecida por la prostaciclina, que es la sustancia más poderosa conocida con estas funciones, y por otra parte, el tromboxano favorece la agregación plaquetaria y vasoconstricción (1).

-Inhibición de la motilidad uterina. Los AINES pueden prolongar el embarazo. La administración prolongada de AINES durante el tercer trimestre podría cerrar el ductus arteriosus in útero e inducir hipertensión pulmonar persistente en el recién nacido. El mecanismo que fundamenta este proceso es la habilidad de los AINES para inhibir la síntesis de prostaglandinas, particularmente la PGF_2^α , pues son ellas las responsables de la contracción uterina en el momento del parto. La administración de ácido acetilsalicílico a nodrizas se asocia a la aparición de l Síndrome de Reye, afección que implica un daño cerebral (encefalopatía) y daño hepático asociado con el uso de ácido acetilsalicílico (34,36).

-Nefropatía. Los AINES, a través del bloqueo de la síntesis de prostaglandinas, pueden disminuir el flujo renal y la filtración glomerular, y producir retención de sodio, agua y potasio. El efecto agudo de los AINE en personas con una función renal normal es prácticamente desdeñable, posiblemente en consonancia con la escasa importancia de la síntesis de prostaglandinas vasodilatadoras en esta situación. Sin embargo, en situaciones patológicas en que esté comprometida la perfusión renal, el riñón incrementa la síntesis de prostaglandinas, que desempeñan un papel esencial para asegurar una velocidad de filtración y un flujo sanguíneo renal adecuados. Esto ocurre en estados de hipotensión y en todos aquellos en que exista hiperactividad del

sistema renina-angiotensina o del sistema nervioso simpático, como insuficiencia cardíaca congestiva, contracción de volumen por depleción sódica o cirrosis hepática con ascitis. Son también más proclives a presentar síntomas de toxicidad renal aquellos pacientes con glomerulonefritis crónica o en tratamiento con diuréticos. En estas situaciones los AINE pueden desencadenar diversas nefropatías de carácter agudo: síndrome nefrótico, nefritis intersticial aguda, necrosis tubular aguda, vasculitis o estados de hipoperfusión renal. Como ocurre con otros efectos, el riesgo varía según el fármaco: es relativamente alto con fenoprofeno, indometacina o fenilbutazona y más bajo para sulindaco, diclofenaco, etodolaco, piroxicam y meloxicam (32).

-Reacciones de hipersensibilidad. Reacciones de hipersensibilidad que adoptan formas variadas (rinitis alérgica, edema angioneurótico, erupciones maculopapulares, urticaria generalizada, asma bronquial, hipotensión o shock anafiláctico) aparecen en el 1-2 % de los pacientes bajo tratamiento con AINE. Estas reacciones son de carácter *alérgico* (raras, de mecanismo inmunológico con anticuerpos o linfocitos sensibilizados) o *seudoalérgico* (más frecuentes, indistinguibles clínicamente de las anteriores y posiblemente relacionadas con la inhibición de la síntesis de prostaglandinas en conexión con una sensibilidad individual especial). En las reacciones de carácter alérgico predominan el angioedema y el shock anafiláctico, siendo menos frecuentes la urticaria y el

asma bronquial, son producidas por AINE de grupos químicos específicos (p. ej. pirazolonas) y no son cruzadas con otros AINE. En las de carácter seudoalérgico predominan la rinorrea, la vasodilatación facial y el asma bronquial (generalmente en conexión con una historia previa de rinitis vasomotora instaurada en la edad adulta, congestión nasal crónica, pólipos nasales y ataques de asma) y pueden ser producidas por cualquier AINE y son cruzadas entre ellos (32). Muchos de estos pacientes presentan la llamada tríada de la sensibilidad salicílica que incluye rinosinusitis crónica, poliposis nasal y asma severa (37).

-Discrasias sanguíneas. Aunque la frecuencia de aparición de reacciones adversas hematológicas durante el tratamiento con AINE es, en su conjunto, baja, el amplio uso de estos fármacos y la gravedad de algunas de ellas (p. ej., agranulocitosis o anemia aplásica) obliga a tenerlas en cuenta. Algunas de estas reacciones están relacionadas con las propiedades farmacológicas ya descritas (p. ej., hemorragias por exceso de actividad antiagregante plaquetaria) o con una condición especial del paciente (p. ej., episodios hemolíticos en individuos con deficiencia de G-6-PD). No obstante, la mayoría de las reacciones hematológicas se deben a fenómenos en los que intervienen mecanismos inmunitarios. A ellas pertenecen la agranulocitosis, la anemia aplásica, la trombocitopenia y la anemia hemolítica (32). Dipirona es una de las

drogas que con mayor frecuencia es informada en casos de agranulocitosis o neutropenia (38).

-Sistema nervioso central. los salicilatos en altas dosis pueden producir tinitus y pérdida de la audición y, en los ancianos, confusión y complicaciones neuropsiquiátricas. La indometacina se asocia a cefalea y vértigo en forma dosis dependiente y, en los ancianos, a depresión, pérdida de memoria y confusión (36).

-Hepático. aunque casi todos los AINES se han asociado a daño hepatocelular, las dos drogas que más comúnmente se relacionan a toxicidad dosis dependiente son la aspirina y el paracetamol. En el caso de la aspirina, la mayoría de los casos corresponde a un daño agudo asintomático, reversible. El antecedente de enfermedad hepática puede aumentar el riesgo de hepatotoxicidad. Los salicilatos, además, parecen ser un factor importante en la patogenia del síndrome de Reye. Una sobredosis de paracetamol puede causar daño hepático fatal. La dosis diaria máxima en adultos no debe sobrepasar los 4 g, pero 2 g pueden ser tóxicos en alcohólicos crónicos. Otros AINES que se han asociado a daño hepático grave son indometacina, sulindaco, diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno y piroxicam.

Paracetamol

El paracetamol o acetaminofeno, derivado de la anilina, es el metabolito activo de la fenacetina, retirada hace años del mercado por su asociación con la nefropatía analgésica. Se clasifica dentro del grupo de los para-aminofenoles. Es considerado un AINE a pesar de tener nula actividad antiinflamatoria, sin embargo, posee eficacia antitérmica y analgésica comparable a la del AAS aunque, obviamente, es menos eficaz que éste en dolores de origen inflamatorio (32). Su estructura química se muestra en la figura 4.

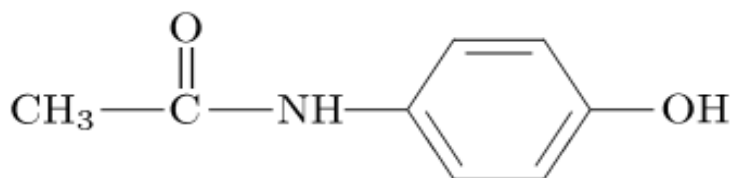


Figura 4. estructura química del paracetamol.

- Características farmacocinéticas. Se absorbe de forma rápida y casi completa en el intestino delgado con una biodisponibilidad dosis-dependiente

entre el 75 y el 90 %. La velocidad de absorción depende fundamentalmente de la velocidad de vaciamiento gástrico: se retrasa con los alimentos (especialmente aquellos ricos en carbohidratos) y fármacos que demoren el vaciamiento (opioides y anticolinérgicos), y se facilita con aquellos que lo aceleren (metoclopramida). Su concentración plasmática alcanza un máximo en 30 a 60 minutos y su vida media es de 2 horas.

Se distribuye de forma casi uniforme por los tejidos y líquidos orgánicos, atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica. En la leche puede alcanzar concentraciones de 10-15 $\mu\text{g/ml}$, 2 horas después de la ingestión materna de una simple dosis de 650 mg. A concentraciones terapéuticas (5-20 $\mu\text{g/ml}$) no se fija a proteínas plasmáticas, aunque a concentraciones tóxicas (p. ej., 300 $\mu\text{g/ml}$), la fijación varía entre el 20 y el 50 %. Es metabolizado hasta el 95 % en el hígado. Los principales metabolitos son conjugados con ácido glucurónico (60 %) o sulfato (35 %). Una pequeña fracción (4-5 %) se convierte en la fracción microsómica, utilizando el sistema de oxidasas mixtas y citocromo P 450, en un metabolito extremadamente reactivo, la N-acetilbenzoquinoneimida, que en condiciones normales es inactivado por reacción con los grupos sulfhidrilo del glutatión hepático reducido y, posteriormente, eliminado por la orina como conjugado con cisteína y ácido mercaptúrico. Con dosis de paracetamol muy elevadas, las vías metabólicas primarias se saturan y la

velocidad de formación de este metabolito excede a la de síntesis de glutatión hepático, reaccionando covalentemente con aminoácidos de enzimas y proteínas hepáticas a las que inactiva, y provoca una necrosis hepática aguda (32).

-Aplicaciones terapéuticas. el paracetamol es un fármaco eficaz, que puede utilizarse en vez de la aspirina como analgésico y antipirético en una serie de cuadros como son el dolor leve a moderado, dolor postoperatorio, cefaleas, dolor muscular y articular, dolor post-parto y fiebre, especialmente cuando éste esté contraindicado o su uso sea desaconsejable, pacientes que reciben terapéutica anticoagulante o uricosúrica, si existe úlcera péptica, gastritis, hernia de hiato, intolerancia o hipersensibilidad al AAS, y en pacientes con hemofilia u otros problemas de la coagulación. Sin embargo, no es un fármaco útil para combatir trastornos inflamatorios (32).

- Mecanismo de acción. El mecanismo de acción exacto del paracetamol es aún desconocido. No se ha explicado de manera satisfactoria la razón por la cual constituye un eficaz agente analgésico y antipirético con escasa acción antiinflamatoria. Se piensa que los mayores efectos del paracetamol se producirían a nivel central, por ser un mal inhibidor de la ciclooxigenasa a nivel periférico, pero es un potente inhibidor de la ciclooxigenasa a nivel central (39).

Las ciclooxigenasas de diversas localizaciones al parecer son diferentemente sensibles a la acción del paracetamol. Así, a diferencia de los AINE, puede estimular la síntesis de PG (p. ej., en la mucosa gástrica), no modificarla (pulmón y plaquetas) o inhibirla moderadamente (SNC). Quizás esto explique su casi nula actividad antiinflamatoria, su acción antitérmica y analgésica, su incapacidad para alterar la agregación plaquetaria y su inocuidad para la mucosa gástrica. Además de inhibir la síntesis de PG en el SNC, y en conexión con dicha acción o no, el paracetamol produce analgesia por otros mecanismos centrales, como: inhibición de la hiperalgesia espinal provocada por la activación de los receptores NMDA, interacción con sistemas neuronales que liberan óxido nítrico o facilitan la transmisión inhibitoria serotoninérgica bulboespinal que actuaría sobre receptores 5-HT₃ (32). Más aún, al parecer el paracetamol inhibiría la enzima ciclooxigenasa sólo en un entorno con poco peróxido (como en el hipotálamo), lo cual explicaría en parte su poca actividad antiinflamatoria, dado que en los sitios inflamados casi siempre contienen altas concentraciones de peróxidos generados por leucocitos. Se ha establecido que el paracetamol tiene una acción altamente localizada en el cerebro, bloqueando una enzima hasta entonces desconocida y altamente implicada en la transmisión del dolor, llamada COX-3 encontrada en el cerebro y la médula espinal, que es inhibida selectivamente por paracetamol, y es distinta de las dos

enzimas ya conocidas COX-1 y COX-2 (33). Ahora se cree que esta inhibición selectiva de la enzima COX-3 en el cerebro y médula espinal explica la eficacia del paracetamol en reducir el dolor y la reducción de fiebre sin tener efectos secundarios gastrointestinales.

La COX-3 fue descrita y secuenciada por D. L. Simmons (40). Hasta entonces las dos isoformas de COX eran conocidos (COX-1 y COX-2) que son codificados por dos genes que comparten la misma estructura, pero son situados en diversos cromosomas. En esa publicación se describe una tercera isoforma activa completa y dos isoformas, PCOX-1 a y b parciales.

La COX-3 deriva del gen de la COX-1. En los seres humanos, el ARNm de la COX-3 es el más abundante de la corteza cerebral, en la médula espinal y el corazón. También se expresa en células de insecto. La actividad COX3 es inhibida selectivamente por las drogas analgésicas y antipiréticas como por ejemplo paracetamol, dipirona y otros AINEs más. Es así, que la inhibición de COX-3 representa un mecanismo central primario por el cual estas drogas disminuyen el dolor y la fiebre.

También se ha propuesto que paracetamol produciría efecto antinoceptivo mediante la activación de receptores opioides, aunque el subtipo de receptor y su ubicación a nivel central es aún desconocido. Paracetamol

presentaría afinidad por receptores opioides del tipo μ solo a altas concentraciones. (39). Sin embargo, en otros estudios experimentales en los cuales se utilizaron animales pretratados con naloxona, antagonista no selectivo de receptores opioides, no se alteró la actividad antinoceptiva del paracetamol, lo cual sugeriría que la activación de algún (os) tipo (s) de receptor opioides no estarían involucrados en el mecanismo de acción de esta droga.

Piroxicam

El piroxicam es un antiinflamatorio no esterooidal que pertenece a la familia de los ácidos enólicos entre los que se encuentran además el tenoxicam y el meloxicam (42). Su estructura química se muestra en la figura 5.

Este fármaco es ampliamente utilizado en Medicina para el tratamiento de la artritis reumatoídea y de la osteoartritis como ibuprofeno, naproxeno, indometacina, diclofenaco, ácido meclofenámico, etc. Adicionalmente, numerosos estudios han demostrado la utilidad del piroxicam en el tratamiento de trastornos musculoesqueléticos, en la dismenorrea y en el control del dolor postoperatorio (42,43).

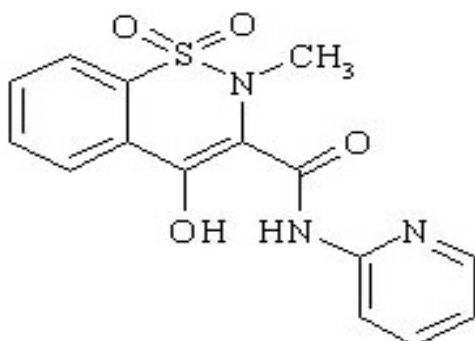


Figura 5. Estructura química del piroxicam.

- **Características farmacocinéticas:** el piroxicam se administra por las vías oral (10 o 20 mg), rectal o parenteral. Después de su administración oral se absorbe completamente y los niveles máximos en la sangre se alcanzan dos horas más tarde, aunque puede variar entre 1 a 6 horas en diversos sujetos. Con frecuencia se ha detectado un segundo peak en la sangre entre las 6 y las 10 horas después de su administración oral, lo que podría deberse a la recirculación enterohepática del fármaco y las cifras de vida media en plasma han sido variables. Los alimentos o los antiácidos no modifican la rapidez ni la magnitud de la absorción.

Después de absorbido, el piroxicam se liga extensamente a proteínas plasmáticas (99%); en estado de equilibrio dinámico (después de 7 a 12 horas) son aproximadamente iguales las concentraciones del fármaco en plasma y en líquido sinovial. Menos de 5% del producto se excreta por la orina sin modificaciones. La principal transformación metabólica en seres humanos incluye hidroxilación del anillo piridil y su metabolito inactivo y su conjugado glucurónico comprenden 60%, aproximadamente, del fármaco que se excreta por orina y heces. Los metabolitos, que carecen de actividad inhibitoria sobre la ciclooxigenasa, no tienen las propiedades farmacológicas del compuesto original. La vida media de eliminación del piroxicam es prolongada y tiene un valor medio de 45 horas aunque oscila entre 30 y 60 horas en sujetos sanos (42,43).

-Reacciones adversas: la dosis más frecuente usada de 20 mg es generalmente bien tolerada por los pacientes. La reacción adversa más frecuente es la gastrointestinal, principalmente la úlcera péptica. Menos frecuentes aún, menores al 1%, son las reacciones dermatológicas como el rash cutáneo y prurito, fototoxicidad, eritema multiforme y pénfigo vulgar(43).

Naltrexona

Los analgésicos opioides producen sus efectos farmacológicos, terapéuticos y adversos al estimular receptores específicos: mu (μ), kappa (κ) y delta (δ). Estos se encuentran distribuidos ampliamente en el sistema nervioso central y periférico, predominando en zonas relacionadas con la transmisión del dolor. (44). Se ha descrito que a nivel de la médula espinal existe una distribución no uniforme de receptores opioides, en que la mayoría de ellos, alrededor del 70%, corresponde a receptores μ , 23% a receptores δ y 7% a receptores κ (45). Además, existen estos receptores en el tracto gastrointestinal, sistema cardiovascular y glándulas suprarrenales.

Los opioides tienen efectos farmacológicos principalmente en el sistema nervioso central y gastrointestinal. La analgesia, que es el efecto clásico y el más estudiado, se produce por acción de los narcóticos a nivel supraespinal y espinal, inhibiendo la transmisión del dolor y los componentes emocional y afectivo asociados. La estimulación de receptores μ ubicados en las vías del dolor produce analgesia de mayor potencia (44). La naltrexona es un antagonista no selectivo de los receptores opioides, pero tiene mayor afinidad por el receptor μ , por lo tanto, revierte todos los efectos producidos por los fármacos opioides debido a la activación de receptores del subtipo μ . Su mayor

eficacia se encuentra a nivel oral que parenteral, alcanzando su concentración máxima a las 2 horas, con una vida media de catorce horas. Se usa principalmente en el tratamiento por intoxicación inducida por los opioides y el alcohol.

Asociación de fármacos

Si se co-administran 2 drogas es posible obtener 3 tipos de efectos: (a) aditivos, que corresponde a la simple suma de los efectos que producen cada una de ellas separadamente, (b) subaditivo: también llamado antagónico, y que corresponde a un efecto menor que la simple suma de cada agente por separado y (c) sinérgico o supra-aditivo: que es un efecto mayor que la suma de los efectos por separado de cada droga (46,47,48).

Es claro que drogas que produzcan sinergismo, mejor que simple aditividad, presentan un más promisorio uso en el tratamiento del dolor y si a ello se agrega que el sinergismo va normalmente acompañado con una significativa disminución de las reacciones adversas, la exploración de drogas que al ser aplicadas conjuntamente produzcan una interacción sinérgica es de alto interés en farmacología.

El estudio de la interacción analgésica entre los AINEs no ha sido muy extenso, refiriéndose fundamentalmente a la interacción sinérgica entre ketorolaco y tramadol en ratas artríticas (49). Igual efecto sinérgico ha sido demostrado entre tramadol y metamizol (50) y entre paracetamol y codeína (51). Sin embargo, un estudio pormenorizado entre otros AINEs no ha sido realizado. Por ello en el presente trabajo se evaluará la interacción entre paracetamol y piroxicam en un modelo de dolor agudo térmico (Tail flick o test de la cola). Se ha elegido paracetamol, por ser un AINE atípico, ya que se le adscriben propiedades inhibitorias de una nueva isoforma de COX, la llamada COX-3 (52). Se asociará con piroxicam un inhibidor no selectivo de COX-1 (53) que posee una muy marcada acción analgésica, antipirética y anti-inflamatoria en diversas patologías, incluyendo las de origen odontológico (54,55,56).

HIPÓTESIS

El efecto antinociceptivo de la coadministración de paracetamol y piroxicam genera una interacción de tipo sinérgico.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar la actividad antinociceptiva de paracetamol y piroxicam en el ensayo experimental de dolor agudo térmico denominado test de la cola o tail-flick.

Objetivos específicos:

1.- Evaluar la antinocicepción inducida por la administración intraperitoneal de piroxicam y paracetamol en el modelo del tail-flick en ratones.

2.- Caracterizar la naturaleza de la interacción antinociceptiva producida por la combinación i.p. de piroxicam y paracetamol, usando el método algesiométrico antes mencionado.

3.- Estudiar la participación del sistema opioide en la interacción i.p. de piroxicam y paracetamol, en el mismo modelo de inducción de dolor.

MATERIAL Y METODO

Se usaron ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*) tanto machos como hembras, de 25 a 30 gramos de peso, los que fueron aclimatados al ambiente del laboratorio por lo menos dos horas antes de la experimentación. Fotografía

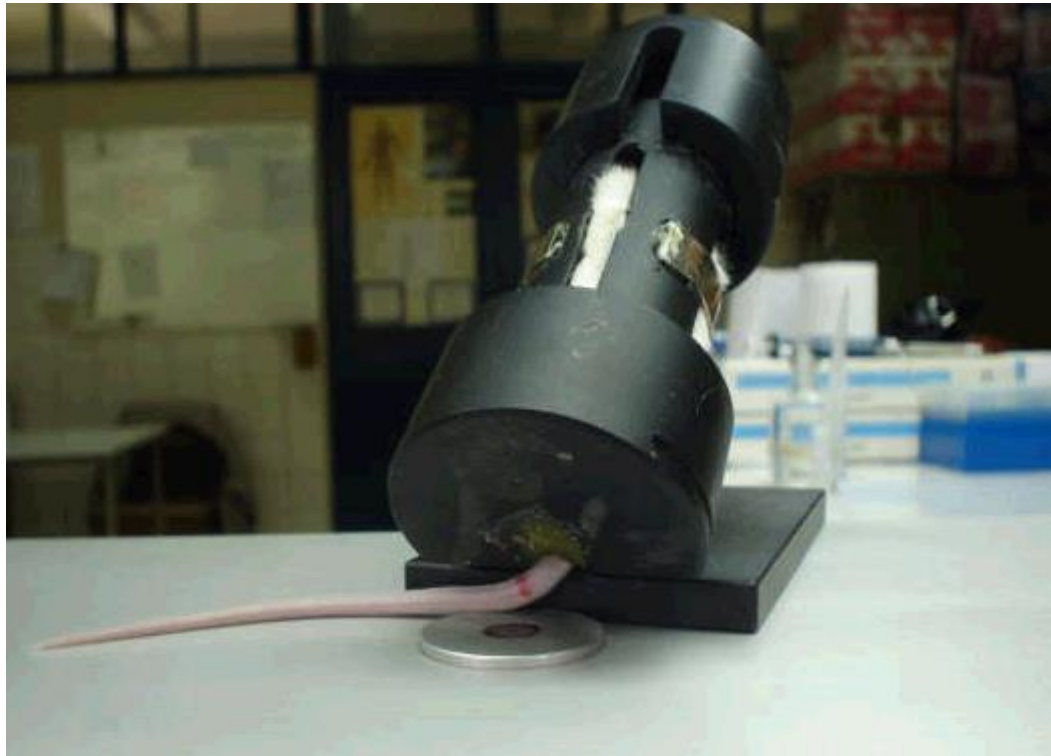
1



Fotografía 1. Ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*)

La experimentación se realizó de acuerdo a un protocolo aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina para estudios en animales en que cada animal recibió solamente una dosis de las drogas a ensayarse, las observaciones se efectuaron en forma randomizada, ciega y en que cada animal es su propio control. Los animales fueron sacrificados después del experimento mediante dislocación cervical. La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó por el método del tail flick o ensayo de la cola en el que se usa un estímulo térmico. En este método algiesiométrico se usa un aparato diseñado y fabricado por Ugo Basile (Italia) para medir la latencia de las respuestas, y, consiste en aplicar sobre la cola del animal, el que se encuentra dentro de un dispositivo especial para mantenerlo constreñido y en reposo, un estímulo de calor radiante regulable, que proviene de una fuente de poder infrarroja. En el momento de iniciar la aplicación de calor se activa un cronómetro digital sensible al movimiento, que permite determinar el tiempo que demora el ratón en retirar la cola de la noxa (tiempo de latencia) y es la medida que se usará para evaluar el efecto analgésico. La intensidad de la fuente calórica se regula en un valor constante para todo el curso de la experimentación y el tiempo máximo de reacción (cut-off) se fija en 8 segundos para evitar daño de la piel. El dispositivo utilizado para el estudio algiesiométrico se muestra en las fotografías 1,2,3. En primer lugar, se determinan los valores

de las latencias controles, para lo cual los animales se introducen previamente en los dispositivos contenedores durante 3 minutos con el objeto de lograr la adaptación al espacio reducido y evitar los movimientos inespecíficos de la cola. En segundo lugar, se administran los fármacos, via intraperitoneal (i.p.) y luego a los 30 minutos, se efectúa la algesiometría para obtener la latencia experimental.



Fotografía 1. Dispositivo que contiene al ratón



Fotografía 2. Equipo diseñado para el estudio algesiométrico tail-flick.



Fotografía 3. Aplicación de calor sobre la cola del ratón.

Los resultados se expresarán como Δ latencia \pm el error estándar del promedio o como % del máximo posible efecto (MPE), el que se calcula de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ MPE} = 100 \times [(LE_x - LC) / (\text{Cut-off} - LC)]$$

Donde: LE_x , es la latencia con la droga; LC es la latencia control y cut-off es el tiempo máximo de exposición de la cola del animal para evitar daño en la piel.

Los fármacos se administraron i.p. en un volumen de 10 ml/kg, tal como se muestra en la fotografía 4.



Fotografía 4. Aplicación de la droga i.p.

El ensayo algesiométrico se realizó al momento del efecto máximo de cada droga, el que fue determinado previamente, construyéndose las correspondientes curvas dosis-respuestas, de las cuales se derivan, por análisis de regresión lineal, los parámetros a ser utilizados posteriormente.

Para la evaluación de la interacción, entre paracetamol e ibuprofeno, se usó el método isoblográfico del Laboratorio de Dolor, de la Facultad de Medicina, adaptado de Tallarida y Murray (1986). Para ello se construyeron curvas dosis-respuesta de los fármacos administrados por vía i.p. con un mínimo de 6 animales por cada una de al menos 4 dosis. La dosis que produce un 25 % del efecto máximo (DE_{25}), se calculó mediante análisis de regresión lineal. Las interacciones entre las diferentes drogas, se efectuará coadministrando i.p. 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de las DE_{25} de paracetamol y piroxicam. La coadministración se efectuará en animales antes y después del pretratamiento de ellos con 1 mg/kg, i.p. de naltrexona-- antagonista opioide μ --selectivo, más potente y de mayor duración que naloxona.

Para cada mezcla de drogas se determinó la DE_{25} por análisis de regresión lineal de la curva dosis-respuesta. Esta dosis se comparó estadísticamente (Tallarida y Murray, 1986) con la dosis que representa teóricamente la adición simple de efectos que se obtiene según la siguiente fórmula:

$$DE_{25} \text{ aditividad teórica} = DE_{25} \text{ droga 1} / (P1 + R \times P2)$$

donde R , es la relación de potencia entre las drogas 1 y 2 administradas por si solas, P_1 , es la proporción de la droga 1 en la mezcla, y P_2 , es la proporción de la droga 2 en la mezcla.

El punto experimental resultante se gráfica en coordenadas cartesianas que contienen una línea que conecta la DE_{25} de la droga 1 en la abscisa con la DE_{25} de la droga 2 en la ordenada (línea de aditividad simple). La región del gráfico donde se ubica el punto experimental determina el tipo de interacción. Con este análisis se puede determinar si la interacción entre dos drogas es sinérgica (efecto mayor que la suma de los efectos individuales), antagónica (efecto menor que la adición de los efectos individuales) o de simple aditividad (efecto igual a la suma de cada uno de ellos). Además, la relación:

$$ED_{25} \text{ de aditividad} / ED_{25} \text{ experimental}$$

proporciona el índice de interacción. Si este índice es < 1 , se confirma la sinergia.

El estudio estadístico de los datos de las curvas log dosis- respuesta se analizarán mediante regresión lineal por cuadrados mínimos para determinar las DE_{25} . Los parámetros estadísticos relativos a los isobogramas se

calcularán con un programa computacional del Laboratorio y la significación estadística será determinada por análisis de varianza y pruebas t de Student. La significación será considerada a un nivel de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Este protocolo no considera un grupo experimental aislado, ya que cada animal es su propio control.

Tratamiento con paracetamol

La administración intraperitoneal de paracetamol en los ratones que son sometidos al ensayo algesiométrico del tail-flick, produjo una actividad antinociceptiva dosis-dependiente, representada en la curva del gráfico 1. De esta se derivó la DE₂₅ del paracetamol obteniéndose un valor de 99.84 ± 8.72 mg/kg.

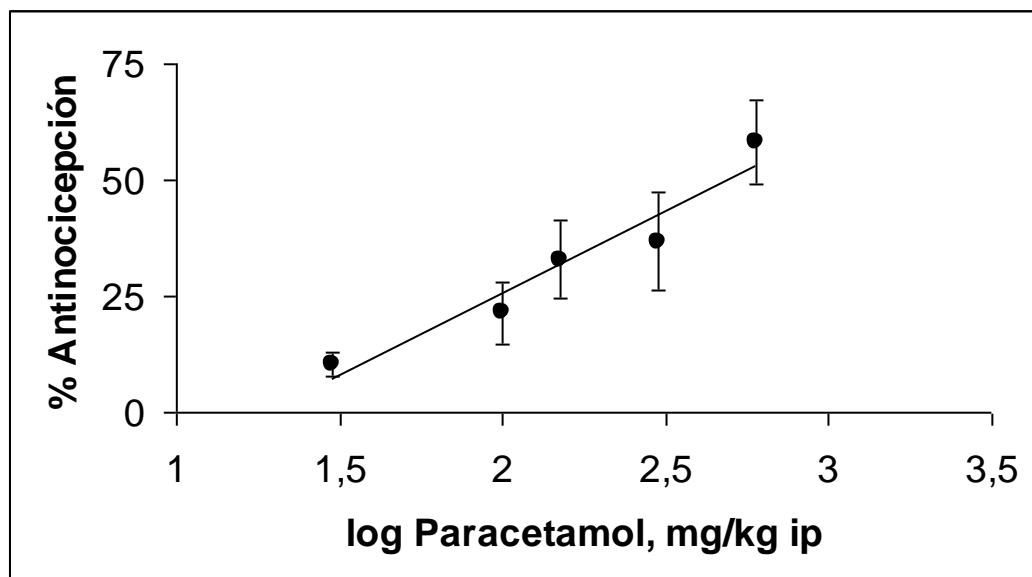


Gráfico 1. Curva dosis respuesta de paracetamol en el ensayo tail-flick

Tratamiento con piroxicam

La administración intraperitoneal de piroxicam en los ratones que son sometidos al ensayo algesiométrico del tail-flick, produjo una actividad antinociceptiva dosis-dependiente, representada en la curva del gráfico 2. De esta curva se derivó la DE_{25} del piroxicam, que resultó ser de 7.90 ± 0.9 mg/kg.

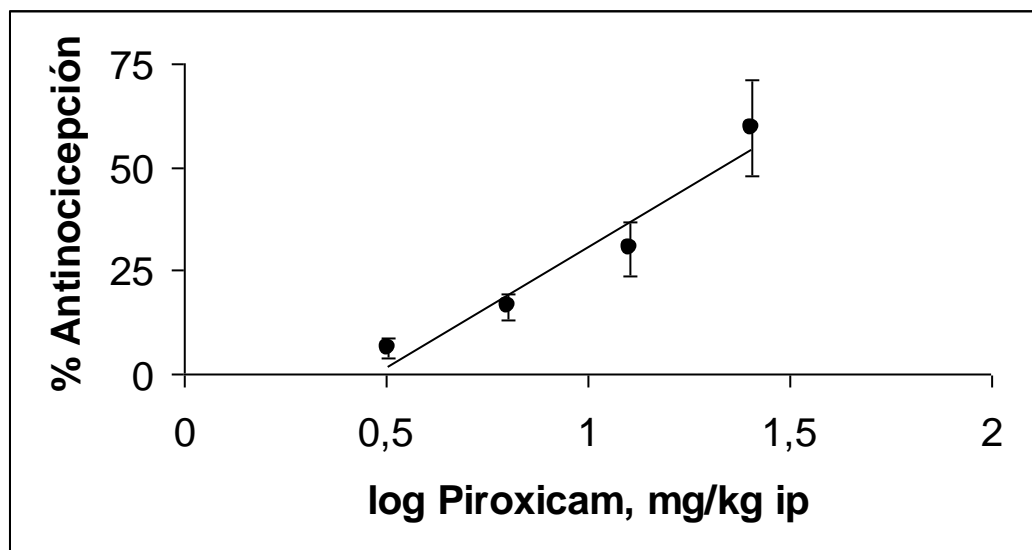


Gráfico 2. Curva dosis respuesta de piroxicam en el ensayo tail-flick

Paralelismo de las curvas dosis-respuesta de ambos fármacos.

Al analizar las curvas dosis-respuesta de la actividad antinociceptiva de paracetamol y de piroxicam, obtenidas con el ensayo algesiométrico del tail-flick, se encontró que ellas eran estadísticamente paralelas, como se observa en el gráfico 3.

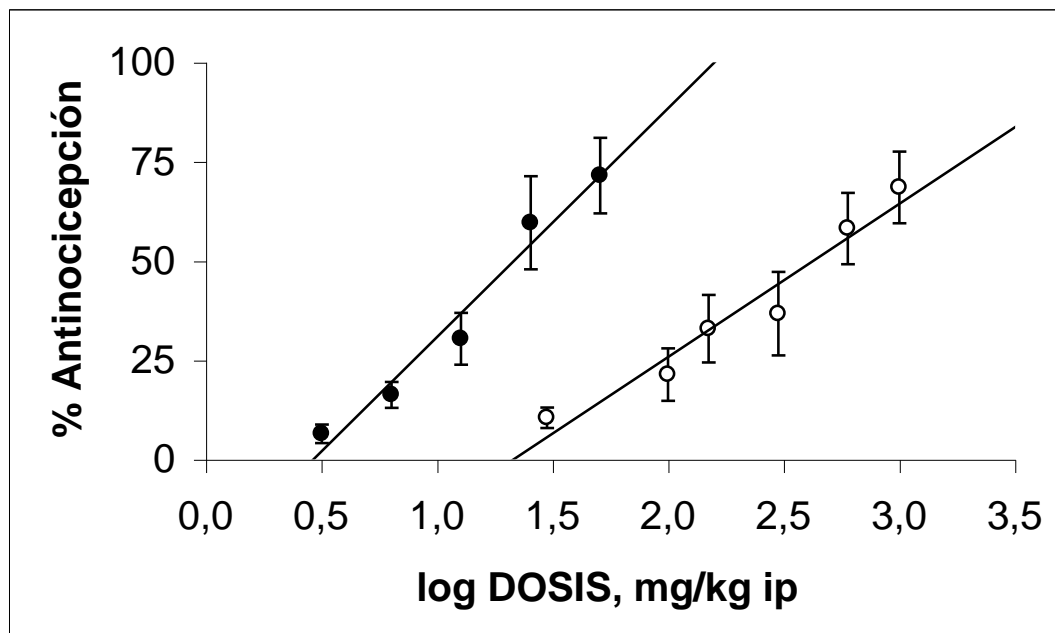


Gráfico 3. Curvas dosis respuesta de paracetamol y piroxicam en el ensayo tail-flick, donde ● corresponde a piroxicam y ○ a paracetamol.

Análisis isoblográfico

El estudio de la interacción analgésica entre paracetamol y piroxicam administrados por vía intraperitoneal en dosis proporcionales de sus DE_{25} se realizó mediante un análisis isoblográfico. Los resultados obtenidos demostraron que la interacción antinociceptiva de ambos fármacos es de

naturaleza sinérgica, lo que se encuentra representado en el gráfico 4. Además se calculó el índice de interacción entre paracetamol y piroxicam, obteniendo un valor de 0.413, que corresponde a un índice de interacción supra-aditivo o sinérgico, ya que es significativamente menor que 1. Por otro lado, el pretratamiento de los animales con naltrexona (1mg/kg, i.p.), logró modificar la naturaleza de dicha interacción, transformándola en aditiva, lo que se confirma con el cambios significativo del índice de interacción paracetamol / piroxicam, a un valor de 0.893, que representa una interacción de tipo aditiva.

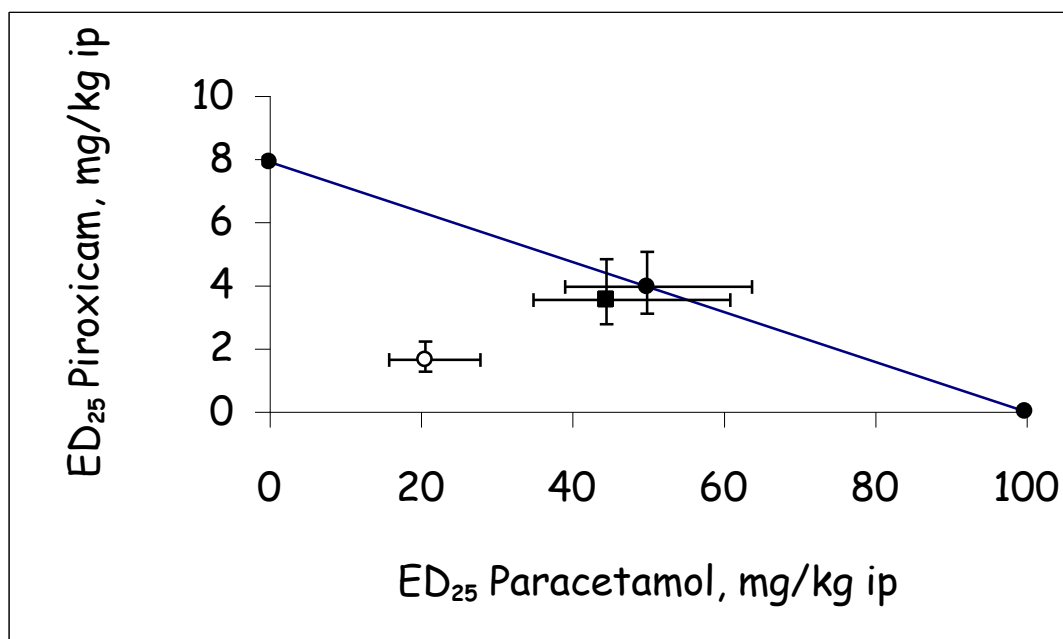


Gráfico 4. Isoblograma de la interacción paracetamol/piroxicam, administrados por vía i.p, en el modelo del tail-flick. El (●) representa el punto de aditividad teórica de la mezcla; el (○) corresponde al punto experimental y el (■) representa el punto obtenido después del pretratamiento de los animales con naltrexona (1mg/kg).

DISCUSIÓN

El presente trabajo demuestra que la administración de paracetamol y/o de piroxicam, por vía intraperitoneal, producen una actividad antinociceptiva dosis-dependiente, en el test del movimiento de la cola. Los resultados obtenidos son concordantes con los descritos en otros estudios algesiométricos (51). Por otra parte, la potencia relativa del piroxicam resultó ser 14 veces mayor que la del paracetamol. Estos resultados, podrían deberse a la inhibición diferencial de COXs, ya que en el caso del piroxicam, se explica su acción al inhibir la actividad de COX-1 y COX-2, y en consecuencia la biosíntesis de PG y tromboxanos (53). Para el caso del paracetamol, su actividad analgésica estaría relacionada con la inhibición preferencial de la isoforma COX-3, especialmente a nivel del sistema nervioso central, ya que se sabe que no es capaz de inhibir las ciclooxigenasas en los tejidos periféricos, que es la razón fundamental por la cual carece de actividad antiinflamatoria (52). No obstante, el paralelismo obtenido entre las curvas dosis-respuesta antinociceptivas de piroxicam y paracetamol, sugiere la existencia de algún mecanismo de acción común, que podría estar relacionado, ya sea con la bioinhibición de las

isoformas de COX, con la utilización de un segundo mensajero intracelular común, o con la liberación de alguna sustancia analgésica endógena común.

La administración de la mezcla piroxicam y paracetamol por vía i.p. produce una interacción antinociceptiva de tipo sinérgico. La explicación de esto puede residir en la existencia de mecanismos complementarios cooperativos. Así, a nivel farmacocinético la sinergia puede deberse a un aumento de la concentración local en el sitio receptor, producido por acción de piroxicam sobre paracetamol o vice-versa, debido a que presentan efectos sobre isoformas diferentes de COXs o también puede deberse a una disminución de la inactivación, por la misma razón sugerida para la interacción farmacocinética de cambio en la concentración local. En el caso, de explicarse la sinergia, por una interacción farmacodinámica, se sugiere que la activación de un pool común de segundos mensajeros, por piroxicam y/o paracetamol, podrían promover un efecto cooperativo, que se traduciría en una acción multiplicativa en su efecto final. Además, los efectos sinérgicos también podrían ser explicados por interacciones funcionales resultantes de la acción de piroxicam y/o paracetamol en sitios anatómicos separados, ya sea a nivel pre o post sináptico, que podrían actuar en forma independientemente o conjuntamente, incrementando así la inhibición de la nocicepción al inhibir isoformas diferentes de la enzima ciclooxigenasa, lo que lleva a disminuir el dolor tanto a nivel central como

periférico, logrando así una analgesia mayor que la lograda por cada droga administrada de manera individual.

La administración previa de naltrexona indujo una variación significativa en el tipo de interacción entre el paracetamol y el piroxicam, variando de una de tipo de supra-aditiva a una interacción de simple aditividad. Este resultado es concordante con los que muestran estudios previos que indican que el paracetamol en altas concentraciones presentaría afinidad por los receptores opioides μ , , por lo que se ha sugerido que el paracetamol produciría efecto antinociceptivo mediante la activación de receptores opioides (41). Así, la administración previa de este antagonista opioide (naltrexona), disminuiría significativamente la potenciación de la combinación piroxicam/paracetamol, al disminuir la acción antinociceptiva de este último, mediada por receptores μ .

En el presente estudio, los analgésicos usados presentan diferentes mecanismos de acción, siendo el paracetamol, primordialmente un inhibidor de COX-3 mientras el piroxicam es un inhibidor inespecífico de COX-1 Y COX-2. Este tipo de estudio de asociaciones de analgésicos pretende como objetivo lograr un mejor tratamiento farmacológico del dolor complementado las diferentes potencias analgésicas de estos fármacos, a la vez que se disminuyen su dosis y sus reacciones adversas. Estas asociaciones permiten

obtener una analgesia bimodal de mayor eficacia para el tratamiento farmacológico del dolor.

CONCLUSIÓN

1.- El piroxicam produce una actividad antinociceptiva dosis-dependiente al ser administrado por vía i.p en el ensayo del movimiento de cola o tail-flick.

2.- El paracetamol induce un efecto analgésico de naturaleza dosis-dependiente al ser administrado por vía i.p en el mismo ensayo algesiométrico.

3.- La administración conjunta de paracetamol y piroxicam, vía i.p. produce una interacción de tipo sinérgica o supraaditiva en este el modelo algesiométrico.

4.- El pretratamiento con naltrexona altera significativamente la interacción sinérgica de la combinación paracetamol / piroxicam, variándola a una de naturaleza aditiva.

5.- Los resultados del presente trabajo sugieren que en el efecto analgésico sinérgico de la asociación de paracetamol con piroxicam existe un compromiso significativo del sistema opioide

SUGERENCIAS

La demostración de sinergia entre paracetamol y piroxicam , permite hacer las siguientes sugerencias:

- 1.- Estudiar la analgesia bimodal con diversos tipos de fármacos.
- 2.- Analizar por isoblografía la naturaleza de la interacción entre ellos.
- 3.- De resultar sinérgica, evaluar la participación de los sistemas opioides, nitridérgicos, serotoninérgicos, colinérgicos, dopaminérgicos y adrenérgicos en la interacción.

RESUMEN

Los agentes analgésicos antiinflamatorios no esteroidales (AINEs) son fármacos muy usados en los diferentes tipos de dolor, tanto agudos como crónicos. Sin embargo, ellos independientes de su eficacia, presentan una serie de reacciones adversas que limitan su uso. Para contrarrestarlos, se han desarrollado combinaciones de fármacos que permitan aumentar los efectos analgésicos y disminuir las reacciones adversas. En el presente trabajo, se investigó la interacción analgésica o antinociceptiva de dos AINEs, uno atípico: paracetamol y otro típico: piroxicam en el ensayo de dolor agudo térmico denominado tail-flick o test de la cola. Se utilizaron ratones de la cepa CF-1, a los que se les administró por vía i.p., al tiempo del máximo efecto, las siguientes proporciones 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de sus DE_{25} , y se determinó por análisis isoblográfico la naturaleza de la interacción, que resultó ser sinérgica. El efecto del sistema opioide se evaluó con animales pretratados con naltrexona 1 mg/kg i.p., antagonista opioide, y se comprobó que existe una variación significativa de la interacción antes mencionada. Los resultados del presente trabajo comprueban un efecto sinérgico en la actividad antinociceptiva de la co-administración sistémica de piroxicam con paracetamol que es modulada por el sistema opioide.

BIBLIOGRAFÍA

- 1). Paelie C., Saavedra, H., "El dolor, aspectos básicos y clínicos". Editorial Mediterráneo, Santiago, Chile 1990. cap. 1:20-21.
- 2). Fürst, S., "Transmitters involved in antinociception in the spinal cord". Brain Research Bulletin, 1999, 48:129-141.
- 3) Moya, M., "Vías de transmisión del dolor". Rev. Chilena de Cirugía.1995. Vol. 47, nº 3, Junio, p 274-280
- 4) Rodgers R.J., Shepherd J.K., Randall J.I. "Highly potent inhibitory effects of 5HT₃ receptor antagonist, GR38032F, on non-opioid defeat analgesia in male mice". Neuropharmacology, 1990, 29:17-23.
- 5) Hansen B. And Hardie E. "Measurement modalities. Thalhammer J.G; Short C.E. eds. Proceedings of Do Animals Have Pain, an official satellite symposium of the 9th world congress on pain". Vienna, AT., 1999, p5.
- 6) Giordano J., Dyck J., "Differential analgesic actions of serotonin 5ht₃ receptor antagonist in the mouse". Neuropharmacology 1989, 28: 423-427.
- 7) Cashman, J. The mechanism of action of NSAIDs in analgesia. Drugs. 1996. 52(5):13-23.

- 8) Bonica J. Anatomic and physiologic basis of nociception and pain. En: The management of pain, 2nd Ed. NY. Lea & Febiger, 1990, pag 958.
- 9) Ortega, E., "Neurofisiología del dolor". Cuad. Cir. 1995; 9:50-54.
- 10) Lamont, L., Tranquilli, W., Grimm, K. Physiology of Pain. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. 2000, 30(4): 703-723.
- 11) Bernucci J. "Anatomía y fisiología del dolor" Rev. Sanidad des. Nac.1994. 11(2): 107-120.
- 12) Martín T., Eisenach J., C.J. "Pharmacology of opioid and nonopioid analgesics in chronic pain states". Pharmacol. Exper. Ther. 2001, 299:811-817.
- 13) Millan,M. "the induction of pain: an integrative review". 1999. Prog. Neurobiol. 57:1-164.
- 14) Aliaga L., Baños J.E., Barutel C.D.: Dolor y utilización clínica de los analgésicos, 1: 7-40; 1996.
- 15) Bjornsson MJ, Velschow S, Stoltze K, Havemose-Poulsen A, Schou S, Holmstrup P. Related Articles, Links Abstract The influence of diet consistence, drinking water and bedding on periodontal disease in Sprague-Dawley rats. J Periodontal Res. 2003 Dec; 38(6): 543-50.
- 16) Dayer P., Collart L., Desmeules J. The Pharmacology of Tramadol. Drug, 1994: 47: 3-7.

- 17) Farivar-Mosheni H., Kandzari SJ., Zaslau S., Riggs DR., Jackson BJ., McFadden DW. Sinergy effects of Cox -1 and Cox -2 inhibition on bladder and prostate cancer in vitro. *Ani J Surg.* 2004: 188(5):505-10.
- 18) Loeffler, D., et al. "Using animal models to determine the significance of complement activation in Alzheimer's disease". *J. of Neuroinflammation.* 2004, 1: 1-12.
- 19) Mingehetti L., Cyclooxygenase-2 (Cox-2) in inflammatory and degenerative brain diseases. *Neuropathol Exp Neurol.* 2004: 63(9):901.10
- 20) Bakhle, Y.S., "COX-2 and cancer: a new approach to an old problem". *British J. of Pharmacology* 2001, 134: 1137-1150.
- 21) Tulunay, F.C., "NSAIDs: behind the mechanism of action". *Funct. Neurol.* 2000; 15:202-207.
- 22) Miranda; H.; Sierralta, F., Pinaridi, G., "Neostigmine interactions with non steroidal anti-inflammatory drugs". *Br. J. Pharmacol.* 2002, 135(7): 1591.1597.
- 23) Pinaridi, G.; Sierralta, F.; Miranda, H.F. Adrenergic mechanisms in antinociceptive effects of non steroidal antiinflammatory drugs in acute termal nociception in mice. *Inflamm. Res.* 2002.51(5):219-222.
- 24) Edwards, S.R.; Mather, L.E.; Lin, Y.; Power, I.; Cousins, M.J. Glutamate and Kynuren in the rat central nervous system following treatments with ischaemia. *J. Pharm. Pharmacol.* 2000.52(1):59-66.

- 25) Bjorkman,R.Central antinociceptive effects of non-steroidal antiinflammatory drugs and paracetamol. Experimental studies in the rat. *Acta Anaesthesiol.Scand.*1995.103:1-44.
- 26) Alloui A, Chassaing C, Schmidt J, Ardid D, Dubray C, Cloarec A, Eschaliere A. Paracetamol exerts a spinal, tropisetron-reversible, antinociceptive effect in an inflammatory pain model in rats. *Eur J Pharmacol* 2002.17; 443(1-3): 71-7.
- 27) Arts KS, Holmes BB, Fujimoto JM. Differential contribution of descending serotonergic and noradrenergic systems to central DAMGO and morphine-induced antinociception in mice. *J Pharmacol Exp ther* 1991; 256: 890-96.
- 28) Bardin L, Lavarenne J, Eschaliere A. Serotonin receptor subtypes involved in the spinal antinociceptive effect of 5-HT in rats. *Pain* 2000. 86(1-2): 11-8.
- 29) Vitale G, Pini LA, Ottani A, Sandrini M. Effect of acetylsalicylic acid on formalin test and on serotonin System in the rat brain. *Gen Pharmacol* 1998. 31(5): 753-8.
- 30) Chandrasekharan,N.V., Dai, H., Roos, K.L, Evson, N.K., Tomsik, J., Elton, T. S., and Dimmons, D.L. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expresión. *Proc. Nati. Acad. Sci. USA*,2002. 99:13926-13931.
- 31) Giovannini M, G, Scali C, Prospero C, Belluci A, Pepeu G, Casamenti F. Experimental brain inflammarion and neurodegeneration as model of

Alzheimer's disease: protective effect of selective COX-2 inhibitors. *Int J Inmunopathol Pharmacol*. 2003; 16:31-40.

32) Flores J. *Farmacología Humana*. 3ª edición. Masson S.A. 1997. Barcelona. España. Cap 22. Pág. 353-380.

33) Dascombe M.J., "The pharmacology of fever" . *Prog. Neurobiol*. 1985, 25(4):327-373.

34) Vane, J., "Aspirin and other anti-inflammatory drugs". *Thorax*. 2000 55: 3-9.

35). Laura Gasparini, "Non-steroidal anti inflammatory drugs (NSAIDs) in alzheimer's disease: old and new mechanism of action", *Journal of Neurochemistry*,2004 91, 521-536.

36) González, J., Dagnino, j., "Analgésicos no narcóticos". *Boletín Esc. de Medicina, P. Universidad Católica de Chile* 1994; 23: 164-169

37) McGeehan m, Bush RK. "The mechanisms of aspirin-intolerant asthma and its management". *Curr Allergy Asthma Rep*. 2002; 2(2):117-25.

38) Van der Klauw MM, Wilson JH, Stricker BH. , "Drugs-associated agranulocytosis: 20 years of reporting in The Netherlands (1974-1994)". *Am J Hematol* . 1998; 57(3): 206-11.

- 39) Pini L.A., Sandrini M., Vitale G. "The antinoceptive action of paracetamol is associated with changes in the serotonergic system in the rat brain", *Eur. J. Pharmacol.* 1996. 308:31-40.
- 40) Warner TD and Mitchell JA. Cyclooxygenases; new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *FASEB J.* 2004. 18: 790-840.
- 41) Pini L.A., Sandrini M., Vitale G., Otanni A., Sandrini M. "Naloxone-Reversible antinoception by paracetamol in the rat". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1997. 208(2):934-40.
- 42) Rasetti-Escargueil C, Grangé V. " Pharmacokinetic profile of two tablet formulations of piroxicam ". *International Journal of Pharmaceutics.* 295 (2005) 129-134.
- 43) Johnson AG, Quinn DI, Day RO. "Non-steroidal anti-inflammatory drugs". *Med J Aust.* 1995. 163(3). 155-8
- 44) Gonzalez A., Dagnino J., "Analgésicos Narcóticos", *Boletín Esc. De Medicina, P. Universidad Católica de Chile.*1994 . 23: 159-163.
- 45) Dénes Budai, "Neurotransmitters and receptors in the dorsal". *Acta Biológica Szegediensis.*2000. 44(1-4):21-38.
- 46) Tallarida RJ, Porreca F, Cowan A. " Statistical analysis of drug-drug and site-site interactions with isobolograms" . *Life Sci.* 1989. 45: 947-961.

- 47) Tallarida RJ. "In drug synergism and dose effect analysis". Chapman & Hall CRC, New York, 2000.
- 48) Tallarida RJ, "Drug synergism: its detection and applications", J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001. 298, 865-872.
- 49) Poveda R, Planas E, Pol O, Romero A, Sanchez S, Puig MM. Related Articles, Links Abstract Interaction between metamizol and tramadol in a model of acute visceral pain in rats. Eur J Pain. 2003; 7(5):439-48.
- 50) Breivik EK, Barkvoll P, Skovlund E. Combining diclofenac with acetaminophen or acetaminophen-codeine after oral surgery: A randomized, double-blind single-dose study. Clin Pharmacol Ther 1999; 66: 625-35.
- 51) Troncoso, C. "Estudio de la interacción antinociceptiva entre paracetamol y codeína en un ensayo de dolor agudo térmico". Trabajo de investigación requisito para optar al título de Cirujano Dentista. U de Chile. 2003.
- 52) Chandrasekharan NV, "DL. 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.
- 53) Warner TD and Mitchell JA. Cyclooxygenases; new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. FASEB J. 2004. 18: 790-840.
- 54) Dione R A. J. Oral Maxillofac. Surg. 1999, 57: 673-678.

55) Scharz NA, Turturro MA, Istvan DJ, et al., Acad. Emerg. Med. 2000, 7: 857-861.

56) Dolezal T, Krsiak M. Physiol. Res. 2002, 51: 179-184.