

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

**ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN ENTRE PARACETAMOL Y METAMIZOL EN
DOLOR EXPERIMENTAL TÉRMICO**

Claudia Andrea Navarro Tobar

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dr. Hugo Miranda G.

TUTOR ASOCIADO

Prof. Dr. Gianni Pinardi T.

Santiago - Chile

2005

INDICE

	Páginas
INTRODUCCIÓN	1
DEFINICIÓN	2
SEMIOLOGÍA	3
VIAS Y FISILOGÍA	4
MODULACIÓN Y CONTROL DEL DOLOR	14
ASPECTOS TERAPÉUTICOS	17
HIPÓTESIS	35
OBJETIVOS	35
MATERIAL Y MÉTODO	36
RESULTADOS	44
DISCUSIÓN	50
CONCLUSIONES	58
RESUMEN	59
BIBLIOGRAFÍA	61

INTRODUCCIÓN

El dolor sigue siendo en la actualidad un tema fundamental de estudio, tanto para la farmacología, como para disciplinas de orden clínico, en nuestro caso la odontología. Las investigaciones se enfocan en el dolor propiamente tal, sus orígenes, sus vías, sus centros integradores y la plasticidad de ellos. El dolor, posiblemente es una de las sensaciones más desagradables que nuestros sentidos pueden percibir.

Aunque nosotros no recordamos qué dolor se siente cuando no lo estamos experimentando, ciertamente no deseamos sentir dolor. A pesar de lo desagradable que es el dolor, debemos apreciar cuál es su valor. A saber, es un mecanismo que nos permite evitar las situaciones peligrosas, prevenir más daño, y promover el proceso de cicatrización.

El dolor, permite evadir situaciones peligrosas, como cuando intentamos alejarnos de estímulos nocivos que causan dolor, por ejemplo, la acción de retirar la mano de una fuente calórica que nos podría provocar una quemadura. Cuando intentamos escapar de estímulos que causan dolor después de un daño inicial en nuestro cuerpo, el dolor puede prevenir que éste sea mayor [1].

DEFINICIÓN

Definir esta sensación compleja y multidimensional llamada dolor es difícil, al punto que se ha tardado años en lograr una descripción consensuada como la de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP), que lo ha definido como: **“una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a un daño tisular real o potencial, o descrito en términos de dicho daño”** en esta definición el término potencial indica que si el dolor se mantiene por un tiempo prolongado, implicará que la permanencia de la noxa producirá daño tisular [2].

La incapacidad de comunicar verbalmente, no niega la posibilidad que un individuo esté experimentando dolor y necesite de un apropiado tratamiento para aliviarlo. El dolor es siempre subjetivo. Es incuestionable una sensación en una o varias partes del cuerpo, pero también es siempre desagradable y , por lo tanto, es también una experiencia emocional.

Experiencias anormales desagradables (disestesias) pueden ser también dolor, pero no necesariamente, porque subjetivamente ellas pueden no tener las cualidades sensoriales usuales del dolor [2]

Mucha gente reporta dolor en ausencia de daño tisular o cualquier probable causa fisiopatológica; usualmente esto sucede por causas psicológicas. Si ellos consideran su experiencia como dolor y si ellos la reportan de la misma manera como el dolor causado por daño tisular, debería ser aceptado como tal.

Esta definición evita ligar el dolor al estímulo. La actividad inducida en el nociceptor y la vía nociceptiva por un estímulo dañino, no es dolor, lo que es siempre un estado psicológico, aunque nosotros podemos apreciar bien que el dolor más a menudo tiene una causa física inmediata [2].

El carácter dual del dolor implica la sensación física corporal de la agresión, junto con la experiencia emocional, individual e intransferible del sufrimiento. Nos obliga, como profesionales de la salud, a estudiar la intimidad de este complejo proceso y a considerar al paciente con dolor como un ser único, irrepetible, que narra en su contexto bio-sico-social, su sufrimiento tan difícilmente objetivable [3].

SEMIOLOGÍA

Semiológicamente, el dolor debe ser evaluado en cuanto a su intensidad, duración, características, lugar de origen y etiología.

La *intensidad* del dolor es la característica que más llama la atención del paciente, motivando la consulta médica. Sin embargo, sabemos que no existe relación directa entre intensidad y magnitud del daño.

Respecto a la *duración*, el dolor se clasifica en agudo y crónico. El dolor agudo es aquel que comprende el lapso estimado como necesario para que los tejidos sanen. Por otro lado, el dolor crónico es aquel que tiene una duración de más de tres meses, o que por las características de su origen, sobrepasa el tiempo que habitualmente podría definir un dolor agudo semejante. Este tipo de

dolor tiene poco o nulo componente neurovegetativo, pero se acompaña de gran compromiso psicológico.

En cuanto a la *característica somatosensorial*, el dolor ha sido descrito como epicrítico y protopático. El dolor epicrítico es superficial, de localización precisa y bien delimitada por el paciente, por naturaleza, no es referido. El dolor protopático es difuso, mal localizado, generalmente descrito como un dolor sordo.

Según el sitio de *origen*, el dolor puede ser periférico (tegumentos), profundo o visceral (vísceras, cavidades serosas y articulaciones) y central (Sistema Nervioso Central).

En relación a la *etiología* del cuadro doloroso, es importante para establecer un tratamiento correcto y puede ser traumática, física, infecciosa, disfunción neurológica o psicógena [4].

VÍAS Y FISIOLÓGÍA

El dolor resulta de una serie de mecanismos extremadamente complejos e interactivos integrados en todos los niveles del neuroeje, desde la periferia, vía asta dorsal, a las más altas estructuras cerebrales [5].

El componente fisiológico del dolor se denomina **nocicepción** que corresponde al proceso de transducción, transmisión y modulación de las señales nerviosas que se generan en respuesta a un estímulo nocivo y que son enviadas al sistema nervioso central (SNC). Este proceso resulta en la

percepción consciente del dolor [6]. De una manera más simple, este sistema puede ser graficado como una cadena de tres neuronas, con una neurona de primer orden que se origina en la periferia y que se proyecta a la médula espinal, una neurona de segundo orden que asciende desde la médula espinal, y una neurona de tercer orden que se proyecta a la corteza cerebral (ver figura 1). La distorsión entre estimulación y percepción involucra todos los pasos de la transmisión de la información dolorosa, desde el nivel periférico a los sitios supraespinales [7].

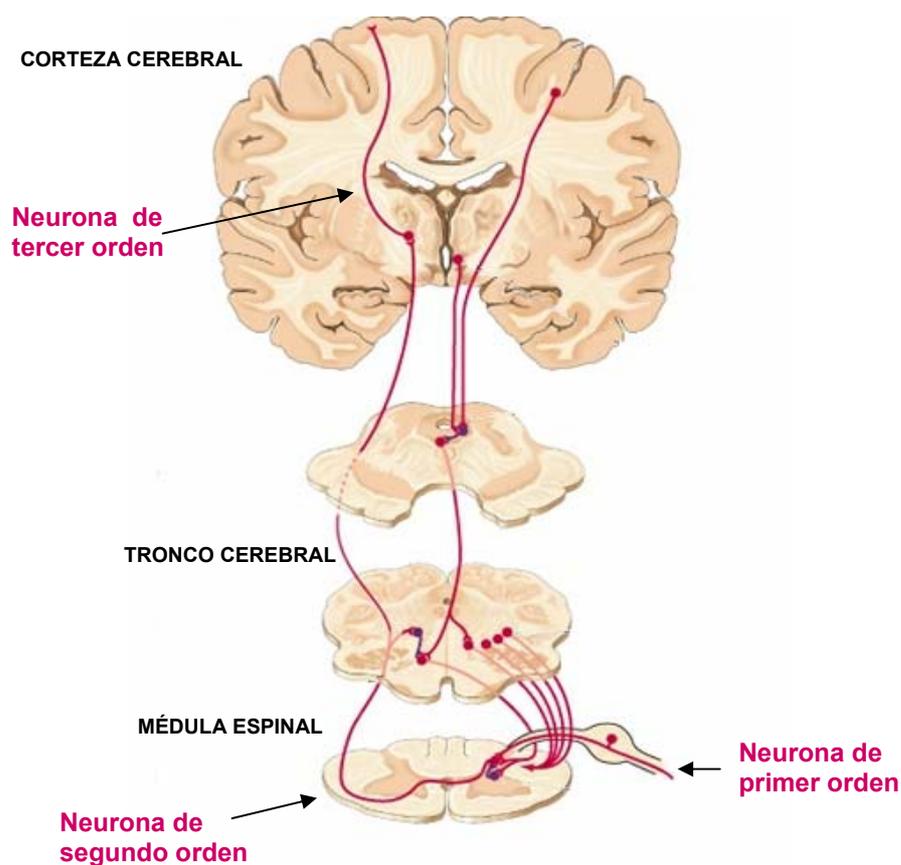


Figura 1. Representación esquemática de neuronas aferentes que componen la vía nociceptiva.

Los receptores involucrados en la nocicepción, más acertadamente llamados **-nociceptores-** corresponden a receptores preferencialmente sensibles a estímulos nocivos o a estímulos que podrían llegar a ser nocivos si se prolongan.

Morfológicamente, corresponden a terminaciones periféricas de neuronas bipolares que tienen sus somas ubicados en los ganglios raquídeos y su axón penetra en el asta dorsal del cordón espinal [8]. Estas neuronas, también llamadas de primer orden, o más exactamente nociceptores, corresponden a fibras A- δ y C, que a diferencia de las fibras A- α y A- β , poseen un umbral de estimulación alto. No obstante, son susceptibles al fenómeno de sensibilización, con la consiguiente disminución del umbral de excitabilidad.

La fibra A- δ responde a estímulos mecánicos y térmicos, en cambio, la fibra C es polimodal, es decir, además del estímulo nociceptivo puede transmitir sensaciones térmicas en todo su rango, táctiles o de presión. Las fibras A- δ tienen un diámetro de 1,0 a 5,0 micrones, poseen una delgada cubierta de mielina y su velocidad de conducción es de 4 a 30 m/s. Por otro lado, las fibras C de 0,3 a 1,5 micrones de diámetro, carecen de mielina, y su velocidad de conducción del estímulo nervioso es de aprox. 0,5 a 2 m/s. Esta diferencia de velocidad explica la doble percepción de un estímulo doloroso; uno inicial breve, bien localizado llamado epicrítico, transmitido por las fibras A- δ y otro profundo, difuso, llamado protopático transmitido por las fibras C [4] (ver Fig. 2).

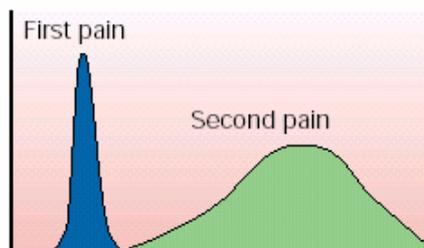


Figura 2. Representación esquemática de la doble percepción dolorosa frente a la injuria.

Los nociceptores, forman la unidad funcional del dolor y al ser activados por estímulos nocivos, las fibras nerviosas son despolarizadas, un evento que es propagado a lo largo de la fibra aferente completa, transformándose en impulsos sensoriales que alcanzan el asta dorsal de la médula espinal. Esta despolarización de la fibras aferentes primarias en el sitio de la injuria tisular causa liberación axonal de vesículas que contienen neuropéptidos tales como la sustancia P, los cuales actúan de una manera autocrina y paracrina para sensibilizar el nociceptor y aumentar su rango de estimulación [9].

El daño celular y la inflamación aumentan las concentraciones de otros mediadores químicos tales como la histamina y serotonina, que son liberadas desde los mastocitos y desencadenan la síntesis de prostaglandinas, especialmente PGE_2 y ácidos monohidroxiicosatetraenoicos (HETE'S) desde células endoteliales, que generan hiperalgesia y otros efectos proinflamatorios [10,11]. Las prostaglandinas actuarían sensibilizando las neuronas, lo que facilitaría la acción de aminoácidos excitatorios, como el glutamato. También se estimula la síntesis de bradiquinina, una de las sustancias más algógenas de

este proceso, en conjunto con iones potasio e hidrógeno. Estos mediadores adicionales actúan sinérgicamente para aumentar la transmisión de impulsos nociceptivos a través de las fibras sensoriales aferentes [12,13].

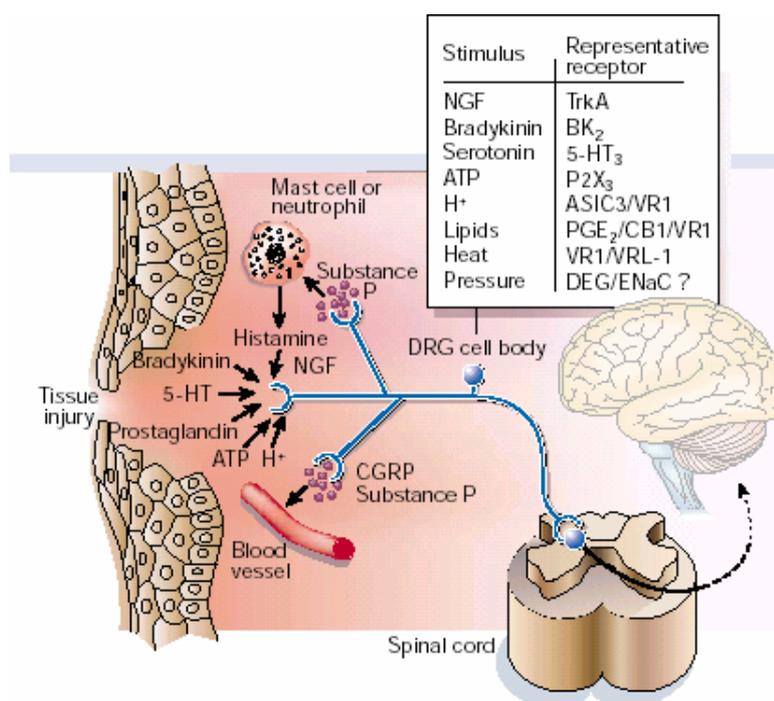


Figura 3. Mecanismos neuroquímicos de respuesta a nivel de la neurona aferente primaria (NATURE Vol. 43 Pág. 203).

En las astas posteriores de la médula se produce la sinapsis con la segunda neurona en la sustancia gelatinosa de Rolando. La sustancia gris medular de las astas posteriores fue clasificada por Rexed en 6 láminas. La zona sináptica de las fibras polimodales corresponde a las láminas II y III [14], (Figura 4).

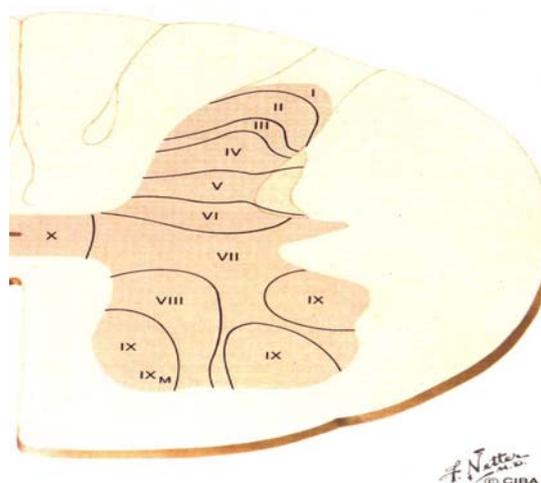


Figura 4. Esquema de clasificación de Rexed del asta posterior medular.

Muchas fibras nociceptivas, antes de su ingreso a la sustancia gris, emiten colaterales descendentes y ascendentes, constituyendo parte del haz de Lissauer. Estas colaterales tienen la posibilidad de formar sinapsis hasta dos segmentos medulares inferiores o superiores al del ingreso, lo que significa que la transmisión de una neurona primaria puede propagarse a varias raíces vecinas. El soma de la segunda neurona de esta vía, se puede encontrar en la lámina I de Rexed o en las láminas IV, V ó VI.

Es importante destacar que la segunda neurona puede formar sinapsis con más de una primera neurona, proveniente de la piel o de una víscera, y que esta sinapsis se produce siempre en la sustancia gelatinosa de Rolando cualquiera sea la distribución del soma en el asta posterior. Aquí existen pequeñas neuronas características de esta zona, las interneuronas, que de

alguna manera modulan estas sinapsis. Estos hechos tienen importancia, puesto que dan un sustrato anatómico-fisiológico a fenómenos como el dolor referido y a la modulación que sobre la transmisión nerviosa pueden ejercer centros superiores [14].

Al interior del asta dorsal de la médula 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 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, colecistoquinina, ocitocina, galanina y angiotensina II.

En las neuronas propias del asta dorsal de la médula espinal se han encontrado neuroquímicos excitatorios de nociceptores, tales como sustancia P y neurotensina, como también algunas sustancias inhibitorias de nociceptores, como encefalinas y otras endorfinas, somatostatina, GABA y muchos otros [6,8].

Las segundas neuronas dan origen a tres haces ascendentes contra laterales: el neoespinotalámico y el paleoespinotalámico, que conforman la vía

espinotalámica, el haz espinoreticular y el haz espinomesencefálico (ver Figura 5). Las fibras cruzan entre el epéndimo y la comisura gris anterior, cruce que puede realizarse en el mismo segmento medular o ascender antes de hacerlo. Algunos axones ascienden en forma ipsilateral y otros lo hacen a través de los cordones posteriores que conducen fibras propioceptivas, para luego cruzar a nivel del bulbo y ascender al tálamo. Esto puede explicar algunos de los fracasos de técnicas analgésicas, como la cordotomía anterolateral (destrucción de los cruces descritos).

El **haz neoespinotalámico**, hace sinapsis con los núcleos ventral posterior y ventral pósterolateral del tálamo y de allí con la corteza parietal o somatosensorial (áreas SI y SII), cuya función es entregar la ubicación topográfica del dolor [4,14]. El haz paleoespinotalámico, inicialmente corre junto al neoespinotalámico en una ubicación medial, se proyecta en forma bilateral a los núcleos inespecíficos del tálamo, mediales e intralaminares (parafascicular, núcleo reticular, parte del centro mediano y la porción media magno celular del geniculado medio), luego se proyecta a la corteza no específica, preferentemente a la corteza frontal, donde se conecta con el sistema límbico, hipotálamo, ganglios basales y córtex en general, lo que contribuye a la evaluación cualitativa del dolor. Es un sistema que transmite impulsos relacionados con dolor sordo, pobremente localizado y se asocia con algunos componentes afectivo-motivacionales del dolor. Los analgésicos centrales actúan específicamente sobre el tipo de dolor transmitido por este tracto [8].

El **haz espino-reticular**, corresponde a la comunicación más directa entre la médula espinal y la formación reticular. La formación reticular desempeña un papel importante en los mecanismos nociceptivos, siendo sus principales funciones: desencadenar los mecanismos de alerta, contribuir a la actividad neuronal de los aspectos motivacionales y afectivos del dolor y participar en reflejos somáticos y autonómicos motores. Hace sinapsis con la formación reticular a diferentes niveles: bulbo, protuberancia y zona mesencefálica, tiene que ver con las respuestas autonómicas reflejas y el componente afectivo-motivacional de la respuesta dolorosa [8].

El **haz espino mesencefálico** asciende contralateralmente en un 60 a 75 % de sus fibras, junto a los tractos anteriores, para conectarse con el mesencéfalo mediante la sustancia gris periacueductal, núcleos cuneiformes y parabraquiales, por esto los impulsos que ascienden por esta vía podrían desencadenar impulsos inhibitorios descendentes que resulten en analgesia. Dado que del mesencéfalo se proyectan fibras al tálamo medial, ventrobasal y al sistema límbico, es posible que algunas neuronas de este tracto estén relacionadas con el componente discriminativo del dolor y otras que provoquen reflejos autonómicos y respuestas afectivo-motivacionales.

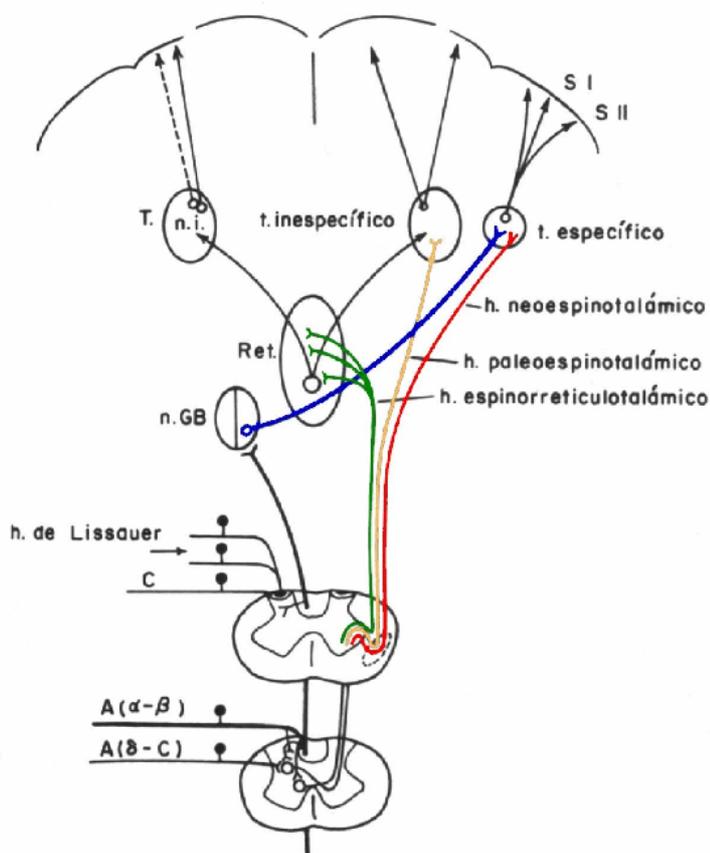


Figura 5. Representación esquemática de las vías nociceptivas aferentes.

Estudios anatómicos y fisiológicos en animales, tal como estudios imageneológicos funcionales en humanos han mostrado que múltiples áreas corticales son activadas por estímulos dolorosos. Las siguientes áreas corticales han demostrado estar involucradas en el procesamiento del estímulo doloroso: corteza somatosensorial primaria, corteza somatosensorial secundaria y su vecindad en el opérculo parietal, ínsula, corteza cingular anterior y corteza prefrontal. Estas áreas procesan aspectos diferentes del dolor

en paralelo. Se ha enfatizado en la importancia de separar la experiencia dolorosa en los componentes sensorial-discriminativo y afectivo-motivacional. El componente sensorial-discriminativo del dolor puede ser considerado una modalidad sensorial similar a la visión u olfacción. El componente afectivo-motivacional está cerca de que sea considerado “ sufrimiento del dolor”; está claramente relacionado con aspectos de la emoción, excitación y la programación de la conducta [15].

MODULACION Y CONTROL DEL DOLOR

Desde hace cuarenta años se conoce la posibilidad de controlar el ingreso de estímulos nociceptivos desde las estructuras centrales. La estimulación eléctrica de la zona periacueductal o del núcleo del rafe bulbar, ricos en receptores morfínicos, provoca analgesia sin alteración motora, probablemente a través de una vía inhibitoria descendente, el fascículo dorsolateral. Experimentalmente se puede obtener analgesia con microinyecciones de morfina en estas zonas.

Estas vías inhibitorias descendentes también pueden ser estimuladas por el dolor y el estrés y provocar alguna modulación a nivel medular. Es necesario dejar en claro que existen sistemas inhibidores descendentes mediados por opioides y también por otros mediadores, entre los que destacan dos sistemas: uno mediado por noradrenalina y otro por serotonina [14].

En el asta dorsal del cordón espinal, la información nociceptiva (señal de dolor) proveniente de las vísceras, piel y otros órganos está sujeta a un extenso procesamiento por una diversidad de mecanismos, ya sea para reforzar, o bien para inhibir, su traslado a los centros más altos. En este respecto, una red de vías descendentes que se proyectan desde las estructuras cerebrales al asta dorsal juegan un papel complejo y crucial. Las vías centrífugas específicas pueden suprimir (inhibición descendente) o potenciar (facilitación descendente) el pasaje de mensajes nociceptivos al cerebro [16]. En la médula rostral ventromedial, dos tipos de neuronas, células-on y células-off, han sido identificadas como neuronas moduladoras del dolor [17]. Las células-on se caracterizan por un súbito aumento de su descarga inmediatamente antes de la iniciación de la respuesta nocifensiva, y las células-off, por el contrario, exhiben una pausa en su actividad justo previo a esta respuesta. Mientras las células-off son usualmente asociadas con la inhibición de la conducta nocifensiva, la actividad de las células-on está correlacionada con una facilitación de esta conducta.

La excitación y la inhibición de las neuronas del asta dorsal pueden ser producidas por estimulación del funículo dorsolateral del cordón espinal, núcleo rafe magnus y el núcleo gigantocelular reticular. Las neuronas de la médula rostral ventromedial pueden ejercer un control bidireccional de la nocicepción a través de vías descendentes serotoninérgicas y noradrenérgicas. Sumado a esto, estimulación aferente vagal produce facilitación e inhibición de la nocicepción y

los relevos neurales, incluidos sitios dentro de la médula rostral ventromedial [18]. Las endorfinas, un grupo de sustancias endógenas denominadas así por su acción semejante a la de la morfina, constituyen otro de los sistemas de control y modulación endógena del dolor. Las encefalinas, que probablemente actúan como neurotransmisores, se encuentran especialmente en zonas de alta concentración de receptores morfínicos. La β -endorfina, un polipéptido de mayor tamaño, también tiene una acción agonista opioide intensa; se encuentra en hipófisis, hipotálamo y en tejidos periféricos, pero por degradarse más lentamente y tener la propiedad de actuar a distancia, es más bien considerado un agente hormonal.

La teoría de Melzack y Wall o teoría de la puerta de entrada, enfatiza el hecho que la percepción de la sensación dolorosa no sólo depende de la estimulación periférica y de la transmisión, sino que de la modulación medular y central. Su formulación ha estimulado el estudio de muchas drogas y técnicas analgésicas. La estimulación eléctrica transcutánea (TENS) y la estimulación eléctrica intrarraquídea, se basan en el hecho de que todas las fibras nerviosas aferentes tiene la capacidad de influenciar otros impulsos aferentes, principalmente a través de una inhibición presináptica. Estimulando un nervio mixto con impulsos no dolorosos, las primeras fibras en responder son las de mayor diámetro, y estas descargas a nivel medular serían capaces de inhibir la transmisión cefálica de los impulsos nociceptivos [14].

ASPECTOS TERAPÉUTICOS DEL DOLOR

La analgesia, definida como ausencia de dolor en respuesta a una estimulación, la cual normalmente habría sido dolorosa, se puede producir desde el punto de vista farmacológico en 3 niveles distintos:

1. A nivel de la conducción del estímulo doloroso:
 - *Anestésicos locales*: fármacos que interrumpen la transmisión del impulso nervioso en forma reversible, con un período de acción de 2-16 horas. Ejm: lidocaína y procaína [4].
 - *Alcoholes y fenoles*: sustancias que interrumpen la transmisión del impulso nervioso en forma prolongada e irreversible, su período de acción es de 3 o más meses [4].
2. A nivel central: mediante analgésicos que actúan a nivel del neuroeje, como son los opioides. Actualmente estos fármacos son los más efectivos para la inhibición del dolor, pero su gran defecto son las reacciones adversas [19,20].
3. A nivel periférico: representados por los analgésicos anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs), que corresponden a fármacos que pueden ejercer un efecto ya sea anti-inflamatorio, analgésico y /o antipirético [21].

Varias drogas inducen analgesia o antinocicepción por interferencia con las vías neuronales involucradas en la recepción y la transmisión desde la periferia a los más altos centros en el SNC. Varios receptores, incluyendo α -

adrenoreceptores, subtipos de receptores de serotonina: 5-HT₁, 5-HT₂ y 5-HT₃, colinoreceptores, muscarínicos o nicotínicos, son expresados pre y postsinápticamente en neuronas en los niveles espinal y supraespinal, y pueden modular la información nociceptiva [22].

Existe una gran variedad de agentes capaces de producir un poderoso y selectivo efecto en la inhibición de la neurotransmisión dolorosa, tanto a nivel preclínico, en animales, como a nivel clínico, en el hombre. Así, se pueden mencionar los fármacos α -adrenérgicos, serotonérgicos, colinérgicos, nitridérgicos, antidepresivos, antiepilépticos, anestésicos locales, cannabinoides, anti-inflamatorios no esteroideos, opioides [14,23].

ANTI-INFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES

De todos los grupos de fármacos antes citados, sin duda que los analgésicos anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs) son de los más usados en los diferentes tipos de dolor, tanto agudo como crónico, y por lo tanto también los más estudiados. Sin embargo, independientemente de su eficacia, presentan una serie de reacciones adversas que limitan su uso. Los AINEs han sido conocidos por muchos años por actuar periféricamente reduciendo la producción de prostaglandinas, potentes mediadores hiperalgésicos, los cuales modulan múltiples sitios a lo largo de la vía nociceptiva e intensifican tanto el proceso de *transducción*: efecto de

sensibilización periférica, como el de *transmisión*: efecto de sensibilización central [24].

Los AINEs actúan inhibiendo las ciclooxigenasas (COXs), enzimas que convierten el ácido araquidónico, liberado desde los fosfolípidos de membrana por fosfolipasas, a prostanooides tales como las prostaglandinas (PG_s) (ver Figura 6). Dos formas de COX están bien caracterizadas: COX-1, considerada una enzima constitutiva involucrada en la protección de la mucosa gástrica, en la mantención del flujo sanguíneo renal y en promover la agregación plaquetaria. La enzima COX-2, con un 60% de homología con la COX-1, pero que es codificada por un gen diferente, y que es inducida por estímulos inflamatorios y citoquinas liberadas por células migratorias y otras, y por el estrés en las células vasculares endoteliales [25].

La función peroxidasa de las enzimas convierte PGG₂ a PGH₂ la cual es el punto de partida para la formación de varios prostanooides tales como PGE₂, prostaciclina y tromboxano A₂. Las funciones peroxidasas de COX-1 y COX-2 y sus sitios activos están estrechamente relacionados al de la mieloperoxidasa, la enzima del neutrófilo que cataliza la formación de ácido hipocloroso [26]

La síntesis de PGs parece estar compartimentalizada. Según este esquema, concentraciones bajas de ácido araquidónico, ya sea disponible extracelularmente o liberado desde fosfolípidos, es principalmente convertido a PGH₂ por COX-2 cuando ambas isoenzimas están presentes en la célula. El intermedio, PGH₂, se convierte entonces a PGE₂. Esto se denomina respuesta

tardía, porque esta senda requiere la inducción de citoquinas en las células inflamatorias, aunque es probable que sea constitutivo en las células del sistema nervioso central. Por el contrario, el sistema inmediato utiliza COX-1 cuando las concentraciones altas de ácido araquidónico están disponibles, o a través de concentraciones altas de material exógeno, o por la activación "explosiva" de fosfolipasa citosólica A2-[®] (cPLA2-[®]) por el ionóforo de calcio [27]. Este esquema se ha desarrollado de los macrófagos y su validez general permanece establecida.

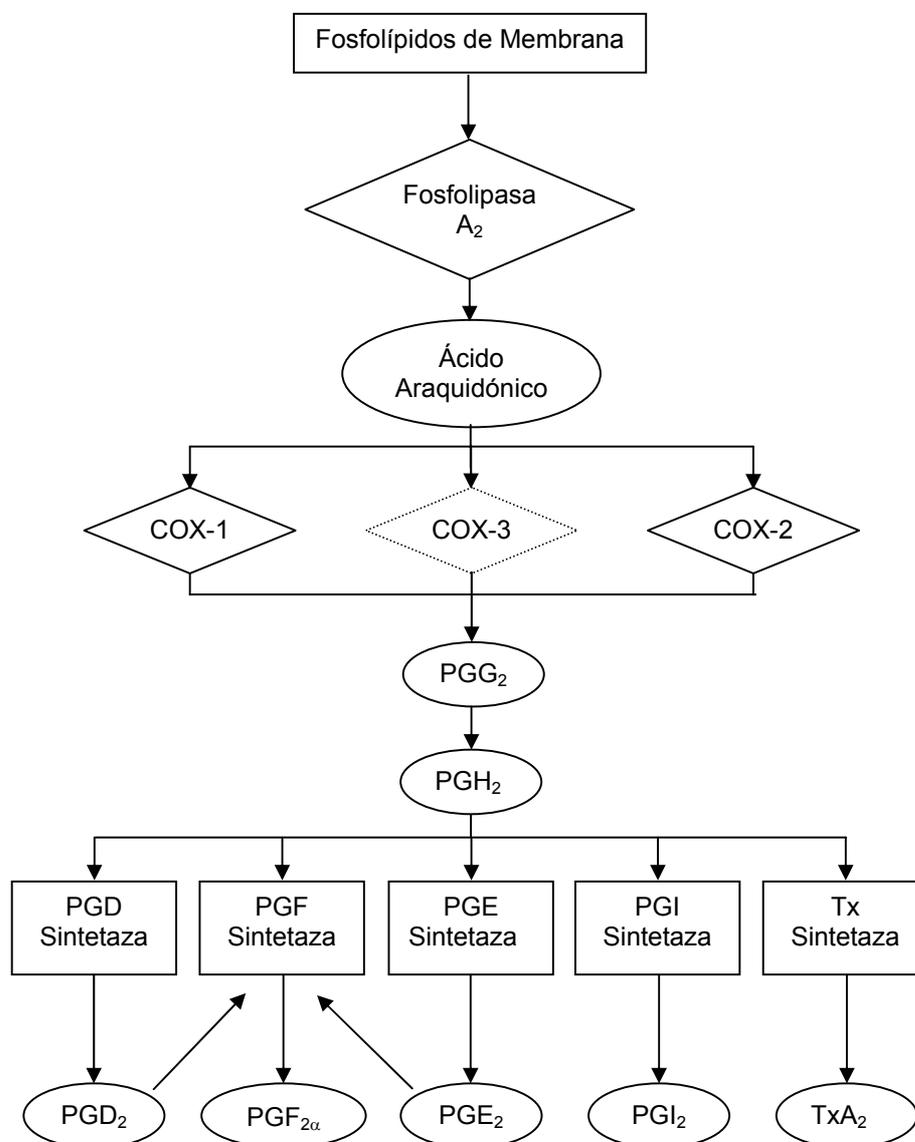


Figura 6. Esquema de la vía de formación de prostaglandinas (*the FASEB journal*, 18:791, 2004).

Las acciones analgésicas de los AINEs pueden ser dissociadas de los efectos anti-inflamatorios, y esto puede reflejar acciones espinales y

supraespinales adicionales de los AINEs para inhibir varios aspectos del procesamiento central del dolor. Ambas COX-1 y COX-2 contribuyen a la producción espinal y supraespinal de prostanoïdes que siguen a la injuria y la inflamación [28].

Clínicamente la significativa actividad anti-inflamatoria de los AINEs es enriquecida con un 80% o más de inhibición de la COX-2; los diferentes perfiles de efectos adversos de los AINEs son determinados por la magnitud en la que ellos inhiben la COX-1, en relación a la dosis. Sin embargo, la tasa de riesgo-beneficio de los AINEs no está determinada solamente por sus efectos en el tracto gastrointestinal, puesto que la inhibición de la COX-2 está también asociada con una reducción en la síntesis de prostaglandinas importantes en la preservación de la función renal. Actualmente, el descubrimiento que COX-2 es sobreexpresada en los cánceres colon rectal y de próstata, y que parece tener un rol en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer, sugieren que los futuros roles de los AINEs se pueden extender para incluir la profilaxis de estas condiciones [25].

Existe gran evidencia que los AINEs tienen un mecanismo de acción central agregado a los mecanismos periféricos. Este efecto puede ser el resultado de la interferencia en la formación de prostaglandinas en el SNC. Alternativamente, la acción central puede estar mediada por péptidos opiodes endógenos o bloqueo de la liberación de 5-HT. Además un mecanismo que

involucra la inhibición de la activación del receptor NMDA o aminoácido excitatorio, ha sido también propuesto [13].

Muy recientemente, se ha identificado una variante de isoforma COX, llamada COX-3, está compuesta por el RNAm de COX-1 que retiene el intrón-1. La proteína posee reducida actividad en la síntesis de prostaglandinas relativa a COX-1, pero drogas analgésicas/antipiréticas tales como paracetamol y metamizol preferencialmente inhiben su actividad.

Comparaciones evolutivas muestran que el intrón-1 es de tamaño similar en todas las especies, pero no siempre en el mismo marco que en caninos (donde fue primariamente descubierta). Por ejemplo, está fuera del margen en humanos y roedores y requeriría mecanismos adicionales tales como el uso de sitios de unión alternativos, o un RNA modificado para fabricar una proteína funcional [29]. En el hombre, el RNA mensajero de la COX-3 es más abundante en la corteza cerebral, en la médula espinal y el corazón. También se expresa en células de insecto.

PARACETAMOL

También llamado acetaminógeno, es metabolito activo de la fenacetina, un analgésico derivado de la anilina. Se clasifica dentro del grupo de los para-aminofenoles.

Fue utilizado por primera vez por Von Mering en 1893 y se encuentra disponible como fármaco de venta libre desde 1955. Luego de la ingesta, se absorbe en forma rápida y completa, alcanzando el peak de la concentración plasmática entre los 30 y 60 minutos, con una vida media plasmática de 2 horas. Se une levemente a las proteínas plasmáticas y atraviesa sin problemas la barrera hematoencefálica. Con las dosis usuales (500mg. 3 ó 4 veces al día) administradas en un tiempo breve, el paracetamol posee pocos efectos colaterales. Sin embargo, cuando se emplean dosis masivas o durante un tiempo prolongado, se informa la aparición de severos efectos colaterales hepáticos o renales. Es por esto, una droga segura cuando se utiliza en buena forma y es efectiva para el alivio del dolor leve a moderado, por ejemplo: cefaleas, dismenorreas, mialgias, etc.

Por otro lado, es una excelente alternativa para el tratamiento de la fiebre, especialmente en el caso de estar contraindicados otros AINEs como la aspirina, pues no posee efectos colaterales gastrointestinales, síntomas renales, ni trastornos hemorrágicos [19]. El efecto adverso más grave descrito con la sobredosis aguda de paracetamol es una necrosis hepática, dosis-

dependiente, potencialmente fatal. La necrosis hepática y la tubular renal son el resultado de un desequilibrio entre la producción del metabolito altamente reactivo y la disponibilidad de glutatión [30]. Con disponibilidad normal de glutatión, la dosis mortal de paracetamol es de 10 grs. aproximadamente, pero hay varias causas que pueden disminuir estas dosis (tratamiento concomitante con doxorubicina o el alcoholismo crónico). El tratamiento de sobredosis debe comenzarse con *N*-acetilcisteína por vía intravenosa sin esperar a que aparezcan los síntomas, pues la necrosis es irreversible.

En pacientes alérgicos a la aspirina, el paracetamol puede producir reacciones alérgicas cruzadas tipo broncoespasmo [31].

Paracetamol es a menudo clasificado en el grupo de drogas tipo aspirina o tipo AINEs. Sin embargo, no comparte los mismos perfiles de ambos, en término de las actividades terapéuticas y sitios de acción. Estas marcadas diferencias, sugieren que sus mecanismos de acción pueden diferir [32]. El mecanismo por el cual el paracetamol alivia el dolor no ha sido aún dilucidado. Por ejemplo, a diferencia de la morfina al paracetamol no se le han conocido sitios de unión de alta afinidad endógena. Además, el paracetamol no parece compartir con los AINEs la capacidad de inhibir la actividad de las COXs a nivel periférico, pero tiene un efecto más potente en las enzimas localizadas centralmente. Esto ha llevado a varios autores a proponer un mecanismo de acción central del paracetamol [33]. Tal hipótesis está en línea con la capacidad de paracetamol de cruzar la barrera hematoenfálica tanto en ratas como en

humanos, y con su eficacia en modelos de dolor después de su administración central en ambos, y en modelos libres de cualquier inflamación y sólo sensibles a drogas que actúan centralmente. Algunas hipótesis neurobioquímicas han sido propuestas para este efecto mediado centralmente puesto que el paracetamol reduce el comportamiento por sustancia P o NMDA inyectado intratecalmente [32].

Paracetamol generalmente se considera un inhibidor débil de la síntesis de PGs por COX-1 y COX-2 en los sistemas celulares rotos, por el contrario, concentraciones terapéuticas de paracetamol inhiben la síntesis de PG en las células intactas in vitro cuando los niveles del sustrato de ácido araquidónico son bajos (menos de 5 $\mu\text{mol/L}$ aprox.). Cuando los niveles de ácido araquidónico son bajos, las PGs son sintetizadas principalmente por COX-2 en células que contienen COX-1 y COX-2. Así, la aparente selectividad de paracetamol puede deberse a la inhibición de vías COX-2 dependientes que están actuando en proporciones bajas. Esta hipótesis es consistente con efectos farmacológicos similares del paracetamol y los inhibidores COX-2 selectivos. Sin embargo, a diferencia de los inhibidores de COX-2 selectivos, el paracetamol no suprime la inflamación en la artritis reumatoide. No obstante, hace disminuir la inflamación después de una cirugía oral en humanos y suprime la inflamación en las ratas.

Aunque varios estudios bioquímicos apuntan a la inhibición de actividad de COX-2 central, la existencia de una actividad COX que es selectivamente susceptible al paracetamol (COX-3) es una hipótesis alternativa. Sin embargo, análisis genómico y cinético indica que es improbable que esta interacción sea clínicamente relevante [34].

Por otra parte, para explicar el mecanismo de acción del paracetamol, la modulación del sistema serotoninérgico también se ha sugerido en base a estudios bioquímicos y conductuales que apoyan un efecto serotoninérgico indirecto. El paracetamol puede estimular la actividad de las vías 5-HT descendentes que inhiben la transmisión de señales nociceptivas en el cordón espinal. Esta posibilidad proviene de evidencia que antagonistas administrados espinalmente de varios subtipos de receptores 5-HT, anulan la actividad antinociceptiva de paracetamol. La acción de paracetamol a un nivel molecular es incierta pero podría relacionarse a la producción de metabolitos reactivos por la función peroxidasa, función de COX-2, la cual podría agotar el glutatión, un cofactor de enzimas tales como la PGE-sintetasa [33,34].

Muchos sistemas de vías y receptores han sido propuestos, pero no se ha encontrado interacción significativa entre paracetamol y alguna vía involucrada en la transmisión del dolor. También se ha sugerido que paracetamol puede aliviar el dolor a través del sistema opioide [35]. Además Raffa et al. [36] ha sugerido que la antinocicepción inducida por paracetamol incluye una interacción “auto-sinérgica” entre sitios espinales y supraespinales

y, que ésta compromete una vía opioide endógena. Aunque ellos mostraron que el paracetamol en 10 μM no se une significativamente a receptores opioides μ , δ , o κ , otros han demostrado que el paracetamol tiene una baja afinidad por sitios de unión de naloxona [^3H], sugiriendo que las interacciones receptor opioide directas pueden ocurrir en altas concentraciones.

La adenosina es un autacoide ubicuo que también ha sido implicado en las vías del dolor. La administración periférica de adenosina se ha visto que produce un pronunciado efecto pro-nociceptivo, mientras que cuando es administrado centralmente produce efectos antinociceptivos. Los efectos analgésicos de la adenosina son mejorados por inhibidores de su captación o metabolismo y así la inhibición de la captación de la adenosina podría ser responsable de algunos de los efectos de paracetamol [37].

METAMIZOL (dipirona, metampirona, noramidopiridina)

Metamizol, un derivado pirazolónico, posee propiedades analgésicas, antipiréticas, anti-inflamatorias y espasmolíticas [38]. Entre los componentes anti-inflamatorios no esteroideos, metamizol es ampliamente usado en muchos países para el manejo del dolor debido a su alta eficacia y su buena tolerabilidad gástrica [39].

Metamizol es una prodroga, la cual a temperatura ambiente y en una atmósfera con oxígeno, es espontáneamente, no enzimáticamente convertida a

4-metilaminoantipirina, esto ocurre después de ser administrada por vía oral. Subsecuentemente el sitio N-metil de la cadena a 4-metilaminoantipirina es oxidado para producir 4-formilaminoantipirina, la cual además es convertida en 4-aminoantipirina. Por lo tanto, es aceptado que metamizol en solución acuosa y en presencia de oxígeno consta de un grupo de derivados pirazolónicos, de los cuales 4-metilaminoantipirina es farmacológicamente el más importante.

Ninguno de los metabolitos se liga fuertemente a proteínas plasmáticas, siendo excretados predominantemente por el riñón [40,41]. La acción analgésica de metamizol alcanza su máxima potencia 40 a 60 minutos después de su ingestión, es efectivo por 6 a 8 horas, lo cual aumenta con dosis sobre 1.5 g. Altas dosis tienden a prolongar el efecto analgésico. Metamizol ha demostrado ser clínicamente efectivo en el alivio del dolor debido a cólico renal agudo, cáncer, cirugía abdominal y extracción dental, y es comparable en su eficacia, sino superior, a los AINEs y opiodes suaves [42].

La analgesia que produce metamizol es dosis-dependiente, o sea, a mayor dosis, en general del orden de 25-30 mg/kg, mayor eficacia analgésica. Un malestar y/o posible hipotensión arterial es relatado con su empleo por vía oral, pero raramente observado cuando se administra vía endovenosa en bolo de manera lenta.

Se ha reportado que metamizol puede ejercer su efecto en dolor inflamatorio a través de la inhibición de la síntesis de prostaglandinas en el sistema nervioso central y en la periferia, aunque su mecanismo de acción

preciso permanece poco claro y parece ser diferente del de las drogas anti-inflamatorias no esteroideas clásicas. Ha sido sugerido que la acción antinociceptiva de metamizol, tal como la de otros AINEs, es mediada centralmente.

Metamizol y sus metabolitos 4-metilaminoantipirina y la 4-aminoantipirina inhiben la síntesis de prostaglandinas. Este efecto es mediado a través de la inhibición de la actividad COX, estudios al respecto han demostrado que metamizol es sustancialmente más potente (alrededor de 10 veces) en la inhibición de la actividad de COX-2 cuando células intactas son usadas como fuente de COX-2, y que no regula la actividad COX-1 en células intactas en concentraciones terapéuticas. También se le han descrito acciones inhibitorias sobre la actividad de COX-1 y COX-3 [43,44].

Los metabolitos biológicamente activos de metamizol rápidamente entran al fluido cerebroespinal y alcanzan concentraciones en el tejido cerebral de alrededor del 50% de la concentración plasmática [45]. Se ha demostrado que la microinyección de metamizol en la sustancia gris periacueductal (SGP) de la médula induce cambios en la actividad de la neuronas que se proyectan espinalmente, localizadas en la médula rostral ventromedial (MRV), específicamente, las llamadas células en on y en off. En este respecto metamizol causa facilitación de las neuronas que inhiben el dolor (células-off) y la inhibición de las neuronas que facilitan el dolor (células-on) de la MRV [17,46].

Consecuentemente produce una disminución en la actividad, generada por estimulación eléctrica de fibras C periféricas, en varios axones espinales (presumiblemente ascendentes). También se ha visto un aumento de la latencia del reflejo del tail-flick [47].

Un estudio realizado inyectando intravenosamente metamizol mostró que inhibe la nocicepción mecánica en las neuronas de amplio rango dinámico en el asta dorsal espinal [48]. Estos hallazgos revelan al menos alguno de los mecanismos a través de los cuales metamizol alivia clínicamente el dolor en humanos. Los efectos antinociceptivos de metamizol microinyectado en la SGP así imita los efectos de los opiodes microinyectados en la SGP y son abolidos por naloxona administrada en el sitio de la SGP, en el núcleo rafe magnus y en el cordón espinal. Por lo tanto, el efecto antinociceptivo es mediado por opiodes endógenos en la SGP, la MRV, y el cordón espinal, etc, a lo largo del sistema de control descendente del dolor [48,49].

Una posibilidad inexplorada es la posibilidad de que metamizol genere cambios en el sistema no opiodérgico (es decir, catecolaminérgico, serotoninérgico) en la SGP, la MRV o el cordón espinal [50].

La acción antinociceptiva de metamizol en dolor inducido por inflamación en la pata de rata ha sido reportado ser dependiente en participación local de óxido nítrico, así ambos, el inhibidor de la óxido nítrico sintetaza, N-metil-L-arginina (L-NMMA), y azul de metileno, un inhibidor soluble de la guanilato-ciclasa, consistentemente previenen su efecto analgésico.

En relación a las RAM los datos coinciden con el hecho que el riesgo de sangramiento gastrointestinal asociado con el uso de metamizol es comparable al del paracetamol y claramente menor al de la aspirina y otros AINEs [51]. Se ha sugerido que metamizol induce discrasias sanguíneas, tales como agranulocitosis. En los inicios del 1970 la incidencia de tales discrasias sanguíneas debidas al metamizol fueron consideradas mayor al 0.1%. Sin embargo, ningún estudio epidemiológico de este problema había estado disponible hasta la publicación en 1986 del estudio internacional de agranulocitosis y anemia aplástica [52]. Los resultados obtenidos indicaron que el exceso de riesgo de agranulocitosis fue menos de 1.1 por millón de usuarios y que el riesgo de anemia aplástica fue virtualmente inexistente. Un reciente examen de los estudios basados en la población sobre la seguridad de metamizol y ácido acetil-salicílico mostró una menor incidencia de reacciones adversas para metamizol [52].

NALTREXONA

Es un antagonista no selectivo de los receptores opiodes, pero con mayor afinidad al receptor μ , de tal modo que revierte todos los efectos producidos por los fármacos opiodes. Se utiliza clínicamente en el tratamiento de intoxicación inducida por opiodes 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 [21].

INTERACCIÓN DE FÁRMACOS.

La interacción farmacológica entre drogas se puede considerar desde el punto de vista farmacocinético o farmacodinámico, por esto cuando dos drogas se administran en forma conjunta, sus efectos pueden ser:

1. Aditivos: corresponde a la suma de los efectos que produce cada una de ellas separadamente.
2. Subaditivo o antagónico: corresponde a un efecto menor que la suma de cada agente por separado.
3. Sinérgico o supraditivo: que es un efecto mayor que la suma de los efectos por separados de cada droga [53,54,55].

Es evidente que asociar drogas que produzcan sinergismo, mejor que simple aditividad, presenta 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.

El estudio de la interacción analgésica a nivel preclínico no ha sido muy extenso, refiriéndose fundamentalmente a la interacción sinérgica entre ketorolaco y tramadol, (VII), entre tramadol y metamizol (VIII), entre

paracetamol y codeína (IX), y recientemente entre diversos AINEs y morfina [55,56,57,58].

Por ello en el presente trabajo se evaluará la interacción entre paracetamol y metamizol, en un modelo de dolor agudo térmico denominado tail-flick.

HIPÓTESIS

La coadministración de paracetamol y metamizol produce una interacción antinociceptiva de naturaleza sinérgica

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antinociceptiva de paracetamol y de metamizol en un ensayo experimental de dolor agudo térmico

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar la antinocicepción inducida en ratones por la administración sistémica intraperitoneal (i.p) de paracetamol y de metamizol en el modelo algesiométrico agudo térmico denominado “tail-flick o test de la cola”.
2. Caracterizar la naturaleza de la interacción antinociceptiva inducida por la coadministración vía i.p de dosis bajas de paracetamol y metamizol, usando el método algesiométrico de la cola.
3. Estudiar la participación del sistema opioide en la interacción de paracetamol y metamizol vía i.p , en el mismo modelo algesiométrico.

MATERIAL Y MÉTODO

1. Animales

Fueron utilizados ratones de la cepa CF/1 (*mus musculus*) machos, con un peso entre 25 a 30 gramos (ver foto 1). Los animales fueron aclimatados al ambiente del laboratorio durante al menos 2 horas antes de ser utilizados para experimentación y de acuerdo a las normas éticas aprobadas por la Comisión de Ética local de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile [56].

Cada animal recibió solamente una dosis de los fármacos, fue utilizado una vez y seleccionado en forma aleatoria. Todas las observaciones durante el experimento fueron efectuadas en forma randomizada, ciega y usando como control suero fisiológico. Un mínimo de 6 animales fueron usados para cada tratamiento. Los animales fueron sacrificados en forma inmediata luego del experimento, mediante dislocación cervical.



Foto 1. Ratones machos CF/1.

2. Test de Tail-Flick

El método algiesiométrico usado fue el denominado tail-flick (movimiento de la cola), como un modelo de dolor agudo térmico, que utiliza un aparato diseñado y fabricado por Ugo Basile (Italia) de acuerdo al método originalmente descrito por D'Amour y Smith (1941) cuya finalidad es medir las latencias de respuesta del animal al estímulo nociceptivo.

El ensayo consiste en colocar al ratón dentro de un dispositivo tipo contenedor especialmente diseñado por el mismo fabricante, para mantenerlo constreñido y en reposo (ver foto 2),

Posteriormente, se aplica un estímulo de calor radiante regulable, proveniente de una fuente de poder infrarroja, sobre la cola del animal, a una distancia de alrededor de 4 cm desde la punta.

Al momento de iniciar la aplicación de calor se activa un cronómetro digital sensible al movimiento, para poder registrar el tiempo que demora el animal en retirar la cola del estímulo nociceptivo, también denominado tiempo de latencia del tail-flick, y que corresponde a la medida utilizada para evaluar el efecto analgésico de los fármacos utilizados en el estudio (ver foto 3).

La intensidad de la fuente calórica fue regulada en un valor constante durante todo el curso del experimento y el tiempo máximo de reacción (cut-off) se fijó en 8 segundos para no generar daño en la piel de la cola del animal.

Primeramente, se determinaron los valores de las latencias controles. Para tal efecto, los animales fueron introducidos en los dispositivos

contenedores previamente, durante 3 minutos, de modo de lograr la adaptación al espacio reducido y de esta manera evitar los movimientos inespecíficos de la cola. Los valores de las latencias controles fueron registrados dos veces, siendo la segunda lectura similar a la primera.



Foto 2. Dispositivo tipo contenedor utilizado para el tail-flick test.



Foto 3. Cronómetro de registro de latencia de respuesta.

3. Drogas

Todas las drogas usadas fueron suministradas por el laboratorio de farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile y correspondieron a:

- Paracetamol y metamizol, ambos clasificados dentro del grupo de anti-inflamatorios no esteroidales.
- Naltrexona, antagonista opioide no selectivo, de mayor afinidad por los receptores μ .

4. Administración de las drogas

Por vía i.p fueron inyectados paracetamol y el metamizol en un volumen de 10 ml/kg, realizando la algiesimetría 30 minutos después para obtener la latencia experimental cuando se produjera el efecto máximo de cada droga.

Los resultados fueron expresados como variación de latencia +/- el error estándar o como el porcentaje del máximo efecto posible (MPE), calculado de la forma que sigue:

$$\%MPE = 100 \times \left[\frac{(LE_x - LC)}{(Cut\ off - LC)} \right]$$

En relación a esta fórmula:

- LE_x corresponde a la latencia medida con el fármaco;
- LC es la latencia control medida;
- Cut off se refiere al tiempo máximo de exposición de la cola del animal.



Foto 4. Administración de las drogas vía i.p.

5. Análisis de las interacciones

La interacción entre los fármacos utilizados, fue evaluada llevando a cabo el análisis isoblográfico para las diferentes combinaciones, como fue descrito por Tallarida et al., modificado por el Laboratorio [57].

Para ello se construyeron curvas dosis-respuesta de los fármacos administrados por vía sistémica (i.p) con un mínimo de 6 animales por cada una de al menos 4 dosis. De las cuales, se obtuvieron, en forma computarizada, las DE_{25} , por análisis de regresión lineal, usando los cuadrados mínimos.

Las interacciones entre las diferentes drogas se efectuó coadministrando intraperitonealmente 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 de las DE_{25} de paracetamol y metamizol. La coadministración se efectuó antes y después del pretratamiento de ellos con 1 mg/kg, por vía i.p, de naltrexona.

Para cada mezcla de drogas, la DE_{25} fue determinada por análisis de regresión lineal del logaritmo de la curva dosis-respuesta y fue comparada estadísticamente a la aditividad teórica de la DE_{25} obtenida de la siguiente fórmula:

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

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

Así obtenidas las DE_{25} experimentales se graficó en un sistema de coordenadas cartesianas (isoblograma) construido conectando la ED_{25} de la droga 1 trazada en la abscisa con la DE_{25} de la droga 2 trazada en la ordenada, para obtener así la línea de aditividad.

La región del gráfico donde se ubica el valor experimental en relación al valor teórico determina el tipo de interacción. Si el valor se ubica bajo la línea de aditividad y es estadísticamente diferente del valor teórico, la interacción es de

tipo sinérgica o supraaditiva (el efecto de la combinación de las drogas es más alto y estadísticamente diferente que el efecto teórico calculado de la combinación con las mismas proporciones); cuando la combinación de las drogas da una DE_{25} experimental que no es estadísticamente diferente a la DE_{25} calculada en forma teórica, se determina que la interacción tiene un efecto de simple aditividad, lo que significa que cada constituyente contribuye con su propia potencia y la droga menos potente esta actuando como si fuera meramente una forma diluida de la otra. Por otro lado, si el valor experimental se ubica sobre la línea de aditividad y es estadísticamente diferente del teórico, la interacción es de naturaleza subaditiva o antagónica.

Al mismo tiempo, el programa computacional calcula el índice de interacción (I.I), entre las drogas, a partir de la siguiente formula:

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

Cuando el cuociente es menor que 1 corresponde a una interacción sinérgica o supraditiva; si el resultado es igual a 1 la interacción es aditiva y si es mayor que 1, es subaditiva o antagónica [58].

6. Análisis estadístico

Los resultados son presentados como valores medios +/- el error estándar o los valores DE_{25} con un intervalo de confianza del 95%.

Los parámetros estadísticos relativos a los isobogramas se calcularon con un sistema computacional del laboratorio.

La significación estadística que se determinó por análisis de varianza y pruebas t de Student usadas para comparar los puntos experimental y teórico en el isobograma fue aceptada en un nivel del 5% ($p < 0.05$).

RESULTADOS

1. Efecto antinociceptivo de paracetamol:

La administración vía intraperitoneal (i.p.) de paracetamol (10-1000 mg/kg), utilizando el método algesiométrico del tail-flick, da como resultado una actividad antinociceptiva dosis-dependiente, cuya curva respectiva se muestra en la figura 1. La DE_{25} del paracetamol por vía i.p. fue de 99.84 ± 8.7 mg/kg (n=6) que corresponde a un MPE de $28,3 \pm 1.56\%$.

2. Efecto antinociceptivo de metamizol

Al administrar metamizol (10-600 mg/kg) por vía i.p., se indujo una respuesta antinociceptiva de tipo dosis-dependiente, como se observa en la figura 2. La DE_{25} , de este AINE resultó ser de 97.4 ± 15.9 mg/kg (n= 6), con un MPE de $31.74 \pm 4.70\%$.

3. Paralelismo de las curvas dosis-respuesta de paracetamol y metamizol

Al analizar estadísticamente las curvas dosis-respuesta de paracetamol y de metamizol, obtenidas en este ensayo algesiométrico, resultaron ser no paralelas, como puede observarse en la figura 3.

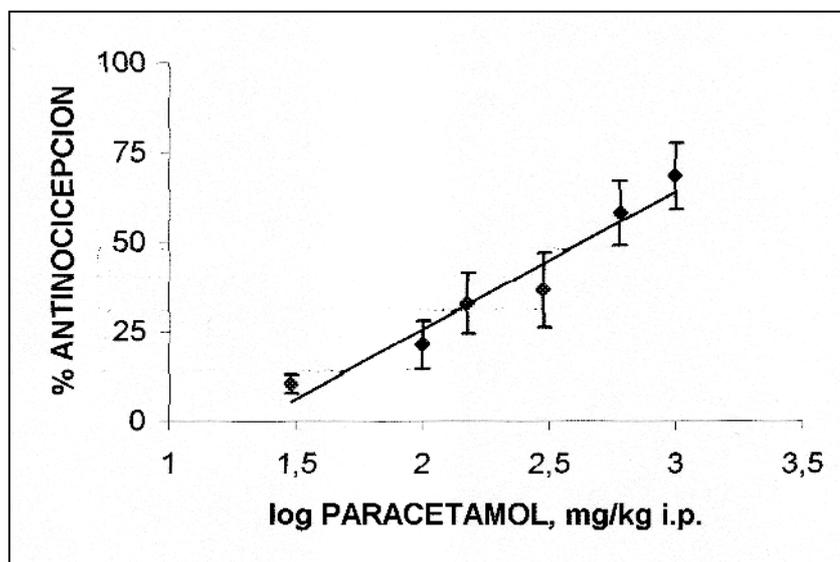


Figura 1. Curva dosis respuesta de paracetamol administrado por vía i.p en el test de tail-flick.

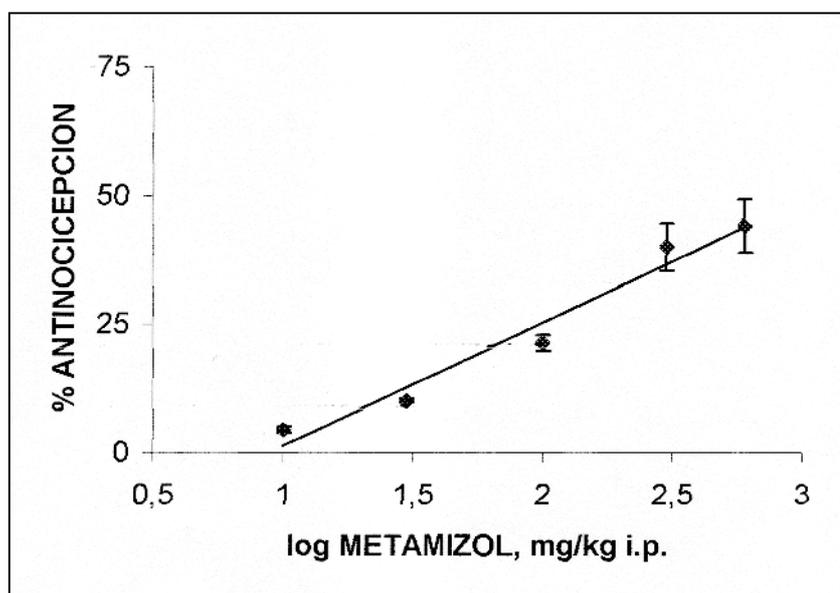


Figura 2. Curva dosis respuesta de metamizol administrado vía i.p en el test de tail-flick

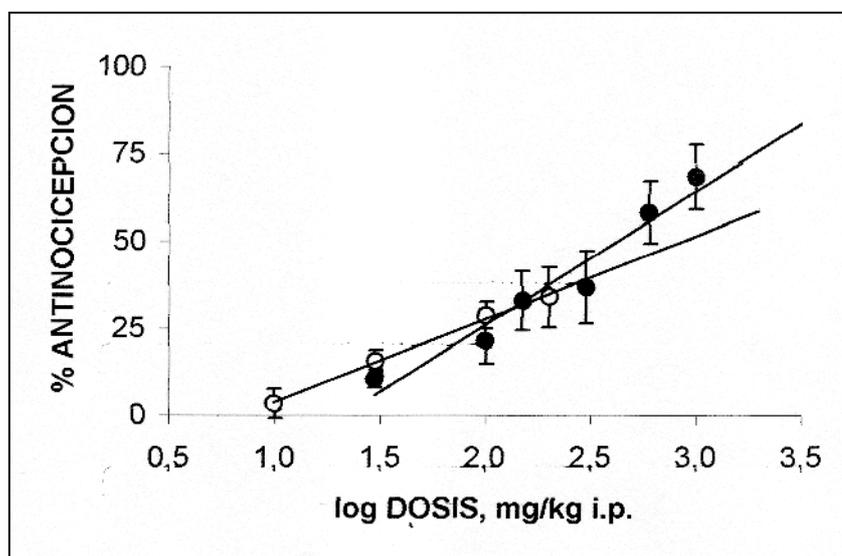


Figura 3. Paralelismo de curvas dosis-respuesta de paracetamol y de metamizol en el test de tail-flick. ● = Paracetamol; ○ = Metamizol .

4. Interacción de paracetamol y metamizol

La actividad antinociceptiva inducida por la coadministración vía i.p. de proporciones fijas (1/2, 1/4, 1/8 y 1/16) de las DE_{25} de paracetamol y metamizol, fue evaluada por análisis isobolográfico. Los resultados demuestran que la interacción antinociceptiva es de tipo sinérgica o supraaditiva. El índice de interacción entre paracetamol y metamizol resultó ser de 0.258, que corresponde a un índice de interacción sinérgica, ya que es menor a 1.

El pretratamiento de los animales con 1 mg/kg i.p. de naltrexona no modificó la naturaleza de la interacción antinociceptiva de la mezcla paracetamol/metamizol, ya que continuó siendo sinérgica, debido a que la ubicación del punto que representa la DE_{25} de la mezcla se encuentra bajo la línea de aditividad de los fármacos. Además el valor de la DE_{25} de la mezcla no es significativamente diferente del que se obtiene sin la previa administración de naltrexona. Todos estos resultados se encuentran graficados en la figura 4.

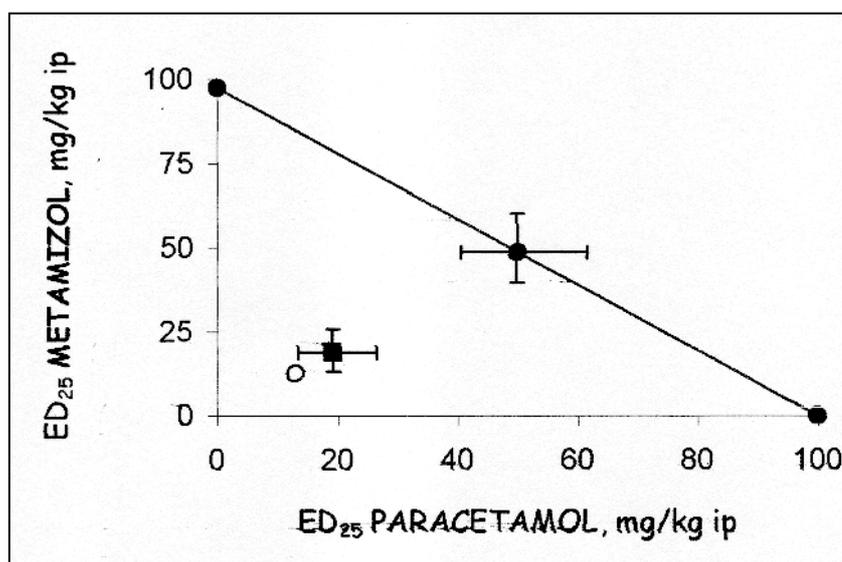


Figura 4. Isoblograma para la antinocicepción inducida por la coadministración de paracetamol y metamizol, por vía i.p., en el test de tail-flick. El (●) representa el punto de aditividad teórica de la mezcla, el (○) corresponde al punto experimental y el (■) representa el punto obtenido después del pretratamiento de los animales con naltrexona (1 mg/kg).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente trabajo utilizando el ensayo del tail-flick, un test algesiométrico de dolor agudo térmico, demuestran que paracetamol o metamizol por vía i.p, producen una actividad antinociceptiva que es dosis-dependiente. Estos resultados concuerdan con informes previos que demuestran que la administración sistémica de AINEs produce actividad antinociceptiva en diversos modelos algesiométricos utilizados en animales [59,60,61,62]. Sin embargo, otros estudios previos han demostrado que el metamizol es inefectivo en el test del tail-flick [63,64]. La diferencia entre estos resultados, podría explicarse por las diferencias en los protocolos experimentales y por los diferentes tipos de dolor que se miden en cada ensayo.

La potencia analgésica relativa de metamizol y de paracetamol, resultó ser igual, ya que las DE_{25} , de cada uno de los AINEs son semejantes. Esta igualdad de potencia podría deberse, fundamentalmente, a que ambos analgésicos presentan un mecanismo de acción principal común para desarrollar sus efectos farmacológicos. Además, por la no existencia de paralelismo entre las curvas dosis-respuestas, se sugiere que en la actividad analgésica de metamizol y paracetamol, participarían otros mecanismos complementarios. El no paralelismo de las curvas, sugiere que la acción de

dichos fármacos estaría producida por activación de diferentes vías, sin actuar en un receptor común [65].

De acuerdo a estos hallazgos, se podría deducir que la igualdad de potencia de ambas drogas, no implica necesariamente que los mecanismos que inducen la analgesia involucren una acción en un mismo receptor o en un mismo nivel de la vía nociceptiva.

El mecanismo de acción de metamizol es controversial. La actividad antinociceptiva periférica de metamizol, podría deberse a su acción como inhibidor de la síntesis de prostaglandinas [66,67], o la modulación de la vía óxido nítrico-GMP cíclico [68,69]. Otros estudios, confirman que metamizol actuaría en canales de K^+ sensibles a Ca^{+2} o bien a ATP en las neuronas aferentes primarias, para producir su efecto antinociceptivo, en un modelo de dolor inflamatorio [70,71].

Sumado a lo anterior, existe evidencia farmacológica que describe un compromiso de canales de potasio voltaje dependientes en el mecanismo periférico de acción de metamizol. [70]. Se ha sugerido, que la antinocicepción inducida por metamizol resulta de una combinación del efecto periférico y espinal en la neurona sensorial periférica primaria [69]. Por otra parte, mientras algunos han propuesto que inhibe la síntesis de prostaglandinas en el sistema nervioso central interfiriendo con mediadores en el cerebro, otros sugieren que actuaría directamente en las vías neurales para producir analgesia [72]

Metamizol actúa sobre estructuras del SNC, tales como el cordón espinal, la médula rostral ventromedial (es decir, núcleo rafe magnum y estructuras adyacentes) y la sustancia gris periacueductal (SGP) del cerebro medio. En efecto, la aplicación directa de metamizol y otros analgésicos no opioides en el cordón espinal, inhibe: las respuestas de las neuronas espinales y axones espinales ascendentes y de las neuronas talámicas a la estimulación eléctrica de las fibras C aferentes; las respuestas de neuronas espinales a la estimulación nociva periférica térmica y química; el reflejo flexor a la estimulación periférica de las fibras C aferentes; la respuesta a estímulos térmicos, químicos, mecánicos e inflamatorios, y el dolor en pacientes con cáncer.

Además, se ha observado un aumento de la latencia del reflejo del Tail-Flick en ratones, cuando el metamizol es microinyectado en la SGP, sugiriendo que produce sus efectos antinociceptivos vía mecanismos centrales descendentes [38,46]. Esto también ha sido demostrado por inyección vía intratecal de metamizol en ratones [73].

Otros ensayos indican que los componentes centrales y periféricos de la antinocicepción inducida por el metamizol involucran mediación por mecanismos opioidérgicos y serotoninérgicos. La activación de sistemas de control descendente opioidérgicos, se desprende de estudios donde se ha mostrado que naloxona puede reducir parcialmente el efecto de metamizol

administrado, ya sea sistémicamente o microinyectado en la médula espinal, SGP o médula rostral ventromedial [62,74].

También se ha demostrado que metamizol es capaz de estimular la liberación de β -endorfinas [75]. Otro hallazgo corresponde a una posible interferencia de metamizol con la actividad de glutamato a nivel espinal [76,77].

Por último se describe como posible mecanismo de acción del metamizol la inhibición de una variante de COX-1, denominada COX-3. ya que estudios al respecto han indicado que el metamizol inhibe más potentemente COX-3 que COX-1 y 2. Sumado a esto, está el hecho que la 4-metilaminoantipirina, metabolito activo del metamizol alcanza concentraciones en el plasma y SNC que son consideradas fisiológicas y que inhiben la enzima COX-3 [44].

El mecanismo analgésico de paracetamol no ha sido bien dilucidado aún. Se ha demostrado que inhibe débilmente las COXs periféricas, pero tiene un efecto más potente en enzimas localizadas a nivel central. Esta limitada inhibición de COXs, especialmente periféricas, ha llevado a varios autores a proponer un mecanismo de acción central [78,79,80] que ha sido demostrado en múltiples test algesiométricos.

Diversos estudios al respecto han demostrado que paracetamol actúa centralmente por inhibición de COX-3 y reducción de las concentraciones de prostaglandina E_2 en el cerebro [81]. Esta acción es favorecida por su buen paso a través de la barrera hematoencefálica y su acumulación en altas

concentraciones en el SNC [78]. Se ha visto que a altas concentraciones de sustrato, COX-3 sólo es inhibida por paracetamol y a su vez a bajas concentraciones de sustrato es significativamente más sensible a paracetamol que COX-1 o COX-2 [44]. Más aún, estudios de RNA en tejidos humanos indicaron altos niveles de mensajeros para COX-3 en corteza cerebral y corazón. Así, la inhibición de COX-3 en el cerebro y el cordón espinal puede ser el mecanismo más cotizado para paracetamol. Sin embargo los bajos niveles de expresión de COX-3 y su cinética determinan una baja relevancia clínica. Otros autores sostienen que es improbable que COX-3 en roedores y humanos juegue un rol en dolor y fiebre mediada por prostaglandinas [82].

También ha sido sugerido que paracetamol puede aliviar el dolor a través del sistema opioide y que su antinocicepción involucra una interacción entre sitios espinales y supraespinales incluyendo una vía endógena opioide [35,36]. No obstante, se ha demostrado que paracetamol no se une significativamente a receptores mu, delta o kappa [83], sin embargo, otros estudios han propuesto que paracetamol tiene baja afinidad por sitios de unión a naloxona, lo que sugiere que las interacciones con receptores opioides directas pueden ocurrir en altas concentraciones [84].

Recientemente, ha sido demostrado que el efecto antinociceptivo del paracetamol es inhibido por administración intratecal de tropisetron, un antagonista de receptor 5-HT₃, lo que avala una relación entre los sistemas serotoninérgicos y opioidérgicos en la actividad del paracetamol, como también la

contribución de mecanismos colinérgicos, interacción con sustancia P, etc [85,86,87,88].

Otros estudios han demostrado la acción del paracetamol en la inhibición de la síntesis de óxido nítrico, involucrado en la generación del dolor [89,90].

De acuerdo a los datos entregados, ambas drogas, si bien comparten algunos mecanismos de acción, puede que éstos no involucren un receptor común, o que su mecanismo predominante, no sea el mismo para la inducción de analgesia en este ensayo algiesiométrico.

La coadministración por vía i.p de la mezcla metamizol/paracetamol produjo una interacción sinérgica. La sinergia obtenida en el presente ensayo, podría corresponder a una compleja modulación de la actividad de sistemas inhibitorios descendentes, que influenciarían la transmisión de la información nociceptiva, sumado probablemente a efectos sobre las neuronas primarias en la médula espinal. También podría explicarse por la existencia de mecanismos farmacocinéticos y farmacodinámicos complementarios o disímiles, que ampliarían el espectro de acción y con esto, la actividad antinociceptiva.

Las modificaciones de naturaleza farmacodinámica corresponderían a la activación de diferentes mecanismos que logran un efecto de sumación, aumentando así la actividad antinociceptiva. El mecanismo farmacocinético residiría en una elevación de la concentración local de uno de los fármacos en el sitio de acción, por efecto del otro, o bien una metabolización menor de uno de ellos, por efecto del otro en el sistema enzimático de los CPY-450.

Por otro lado, los efectos sinérgicos podrían responder a interacciones funcionales obtenidas por acción de metamizol y/o paracetamol en sitios anatómicos distintos, ya sea a nivel pre o postsináptico, que podrían actuar en forma independiente o conjunta, incrementando el efecto antinociceptivo.

El pretratamiento con naltrexona, no es capaz de modificar la naturaleza de la interacción sinérgica de la asociación paracetamol/metamizol. Este hallazgo demuestra una débil participación de los receptores opioides, especialmente los del subtipo μ - principales responsables de los efectos antinociceptivos, tanto espinales como supraespinales-, en el mecanismo de la interacción entre ambos fármacos. Este hecho, se contrapone a estudios previos que describen la participación del sistema opioide en el mecanismo de acción antinociceptivo de paracetamol [88,91,92,93] y también de metamizol [48]. No obstante, podría suponerse que las concentraciones del antagonista opioide no hayan alcanzado un nivel suficiente para modificar la interacción con los receptores opioides, o bien que la vía de administración no permitió una biodisponibilidad adecuada del fármaco para modificar la interacción cooperativa entre paracetamol y metamizol.

Si bien, estos resultados han sido obtenidos utilizando sólo un modelo de dolor animal, ellos son suficientemente positivos para estimular futuras investigaciones con otros modelos nociceptivos u otras combinaciones de fármacos analgésicos, para encontrar interacciones positivas.

Así mismo, los efectos sinérgicos obtenidos a partir de la asociación de metamizol y paracetamol, constituyen un hallazgo de relevancia clínica, puesto que los efectos supraaditivos pueden alcanzar un nivel similar de analgesia, con una considerable reducción de las dosis individuales de cada uno de los fármacos, y en consecuencia una menor incidencia de efectos adversos. Estos resultados podrían constituir en un futuro, una nueva herramienta farmacológica para el odontólogo en el tratamiento del dolor y la analgesia preventiva.

CONCLUSIONES

1. Metamizol produce actividad antinociceptiva de tipo dosis dependiente, luego de su administración vía i.p, en el test algesiométrico de tail-flick.
2. Paracetamol produce efecto antinociceptivo dosis dependiente administrado i.p. medido con el mismo test
3. La potencia analgésica de metamizol no es estadísticamente diferente a la de paracetamol
4. La coadministración de paracetamol y metamizol vía i.p genera una interacción de naturaleza sinérgica o supraditiva en el tail-flick test
5. El pretratamiento con naltrexona no altera el tipo de interacción de la mezcla paracetamol/metamizol en este ensayo experimental, lo que descarta la participación del sistema opioide, via receptores opiodes del subtipo μ principalmente.
6. Este estudio sugiere que la co-administración de dos analgésicos que difieren en su mecanismo de acción, inducen sinergismo. La importancia clínica de este hallazgo, radica en el incremento de la efectividad analgésica con menores dosis de cada fármaco, y como consecuencia la disminución de reacciones adversas.

RESUMEN

Varias drogas inducen analgesia o antinocicepción por interferencia con las vías neuronales involucradas en la recepción y la transmisión desde la periferia a los más altos centros en el SNC, esta inhibición de la neurotransmisión dolorosa, es posible, tanto a nivel preclínico, en animales, como a nivel clínico, en el hombre. Así, se pueden mencionar los fármacos α -adrenérgicos, serotoninérgicos, colinérgicos, nitridérgicos, antidepresivos, antiepilépticos, anestésicos locales, cannabinoides, opioides, anti-inflamatorios no esteroideos. Estos últimos son los más utilizados, para el alivio del dolor agudo y también dolor crónico. Sin embargo, una evaluación sistemática de la acción combinada entre estos fármacos, no ha sido ampliamente realizada.

Es claro que las drogas que produzcan sinergismo, presentan un futuro más promisorio en el tratamiento del dolor, sobretodo si a ello se agrega que normalmente el sinergismo va acompañado con una significativa disminución de las reacciones adversas. Es por eso, que en este trabajo se evaluó la interacción antinociceptiva entre paracetamol y metamizol, utilizando el test algesiométrico llamado tail-flick o test del movimiento de la cola, en el que consiste en la aplicación de un estímulo térmico nociceptivo en la cola del animal. Se utilizaron ratones de la cepa CF-1, a los cuales se administró por vía i.p. 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de las ED₂₅ de cada fármaco. El análisis isoblográfico determinó que la interacción resultó ser de naturaleza supra-aditiva o

sinérgica. Se descartó la participación del sistema opioide en esta interacción, ya que al utilizar el antagonista opioide naltrexona, no se modificó el tipo de interacción. Los resultados confirman la utilidad de la asociación de ambas drogas y la participación de múltiples sistemas en la actividad cooperativa antinociceptiva de los AINEs.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] <http://serendip.brynmawr.edu/bb/neuro/neuro98/202s98-paper3/Pernar3.html>
- [2] Merskey H. and Bogduk. Classification of Chronic Pain. Segunda Edición, impreso por IASP, 1994.
- [3] Muñoz AL, Tapia P. Dolor agudo y Dolor crónico. Editorial Universitaria, pp. 3-6, 1999.
- [4] Paeile C. El Dolor, Aspectos Básicos y Clínicos. Segunda Edición. Santiago-Chile, Publicaciones Técnicas Mediterráneo Ltda., pp. 20-21, 1997.
- [5] Millan M. The Induction of Pain: An Integrative Review. Neurobiology, 57: 1, 1999.
- [6] Lamont L, Tranquilli W, Grimm K, Physiology of Pain. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. 30: 703-723, 2000.
- [7] Guirimand F. Recent data on the physiology of pain. Nephrologie. 7:401-7, 2003.
- [8] Bonica JJ. Anatomic and physiologic basis of nociception and pain. The management of pain. Segunda edición. NY USA, Lea & Febiger, pp. 28-94, 1990.
- [9] McHugh JM, McHugh WB. Pain: neuroanatomy, chemical mediators, and clinical implications. AACN Clin Issues. 11: 168-78, 2000.

- [10] Dray A. Inflammatory Mediators of Pain. *British Journal of Anaesthesia*. 75: 125-131, 1995.
- [11] Sawynor J. Topical and peripherally acting analgesics. *Pharmacol Rev*. 55:1-20, 2003.
- [12] Bjorkman R. Central antinociceptive effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs and paracetamol. Experimental studies in the rat. *Acta Anaesthesiol Scand*.103(Suppl):1-44, 1995.
- [13] Cashman JN. The mechanisms of action of NSAIDs in analgesia. *Drugs*. 52 (Suppl):13-23, 1996.
- [14] Dagnino J. Definiciones y clasificación del dolor. *Boletín Escuela de Medicina, Universidad Católica de Chile*. 23:148-151, 1994.
- [15] Rolf-Detlef Treede, Kenshalo DR, Gracely R, Jones A. The cortical representation of pain. *Pain*. 79:105-111, 1999.
- [16] Millan JM. Descending control of pain. *Progress in Neurobiology*. 66: 355-474, 2000.
- [17] Fields HL, Heinricher MM, Mason P. Neurotransmitters in nociceptive modulatory circuits. *Annu. Rev. Neurosci*. 14:219-245, 1991.
- [18] Ke Ren, Ronald Dubner. Descending modulation in persistent pain: an update. *Pain*. 100:1-6, 2002.
- [19] Casanga R. Estudio experimental de la actividad antinociceptiva del paracetamol. Trabajo de investigación requisito para optar al título de cirujano-dentista. Stgo-Chile, 1997.

- [20] Navarro D. Modulación colinérgica de la acción antinociceptiva del ketoprofeno. Trabajo de investigación, requisito para optar al título de cirujano-dentista. Stgo-chile 2000.
- [21] Goodman and Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Novena edición, Mc Graw- Hill Interamericana, pp.661-705, 1996.
- [22] Furst S. Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. Brain Research Bulletin. 48:129–141, 1999.
- [23] Caterina MJ, Julius D. A molecular identity for nociceptors. Curr. Opin. Neurobiol. 9:525-30, 1999.
- [24] Burian M, Geisslinger G. COX-dependt mechanisms involved in the antinociceptive action of NSAIDs at central and peripheral sites. Pharm.and Ther. 107:139-154, 2005.
- [25] Flower R. Studies on the mechanism of action of anti-inflammatory drugs. A paper in honour of John Vane.Thromb Res. 110:259-63, 2003.
- [26] Smith W L, Song I. The enzymology of prostaglandin endoperoxide synthases-1 and -2. Prostagland Lipid Med. 68–69: 115–128, 2000.
- [27] Murakami M, Naraba H, Tanioka T. Regulation of prostaglandin E2 biosynthesis by membrane-associated prostaglandin E2 synthase that acts in concert with cyclooxygenase-2.J.Biol. Chem. 276: 32783– 32792, 2000.
- [28] Yaksh TL, Dirig DM, and Malmberg AB. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Cancer Investig. 16:509-527,1998.

- [29] Simmons DL., Botting RM., and Hla T. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol. Rev.* 56:387-437, 2004.
- [30] Edwards SR, Mather LE, Lin Y, Power I, Cousins MJ. Glutamate and Kynuren in the rat central nervous system following treatments with ischaemia. *J. Pharm. Pharmacol.* 52:59-66, 2000.
- [31] Bjornsson GA, Haanaes HR, Skoglund LA. Naproxen 500 mg bid versus acetaminophen 1000 mg qid: effect on swelling and other acute postoperative events after bilateral third molar surgery. *J Clin Pharmacol.* 43:849-58, 2003.
- [32] Alloui A, Chassaing C, Schmidt J, Ardid D, Dubray C. Paracetamol exerts a spinal, tropisetron-reversible, antinociceptive effect in an inflammatory pain model in rats. *European Journal of Pharmacol.* 443:71-77, 2002.
- [33] Bonnefont J, Courade JP, Alloui A, Eschalier A. Antinociceptive mechanism of action of paracetamol. *Drugs.* 63:1-4, 2003.
- [34] Graham GG., Scott KF. Mechanism of action of paracetamol. *Am J Ther.* 12:46-55, 2005.
- [35] Sandrini M, Romualdi P, Capobianco A, Vitale G, Morelli G, Pini LA, Candelet S. The effect of paracetamol on nociception and dynorphin A levels in the rat brain. *Biochem. Pharmacol.* 61:1409-1416, 2001.

- [36] Raffa RB, Stone J, Tallarida RJ. Discovery of “self- synergistic” spinal/supraspinal antinociception produced by acetaminophen (paracetamol). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 295: 291-294, 2000.
- [37] Godfrey L, Morselli A, Bennion P, Clarke GD, Hourani SM, Kitchen I. An investigation of binding sites for paracetamol in the mouse brain and spinal cord. *European Journal of Pharmacol.* 508: 99-106, 2005.
- [38] Carlsson KH, Helmreich J, Jurna I. Activation of inhibition from the periaqueductal grey matter mediates central analgesic effect of metamizol (dipyrone). *Pain.* 27:373-90, 1986.
- [39] Hernández-Delgadillo GP, Cruz SL. Dipyrone potentiates morphine-induced antinociception in dipyrone-treated and morphine-tolerant rats. *European Journal of Pharmacol.* 502: 67-73, 2004.
- [40] Schug SA, Zech D, Dörr U. Cancer pain management according to WHO analgesic guidelines. *J. Pain Symptom Manage.* 5:27-32, 1990.
- [41] Levy M, Zilber-Katz E, Rosenkranz B. Clinical pharmacokinetics of dipyrone and its metabolites. *Clin. Pharmacokinet.* 28:216-234, 1995.
- [42] Martínez-Martín P, Raffaelli E, Tifus F. Efficacy and safety of metamizol vs. Acetylsalicylic acid in patients with moderate episodic tension-type headache: a randomized, double-blind, placebo- and active-controlled, multicentre study. *Cephalalgia,* 21: 604-610, 2001.

- [43] Campos C, Gregorio R, García-Nieto R, Gago F, Ortiz P, Alemany S. Regulation of cyclooxygenase activity by metamizol. *European Journal of Pharmacol.* 378:339-374,1999.
- [44] Chandrasekharan NV, Hu Dai K, Lamar Turepu Roos. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 99:13926–13931, 2002.
- [45] Cohen O, Zylber-Katz E, Caraco Y, Granit L, Levy M. Cerebrospinal fluid and plasma concentrations of dipyron metabolites after a single oral dose of dipyron. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 54:549-553,1998
- [46] Tortoroci V, Vanegas H. Putative role of medullary off-and on-cells in the antinociception produced by dipyron (metamizol) administered systemically or microinjected into PAG. *Pain.* 57: 197-205, 1994.
- [47] Vanegas H, Tortoroci V, Eblen-Zajjur, Vasquez E. PAG-microinjected dipyron (metamizol) inhibits responses of spinal dorsal horn neurons to natural noxious stimulation in rats. *Brain Res.* 759: 171-174, 1997.
- [48] Vasquez E, Hernández N, Escobar W, Vanegas H. Antinociception induced by intravenous dipyron (metamizol) upon dorsal horn neurons: Involvement of endogenous opioids at the periaqueductal gray matter, the

nucleus raphe magnus, and spinal cord in rats. *Brain Research*, 1048: 211-217, 2005.

- [49] Hernández N, Vanegas H. Antinociception induced by PAG-microinjected dipyron (metamizol) in rats: involvement of spinal endogenous opioids. *Brain Res.* 896: 175-178, 2001.
- [50] Tortoroci V, Vanegas H. Opiod tolerance induced by metamizol (dipyron) microinjections into the periaqueductal gray of rats. *Eur. J. Neurosci.* 12: 4074-4080, 2000.
- [51] Laporte JR, Carne X, Moreno V, Juan J. Upper gastrointestinal bleeding in relation to previous use of analgesics and non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Lancet.* 337:85-89, 1991.
- [52] The International Agranulocytosis and Aplastic Anemia Study. Risks of agranulocytosis and aplastic anemia. *JAMA*, 256:1749-57, 1986.
- [53] Tallarida RJ, Murria R. *Manual of Pharmacologic calculation with Computer Programs.* 2° Edition, New York, Springer-Verlag, 1997.
- [54] Tallarida RJ, Porreca F, Cowan A. A statical analisis of drug-drug and site-site interactions with isobolograms. *Life Sci.* 45: 947-961, 1989.
- [55] Tallarida RJ. Drug synergism: its detection and applications. *J Pharmacol Exp Ther.* 298:865-72, 2001

- [56] Miranda HF, Silva E, Pinardi G. Synergy between the antinociceptive effects of morphine and NSAIDs. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 82: 331-338, 2004.
- [57] Miranda HF, Prieto JC, Pinardi G. Spinal synergy between nonselective cyclooxygenase inhibitors and morphine antinociception in mice. *Brain Res.* 1049: 165-270, 2005.
- [58] Miranda HF, Sierralta F, Pinardi G. Previous administration of indomethacin or naloxone did not influence ketorolac antinociception in mice. *Anesth. Analg.* 77 :750-3, 1993.
- [59] Trocoso, 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.
- [60] Miranda HF, Lemus I, Pinardi G. Effect of the inhibition of serotonin biosynthesis on the antinociception induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Brain Res. Bull.* 61:417-425, 2003.
- [61] Zepeda, C. Estudio de 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.
- [62] Fatma Sultan Kilic & Kevser Erol. Central components in the antinociceptive activity of dipyrone in mice. *Inflammopharmacology*, 8: 259–265, 2000.

- [63] Akman, H., Aksu, F., Gültekin, İ., et al. A possible central antinociceptive effect of dipyrrone in mice, *Pharmacology*, 53:71–78, 1996.
- [64] Björkman, R., Hedner, T., Henning, M. Central, naloxone-reversible antinociception by diclofenac in the rat, *Naunyn–Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 342:171–176, 1990.
- [65] Goldstein A, Aronow L, Kalman SM. *Drug Action: The Basis of Pharmacology*. Second Edition. New York: John Wiley & Sons, pp. 82-111, 1974.
- [66] Brune K, Alpermann H. Non-acidic pyrazolones: inhibition of prostaglandin production, carrageenan oedema and yeast fever. *Agents Actions*, 13:360-363, 1983.
- [67] Abbate R, Gori AM, Pinto S, Attanasio M, Paniccia R, Coppo M, et al. Cyclooxygenase and lipoxygenase metabolite by polymorphonuclear neutrophils: in vitro effect of dipyrrone. *Prostaglandins Leu Essent Fat Acids*, 41:89-93, 1990.
- [68] Granados-Soto V, Flores-Murrieta FJ, Castañeda-Hernández G, Lopez-Muñoz FJ. Evidence for the involvement of nitric oxide in the antinociceptive effect of ketorolac. *Eur. J. Pharmacol.* 277 :281-4, 1995.
- [69] Lorenzetti BB, Ferreira SH. Activation of the arginine-nitric oxide pathway in primary sensory neurons contributes to dipyrrone-induced spinal and peripheral analgesia. *Inflamm. Res.* 45:308-11,1996.

- [70] Ortiz MI, Castañeda-Hernández G, Granados-Soto V. Possible involvement of potassium channels in peripheral antinociception induced by metamizol: lack of participation of ATP-sensitive K⁺ channels. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 74:465-470, 2003.
- [71] Alves DP, Duarte IDG. Involvement of ATP-sensitive K⁺ channels in the peripheral antinociceptive effect induced by dipyrene. *Eur. J. Pharmacol.* 444 : 47– 52, 2002.
- [72] Shimada SG, Otterness IG, Stitt JT. A study of the mechanism of action of the mild analgesic dipyrene. *Agents Actions*, 41:188-92, 1994.
- [73] Reuss, C. Modulación colinérgica de la acción antinociceptiva del metamizol. Trabajo de investigación requisito para optar al título de cirujano dentista. U. de Chile. 2000.
- [74] Hernández N, Vanegas H. Antinociception induced by PAG-micoinjected dipyrene (metamizol) in rats: involvement of spinal endogenous opioids. *Brain Res*, 896:175-8, 2001.
- [75] Vlaskovska M, Surcheva S, Ovcharov R. Importance of endogenous opioids and prostaglandins in the action of analgin (metamizol) and verapamil. *Farmakol Toksikol*, 52:25-9, 1989.
- [76] Beirith A, Santos AR, Rodrigues AL, Creczynski-Pasa TB, Calixto JB. Spinal and supraspinal antinociceptive actions of dipyrene in formalin, capsaicin and glutamate tests. Study of mechanism of action. *Eur j pharmacol.* 345:233-45, 1998.

- [77] Dickenson AH. central acute pain mechanisms. *Ann. Med.* 27: 223-227, 1995.
- [78] Carlsson KH, Monzel W, Jurna I. Depression by morphine and the non-opioid analgesic agents, metamizol (pyrone), lisine acetylsalicylate and paracetamol of activity in rat thalamus neurons evoked by electrical stimulation of nociceptive afferents. *Pain* 32:313-326, 1988.
- [79] Piletta P, Porchet HC, Dayer P. Central analgesic effect of acetaminophen but not of aspirin. *Clin. Pharmacol. Exp. Ther.* 49:350-354. 1991.
- [80] Bannwarth, B., Demotes-Mainard, F., Schaefferbeke, T., et al. Central analgesic effects of aspirin-like drugs, *Fundam. Clin. Pharmacol.* 9:1–7, 1995.
- [81] Botting R. COX-1 and COX-3 inhibitors. *Thrombosis Res.* 269-272, 2003.
- [82] Kis B, Snipes JA, Busija DW. Acetaminophen and the COX-3 puzzle: sorting out facts, fictions and uncertainties. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 6, 2005.
- [83] Raffa RB, Codd EE. Lack of binding of acetaminophen to 5-HT receptor or uptake sites (or eleven other binding/uptake assays). *Life. Sci.* 59-40, 1996.
- [84] Pini, L. A., Vitale, G., Ottani, A., et al. Naloxone-reversible antinociception by paracetamol in rat, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 286 : 934–940, 1997.

- [85] Alloui, A., Pelissier, T., Dubray, C., et al. Tropicsetron inhibits the antinociceptive effect of intrathecally administered paracetamol and serotonin, *Fundam. Clin. Pharm.*10:406–407, 1996.
- [86] Pelissier, T., Alloui, A., Paeile, C., et al. Evidence of a central antinociceptive effect of dparacetamol involving 5HT3 receptors, *Neuro. Report* G, 1546– 1548, 1995.
- [87] Björkman, R., Hallman, K., Hedner, J., et al. Acetaminophen blocks spinal hyperalgesia induced by NMDA and substance P, *Pain* 57:259–264, 1994.
- [88] Sandrini M, Vitale G, Ottani A, Pini LA. The potentiation of analgesic activity of paracetamol plus morphine involves the serotonergic system in rat brain. *Inflamm. Res.* 48:120-127, 1999.
- [89] Millan, M. The role of descending noradrenergic and serotonergic pathways in the modulation of nociception: Focus on receptor multiplicity. In: Born, G.V.R.; Cuatrecasas, P., Arbor, A; Ganten, D.; Herken, H.; Melmon, K.L., Starke, K. *Handbook of experimental pharmacology.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany pp. 385-446, 1997.
- [90] Alhaider, AA., Lei, S.Z., Wilcox, G.L. Spinal 5-HT3 receptor-mediated antinociception: posible release of GABA. *J. Neurosci.* 11:1881-1888, 1991.
- [91] Raffa RB, Walker EA, Sterious SN. Opioid receptors and acetaminophen (paracetamol). *Eur. J. Pharmacol.* 503(1-3): 209-10, 2004.

- [92] Pini LA, et al. Naloxone-reversible antinociception by paracetamol in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 280(2): 934-40, 1997.
- [93] Choi, S., Lee, J., Suh, H., Antinociceptive profiles of aspirin and acetaminophen in formalin, substance P and glutamate pain models. *Brain Res.* 921: 233-239, 2001.