



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CHILE

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE POSTGRADO**



**INTERACCIÓN ANTINOCICEPTIVA ENTRE TRAMADOL Y CARPROFENO EN 3 MODELOS
ALGESIOMÉTRICOS DE DOLOR AGUDO EXPERIMENTAL EN RATONES (*Mus musculus*)**

NATALIA VERÓNICA CIUDAD GÁTICA

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE

MAGÍSTER EN FARMACOLOGÍA

Director de Tesis: Dr. Hugo F. Miranda Guzmán



| | |
|-------------------------------------|----|
| I. ÍNDICE..... | 2 |
| II. RESUMEN..... | 3 |
| III. ABSTRACT..... | 5 |
| IV. INTRODUCCIÓN..... | 7 |
| V. HIPÓTESIS..... | 12 |
| VI. OBJETIVOS..... | 12 |
| VI. METODOLOGÍA..... | 13 |
| VII. RESULTADOS..... | 18 |
| VIII. DISCUSIÓN..... | 26 |
| IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 28 |
| X. AGRADECIMIENTOS..... | 32 |



II. RESUMEN

Introducción:

Tramadol y carprofeno son fármacos ampliamente usados en medicina veterinaria para el tratamiento del dolor agudo y crónico por su eficacia, potencia y seguridad. Debido a la escasa evidencia científica acerca del tipo de interacción farmacológica que presentan en su co-administración, este estudio intento evaluar la naturaleza de la interacción usando el análisis isoblográfico de la administración conjunta de tramadol y carprofeno en 3 modelos de dolor agudo experimental en ratones (test de las contorsiones, Test de la formalina del miembro posterior y test de la plancha caliente).

Material y métodos:

Se seleccionaron ratones machos cepa CF/1, fueron aleatorizados en 3 grupos, con un n=24 para cada grupo. A cada grupo se le realizó uno de los test algesiométricos: Grupo 1: Test de las contorsiones abdominales, Grupo 2: Test de la formalina y Grupo 3: Test de la plancha caliente. A cada grupo se le administró 1:1 de sus ED₅₀ de tramadol y carprofeno. El comportamiento del animal se consideró como signo de dolor siendo específico para cada test. La antinocicepción se expresó como promedio \pm su error estándar (EEM) del Emax o sus respectivos intervalos de confianza del 95%, los valores se analizaron por medio del programa Pharm Tools Pro, version 1.27, The Mc Cary Group, USA. Fue un estudio controlado y doble ciego para la administración de fármacos y el análisis estadístico.

Resultados:

En los 3 análisis isoblográficos se demostró que la co-administración de las DE₅₀ de tramadol y carprofeno produce una interacción farmacológica antinociceptiva de tipo sinérgica la que es confirmada por sus respectivos índices de interacción.



Discusión:

Estos resultados demostrarían que la co-administración de carprofeno y tramadol producen un efecto analgésico sinérgico, que es concordante con la teoría de la analgesia multimodal, al poseer cada fármaco distintos mecanismos de acción ambos fármacos se potencian. Además, la literatura describe ampliamente este tipo de interacción, al combinar un AINE (principalmente selectivo COX2) y un opioide, actuando estos en los distintos blancos de la fisiología del dolor.

Conclusiones:

La co-administración de tramadol y carprofeno produce una interacción farmacológica de naturaleza sinérgica en los 3 ensayos algesiométricos de dolor experimental en ratones (*Mus musculus*).



III. ABSTRAC

Introduction:

Tramadol and carprofen are drugs used in veterinary medicine for pain treatment due to its efficacy, power and safety. Due to the scarce evidence about the pharmacological interaction that they present in their co-administration, this study was undertaken to evaluate the nature of the interaction using the isobolographic analysis of the administration of tramadol with carprofen using 3 models of acute experimental pain in mice.

Material and methods:

Male CF / 1 mice were selected and randomly divided in the following groups of 24 mice each. Group 1: test of abdominal contortions; Group 2: test of formalin and Group 3: test of the hot plate. The specific behavior of the animal in each test was considered a sign of pain. Isobolographic analysis was used to characterize interaction between tramadol and carprofen. The isobologram is a graphical representation of isoeffective doses of T and C combined in fixed ratios (1:1) of the corresponding ED₅₀, which was determined in isolation for each drug. The antinociception was expressed as mean \pm standard error (EEM) of the E_{max} or their respective 95% confidence intervals, the values were analyzed by means of the program Pharm Tools Pro, version 1.27, The Mc Cary Group, USA. This was a double-blind, controlled study for drug administration and statistical analysis.

Results:

In all algometer tests, the isobolographic analyzes demonstrated that the coadministration of tramadol with carprofeno resulted in an interaction antinociceptive synergistic and the interaction index provides a measure of the degree of synergism.



Discussion:

The results obtained in this study demonstrated that carprofen or tramadol induced antinociception in the 3 models algesiometer used which is concordant with previous assay in rats and dogs. Furthermore, the co-administration of carprofen and produces a pharmacological interaction antinociceptive synergistical, which is consistent with the multimodal analgesia theory, since each drug has different mechanisms of action. This finding is concordant with the literature which describes this type of interaction, combining an NSAID (mainly selective COX₂) and an opioid, since they are acting on the different targets of pain physiology.

Conclusion:

Coadministration of tramadol y carprofen produced an interaction antinociceptive of type synergistic in 3 algesiometric experimental pain tests in mice.



IV. INTRODUCCIÓN

El manejo del dolor en medicina veterinaria es cada vez más importante y se considera parte substancial del tratamiento de cualquier patología que curse con injuria tisular y la subsecuente aparición de dolor. Las razones para tratarlo son múltiples, ya que favorece la recuperación, acelera la reparación de los tejidos y otorga bienestar y buena calidad de vida al paciente (1, 2).

Las estrategias de control y manejo del dolor son similares a las usadas en la medicina humana utilizando los mismos agentes analgésicos, como son los opioides, AINEs, co-analgésicos, anestesia loco-regional y analgesia multimodal. Todos estos métodos se pueden aplicar a los animales, ya que ellos poseen mecanismos neuronales para el control del dolor similares a los seres humanos (3).

Para el manejo del dolor leve en medicina veterinaria se utilizan AINEs como el ketoprofeno, meloxicam, carprofeno (entre otros), para el dolor leve a moderado se adicionan analgésicos opioides como la morfina, fentanilo, metadona y tramadol (4) y en casos de dolor crónico o neuropático se utilizan además de los fármacos anteriores co-analgésicos como la ketamina, pregabalina, gabapentina, lamotrigina, amitriptilina y lidocaína, entre otros (5,6).

En el presente estudio se evaluó la respuesta nociceptiva existente entre la asociación de tramadol y carprofeno utilizando distintos métodos algesiométricos que permitirán determinar si existe sinergismo antinociceptivo entre estos fármacos, para lo cual, los animales serán evaluados conductualmente.



4.1. Dolor

La IASP (Asociación Internacional para el Estudio del dolor) define al dolor como una “Experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a un daño tisular existente o potencial o descrito en términos de ese daño” (7). El dolor es principalmente un mecanismo de protección al organismo: este aparece siempre que ha sido lesionado cualquier tejido y hace que el individuo reaccione eliminando o alejando el estímulo doloroso (8).

De forma muy general, se puede decir que para percibir un dolor se necesita:

- a) Una estructura periférica que actúe como receptor
- b) Una sinapsis en la médula espinal
- c) Vías de conducción desde la médula espinal hasta los centros superiores como bulbo, di encéfalo y corteza.
- d) Vías descendentes desde los centros superiores como el tálamo y núcleos reticulares, a la médula (9). El componente fisiológico del dolor se denomina nocicepción, que corresponde al proceso de transducción, transmisión y modulación de la señales nerviosas que se generan en respuesta a un estímulo nocivo y que son enviadas al sistema nervioso central (SNC) resultando en la percepción conciente del dolor (10). Una forma simple de esquematizar este sistema es graficarlo como una cadena de tres neuronas. Una de primer orden que se ubica en la periferia y que proyecta su axón hacia la médula espinal. Una neurona de segundo orden que asciende por la médula y una de tercer orden que se proyecta hasta la corteza cerebral (figura 1) (11).



4.2. Tratamiento farmacológico del dolor

4.2.1. Analgésicos antiinflamatorios no esteroidales (AINEs)

Los AINEs han sido utilizados ampliamente para el tratamiento del dolor agudo y crónico. Comprenden un gran número de medicamentos con estructura química diferente, pero que tienen en común su actividad terapéutica, así como efectos adversos a distintos niveles. Pueden presentar uno o más de los siguientes efectos principales: analgésicos, antiinflamatorios, antipiréticos, antiagregantes plaquetarios. Cada fármaco presenta un diferente grado de eficacia para cada una de las diferentes acciones terapéuticas. Su mecanismo de acción principal es la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, al actuar sobre las enzimas ciclooxigenasas (COXs) (12).

a) Carprofeno

Carprofeno, es un potente antiinflamatorio no esteroide, en el que se ha estudiado su capacidad para proveer analgesia preventiva en perros, en los cuales se ha observado que es tan eficaz como algunos opioides, con la ventaja de que su efecto es más duradero y sin signos de sedación (13,14,15). Es un inhibidor reversible de la ciclooxigenasa (COX) con acción más selectiva sobre la ciclooxigenasa 2 (COX2) la cual interviene en el alivio del dolor y la inflamación. Además a diferencia de otros AINEs, no incrementa el tiempo de sangrado (16) ni afecta de manera significativa el funcionamiento renal durante o después de la anestesia (17).

Es un miembro de un grupo de los ácidos 2-arilpropiónicos, al igual que el naproxeno, ibuprofeno, ketoprofeno, sin embargo, carprofeno posee un átomo de carbono asimétrico y se presenta con 2 enantiómeros: R(-) y S(+). El producto comercial se vende como una mezcla (50:50) de ambos enantiómeros, los cuales no sufren bioinversión (18).



A la fecha se considera que carprofeno es el AINE más seguro para utilizar en perros. Los efectos adversos más frecuentes fueron a nivel gastrointestinal, renal, urinario, hematopoyético, nervioso y hepático (19).

4.2.2. Analgésicos Opioides

Los opioides han sido la piedra angular del tratamiento del dolor por miles de años. Ejercen su efecto al imitar a sustancias, llamadas péptidos opioides endógenos. Los opioides endógenos actúan en varios circuitos moduladores del dolor por medio de mecanismos inhibitorios de tipo presináptico y postsináptico, como en las fibras descendentes originadas en la sustancia gris periacueductal, que envían conexiones excitatorias a los núcleos del rafe relacionados con la supresión del dolor.

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, denominados receptores opioides, serían los responsables de todos los efectos producidos por los fármacos opioides, están ubicados en determinados sitios del sistema nervioso central y también en órganos periféricos (20).

Por otra parte se han utilizado múltiples criterios para clasificar los receptores opioides, siendo avalada la diversidad de receptores por la síntesis de varias sustancias con propiedades antagonistas selectivas. Se ha postulado la existencia de un hipotético modelo único de receptor, que tiene varias configuraciones, lo cual explicaría los múltiples efectos producidos por un receptor opioide (21).



a) Tramadol

Tramadol es un analgésico central misceláneo de acción binaria, ya que posee un mecanismo analgésico opioide y otro no mediado por receptores opioides. Se utiliza en el manejo de dolores moderados a intensos. Su mecanismo de acción opioide proviene de su unión a receptores MOR y débilmente a receptores DOR y KOR. Por otra parte, inhibe la recaptación de serotonina y noradrenalina en el sistema nervioso central impidiendo la transmisión del dolor a través de la médula (21,22).

4.3. Interacciones Farmacológicas

El uso simultáneo de fármacos con igual efecto pero con distintos mecanismos de acción, puede convertirse en una herramienta eficaz para tratar la enfermedad. La interacción farmacológica entre este tipo de fármacos se puede considerar desde un punto de vista farmacocinético o farmacodinámico, por esto cuando dos de estas drogas se administran en forma conjunta, sus efectos pueden ser:

- **Aditivos:** corresponde a la suma de los efectos que produce cada una de ellas separadamente.
- **Subaditivo o antagónico:** corresponde a un efecto menor que la suma de la actividad de cada fármaco por separado.
- **Sinérgico o Supraaditivo:** El efecto es significativamente mayor que la suma de los fármacos por separado, siendo esta interacción la más esperada. De los efectos favorables resultantes del sinergismo de los fármacos se puede incluir: el aumento de la eficacia del efecto terapéutico, la disminución de las dosis (aumentando o manteniendo la misma eficacia para evitar la toxicidad) y reducción al mínimo del desarrollo de la fármaco-resistencia, entre otros (23).



V. HIPÓTESIS

La asociación de tramadol y carprofeno produce efectos analgésicos sinérgicos en dolor agudo experimental de ratones (*Mus musculus*).

VI. OBJETIVOS

i) OBJETIVO GENERAL

a) Evaluar el efecto analgésico inducido por la combinación de tramadol y carprofeno en 3 modelos algesiométricos en ratones (*Mus musculus*).

ii) OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Evaluar efecto antinociceptivo de tramadol en distintos ensayos algesiométricos.

b) Evaluar efecto antinociceptivo de carprofeno en distintos ensayos algesiométricos.

c) Evaluar efecto antinociceptivo de la combinación de tramadol con carprofeno en los distintos ensayos algesiométricos.

d) Determinar el tipo de interacción de la combinación tramadol y carprofeno



VIII. METODOLOGÍA

8.1. Animales

Los experimentos fueron realizados en ratones machos CF-1, provenientes del Bioterio Central de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, de peso entre 20 a 25 gramos, mantenidos en un ciclo de 12 horas de luz y 12 de oscuridad, con libre acceso al agua y la alimentación. Los experimentos fueron realizados de acuerdo a los protocolos sometidos a la Comisión de ética de la misma Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. Los animales fueron aclimatados al ambiente del laboratorio, al menos 2 horas antes de ser sometidos a cualquier protocolo y se usarán solamente una vez en cada protocolo y fueron eutanasiados bajo una sobredosis de anestesia inmediatamente después del test experimental. El número de animales, para cada uno de los protocolos experimentales será el mínimo compatible con consistentes y reproducibles efectos de los tratamientos planificados.

8.2. Ensayos algiesiométricos

a) Test de la plancha caliente (Hot plate). Este ensayo permite determinar la hiperalgesia térmica en un modelo de dolor, y será realizado de acuerdo a una modificación del método descrito por Eddy and Leimbach (24). Se usó el dispositivo el diseñado y fabricado por Ugo Basile (Italia) que consiste en una superficie metálica calentada a $50 \pm 1^\circ \text{C}$ en que los animales están en libertad de movimiento. Ellos fueron colocados en forma separada sobre la superficie caliente y el comportamiento del animal que se consideró como signo de dolor será el lamido de sus miembros anteriores o el salto fuera de la plancha caliente. La latencia para este comportamiento, expresada en segundos, y fue registrada digitalmente.

El tiempo máximo de permanencia en la plancha de los animales fue fijado en 30 segundos para evitar daños en su piel. Las mediciones fueron realizadas con 3 minutos de intervalo, y en un número de 3 para determinar la latencia basal y de 3 después de la administración de fármacos. La respuesta de cada animal en este ensayo fue convertida a porcentaje de máximo posible efecto (% MPE) de acuerdo a la fórmula descrita (25).

$\% \text{ MPE} = [(T1 - T2) / (T0 - T2)] \times 100$, donde:

T1 = latencia postdroga

T2 = latencia predroga

T0 = tiempo de corte (30 seg).

b) Test de la formalina. Se usó el método descrito previamente (26, 27). Para realizar el test se administran 20 μL de una solución de formalina al 5 %, la cual fue inyectada en la superficie dorsal de uno de los miembros posteriores, con una aguja 27 G unida a una jeringa Hamilton. Cada ratón fue inmediatamente devuelto a su cámara de observación de pexiglas. La intensidad del dolor fue evaluada por el tiempo, medido por observación visual y con un cronómetro digital, durante el cual el animal se lame la extremidad inyectada. El test muestra 2 fases: fase 1, correspondiente a los 5 minutos inmediatos post inyección de formalina y que representa un dolor tónico agudo dado por la sensibilización de los receptores periféricos. La fase 2, fue registrada por 10 minutos a partir de los 20 min. posteriores a la inyección de la formalina y que representa un dolor inflamatorio debido a la activación de neuronas centrales sensibilizadas por estímulos periféricos y al producto de la síntesis de neuromodulares inflamatorios. El tiempo de lamido de cada animal será convertido a % MPE de acuerdo a:



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

T1 = tiempo lamido post-droga

T2 = tiempo lamido control

c) Test de Contorsiones (writhing test)

La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó por el método algesiométrico agudo del writhing test o test de contorsiones abdominales, en el que se usó un estímulo químico irritativo. El estímulo nociceptivo es la inyección i.p. de 10 ml/kg de una solución de ácido acético 0,6%. El dolor producido se mide contando el número de contorsiones que presenta el animal después de 5 minutos de la inyección y durante 5 minutos. Se entiende por contorsión la contracción de la musculatura abdominal junto con la elongación de las extremidades posteriores (28).

8.3. Análisis Isoblográfico

Para la evaluación de las interacciones entre tramadol y carprofeno, se usó el análisis isoblográfico de Tallarida et al. (23), modificado por el laboratorio (29). El isoblograma es un método gráfico que se construye ubicando en ambos ejes de coordenadas las DE50 de cada droga, en este caso tramadol y carprofeno, y al unir ambos puntos obtenemos la línea de aditividad, que ayudó a establecer el tipo de interacción de ambas drogas en estudio. Para la obtención de DE50 de cada droga se construirán 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 50% del efecto máximo (DE50) se calculó mediante regresión lineal por cuadrado mínimos de la curva dosis-respuesta.

La interacción entre las drogas se efectuaron coadministrando i.p 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de las DE₅₀ de tramadol y carprofeno aisladamente. Para cada mezcla de drogas se determinó la dosis que produce un 50% del efecto máximo (DE₅₀), mediante análisis de regresión lineal del logaritmo de la curva dosis-respuesta y fue comparada estadísticamente a la aditividad teórica de la DE₅₀ obtenida de la siguiente fórmula:

$$DE_{50} \text{ aditividad teórica} = DE_{50} \text{ droga} / (P1 + R \times P2)$$

Donde:

R= es la relación de potencia entre las dos drogas 1 y 2 administradas individualmente,

P1=es la proporción de la droga 1 en la mezcla.

P2=es la proporción de la droga 2 en la mezcla.

Obteniendo las DE₅₀ experimentales, se graficó en un sistema de coordenadas cartesianas (isoblograma), construido conectando la DE₅₀ de la droga 1, trazada en la abscisa, con la DE₅₀ de la droga 2 trazada en la ordenada, para obtener así la línea de aditividad. La región del gráfico donde se ubica el valor experimental en relación al valor teórico determina el tipo de interacción. Si el punto que representa el valor se ubica bajo la línea de aditividad y es estadísticamente diferente del valor teórico, la interacción es de tipo sinérgica o supraaditiva; cuando se ubica próximo a la línea de aditividad y no es estadísticamente diferente a la DE₅₀ calculada en forma teórica, la interacción tiene un efecto de simple aditividad. Por otro lado, si el valor experimental se ubica sobre la línea y es estadísticamente diferente del teórico, la interacción es de naturaleza antagónica o subaditiva. Al mismo tiempo, el programa computacional calcula el índice de interacción (I.I) entre las drogas, a partir de la siguiente fórmula:

$$I.I = DE_{50} \text{ experimental} / DE_{50} \text{ teórica}$$

Cuando el cociente es menor que 1, corresponde a una interacción sinérgica o supraaditiva; si el resultado es igual a 1 es aditiva y si es mayor que 1 es subaditiva o antagónica (29).

8.4. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos obtenidos en este trabajo se realizó con un programa computacional del laboratorio. Los resultados fueron presentados como promedio \pm error estándar del promedio o con DE50 con su 95 % de límite de confianza. Los cálculos se realizaron con el programa Pharm Tools Pro, versión 1.27, The Mc CaryGroupInc, FI, USA y el análisis estadístico de los resultados fue realizado de acuerdo a Tallarida et al 2000 (23) y las diferencias entre los valores experimentales y teóricos fueron calculados por el test de Student's para promedios independientes. Un valor de P inferior a 0.05 ($P < 0.05$) fue considerado estadísticamente significativo.



IX. RESULTADOS

- La administración i.p. de tramadol indujo antiniocicepción en los siguientes tests: contorsiones abdominales; aplicación de formalina en la extremidad posterior del animal y de la plancha caliente.
- La administración i.p. de carprofeno produjo antiniocicepción en los siguientes tests: el de las contorsiones abdominales; el test de formalina en el miembro posterior del animal y el test de la plancha caliente.
- La coadministración i.p. de tramadol con carprofeno indujo antiniocicepción en los siguientes tests: contorsiones abdominales; test de formalina en la extremidad posterior del animal y el test de la plancha caliente.
- El análisis isoblográfico de la combinación determinó que la naturaleza de la interacción era sinérgica en los tres tests algesiométricos analizados en el proyecto.



9.1. Test de las contorsiones (Writhing test)

La administración i.p. de tramadol y de carprofeno, indujeron curvas analgésicas dosis dependiente que no son paralelas, y con ED_{50} de 0.87 mg/kg para tramadol y de 0.04 mg/kg para carprofeno. Ver figura 1.

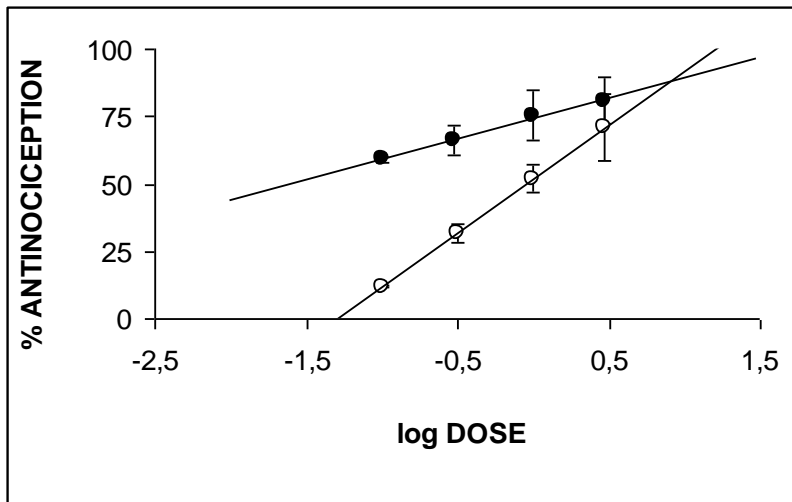


Figura 1. Paralelismo de las curvas para el test de las contorsiones.

| | | |
|---|--------|------------|
| ● | Line 1 | CARPROFENO |
| ○ | Line 2 | TRAMADOL |

Isoblograma del test de las contorsiones abdominales

El análisis isoblográfico de la combinación de tramadol con carprofeno, en relación 1:1 de sus respectivas DE_{50} , demostró que la mezcla era de naturaleza farmacológica sinérgica, tanto por la ubicación del punto que representa la ED_{50} de la combinación como del índice de interacción obtenido (0.17). Estos resultados se muestran en la figura 2.

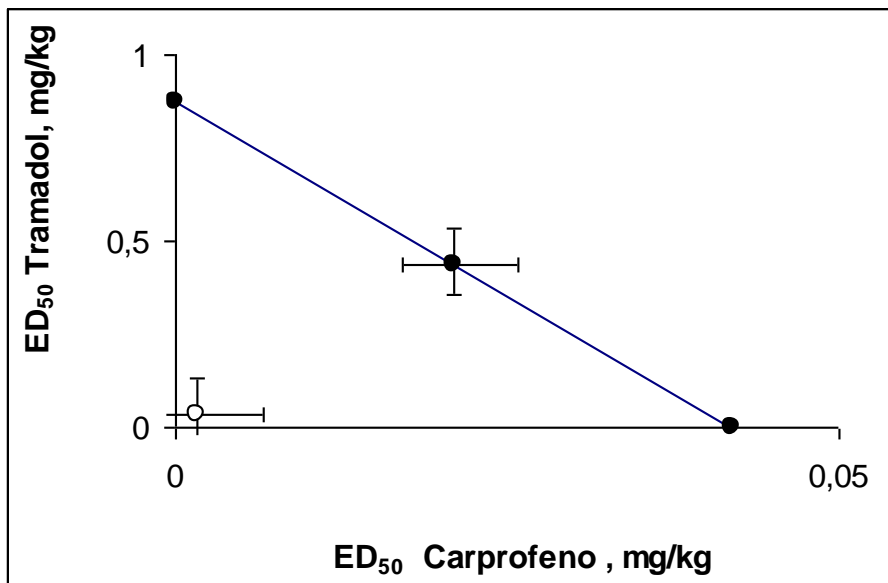


Figura 2: Isoblograma de la combinación tramadol con carprofeno en el ensayo de las contorsiones abdominales. El punto (●) representa le ED₅₀ teórica y el punto (○) es el punto experimental.

9.2. Test de la plancha caliente (Hot plate)

La administración i.p. de tramadol y de carprofeno, indujeron curvas analgésicas dosis dependiente que no son paralelas, y con ED₅₀ de 12.30 mg/kg para tramadol y de 65.63 mg/kg para carprofeno. Ver figura 3.

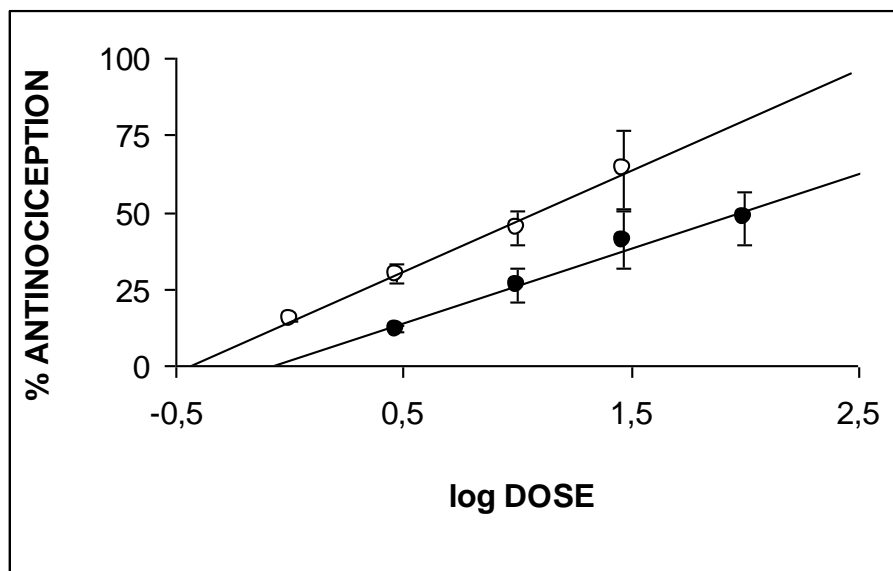


Figura 3. Paralelismo de las curvas para el test de la plancha caliente.

| | | | |
|---|--------|------------|--|
| ● | Line 1 | CARPROFENO | |
| ○ | Line 2 | TRAMADOL | |

Isoblograma del test de la plancha caliente

El análisis isoblográfico de la combinación de tramadol con carprofeno, en relación 1:1 de sus respectivas DE_{50} , demostró que la mezcla era de naturaleza farmacológica sinérgica, tanto por la ubicación del punto que representa la ED_{50} de la combinación como del índice de interacción obtenido (0.62). Estos resultados se muestran en la figura 4.

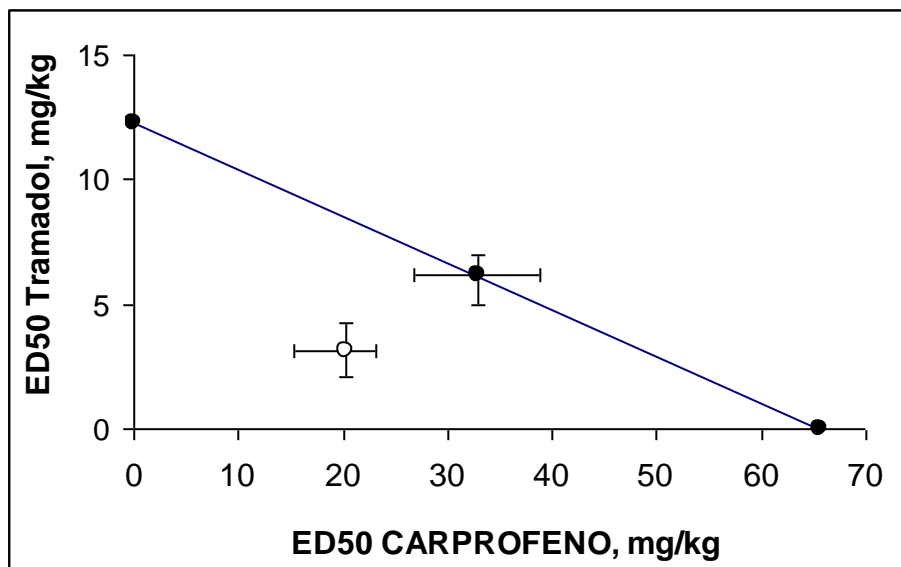


Figura 4: Isoblograma de la combinación tramadol con carprofeno en el ensayo de la plancha caliente. El punto (●) representa le ED₅₀ teórica y el punto (O) es el punto experimental.

9.3. Test de la formalina del miembro posterior

La administración i.p. de tramadol y de carprofeno, producen curvas analgésicas dosis dependiente que no son paralelas, tanto en la fase I como en la fase II. Las ED₅₀ obtenidas resultaron ser de 0.45 mg/kg para tramadol y de 65.63 mg/kg para carprofeno en la fase I y de 2.10 mg/kg para tramadol y de 48.10 mg/kg para carprofeno en la fase II. Ver figuras 5 y 6.

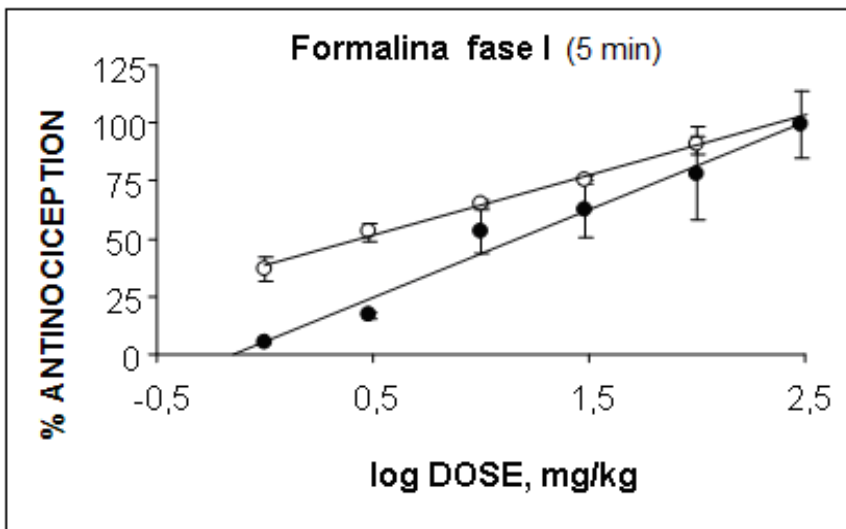


Figura 5: Paralelismo de las curvas fase I del test de la formalina en el miembro posterior.

| | | |
|----------|------------|--|
| ● Line 1 | CARPROFENO | |
| ○ Line 2 | TRAMADOL | |

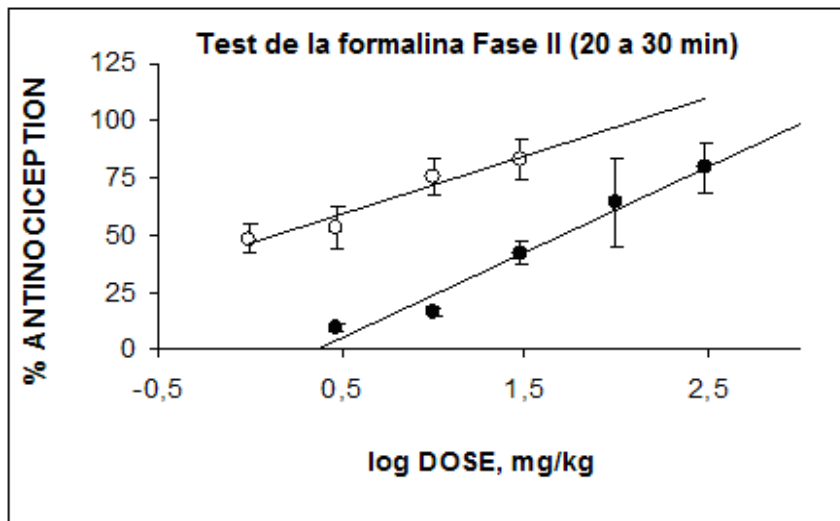


Figura 6. Paralelismo de las curvas Fase II para el test de la formalina del miembro posterior.

| | | |
|----------|------------|--|
| ● Line 1 | CARPROFENO | |
| ○ Line 2 | TRAMADOL | |

Isoblograma del test de la formalina del miembro posterior (Fase I)

El análisis isoblográfico de la combinación de tramadol con carprofeno, en relación 1:1 de sus respectivas DE_{50} , demostró que la mezcla era de naturaleza farmacológica sinérgica, tanto para la Fase I como para la Fase II. Además por la ubicación de los puntos que representan la ED_{50} de la combinación como de los índices de interacción obtenidos (0.84 (fase I) y 0.41 (fase II) respectivamente). Estos resultados se muestran en la figura 7 y 8.

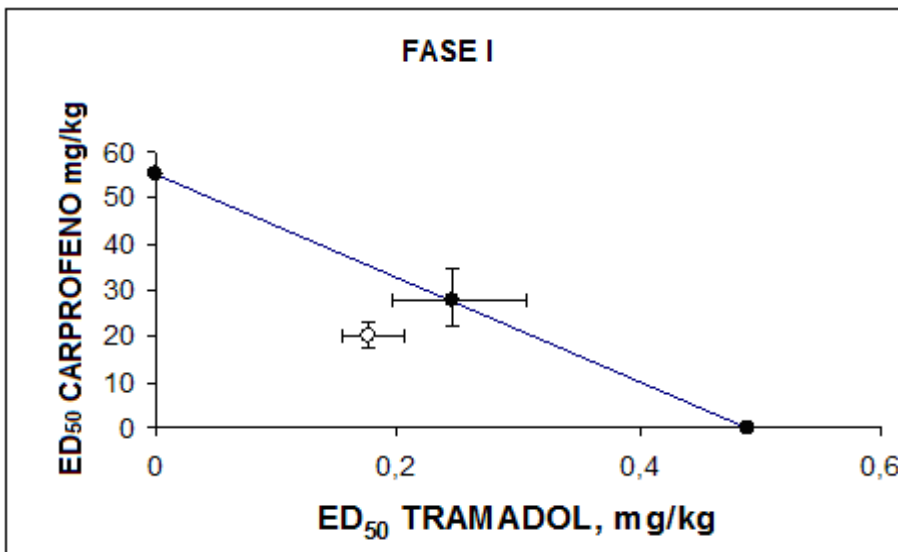


Figura 7: Isoblograma de la combinación tramadol con carprofeno en el ensayo de la formalina del miembro posterior. El punto (●) representa le ED_{50} teórica y el punto (O) es el punto experimental.

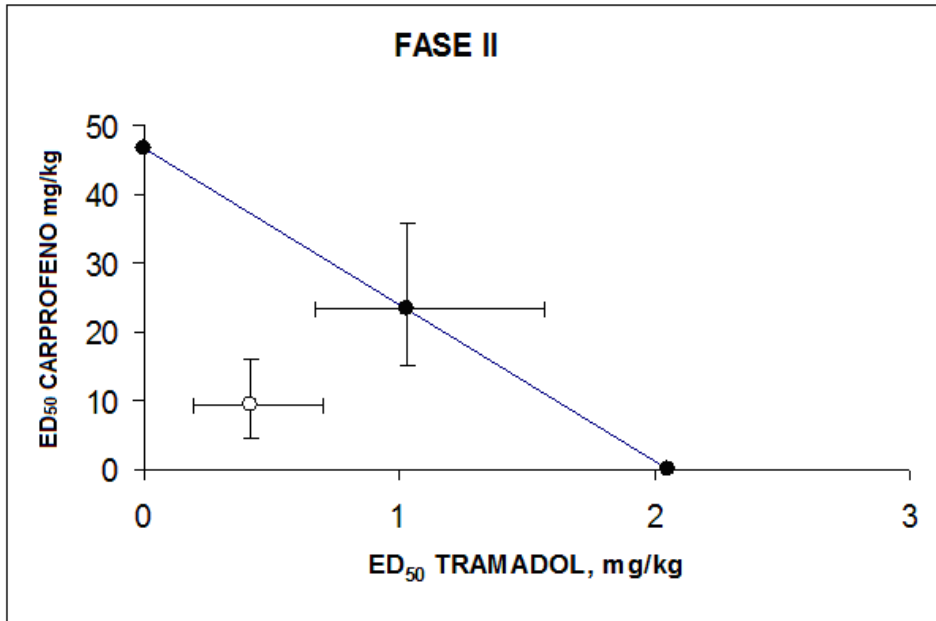


Figura 8: Isoblograma de la combinación tramadol con carprofeno en el ensayo de la formalina del miembro posterior. El punto (●) representa le ED₅₀ teórica y el punto (O) es el punto experimental.



X. DISCUSIÓN

Estos resultados demostrarían que la co-administración de carprofeno y tramadol producen un efecto analgésico sinérgico, que es concordante con la teoría de la analgesia multimodal, al poseer cada fármaco distintos mecanismos de acción (30).

Los hallazgos del presente estudio concuerdan con los obtenidos en ratas sometidas a laparotomía exploratoria, en que la combinación tramadol-carprofeno no alteraron las variables fisiológicas como, la actividad locomotora, ingesta de alimento y agua, peso corporal y niveles de corticoesterona fecal (31).

Delgado et al demostraron que una combinación de hidromorfona con carprofeno proporciona efecto analgésico más eficaz que hidromorfona con tramadol en perros sometidos a enucleación lo que sugiere que la co-administración de un opioide con un AINE selectivo COX₂ sería más potente que la co-administración con un opioide miscelaneo como tramadol (32).

Estudios en ratones (*Mus musculus*) demostraron que la combinación meloxicam asociado a tramadol tiene efecto sinérgico en el test de las contorsiones y formalina oro-facial, lo que sugiere que la asociación carprofeno (AINE selectivo COX₂ igual que meloxicam) tendría similar interacción farmacológica (33).

Estos resultados concuerdan con informes previos que demuestran que la administración sistémica de AINEs produce actividad antinociceptiva en diversos modelos algesiométricos utilizados en animales (34, 35).



Budsberg et al demostraron que 10 días de tratamiento con tramadol (5 mg/kg TID) no proporcionaron ningún beneficio analgésico clínico en perros con osteoartritis y enfermedad articular, a diferencia de los perros tratados con carprofeno (2,2 mg/kg BID), los cuales tuvieron una notable y significativa mejoría clínica (2018), lo que sugiere que carprofeno sería mucho más efectivo y potente que tramadol por sí solo en perros lo que se justifica por la farmacocinética del tramadol al poseer en menos concentración el metabolito M1, el cual es el encargado del efecto analgésico del fármaco por su unión a receptores MOR (36).

Teixeira et al en el 2013 demostraron que Tramadol solo o en combinación con meloxicam o metamizol proporcionó analgesia efectiva durante 24 horas en la mayoría de los perros después de la mastectomía unilateral con ovariectomía (37), lo que sugiere también que la asociación de un AINE con tramadol proporciona analgesia suficiente para procedimientos quirúrgicos invasivos.

En un estudio realizado por Zegre et al, los autores encontraron que carprofeno, tramadol y en su co-administración desde un enfoque de analgesia multimodal, fueron todos los regímenes de analgesia aceptables para un modelo de laparotomía exploratoria y no hubo diferencias estadísticamente significativas entre grupos a dosis de 12, 5 mg/kg de tramadol y 5 mg/kg de carprofeno en ratas (38).

En conclusión, la interacción sinérgica entre fármacos analgésicos, es la interacción farmacológica más esperada ya que:

- Aumenta la eficacia terapéutica
- Disminuye la dosis de cada fármaco
- Disminuyen las reacciones adversas a medicamentos
- Reduce el uso indiscriminado de analgésicos
- Minimiza la farmacoresistencia



XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Richard C, Flecknell P. Anaesthesia and post-operative analgesia following experimental surgery in laboratory rodents: are we making progress? *Altem lab anim*, 33 (2): 119-127.2005.
2. Flecknell P. Analgesia from a veterinary perspective. *Br J Anaesth*, 101(1):121-124.2008.
3. Livingston A. Pain and analgesia in domestic animals. *Handb Exp Pharmacol*, 199:159-189.2010.
4. Hellyer P, Rodan L, Brut J. Journal Of American Animal Hospital Association, Vol 43 -235-248. 2007.
5. Dworkin R, O'Connor A. Recommendations for the *pharmacological* management of neuropathic pain: an overview and literatura update. *Mayo Clin Proc*; 85: S3 - S14. 2010.
6. Pachman D, Barton D, Watson J, Loprinzi C. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: prevention and treatment. *Clin Pharmacol Ther*, 90: 377 - 387.2011.
7. Paeile C, Saavedra H. "El dolor, aspectos básicos y clínicos". *Editorial Mediterraneo*, Santiago de Chile; 28-40, 1997.
8. Gomezese R, Gonzalez O. "Dolor; una mirada introductoria". *Med unab*, vol 4, n°10, 2001.
9. Vilallonga J. "Neuroanatomía del dolor: bases anatómicas de la percepción dolorosa, Unidades del dolor. Realidad hoy, reto para el futuro", *ACMCB*.; 217-250.2002.
10. Lamont L, Tranquilli W, Grimm K. Physiology of Pain. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*.; 30: 703-723. 2000.



11. Guirimand F. Recent data on the physiology of pain. *Nephrologie*; 7: 401-407.2003.
12. Warner T, Mitchell J. "Cyclooxygenases: new inhibitors and lessons from the clinic". *Faseb J.*; 18: 790-804. 2004.
13. Lascelles B, Butterworth S. Post-operative analgesic and sedative effects of carprofen and pethidine in dogs. *Vet Rec*; 134:187-191.1994.
14. Mc Kellar Q. A, Delatour P. Stereospecific pharmacodynamics and pharmacokinetics of carprofen in the dog. *J Vet Pharmacol Ther* 1994;17:447-454.1994.
15. Vasseur P, Johnson A. Randomized, controlled trial of the efficacy of carprofen a nonsteroidal antiinflammatory drug, in the treatment of osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc*; 206:807811.1995.
16. Grisneaux E, Pibarot P. Comparasion of ketoprofen and carprofen administered prior to orthopedic surgery for control of postoperative pain in dogs. *J Am Vet Med Assoc*; 215: 1105-1110.1999.
17. Lizarraga I. Inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa-2. Usos potenciales en perros. Departamento de fisiología y farmacología, facultad de medicina veterinaria y zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.2001.
18. Nolan A, Reid J. Comparision of the postoperative analgesic and sedative effects of carprofen and papaveretum in the dog. *Vet Rec*; 133:240-242. 1993.
19. Ko J, Iyabiyashi T. Renal effects of carprofen administered to healthy dogs anesthetized with propofol and isoflurane. *J Am Vet Med Assoc*; 217: 346-349.2000.
20. Flórez J. Fármacos analgésicos opioides. En: Flórez J (ed). *Farmacología Humana*.3° Edición. Masson, Barcelona, España, Pp 435-452.1997.



21. Smith H. Miscellaneous analgesic agents. In: Smith HS (ed). *Drugs for pain*. Hanley & Belfus Inc, Philadelphia, USA, Pp 271-288.2003.
22. Lintz W, Erlacin S, Frankus E, Uragg H. Biotransformation of tramadol in man and animal. *Drug Res* 31, 1932-1943.1981.
23. Tallarida R. "Drug Synergism: Its detection and application". *J Pharmacol Exp Ther.*; 298,865,872. 2001.
24. Eddy N, Leimbach D. Synthetic analgesic: II.Dithenylbutenyl and dithienylbutylamines. *J Pharmacol Exp Ther* 107:385-393. 1953.
25. Miranda H, Puig M, Romero M, Prieto JC. *Fundam. Clin. Pharmacol.*; 23: 81-88.2009.
26. Miranda H, Puig M, Romero M, Dursteler C, Prieto JC, Pinardi G. Dexketoprofen-induced antinociception in animal models of acute pain: Synergy with morphine and paracetamol. *Neuropharmacology*; 52: 291-296. 2007.
27. Tasker R, Connell B, Yole M. Systemic injections of alpha-1 adrenergic agonist produce antinociception in the formalin test. *Pain*; 49:383-91. 1992.
28. Pinardi G, Pellissier T, Miranda H. Interactions in the antinociceptive effect of tramadol in mice: an isobolographic analysis. *European Journal of pain*. Volume 2, Issue 4, Pages 343–350.1998.
29. Miranda H, Sierralta F, Pinardi G. An isobolographic analysis of the adrenergic modulation of diclofenac antinociception. *Anesth Analg*; 93:430-5. 2001.
30. Guerrero M, P Oliva. *Fármacos Analgésicos*. En: Guerrero M, J González, H Lacassie (eds). *Dolor; Aspectos básicos y clínicos*. Ediciones Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile, Pp 127-155. 2002.



31. Zegre C, Kissling G, Goulding D, King-Herbert A, Blankenship-Paris T.. Analgesic effects of tramadol, carprofen or, multimodal analgesia in rats ungergoing ventral laparotomy. *Lab animal*. Volumen 40, n° 3. 2011.
32. Delgado C, Bentley E, Hetzel S, Smith L. Carprofen provides better post-operative analgesia than tramadol in dogs after enucleation: A randomized, masked clinical trial. *J Am Vet Med Assoc*. Dic 15; 245(12): 1375–1381. 2014.
33. Flórez J, Armijo JA, Mediavilla A. *Farmacología Humana*. 4º Edición, Masson, Barcelona, España. Cap. 25. p 435-452. 2005.
34. Miranda HF, Sierralta F, Pinardi G. Previous administration of indomethacin of naloxone did not influence ketorolac antinociception in mice. *Anesth. Analg*. 77:750-3, 1993.
35. Miranda HF, Lemus I, Pinardi G. Effect of the inhibition of serotonin byosynthesis on the antinociception induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Brain Res. Bull*. 61:417-425, 2003.
36. Budsberg S, Torres B, Kleine S, Sandberg G, Berjerki A. Lack of effectiveness of tramadol hydrochloride for the treatment of pain and joint dysfunction in dogs with chronic osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc*. 252(4)-427-432. 2018.
37. Texeira C, Monteiro R, Campagnol D, Coelho K, Bressan TF, Monteiro S. Effects of tramadol alone, in combinacion with meloxicam or dipyrrone, on postoperative pain and the analgesic requirement in dogs undergoing unilateral mastectomy with or without ovariohysterectomy. *Vet anaesth analg*. 40 (6) 641-9. 2013.
38. Zegre C, Kissling G, Goulding D, King-Herbert A, Blankenship-Paris T. Analgesic effects of tramadol, carprofen or multimodal analgesia in rats undergoing ventral laparotomy. *Lab animal*. Volumen 40, n° 10. 2011.



XII. AGRADECIMIENTOS

Mis más sinceros agradecimientos a mi tutor, Dr., Hugo Miranda, por su tremenda generosidad, paciencia, sabiduría, por alentarme en momentos en que tendí a flaquear. A mis profesores, Viviana Noriega, Fernando Sierralta, Juan Carlos Prieto, José, por su alegría y confianza en que podía lograr todo lo que me propusiera, y a todos los integrantes del laboratorio del estudio del dolor que me entregaron su alegría, cariño y constante apoyo.

A mis padres y hermanos, por apoyarme siempre en todo lo que he emprendido, quererme, creer en mi, darme su cariño y fortaleza en cada etapa de mi vida.

A mi compañero de vida, Roberto, por darme la luz, el empuje e incondicional amor que tantas veces necesité, y seguiré necesitando, por ser mi apoyo en momentos cruciales de nuestro camino y por darme la oportunidad de ser madre de Magdalena, nuestra pequeña hija que en estos momentos llevo en mi vientre.

Y finalmente gracias a la vida, que me ha dado tanto.