

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA

INTERACCION ANALGESICA DE PARACETAMOL Y NIMESULIDA EN
DOLOR EXPERIMENTAL TERMICO AGUDO

CLAUDIA VIVIANA GODOY VILLANUEVA

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

PROFESOR TUTOR
Dr. HUGO F. MIRANDA

PROFESOR ASOCIADO
Dr. GIANNI PINARDI

SANTIAGO – CHILE

2006

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA

INTERACCION ANALGESICA DE PARACETAMOL Y NIMESULIDA EN
DOLOR EXPERIMENTAL TERMICO AGUDO

CLAUDIA VIVIANA GODOY VILLANUEVA

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

PROFESOR TUTOR
Dr. HUGO F. MIRANDA

PROFESOR ASOCIADO
Dr. GIANNI PINARDI

SANTIAGO – CHILE

2006

*A mis padres, que sin ellos, no habría
llegado a ser lo que hoy soy...*

AGRADECIMIENTOS

Al finalizar otra etapa de mi vida, debo agradecer sinceramente a todos aquellos que estuvieron conmigo en este camino, acompañándome, apoyándome y creyendo en mí: a mi familia, a mis amigos y a Dios. No fue fácil, pero de todas maneras, ustedes hicieron más verdadera la senda y que a final de cuentas lograrse mi meta.

Agradezco de todo corazón la constante e incondicional colaboración y asesoría dada por los doctores Hugo F. Miranda y Gianni Pinardi, que con su gran conocimiento, experiencia, apoyo y calidad humana permitieron la realización y éxito de este trabajo. También agradezco al departamento de farmacología de la Facultad de Medicina, que me permitieron desarrollar esta tesis.

INDICE

	PAGINA
I.- INTRODUCCION.....	1
II.- ASPECTOS TEORICOS.....	10
III.- HIPOTESIS Y OBJETIVOS	20
IV.- MATERIAL Y METODOS.....	21
V.- RESULTADOS.....	27
VI.- DISCUSION.....	31
VII- CONCLUSION.....	34
VIII.- SUGERENCIAS.....	35
IX.- RESUMEN.....	36
X.- BILIOGRAFIA.....	37

INTRODUCCION

El dolor, su estudio y su alivio es posiblemente uno de los temas fundamentales en el ámbito de la farmacología. El dolor es un síntoma desagradable percibido como una molestia 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. Cada individuo aprende el significado de la palabra dolor a través de la experiencia personal; tiene múltiples causas, diversas características anatómicas y fisiopatológicas, y variadas interrelaciones con aspectos psicológicos y culturales. Esto hace que su definición sea difícil y que la terminología usada en relación al dolor sea fuente permanente de confusiones, entabando la comunicación y comparación de resultados. La International Association for the Study of Pain (IASP) define dolor como “una experiencia sensorial y emocional desagradable con daño tisular actual, potencial o descrito en términos de dicho daño”. Esta definición incorpora varios elementos: el dolor es una experiencia individual, una sensación, evoca una emoción y esta es desagradable. Habitualmente existe un estímulo nocivo que produce daño tisular o eventualmente lo produciría en caso de mantenerse. Por otra parte, muchas personas refieren dolor en ausencia de daño tisular o causa fisiopatológica conocida; sin embargo, esta experiencia debe ser aceptada

como dolor, puesto que no hay manera de distinguirla de aquella debida a un daño tisular efectivo.

El dolor se inicia en los receptores especiales de este último, que se encuentran repartidos por todo el cuerpo. Estos receptores transmiten la información en forma de impulsos nerviosos eléctricos que son enviados a la médula espinal a lo largo de las vías nerviosas y luego hacia el cerebro. En ocasiones la señal provoca una respuesta refleja al alcanzar la médula espinal; cuando ello ocurre, la señal es inmediatamente reenviada por los nervios motores hasta el punto original del dolor, provocando la contracción muscular. La señal de dolor también llega al cerebro, donde se procesa e interpreta como tal y entonces interviene la consciencia individual al darse cuenta de ello.

El dolor puede ser agudo o crónico, neoplásico o no neoplásico. Esta división tiene implicancias en torno a la etiología, fisiopatología y sintomatología. Sin embargo, quizás de mayor importancia son las implicancias de tipo diagnóstico y terapéutico. En base a esto podemos clasificar el dolor como (1):

Dolor agudo: Es aquel dolor causado por estímulos nocivos desencadenados por heridas o enfermedades de la piel, estructuras somáticas profundas o

vísceras. Si bien los factores psicológicos tienen una importante influencia en la manera en que se experimenta el dolor agudo, con raras excepciones éste no obedece a causas psicopatológicas o ambientales, contrastando con el dolor crónico, en donde esto juega un papel principal.

Dolor crónico: Es aquel dolor que persiste por más de un mes después del curso habitual de una enfermedad aguda o del tiempo razonable para que sane una herida, o aquel asociado a un proceso patológico crónico que causa dolor continuo o recurrente. Puede establecerse por la persistencia del estímulo de la enfermedad o de ciertas condiciones fisiopatológicas.

El dolor puede ser primariamente somático, neuropático o psicogénico.

Dolor somático: Es aquél que aparece cuando un estímulo potencialmente dañino para la integridad física excita los receptores nociceptivos. Estrictamente debiera incluir el dolor originado en cualquier parte del cuerpo que no sean nervios o sistema nerviosos central; ahora bien se usa este término para referirse al dolor originado por los receptores que se encuentran en la piel, músculos y articulaciones, donde el dolor es bien localizado y específico, y se habla de dolor visceral el que se produce en las vísceras, donde el dolor es menos localizado y puede ser referido a una zona cutánea que tiene la misma inervación.

Dolor neuropático: Es aquel que resulta de lesiones o alteraciones crónicas

en vías nerviosas periféricas o centrales, pudiendo desarrollarse y persistir en ausencia de un estímulo nocivo evidente. Se caracteriza porque el síntoma se presenta como una sensación basal o quemante (disestesia), con hiperalgesia o alodinia (percepción de cualquier estímulo como doloroso).

Dolor psicogénico: Es aquel que ocurre cuando el individuo describe problemas psicológicos como ansiedad o depresión en términos de daño tisular, verbalmente o través de su comportamiento. Si bien el daño puede o pudo existir, el problema central es la amplificación y distorsión de esos impulsos periféricos por el estado psicológico.

Para el alivio del dolor existen en la actualidad una gran variedad de agentes capaces de producir un poderoso y selectivo efecto de inhibición de la neurotransmisión dolorosa, tanto a nivel preclínico en animales, como a nivel clínico en el hombre. Para su correcto uso en forma efectiva y racional, es necesario tener en cuenta tres conocimientos básicos interrelacionados entre sí:

- 1- El conocimiento de sus efectos agudos y crónicos y los mecanismos de acción.

- 2.- Las relaciones entre estas acciones y sus efectos colaterales potencialmente severos.

- 3.- La farmacocinética de los fármacos para producir estos efectos en el

contexto de la variabilidad de sus acciones en diferentes individuos y enfermedades.

Además de lo antes señalado, es necesario conocer los siguientes aspectos:

- 1.- Los estímulos, las condiciones y los sitios del dolor.
- 2.- La percepción subjetiva del dolor, así como las respuestas objetivas a los estímulos dolorosos (nocicepción)
- 3.- Las contrapartes emocionales, psicológicas y de la conducta de la percepción del dolor.

Los fármacos que producen analgesia pueden actuar en un nivel periférico y central, ya sea modulando o inhibiendo la síntesis de sustancias mediadoras de la inflamación. Dentro de los fármacos analgésicos se encuentran los AINEs (analgésicos antiinflamatorios no esteroidales), que además de ser analgésicos, comparten propiedades antiinflamatorias y antipiréticas. La génesis de su analgesia se debe principalmente a la inhibición de la biosíntesis de las prostaglandinas. Algunos AINEs tales como ketoprofeno, indometacina, aspirina, naproxeno e ibuprofeno son inhibidores selectivos de la COX-1, mientras otros tales como nimesulida, meloxicam, celecoxib y rofecoxib son inhibidores selectivos de la COX-2 (1).

Otro mecanismo importante y principal en la generación de analgesia es

la realizada por los opioides, específicamente la morfina. Estos analgésicos interactúan con varios receptores estrechamente relacionados entre sí, y en los cuales también actúan ciertos péptidos endógenos, como las encefalinas, endorfinas y dinorfinas. Estos receptores serían los responsables de todos los efectos producidos por los fármacos opioides, y están ubicados en determinados sitios del sistema nervioso central y también en órganos periféricos.

También se puede obtener analgesia bloqueando la transmisión del impulso nervioso, a través de los anestésicos locales, o bien en forma irreversible utilizando alcoholes y fenoles. Finalmente se deben considerar otras drogas que, sin ser analgésicos propiamente tales, disminuyen el dolor como producto de una acción sintomática sobre éste; es el caso de algunos vasodilatadores coronarios que suprimen el dolor anginoso y algunos anticonvulsivantes que suprimen el dolor producido por las convulsiones. Con esta perspectiva se comenzaron a utilizar los fármacos antidepresivos en pacientes con dolores crónicos que sufren fuertes depresiones. Posteriormente se les utilizó en pacientes con dolores crónicos, pero sin una enfermedad depresiva, con resultados terapéuticos excelentes.

Los antiinflamatorios analgésicos no esferoidales (AINES) son utilizados en forma amplia en el tratamiento del dolor, ya sea agudo o crónico y en

desórdenes inflamatorios. Su actividad analgésica se basa en el bloqueo molecular de las enzimas ciclooxigenasas (COXs), la cual participa a su vez en la síntesis de prostaglandinas. Sin embargo, independientemente de su eficacia, presentan una serie de reacciones adversas que limitan su uso.

En el afán de permitir un mejor manejo terapéutico y reducir las reacciones adversas se ha buscado administrar fármacos en forma conjunta, así disminuyendo las dosis de ambos y lograr una mejor tolerancia por parte del paciente. Cuando dos drogas se administran juntas, sus efectos pueden ser:

- a) **Aditivos**, que corresponde a la simple suma de los efectos que producen cada una de ellas separadamente
- b) **Subaditivo**, también llamado antagonístico y que corresponde a un efecto menor que la simple suma de cada agente por separado.
- c) **Sinérgico o supraaditivo**, que es un efecto mayor que la suma de los efectos separados de cada droga (5, 6, 7)

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

interés en Farmacología.

El estudio de la interacción entre AINES no ha sido muy extenso, encontrándose estudios que expresan la interacción entre al paracetamol con diclofenaco (8), entre tramadol y ketorolaco en ratas artríticas (9). Efecto sinérgico se ha demostrado entre morfina y nimesulida (10), y entre paracetamol y codeína (11). 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 nimesulida en un modelo de dolor agudo térmico (tail flick o test de la cola). El paracetamol fue elegido por ser una AINE atípico, ya que se le adscriben propiedades inhibitorias de una nueva isoforma de la COX, llamada COX-3 (12). Se asociará con nimesulida, que es un inhibidor de mayor selectividad por la COX 2 que por la COX 1, que posee una marcada acción analgésica, antipirética y antiinflamatoria con menores reacciones adversas, en diversas patologías, incluyendo las de origen odontológico.

II.- MARCO TEORICO

GENESIS DEL DOLOR: PROSTAGLANDINAS Y SU ACCIÓN EN EL ORGANISMO

Las prostaglandinas son moduladores y mediadores celulares locales, que se pueden encontrar en condiciones fisiológicas y patológicas. Se forman a partir de ácidos grasos esenciales constituyentes de las membranas biológicas, dentro de los cuales se encuentra el ácido araquidónico, precursor de las prostaglandinas de la serie 2.

Dentro de las acciones biológicas de las prostaglandinas se pueden mencionar:

a) Efecto citoprotector de la mucosa gástrica, reduciendo el componente ácido del jugo gástrico, aumentando la secreción alcalina de bicarbonato

endógeno así como también el mucus lubricante, y aumentando el flujo sanguíneo local de la mucosa digestiva.

b) A nivel del sistema cardiovascular, regulando la presión arterial. El sistema calicreína - cinina en conjunto con las prostaglandinas representan el mecanismo antihipertensivo fisiológico que permite mantener la presión arterial en un nivel normal. Además, participa en la hemostasia, con sus productos tromboxano A₂, que es agregante plaquetario y vasoconstrictor, y la prostaciclina, creada en la pared vascular, es antiagregante plaquetario y vasodilatador.

c) Participa directamente en cambios fisiológicos que ocurren en el embarazo, donde el nivel de prostaglandinas aumenta progresivamente. La concentración de prostaglandinas en sangre y líquido amniótico está elevada durante el parto pero no se sabe si es un determinante mayor del comienzo de trabajo de parto o sólo sirve para mantener las concentraciones uterinas iniciadas por la oxitocina. En cualquier caso, los AINES podrían prolongar la duración de la gestación y provocar el trabajo de parto espontáneo e interrumpir un trabajo de parto prematuro.

d) En el aparato respiratorio, existen prostaglandinas que son broncodilatadores y otras broncoconstrictores, luego cualquier desequilibrio contribuye en parte al desarrollo del asma bronquial.

e) Riñón: Las prostaglandinas modulan el flujo sanguíneo renal y regula la formación de orina por efectos vasculares y tubulares. Se ha visto que la síntesis de prostaglandinas aumenta por factores que reducen el flujo sanguíneo (estimulación de nervios simpáticos), además los efectos de la hormona antidiurética pueden estar limitados por la producción y acción concomitante de las prostaglandinas, además de oponerse a los efectos de la retroalimentación negativa de la angiotensina sobre la renina.

f) Controlan la micro circulación cerebral y la temperatura corporal a través del hipotálamo (PG E2)

g) Mediadora clave en el proceso inflamatorio, provocando vasodilatación intensa y persistente, edema y dolor. Las prostaglandinas y los leucotrienos son liberados por una variedad de lesiones mecánicas, térmicas, químicas, bacterianas y otras, y contribuyen en forma importante en la generación de los signos y síntomas de la inflamación. Los leucotrienos tienen efecto sobre la permeabilidad vascular y son quimiotácticos de los PMNN. Aunque las prostaglandinas no parecen tener efectos directos sobre la permeabilidad vascular, tanto la PGE2 y la PGI aumentan la formación de edema e infiltración leucocitaria, promoviendo el flujo sanguíneo de la zona afectada. Aún más, potencia la acción de la bradiquinina, aumentando la sensación dolorosa.

Las ciclooxigenasas (COX) catalizan la conversión del ácido araquidónico en prostaglandinas. Se han identificado dos isoformas de esta enzima; COX-1, la cual está presente en la mayoría de las células siendo constitutiva, y COX-2, la cual está ausente en la mayoría de los tejidos pero es inducible por citoquinas, factores de crecimiento y hormonas (13,14) y es expresada en el sitio de la inflamación (15). La enzima COX-1 es responsable de la formación de prostaglandinas en el estómago y el duodeno (16, 17, 18) aunque también se ha visto en este sitio la expresión de la COX-2.

La COX-2 es responsable de la biosíntesis de prostaglandinas inflamatorias. Sus niveles pueden incrementarse de diez a veinte veces durante la inflamación, especialmente en macrófagos, monocitos, fibroblastos y células endoteliales.

Los AINES convencionales inhiben tanto la COX-1 como la COX-2 en dosis normales. Esta inhibición reduce la capacidad del estómago de protegerse asimismo de su contenido ácido. Si unas sustancias inhiben la COX -2, pero no a la COX-1, se podría predecir que tendría un efecto analgésico y antiinflamatorio pero sin los efectos adversos gastrointestinales asociados con los AINES convencionales.

Actualmente, se ha visto que los AINES no sólo tienen efecto sobre la inhibición de las prostaglandinas, sino que se le atribuyen otros mecanismos

centrales y periféricos (2). La clasificación tradicional, en donde se establece que ellos tienen solo acción periférica ya no es válida. Para muchos de estos agentes existe una gran evidencia a favor de un mecanismo central adicional para sus efectos analgésicos y antipiréticos (3). Mientras la inhibición de la síntesis de prostaglandinas permanece como un importante modo de acción de los AINES tanto en la periferia como en el Sistema Nervioso Central, otros mecanismos deberían ser considerados. Se ha visto que además de sus efectos ya nombrados, también afecta la síntesis y actividad de otras sustancias neuroactivas que se cree que juegan papeles importantes en procesar el estímulo nociceptivo en el asta dorsal de la médula espinal. Entonces, estas acciones, en conjunto con la inhibición de síntesis de prostaglandinas, podrían aumentar los efectos de los AINES sobre el proceso nociceptivo que ocurre en la médula espinal (3, 4)

PERFIL FARMACOLÓGICO DEL PARACETAMOL.

El paracetamol (acetaminofen) es un fármaco clasificado como antiinflamatorio y analgésico no esteroidal (AINE), eficaz para el tratamiento contra el dolor y la fiebre, sin embargo, su actividad antiinflamatoria es débil y por ello no es útil para combatir trastornos relacionados con esto último. Es un fármaco bien tolerado, aunque la sobredosis aguda ocasiona lesión hepática mortal.

El paracetamol es un fármaco frecuentemente administrado en forma terapéutica para el tratamiento del alivio del dolor y la fiebre. Es clasificado como un AINE, pero difiere de los otros porque no reduce la inflamación o causa ulceración y sangramiento en la mucosa (19). A diferencia de las drogas similares a la aspirina, paracetamol no inhibe la agregación plaquetaria o aumenta el tiempo de sangramiento (19).

Muchos de los síntomas de la inflamación son causados por prostaglandinas sintetizadas por la enzima inducible COX-2, mientras las prostaglandinas producidas por la enzima constitutiva COX-1 protegen la mucosa gástrica e inician la agregación plaquetaria cuando es requerida. Ensayos in vitro, muestran que el paracetamol es un inhibidor débil de la COX-2, lo que explicaría la falta de efectos antiinflamatorios, y también mostró ser un

inhibidor débil de la COX-1, lo que explicaría la ausencia de gastrotoxicidad y acción antiagregante plaquetaria (20). La inhibición de la síntesis de prostaglandinas por parte del paracetamol varía en diferentes tejidos, tanto así que la actividad de la COX cerebral es reducida en un mayor grado que la actividad de la COX en la mucosa gástrica. Flower and Vane demostraron que la síntesis de prostaglandinas en el cerebro de perro es inhibida en mayor medida que la de bazo de conejo. (21). Este hallazgo llevó a la idea de que la inhibición ya sea de la COX -1 o de la COX-2 con paracetamol sólo ocurría en células u tejidos que tenían pocas concentraciones de peróxidos tales como las células cerebrales, y no tendría actividad inhibitoria de estas enzimas en presencia de altas concentraciones de peróxido, como ocurriría en tejidos inflamados (22).

En el último tiempo, tratando de clarificar el modo de acción del paracetamol, se le ha adjudicado una acción específica sobre una nueva isoforma de ciclooxigenasa. En el 2002, Simmons et al. clonaron, caracterizaron y expresaron una variante de la COX-1, desde el cerebro canino y humano, la cual denominaron COX-3 (12). Ciclooxigenasa 3 es un producto del gen de COX-1 idéntica a esta última enzima, pero tiene retenido el intrón 1 en su mRNA. La diferencia a nivel proteico estructural entre COX-1 y COX-3 es la inserción de 30 a 34 aminoácidos, dependiendo de la especie. Esta

enzima sería constitutiva del cerebro, y con esto se explicaría la acción antipirética y analgésica central del paracetamol.

En la inducción de la fiebre se encuentran implicados LPS bacterianos como otros mediadores inflamatorios, tales como la IL1. Se ha propuesto que estos componentes circulan en la sangre y estimulan la expresión de COX-2 en las células endoteliales del cerebro y la prostaglandina sintetizada por esta enzima difundiría fácilmente al área preóptica del hipotálamo anterior, el cual no tiene barrera hematoencefálica y produciría fiebre.(23). Sin embargo, esto no explicaría la acción antipirética del paracetamol, el cual tiene una baja acción inhibitoria sobre COX-2, pero fácilmente penetra en el SNC, teniendo un claro acceso a la COX-3. Con la inhibición de esta última enzima se lograría una reducción en la producción de PGE2 con la consecuente abolición de fiebre. Un estudio reciente encontró la expresión de mRNA COX-3 en colonias de células endoteliales, astrocitos en el cerebro de rata (24). Células endoteliales cerebrales exhibieron la mayor expresión de COX-3, la cual era constitutiva y no expresada por LPS.

Adicionalmente, los inhibidores selectivos de la COX-2, que reaccionarían en forma débil con el sitio activo de COX-3, ya que esta última es idéntica a la COX-1, son buenos antipiréticos como los AINES tradicionales (20,23). La fiebre ha sido relacionada con una rápida inducción de expresión de COX-2, y

con lo último, el aumento de los niveles de prostaglandina E2, acción no relacionada con COX-1 o un producto de su gen: COX-3 (25). Finalmente, los sitios de expresión de COX-3 no parecen estar acordes con aquellos sitios asociados con la fiebre, ya que esta enzima debería estar en el hipotálamo más que en la corteza cerebral.

Tomando estas consideraciones, la idea de que la acción antipirética del paracetamol es por el bloqueo contra COX-3 debería ser cuestionada. Sin embargo, los resultados de Chandrasekharan (12) podrían ser interpretados como que el paracetamol actúa en un sitio diferente que los otros AINES y que más de una forma de COX participa en la producción de fiebre. Por otro lado, la acción analgésica del paracetamol es más difícil de dilucidar. Las prostaglandinas producidas en el sitio de inflamación sensibilizan las terminaciones nerviosas y con esto ponen en manifiesto la sensación dolorosa del sitio dañado (25). Estas prostaglandinas pueden ser producidas por la COX-2 inducida en el lugar inflamado, lo que no explica que el paracetamol cause analgesia, ya que es un antiinflamatorio débil al no actuar donde los niveles de peróxidos son elevados, como en el tejido inflamado (25).

Existe evidencia de que el mayor sitio de acción analgésica del paracetamol es el SNC, aunque el mecanismo parece ser desconocido. Lo que es claro es que el paracetamol induce antinocicepción mediada por la médula

espinal, y tiene efecto sinérgico entre sitios procedentes de la médula espinal y cerebro (26).

HIPÓTESIS

La coadministración de paracetamol y de nimesulida produce una interacción antinociceptiva de tipo sinérgico que es modulada por el sistema opioide.

OBJETIVOS

Objetivo General:

Evaluar la actividad antinociceptiva de paracetamol y de nimesulida en el ensayo experimental de dolor térmico agudo.

Objetivos específicos:

- Evaluar la antinocicepción inducida por la administración intraperitoneal de paracetamol y de nimesulida en el modelo del tail-flick.
- Caracterizar la naturaleza de la interacción antinociceptiva producida por la combinación intraperitoneal de paracetamol con nimesulida, usando el método algesiométrico de la cola.
- Estudiar la posible participación del sistema opioide en la interacción intraperitoneal de paracetamol y nimesulida.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*) tanto machos como hembras, de 25 a 30 gramos de peso, los cuales fueron aclimatados al ambiente del laboratorio al menos dos horas antes de la experimentación. Esto se realizó de acuerdo a un protocolo aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina, donde cada animal recibió solamente una dosis de las drogas. Los animales fueron sacrificados inmediatamente después del experimento mediante dislocación cervical

Test de la cola o Tail flick

El método algiesiométrico que se utilizó corresponde a uno de dolor agudo térmico y es el del tail-flick, que utiliza el aparato diseñado y fabricado por Ugo Basile (Italia) para medir la latencia de las respuestas. 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 del calor se activa un cronómetro digital sensible al movimiento, que permite determinar el tiempo que demora el ratón en retirar la cola de la zona (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.

En primer lugar, se determinaron los valores de las latencias controles, para lo cual los animales se introdujeron 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 administraron los fármacos, y se esperó 30 minutos antes de realizar la algiesimetría, ya que se usó la vía intraperitoneal (ip), antes de obtener la latencia experimental. Los resultados se expresaron como Δ latencia \pm el error estándar del promedio o como % del máximo posible efecto (MPE), 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 de la piel.

Fármacos utilizados

Los fármacos utilizados, paracetamol y nimesulida, se administraron ip en un volumen de 10 ml/kg, en solución salina. La administración de los

fármacos fue realizada 30 minutos antes del test algesiométrico. Durante el proceso de evaluación, la observación del comportamiento de los animales fue realizada en forma continua por el mismo observador.

Análisis Isobolográfico

Para la evaluación de las interacciones entre paracetamol y nimesulida, se usó el método isobolográfico (27). El isoblograma es un método gráfico que se construye ubicando en ambos ejes coordenados los DE25 de cada droga, en este caso, del paracetamol y la nimesulida, y al unir ambos puntos obtenemos la línea de aditividad, que ayudará a establecer el tipo de interacción de ambas drogas en estudio. Para la obtención de las DE25 de cada droga se construyeron curvas dosis-respuestas de los fármacos administrados por vía ip con un mínimo de 6 animales por cada una de al menos 4 dosis. Las dosis que produce un 25% del efecto máximo (DE25) se calculó mediante análisis de regresión lineal por cuadrado mínimos de la curva dosis- respuesta. Las interacciones entre las diferentes drogas, se efectuó coadministrando ip 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de las DE25 de paracetamol y nimesulida. La coadministración se efectuó en animales antes y después del pretratamiento de ellos con 1 mg/kg ip de naltrexona, la cual es antagonista opioide μ selectivo, más potente y de mayor duración que naloxona. Para cada mezcla de drogas se determinó la dosis que produce un 25% del efecto máximo (DE25), mediante análisis de regresión lineal, de las

curvas log dosis-respuesta. Esta dosis se comparó estadísticamente con la dosis que representa teóricamente la simple adición de efectos, que se obtiene según la siguiente fórmula:

$$\text{DE25 aditividad teórica} = \text{DE25 droga 1} / (P1 + R \times P2)$$

donde R, es la relación de potencia entre las drogas 1 y 2 administradas por si solas; P1, es la proporción de la droga 1 en la mezcla; y P2, es la proporción de la droga 2 en la mezcla.

De la curva dosis-respuesta de la combinación, se obtiene la DE25 experimental que se ubica sobre un sistema de coordenadas cartesianas que contienen la línea que conecta la DE25 de la droga 1 en la abscisa, con la DE25 de la droga 2 en la ordenada (línea de aditividad simple). La región del gráfico donde se ubica el valor experimental, en relación, al valor teórico determina el tipo de interacción. Si el valor se ubica bajo la línea de aditividad y es estadísticamente diferente del valor teórico, la interacción es de tipo sinérgica (efecto mayor que la suma de los efectos individuales de las drogas); si se ubica próximo a la línea de aditividad y no estadísticamente diferente del valor teórico, la interacción es de simple aditividad (efecto igual a la suma de cada una de las drogas). Por otro lado, si el

valor experimental se ubica sobre la línea de aditividad y es estadísticamente diferente del teórico, la interacción es de naturaleza subaditiva o antagónica. Al mismo tiempo, el programa, calcula el índice de interacción (I.I.) entre drogas, que se obtiene de la siguiente fórmula:

$$I.I. = DE_{25} \text{ experimental} / DE_{25} \text{ teórica}$$

Este índice cuando es menor que 1 corresponde a una interacción sinérgica; que al resultar igual a 1 es la interacción aditiva y que al ser mayor que 1, es antagónica (27).

Análisis Estadístico.

El análisis estadístico de los datos obtenidos, tanto de las curvas dosis-respuestas como de los isobogramas, se realizó con un programa computacional del laboratorio y la significación estadística fue determinada por análisis de varianza y pruebas t de Student. La significación fue considerada a un nivel de 5%.

RESULTADOS

Este trabajo de investigación no considera un grupo control experimental aislado ya que cada animal es su propio control.

1) **Grupo tratado con paracetamol o con nimesulida**

Paracetamol: La administración de paracetamol ip; en el ensayo algesiométrico del tail flick, produce una actividad antinociceptiva dosis-dependiente, cuya curva se muestra en la figura 1. La DE25 del paracetamol resultó ser de 99.8 ± 8.7 mg/ kg

Nimesulida: La administración de nimesulida induce una respuesta antinociceptiva dosis dependiente, en el mismo test (figura 2). Al deducir la DE25 de este AINEs resultó ser de 7.9 ± 1.1 mg/ kg.

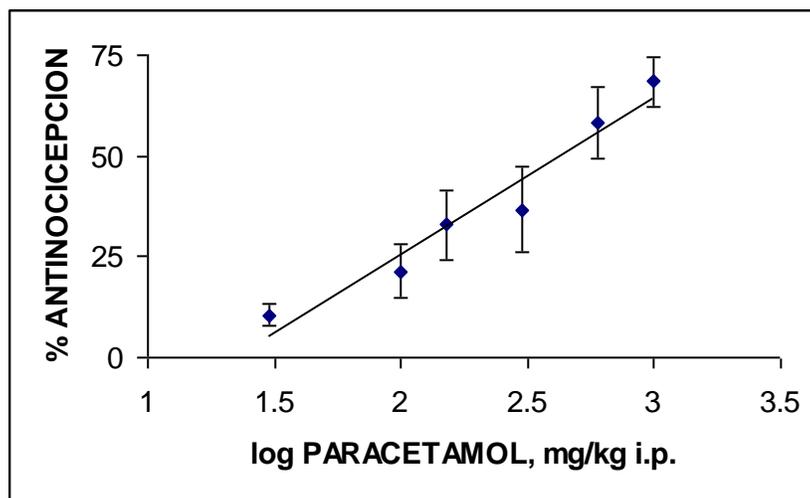


Figura 1. Curva dosis respuesta de paracetamol en el ensayo de la cola. Cada punto es el promedio \pm SE de al menos 6 animales.

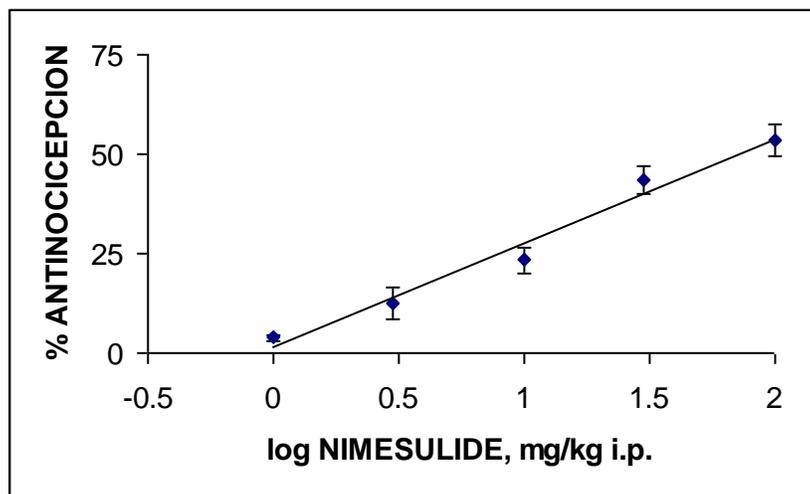


Figura 2. Curva dosis respuesta de nimesulida en el ensayo de la cola. Cada punto representa el promedio \pm SE de al menos 6 animales

2) Paralelismo de las curvas dosis - respuesta

El análisis estadístico de las curvas dosis- respuesta paracetamol y de nimesulida, demostró que ellas no son paralelas. Ver figura 3

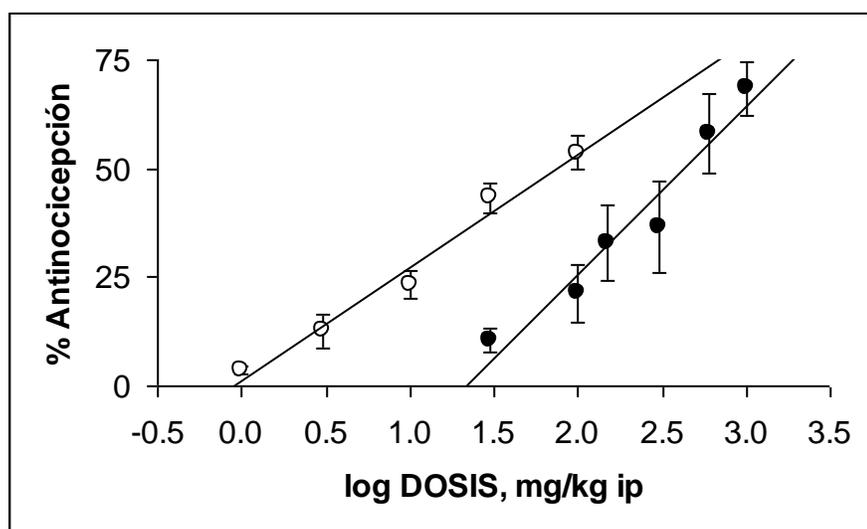


Figura 3. Comparación entre las curvas dosis - respuestas del paracetamol (●) y nimesulida (○) en la actividad antinociceptiva usando el ensayo de la cola

3) Análisis Isoblográfico

El estudio de la interacción analgésica entre paracetamol y nimesulida administradas por vía ip y en proporciones de sus DE25 fue realizado por análisis isoblográfico. Los resultados demostraron que dicha interacción

antinociceptiva es de naturaleza aditiva, lo que se encuentra graficado en la figura 4. Por otra parte, al calcular el índice de interacción entre paracetamol y nimesulida, resultó ser un índice de interacción 0.92, que confirma que la interacción es aditiva.

El pretratamiento de los animales con naltrexona (1mg/ kg, ip) modificó la naturaleza de dicha interacción, ya que la ubicación del punto que representa la DE₂₅ de la mezcla paracetamol/ nimesulida es significativamente diferente del que se obtiene sin la previa administración del antagonista opioide, ubicándose bajo la línea de aditividad, siendo de naturaleza supraaditiva. Además el índice de interacción fue de 0.65 que es significativamente diferente al obtenido previamente($P < 0.05$). Estos resultados se observan en la figura 4.

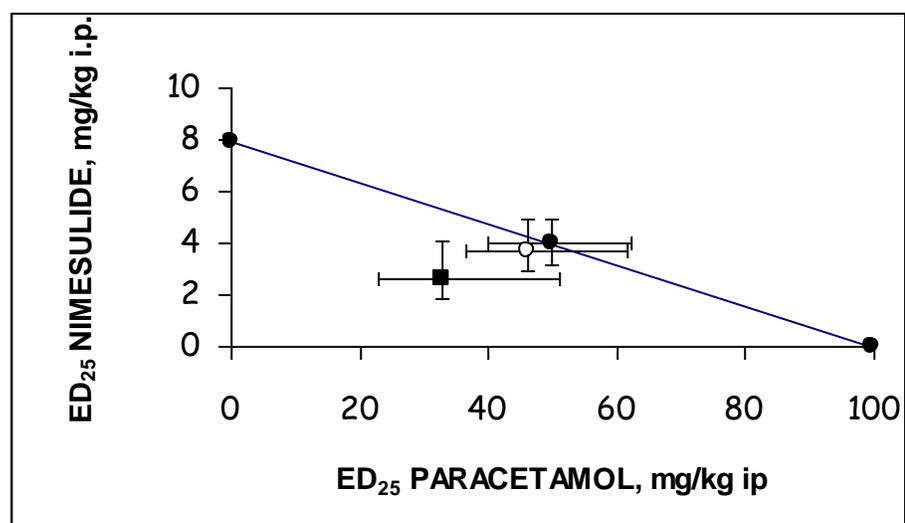


Figura 4. Isoblograma de la interacción entre paracetamol y nimesulida, El (●) representa el punto de aditividad teórica; el (○) corresponde al punto experimental y el (■) representa el punto obtenido después del pretratamiento de los animales con naltrexona (1mg/Kg.)

DISCUSION

El presente trabajo demuestra que la administración de paracetamol y nimesulida, administrados por vía intraperitoneal, producen antinocicepción dosis-dependiente en el test del movimiento de la cola. La actividad analgésica de la nimesulida resultó ser mayor que la del paracetamol, lo que podría explicarse por la distinta selectividad inhibitoria de COX-1, COX-2 y COX-3 que poseen los analgésicos usados en el presente trabajo (2,12).

La falta de paralelismo de las curvas dosis-respuestas de paracetamol y nimesulida puede también explicarse por los diferentes mecanismos de acción que se han atribuido a estos analgésicos. Así se ha sugerido recientemente que la acción analgésica del paracetamol resulta de la inhibición de la enzima COX-3 a nivel central, ya que se sabe que es muy débil inhibidor las ciclooxigenasas en los tejidos periféricos, que es la razón fundamental por la cual carece de actividad antiinflamatoria (12). Por otro lado, la nimesulida es un analgésico antiinflamatorio no esterooidal que posee una potente actividad inhibitoria preferencial sobre COX-2, enzima que aún cuando es constitutiva en ciertos tejidos, como el renal y el

sistema nervioso central, ante la existencia de un proceso inflamatorio su expresión aumenta más de veinte veces, por lo que se le ha catalogado de inducible (1).

Estudios anteriores demostraron la existencia de interacción al administrar AINEs en forma conjunta (5,8), y al administrar opioides más AINEs (9) en animales de experimentación. Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que existe una interacción farmacológica entre paracetamol y nimesulida, y ésta es de tipo aditiva, donde la acción analgésica corresponde a la simple suma de los efectos que producen cada una de ellas por separado. Para explicar los resultados obtenidos en esta investigación, es necesario, considerar que el paracetamol tiene una acción a nivel periférico y central para producir analgesia, tal como los AINEs convencionales (2, 3). Dentro de las acciones antinociceptivas periféricas se ha demostrado que el paracetamol bloquea la generación de impulsos nerviosos en los quimiorreceptores sensibles a la bradiquinina (28). Por otra parte, la acción espinal y supraespinal del paracetamol se ha demostrado y se ha visto que existe un efecto sinérgico entre ambos sitios (26). Además, la acción analgésica central de los AINES en general, entre ellos la nimesulida, se ha comprobado, radica a nivel del asta dorsal de la medula espinal (3,4). Estos antecedentes, sugieren que es probable que la administración intraperitoneal de la mezcla de paracetamol y

nimesulida resulte sólo en una interacción aditiva, no comprometiéndose en forma significativa los mecanismos centrales de analgesia, sino solamente los periféricos. Por otra parte, el efecto de naltrexona, sobre la mezcla, aunque se opone a otros estudios (29,30), puede explicarse por la actividad antinociceptiva de la naltrexona que ha sido descrita luego de su administración, intratecal o intraperitoneal, en varios ensayos algesiométricos y que podría deberse a la modulación ejercida por el bloqueo de los receptores opioides localizados espinal o supraespinalmente, especialmente aquellos localizados en el terminal neural del sistema inhibitorio descendente serotoninérgico (31). Este mecanismo podría explicar el cambio de la interacción analgésica entre paracetamol con nimesulida de aditiva a supraaditiva, por efecto del pretratamiento con naltrexona.

CONCLUSION

La administración conjunta de paracetamol con nimesulida produce efectos antinociceptivos dosis dependientes en el ensayo del movimiento de la cola. La coadministración de ambos analgésicos, en este modelo de dolor térmico agudo, produce una interacción aditiva, que por el pretraamiento con naltrexona, se transforma en supraaditiva o sinérgica. Este cambio, representa una modulación opioide importante y representaría una alternativa en la analgesia multimodal.

SUGERENCIAS

Se sugiere, para estudios posteriores, analizar por isoblografía la actividad analgésica de combinaciones de fármacos que producen esta última, en diferentes ensayos algesiométricos y por distintas vías de administración tanto central como sistémica, para evaluar los tipos de interacciones que ellos puedan originar. Al mismo tiempo se sugiere, estudiar la del sistema opioide por el pretratamiento con antagonistas selectivos de los diversos subtipos de receptores opioides.

RESUMEN

El dolor y sintomatología de cuadros inflamatorios crónicos o agudos, es de gran importancia para su estudio y tratamiento. Existen una variedad de fármacos utilizados para este último fin. Dentro de ellos están los AINEs, que inhiben la producción de prostaglandinas por el bloqueo de las enzimas que las sintetizan: ciclooxigenasas (COXs). Con el afán de encontrar mejores soluciones terapéuticas, se ha explorado interacciones entre AINEs, que sean de tipo sinérgico, con el objetivo de una terapia con menores reacciones adversas, menores dosis y mejor tolerancia por parte del paciente. En este trabajo realizado en ratones, la administración de paracetamol y nimesulida produce actividad analgésica en el ensayo de la cola. La coadministración de ellos produce interacción aditiva que se transforma en supraaditiva, por efecto del pretratamiento con naltrexona. Este hallazgo indica una modulación opioide de la actividad antinociceptiva de paracetamol y/o nimesulida, que podría tener proyecciones farmacológicas, en el tratamiento polimodal del dolor. Estudios posteriores con distintas vías de administración y el estudio de interacción del sistema opioide es sugerido.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Vane JR, et al. "Ciclooxigenase 1 and 2". *Ann Rev Pharmacol Toxicol*; 38:97-120, 1998.
- (2) McCormick K. "Non-steroidal anti-inflammatory drug and spinal nociceptive processing." *Pain*; 59: 9-43, 1994.
- (3) McCormick K. "The spinal actions of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the dissociation between their anti-inflammatory and analgesic effects". *Drugs*; 47 Suppl 5: 245; discussion 46-7, 1994.
- (4) Cherng CH, Wong SC, et al. "Spinal actions of nonsteroidal anti-inflammatory drugs". *Acta Anesthesiology Sin.* 2:81-88, Jun 1996.
- (5) Tallarida RJ, Cowan A, Raffa RB. "Antinociceptive synergy, additivity and subadditivity with combinations of oral glucosamine plus nonopioid analgesic in mice". *J. Pharmacol. Exp Ther*, 307(2):699- 704, Nov 2003.
- (6) Tallarida RJ. "The interaction index: a measure of drug synergism". *Pain*; 98 (1-2): 163-168, Jul 2002
- (7) Tallarida RJ. "Drug Synergism: Its detection and applications". *J. Pharmacol .Exp Ther*; 298(3): 865-872, Sep 2001.
- (8) Musnsterhjelm E. et al. "Characterization of plateled function by paracetamol and its interaction with diclofenac in vitro". *Acta Anaesthesiol Scand*; 49(6):840-846, Jul 2005.

- (9) Lopez- Muñoz FJ, et al. "Analysis of the analgesic interactions between ketorolac and tramadol during arthritic nociception in rats". *Eur. J, Pharmacol*, 44: 1-5, 1993.
- (10) Pinardi G, Prieto JC, Miranda HF. "Analgesic synergism between intrathecal morphine and cyclooxygenase - 2 inhibitors in mice". *Pharmacol Biochem Behav*; 82 (1): 120-124, Sep 2005.
- (11) Breivik et al. "Combining diclofenac with acetaminophen or acetaminophen - codeine after oral surgery. A randomized, double blind single dose study. *Clin. Pharmacol. Ther.* 66(6): 25-35, Dec 1999.
- (12) N.V Chandrasekharan, Dai H. et al. "COX-3, a cyclooxygenase - 1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/ antipyretic drugs: cloning, structure and expression". *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 99 (21):13926-13931. Oct 2002.
- (13) Bonica JJ. *The Management of pain. "Definitions and taxonomy of pain".* 2nd Edition. Lea and Febiger. Philadelphia 1990: 18-27.
- (14) Jones DA, et al. "Molecular cloning of human prostaglandin endoperoxide synthase type II and demonstration of expression in response to cytokines". *J Biol Chem*; 268:9049-9054, 1993.
- (15) Vane JR, Mitchell JA, et al. "Inducible isoforms of cyclooxygenase and

nitric oxide synthase in inflammation". Proc Natl Acad Sci USA 91:2046-2050, 1994.

(16) Seibert K, et al. "Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain" Proc Natl Acad Sci USA; 91:12013-12017, 1994.

(17) Kargman S, Charleson S, et al. "Characterization of prostaglandin G/Hsynthase 1 and 2 in rat, dog, monkey, and human gastrointestinal tracts" .Gastroenterology;111:445-454, 1996.

(18) Fu S, Ramanujam KS, et al. "Increased expression and cellular localization of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase 2 in Helicobacter pylori gastritis". Gastroenterology ;116:1319-1329, 1999.

(19) Roberts, L. J., II & Morrow, J. D. in The Pharmacological Basis of Therapeutics, eds. Hardman, J. G., Limbird, L. E. & Gilman, A. G. (McGraw–Hill, New York), pp. 687–731, 2001.

(20) Mitchell, J. A., Akarasereenont, et al. "Selectivity of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs as Inhibitors of Constitutive and Inducible Cyclooxygenase" Proc. Natl. Acad. Sci. 90:11693–11697, 1993.

(21) Flower, R. J. & Vane, J. R. "Inhibition of prostaglandin synthetase in brain explains the anti-pyretic activity of paracetamol(4-acetaminophenol)."Nature;240(5381):410-411.Dec1972.

- (22) Boutaud, O., Aronoff, D. M. "Determinants of the cellular specificity of acetaminophen as an inhibitor of prostaglandin H₂ synthases" *Proc. Natl. Acad. Sci*; 99: 7130–7135, 2002.
- (23) Sehic, E., Székely, M. et al. "Hypothalamic prostaglandin E₂ during lipopolysaccharide-induced fever in guinea pigs". *Brain Res. Bull*; 39, 391–399, 1996.
- (24) Kis, B., Snipes, J. A, et al. "Putative cyclooxygenase-3 expression in rat brain cells". *J. Cereb. Blood Flow Metab*; 23 (11):1287-1292, Nov 2003.
- (25) Timothy D. Warner. "Cyclooxygenase-3 (COX-3): Filling in the gaps toward a COX continuum?". *PNAS*; 99 (21):13371-13373, Oct 2002.
- (26) Raffa RB, Stone DJ Jr., Tallarida RJ. "Discovery of "Self-Synergistic" Spinal/Supraspinal Antinociception Produced by Acetaminophen (Paracetamol)". *Pharmacol Exp Ther* 295: 291-294, Oct 2002.
- (27) Miranda HF, Prieto JC, Pinardi G., Spinal synergy between nonselective cyclooxygenase inhibitors and morphine antinociception in mice, *Brain Res*, 1049: 165-170, 2005.
- (28) Lim R.K. Miller D.G et al. "Pain and analgesia evaluated by the intraperitoneal bradykinin – evokes pain method in man. *Clin. Pharmacol. Ther*,; 8:521-542, 1967.
- (29) Miranda HF, Pinardi G." Synergy between the antinociceptive effects of

morphine and NSAIDs.” *Can J Physiol Pharmacol.*; 82 (5): 331-338, May 2004.

(30) Raffa RB, Walker EA, et al. Opioid receptors and acetaminophen (paracetamol). *Eur. J Pharmacol*; 503(1-3):209-210, Oct 2004.

(31) Seong-Soo Choi, Ki-Jung Han et al. “Possible antinociceptive mechanisms of opioid receptor antagonists in the mouse formalin test”. *Pharmacol Biochem and Behav*; 75 (2: 447-457, May 200

