

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE NEUROFARMACOLOGIA

**ESTUDIO DE LA INTERACCION ANTINOCICEPTIVA ENTRE NIMESULIDA Y
PARACETAMOL EN DOLOR AGUDO EXPERIMENTAL**

Jorge Ricardo Palma Cartes

TRABAJO DE INVESTIGACION
REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE
CIRUJANO DENTISTA

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

TUTOR ASOCIADO
Prof. Dr. Gianni Pinardi T.

SANTIAGO – CHILE
2005

AGRADECIMIENTOS

- A mis padres y hermano, por su cariño y apoyo incondicional durante toda la carrera.
- Al Dr. Hugo F. Miranda y al Dr. Gianni Pinardi por todos los conocimientos y apoyo entregado a lo largo del desarrollo del presente trabajo.
- A los Sres. José López y Alejandro Correa por su valiosa colaboración en la realización de este trabajo.
- A mis compañeros y amigos, Víctor Vásquez, Emilio Muñoz, Javier Véliz, Angelo Nova, Geancarlo Podetti, Leonel Vargas, Carlos Schneider, Cristián Reyes, por compartir todos estos años.

INDICE

	Páginas
Introducción y Marco teórico	1
Hipótesis	41
Objetivos	42
Material y Método	43
Resultados	48
Discusión	54
Conclusiones	58
Resumen	59
Bibliografía	61

INTRODUCCION Y MARCO TEORICO

El dolor es el motivo mas frecuente de consulta para acudir a un servicio médico. Si este dolor no es diagnosticado y manejado en forma apropiada puede generar hostilidad e insatisfacción en el paciente con el sistema de salud y personal de salud, provocar reingresos, y, alterar la calidad de vida familiar y personal del paciente. El mal manejo inicial del dolor agudo complica su pronóstico y tratamiento en el corto plazo, aumenta la cantidad de fármacos y/o técnicas usadas para valorarlo, aumenta los costos y favorece la cronificación del dolor. La gran mayoría de los pacientes odontológicos, consultan cuando el síntoma dolor altera su rutina diaria (1).

En la actualidad podemos definir el dolor como: “una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular existente o potencial, descrita en términos de ese daño”. Los biólogos reconocen que aquellos estímulos que causan dolor están relacionados a daño tisular (2).

El dolor es siempre subjetivo. Cada individuo aprende el significado de la palabra dolor a través de sus experiencias dolorosas que experimenta desde temprana edad (3). La sensación de dolor es considerada como un mecanismo protector del organismo, que alerta a la persona que lo padece de que algo “anda mal” y lo incita a iniciar alguna acción destinada a suprimir o disminuir el dolor (4). Sin embargo cuando se cronifica, pierde el sentido protector y se convierte él mismo en la enfermedad o en elemento fundamental de ella, provocando un estado de sufrimiento (4,5).

Se ha dicho que el dolor es uno de los “signos más tempranos de morbilidad en la naturaleza”, y es preeminente entre todas las experiencias sensitivas con las que los seres humanos juzgan la existencia de enfermedad dentro de sí mismos. En realidad el dolor es el síntoma más frecuente de enfermedad. Son relativamente pocas las enfermedades que no tienen una etapa dolorosa, y en muchas el dolor es una característica sin la cual debe quedar en duda el diagnóstico (6).

La naturaleza doble del dolor es la causa de algunas de las dificultades que se tienen para comprenderlo. Un aspecto, más fácil de comprender, es su generación por estímulos particulares y la transmisión de impulsos dolorosos a lo largo de ciertas vías. Más difícil de comprender es su calidad como estado mental íntimamente relacionado con las emociones, p. ej., la calidad de la angustia o el sufrimiento, “pasión del alma” en palabras de Aristóteles, que desafía la definición y la cuantificación (6). Muchas personas reportan dolor en ausencia de daño tisular o cualquier causa psicopatológica semejante; usualmente esto ocurre por razones psicológicas. (2).

Se distinguen tres dimensiones en la experiencia dolorosa:

1. Sensorial-discriminativa: su función es transmitir la estimulación aversiva e informa con precisión sobre la intensidad, duración, localización y cualidades de la misma.

2. **Motivacional-afectiva:** caracteriza el dolor como desagradable y aversivo, lo que genera en el sujeto distintas respuestas emocionales (miedo, ansiedad, etc.).

3. **Cognitivo-evaluativo:** da significado al dolor en función de la experiencia anterior del sujeto, contexto socioambiental, valores, etc. (4).

Tipos de dolor

Clasificación del dolor según su origen anatómico:

- **Nociceptivo somático:** si aparece luego de la estimulación nociceptiva de piel: dolor superficial, o bien si es después de la estimulación de tejido conectivo, músculo, huesos y membranas sinoviales: dolor profundo (7,8). Este tipo de dolor es percibido como una sensación desagradable, intensa y bien localizada.

- **Nociceptivo visceral:** Se origina en una estimulación nociceptiva de vísceras contenidas en las cavidades craneana, torácica, abdominal y pélvica, siendo usualmente poco localizado y acompañado de reflejos autónomos y somáticos (7).

- **Neurogénico:** dice relación con el dolor originado en el sistema nervioso periférico (SNP) ya sea por injuria o irritación de una rama nerviosa, o con el dolor derivado del daño o enfermedad en el sistema nervioso central (SNC) (7).

El dolor en cuanto a su duración se puede clasificar en agudo y crónico:

- **Dolor agudo:** es aquel que comprende el lapso estimado como necesario para que los tejidos sanen. Es un fenómeno de carácter transitorio asociado con

daño tisular real o potencial y que es útil para el resguardo de la integridad del organismo. (8)

- **Dolor crónico:** en contraposición al dolor agudo, es aquel que tiene una duración de mas de tres meses, o que por las características de su origen sobrepasa el tiempo que habitualmente podría definir un dolor agudo semejante (3). El dolor crónico es de tipo neuropático, ya que se origina en la lesión de estructuras nerviosas centrales y/o periféricas del sistema nociceptivo; no tiene valor adaptativo, ya que no es capaz de evocar respuestas reflejas ni conductuales protectoras, por el contrario, su percepción determina cambios psicológicos y cognitivos que influyen negativamente en la sobrevida del afectado (8).

Conceptos relacionados con dolor

Nociceptor: Un receptor preferencialmente sensible para un estímulo nocivo o para un estímulo el cual podría llegar a ser dañino si se prolonga. (2)

Estímulo Nocivo: Un estímulo nocivo es el que daña los tejidos normales (2)

Nocicepción: Es la respuesta neural que aparece tras la injuria tisular. Implica la transmisión y procesamiento de la información sensorial relacionada a la injuria y sus respuestas reflejas medibles. Este término se utiliza preferentemente para referirse a situaciones experimentales, donde el estudio de conductas estereotipadas o respuestas reflejas sólo permite estimar la magnitud del componente senso-discriminativo del dolor, pero no del componente afectivo-emotivo presente en el dolor verdadero (9)

Inflamación

Cuando se lesiona un tejido, ya sea por bacterias, traumatismo, sustancias químicas, calor u otros fenómenos, este libera múltiples sustancias que producen cambios secundarios importantes en los tejidos (10). El mecanismo de percepción del dolor es inseparable del inicio de la inflamación, la cual es la respuesta del tejido vivo a cualquier clase de lesión

Las células afectadas liberan distintas sustancias conocidas como mediadores, los cuales actúan sobre las vénulas y terminaciones nerviosas. Las primeras se dilatan, lo que causa enrojecimiento del área afectada y se vuelven permeables al plasma sanguíneo, el cual sale para provocar la hinchazón del tejido. La estimulación simultánea de las terminaciones nociceptivas resulta en la percepción del dolor. Sin embargo, los impulsos nerviosos no pasan sólo hacia el sistema nervioso central; también se propagan de manera antidrómica a lo largo de otras ramas periféricas de las fibras aferentes. En el caso de los axones cutáneos del grupo C, los impulsos causan la liberación de un neurotransmisor peptídico conocido como la sustancia P hacia los tejidos intersticiales de la dermis. Esta actúa sobre las arteriolas y en la dermis, la cual se dilata. La sustancia P también causa degranulación de los mastocitos, los cuales liberan más

mediadores, de aquí que mejoran la dilatación de las arteriolas y algunas veces también causan edema en el área circundante a la lesión. En la piel, el resultado total constituye la triple respuesta de Lewis: una marca roja e hinchazón, rodeados por un halo de vasodilatación arteriolar neurogénica. Un fenómeno con mediación neural como este, que no incluye ningún tipo de sinapsis, se llama un reflejo axónico. (11)

Factores químicos producidos durante el daño tisular

Una variedad de sustancias son liberadas por las células dañadas mientras otras son sintetizadas durante los eventos que siguen a la injuria tisular. Estos tienen un profundo impacto cualitativo y cuantitativo en la producción de inflamación y sobre la actividad de la fibra aferente. Entre estas tenemos especies oxígeno reactivas, protones, kininas, prostanoïdes, adenosin trifosfato, serotonina, histamina. (12).

Mientras las fibras sensoriales normalmente responden a un rango de estímulos físicos y químicos su actividad y metabolismo son profundamente alterados por una variedad de mediadores generados por el tejido injuriado y la inflamación. Esto incluye sustancias producidas por el tejido dañado, sustancias de origen vascular así como también sustancias liberadas por las mismas fibras aferentes, fibras simpáticas y varias células inmunes. Los efectos de los mediadores inflamatorios, para activar o sensibilizar las fibras aferentes, son producidos por cambios en los canales iónicos de la membrana que son acoplados directamente vía receptores, o más comúnmente son regulados a

través de receptores acoplados a cascadas de segundos mensajeros. Este proceso tiene también el potencial de alterar la transcripción de genes e inducen alteraciones en la bioquímica de las neuronas sensoriales. Esto puede tener consecuencias a distancia como la inducción de enzimas novel pudiendo afectar profundamente las propiedades del nociceptor y su capacidad para transmitir las señales dolorosas. Sin embargo, tales cambios pueden ser tratados con éxito por el desarrollo de nuevos analgésicos y agentes anti-inflamatorios. (12).

Vías del dolor

El comienzo de la información dolorosa es simple, los terminales nerviosos llamados nociceptores que forman una unidad funcional del dolor con tejidos y capilares cercanos. La injuria tisular causa que los terminales nerviosos se despolaricen, un evento que es propagado a lo largo de la fibra aferente finalizando en impulsos sensoriales en la espina dorsal. La descarga de fibras primarias aferentes en el sitio de la injuria causa la liberación de vesículas que contienen neuropéptidos tales como la sustancia P, que actúa de manera autocrina y paracrina para sensibilizar el nociceptor e incrementar esta tasa de descarga. El daño celular y la inflamación aumentan la concentración de otros mediadores químicos tales como la histamina, bradicinina y prostaglandinas en los alrededores de las unidades funcionales de dolor. Estos mediadores adicionales actúan sinérgicamente para aumentar la transmisión de impulsos nociceptivos a lo largo de la fibra sensorial aferente. Las fibras primarias viajan a través de la periferia de la espina dorsal donde ella sinapta una neurona secundaria e

interneuronas. Cuando son activadas, las interneuronas ejercen influencias inhibitorias sobre el tráfico de señales dolorosas. Influencias supraespinales eferentes, a su vez, determinan la actividad de interneuronas por liberación de una variedad de sustancias neurotransmisoras, resultando así un alto grado de modulación de nocicepción en la espina dorsal. Los eventos que ocurren en la periferia y en la espina dorsal pueden causar una disociación de la percepción del dolor desde la presencia o grado de la actual injuria tisular. Este fenómeno involucra muchos mediadores químicos y sistemas receptores, y puede incrementar la experiencia dolorosa cualitativamente, cuantitativamente, temporalmente y espacialmente. La complejidad y plasticidad del sistema nociceptivo puede generar dificultades en el manejo clínico del dolor. Entendiendo la estructura y señales químicas asociadas con este sistema puede mejorar el uso de los analgésicos existentes y mejorar estrategias para el desarrollo de nuevas y más específicas drogas contra el dolor. (13)

Es 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. (14). La sustancia gris medular de las astas posteriores fue clasificada por Rexed en 6 láminas. Las fibras A δ terminan en arborizaciones en las láminas I y V, y las fibras C terminan con sus arborizaciones en la lámina II y con menor densidad en la lámina I. Aquí termina la primera neurona sensitiva (14,15). Muchas fibras nociceptivas, antes de su ingreso a la sustancia gris, emiten colaterales

descendientes y ascendentes, constituyendo parte del haz de Lissauer. Estas colaterales tienen la posibilidad de formar sinapsis hasta dos segmentos medulares inferiores o superiores al del ingreso, lo que significa que la transmisión de una neurona primaria puede propagarse a varias raíces vecinas. El soma de la segunda neurona de esta vía se puede encontrar en la lámina I de Rexed o en las láminas IV, V o VI. Es importante destacar que las segundas neuronas reciben la información nociceptiva y la someten a transformaciones, mediante las cuales ésta va a ser filtrada y discriminada (16). 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.(15). Las segundas neuronas dan origen a tres haces ascendentes contralaterales : El neoespinotalámico y el paleoespinotalámico, que conforman la vía espinotalámica , y el espinoreticulotalámico. (15).

1) Haz neo-espinotalámico:

Como su nombre lo indica es de desarrollo filogenético reciente, se origina mayoritariamente de neuronas ubicadas en la lámina I y V de la médula espinal. Sus fibras cruzan la línea media, ascienden por el cuadrante anterolateral y sin interrupción sináptica se proyectan al tálamo contralateral, donde sinaptan con células de los núcleos ventro basales (ventroposterolateral y ventroposteromedial). Es aquí donde sinaptan con neuronas que se proyectan a zonas específicas de la corteza parietal o somatosensorial, cuya función es la de entregar ubicación topográfica al dolor. Constituye el 30% de todas las fibras del

tracto espinotalámico, son fibras mielínicas de conducción rápida, oligosinápticas, que transmiten información espacial y temporal discriminativa del estímulo doloroso. (17, 3).

2) El haz paleoespinotalámico

Proyecta en forma bilateral a los núcleos inespecíficos del tálamo: núcleos parafascicular, reticular, parte del centro mediano y la porción media magno celular del geniculado medio. Desde donde sinapta con la tercera neurona que lleva la información a zonas frontales de la corteza, para efectuar la evaluación cualitativa del dolor. (15)

3) 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, entre ellos el núcleo parafascicular, parte del centromedial y en forma especial el núcleo ventrolateral anterior. La proyección cortical de la tercera neurona es hacia la corteza inespecífica. A este haz se le atribuye mayor importancia en relación al componente afectivo del dolor. (15).

Vías descendentes desde los centros superiores a la médula espinal.

Son las encargadas del procesamiento de la percepción dolorosa y requiere de centros superiores de la corteza cerebral, que han sido corroborados gracias a las técnicas imagenológicas de tomografía por emisión de protones e imagen por resonancia magnética. Estos centros corresponden al tálamo, corteza sensitiva primaria, corteza sensitiva secundaria, corteza cingulada anterior, ínsula, corteza prefrontal y núcleo lentiforme (18) Las vías descendentes forman parte de los mecanismos endógenos de inhibición del dolor. A nivel del mesencéfalo son particularmente activas las áreas de la sustancia gris periacueductal. Esta estructura se proyecta en forma descendente a los núcleos bulbares, como el núcleo magnus del rafe y estos emiten finalmente sus axones hacia el asta posterior de la médula espinal. Dicho sistema utiliza una serie de transmisores químicos, que incluyen serotonina y opiáceos endógenos (19, 20)

Fármacos analgésicos anti-inflamatorios no esteroideos

Entre los múltiples fármacos usados para el tratamiento del dolor, tanto a nivel clínico como preclínico, se encuentran los analgésicos anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs) que son de los más usados en los diferentes tipos de dolor, tanto agudos como crónicos.(21)

Los AINEs, corresponden a un grupo muy diverso de sustancias que poseen estructuras químicas diferentes, pero que tienen la particularidad de poseer acciones analgésicas, antiinflamatorias, antipiréticas, antiagregantes

plaquetario, actividad anticancerígena, disminuyen riesgo en enfermedad de Alzheimer. Sin embargo, poseen un mecanismo de acción común con ciertas características terapéuticas y efectos adversos que les son similares.

Mecanismo de Acción de los AINEs

Los AINEs son uno de los agentes más ampliamente usados de todas las clases de drogas terapéuticas, actúan periféricamente por reducir la producción de prostaglandinas que sensibilizan terminaciones nerviosas en el sitio de la injuria. Efecto debido a la inhibición de enzima ciclooxigenasa (COX) que convierte el ácido araquidónico liberado desde la membrana fosfolipídica por fosfolipasas, a prostanoïdes como las prostaglandinas. (22).

Dos formas de COX han sido caracterizadas, una forma constitutiva (COX-1) y una forma que es inducida por mediadores inflamatorios (COX-2) . (23).

Las dos isoformas poseen estructuras casi idénticas, pero tienen importantes diferencias en cuanto a sus substratos, selectividad de sus inhibidores y ubicación intracelular. COX-1 se encuentra presente en casi todos los tipos celulares cumpliendo tareas fisiológicas tan importantes como sintetizar las prostaglandinas (PGs) citoprotectoras de la mucosa gástrica y mantener una función renal normal en riñones comprometidos, entre otras (24) COX-2 o *inducida*, está ausente en la mayoría de los tejidos, excepto en el cerebro, medula espinal, próstata, riñones y células neoplásicas del colon (25) Sin embargo, ella es inducida en la mayoría de los tejidos estimulados con sustancias propias de una reacción inflamatoria (24)

Si bien es cierto ambas isoenzimas están presentes en el sistema nervioso central (SNC) , estas no se distribuyen de manera homogénea. La COX-1 es más prevalente en el cerebro anterior, mientras que la COX-2 lo es en la corteza, hipocampo, hipotálamo y médula espinal además de ser la isoforma predominante en el cerebro de cerdos neonatos y médula espinal de la rata, mientras que el cerebro humano posee cantidades equitativas de COX-1 y COX-2. (26)

Interacción con neuronas periféricas y centrales involucradas en la transmisión del dolor:

Si bien es cierto el efecto analgésico de los AINEs se explica en gran medida por su mecanismo de acción común de inhibir las COXs, esta inhibición no es suficiente para explicar la eficacia de estos agentes en múltiples modelos de dolor agudo donde no existe inflamación (26,27)

Junto con lo anterior un gran número de ensayos sugieren que los AINEs ejercen antinocicepción al interactuar con neuronas periféricas o centrales involucradas en la transmisión de señales nociceptivas. Es así como existen trabajos que relacionan al sistema colinérgico, mediante el uso de agonistas y antagonistas, con la actividad antinociceptiva de AINEs. Los resultados de dichos estudios proponen que los AINEs aumentarían las concentraciones de acetilcolina tanto a nivel espinal como supraespinal, lo cual sería en parte responsable de su efecto antinociceptivo (26)

Existe evidencia que relaciona el efecto antinociceptivo de los AINEs como ketoprofeno, diclofenaco y piroxicam con la activación de receptores alfa-2-

adrenérgicos a nivel espinal y supraespinal, mientras que paracetamol podría ejercer antinocicepción principalmente por la activación del sistema descendente inhibitorio noradrenérgico vía receptores alfa-1-adrenérgicos (27)

Otro sistema involucrado en la antinocicepción generada por AINEs es el de los opiodes endógenos, lo cual es particularmente cierto para el caso del diclofenaco pues su analgesia ha sido revertida mediante naloxona (antagonista opioide) (28)

Otros estudios sugieren la participación del sistema serotoninérgico en la actividad antinociceptiva de AINEs (29,30)

Ambas isoformas de COX contribuyen a la producción de prostanoïdes espinales y supraespinales siguiendo la injuria tisular e inflamación. (22).

La acción analgésica de los AINEs puede ser dissociada de los efectos anti-inflamatorios y esto puede reflejar acciones adicionales espinales y supraespinales de los AINEs para inhibir variados aspectos del proceso de dolor central (31).

Recientemente, en un intento de minimizar ciertos efectos adversos con AINEs, han sido desarrollados inhibidores selectivos de COX 2. Esta estrategia gatilla la producción de prostaglandinas específicamente involucradas en dolor e inflamación mientras limita las prostaglandinas constitutivas que ejercen importantes roles fisiológicos tales como la mantención de la integridad de el recubrimiento gástrico y la función renal normal. Una nueva enzima, COX 3, ha sido recientemente descrita; esta tiene una distribución predominantemente

central, es selectivamente inhibida por acetaminofeno y dipirona. (32).Esta identificación tiene el potencial para explicar diversos aspectos de la farmacología de AINEs, como analgésicos (33).

Funciones de los AINEs

Antipirético (a):

La fiebre puede ser el resultado de un estado infeccioso o la secuela de un daño tisular, en ambos casos aumenta la formación de citoquinas tales como IL-1 β , IL-6, TNF α , interferones alfa y beta, estimulando la síntesis de PGE₂ en los órganos circumventriculares y cerca del área preóptica hipotalámica, que a su vez, mediante el aumento del AMP cíclico, obliga al hipotálamo a incrementar la temperatura corporal aumentando la generación de calor y disminuyendo la pérdida del mismo. Los AINEs suprimen esta respuesta al inhibir la síntesis de PGE₂. (34)

Anti-inflamatorio (a)

Todos los AINEs tienen propiedades anti-inflamatorias, antipiréticas y analgésicas mediadas por la inhibición de distintos pasos en la cascada del ácido araquidónico, particularmente en la vía de las ciclooxigenasas (28)

Analgésico (a)

Los AINEs frecuentemente son clasificados como analgésicos débiles, pero esta clasificación no es del todo correcta. Es importante considerar el

tipo de dolor tanto como su intensidad para poder evaluar su eficacia analgésica. Esto queda demostrado, en algunos casos de dolor post operatorio donde los AINEs pueden ser superiores a los analgésicos opioides (35).

Antiagregante plaquetario

Entre las drogas antiplaquetarias, las más ampliamente estudiadas son las capaces de inhibir las COXs. Un grupo de ellas, dentro de las cuales se encuentra la aspirina y otros AINEs como la indometacina, sulfinpirazona e ibuprofeno, inhiben la COX plaquetaria; siendo aspirina la única capaz de realizar esta función de manera irreversible, con lo cual el efecto antiplaquetario de una sola dosis de esta droga puede persistir durante 5 a 7 días, que es el tiempo de vida plaquetario (36)

Conocido es ya el uso de dosis bajas de aspirina para la profilaxis de fenómenos tromboembólicos coronarios y cerebrovasculares. Estos beneficios terapéuticos se obtienen al favorecer el balance hacia la formación de prostaciclina en lugar de tromboxano, pues la formación de este último se ve disminuida mediante el bloqueo irreversible de la ciclooxigenasa plaquetaria (3).

Antitumorigénesis

Estudios epidemiológicos han establecido un fuerte vínculo entre la ingestión crónica de aspirina y un reducido riesgo a desarrollar cáncer de colon. Hoy se cree también que los tumores gástricos y mamarios son susceptibles de

ser tratados con inhibidores selectivos COX-2, dado que se han demostrado altos niveles de proteína COX-2 en dichos tumores a diferencia de los tejidos circundantes (37)

Labor de parto

Los AINEs retardan el parto prematuro al inhibir la síntesis de prostaglandinas. Un ejemplo de parto prematuro es el que se produce por infección uterina, donde la liberación de factores endógenos incrementa la síntesis de prostaglandinas mediante una " up – regulation" de la COX-2, desencadenando las contracciones. De esta manera bloqueadores COX-2 selectivos pueden ser usados para retardar el parto sin los efectos colaterales de los AINEs tradicionales no selectivos (37)

Enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer está caracterizada por depósitos cerebrales de péptidos β – amiloideos, que son rodeados de células inflamatorias. Estudios epidemiológicos han mostrado que el uso prolongado de drogas anti – inflamatorias no esteroideas reducen el riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer y retarda el comienzo de la enfermedad (38).

Efectos adversos de los AINEs

Además de compartir muchas actividades terapéuticas, los AINEs comparten también varios efectos colaterales. La tendencia a producir

manifestaciones tóxicas puede diferir en gran medida entre los distintos AINEs y varias especies (35). Una *reacción adversa* a droga es cualquier respuesta no deseada y no intencionada que ocurre con la dosis terapéutica de ella. Resultan de su efecto farmacológico o con mucha menor frecuencia, de reacciones tóxicas o idiosincrásicas. (25), entre ellos se mencionan :

Ulceración gastro-intestinal

Es la más común de las complicaciones y frecuentemente se acompaña de anemia secundaria e hipoproteinemia debido a la pérdida sanguínea y plasmática respectivamente. Los AINEs varían considerablemente en cuanto a la capacidad de generar este tipo de problema. El mecanismo involucrado trata de la irritación local y la inhibición en la síntesis de PGE_1 y $PGE_{2\alpha}$, las cuales son responsables de inhibir la secreción gástrica y promover la producción del mucus citoprotectivo en el tracto gastrointestinal (35).

Bloqueo de la agregación plaquetaria

Tromboxano y prostaciclina son dos sustancias que pertenecen a la cascada de eicosanoides generada por COXs. Su función es la de integrar en parte el sistema de hemostasia local del vaso sanguíneo junto con las plaquetas y factores de la coagulación. En este sentido la acción antiagregante y vasodilatadora es favorecida por la prostaciclina, que es la sustancia más poderosa conocida con estas funciones, y por otra parte, el tromboxano favorece

la agregación plaquetaria y vasoconstricción (3). La administración de AINEs debilita la adhesión plaquetaria mediante la disminución del tromboxano A₂ plaquetario, generándose así una tendencia al sangrado(39).

Inhibición de la motilidad uterina

El retraso del parto por parte de los AINEs si bien es cierto se describió como una posibilidad terapéutica, también puede ser considerado como un efecto adverso en circunstancias particulares. El mecanismo que fundamenta este proceso es la habilidad de los AINEs para inhibir la síntesis de prostaglandinas, particularmente la PGF₂^α, pues son ellas las responsables de la contracción uterina en el momento del parto (37)

Nefropatía

Los AINEs tienen poco efecto sobre la función renal de animales saludables. Sin embargo animales que padecen hipovolemia, falla cardíaca congestiva u otros desordenes cardiovasculares pueden desarrollar una disfunción renal aguda si son sometidos a repetitivas dosis de AINEs. Este efecto refleja la función de prostaglandinas renales de disminuir la influencia vasoconstrictiva de norepinefrina y angiotensina 2. De esta manera el uso crónico de AINEs sumado a los factores predisponentes puede traer como consecuencia el desarrollo de necrosis papilar o de la cresta renal y nefritis intersticial crónica (39).

Reacciones de hipersensibilidad

Los AINEs se encuentran entre los medicamentos que más producen reacciones adversas. Los síntomas clínicos más frecuentes incluyen shock anafiláctico, broncoespasmo, urticaria, angioedema y erupciones cutáneas (40).

La aspirina es uno de los AINEs más utilizados en el mundo, siendo sus efectos adversos tan antiguos como su primer uso. Los trastornos renales y gastrointestinales son los más corrientes, pero los efectos adversos respiratorios también son comunes pues aproximadamente el 10 % de los adultos asmáticos son intolerantes a la aspirina. Muchos de estos pacientes presentan la llamada triada de la sensibilidad salicílica que incluye rinosinusitis crónica, poliposis nasal y asma severa (41).

Discrasias sanguíneas

Las discrasias sanguíneas pueden ser inducidas por drogas y comprenden alteraciones hematológicas tales como agranulocitosis, anemia aplásica, anemia hemolítica y trombocitopenia (42).

La agranulocitosis es una reacción adversa potencialmente letal de dipirona (metamizol) y en suiza se estima que la incidencia es de a lo menos 1:1439 casos. Además el 92 % de las discrasias sanguíneas ocurren durante los dos primeros meses de tratamiento con dipirona (43).

Dipirona es una de las drogas que con mayor frecuencia es informada en casos de agranulocitosis o neutropenia (44)

Múltiples estudios epidemiológicos relacionan serias reacciones adversas, entre la cuales están las discrasias sanguíneas, con el uso de aspirina, diclofenaco, acetaminógeno y dipirona (45).

Clasificación de los AINES (Según vademécum odontológico 2002)

1- Ácidos acéticos :

Fenilacéticos : ej. Aceclofenaco, diclofenaco

Indolacéticos : ej. Indometacina, acemetacina

Pirrolacéticos: ej. Ketorolaco

2- Anilínicos : Paracetamol

3- Enólicos : Piroxicam ,Tenoxicam

**4- Fenamatos : Ácido meclofenámico, Ácido mefenámico,
Clonixinato de lisina**

5- Fenilpropiónicos: Flurbiprofeno, Ibuprofeno, Ketoprofeno,
Naproxeno

6- Pirazolónicos: Fenilbutazona, Metamizol, Propifenazona

7- **Salicílicos:** Ácido acetilsalicílico

8- **Otros AINES:** Meloxicam, Nimesulida

Paracetamol

El paracetamol (acetaminofeno), es el metabolito activo de la fenacetina, un analgésico derivado de la anilina. Se clasifica dentro del grupo de los para-aminofenoles.

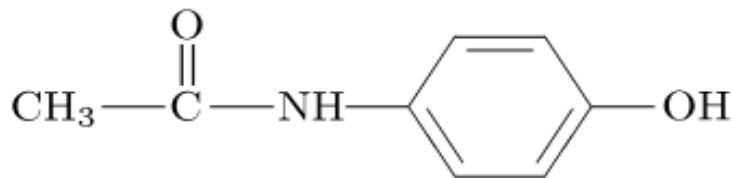


Figura 1. Estructura química de paracetamol

Después de su ingestión, el paracetamol se absorbe en forma rápida y casi completa en el tracto gastrointestinal. Su concentración plasmática alcanza un máximo en 30 a 60 minutos y su vida media es de 2 horas. El paracetamol se distribuye de manera relativamente uniforme en casi todos los líquidos corporales, se une levemente a proteínas plasmáticas, atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica y se metaboliza en el hígado (46)

Paracetamol es un fármaco eficaz, que puede utilizarse en vez de la aspirina como analgésico y antipirético en una serie de cuadros como son: dolor leve a moderado, dolor postoperatorio, cefaleas, dolor muscular y articular, dolor postparto y fiebre. Sin embargo, no es un fármaco útil para combatir trastornos inflamatorios (47).

Estudios recientes señalan que paracetamol oral presenta demostrada eficacia en modelos de dolor postoperatorio luego de cirugía de terceros molares. (48). Con dosis habituales (500 mg. 3 ó 4 veces al día) y administradas por periodos cortos, el paracetamol presenta pocos efectos colaterales; las reacciones alérgicas son raras. La ingestión de dosis excesivas de paracetamol puede causar necrosis hepática potencialmente mortal, necrosis tubular renal y discrasias sanguíneas. Sin embargo, presenta una serie de ventajas si se compara con otros analgésicos como la aspirina, ya que carece de efectos en la agregación plaquetaria, no causa irritación gastrointestinal, hemorragia ni agrava las úlceras (47)

El mecanismo de acción exacto del paracetamol es aún desconocido. No se ha explicado de manera satisfactoria la razón por la cual constituye un eficaz agente analgésico y antipirético. Se piensa que los mayores efectos del paracetamol se producirían a nivel central, por ser un mal inhibidor de la cicloxigenasa a nivel periférico, pero es un potente inhibidor de la ciclooxigenasa a nivel central(49). Más aún, al parecer el paracetamol inhibiría la enzima ciclooxigenasa sólo en un entorno con poco peróxido (como en el hipotálamo), lo cual explicaría en parte su poca actividad antiinflamatoria, dado que en los sitios inflamados casi siempre contienen altas concentraciones de

peróxidos generados por leucocitos (46). Se ha establecido que el paracetamol tiene una acción altamente localizada en el cerebro, bloqueando una enzima hasta entonces desconocida y altamente implicada en la transmisión del dolor, llamada COX-3 encontrada en el cerebro y la médula espinal, que es inhibida selectivamente por paracetamol, y es distinta de las dos enzimas ya conocidas COX-1 y COX-2 (32)

En recientes estudios sobre el mecanismo de acción del paracetamol, utilizando el test del movimiento de la cola , en ratas, se ha descubierto que la analgesia es debido a una acción central la cual es paralela a una reducción en la concentración de PGE-2 en el cerebro. Estos resultados soportan que la analgesia debida a paracetamol es mediada por la inhibición de una tercera isoenzima COX (Designada COX-3) (50).

Otros trabajos actuales señalan que COX-3, una variante de COX-1, ha sido sugerida para ser el sitio de acción de paracetamol, pero análisis genómicos y cinéticos indican que esta interacción selectiva es improbable para ser clínicamente relevante. A su vez señala que existe considerable evidencia que el efecto analgésico de paracetamol es central y es debido a la activación de vías descendentes serotoninérgicas, pero el sitio primario de acción puede ser por inhibición de la síntesis de prostaglandinas. La acción del paracetamol a nivel molecular no esta clara aún, pero podría ser relacionada a la producción de metabolitos reactivos por la función peroxidasa de la COX-2. (51).

También se ha propuesto que paracetamol produciría efecto antinocepcivo mediante la activación de receptores opioides, aunque el subtipo de receptor y su

ubicación a nivel central es aún desconocido. Paracetamol presentaría afinidad por receptores opioides del tipo μ solo a altas concentraciones (52) Sin embargo, en otros estudios experimentales en los cuales se utilizaron animales pretratados con naloxona, antagonista no selectivo de receptores opioides, no se alteró la actividad antinoceptiva del paracetamol, lo cual sugeriría que la activación de algún (os) tipo (s) de receptores opioides no estarían involucrados en el mecanismo de acción de esta droga (53)

Nimesulida

La nimesulida es una sulfonanilida con la siguiente estructura:

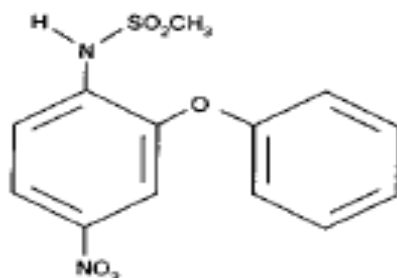


Figura 2. Estructura química de nimesulida

Nimesulida es un antiinflamatorio no esterooidal muy efectivo, además es bien tolerado comparado con otros AINEs. Es seguro para algunas condiciones en que otros AINEs son contraindicados y tiene un rápido comienzo de acción.

Nimesulida es el primer AINE descrito para inhibir la COX-2, selectivamente. (54) La nimesulida se absorbe en forma rápida y extensa (concentraciones plasmáticas máximas surgen en cuestión de unas cuatro horas)

después de la administración oral. Puede aplicarse por supositorio rectal, pero la biodisponibilidad de este producto por esta vía es de 70% en comparación con la que se logra después de la dosis oral. El compuesto se liga extensamente a proteínas plasmáticas (Mayor a 95%). La vida media es de casi tres horas. La nimesulida se metaboliza sobretodo a un derivado 4-hidroxi y los metabolitos se excretan de modo preferente (mas de un 80%) por riñones. Este producto se administra dos veces al día.(46).

Nimesulida tiene buenas actividades analgésicas y antipiréticas esperadas en AINEs, y es efectiva en un amplio rango de desordenes. Este incluye varias condiciones artríticas, desórdenes músculo esqueléticos, dolor de cabeza, problemas ginecológicos y urológicos, dolor post quirúrgico y dolor de cáncer, enfermedades vasculares e inflamación de vías aéreas. Es particularmente interesante que nimesulida sea usualmente seguro para pacientes con broncoconstricción con aspirina u otros AINEs. (55)

Estudios recientes en ratas señalan su efectividad sobre alteraciones cardiovasculares en endotoxemia (56). En un estudio comparativo entre nimesulida y diclofenaco se encontró que nimesulida tiene un rápido comienzo de acción en el compartimiento sanguíneo, con una temprana inhibición en la generación de prostaglandina E₂, el cual es un índice de la actividad COX-2. Así otros factores además de la inhibición local de prostaglandinas pueden explicar el rápido comienzo de analgesia que es asociado con nimesulida, incluyendo un posible mecanismo central de alivio del dolor. (57) Otro estudio comparativo de eficacia entre nimesulida, celecoxib y rofecoxib para la osteoartritis de rodilla,

encontró que nimesulida provee el efecto mas rápido en alivio del dolor comparado con las otras dos drogas, concluyendo así que en pacientes con artritis reumatoídea, nimesulida representa un efectivo agente contra el dolor articular con particular referencia sobre el rápido comienzo de su efecto analgésico. (58)

Nimesulida es generalmente bien tolerada en todos los pacientes, incluyendo ancianos, quienes son a menudo tratados concomitantemente con varios medicamentos, y también en niños (59). Interacciones con otras drogas son poco comunes, y la incidencia de eventos adversos en ancianos es comparable a personas jóvenes. La acidez débil de la nimesulida (PKa 6.5) presumiblemente también contribuye a su relativamente buena tolerabilidad gástrica.(60) En 5 a 10% de quienes la reciben, se han observado efectos adversos que suelen surgir en vías gastrointestinales, piel y sistema nervioso. La nimesulida es útil sobre todo en individuos con hipersensibilidad alérgica a la aspirina o a antiinflamatorios no esteroides. (46) En un estudio sobre la seguridad de nimesulida y meloxicam como drogas alternativas a pacientes intolerantes a AINEs se encontró que el 98.4% de los pacientes toleró nimesulida y un 95.4% toleró meloxicam. (61)

El mecanismo de acción de nimesulida incluye:

1) Inhibición en la síntesis de prostaglandinas.

Las prostaglandinas son importantes en fiebre, inflamación y dolor. Dos formas de COX, las enzimas que sintetizan prostaglandinas son ahora conocidas

(62). Casi todas las formas disponibles de AINEs bloquean ambas formas de COX, y ambas tienen buenos y malos efectos. La enzima COX-1 que está presente normalmente (constitutiva) en la mucosa gastrointestinal y en el hígado forma prostaglandinas que tienen roles fisiológicos los cuales contribuyen a mecanismos protectivos. En contraste, estímulos inflamatorios inducen la formación de COX-2 (Ej. en leucocitos), los cuales vuelven formas de prostaglandinas que contribuyen al proceso patofisiológico (63) Nimesulida es la primera droga promocionada con un efecto preferencial sobre COX-2 comparada con COX-1, como es demostrado por estudios en leucocitos humanos y tejido de mucosa gástrica aislada, pero ahora confirmado repetidamente. Esto relacionado a su relativamente buena tolerabilidad. (64)

Nimesulida representa una clase de AINEs caracterizada por su acción selectiva sobre COX-2, Ensayos *ex vivo* de suero tromboxano B₂ y endotoxina – inducida Prostaglandina E₂, han mostrado que nimesulida es altamente

selectiva para COX-2 (65).

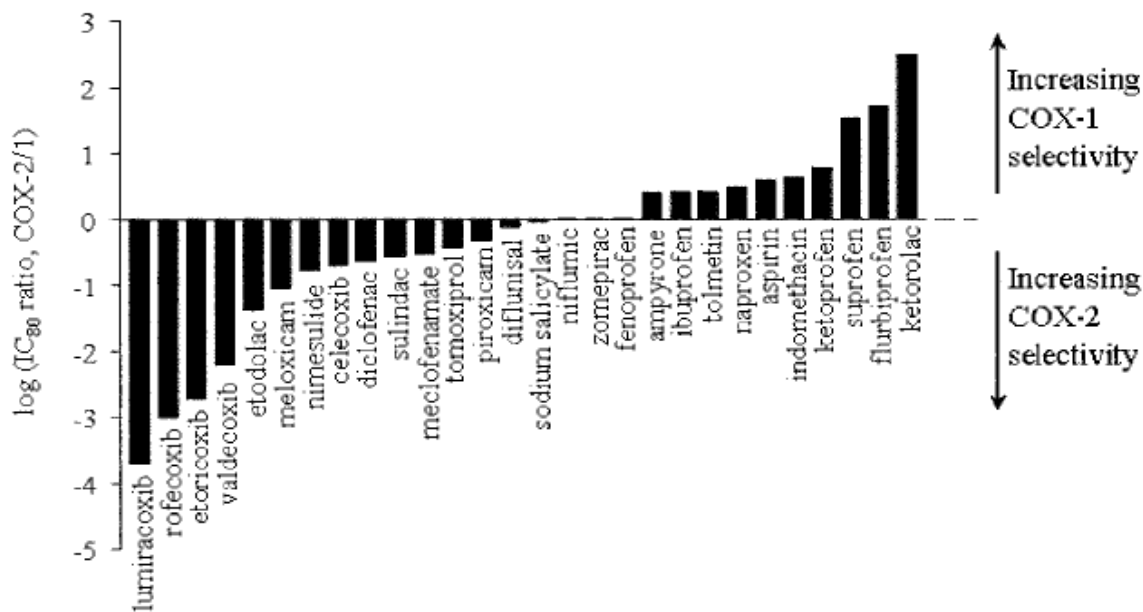


Fig. 3 Selectividad de nimesulida y otros AINEs por COX-1 y COX -2

2) Inhibición en la formación de metabolitos tóxicos del oxígeno.

Los metabolitos tóxicos del oxígeno contribuyen a la inflamación y al dolor. Con neutrófilos humanos activados *in vitro*, nimesulida reduce substancialmente la actividad de la vía de la mieloperoxidasa (el cual forma ácido hipocloroso), y para una muy pequeña y empobrecida generación de peróxido de hidrógeno. Nimesulida también protege la α 1 antitripsina de la oxidación mediada por neutrófilos, posibilitando así el atenuamiento de la actividad elastolítica de los neutrófilos (66)

3) Liberación de citoquinas.

La reducción de la acción de citoquinas por nimesulida muestra ser única entre AINEs. En ratas la droga inhibe la liberación de factor de necrosis tumoral α (TNF α) los cuales gobiernan la liberación de otras citoquinas hiperalgésicas (67).

4) Degradación de cartílago.

En cartílago osteoartrítico los dos mayores componentes de la matriz, proteoglicanos y colágeno, pueden ser destruidos por las metaloproteasas, estromelina y colagenasa. Nimesulida reduce substancialmente la síntesis de estas enzimas degradativas en cartílago osteoartrítico humano estimulado *in vitro* por interleukina 1 y esto fue una tendencia de menor destrucción de cartílago.(68).

5) Interleucina-6, urokinasa, plasminógeno activador inhibidor.

Con fibroblastos sinoviales osteoartríticos en cultivo, concentraciones terapéuticas de nimesulida reducen la síntesis de interleukina – 6 y urokinasa, mientras incrementan la producción de plasminógeno activador inhibidor-1, Estos efectos podrían ayudar a reducir la destrucción de cartílago.(69).

Un estudio reciente en ratas, señala que nimesulida presenta un significativo efecto analgésico en el test del movimiento de la cola y en el test de formalina bajo condiciones de laboratorio. Además la droga se muestra efectiva sobre la hiperalgesia inducida con nitroglicerina. El mapeo cerebral de los núcleos

activados por la administración de nitroglicerina muestra que con el pretratamiento nimesulida se inhibe significativamente la activación neuronal en diversas áreas como el núcleo supraóptico, la columna ventrolateral de la sustancia gris periacueductal, locus coeruleus, núcleo del tracto solitario, área postrema. Concluyendo así que nimesulida posee una fuerte actividad analgésica y antihiperalgésica, siendo sus mecanismos de acción particularmente centrales. (70)

Nimesulida presta una gran utilidad a la odontología en el alivio del dolor e inflamación en el post operatorio de acciones como cirugía oral y máxilofacial. La eficacia y tolerancia de la nimesulida fue comparada con el ketoprofeno, ambos administrados rectalmente en pacientes intervenidos en cirugía dental. Nimesulida resultó ser más efectivo y más rápido que el otro fármaco en aliviar los síntomas molestos de la inflamación (dolor en reposo y a la masticación); y signos como aumento de volumen e hiperemia asociados con la operación. Estos efectos se acompañan además de una mejoría de la calidad del sueño y un restablecimiento de la función masticatoria y de la deglución. (71). En un estudio realizado en pacientes del hospital San Juan de Dios, demostró que la administración oral de 100 mg de nimesulida presenta una actividad analgésica superior al piroxicam a los 60,120,180 y 240 minutos después de la ingestión del medicamento, en pacientes que habían sido sometidos a cirugía de extracción de terceros molares incluidos(72).

Naltrexona

Los analgésicos opioides producen sus efectos farmacológicos, terapéuticos y adversos al estimular receptores específicos: mu (μ), kappa (κ) y delta (δ). Estos se encuentran distribuidos ampliamente en el sistema nervioso central y periférico, predominando en zonas relacionadas con la transmisión del dolor. (73). Se ha descrito que a nivel de la médula espinal existe una distribución no uniforme de receptores opioides, en que la mayoría de ellos, alrededor del 70%, corresponde a receptores μ , 23% a receptores δ y 7% a receptores κ (74). Además, existen estos receptores en el tracto gastrointestinal, sistema cardiovascular y glándulas suprarrenales.

Los opioides tienen efectos farmacológicos principalmente en el sistema nervioso central y gastrointestinal. La analgesia, que es el efecto clásico y el más estudiado, se produce por acción de los narcóticos a nivel supraespinal y espinal, inhibiendo la transmisión del dolor y los componentes emocional y afectivo asociados. La estimulación de receptores μ ubicados en las vías del dolor produce analgesia de mayor potencia. (73). La naltrexona es un antagonista no selectivo de los receptores opioides, pero con mayor afinidad al receptor μ , de tal modo que revierte todos los efectos producidos por los fármacos opioides.

Se utiliza clínicamente en el tratamiento de la intoxicación inducida por opioides y por alcohol. Tiene una mayor eficacia por vía oral que parenteral, alcanza su concentración máxima en el plasma en un plazo de dos horas con una vida media de catorce horas. (46).

Asociación de fármacos

Si se co-administran 2 drogas es posible obtener 3 tipos de efectos: (a) aditivos, que corresponde a la simple suma de los efectos que producen cada una de ellas separadamente, (b) subaditivo: también llamado antagónico, y que corresponde a un efecto menor que la simple suma de cada agente por separado y (c) sinérgico o supra-aditivo: que es un efecto mayor que la suma de los efectos por separado de cada droga. (75, 76,77)

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

Interacción de drogas

El estudio de la interacción analgésica entre los AINEs no ha sido muy extenso, refiriéndose fundamentalmente a la interacción sinérgica entre ketorolaco y tramadol en ratas artríticas. (78). Igual efecto sinérgico ha sido demostrado entre tramadol y metamizol (79), y entre paracetamol y codeína (80), entre ibuprofeno y dextrometorfano, en dolor postoperativo ginecológico (81) y de ibuprofeno e hidrocodona en dolor térmico en ratas (82).

Sin embargo, un estudio pormenorizado entre otros AINEs no ha sido realizado. Por ello en el presente trabajo se evaluará la interacción entre nimesulida y paracetamol en un modelo animal de dolor agudo tónico visceral (writhing test o test de las contorsiones). Se ha elegido paracetamol por ser un AINE atípico ya que se le adscriben propiedades inhibitorias de una nueva isoforma de COX, la llamada COX-3 (32).

Se asociará con nimesulida por ser un inhibidor selectivo de COX-2 con un perfil farmacológico de marcada eficacia analgésica, anti-inflamatoria y antipirética, en diversos cuadros dolorosos de diferente etiología incluyendo aquellos que se encuentran en la práctica odontológica. (71,72).

HIPOTESIS

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

OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar la actividad antinociceptiva de paracetamol y de nimesulida en el modelo experimental de dolor agudo denominado test de las contorsiones abdominales.

Objetivos específicos:

1.- Evaluar la antinocicepción inducida por la administración intraperitoneal de paracetamol y de nimesulida en el modelo de las contorsiones abdominales inducidas por la administración intraperitoneal (i.p.) de ácido acético al 0.6 % en ratones.

2.- Caracterizar la naturaleza de la interacción antinociceptiva, producida por la combinación i.p. de dosis subanalgésicas de paracetamol y nimesulida, usando el método de las contorsiones abdominales ácido acético inducidas.

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

MATERIAL Y METODO

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



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

Ésta fue realizada de acuerdo a un protocolo aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina, en el cual, cada animal recibió solamente una dosis de las drogas a ensayar, las observaciones se efectuaron en forma randomizada, ciega y controladas con salino. Los animales fueron sacrificados inmediatamente después del experimento mediante dislocación cervical. El número de animales fue el mínimo necesario para obtener datos estadísticos reproducibles.

1- Test de las contorsiones

La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó por el método de contorsiones abdominales o writhing test que usa un estímulo químico irritativo. En este método se utiliza como estímulo nociceptivo, la inyección i.p. de 10 ml/kg de una solución de ácido acético al 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 una elongación de las extremidades posteriores. El ensayo algesiométrico se realizó al momento del efecto máximo de cada droga, el cual fue determinado previamente, siendo 30 minutos.



Fotografía 2. Contorsión provocada por la inyección i.p. de 10 ml/kg de una solución de ácido acético al 0.6%.

2- Administración de las drogas

Los fármacos se administraron por vía intraperitoneal disueltos en solución salina en un volumen constante de 10 ml/kg, 30 minutos antes del test algesiométrico, tiempo determinado previamente.

3- Drogas

Las drogas utilizadas fueron: paracetamol, nimesulida y naltrexona, todos ellos administrados por vía i.p. La naltrexona 1mg/kg fue administrada por vía i.p., 30 minutos antes de la administración de paracetamol, nimesulida y la mezcla de ambas.

4.- Evaluación de las interacciones.

Para la evaluación de las interacciones, se usó el método isobolográfico del laboratorio, para ello se construyeron curvas dosis-respuestas de los fármacos administrados por vía sistémica (ip) con un mínimo de 6 animales por cada una de al menos 4 dosis. La dosis efectiva 50 (DE_{50}), que corresponde a la cantidad de fármaco produce el 50 % del efecto máximo, se calculó mediante análisis de regresión lineal de las correspondientes curvas dosis-respuesta.

Las interacciones entre las diferentes drogas, se efectuó administrando simultáneamente combinaciones en proporciones fijas de 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de las DE_{50} de paracetamol y nimesulida, vía i.p., en el test de las contorsiones. Se calculó el índice de interacción según :

$$DE_{50} \text{ experimental} / DE_{50} \text{ teórico de aditividad}$$

Que representa una magnitud de la interacción, que cuando es igual a 1, la interacción es aditiva. Si es menor que 1 es supraaditiva y si es mayor que 1 es subaditiva. (76)

La coadministración se efectuó en animales con y sin pretratamiento de 1 mg/kg, i.p. de naltrexona, antagonista opioide μ selectivo, más potente y de mayor duración que naloxona.

5.- Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como porcentaje de antinocicepción (%AN) de acuerdo con la siguiente expresión:

$$\%AN = 100 - [WE / WC \times 100]$$

donde :

WE = número de contorsiones de los animales inyectados con droga

WC = número de contorsiones en los animales inyectados con salino o solvente apropiado.

El estudio estadístico de los datos de las curvas logarítmicas dosis-respuesta se realizó mediante regresión lineal con el método de los cuadrados mínimos para determinar las DE₅₀ Los parámetros estadísticos relativos a los isobogramas (83, 26) se calcularon con un programa computacional del laboratorio de neurofarmacología de la Facultad de Medicina. La significación estadística se determinó por análisis de varianza y pruebas de t de Student. La significancia fue considerada a un nivel del 5 %. (P < 0.05).

RESULTADOS

1. Grupo control writhing test:

La administración de 10 ml/kg de solución fisiológica vía i.p., 30 minutos antes del estímulo nociceptivo (ácido acético al 0.6 %), produjo 19.77 ± 0.28 contorsiones, (n = 30).

2. Grupo tratado con AINEs:

Paracetamol: la administración de paracetamol, i.p., en el ensayo algiesiométrico de las contorsiones abdominales, produce una actividad

antinoceptiva dosis-dependiente, cuya curva se muestra en la figura 4. La DE_{50} del paracetamol por vía i.p. resultó ser de 49.4 ± 3.32 mg/kg.

Nimesulida: al administrar nimesulida por vía i.p., induce una respuesta antinociceptiva de naturaleza dosis-dependiente, en el test de las contorsiones, como se observa en la figura 5. Al deducir la DE_{50} de este AINE resultó ser de 7.6 ± 1.25 , mg/kg.

Figura 4. Curva dosis respuesta de paracetamol en el ensayo de las contorsiones abdominales inducidas por ácido acético

Figura 5. Curva dosis respuesta de nimesulida en el ensayo de las contorsiones abdominales inducidas por ácido acético

Paralelismo de las curvas dosis-respuesta de los AINEs

Al analizar las curvas dosis-respuesta de la actividad antinociceptiva, obtenidas en el ensayo de las contorsiones, obtenidas con nimesulida y paracetamol, se encontró que ellas eran estadísticamente paralelas, como se observa en la figura 6.

Figura 6. Curvas dosis respuesta de paracetamol y de nimesulida en el ensayo de las contorsiones abdominales inducidas por ácido acético.

Análisis isoblográfico

El estudio de la interacción analgésica entre paracetamol y nimesulida administrados por vía i.p. y en proporciones fijas de sus DE_{50} 's , fue realizado por el análisis isoblográfico. Los resultados demostraron que dicha interacción antinoceptiva es de naturaleza sinérgica o supraaditiva. El pretratamiento de los animales con naltrexona (1mg/kg, i.p.) no modificó la naturaleza de dicha interacción, ya que la ubicación del punto que representa la DE_{50} de la mezcla paracetamol / nimesulida no es significativamente diferente al que se obtiene sin la previa administración del antagonista opiode. Estos resultados se observan en la figura 7. Por otra parte, el índice de interacción entre paracetamol y nimesulida, resultó ser de 0.386 que corresponde a un índice de interacción sinérgica (índice menor que 1).

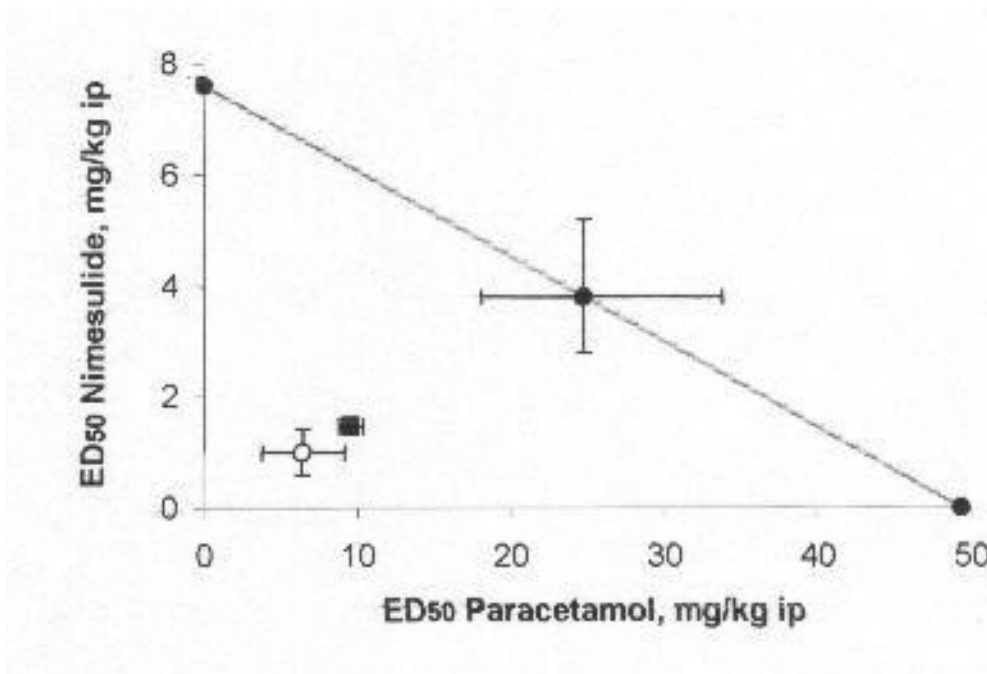


Figura 7. Isoblograma de la interacción paracetamol/nimesulida, administrados por vía i.p.; en el writhing test. El (●) representa el punto de aditividad teórica de la mezcla; el (○) corresponde al punto experimental y el (■) representa el punto obtenido después del pretratamiento de los animales con naltrexona (1mg/kg).

DISCUSION

El presente trabajo demuestra que la administración de paracetamol o de nimesulida por vía i.p. produce una actividad antinociceptiva dosis-dependiente, en

el test de las contorsiones. Los resultados obtenidos son concordantes con los descritos en otros estudios algesiométricos (84)

En el caso de la nimesulida, se explica su acción al inhibir la actividad de COX-2, y en consecuencia la biosíntesis de PG y tromboxanos. Para el caso del paracetamol, se ha postulado que la actividad analgésica estaría relacionada con la inhibición preferencial de la isoforma COX-3, especialmente a nivel del sistema nervioso central (32).

No obstante, el paralelismo obtenido entre las curvas dosis-respuesta antinociceptivas de nimesulida y paracetamol, sugiere la existencia de algún mecanismo de acción común, que podría estar relacionado, ya sea con la bioinhibición de las isoformas de COX, con la utilización de un segundo mensajero intracelular común, o con la liberación de alguna sustancia analgésica endógena común.

La administración de la mezcla nimesulida y paracetamol por vía i.p. produce una actividad antinociceptiva dosis dependiente de tipo sinérgico, en el que el efecto analgésico producido con la mezcla es significativamente mayor que la suma de los efectos separados de cada droga, lo que fue corroborado al obtenerse un índice de interacción menor que 1. La explicación de esto puede residir en la existencia de mecanismos complementarios, tanto a nivel farmacocinético y farmacodinámico.

A nivel farmacocinético la sinergia puede deberse a un aumento de la concentración local en el sitio receptor, producido por acción de nimesulida sobre paracetamol o vice-versa, debido a que presentan efectos sobre isoformas diferentes de COX o también puede deberse a una disminución de la inactivación, por la misma razón sugerida para la interacción farmacocinética de cambio en la concentración local.

En el caso, de explicarse la sinergia, por una interacción farmacodinámica, se sugiere que la activación de un pool común de segundos mensajeros, por nimesulida y/o paracetamol, podrían promover un efecto cooperativo, que se traduciría en una acción multiplicativa en su efecto final. (85).

Además los efectos sinérgicos también podrían ser explicados por interacciones funcionales resultantes de la acción de nimesulida y/o paracetamol en sitios anatómicos separados, ya sea a nivel pre o post sináptico, que podrían actuar en forma independientemente o conjuntamente, incrementando así la inhibición de la nocicepción.(86).

La falta de cambios estadísticamente significativos en la sinergia antinociceptiva de la co-administración de nimesulida y paracetamol, producida por el pretratamiento con naltrexona, se podría explicar por la baja dosis administrada del antagonista naltrexona, por vía sistémica, la cual no alcanza para obtener una concentración capaz de bloquear la actividad antinociceptiva de nimesulida y paracetamol. Además dado que la dosis de naltrexona de 1 mg/kg, es la frecuentemente utilizada en los ensayos algesiométricos de ratones, para antagonizar los efectos producidos por los receptores opioides, especialmente del

subtipo μ , se sugiere que ellos no están comprometidos en la sinergia producida por la combinación de nimesulida con paracetamol.

Los hallazgos del presente trabajo no concuerdan con trabajos previos que demuestran que la analgesia inducida por paracetamol es revertida por la administración de naloxona (52), este hallazgo demuestra que paracetamol presenta afinidad por receptores opioides de tipo μ , por lo que se ha sugerido que el paracetamol produciría efecto antinociceptivo mediante la activación de receptores opioides (52). Las diferencias en este estudio podrían explicarse por los diferentes protocolos experimentales, sin embargo, también existen otros estudios experimentales que demuestran la no participación del sistema opioide en la actividad antinociceptiva del paracetamol. (53).

Independientemente, del mecanismo de acción intrínseco de la sinergia de nimesulida con paracetamol, debemos destacar el potencial farmacológico de este tipo de estudios, ya que implica un avance en la búsqueda de combinaciones analgésicas con efectos terapéuticos que sean capaces de disminuir la dosis de cada fármaco en particular, reduciendo así la probabilidad de reacciones adversas. Esto representa una nueva vía terapéutica de potencial utilidad en el manejo del dolor, ya sea agudo o crónico.

CONCLUSIONES

- La nimesulida produce una actividad antinociceptiva que es dosis-dependiente al ser administrado por vía i.p. en el test de las contorsiones abdominales.
- El paracetamol induce un efecto analgésico de naturaleza dosis-dependiente después de la administración sistémica en el mismo ensayo algesiométrico.
- La administración combinada, vía i.p., de nimesulida y paracetamol, produce una interacción de tipo sinérgica o supraaditiva en el test de las contorsiones abdominales.
- El pretratamiento de los animales con naltrexona, no altera la naturaleza de la interacción sinérgica de la mezcla nimesulida/paracetamol.
 - Los resultados del presente trabajo sugieren que en el efecto sinérgico de los AINEs nimesulida y paracetamol no existe un compromiso del sistema opioide.
- Los hallazgos del presente trabajo permiten explorar una vía alternativa para el tratamiento del dolor.

RESUMEN

En la actualidad existen múltiples fármacos capaces de producir un potente y selectivo efecto en la inhibición de la nocicepción o transmisión dolorosa, a niveles experimentales como a niveles clínicos. Los agentes analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) se presentan como eficaces agentes frente a estos problemas. Los AINEs son fármacos muy usados en los diferentes tipos de dolor, tanto agudos como crónicos. Sin embargo, ellos independientes de su eficacia, presentan una serie de reacciones adversas que limitan su uso. El estudio sistemático de la acción combinada de AINEs no ha sido completamente abordado, con tal fin en el presente trabajo se estudió la interacción entre nimesulida con paracetamol en el test de las contorsiones abdominales, Se utilizaron ratones de la cepa CF-1, a los que se les administró por vía i.p., al tiempo del máximo efecto, proporciones fijas (1/2, 1/4, 1/8 y 1/16) de la De_{50} de nimesulida y paracetamol, y se determinó por análisis isoblográfico la naturaleza de la interacción que resultó ser de tipo sinérgica. El efecto del sistema opioide se evaluó con animales pretratados con naltrexona 1 mg/kg i.p., antagonista opioide, y se comprobó que no existe modificación de la naturaleza de la interacción antes mencionada. Los resultados del presente trabajo comprueban un efecto sinérgico en la actividad antinociceptiva de la co-administración sistémica de nimesulida con paracetamol en el cual no participa el sistema opioide.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Derderian Carkovic T., “Comité de expertos para las guías prácticas para el manejo del dolor Agudo”, “Guías prácticas para el manejo del dolor agudo”. 2003. Tercera edición., pp 61.
- 2) <http://www.iasp-pain.org/terms-p.html> 2005.

- 3) Paeile C. "El dolor, aspectos básicos y clínicos" segunda edición. 1997. pp 19-27, 181., 176-196.
- 4) Ma.J Quiles.et al., "Instrumentos de evaluación del dolor en pacientes pediátricos: una revisión.", 2003. Rev. Soc. Esp. Dolor 10:94-105.
- 5) Rull M. "Introducción. En Unidad de Tratamiento del dolor, servicio de anestesiología y reanimación del hospital San Juan de Reus (coord.) Dolor Agudo y dolor Crónico: Actitudes terapéuticas", Madrid: laboratorio liade, 1990, P 7.
- 6) Adams R. "Principios de Neurología" Sexta edición. 1999. pp 115.
- 7) Bonica, J.J. "The managment of pain", 2 ed. Philadelphia, US, Lea & Febiger. 1990, p. 958.
- 8) Millan,M. "the induction of pain: an integrative review". 1999. Prog. Neurobiol. 57:1-164.
- 9) Hansen B. And Hardie E. "Measurement modalities. Thalhammer J.G; Short C.E. eds. Proceedings of Do Animals Have Pain, an official satelite symposium of the 9th world congress on pain". Vienna, AT., 1999, p5.
- 10) Guyton, "Tratado de Fisiología Médica.", 1996 Cap. 33.

- 11) Kiernan J., "El sistema Nervioso Humano". McGraw- Hill. Interamericana.
7ma edición. 2000. Parte III, Cap. 19, Pags. 315-331.
- 12) Dray A. "inflammatory mediators of pain", British Journal of anaesthesia;75:125-131, 1995.
- 13) McHugh JM, McHugh WB. "Pain:neuroanatomy,chemical mediators, and clinical implications" . AACN Clin Issues. May;11(2):168-78, 2000.
- 14) Ortega, E.; "Neurofisiología del dolor". Cuad. Cir.;9: 50-54, 1995.
- 15) Torregosa, S.; "Mecanismos y vías del dolor". Boletín Esc. De Medicina, P. Universidad Católica de Chile, 23:202-206, 1994.
- 16) Moya, M., "Vías de transmisión del dolor". Rev. Chilena de cirugía. Vol. 47, N° 3, junio, p274-280, 1995.
- 17) Bernucci J. "Anatomía y fisiología del dolor" Rev. Sanidad des. Nac. 11(2): 107-120, 1994.
- 18) Westlund, K. "Introduction to the basic science of pain and headache for the clinician: Anatomical Concepts". Max, M.Ed. Pain _ an Update review, refresher course syllabus. Seattle, US, IASP Press., 1999, Pp. 547-556.

- 19) Flores, J. D Reig, E. "El dolor: vías y mecanismos de transmisión y de control." En: Terapéutica farmacológica del dolor. Universidad de Navarra, S.A. Pamplona, España. 1993, pp. 19-37; 23.
- 20) Cervero, F. "Neurobiología del dolor" . Rev. Neurol 30: 551-555, 2000.
- 21) Martin TJ. Eisenach J.C., "Pharmacology of opioid and nonopioid analgesics in chronic pain states", J.Pharmacol Exper. Ther. 299:811-817, 2001.
- 22) Sawynok J., "Topical and Peripheally Acting Analgesics" Pharmacol Rev. 55: 1-20, 2003.
- 23) Vane JR, Bakhle YS, and Botting RM. "Cyclooxygenases 1 and 2" , Ann. Rev Pharmacol Toxicol. 38:97 – 120, 1998.
- 24) Needleman, P.; Isakson P., "The discovery and function of COX-2" . The journal of rheumatology 24:6-8, 1997.
- 25) Simon L., "Nonsteroidal anti-inflammatory drug toxicity", Current Opinion Rheumathology . 5: 265-275, 1993.

- 26) Miranda; H.; Sierralta, F., Pinardi, G., “Neostigmine interactions with non steroidal anti-inflammatory drugs”. *Br. J. Pharmacol.*, 135(7): 1591-1597, 2002.
- 27) Pinardi,G.; Sierralta,F.; Miranda,H.F, “Adrenergic mechanisms in antinociceptive effects of non steroidal antiinflammatory drugs in acute termal nociception in mice” , *Inflamm.Res.* 51 (5):219-222, 2002.
- 28) Bjorkman,R., “Central antinociceptive effects of non-steroidal antiinflammatory drugs and paracetamol. Experimental studies in the rat”. *Acta Anaesthesiol.Scand.* 103:1-44, 1995.
- 29) Alloui A, Chassaing C, Schmidt J, Ardid D, Dubray C, Cloarec A, Eschalier A. “Paracetamol exerts a spinal, tropisetron-reversible, antinociceptive effect in an inflammatory pain model in rats” .*Eur J Pharmacol.* May 17; 443(1-3): 71-7, 2002.
- 30) Arts KS, Holmes BB, Fujimoto JM. “Differential contribution of descending serotonergic and noradrenergic systems to central DAMGO and morphine-induced antinociception in mice”, *J Pharmacol Exp ther.* 256: 890-96, 1991.
- 31) Yaksh TL. Dirig DM, and Malmberg AB. “Mechanism of actio of nonsteroidal anti-inflammatory drugs” . *Cancer investig.* 16:509-527, 1998.

- 32) Chandrasekharan NV, "DL. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs. Cloning, structure and expression". Proc Natl Acad Sci USA. 99:13926-13931, 2002.
- 33) Warner TD and Mitchell JA. "Cyclooxygenase-3 (COX3): filling in the gaps toward a COX continuum". Proc Natl Acad Sci. USA. 99:13371-13373, 2002.
- 34) Dascombe M.J., "The pharmacology of fever" . Prog. Neurobiol. 1985, 25(4):327-373.
- 35) Insel P., "Analgesic-Antipiretic and Antiinflammatory agents and drugs employed in the treatment of gout" .9 Ed.McGraw-Hill.USA. 1996. pp.617-657.
- 36) Handin R.;Loscalzo,J. "Hemostasis,thrombosis,fibrinolysis,and cardiovascular disease" .4 Ed.W.B.Saunders Company.USA. 1992. pp.767-1789.
- 37) Vane, J., "Aspirin and other anti-inflammatory drugs". Thorax. 55: 3-9, 2000.

- 38) Laura Gasparini, "Non-steroidal anti inflammatory drugs (NSAIDs) in alzheimer's disease: old and new mechanism of action", *Journal of Neurochemistry*, 91, 521-536, 2004.
- 39) Jenkins W., "Pharmacologic aspects of analgesic drugs in animals: An overview". *J Am Vet Med Assoc*, Vol 191, N° 10: 1231-40, 1987.
- 40) Szczeklik A. "Adverse reactions to aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs". *Ann allergy*. Nov; 59(5 Pt 2):113-8, 1987.
- 41) McGeehan m, Bush RK. "The mechanisms of aspirin-intolerant asthma and its management". *Curr Allergy Asthma Rep*. Mar; 2(2):117-25, 2002.
- 42) Bottiger LE, Furhoff AK, Holmberg L. "Drug-induced blood dyscrasias. A ten-year material from Swedish Adverse Drug Reaction Committee". *Acta Med Scand*. 205(6): 457-61, 1979.
- 43) Hedenmalm K, Spigset O. "Agranulocytosis and other blood dyscrasias asociated with dipyron (metamizole)". *Eur J Clin Pharmacol*, jul; 58(4): 265-74, 2002.
- 44) Van der Klauw MM, Wilson JH, Stricker BH. , "Drugs-asociated agranulocytosis: 20 years of reporting in The Netherlands (1974-1994)". *Am J Hematol* . Mar; 57(3): 206-11, 1998.

- 45) Andrade SE, Martinez C, Walke AM. , “Comparative safety evaluation of non-narcotic analgesics” . J Clin Epidemiol Dec; 51(12): 1357-65, 1998.
- 46) Goodman y Gillman. “Las bases farmacológicas de la terapéutica”. Ed. McGraw-Hill. Interamericana, México. 8a edición. 1990, p.p. 661-679, 557-588.
- 47) Ciancio S, Bourgault P. “Farmacología clínica para odontólogos”. Ed. El manual moderno, S.A. de C.V. México, 3ª edición. ,1990,83-104.
- 48) P.L.Moller, S.Sindet-Pedersen, “Onset of acetaminophen analgesia: comparison of oral and intravenous routes alter third molar surgery” British Journal of Anaesthesia . 94 (5):642-8, 2005.
- 49) Pini L.A., Sandrini M., Vitale G. “The antinoceptive action if paracetamol is associated with changes in the serotonergic system in the rat brain”, Eur. J. Pharmacol. 308:31-40, 1996.
- 50) Botting R, Ayoub SS, “COX-3 and the mechanism of action of paracetamol/acetaminophen”, Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. feb;72(2):85-7, 2005.

- 51) Graham GG, Scout KF, "Mechanism of action of paracetamol" Am J Ther. Jan-Feb; 12(1):46-55, 2005.
- 52) Pini L.A., Sandrini M., Vitale G., Otanni A., Sandrini M. "Naloxone-Reversible antinociception by paracetamol in the rat". J. Pharmacol. Exp. Ther. 208(2):934-40, 1997.
- 53) Casanga R. "Estudio experimental de la actividad antinociceptiva del paracetamol." Trabajo de investigación requisito para optar al título de cirujano-dentista. U de Chile. 2003.
- 54) García-nieto R, Pérez C, Checa A, Gago F, " Molecular model of the interaction between and human cyclooxygenase-2" , Rheumatology. 38(suppl,1) : 14-8, 1999.
- 55) Bianco S, Robuschi M, Petrigli G, Sauri M, Pieroni MG, refini RM et al. "Efficacy and tolerability of nimesulide in asthmatic patients intolerant to aspirin" Drugs. 46(suppl.1):115-20, 1993.
- 56) Azab AN, Kobal S, Rubin M, Kaplanski J, "Effects of Nimesulide, a Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitor, on Cardiovascular Alterations in Endotoxemia", Cardiology. Nov 30; 103(2) : 92-100, 2004.

- 57) Duffy T, Belton O, "Inhibition of PGE₂ production by Nimesulide compared by Diclofenac in the acutely inflamed joint of patients with arthritis" .Drugs. 63 suppl. 1:31-36, 2003.
- 58) Bianchi M , Brogginini M., " A randomized, double-blind, clinical trial comparing the efficacy of nimesulide, celecoxib and rofecoxib in osteoarthritis of the knee". Drugs. 63 suppl. 1:37-46, 2003.
- 59) Wober W. "Comparative efficacy and safety of nimesulide and diclofenac in patients with acute shoulder, and a meta-analysis of controlled studies with nimesulide" . Rheumatology. 38(suppl.1):33-8, 1999.
- 60) Bjarnason I., Thjodleifsson B., "Gastrointestinal toxicity of NSAIDs. The effect of nimesulide compared to naproxen on the human gastrointestinal tract. Rheumatology. 38(suppl.1):24-32, 1999.
- 61) Senna GE, Passalacqua G, "Nimesulide and meloxicam are safe drugs for patients intolerant to nonsteroidal anti-inflammatory drugs", Allerg Immunol (Paris). Dec; 35 (10): 393-6, 2003.
- 62) Lee SH. Soyoola E. "Selective Expression of mitogen-inducible cyclooxygenase in macrophages stimulated with lipopolysaccharides". J Biol. Chem. 267:25934-8, 1992.

- 63) Vane J, Botting R. "Overview-mechanism of action of anti-inflammatory drugs". In: Vane J, Botting R. eds. Improved anti-inflammatory drugs. London: Kluwer Academia publishers and William Harvey press. 1-28, 1996.
- 64) Tavares LA, "Activity of nimesulide on constitutive and inducible cyclooxygenases" . *Arzneimittelforschung/Drug Res.* 45: 1093-117, 1995.
- 65) Duffy T, Belton O, "Inhibition of PGE₂ production by nimesulide Compared with Diclofenac in the Acutely Inflamed joint of Patients with arthritis" . *Drugs*, 63 suppl. 1: 31-36, 2003.
- 66) Ottonello L. *et al.* " Nimesulide as a downregulator of the activity of the neutrophil myeloperoxidase pathway: focus on the histoprotective potencial of the drug during inflammatory processes" . *Drugs.* 46(suppl. 1):29-33, 1993.
- 67) Bianco S, Robuschi M, Petrigni G, Sauri M, Pieroni MG, refini RM *et al.* "Efficacy and tolerability of nimesulide in asthmatic patients intolerant to aspirin" . *Drugs.* 46(suppl.1):115-20, 1993.
- 68) Pelletier JP, Martel-Pelletier J. "Effects of nimesulide and naproxen on the degradation and metalloprotease synthesis of human osteoarthritic cartilage" . *Drugs.* 46 (suppl. 1): 34-9, 1993.

- 69) Pelletier JP, Mineau F, “ Nimesulide and naproxen, can reduce the síntesis of urokinase and IL-6 while increasing PAI-1, in human OA synovial fibroblasts” . Clin Exp Rheumatol,15:393-8, 1997.
- 70) Tassorelli C., Greco R., “Central components of the Analgesic/ Antihyperalgesic effect of nimesulide : studies in animals models of pain and hyperalgesia” , Drugs, 63 suppl. 1: 9-22, 2003.
- 71) Pierleoni,P., Tonelli, P., Scaricabarozzi,I. “ A double-blind comparison of nimesulide and ketoprofen in dental surgery” . Drugs.; 46: 68-70, 1993.
- 72) Gallardo, Ana María. “Estudio comparativo de la actividad analgésica de nimesulida y piroxicam en cirugía oral”. Trabajo de investigación, requisito para optar al título de Cirujano Dentista. U de Chile, 1997.
- 73) Gonzalez A., Dagnino J., “Analgésicos Narcóticos”, Boletín Esc. De Medicina, P. Universidad Católica de Chile , 23: 159-163, 1994.
- 74) Dénes Budai, “Neurotransmitters and receptors in the dorsal”. Acta Biológica Szegediensis., 44(1-4):21-38, 2000.

- 75) Tallarida RJ, Porreca F, Cowan A. "Statistical analysis of drug-drug and site-site interactions with isobolograms" . Life Sci.; 45: 947-961, 1989.
- 76) Tallarida RJ. "In drug synergism and dose effect analysis". Chapman & Hall CRC, New York, 2000.
- 77) Tallarida RJ, "Drug synergism: its detection and applications", J. Pharmacol. Exp. Ther., 298, 865-872, 2001
- 78) Lopez-Muñoz FJ, et al., "Analysis of the analgesic interactions between ketorolac and tramadol during arthritic nociception in rat" . Eur J Pharmacol., Jan 26;484(2-3):157-65, 2004.
- 79) Poveda R, Planas E, Pol O, Romero A, Sanchez S, Puig MM., "Interaction between metamizol and tramadol in a model of acute visceral pain in rats" .Eur J Pain, 7(5):439-48, 2003
- 80) Breivik EK, Barkvoll P, Skovlund E. "Combining diclofenac with acetaminophen or acetaminophen-codeine after oral surgery: A randomized, double-blind single-dose study" . Clin Pharmacol Ther; 66: 25-31, 1999.

- 81) Ilkjaer S, Nielsen PA, Bach L.F. et al., "The effect of dextromethorphan, alone or in combination with ibuprofen, on postoperative pain after minor gynaecological surgery" *Acta anaesthesiol. Scand.*, 44:873-877, 2000.
- 82) Kolesnikov YA, Wilson R.S., Pasternak G.W. "The synergistic analgesic interactions between hydrocodone and ibuprofen", *Anesth. Analg.*, 49:1721-1723, 2003.
- 83) Miranda HF, Sierralta F, Pinardi G. "An isobolographic analysis of the adrenergic modulation of diclofenac antinociception". *Anesth. Analg.*; 93: 430-435, 2001.
- 84) Troncoso, C. "Estudio de la interacción antinociceptiva entre paracetamol y codeína en un ensayo de dolor agudo térmico". Trabajo de investigación requisito para optar al título de Cirujano Dentista. U de Chile. 2003.
- 85) Pérez-Olea, A. "Efecto de agentes serotoninérgicos en la actividad de los - analgésicos anti-inflamatorios no esteroideos". Trabajo de investigación, requisito para optar al título de Médico Veterinario. U de Chile, 2003.
- 86) Zepeda, C. "Estudio de la interacción antinociceptiva entre paracetamol y codeína en dolor agudo experimental". Trabajo de investigación requisito para optar al título de Cirujano Dentista. U de Chile. 2003.

