



Universidad de Chile
Facultad de Medicina
Escuela de Kinesiología

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN

“PARECOXIB Y PIROXICAM Y SU RELACIÓN CON EL SISTEMA NITRIDÉRGICO”

ALUMNOS
CAMILO NAVARRO
FRANCISCO VERDUGO

DIRECTOR DE TESIS
PROF. ASIST. FERNANDO SIERRALTA GARCÍA, DD.

2005

**“PARECOXIB Y PIROXICAM Y SU RELACION
CON EL SISTEMA NITRIDERGICO”**

Tesis

Entregada a la

UNIVERSIDAD DE CHILE

En cumplimiento parcial de los requisitos

para optar al grado de

LICENCIADO EN KINESIOLOGIA

FACULTAD DE MEDICINA

por

**CAMILO ANDRES NAVARRO ALARCON
FRANCISCO JAVIER VERDUGO INOSTROZA**

2005

DIRECTOR DE TESIS

PROF. FERNANDO SIERRALTA G., DD.

PROFESORES GUIAS

DR. HUGO MIRANDA G.

DR. GIANNI PINARDI T.

PATROCINANTE DE TESIS

DRA. SILVIA ORTIZ Z.

**FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CHILE**

**INFORME DE APROBACION
TESIS DE LICENCIATURA**

Se informa a la Escuela de Kinesiología de la Facultad de Medicina que la Tesis de Licenciatura presentada por los candidatos:

**CAMILO ANDRES NAVARRO ALARCON
FRANCISCO JAVIER VERDUGO INOSTROZA**

Ha sido aprobada por la Comisión Informante de Tesis como requisito de Tesis para optar al grado de Licenciado en Kinesiología, en el examen de defensa de Tesis rendido el

.....

DIRECTOR DE TESIS

PROF. FERNANDO SIERRALTA GARCIA, DD.

FIRMA

PROFESORES GUIAS

DR. HUGO MIRANDA G.

FIRMA

DR. GIANNI PINARDI T.

FIRMA

COMISION INFORMANTE DE TESIS

NOMBRE

FIRMA

.....

.....

.....

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 Curva dosis-respuesta del Parecoxib i.p. en el ensayo algesiométrico de la formalina, durante los primeros 5 minutos.	20
FIGURA 2 Curva dosis-respuesta del Parecoxib i.p. en el ensayo algesiométrico de la formalina, durante los últimos 10 minutos del test de la formalina.	20
FIGURA 3 Curva dosis-respuesta del Piroxicam i.p. en el ensayo algesiométrico de la formalina, durante los primeros 5 minutos.	21
FIGURA 4 Curva dosis-respuesta del Piroxicam i.p. en el ensayo algesiométrico de la formalina, durante los últimos 10 minutos del test de la formalina.	21
FIGURA 5 Curva dosis-respuesta del Parecoxib i.p. previo tratamiento con L-NAME en el ensayo algesiométrico de la formalina, durante los primeros 5 minutos.	22
FIGURA 6 Curva dosis-respuesta del Parecoxib i.p. previo tratamiento con L-NAME en el ensayo algesiométrico de la formalina, durante los últimos 10 minutos del test de la formalina.	22
FIGURA 7 Curva dosis-respuesta del Piroxicam i.p. previo tratamiento con L-NAME en el ensayo algesiométrico de la formalina, durante los primeros 5 minutos.	23
FIGURA 8 Curva dosis-respuesta del Piroxicam i.p. previo tratamiento con L-NAME, en el ensayo algesiométrico de la formalina, durante los últimos 10 minutos del test de la formalina.	23

AGRADECIMIENTOS

A nuestras familias por su apoyo y cariño incondicional entregado durante tanto tiempo.

Al profesor Fernando Sierralta por su paciencia, buena disposición y los conocimientos aportados durante este año, fundamentales para lograr este proyecto.

Al Dr. Hugo F. Miranda y al Dr. Gianni Pinardi por la asistencia entregada y por el grato y distendido ambiente que forjaron durante este tiempo.

A los Sres. José López y Alejandro Correa, del laboratorio de neurofarmacología, por su ayuda, buena disposición y por su gran sentido del humor durante las largas tardes de mediciones.

A Lorena Uribe y a Pablo Rawlings por su apoyo y guía en los momentos difíciles de este proyecto y también por su gran amistad que esperamos que dure para siempre.

Finalmente gracias a todas las personas que indirectamente ayudaron a lograr esta investigación.

INDICE

ABREVIATURAS.....	i
RESUMEN.....	ii
ABSTRACT.....	iii
INTRODUCCIÓN.....	1
DEFINICIÓN DEL PROBLEMA EN ESTUDIO	1
IMPORTANCIA DEL PROBLEMA EN ESTUDIO Y POSIBLES LIMITACIONES	1
MARCO TEORICO.....	2
FÁRMACOS UTILIZADOS EN ANALGESIA.....	2
ANTI-INFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES.....	3
Características Generales.....	3
FISIOPATOLOGÍA DEL DOLOR.....	7
1. Nociceptores.....	8
2. Vías y Sinápsis.....	8
3. Sinápsis Centrales.....	10
4. Neurotransmisores.....	10
SISTEMA NITRIDÉRGICO.....	11
HIPÓTESIS.....	15
OBJETIVO GENERAL.....	15
OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	15
MATERIALES Y METODOS.....	16
TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	17
OBTENCIÓN DE LA MUESTRA.....	17
VARIABLES.....	18
PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	19
DISCUSIÓN.....	26
PROYECCIONES.....	28
CONCLUSIÓN.....	26
BIBLIOGRAFÍA.....	29
ANEXO 1	32
ANEXO 2	33

ABREVIATURAS

AINEs: antiinflamatorios no-esteroidales

ATP: adenosín trifosfato

Ca²⁺: calcio

cAMP: adenosín monofosfato cíclico

cGMP: guanidil monofosfato cíclico

CO: monóxido de carbono

COX: ciclooxigenasas

COX-1: ciclooxigenasa-1

COX-2: ciclooxigenasa-2

COX-3: ciclooxigenasa-3

eNOS: óxido nítrico sintasa endotelial

GABA: ácido gamma amino butírico

i.p.: intraperitoneal

iNOS: óxido nítrico sintasa inducible

L-NAME: NG-Nitro-L-arginina metil éster

mRNA: ácido ribonucleico mensajero

NADPH: Nicotinamida-Adenina Dinucleótido Fosfato

NMDA: N-metil-D-aspartato

NO: óxido nítrico

NOS: enzima óxido nítrico sintasa

nNOS: óxido nítrico sintasa neuronal

nNOSa: óxido nítrico sintasa neuronal a

NT: neurotransmisor

O₂: oxígeno

PG: prostaglandina

PGE₂: prostaglandina E₂

sGC : guanidil ciclasa

SNC: sistema nervioso central

Vía NO-GMP: vía nitridérgica

RESUMEN

El objetivo de este estudio es evaluar el efecto antinociceptivo de los antiinflamatorios no-esteroidales parecoxib y piroxicam, y su interacción con el sistema nitridérgico. Para este estudio se utilizó ratones de la cepa CF/1 en el test algesiométrico de la formalina; se midió el tiempo de lamidos o mordidas que realiza el ratón en su pata izquierda los primeros 5 minutos (primera fase) después de administrar la formalina y posteriormente, de los 20 a 30 minutos (segunda fase) el tiempo de lamidos o mordidas. Para la evaluación de las interacciones, se construyó curvas dosis-respuesta de los fármacos administrados con un mínimo de 6 animales por cada una de las dosis en estudio, primero individualmente y luego junto con L-NAME (inhibidor no selectivo de la óxido nítrico cintaza). Los animales del grupo control fueron inyectados con solución salina y los de grupo control/L-NAME con L-NAME. La evaluación de ambos grupos control fue idéntica a la del resto de los animales tratados. Se les inyectó por vía intraperitoneal, parecoxib o piroxicam, 30 minutos antes de la administración de la formalina. Para estudiar la participación del sistema nitridérgico, se administró, por la misma vía, L-NAME, 35 minutos antes de la inyección de formalina.

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que para las dosis empleadas y en las fases observadas no hubo diferencias significativas entre los grupos inyectados con parecoxib/L-NAME y parecoxib solo. Lo mismo se pudo observar entre los grupos inyectados con piroxicam/L-NAME y piroxicam solo.

Como conclusión, podemos decir que los fármacos utilizados en este estudio, parecoxib y piroxicam, no presentaron una interacción en la acción antinociceptiva con el sistema nitridérgico en el ensayo algesiométrico de la formalina.

ABSTRACT

The objective of this study is the evaluation of the antinociceptive effect of the NSAID's parecoxib and piroxicam, and his interaction with the nitridergic system. For this study CF-1 mice in the algesiometric test of formalin, were used in this test, after administration of formalin the time of licked and bites treated mouse did in his left leg the first 5 minutes (first phase) and between 20 and 30 minutes (second phase) to evaluate interactions, dose-response curves were built with a minimal of 6 animals per dose, before and after of the L-NAME (non-selective inhibitor of nitric oxide sintase enzyme) pretreatment. The control group animals were injected with a saline solution and the control/L-NAME with the same saline solution plus L-NAME. The evaluation of both groups were identical to the other study groups. The mice were injected intraperitoneally with, parecoxib or piroxicam, 30 minutes before the formalin shot. To evaluate the participation of nitridergic system, a dose of L-NAME was injected intraperitoneally , 35 minutes before the formalin shot.

The results obtained in this study were, showed no significative differences among groups injected with parecoxib/L-NAME and parecoxib alone, for the doses used and the phases observed. The same was true for piroxicam/L-NAME and piroxicam alone.

As conclusions, we can say that the drugs used in this study, parecoxib and piroxicam, had no interaction with the nitridergic system in the antinociceptive effect on the algesiometric test of formalin.

INTRODUCCION

DEFINICION DEL PROBLEMA EN ESTUDIO

¿El efecto antinociceptivo del parecoxib y piroxicam está mediado por el sistema nitridérgico?

IMPORTANCIA DEL PROBLEMA EN ESTUDIO Y POSIBLES LIMITACIONES

El dolor ha repercutido en los seres humanos y se manifiesta como una sensación desagradable, molesta y muchas veces invalidante. Por esta razón, el dolor debe ser uno de los temas más investigados a nivel mundial y uno de los que más preocupa a la comunidad científica.

El dolor, además de producir esta sensación no placentera frente a una injuria, es uno de los mecanismos de defensa o de protección para evitar que se dañe más el tejido u órgano afectado por la noxa. La IASP (Asociación Internacional para el Estudio del Dolor) define el dolor como una “experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular actual o potencial”.

Para que se produzca la sensación nociceptiva, es necesario: a) Un receptor que se encuentre en la periferia; b) Una sinapsis en la médula espinal; c) Vías de conducción desde la médula espinal hasta los centros superiores como bulbo, diencéfalo y corteza; y por último d) Vías descendentes desde los centros superiores como tálamo y núcleos reticulares hacia la médula. (Paeile, 1997).

El grupo de fármacos más numeroso como sustancias analgésicas, y que además poseen propiedades antiinflamatorias, son los denominados analgésicos antiinflamatorios no-esteroidales (AINEs) o también denominados analgésicos periféricos, por su mecanismo de acción en la génesis de la noxa. Por su gran éxito terapéutico y de marketing, conforman un grupo cuyo único inconveniente son sus reacciones adversas que son extensiones de su mecanismo de acción.

MARCO TEORICO

FARMACOS UTILIZADOS EN ANALGESIA

Existe una gran variedad de sustancias capaces de producir un efecto analgésico tanto a nivel periférico como a nivel central, así como en la génesis de dolores más selectivos. Así, se puede mencionar los fármacos α -adrenérgicos, serotoninérgicos, colinérgicos, nitridérgicos, antidepresivos, antiepilépticos, anestésicos locales, cannabinoides, anti-inflamatorios no esteroideos y opioides (Baek, 2002; Christie, 2000; Miranda, 2001; Miranda, 2002)

De todos los grupos de fármacos antes citados, sin duda los analgésicos anti-inflamatorios no-esteroidales (AINEs) son los más usados por la mayoría de las especialidades médicas, así como en odontología y en kinesiología, para los diferentes tipos de dolor (tanto agudo como crónico) y por lo tanto, también son los más estudiados. Sin embargo, independientemente de su eficacia como analgésicos, antiinflamatorios y antipiréticos, presentan una serie de reacciones adversas que limitan su uso.

Los AINEs poseen varias acciones terapéuticas, de las cuales su efecto analgésico y antiinflamatorio son los más relevantes. En este estudio, se evaluará la actividad antinociceptiva de los AINEs de estructura química diferente, el parecoxib y el piroxicam, por tener una diferente selectividad en su mecanismo de acción y por otra parte, ser de gran uso en la clínica. Para ello se utilizará un método algiesiométrico agudo: el test de la formalina en ratones.

A pesar de la existencia de una gran cantidad de drogas que producen analgesia, no se ha identificado en forma completa y detallada el mecanismo de acción farmacológico responsable del efecto analgésico. Esto se debe, en parte, a la complejidad en la transmisión del impulso doloroso hacia el SNC, el que puede estar modulado por una o varias de las siguientes sustancias: neuropéptidos (sustancia P, neuroquininas, etc.), aminoácidos (L-aspartato, L-glutamato, etc.), neurotransmisores (adenosina, noradrenalina, acetilcolina,

serotonina, etc.), y neuromediadores (prostaglandinas, citoquinas, óxido nítrico, etc.) (Contreras, 1998).

ANTI-INFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES

Son un numeroso grupo de fármacos con estructuras químicas diferentes, pero que poseen propiedades terapéuticas similares: analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas; y que poseen reacciones adversas en común debido a que tienen un mismo mecanismo de acción.

Características Generales

1.- Propiedades Diferenciales

Aunque la mayoría de los componentes de este grupo comparten las tres acciones que los definen (analgésico, antiinflamatorio y antipirético), su eficacia relativa puede ser diferente en cada uno de ellos. Lo mismo pasa con su toxicidad, que puede coincidir con la del grupo o ser más o menos específica. De ahí que su uso clínico preferente, dependa tanto de su eficacia como de sus efectos adversos.

2.- Mecanismo General de Acción

Los principales efectos terapéuticos y muchas de las reacciones adversas de los AINEs se pueden explicar por su efecto inhibitorio de las ciclooxigenasas (COX), enzimas que convierten el ácido araquidónico en endoperóxidos y luego en prostaglandinas y tromboxanos. Algunos de estos eicosanoides participan en el proceso de la inflamación, dolor y la fiebre, por lo que la inhibición de su síntesis por los AINEs sería responsable de su actividad terapéutica, aunque dada su participación en determinados procesos fisiológicos, dicha inhibición sería también responsable de diversas reacciones adversas características de estos fármacos.

Los AINEs inhiben las COXs, y actualmente se ha demostrado la existencia de tres isoformas de estas enzimas: COX-1, COX-2 y COX-3. La COX-1 es de *expresión*

constitutiva, o sea, el producto de un gen que transcribe en forma estable y continua y además está implicada en los procesos de protección de la mucosa gástrica, activación plaquetaria y funciones renales. La COX-2 es el producto de un gen con un *elevado nivel de regulación*, y cataliza la producción local de prostaglandinas en situaciones fisiológicas y patológicas, aunque en condiciones basales su expresión está restringida, se puede detectar niveles elevados en SNC y corteza renal. Además, la expresión de COX-2 es inducida por diversos mediadores asociados con la inflamación y crecimiento celular, desempeñando un rol esencial en la inflamación, dolor, fiebre y proliferación celular normal y patológica (Florez, 2003). La COX-3 es codificada del mismo gen de la COX-1, pero la diferencia radica en que un intrón de su mRNA es retenido. En el hombre, la COX-3 es abundante en la corteza cerebral y tejido cardiaco. En investigaciones realizadas con animales menores, se comprobó que la COX-3 es inhibida selectivamente por acetaminofeno (paracetamol) y dipirona (metamizol), y es potencialmente inhibida por algunos otros AINEs. Se ha sugerido que esta tercera forma de COX aparecería 48 horas después de iniciado el proceso inflamatorio y estaría involucrada en la biosíntesis de mediadores antiinflamatorios endógenos. (Chandrasekharan, 2002; Davies, 2004)

La mayoría de los AINEs actualmente disponibles inhiben, a concentraciones terapéuticas, en forma no-selectiva ambas isoformas de COX, como lo sería el caso del piroxicam. Algunos AINEs, como la nimesulida y meloxicam, exhiben una selectividad preferencial por la COX-2. Se ha sugerido que el parecoxib, rofecoxib y el celecoxib parecen inhibir exclusivamente la COX-2. (Florez, 2003)

3.- Acciones farmacológicas

3.1.- Acción Analgésica

Esta acción es de intensidad leve a moderada, con un techo analgésico claramente inferior al de los opioides, pero con la ventaja de no producir una depresión respiratoria o de producir euforia. Los AINEs están indicados especialmente para dolores caracterizados por una participación destacada de prostaglandinas. La acción analgésica de los AINEs tiene lugar tanto en tejidos periféricos, con la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, y a nivel central en el SNC, inhibiendo preferentemente la COX-2. (Florez, 2003)

3.2.- Acción Antipirética

La fiebre es una respuesta compleja y coordinada, que se desencadena ante la existencia de una lesión, inflamación, infección, etc., y tiene una doble finalidad: alertar sobre una situación anómala y potencialmente lesiva, y poner en marcha una serie de mecanismos fisiológicos para la defensa del organismo. Su signo cardinal es la elevación de la temperatura corporal del orden de 1 a 4 °C (Florez, 2003).

Esta acción antitérmica de los AINEs se explica, principalmente, por su capacidad de disminuir las concentraciones centrales de PGE₂ (prostaglandina E₂), mediante la inhibición directa de la actividad de la COX-2 (Florez, 2003).

3.3.- Acción Antiinflamatoria

La inflamación es una de las respuestas fisiopatológicas fundamentales con las que el organismo se defiende frente a agresiones producidas por gran variedad de estímulos (p. ej., infecciones, lesiones, procesos isquémicos), aunque en ocasiones, su exageración y persistencia no parezca que sirve a tal propósito.

La capacidad de los AINEs para reducir la inflamación es variable, en general son más eficaces frente a inflamaciones agudas que crónicas. Al inhibir la síntesis de PGs y tromboxanos, los AINEs reducen su actividad sensibilizadora de las terminaciones sensitivas, así como la actividad vasodilatadora y quimiotáctica, interfiriendo así en uno de los mecanismos de la inflamación (Florez, 2003).

3.4.- Acción Antiagregante Plaquetaria

Es una función que no comparten todos los AINEs. Es producida fundamentalmente por la aspirina (ácido acetilsalicílico) a dosis bajas y otros AINEs como la indometacina e ibuprofeno, que inhiben la COX plaquetaria (la aspirina lo hace de manera irreversible) (Handin et al, 1992). Por otra parte la aspirina en bajas dosis tiene un efecto positivo en la profilaxis de fenómenos tromboembólicos coronarios y cerebrovasculares (Paeile C, 1997).

3.5.- *Acción Uricosúrica*

Es consecuencia de la inhibición del transporte de ácido úrico desde la luz del túbulo renal hasta el espacio intersticial. Es un proceso apreciable sólo con algunos AINEs y a dosis elevadas. (Florez, 2003)

4.- Reacciones Adversas

Los AINEs, como ya lo mencionamos, poseen acciones farmacológicas similares pero también comparten sus efectos adversos en la mayoría de los casos. Los podemos clasificar en las siguientes:

4.1.- *Gastrointestinales*

Son frecuentes los efectos menores (15-25%) como pirosis, gastritis, diarrea o estreñimiento. El mecanismo involucrado es el de la inhibición en la síntesis de PGE₁ y PGE₂, las cuales son responsables de inhibir la secreción gástrica y promover la secreción de mucus citoprotector en el aparato digestivo. (Insel, 1996)

4.2.- *Renales*

Los AINEs, debido al bloqueo de la síntesis de PGs, pueden disminuir el flujo renal y la filtración glomerular, junto con producir retención de Na⁺, agua y K⁺. La complicación más importante es la insuficiencia renal aguda. (Brooks, 1991.)

4.3.- *Hematológicos*

Aunque su frecuencia es, en conjunto, baja, el amplio uso de los AINEs y la gravedad de alguna de ellas (p. ej., anemia aplásica) obliga a tenerlas en cuenta. Algunas de estas reacciones están en relación con las propiedades ya descritas, como un efecto en exceso de la actividad antiagregante plaquetaria (Florez, 2003).

4.4.- *Hipersensibilidad*

Con una frecuencia de alrededor de 1 a 2% de los pacientes bajo tratamiento con AINEs; se caracteriza como rinitis alérgica, asma bronquial, trastornos dérmicos, etc. Pueden ser de carácter alérgico, mediados por anticuerpos, o pseudo alérgico, que son más frecuentes y relacionados con la inhibición de la síntesis de PGs y un desvío hacia la

síntesis de los leucotrienos y en conexión con una sensibilidad individual especial (Florez, 2003).

4.5.-Cardiovasculares

Esto principalmente se observa con los inhibidores específicos de COX-2, que teóricamente alteran la producción de prostaglandinas sintetizadas por medio de la COX-2 sin tener efectos en la producción de tromboxano que se sintetiza, de preferencia, gracias a la acción de la COX-1 (Wong, 2005).

FISIOPATOLOGÍA DEL DOLOR

En condiciones psicológicas normales, las señales nociceptivas son producidas por un intenso estímulo de las fibras terminales sensoriales aferentes A δ y C, por noxas químicas, físicas o de presión (Besson, 1987). La fisiopatología del dolor involucra interacciones muy complejas de diferentes estructuras periféricas y centrales. La nocicepción es un mecanismo a través del cual, estímulos nocivos son transmitidos al sistema nervioso central (SNC). (Fürst, 1999).

El sistema nociceptivo es dual, y la sensación del dolor que se experimenta llega al sistema nervioso central por medio de dos vías: de un sistema discriminativo sensorial, que participa en la capacidad de analizar la naturaleza, localización, intensidad y duración de la noxa; y de un componente cognitivo-afectivo, que contribuye a la evaluación cualitativa del dolor. (Moya, 1995)

Cuando un estímulo agresor (traumático, físico, químico, infeccioso o inmunitario) daña las membranas celulares, se inicia la síntesis de los llamados eicosanoides, término que involucra principalmente a sustancias como las prostaglandinas, tromboxanos, prostaciclina y leucotrienos que se sintetizan en la zona lesionada, a partir del ácido araquidónico (Ortega, 1995). Al hidrolizarse por la fosfolipasa A2, genera diferentes lipooxigenasas y leucotrienos. La enzima fosfolipasa A2 se activa por mecanismos neuronales, tóxicos, mecánicos, etc. Por otra parte, el ácido araquidónico libre, por acción de las ciclo-

oxigenasas, forma prostaglandinas (PGs), prostaciclina y tromboxanos. (Ortega, 1995). Las PGs al hidrolizar el ATP, producen cambios en el potencial de membrana, disminuyendo el umbral de excitación de los nociceptores y sensibilizando las terminaciones nerviosas aferentes, a estímulos químicos o mecánicos. Por otro lado, hay una acción directa de la prostaglandina E y de la bradicinina sobre los nociceptores y además hay alteración de la microcirculación de leucocitos, al estimular la circulación sanguínea en la región inflamada.

1. Nociceptores

Los receptores del dolor son un sistema primario de defensa, se les llama nociceptores y corresponden a terminaciones nerviosas libres (arborizaciones plexiformes carentes de mielina), que se encuentran en la piel y el tejido celular subcutáneo, músculos, articulaciones y vísceras. Estos, se diferencian de otros receptores en que su capacidad de adaptabilidad es muy mala. Y cualquier estímulo (tacto, presión, calor, etc.) que provoque daño, constituirá un estímulo suficiente para que provoque dolor. En general, los agentes que activan a estos receptores se denominan sustancias algógenas. (Pinardi, 1993). Se distinguen dos tipos de nociceptores:

a.- Nociceptores mecánicos de umbral alto o nociceptores mecano térmicos: formados por fibras A δ , activándose directamente por estímulos intensos, sin mediación de intermediarios químicos y están relacionados con el dolor agudo, breve, bien localizado, que dura sólo lo que dura el estímulo.

b.- Nociceptores polimodales o mixtos: formados por fibras C, responden a estímulos mecánicos, térmicos y químicos. Están mediados por la liberación de histamina, bradicinina, serotonina, prostaglandina, sustancia P, etc. y están relacionados con el dolor crónico, sordo, quemante y mal localizado. (Moya, 1995; Ortega, 1995).

2. Vías y Sinápsis

Las fibras aferentes que llevan el estímulo doloroso desde el receptor hasta el asta posterior de la médula espinal pueden ser de dos tipos, las *fibras A δ* : son gruesas, miélicas y de transmisión rápidas, y las *fibras C*, que son delgadas, amielínicas y más lentas en su transmisión.

Un estímulo doloroso se sentirá primero como dolor agudo, bien localizado, transmitido por fibras A δ , seguido después de un pequeño retardo por un dolor ondulante, quemante, sordo, mal definido, transmitido por fibras C. En el asta posterior de la médula espinal, es donde se procesan e integran por primera vez los estímulos que ingresan. Se produce aquí la transmisión sináptica, desde la primera a la segunda neurona, mediada por la sustancia P, y aminoácidos, como el ácido glutámico, entre otros. (Ortega, 1995). La sustancia gris medular de las astas posteriores fue clasificada por Rexed en 6 láminas. Las fibras A Delta terminan en arborizaciones en las láminas I y V, y las fibras C, en II y con menor densidad en la lámina I, aquí termina la primera neurona sensitiva. (Torregosa, 1994).

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 primaria puede propagarse a varias raíces vecinas. 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. (Torregosa, 1994). Aquí existen pequeñas neuronas características de esta zona, las interneuronas, que de alguna manera modulan estas sinapsis.

Estos hechos tienen importancia, pues dan un sustrato anatomo-fisiológico a fenómenos como el dolor referido y a la modulación, que sobre la transmisión nerviosa pueden ejercer centros superiores. Las segundas neuronas dan origen a tres haces ascendentes contra laterales: el neoespinotalámico y el paleoespinotalámico, que conforman la vía espinotalámica y el espinoreticulotalámico. (Torregosa 1994). El tracto neoespinotalámico conduce el dolor agudo bien localizado, para después sinaptar con núcleos del tálamo posterior y de allí hace sinapsis con la tercera neurona de la vía, que proyecta la información nociceptiva hacia las áreas SI y SII de la corteza parietal somestésica para elaborar la ubicación topográfica del dolor (Ortega, 1995; Torregosa

1994); el tracto paleoespinal, es el responsable de los dolores difusos crónicos, sinaptando con núcleos inespecíficos del tálamo, desde donde se proyecta hacia las zonas frontales de la corteza, para efectuar la evaluación cualitativa del dolor (Torregosa 1994).

El 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. A este haz se le atribuye mayor importancia en relación al componente afectivo del dolor (Torregosa 1994).

3. Sinapsis Centrales

Los cuerpos celulares de ambos tipos de aferencias nociceptivas (Fibras A δ y C) están contenidos en la cadena ganglionar dorsal y extienden axones para sinaptar con las neuronas del asta dorsal que están incluidas en la sustancia gris de la médula espinal. La mayoría de las fibras A δ terminan en la capa más superficial de la médula o lámina 1 (también llamada zona marginal). Otra alternativa es terminar en una zona más profunda llamada lámina 5. La mayoría de las fibras C terminan en la superficie del asta dorsal, en la lámina 2 o sustancia gelatinosa (Lamont, 2000).

4. Neurotransmisores

En el asta dorsal medular, la transmisión de información nociceptiva entre neuronas ocurre mediante señales químicas, mediadas por aminoácidos y neuropéptidos excitatorios e inhibitorios, los cuales son producidos, almacenados y liberados en los terminales de aferencias primarias, interneuronas del asta dorsal y terminales de fibras descendentes del sistema supraespinal. Los agentes, en los terminales centrales de aferencias primarias, incluyen aminoácidos como glutamato y aspartato, los cuales excitan los terminales nerviosos de grandes fibras mielínicas. Además, estas terminales primarias son capaces de liberar sustancias consideradas como neuromoduladores, entre los que se pueden mencionar la somatostatina, péptido vasoactivo intestinal, colecistocinina, ocitocina, entre otros. En las neuronas propias del asta dorsal de la médula espinal se ha encontrado neuroquímicos excitatorios de nociceptores tales como sustancia P y neurotensina, como también algunas sustancias inhibitorias de nociceptores como encefalinas y otras endorfinas (Bonica, 1990).

Tradicionalmente, el asta dorsal medular era considerada como una simple estación de relevo, sin embargo, hoy resulta ser una compleja estructura que contiene una gran variedad de neuronas y dispositivos sinápticos que no solo permiten la recepción y transmisión de aferencias sensitivas, sino que también un alto grado de procesamiento sensitivo que incluye la abstracción local, integración, selección y una apropiada dispersión de impulsos sensitivos. Esta compleja forma de procesamiento local se realiza a través del fenómeno de convergencia, sumación, excitación e inhibición entre otros, provenientes de la periferia, interneuronas locales, cerebro y tronco cerebral. Es esta compleja interacción la que determina la transmisión y modulación de la información nociceptiva (Bonica, 1990).

SISTEMA NITRIDÉRGICO

El óxido nítrico (NO) es una molécula pequeña que se sintetiza en las células del organismo a partir del aminoácido L-arginina y participa como neurotransmisor en el SNC y periférico entre otras acciones, por lo que tendría una acción neuromoduladora (Esplugues, 2002). Esta simple molécula está complementada con la complejidad de su enzima sintetizadora: la óxido nítrico sintasa (NOS)

1. NOS

Se ha descrito 3 isoenzimas de la NOS, las cuales proceden de genes distintos pero cumplen la misma función, y presentan diferente localización y regulación (Flores, 2003):

- NOS endotelial (eNOS): presente en las células endoteliales, plaquetas y células mesangiales renales. Está implicada en la regulación de la hemostasia vascular.
- NOS neuronal (nNOS): localizada en neuronas del SNC y periférico, productora de un NO que es neurotransmisor, y por último.
- NOS inductible (iNOS): se expresa en muchas células cuando éstas entran en contacto con endotoxinas o determinadas citoquinas que sintetizan gran cantidad de NO con efecto citotóxico.

1.1. Regulación

Las isoformas nNOS y eNOS, que son las que nos interesan para esta investigación, se expresan de forma constitutiva en respuesta a diversos estímulos y producen pequeñas cantidades de NO. Se ha identificado 5 tipos de nNOS, de los cuales el nNOSa es el que tiene más acción en el SNC (Esplugues, 2002).

El regulador más importante de la nNOS y eNOS es el calcio intracelular, el cual unido a la calmodulina, estimula el nNOS, a diferencia de la iNOS que es independiente del Ca^{2+} , por lo tanto, la separación del Ca^{2+} con la calmodulina inactiva a la nNOS (Flores, 2003).

Otro mecanismo de regulación de la eNOS es por su fosforilación de cAMP por una proteína quinasa, proteína quinasa C o Ca^{2+} /Calmodulina dependiente de proteína quinasa II (Esplugues, 2002). También está descrito que existe una estimulación postsináptica de los receptores de NMDA por un neurotransmisor excitatorio, como el glutamato. Por último, el NO efectúa una retroalimentación negativa que disminuye la acción de esta enzima, actuando sobre los receptores NMDA (Esplugues, 2002).

1.2 Síntesis y degradación del NO

La NOS cataliza la reacción de síntesis de NO a partir de la oxidación de un N-guanidino terminal de la L-arginina en el que el O_2 y el NADPH actúan como cosustratos, dando origen a NO y citrulina (Flores, 2003).

1.3 Mecanismo de Acción

Como el NO no se almacena, sino que se sintetiza en respuesta a estímulos, se difunde a través de las membranas biológicas donde reacciona con metales de transición, grupos tiol y amina, oxígeno, superóxido y otros radicales libres, que son sustancias blancas. Su acción depende principalmente de la presencia de radicales libres donde participe. En condiciones fisiológicas, el principal regulador es el mismo NO, el cual activa principalmente la guanidil ciclasa (sGC), que aumenta los niveles de GMP cíclico (cGMP). Esta distribución de sGC y cGMP es complementaria a la de nNOS. Lo anterior se comprueba debido a que estos mecanismos aumentan el cGMP (Esplugues, 2002). Por otra parte, se sabe que el NO modula el consumo de O_2 en la mitocondria inhibiendo a la

citocromo oxidasa, efecto que es reversible y competitivo con el oxígeno, por lo que sería un regulador crucial en la generación de energía y la mediación de la muerte celular por la mitocondria (Esplugues, 2002). Además el NO influye en el efecto de varios NT como son la acetilcolina, noradrenalina, dopamina, glutamato, GABA, serotonina, ATP, bombesin, CO, opioides y endotelina. Los mecanismos responsables no están muy claros, pero la S-nitrosilación de los receptores activa la cascada de fosforilación de la proteína GMP-dependiente, la cual regula la energía neuronal y el efecto modulador de transporte de los NT (Esplugues, 2002).

1.4 NO en el SNC

El NO fue el primer mensajero intercelular comprobado que elevaba los niveles de cGMP y que continuaba con la activación de los receptores de glutamato. El NO es un neurotransmisor que se encuentra en casi todas las zonas del SNC. Por su parte, la nNOS también se encuentra en una gran cantidad de zonas del SNC, pre y post sináptica y está particularmente implicada en la excitación neural, neurotoxicidad, plasticidad sináptica y modulación de la expresión del dolor (Esplugues, 2002).

Con respecto a la percepción del dolor, el NO está implicado en varias vías periféricas y centrales. Funcionalmente, los reflejos nociceptivos involucran la interacción del NO con los receptores NMDA y establece que la síntesis de NO realza la facilitación espinal de los input aferentes de los comportamientos de respuesta. La inhibición del NO tiene un efecto antinociceptivo cuando se estimulan los terminales nerviosos periféricos químicos, en modelos de hiperalgesia o dolor visceral. Por el contrario, el bloqueo de la síntesis de NO exagera el dolor en problemas de hiperalgesia mecánica (Esplugues, 2002).

1.5 Acciones Fisiopatológicas

A grandes rasgos, el NO en bajas concentraciones participa en la regulación de ciertas funciones hemostáticas y a grandes concentraciones se comporta como un elemento de daño tisular o un agente de la defensa inmunitaria frente a microorganismos (Flores, 2003):

- a) Vasodilatación: el NO inhibe la proliferación celular e impide la formación de la placa de ateroma. En casos extremos, produce shock séptico por la gran vasodilatación debido a grandes concentraciones de NO. A nivel de plaquetas y leucocitos, el NO de origen constitutivo, inhibe la adhesión y agregación plaquetaria e induce desagregación. También previene la adhesión de los leucocitos y monocitos al endotelio vascular, lo que inhibe la generación de endotelina y modula la función del plasminógeno
- b) Neurotransmisión: al estimular la nNOS, aumenta la concentración intraneuronal de Ca^{2+} que sigue a una activación postsináptica de receptores NMDA por glutamato, o a la generación de potenciales presinápticos de acción con activación de canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje. Aquí actúa el NO como neurotransmisor de diferentes procesos cognitivos y sinápticos.
- c) Componentes de la respuesta inmunitaria específica, donde el NO media la citotoxicidad del macrófago frente a una gran variedad de microorganismos como bacterias, hongos, protozoos, etc.

1.6 Actuación con fármacos

La síntesis excesiva de NO, hace necesario inhibir su producción con inhibidores de la NOS, o en otros casos se utilizan fármacos donantes de NO que aumentan la concentración de éste en los tejidos biológicos estimulados (Flores, 2003):

- Inhibidores de la NOS: actúan en diferentes sitios de unión de la enzima. Existe una familia del L-NAME, el cual compite con la L-arginina por el sitio de unión y produce inhibición. Actúan preferentemente en procesos con gran cantidad de NO inhibiendo la iNOS. El problema es que son inhibidores inespecíficos, por lo que causa gran cantidad de efectos colaterales como por ejemplo el aumento de la presión arterial.
- Donantes de NO: conjunto de sustancias que son capaces de liberar NO tras su administración en sistemas biológicos.
- Inhibidores de la fosfodiesterasa 5: se usan para el tratamiento de disfunción eréctil, ya que esta enzima degrada el cGMP y así se mantiene regulada la concentración de éste, como el sildenafil.

HIPOTESIS

La acción antinociceptiva del parecoxib y/o del piroxicam está relacionada con el sistema nitridérgico en el ensayo algesiométrico agudo experimental de la formalina en ratones.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar la participación del sistema de la vía NO-GMP cíclico en la actividad antinociceptiva de piroxicam y parecoxib en el ensayo algesiométrico agudo experimental de la formalina.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar la naturaleza del efecto antinociceptivo de piroxicam y parecoxib, utilizando el test de la formalina.
- Evaluar el componente de la vía NO-GMP cíclico, por el pretratamiento con L-NAME en la actividad de piroxicam y parecoxib en el test de la formalina.

MATERIALES Y METODOS

Se usó ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*) tanto machos como hembras, de 28 a 30 gramos de peso, los que fueron aclimatados al ambiente del laboratorio al menos dos horas antes de la experimentación, la cual se realizó de acuerdo al protocolo aprobado por la Comisión de Etica de la Facultad de Medicina (cada animal recibió solamente una dosis de las drogas; las observaciones fueron efectuadas en forma randomizada, ciega y controladas con salino). Los animales fueron sacrificados inmediatamente después del experimento mediante dislocación cervical.

El número total de la muestra fue de 108 ratones. Se separaron en grupos de 6 ratones, el grupo control tuvo un total de 6 ratones y el grupo control/L-NAME de 6 ratones.

La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó utilizando el método algiesométrico de la formalina. Para ello se inyectó subcutáneamente 20 μ L de una solución de formalina al 5% en la superficie dorsal de la pata izquierda del animal. Los ratones se colocaron en un cilindro especialmente diseñado para la observación y se contó el tiempo total que ellos se lamen la pata inyectada durante los 5 minutos inmediatos a la inyección, que corresponde a la fase algésica aguda (primera fase). Luego se contó por 10 minutos, a partir de los 20 minutos de la inyección y hasta los 30 minutos, el tiempo total durante el cual los animales se lamen la pata inyectada y que corresponde a la fase inflamatoria y que mide el dolor crónico (segunda fase). No se contabiliza el tiempo entre la fase algésica y la inflamatoria, debido a que el ratón se encuentra en un período de quietud o de no actividad.

Para la evaluación de las interacciones, se construyó curvas dosis-respuesta de los fármacos administrados por vía i.p. con un mínimo de 6 animales por cada una de las curvas, antes y después del pretratamiento de los animales con L-NAME. Los animales controles son inyectados con solución salina al 0.9% y los animales del grupo control/L-NAME con una concentración 1mg/Kg de peso. Los demás ratones se inyectaron, por vía

i.p., con parecoxib (0.3, 1, 3 y 10 mg/Kg) o con piroxicam (1, 3, 10 y 30 mg/Kg), 30 minutos antes de la administración de la formalina. Para estudiar la participación del sistema nitridérgico, se administró por la misma vía, L-NAME (1 mg/kg), un inhibidor no-selectivo de las enzimas nitrosintasas (NOS), 35 minutos antes de la inyección de formalina.

Los fármacos se administraron por vía i.p. en un volumen constante, para todos los fármacos utilizados, de 10 ml/kg y el ensayo algesiométrico se realizó al momento de obtenerse el efecto máximo de cada droga.

Para la evaluación de las drogas, se comparó el efecto del fármaco antes y después de la administración de L-NAME y la significación estadística es determinada por análisis de varianza y pruebas t de Student. La significación es considerada a un nivel de 5 %.

TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente proyecto utilizó un estudio del tipo explicativo, con un diseño experimental de laboratorio con post-prueba solamente y grupo control.

OBTENCION DE LA MUESTRA

La selección de los animales se realizó en forma randomizada, por lo tanto, la muestra es del tipo probabilística.

VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE

Definición conceptual: esta expresada como “la interacción del sistema nitridérgico en la actividad analgésica de parecoxib y piroxicam”, es decir, si el sistema NO-GMPc influye en el mecanismo antinociceptivo de los AINEs en estudio.

Definición operacional: La variable independiente se medirá a través de un análisis de las curvas dosis respuesta de los fármacos administrados vía i.p.

VARIABLE DEPENDIENTE

Definición conceptual: Está expresada como el “efecto antinociceptivo”, entendiéndose por efecto antinociceptivo, a la disminución de la actividad dolorosa (cambios en el tiempo de lamido del ratón), inducida al animal por la administración sc de formalina.

Definición operacional: Este efecto se evaluará utilizando el test algesiométrico de la formalina

PRESENTACION Y ANALISIS DE RESULTADOS

Para la comparación de los grupos de estudio con el grupo control se utilizó la Prueba T (P value $< 0,05$). Los resultados presentados a continuación se pueden ver detallados en el Anexo 2.

Grupo Control Salino

En el grupo control se obtuvo, en la primera fase (0 a 5 minutos), un tiempo promedio de lamidos de $139,71 \pm 5.60$ segundos. En la segunda fase (20 a 30 minutos) se obtuvo un promedio de lamidos de 169 ± 8.01 segundos.

Grupo Control L-NAME

En este grupo durante la primera fase se registró un tiempo promedio de lamidos de 126.38 ± 8.48 segundos y durante la segunda fase un tiempo promedio de lamidos de 155.65 ± 10.20 segundos.

Grupo Parecoxib

En la dosis de 0.3 mg/kg, el tiempo promedio de lamidos durante la primera fase fue de 84.5 ± 16.72 segundos y en la segunda fase fue de 117.25 ± 13.2 segundos ($p < 0.05$).

En la dosis de 1 mg/kg, el tiempo promedio de lamidos durante la primera fase fue de 55.83 ± 12.82 segundos ($p < 0.05$) y en la segunda fase fue de 126 ± 12.66 segundos ($p < 0.05$).

En la dosis de 3 mg/kg, el tiempo promedio de lamidos durante la primera fase fue de 36.4 ± 15.64 segundos ($p < 0.05$) y en la segunda fase fue de 119.33 ± 12.5 segundos ($p < 0.05$).

En la dosis de 10 mg/kg, el tiempo promedio de lamidos durante la primera fase fue de 30 ± 10.02 segundos ($p < 0.05$) y en la segunda fase fue de 81.83 ± 27.88 segundos ($p < 0.05$).

Grupo Piroxicam

En la dosis de 1 mg/kg, el tiempo promedio de lamidos durante la primera fase fue de 92.30 ± 9.61 segundos ($p < 0.05$) y en la segunda fase fue de 99.50 ± 14.85 segundos.

En la dosis de 3 mg/kg, el tiempo promedio de lamidos durante la primera fase fue de 81.83 ± 16.71 segundos ($p < 0.05$) y en la segunda fase fue de 103.75 ± 20.25 segundos.

En la dosis de 10 mg/kg, el tiempo promedio de lamidos durante la primera fase fue de 71.33 ± 19.98 segundos ($p < 0.05$) y en la segunda fase fue de 94.86 ± 16.36 segundos ($p < 0.05$).

En la dosis de 30 mg/kg, el tiempo promedio de lamidos durante la primera fase fue de 33.20 ± 18.58 segundos ($p < 0.05$) y en la segunda fase fue de 96.20 ± 23.44 segundos ($p < 0.05$).

Grupo Parecoxib/L-NAME

Cabe recordar que en este grupo se inyectó previamente una dosis de 1 mg/kg de L-NAME.

En la dosis de 0.3 mg/kg, el tiempo promedio de lamidos durante la primera fase fue de 44.20 ± 13.75 segundos y en la segunda fase fue de 100.00 ± 9.39 segundos.

Con la dosis de 1 mg/kg, el tiempo promedio de lamidos durante la primera fase fue de 65.00 ± 14.98 segundos y en la segunda fase fue de 110.00 ± 35.42 segundos.

En la dosis de 3 mg/kg, el tiempo promedio de lamidos durante la primera fase fue de 43.17 ± 7.83 segundos y en la segunda fase fue de 78.67 ± 13.47 segundos.

En la dosis de 10 mg/kg, el tiempo promedio de lamidos durante la primera fase fue de 41.40 ± 9.67 segundos y en la segunda fase fue de 92.83 ± 15.23 segundos.

Grupo Piroxicam/L-NAME

En este grupo, al igual que en el anterior, previamente se inyectó una dosis de 1 mg/kg de L-NAME.

En la dosis de 1 mg/kg, el tiempo promedio de lamidos durante la primera fase fue de 52.25 ± 6.05 segundos y en la segunda fase fue de 80 ± 17.10 segundos.

En la dosis de 3 mg/kg, el tiempo promedio de lamidos durante la primera fase fue de 58.00 ± 3.58 segundos y en la segunda fase fue de 103.00 ± 16.89 segundos.

En la dosis de 10 mg/kg, el tiempo promedio de lamidos durante la primera fase fue de 27.50 ± 7.60 segundos y en la segunda fase fue de 94.60 ± 17.40 segundos.

En la dosis de 30 mg/kg, el tiempo promedio de lamidos durante la primera fase fue de 34.33 ± 3.04 segundos y en la segunda fase fue de 97.00 ± 13.27 segundos.

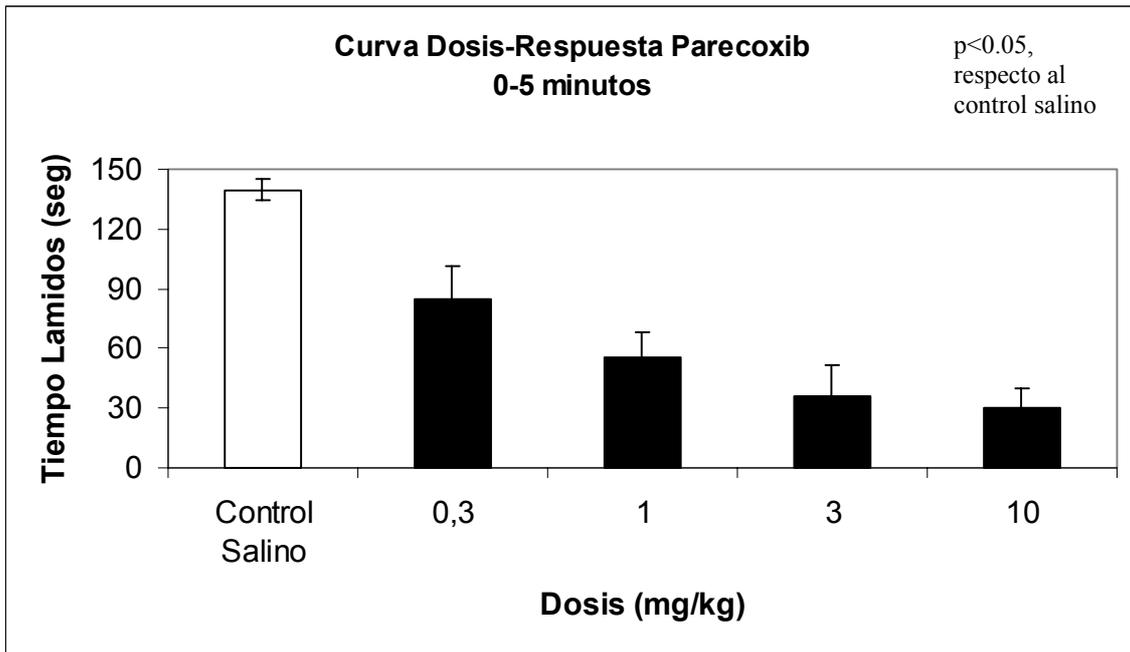


Figura 1. Curva dosis-respuesta del Parecoxib i.p. en el ensayo algesiométrico de la formalina, durante los primeros 5 minutos.

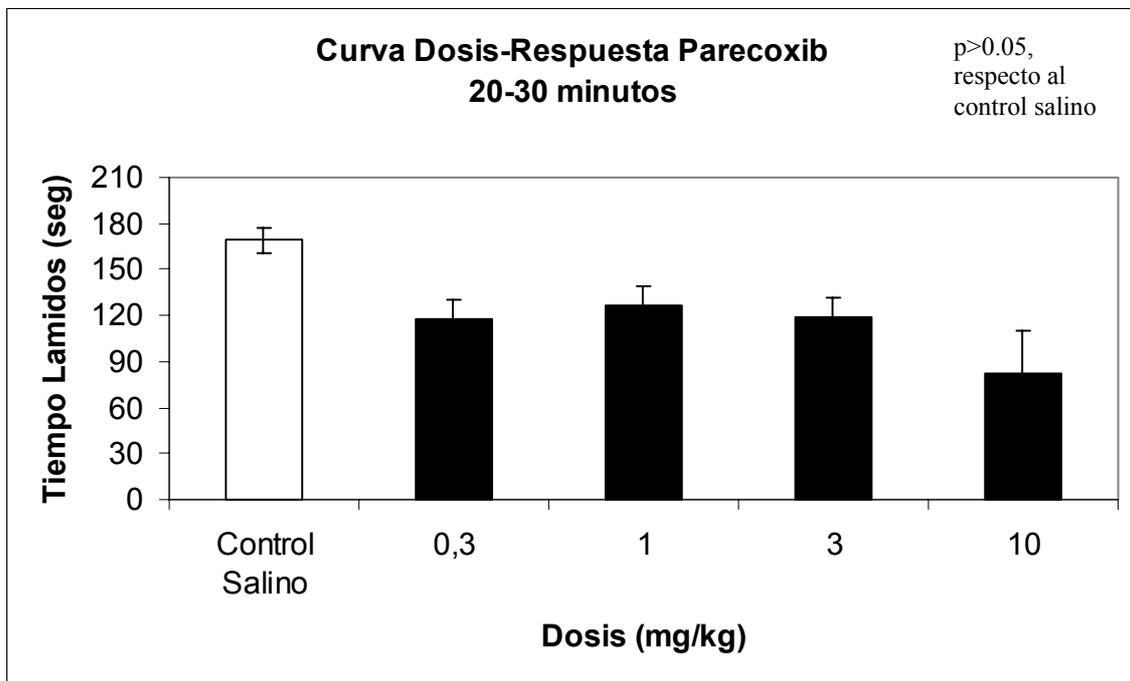


Figura 2. Curva dosis-respuesta del Parecoxib i.p. en el ensayo algesiométrico de la formalina, durante los últimos 10 minutos del test de la formalina.

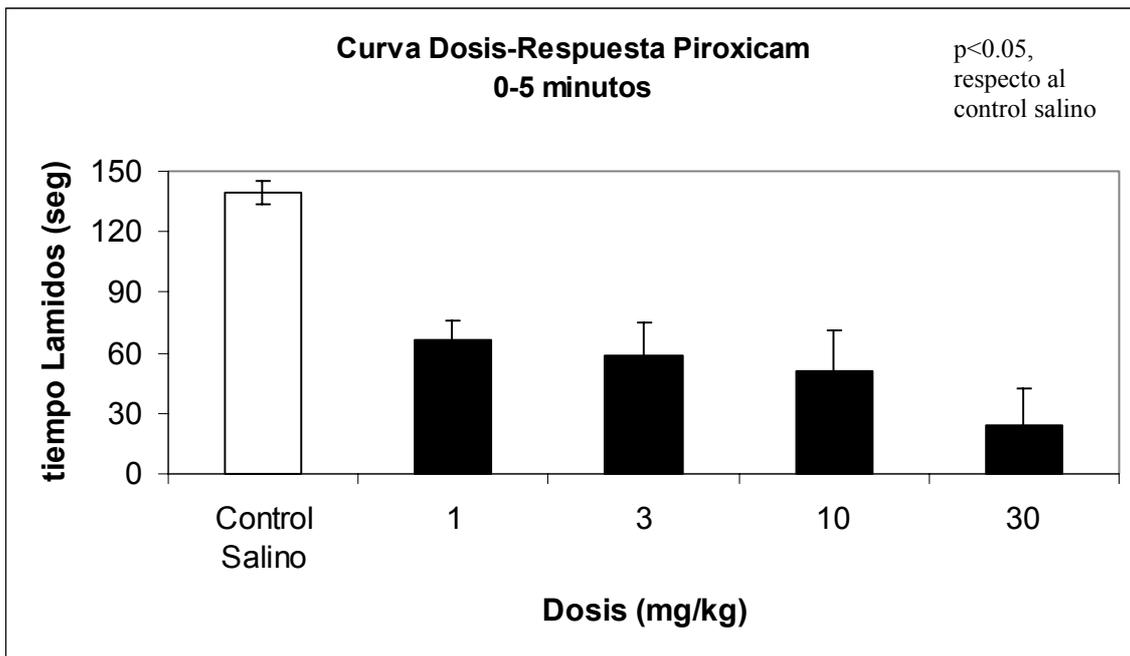


Figura 3. Curva dosis-respuesta del Piroxicam i.p. en el ensayo algesiométrico de la formalina, durante los primeros 5 minutos.

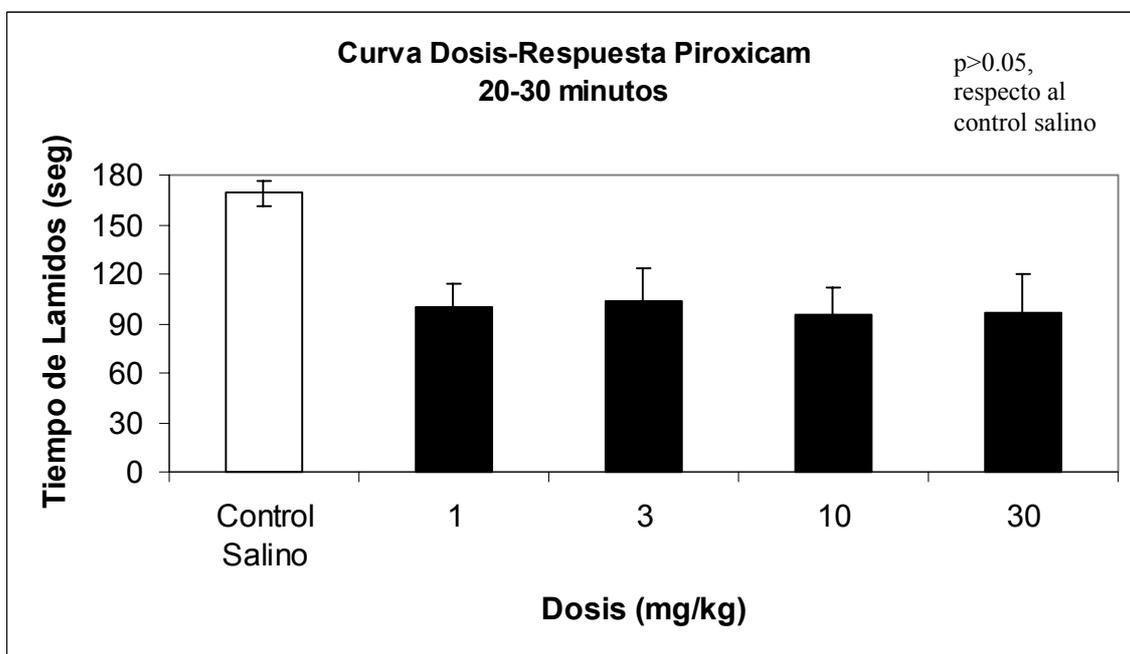


Figura 4. Curva dosis-respuesta del Piroxicam i.p. en el ensayo algesiométrico de la formalina, durante los últimos 10 minutos del test de la formalina.

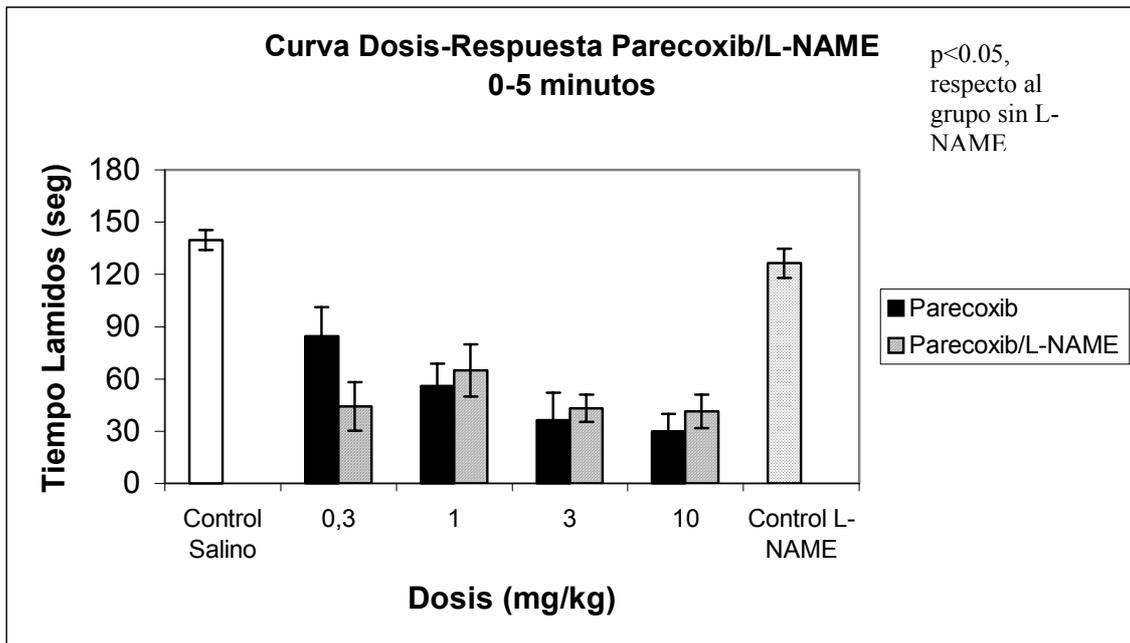


Figura 5. Curva dosis-respuesta del Parecoxib i.p. previo tratamiento con L-NAME en el ensayo algesiométrico de la formalina, durante los primeros 5 minutos.

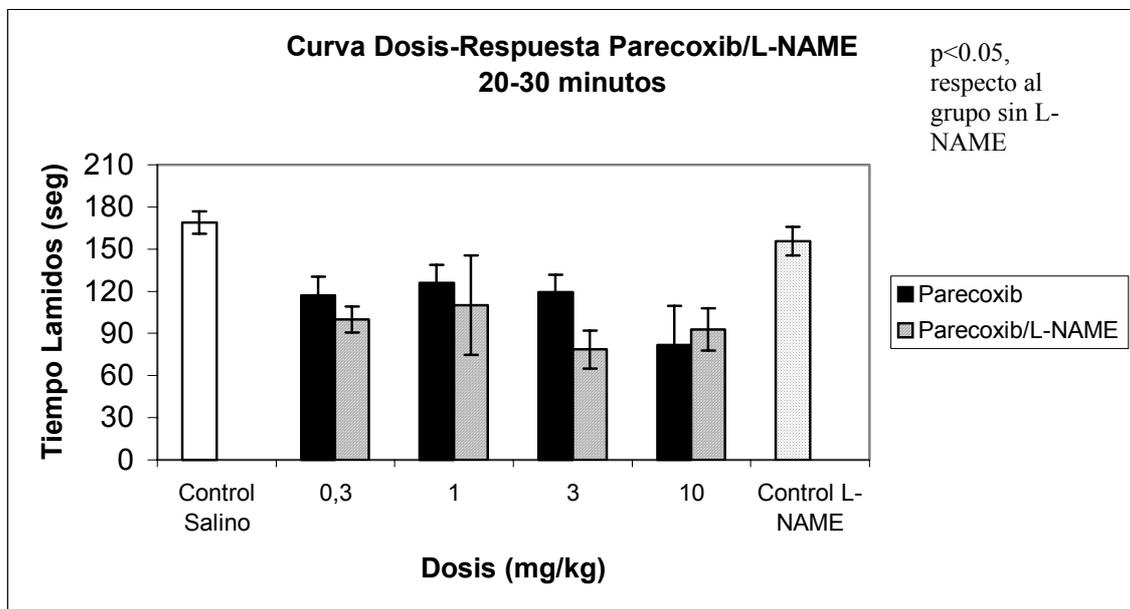


Figura 6. Curva dosis-respuesta del Parecoxib i.p. previo tratamiento con L-NAME en el ensayo algesiométrico de la formalina, durante los últimos 10 minutos del test de la formalina.

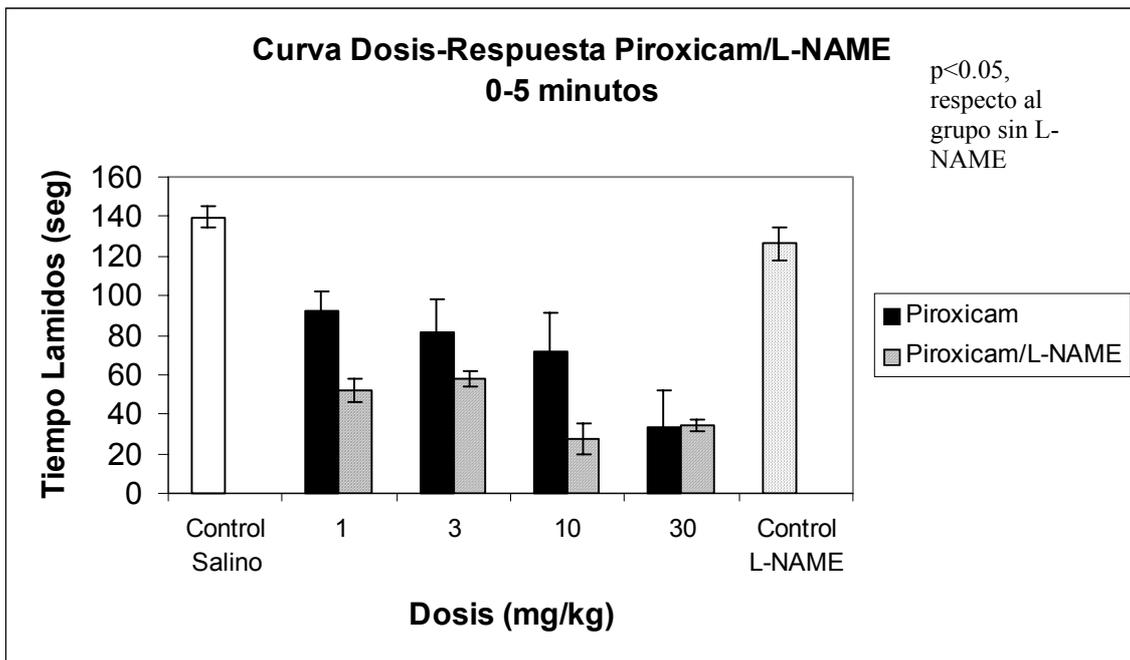


Figura 7. Curva dosis-respuesta del Piroxicam i.p. previo tratamiento con L-NAME en el ensayo algesiométrico de la formalina, durante los primeros 5 minutos.

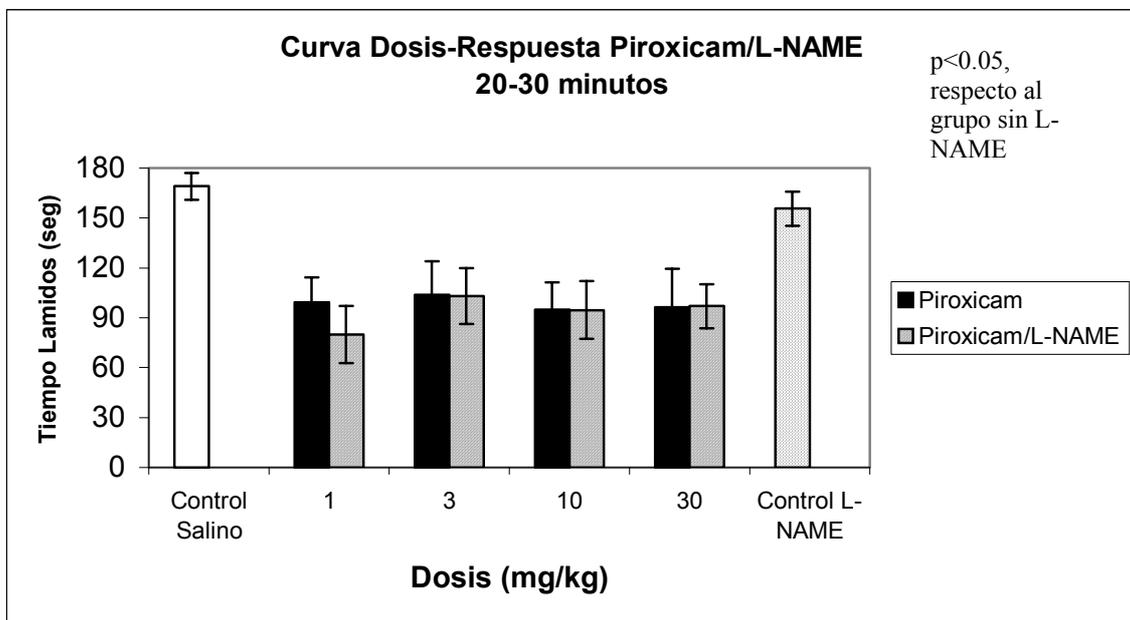


Figura 8. Curva dosis-respuesta del Piroxicam i.p. previo tratamiento con L-NAME, en el ensayo algesiométrico de la formalina, durante los últimos 10 minutos del test de la formalina.

DISCUSION

Los AINEs, como ya es sabido, poseen un mecanismo de acción en común que es la inhibición de las COXs, las cuales son enzimas que producen mediadores de la inflamación (Florez, 2003). La acción de estos fármacos la realizan tanto periférica como centralmente, inhibiendo la síntesis de prostaglandinas y cascada de reacción posterior. El comportamiento de los AINEs que se obtuvo en este estudio, demostró que la curva dosis-respuesta concuerda con los estudios ampliamente validados y corrobora que son analgésicos periféricos.

Por otro lado, el sistema nitridérgico es el responsable de la regulación del NO tanto a nivel central (SNC) como periférico y su síntesis es catalizada por la NOS, de la cual hay 3 isoformas. La más involucrada en el proceso de neurotransmisión del dolor a nivel central es la nNOS, la cual involucra la interacción del NO con los receptores NMDA y establece que la síntesis de NO realza la facilitación espinal de los input aferentes de los comportamientos de respuesta sobre los reflejos nociceptivos (Esplugues, 2002). La inhibición del NO tiene un efecto antinociceptivo cuando se estimulan los terminales nerviosos periféricos químicos, en modelos de hiperalgesia o dolor visceral. Por el contrario, el bloqueo de la síntesis de NO exagera el dolor en problemas de hiperalgesia mecánica (Esplugues, 2002).

Tomando en cuenta lo anterior, se sabe que el sistema nitridérgico está relacionado en mecanismos centrales de algunas sustancias, y por lo tanto, se esperaba que al administrar L-NAME a un grupo, éste obtuviera valores más elevados de tiempo de lamidos en el test de la Formalina, lo que no ocurrió, ya que se obtuvo $126,38 \pm 8,48$ segundos.

Con respecto a la interacción de L-NAME con los AINEs, no se obtuvo ningún cambio significativo, ni antagonista ni sinérgico, y por lo tanto, se puede desprender que no tienen interacción el sistema nitridérgico con los AINEs.

Los resultados obtenidos por nuestro estudio no son categóricos en cuanto a que se utilizó solo el test de la formalina como método para medir el efecto antinociceptivo. Por esta razón, creemos necesario corroborar los resultados obtenidos en este estudio, realizando el mismo protocolo de investigación, pero comparando los resultados con otros ensayos algesiométricos de dolor como por ejemplo el test de contorsiones abdominales o el test térmico de la cola que son muy utilizados en la investigación pre-clínica.

PROYECCIONES

En el futuro se podría experimentar con AINEs inhibidores específicos de COX-3, para ver si es que tienen alguna relación en la modulación del dolor con L-NAME en el test de la formalina.

También se podría utilizar fármacos inhibidores de COX-1, COX-2 o COX-3, pero con un diferente ensayo algiesiométrico y así conocer si es que tienen alguna relación con el sistema nitridérgico. Y estos resultados entre cada test se pueden comparar para conocer la especificidad de cada uno de ellos.

CONCLUSIONES

En el efecto antinociceptivo de parecoxib y piroxicam no es posible demostrar la acción neuromoduladora nitridérgica empleando el test de la formalina.

BIBLIOGRAFIA

Baek SJ, Wilson LC, Lee CH, Eling TE. 2002 .Dual function of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): Inhibition of cyclooxygenase and induction of NSAID-activated gene. *J Pharmacol Exp Ther.* 301(3):1126-31.

Besson JM, Chaouch A. 1987. Peripheral and spinal mechanisms of nociception. *Physiol Rev.* 67(1):67-186.

Bjorkman R. 1995. Central antinociceptive effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs and paracetamol. Experimental studies in the rat. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl.* 103: 1-44.

Bonica J. 1990. Anatomic and physiologic basis of nociception and pain. The management of pain. 2nd ed. Lea & Febiger. Philadelphia, USA.

Brooks P, Day R. 1991. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs - Differences and similarities. *N Engl J Med.* 13:1716-25.

Caterina MJ, Julius D. 1999. Sense and specificity: a molecular identity for nociceptors. *Curr Opin Neurobiol.* 9(5):525-30.

Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS and Simmons DL. 2002. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proc Natl Acad Sci USA.* 99:13926-31.

Christie MJ, Connor M, Vaughan CW, Ingram SL, Bagley EE. 2000 .Cellular actions of opioids and other analgesics: implications for synergism in pain relief. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 27(7):520-23.

Contreras, DRS. 1998. Modulación serotoninérgica y opioide de la actividad antinociceptiva de paracetamol y ketoprofeno. *El Dolor*. 6(27):7-11.

Davies NM, Good RL, Roupe KA, Yañez JA. 2004. Cyclooxygenase-3: axiom, dogma, anomaly, enigma or splice error?--Not as easy as 1, 2, 3. *J Pharm Pharm Sci*. 7:217-26

Esplugues JV. 2002. NO as a signalling molecule in the nervous system. *British Journal of Pharmacology*. 135:1079-95.

Florez J, Armijo JA, Mediavilla A. 2003. *Farmacología Humana*, 4º ed. Masson. Barcelona, España.

Fürst, S. 1999. Transmitters involved in antinocicepción in the spinal cord. *Brain Research Bulletin*. 48: 129-141.

Handin R, Loscalzo J. 1992. Hemostasis, thrombosis, fibrinolysis and cardiovascular disease. *Heart disease*. 2: 1783-84.

Insel P. 1996. Analgesic- Antipyretic and Antiinflammatory agents and drugs employed in the treatment of gout. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 27: 617.

Lamont L, Tranquilli W, Grimm K. 2000. Physiology of Pain. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 30(4): 703-23.

Miranda HF, Sierralta F, Pinaridi G. 2001. An isobolographic analysis of the adrenergic modulation of diclofenac antinociception. *Anesth Analg*. 93(2):430-5.

Miranda HF, Sierralta F, Pinaridi G. 2002. Neostigmine interactions with non steroidal anti-inflammatory drugs. *Br. J. Pharmacol*. 135: 1591-97.

Moya M. 1995. Vías de transmisión del dolor. *Rev. Chilena de Cirugía*. 47(3): 274-80.

Ortega E. 1995. Neurofisiología del dolor. Cuad. Cir. 9:50-54.

Paeile C, Saavedra H. 1997. Antiinflamatorios no esteroidales. El Dolor, Aspectos Básicos y Clínicos. 176 – 96. 2a. Ed. Mediterráneo. Santiago, Chile.

Paeile C, Bilbeny N. 1997. Prefacio El Dolor, Aspectos Básicos y Clínicos. 13-14. Ed. Mediterráneo. Santiago, Chile.

Pinardi G. 1993. Neuromodulación de la nocicepción, Rev. El Dolor. 8:1-6

Torregosa, S. 1994. Mecanismos y vías del dolor. Boletín Esc. de Medicina Universidad Católica de Chile. 23: 202-06.

Wall P.D. 1984. The dorsal horn. Textbook of pain. P.D. Wall and R Melzack. New York, USA.

ANEXO 1: PROTOCOLO EXPERIMENTAL TEST DE LA FORMALINA

- Grupo Piroxicam

Grupo de 6 ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*) con dosis de piroxicam de 1, 3, 10 y 30 mg/kg. Total de 24 ratones.

- Grupo Parecoxib

Grupo de 6 ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*) con dosis de parecoxib de 0.3, 1, 3 y 10 mg/kg. Total de 24 ratones.

- Grupo Piroxicam/L-NAME

Grupo de 6 ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*) con dosis de 1 mg/kg de L-NAME y dosis de 1, 3, 10 y 30 mg/kg de piroxicam. Total de 24 ratones.

- Grupo Parecoxib/L-NAME

Grupo de 6 ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*) con dosis de 1 mg/kg de L-NAME y dosis de 0.3, 1, 3 y 10 mg/kg de parecoxib. Total de 24 ratones.

- Grupo Control Salino

Grupo de 6 ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*) inyectados con una solución salina al 0.9%. total de 6 ratones.

- Grupo Control/L-NAME

Grupo de 6 ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*) inyectados con 1 mg/Kg. de L-NAME previa la administración de formalina. Total de 6 ratones.

ANEXO 2: TABLA 1. EVALUACIÓN DEL DOLOR EN EL ENSAYO ALGESIOMÉTRICO UTILIZANDO PARECOXIB Y PIROXICAM EN PRESENCIA O AUSENCIA DE INHIBIDOR DE LA NOS (L-NAME).

Grupos	Dosis (mg/Kg)	Primera Fase de 0 a 5 minutos		Segunda Fase de 20 a 30 minutos	
		Promedio Lamidos (seg)	P	Promedio Lamidos (seg)	P
Control		139,71 ± 5,60		169 ± 8,01	
Control/L-NAME		126,38 ± 8,48		155,65 ± 10,20	
Parecoxib	0,3	84,50 ± 16,72	NS	117,25 ± 13,20	p < 0,05
	1	55,83 ± 12,82	p < 0,05	126,00 ± 12,66	p < 0,05
	3	36,40 ± 15,64	p < 0,05	119,33 ± 12,50	p < 0,05
	10	30,00 ± 10,02	p < 0,05	81,83 ± 27,88	p < 0,05
Piroxicam	1	92,30 ± 9,61	p < 0,05	99,50 ± 14,85	NS
	3	81,83 ± 16,71	p < 0,05	103,75 ± 20,25	NS
	10	71,33 ± 19,98	p < 0,05	94,86 ± 16,36	p < 0,05
	30	33,20 ± 18,58	p < 0,05	96,20 ± 23,44	p < 0,05
Parecoxib con L-NAME	0,3	44,20 ± 13,75	NS	100,00 ± 9,39	NS
	1	65,00 ± 14,98	NS	110,00 ± 35,42	NS
	3	43,17 ± 7,83	NS	78,67 ± 13,47	NS
	10	41,40 ± 9,67	NS	92,83 ± 15,23	NS
Piroxicam con L-NAME	1	52,25 ± 6,05	NS	80,00 ± 17,10	NS
	3	58,00 ± 3,58	NS	103,00 ± 16,89	NS
	10	27,50 ± 7,60	NS	94,60 ± 17,40	NS
	30	34,33 ± 3,04	NS	97,00 ± 13,27	NS