



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

ANÁLISIS DE LA INTERACCIÓN ENTRE KETOPROFENO CON METAMIZOL,
TRAMADOL O PARECOXIB EN DOLOR AGUDO VISCERAL EXPERIMENTAL Y
SU MODULACIÓN A TRAVÉS DEL SISTEMA NO-GMPc.

FELIPE ANDRÉS MÉNDEZ BRAVO

Memoria para optar al Título

Profesional de Médico Veterinario

Departamento de Ciencias Clínicas

PROFESOR GUÍA: HUGO F. MIRANDA

Programa de Farmacología Molecular y Clínica

Facultad de Medicina

Universidad de Chile

SANTIAGO, CHILE

2013



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

ANÁLISIS DE LA INTERACCIÓN ENTRE KETOPROFENO CON METAMIZOL,
TRAMADOL O PARECOXIB EN DOLOR AGUDO VISCERAL EXPERIMENTAL Y
SU MODULACIÓN A TRAVÉS DEL SISTEMA NO-GMPc.

FELIPE ANDRÉS MÉNDEZ BRAVO

Memoria para optar al Título

Profesional de Médico Veterinario

Departamento de Ciencias Clínicas

Nota Final.....

		Nota	Firma
Profesor Guía	Hugo Miranda Guzmán
Profesor Corrector	Daniela Iragüen Contreras
Profesor Corrector	Estefanía Flores Pavez

SANTIAGO, CHILE

2013

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

Agradezco por sobre todo a mis padres, en especial a mi madre quien siempre me entrego su corazón, a mi hermano, por su paciencia, y apoyo invaluable en este largo camino. También a mi pareja Alejandra quien también me ayudo con su paciencia, estímulo y dedicación. Agradezco al Dr, Hugo Miranda y al Dr. Gianni Pinardi que en paz descanse, por su ayuda, orientación, paciencia y entrega de sus conocimientos desinteresadamente. Al sr. Alejandro Correa y al sr. José López por su colaboración y ayuda entregada en el laboratorio, agradezco además a los académicos de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile por su ayuda entregada y paciencia.

INDICE DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
Clasificación de Dolor:	3
Según Evolución:	3
Según Naturaleza de su Origen:.....	4
Fisiopatología del Dolor.....	6
Transducción:.....	7
Transmisión:	8
Modulación:	15
Percepción:.....	17
Daño Tisular Agudo.....	18
Óxido Nítrico (NO).....	19
Biosíntesis del Óxido Nítrico.....	19
Fármacos Analgésicos.....	24
AINEs	25
Tramadol	40
HIPÓTESIS	43
OBJETIVOS	43
Objetivo General	43
Objetivos Específicos.....	43
MATERIAL Y MÉTODO.....	44
Animales a Utilizar en el Modelo de Dolor Agudo:	44
Test Algesiométrico de las Contorsiones Abdominales o Writhing Test	45
Evaluación de las Interacciones (Análisis Isobolográfico)	46
Distribución de los Grupos.....	48
Estudio Estadístico.....	50

RESULTADOS	51
Grupo Control Writhing Test:	51
DE ₅₀ de cada Fármaco y Combinación de ellos:	51
Ketoprofeno:	51
Metamizol:	52
Tramadol:	53
Parecoxib:	53
L-NAME:	54
Ketoprofeno/Metamizol:	55
Ketoprofeno/Tramadol:	55
Ketoprofeno/Parecoxib:	56
Ketoprofeno/Metamizol + L-NAME:	57
Ketoprofeno/Tramadol + L-NAME:	57
Ketoprofeno/Parecoxib + L-NAME:	58
Análisis Isoblográfico:	59
Ketoprofeno/Metamizol:	59
Ketoprofeno/Tramadol:	60
Ketoprofeno/Parecoxib:	61
DISCUSIÓN	62
CONCLUSIÓN	65
SUGERENCIAS	67
BIBLIOGRAFIA	68
ANEXO	82

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 : Representación Esquemática de los Fenómenos del Proceso Nociceptivo: Transducción, Transmisión, Modulación y Percepción	6
Figura 2 : Transmisión del Dolor en la Medula Espinal	11
Figura 3 : Vías Ascendentes, Vías Descendentes y Modulación del Dolor	12
Figura 4 : Biosíntesis del Óxido Nítrico	20
Figura 5 : Muestra el Nivel de Acción de AINE en la Inhibición de la Formación de Prostaciclina, Prostaglandinas y Tromboxanos	28
Figura 6 : Curva Dosis-Respuesta de Ketoprofeno en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.	52
Figura 7 : Curva Dosis-Respuesta de Metamizol en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.	52
Figura 8 : Curva Dosis-Respuesta de Tramadol en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.	53
Figura 9 : Curva Dosis-Respuesta de Parecoxib en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.	54
Figura 10 : Curva Dosis-Respuesta de L-NAME en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.	54
Figura 11 : Curva Dosis-Respuesta de la Combinación Ketoprofeno/Metamizol en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.	55
Figura 12 : Curva Dosis-Respuesta de la Combinación Ketoprofeno/Tramadol en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.	56
Figura 13 : Curva Dosis-Respuesta de la Combinación Ketoprofeno/Parecoxib en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.	56
Figura 14 : Curva Dosis-Respuesta de la Combinación Ketoprofeno/Metamizol + L- NAME en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético	57
Figura 15 : Curva Dosis-Respuesta de la Combinación Ketoprofeno/Tramadol + L-NAME en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.	58
Figura 16 : Curva Dosis-Respuesta de la Combinación Ketoprofeno/Parecoxib + L-NAME en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.	58
Figura 17 : Isoblograma de la Interacción Analgésica entre Ketoprofeno y Metamizol, Administrados por Vía ip., en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético	59
Figura 18 : Isoblograma de la Interacción Analgésica entre Ketoprofeno y Tramadol, Administrados por Vía ip., en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético	60

Figura 19 : Isoblograma de la Interacción Analgésica entre Ketoprofeno y Parecoxib, Administrados por Vía i.p., en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético..61

INDICE DE FOTOFRAFÍAS

Fotografía 1 Ratones de la Cepa CF/1 (<i>Mus musculus</i>).....	44
Fotografía 2 Inyección Intraperitoneal (i.p.).....	45
Fotografía 3 Contorsión Abdominal	46

RESUMEN

La analgesia o antinocicepción puede ser realizada por diferentes fármacos que actúan en distintos niveles de la vía del dolor, tanto a nivel periférico, como a nivel del Sistema Nervioso Central (SNC). Esta inhibición de la transmisión dolorosa puede ocurrir por variados fármacos: Alfa-adrenérgicos, Serotoninérgicos, Colinérgicos, Opioides, Anti-Inflamatorios No Esteroidales (AINEs), Nitridérgicos, Canabinoides, Antidepresivos, Anestésicos locales, Antiepilépticos.

Los AINEs y Tramadol (un opioide sintético) son los fármacos más utilizados en el tipo de dolor leve a moderado. En esta investigación se propuso realizar combinaciones de dos fármacos analgésicos, las cuales fueron Ketoprofeno con Metamizol, Ketoprofeno con Parecoxib y Ketoprofeno con Tramadol y determinar si existe antagonismo, aditividad o sinergismo en estas combinaciones.

Si las combinaciones de droga utilizadas produjeran sinergismo, las Reacciones Adversas Medicamentosas (RAM), generadas por el uso de cada droga por separado en dosis más altas, serían reducidas notoriamente.

Para comenzar la investigación, primero que todo, fue necesario realizar la evaluación antinociceptiva de cada fármaco por sí solo y luego de las correspondientes combinaciones, utilizando el test algesiométrico de las contorsiones abdominales o Writhing Test. Este test involucra la administración de un estímulo químico irritativo, vía intraperitoneal (i.p.).

Se utilizó ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*) a los cuales se les administró vía i.p. los fármacos y las combinaciones de fármacos.

Primero se obtuvieron las DE_{50} de cada fármaco, las cuales se utilizaron para evaluar la actividad analgésica de cada fármaco y para realizar las combinaciones ya mencionadas de los fármacos. Para realizar el cálculo de la DE_{50} y evaluar la actividad analgésica de cada combinación, se administró vía i.p. 1/2, 1/4, 1/8, y 1/16 de las DE_{50} de cada fármaco. El

isoblograma determinó interacciones de tipo sinérgica para las combinaciones de Ketoprofeno con Metamizol, Ketoprofeno con Parecoxib y Ketoprofeno con Tramadol.

Diferentes estudios sugieren la participación del Óxido Nítrico (NO, por sus siglas en ingles) en el proceso de nocicepción. Por lo tanto se propuso que alteraciones en su producción participarían en la modulación del dolor. El rol del NO es controversial ya que hay estudios que han determinado su acción como un agente que favorece la analgesia y otros estudios han comprobado su acción hiperalgésica.

El presente trabajo confirmó la participación del sistema NO-GMPc en la magnitud del efecto analgésico en las combinaciones de Ketoprofeno con Metamizol, Ketoprofeno con Parecoxib y Ketoprofeno con Tramadol, al administrarse L-NAME como pretratamiento de ellas, determinando una actividad hiperalgésica del sistema NO-GMPc en dichas combinaciones.

SUMMARY

Analgesia or antinociception can be performed by different drugs, acting at different levels of the pain pathway: at the peripheral level, as well as at the Central Nervous System (CNS). The inhibition of the pain transmission can occur by a variety of drugs: Alpha-Adrenergic, Serotonergic, Cholinergic, Opioid, Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs), Nitridergics, Cannabinoids, Anti-Depressants, local Anesthetics, Anti-Epileptic drugs.

NSAIDs and Tramadol (a synthetic opioid) are the most utilized drugs to control the mild to moderate pain. In this research it was suggested to conduct the combination of two analgesics, which were Ketoprofen with Metamizol, Ketoprofen with Parecoxib and Ketoprofen with Tramadol and determine if antagonism, additivity or synergism exist in these combinations.

If the combination of the drugs utilized produced synergism, the Adverse Drug Reactions (ADR), generated by the use of each drugs separately and in higher doses, would be notoriously reduced.

First of all, to start with the research, it was necessary to conduct the antinociceptive evaluation of each drug separately and then, the evaluation for each drug combination, using the algesiometric of abdominal contortions or Writhing Test. This test involves the administration of a chemical irritant stimulus, via intraperitoneal (i.p.). We used C/F1 mice (*mus musculus*) and they received the drug separately and the drug combinations via i.p.

First, we obtained the ED₅₀ of each drug, which were used to evaluate the analgesic activity of each drug and also, to conduct the already mentioned drug combinations. In order to calculate the ED₅₀ and evaluate the analgesic activity for each drug combination via i.p. 1/2, 1/4, 1/8 and 1/16 of the ED₅₀ of each drug was administered. The isobologram

determined synergic interactions for combinations of Ketoprofen with Metamizol, Ketoprofen with Parecoxib and Ketoprofen with Tramadol.

Different researches suggest the participation of Nitric Oxid (NO) in the process of nociception. Therefore, it suggests that alterations in its production would be involved in the pain modulation. The role of Nitric Oxid is controversial due to the fact that researches have determined its action as an agent that promotes analgesia, while other researches have proven its hyperalgesic action.

This research confirmed the participation of NO- cGMP system in the magnitude of analgesic effect in combinations of Ketoprofen with Metamizol, Ketoprofen with Parecoxib and Ketoprofen with Tramadol, when the L – NAME was administered as a pretreatment of the previous drug combinations, leading to a hyperalgesic activity from the NO system - cGMP in these combinations.

INTRODUCCIÓN

En los últimos 30 años, el estudio sobre el dolor se ha convertido en el campo de investigación de más rápido desarrollo. Aunque el dolor mismo es un análisis subjetivo de la actividad del Sistema Nervioso Central (SNC) e involucra la relación entre este sistema y la mente, se considera como una experiencia que involucra una sensación fisiológica y emocional o en el caso de los animales, reacciones conductuales para esa sensación (Lamont, *et al.* 2000). La IASP (Asociación Internacional para el Estudio del Dolor) define al dolor como una “experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular actual o potencial” (Anón, 1986a).

El dolor, aunque indeseable, representa una estrategia adaptativa que permite protegernos de las agresiones del medio externo, creando respuestas reflejas ante un estímulo doloroso. El dolor que acompaña a los procesos de daño tisular, conserva una naturaleza protectora, ya que es un componente necesario para los procesos de reparación tisular, pero en la medida que esto ocurre, también se espera que disminuyan las sensaciones dolorosas. Sin embargo, en algunas circunstancias el dolor deja de ser una sensación benéfica para el organismo y se convierte en sí mismo en una patología que debe ser suprimida para permitirle al organismo sobrevivir.

Entre los fármacos de uso cotidiano que permiten entregar un estado de analgesia adecuado se pueden mencionar tanto los Antiinflamatorios No Esteroidales (AINEs), como también el Tramadol, un opioide sintético.

Los AINEs constituyen un grupo de fármacos muy requerido en la clínica veterinaria. Entre ellos destacan Ketoprofeno, Metamizol, Fenilbutazona, Flumexin Meglumine.

Otros AINEs menos utilizados son los Coxib. Sin embargo es necesario contar con información acerca de la eficacia y seguridad de estos fármacos, sobre todo cuando la tendencia en la clínica es la administración de varios fármacos en forma simultánea en un

paciente. Este escenario se complica aún más cuando la clínica de pequeños animales dispone de todo el arsenal de uso en medicina humana y cuya adecuación posológica, en no pocas ocasiones, responde a extrapolaciones con resultados que pueden ser muy variables.

Por lo tanto es conveniente y necesario seguir realizando investigaciones que permitan saber cómo el dolor puede ser contrarrestado y aplicar sus resultados experimentales en la práctica clínica de la medicina, humana y veterinaria. Este trabajo tiene como objetivos evaluar la naturaleza de la interacción entre Ketoprofeno con Metamizol, Tramadol o Parecoxib y determinar el efecto modulador que ejerce el sistema NO-GMPc en dichas asociaciones, a través de un modelo de dolor agudo, que usa un estímulo químico irritativo; lo que permitirá determinar si existe sinergismo, antagonismo o aditividad en la asociación de dichos fármacos.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El dolor es el sistema de alerta más primitivo frente a injurias, que pueden alterar la integridad del ámbito corporal.

Hoy en día se entiende el dolor como la integración de tres componentes: el sensitivo, que hace referencia al impulso desencadenado desde los receptores periféricos de dolor; el componente cognitivo, que se relaciona con el aprendizaje cultural respecto al dolor y con las conductas que se toman como reacción a este, integra factores tales como el entorno social y cultural, aprendizajes previos, y otros factores; y un tercer componente, el emotivo-afectivo, que hace referencia a las emociones frente a un impulso doloroso y la manera como éstas pueden influir en la interpretación del mismo. La percepción final del dolor es consecuencia de la integración de estos tres componentes y depende de la contribución relativa de uno u otro, del individuo y de la clase de dolor.

Clasificación de Dolor:

El dolor tiene diferentes tipos de clasificaciones, pero generalmente las más utilizadas son aquellas basadas en su evolución y naturaleza de su origen:

Según Evolución:

Dolor Fisiológico.

Es el producido por la estimulación breve de los nociceptores de la piel u otros tejidos, sin generar daño tisular; se considera una sensación protectora que es necesaria para la supervivencia y el bienestar del individuo (Armero *et al.*, 2004).

Dolor Agudo.

Es aquel producido por un daño tisular importante y su duración depende del tiempo que puedan tardar los tejidos en sanar (Armero *et al.*, 2004). El dolor agudo indica al individuo que algo anda mal. En algunos casos, el dolor limita la actividad, previniendo un daño mayor o ayudando a la curación (Bonica, 1990). Los factores psicológicos y ambientales tienen una influencia importante en la manera en que se experimenta este tipo de dolor y además pueden desencadenar una serie de acontecimientos que lo perpetúan y favorecen su evolución a dolor crónico (Dagnino, 1994).

Dolor Crónico.

La persistencia del estímulo nociceptivo, de la enfermedad, o de ciertas condiciones fisiopatológicas, puede conducir al establecimiento de un dolor crónico. (Dagnino, 1994). Este dolor, se puede definir como aquel que dura por semanas, meses e incluso años, el cual tiene efectos fisiológicos, psicológicos y conductuales sobre el paciente (Anón, 1986a). Podría decirse que mientras el dolor agudo es un síntoma de una enfermedad, el dolor crónico constituye una enfermedad por sí mismo. (Armero *et al.*, 2004).

Según Naturaleza de su Origen:

Dolor Somático.

Aparece cuando un estímulo potencialmente dañino estimula los receptores nociceptivos, y en el que se incluye el dolor originado en cualquier parte del cuerpo que no pertenezca al SNC (Armero *et al.*, 2004), es generalmente bien localizado y el individuo afectado no tiene dificultades para describirlo (Dagnino, 1994). Frecuentemente se habla de dolor somático propiamente tal cuando los receptores están en la piel, músculos o articulaciones (Bonica, 1990).

Dolor Visceral.

Se habla de él cuando los receptores activados por el estímulo están en una víscera. (Bonica, 1990), es frecuentemente menos localizado y puede ser referido a un área cutánea que tiene la misma inervación (Dagnino, 1994) Por ejemplo, el estímulo de receptores en el miocardio activa aferentes viscerales que terminan en los cuatro primeros segmentos medulares torácicos; esta información converge sobre la misma neurona que recibe los estímulos cutáneos, por lo que el dolor es referido muchas veces al hombro y brazo izquierdos.

Dolor Neuropático.

Es el resultado de lesiones o alteraciones crónicas en vías nerviosas periféricas o centrales. La etiología del dolor neuropático incluye traumas en nervios periféricos (por ejemplo amputaciones), infecciones (por ejemplo neuralgias post-herpéticas), presión debida a crecimientos anómalos (por ejemplo neoplasias), infartos, alteraciones metabólicas (por ejemplo neuralgia diabética), etc. (MacFarlane *et al.*, 1997). Puede desarrollarse y persistir en ausencia de un estímulo nocivo evidente. Los síntomas pueden ser focales o más generalizados. Característicamente, el síntoma se presenta como una sensación basal dolorosa o quemante (disestesia), con hiperalgesia (respuesta exagerada) o percepción de un estímulo cualquiera como doloroso (alodinia) (Dagnino, 1994).

Dolor Psicogénico.

Ocurre cuando el paciente describe problemas psicológicos como ansiedad o depresión en términos de daño tisular, verbalmente o a través de su comportamiento. Si bien el daño puede o pudo existir, el problema central es la amplificación y distorsión de esos impulsos periféricos por el estado psicológico (Armero *et al.*, 2004).

Fisiopatología del Dolor

El componente fisiológico del dolor se denomina NOCICEPCION 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 SNC (Paeile y Bilbeny, 2005) (Figura 1). Este proceso resulta en la Percepción consciente del dolor. La distorsión entre estimulación y percepción dolorosa incluyen todos los pasos de la información dolorosa, desde el nivel periférico a los sitios supraespinales.

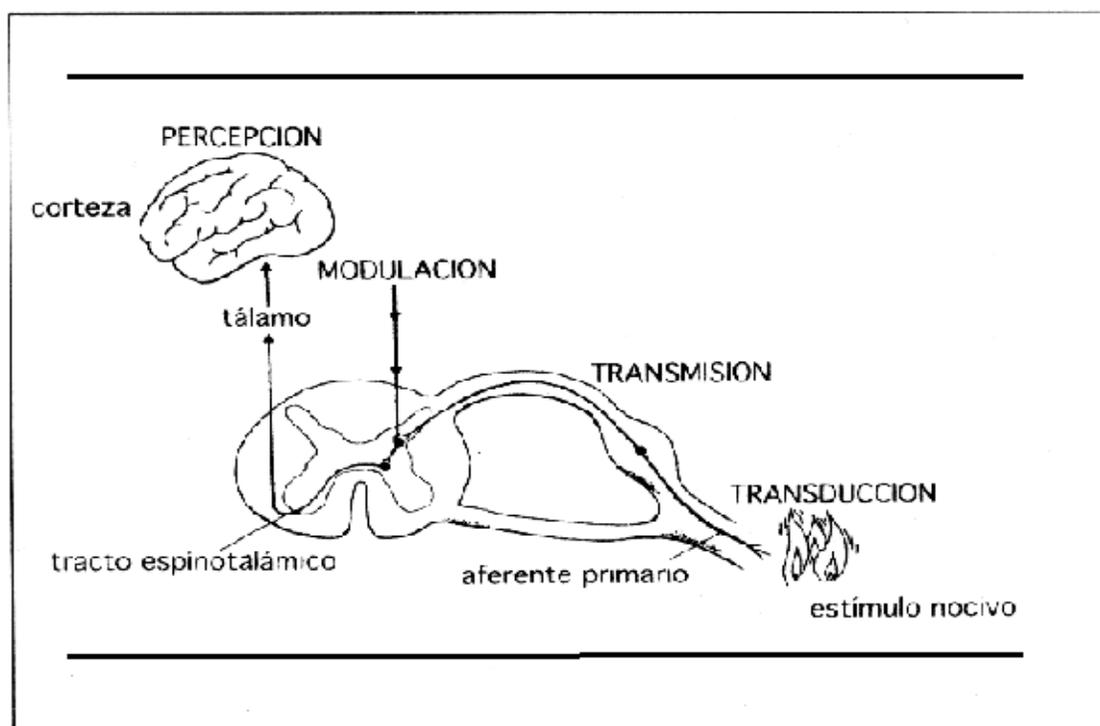


Figura 1 : Representación Esquemática de los Fenómenos del Proceso Nociceptivo: Transducción, Transmisión, Modulación y Percepción (Torregrosa, 1994)

Transducción:

Proceso por el cual el estímulo nocivo periférico se transforma en un estímulo eléctrico (potencial de acción). En este caso los nociceptores (receptores de dolor), que consisten en una terminal nerviosa de una neurona bipolar, responden con potenciales de acción a un amplio espectro de estímulos, como térmicos, mecánicos o químicos capaces de producir daño tisular (Chizh *et al.*, 2000). Actualmente se acepta que existen tres tipos de nociceptores: mecanoreceptores de alto umbral, nociceptores térmicos y nociceptores polimodales. Los dos primeros, localizados en piel y mucosas, responden a un solo tipo de estímulo: mecánico intenso o térmico, respectivamente. Ambos transmiten la información a la médula por axones finamente mielinizados, que forman las fibras A δ . Los nociceptores polimodales responden a la presión, temperatura, estímulos químicos, tales como cationes, neurotransmisores, polipéptidos y también a productos del metabolismo celular; se encuentran en piel, tegumentos y paredes viscerales y transmiten los impulsos a través de fibras C amielínicas (Muriel y Madrid, 1994). Los mecanoreceptores responden a estímulos de intensidad moderada o a noxas mecánicas, pero no son capaces de responder a la noxa térmica inicial (45-55° C), frío intenso, o químicos alógenos, sin embargo la aplicación repetitiva de una noxa térmica es capaz de generar el fenómeno de sensibilización de la terminal nociceptiva, haciéndose esta receptiva para un estímulo de menor umbral. La presencia de este tipo de receptores ha sido demostrada en la piel del cuerpo y rostro del gato y mono, así como también en el antebrazo humano (Bonica, 1990). A nivel de los nociceptores y fibras nerviosas se inicia la despolarización y la transmisión de los impulsos dolorosos hacia la medula espinal. La respuesta de estos receptores puede ser mediada y facilitada por factores que los sensibilizan, aumentando la respuesta (acidez del medio, presencia de prostaglandinas o bradiquininas, leucotrienos, tromboxanos, factor activador de plaquetas, serotonina, histamina, sustancia P y radicales libres) o por otros que causan fatiga, disminuyendo su respuesta (estímulos mecánicos repetidos). Estos receptores aumentan significativamente su respuesta eléctrica cuando los estímulos se hacen dolorosos (Nakamura y Shiomi, 1999).

Transmisión:

Propagación del impulso nervioso hasta los niveles sensoriales del SNC. Esquemáticamente se puede simplificar este proceso en la participación de tres neuronas: Neurona de primer orden que tiene su extremo distal en la periferia, el cuerpo en el ganglio raquídeo, y su extremo proximal en el Asta Posterior o Dorsal de la Medula Espinal (APME) (Figura 1). Una neurona de segundo orden que asciende en el trayecto medular y se asocia con una neurona de tercer orden que se proyecta a la corteza cerebral (Figura 1). En una forma más compleja del sistema puede haber comunicación con otras neuronas sensitivas y neuronas descendentes inhibitorias que provienen del cerebro medio y que son capaces de modular el estímulo doloroso (Dickenson, 1996). Con algunas excepciones, todos los impulsos dolorosos se transmiten desde la periferia hasta el APME por fibras C, con velocidad de conducción lenta (0,5-2 m/s), que transmiten un estímulo doloroso de tipo crónico, lento, quemante y mal localizado y por las fibras A δ , con mayor velocidad de conducción (4-30 m/s), que transmiten un estímulo doloroso agudo, punzante y localizado (Torregrosa, 1994). La transmisión del impulso nervioso a distintas velocidades por parte de las fibras A δ y C, explica la doble percepción de un estímulo doloroso, uno inicial, breve llamado epicrítico transmitido por fibras A δ y otro profundo, difuso llamado protopático transmitido por fibras C.

Las fibras A δ y C terminan en las neuronas de segundo orden específicamente en el APME, en donde la transmisión sináptica de la información es comandada por la naturaleza y la cantidad de los neurotransmisores (Nt) liberados por los aferentes primarios (neurona presináptica), la densidad e identidad de los receptores post- sinápticos (ionotrópicos y metabotrópicos), la cinética de la activación del receptor, la abertura o cierre de los canales iónicos y los factores responsables de la recaptación o degradación de Nt. Cada uno de estos factores es objeto de influencias moduladoras pre y post-sinápticas. El principal Nt excitatorio presente en todos los tipos de aferentes primarios es el glutamato y la mayor parte de la transmisión entre los aferentes primarios y la neuronas del APME ocurre principalmente a través del receptor ionotrópico post-sináptico AMPA (α -amino-3-hidroxy-5 methyl-4-isoxazole propionic acid) y en menor grado con el receptor NMDA

(N-methyl-D-aspartate) (Yoshimura y Nishi, 1993). Otros Nt excitatorios son péptidos como la sustancia P, neurocinina, y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP). Además de los Nt hay muchas sustancias que pueden modular la transmisión sináptica, como las prostaglandinas, el ATP y el factor neurológico derivado del cerebro (FNDC).

Transmisión del Dolor en la Médula Espinal:

En la Médula Espinal la sustancia gris está dividida en diez láminas (láminas de rexed) o capas de las cuales las seis primeras (láminas I a VI) corresponden al asta posterior. Las fibras de las astas anteriores, que se pensaban que solo eran eferentes y motoras, transmiten también impulsos sensoriales en más de un 15% (Arbaiza, 2005). Las fibras A δ terminan fundamentalmente en las láminas I y V, mientras que las fibras de tipo C terminan casi exclusivamente en la lámina II, aunque unas pocas poseen terminaciones en la zona ventral de la lámina I y en la zona dorsal de la lámina III (Ortega, 1995; Torregrosa, 1994).

Muchas fibras nociceptivas, antes de su ingreso a la sustancia gris, emiten colaterales descendentes y ascendentes, constituyendo parte del Haz de Lissauer. Estos 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 de primer orden puede propagarse a varias raíces vecinas. Además la neurona de segundo orden del APME puede formar sinapsis con más de una neurona de primer orden, proveniente de la piel o alguna víscera; esta sinapsis se genera siempre en la sustancia gelatinosa de rolando (lamina II), cualquiera sea la distribución del soma en el asta posterior. En el APME existe tres clases de neuronas: las neuronas de proyección, que transmiten información sensitiva y representan una pequeña parte de las neuronas del APME, las neuronas propio-espinales, que transfieren información de un segmento medular a otro y su rol en la nocicepción no es claro (Arbaiza, 2005) y las neuronas características de esta zona, las interneuronas, cuyos axones se extienden a corta distancia dentro de la médula espinal, hay interneuronas excitadoras e inhibitoras, cuyo rol de alguna manera sería modular esta sinapsis. Estos hechos tienen importancia, ya que dan un sustrato anátomo-fisiológico a fenómenos como

el dolor referido y a la modulación que sobre la transmisión nerviosa pueden ejercer centros superiores (Cashman, 1996).

Neuronas Nociceptivas de la Medula Espinal (Neurona de Segundo Orden):

Las neuronas de proyección se dividen en dos grandes grupos: las neuronas Nociceptivas Específicas (NE) y las neuronas de Rango Dinámico Amplio (RDA). Las neuronas NE son aquellas que responden de manera casi exclusiva a los estímulos nociceptivos de las fibras A δ y C, identifican la localización del estímulo y hasta cierto punto la modalidad. Su localización principal es en las láminas I y II, y conforman el 20-25 % de las neuronas espinotalámicas. Las neuronas RDA reciben aferencia de diverso origen y naturaleza como las aferencias táctiles de fibras A α , A β y las nociceptivas A δ y C; es decir responden a un abanico de estímulos de diverso origen e intensidad. Las neuronas RDA se localizan mayormente en las láminas profundas del asta posterior (IV, V y VI), y algunas en las superficiales (I, II); sus axones forman la mayor parte de las vías ascendentes; son incapaces de distinguir entre estímulos inocuos de estímulos nocivos, además carecen de la capacidad de localización precisa de los estímulos periféricos, ya que poseen campos receptores muy amplios (reciben información de un elevado número de nociceptores).

Vías Ascendentes:

Una gran proporción de las neuronas nociceptivas medulares, del APME compuestas por neuronas de proyección envían sus axones a centros o complejos supraespinales, bulbares y talámicos: el complejo medular reticular, el complejo reticular mesencefálico, la sustancia gris periacueductal, y el núcleo ventroposterolateral del tálamo. Estas neuronas son las encargadas de la transmisión de la información sensitiva desde la médula espinal a los centros cerebrales superiores que están relacionados con la percepción, atención, aprendizaje, conducta, emoción y respuestas autonómicas; además están comprometidas en la activación de los sistemas descendentes moduladores, que a su turno controlan el estado de excitabilidad de las neuronas del APME a través de mecanismos excitatorios o inhibitorios (Arbaiza, 2005).

Luego de su paso por la medula espinal la mayor parte de la información nociceptiva se transmite por vías cruzadas ascendentes situadas en la región o cordón anterolateral de la medula espinal hasta el tálamo y la corteza cerebral, las más importantes son la vía espinotalámica, la vía espinoreticular, la vía cervicotalámica, la vía espinohipotálamica y la vía espinomesencefálica (Figura 2) (Basbaum y Jessell, 2000; Barrientos, 2009).

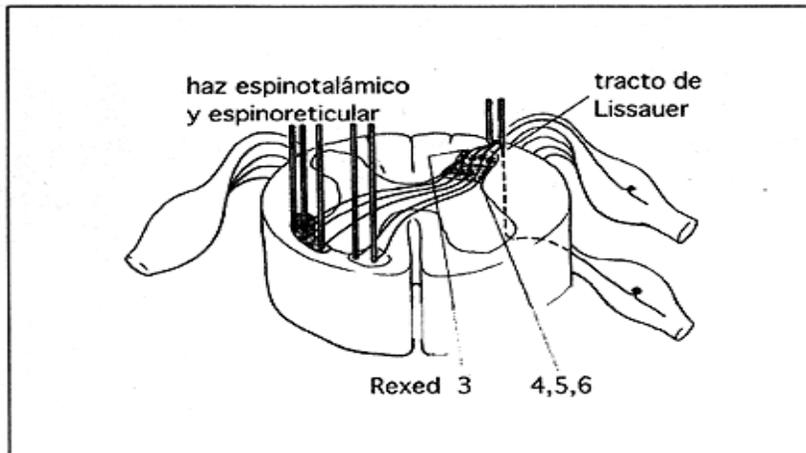


Figura 2 : Transmisión del Dolor en la Medula Espinal (Torregrosa, 1994).

La vía espinotalámica es la más relacionada con la sensación de dolor y temperatura de todo el cuerpo a excepción de la cabeza. Esta vía se origina a partir de las neuronas medulares de las láminas I, IV, V, VII y VIII (Arbaiza, 2005). Sus axones cruzan la línea media al lado contralateral de la medula espinal y parte de sus fibras ascienden hacia el tálamo donde finalizan su recorrido y las restantes se proyectan hacia la corteza sensitiva primaria y secundaria (Figura 3) (Perena *et al.*, 2000).

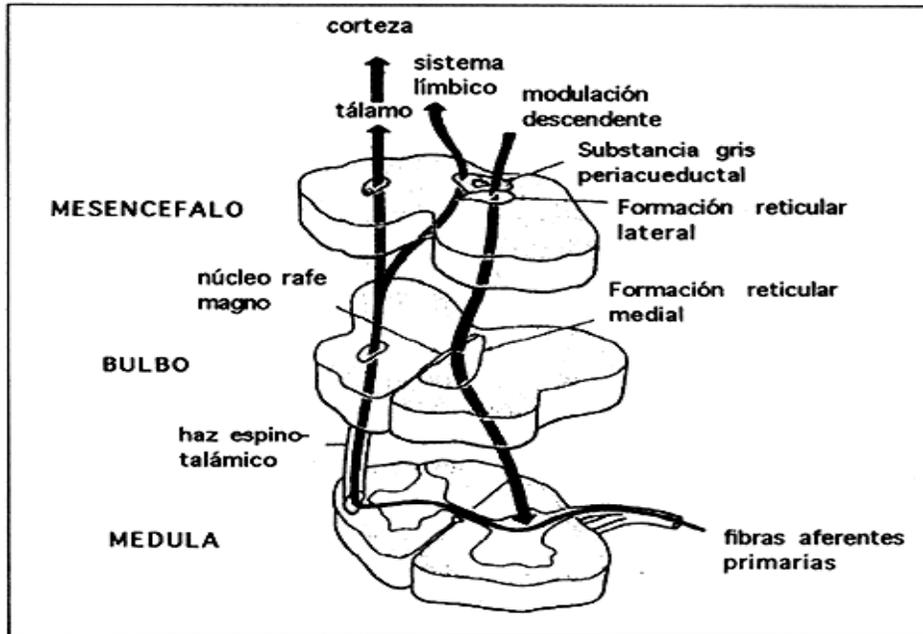


Figura 3 : Vías Ascendentes, Vías Descendentes y Modulación del Dolor (Torregrosa, 1994)

Las fibras que provienen de la vía espinotalámica, llegan al tálamo específicamente al núcleo ventral posterolateral, medial y a los núcleos intralaminares. Las fibras de la vía espinotalámica que acaban en los núcleos ventral posterior y ventral posterolateral del tálamo componen la vía neoespinotalámica, ya que es filogenéticamente más reciente, para que luego la neurona de tercer orden haga sinapsis en la corteza parietal, cuya función es entregar la ubicación topográfica del dolor (Cashman, 1996; Paeile y Saavedra, 1990); las fibras que acaban en los núcleos talámicos medial y núcleos intralaminares que reciben aferencia del tracto espinotalámico y también del tracto reticulotalámico, conforman la vía paleoespinotalámica, que 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 (Torregrosa, 1994); es un sistema que transmite impulsos relacionados con el dolor sordo, pobremente localizado y se asocia con algunos componentes afectivos-motivacionales del dolor (Cashman, 1996). Las vías neoespinotalámica y paleoespinotalámica conforman la vía espinotalámica.

La vía espinoreticular tiene su origen en las neuronas de las láminas V, VII y VIII del APME (Molina, 2007). Es importante para integrar la actividad nociceptiva con los procesos homeostáticos que son controlados por el tronco cerebral (Arbaiza, 2005).

Vía cervicotalámica, su origen reside en neuronas de las láminas III y IV. Continúa hasta núcleos en el cerebro medio y el núcleo ventral posterolateral del tálamo (Molina, 2007).

Vía Espinohipotálamica, se forma a partir de las neuronas de las láminas I, V y VIII. Sus fibras llegan directamente al hipotálamo. Se cree que a través de esta vía se activan las respuestas vegetativas y emocionales a los estímulos nociceptivos. (Giesler *et al.*, 1994).

Vía espinomesencefálica, tiene su origen en las láminas I y V del APME, termina en la formación reticular, en la sustancia gris periacueductal, en el núcleo parabraquial y en el tubérculo cuadrigémino superior. Se asocia también a los aspectos afectivos de la percepción dolorosa (Molina, 2007).

Mecanismos Tálamo-Corticales (Neurona de Tercer Orden):

Tradicionalmente se había considerado que la integración final de los componentes discriminativos, sensoriales y afectivos del dolor se hacía a nivel subcortical, sobre todo en el tálamo y núcleos diencefálicos subtalámicos, pero se ha podido demostrar que también existen centros corticales que participan en esta integración final, llegando la información modulada desde el tálamo hasta el córtex cerebral a través de las neuronas de tercer orden. La sensación de dolor comprende dos componentes distintos: el discriminativo-sensorial y el componente afectivo. Los elementos discriminativo sensoriales están mediados principalmente por el complejo ventro-basal del tálamo y por la corteza somatosensorial, estas áreas poseen neuronas nociceptivas con características similares a las de la médula espinal, con propiedades que permiten clasificarlas dentro de neuronas nociceptivas específicas (NE) y neuronas de rango dinámico amplio (RDA) (Reyes, 2003). El componente afectivo de las sensaciones dolorosas está mediado por núcleos talámicos

mediales y por zonas de la corteza que incluyen las regiones prefrontales y especialmente la corteza supraorbital (Reyes, 2003). Respecto al componente discriminativo-sensorial, la proyección más importante parece ser la que va desde los núcleos del tálamo ventroposterior lateral y ventroposterior inferior hasta las áreas corticales S1 y S2, que están interconectadas a su vez con áreas visuales, auditivas, de aprendizaje y memoria (Schaible y Grubb, 1993).

En la corteza cerebral ocurre el procesamiento último de la información nociceptiva y la percepción del dolor. Sabemos que el dolor es una sensación compleja en la que influyen experiencias previas y el contexto en el que se produce el estímulo nocivo (Petrovic *et al.*, 2000). Las neuronas de determinadas regiones de la corteza cerebral responden selectivamente a los estímulos nocivos. Sin embargo, no se puede hablar de un centro específico de procesamiento de la información nociceptiva, sino de un conjunto de estructuras involucradas, que daría lugar a una matriz de estructuras neuronales o neuromatriz (Melzack, 1999) formada por diversas áreas, participando cada una de ellas en un aspecto de la percepción. Dentro de este conjunto de estructuras se incluyen:

Corteza somestésica primaria. A este área llegan las señales procedentes de los núcleos talámicos ventral posterolateral y ventral posteromedial.

Corteza insular. Se cree que su parte posterior participa en los aspectos emocionales de la percepción del dolor (Casey *et al.*, 1994) y también en relación con la memoria (Treede *et al.*, 2000).

Circunvolución del cíngulo. Además de estar involucrada en el procesamiento de la información de tareas cognitivas y motoras complejas, parece estar relacionada con el componente afectivo de los estímulos nocivos y en los mecanismos de aprendizaje asociados con la predicción y la evitación del dolor. Se le atribuye la organización de las respuestas motoras adecuadas a los estímulos nocivos, ya sean de evitación o de adaptación (Petrovic e Ingvar, 2002).

Corteza prefrontal. Se cree que la activación de la porción dorsolateral por un estímulo doloroso se corresponde con la elaboración de mecanismos de conducta y atención frente al dolor (Derbyshire *et al.*, 1997).

Amígdala. Una de sus funciones principales consiste en asignar una carga emocional a las diversas situaciones que experimenta el sujeto (Molina, 2007).

Hipotálamo. Se trata de una estructura esencial para la coordinación de las pautas dirigidas a la supervivencia del individuo y a su reproducción. Le llegan aferencias del tracto espinohipotalámico, que aporta información nociceptiva desde el asta dorsal medular. Recibe también información indirecta procedente de la médula por medio de aferencias de la formación reticular y de la sustancia gris periacueductal. Del hipotálamo parten proyecciones hacia la sustancia gris periacueductal y el bulbo raquídeo, estructuras relacionadas con el control de la llegada de los estímulos nocivos al SNC y con el inicio de las conductas de agresión y defensa (Molina, 2007).

La percepción del dolor se debe, por tanto, a múltiples áreas corticales y subcorticales. Asimismo, parece ser que cuanto mayor es la intensidad de la estimulación nociva, más estructuras, tanto ipsilaterales como contralaterales, se suman al procesamiento de la información (Coghill *et al.*, 1999).

Modulación:

Capacidad que tienen los sistemas analgésicos endógenos de modificar la transmisión del impulso nervioso, tanto a nivel central como periférico. A nivel molecular las terminaciones centrales de las fibras A δ y C liberan neurotransmisores excitatorios (glutamato, neuropeptidos como la neurocinina A y sustancia P, prostaglandinas, péptido relacionado con el gen de la calcitonina o CGRP), que actúan sobre receptores específicos e inducen la despolarización de las neuronas de segundo orden, transmitiéndose la información hacia los centros superiores (Molina, 2007). La transmisión excitatoria en su

camino cortical, va recibiendo la modulación de los sistemas inhibitorios. Estos sistemas están formados por neurotransmisores y receptores capaces de disminuir la liberación de neurotransmisores excitatorios y la excitabilidad neuronal (Yaksh, 1999). Los sistemas inhibitorios mejor conocidos son los opioides, el α -adrenérgico, el colinérgico y el gabérgico. Los sistemas inhibidores descendentes están mediados tanto por opioides, que causan analgesia profunda, como también por otros mediadores, entre los que destacan dos sistemas: uno mediado por norepinefrina y otro por serotonina (Cashman, 1996). Estas vías inhibitorias descendentes también pueden ser estimuladas por el dolor y el estrés y provocar alguna modulación a nivel medular (Torregrosa, 1994).

Las encefalinas, son otro grupo de opioides que probablemente actúan como neurotransmisores, se encuentran especialmente en zonas de alta concentración de receptores morfínicos. Las endorfinas, un grupo de sustancias endógenas opioides, denominadas así por su acción semejante a la de la morfina, constituyen otro de los sistemas de control y modulación endógena del dolor. La B-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.

Estos sistemas se activan a la vez por el estímulo doloroso y parecen actuar sinérgicamente con el sistema excitatorio. La transmisión nociceptiva, resulta del balance entre sistemas excitatorios e inhibitorios, confluyendo especialmente en la medula espinal. (McQuay, 1992; Phillips y Cousins, 1986).

Anatómicamente se identifican vías descendentes, que modifican la actividad de todos los sistemas ascendentes y controlan la llegada de la información nociceptiva procedente de estas vías nociceptivas aferentes. (Stamford, 1995; Warren *et al.*, 1997; Basbaum y Jessell, 2000; Petrovic e Ingvar, 2002). Son vías muy numerosas y mal delimitadas. Entre ellas, las más importantes son:

Fibras descendentes con origen en la **Sustancia Gris Periacueductal (SGP)**. La SGP, es un centro nervioso que actúa de enlace entre emoción, dolor y conductas defensivas. Las fibras descendentes de la SGP envían conexiones excitadoras a los núcleos del rafe relacionados con la supresión del dolor, en especial el núcleo magno, tanto de forma directa como mediante interneuronas de la formación reticular del bulbo raquídeo. Algunas de las fibras de la SGP se proyectan directamente hacia el APME. Desde los núcleos del rafe, que utilizan como neurotransmisores serotonina y diversos neuropéptidos, como por ejemplo opioides, se envían fibras descendentes que realizan conexiones de tipo inhibitor con las neuronas de las láminas I, II y V del asta dorsal y con las del núcleo espinal del Trigémino, regulando la entrada de señales nociceptivas (Masson y Leung, 1996).

Fibras descendentes originadas en el **Locus Coeruleus (LC)**. El LC forma parte de la formación reticular y recibe conexiones aferentes del hipotálamo, la amígdala, los núcleos del rafe, la sustancia negra y la SGP. Envía proyecciones descendentes hacia la médula espinal y el núcleo del trigémino. Estas fibras bloquean la salida de información de las neuronas de las láminas I y V del APME, mediante acciones inhibitoras directas e indirectas mediadas por receptores adrenérgicos (Budai *et al.*, 1998; Pudovkina y Westerink, 2005).

Percepción:

Proceso final generado en la corteza cerebral, a través de la interacción de los procesos de Transducción, Transmisión y Modulación, además de una serie de otros fenómenos individuales, con la finalidad de crear la experiencia subjetiva y emocional denominada dolor.

Daño Tisular Agudo

La agresión aguda a un tejido genera la respuesta del mismo y del organismo, la cual se manifiesta como una inflamación de la zona, que implica la reacción de los vasos sanguíneos y comprende una serie de cambios que clínicamente se evidencian por calor, rubor, tumor y dolor. A nivel del tejido dañado, se liberan diversos mediadores inflamatorios, tanto moleculares como celulares:

Mediadores moleculares de la respuesta inflamatoria aguda:

Proteasas plasmáticas: vía sistema del complemento, kininas (bradiquininas), proteínas de la coagulación y fibrinolíticas.

Mediadores lipídicos: prostaglandinas, leucotrienos, factor activador de plaquetas.

Péptidos y Aminas: histamina y serotonina, neuropeptidos (sustancia P, péptido intestinal vaso activo).

Óxido Nítrico.

Citoquinas proinflamatorias: IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-12, TNF α , IFN- γ

Mediadores celulares de la respuesta inflamatoria aguda:

Neutrófilos, monocitos y macrófagos, eosinófilos, plaquetas y linfocitos, células endoteliales.

Óxido Nítrico (NO)

La participación de NO en la respuesta inflamatoria ha sido demostrada en modelos animales y en enfermedades inflamatorias humanas (Kawachi *et al.* 1999).

El NO o Factor relajador derivado de endotelio (FRDE) (Palmer *et al.*, 1987), es considerado un gas de fácil difusión (no se almacena); su vida media es extremadamente corta, de 4 a 5 segundos en condiciones fisiológicas, por lo cual su cuantificación directa es difícil, tiene características de radical libre (electrón no apareado), es producido en forma endógena por una gran variedad de células después de lo cual se degrada a compuestos de desecho como nitritos y nitratos. Cuando una célula produce NO, éste escapa a través de la membrana celular difundiendo a las proximidades. Esa misma propiedad de atravesar las membranas permite al NO afectar a otras células sin necesidad de receptores en la superficie. Se trata por tanto de una molécula-sígnal que puede ser liberada desde cualquier parte de la célula (donde se encuentre la enzima de síntesis) y actuar sobre la misma célula que la produce o cualquier célula en las proximidades, que pueda responder a ella (Schmidt *et al.*, 1988).

El NO es una molécula única, tiene actividad vasodilatadora, inmunotoxicidad y transducción de señales, estimulante de la síntesis de músculo liso vascular, antiagregante plaquetario, y está involucrado en la génesis de enfermedades como hipertensión, shock séptico, inflamación y demencia, entre otras (Vallance y Collier, 1994; Court *et al.*, 2002). Por otra parte, existen evidencias considerables en la literatura que implican al NO como neurotransmisor o con una acción neuromoduladora intercelular (Garthwaite y Boulton, 1995) en el SNC y otros tejidos (Moncada *et al.*, 1991).

Biosíntesis del Óxido Nítrico

Es sintetizado a partir de la conversión de L-Arginina más una molécula de oxígeno. De esta reacción se genera NO y L-citrulina. Para la síntesis de NO, además de la L-arginina como sustrato, se requiere de la presencia de calmodulina (CaM) y de 4 cofactores: flavin

mononucleótido (FMN), flavin adenina dinucleótido (FAD), tetrahidrobiopterina (TBH) y de nicotinamida adenina dinucleotidofosfato (NADPH) (Figura 4).

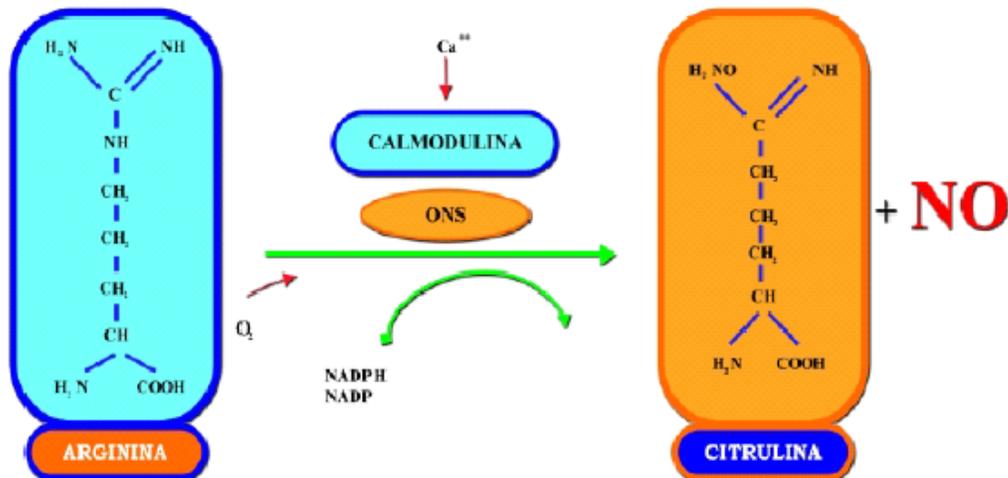


Figura 4 : Biosíntesis del Óxido Nítrico (Viacava, 2005)

Esta reacción es catalizada por la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS) de la cual se conocen 3 isoformas: dos constitutivas (cNOS) y una inducible (iNOS). La producción de iNOS es regulada transcripcionalmente (presencia o ausencia), mientras que la forma cNOS es regulada en relación con su actividad (siempre está presente, pero puede estar más o menos activa). Las 3 isoformas reconocidas son:

1. Dos isoformas constitutivas (cNOS) ambas dependientes de calcio: la isoforma endotelial (eNOS), también conocida como tipo III (NOS3) y la isoforma neuronal (nNOS), también denominada tipo I (NOS1). Dichas isoformas median la producción de NO en cantidades bajas y fisiológicas, para actuar como señalizador molecular (Moncada *et al.*, 1997).
2. Una forma inducible (iNOS), independiente de calcio, también denominada de tipo II (NOS2), cuya expresión puede ser inducida en diferentes tipos de células, tales como

macrófagos, hepatocitos, neutrófilos, músculo liso y endotelio; dicha inducción se produce como respuesta a diferentes estímulos inmunológicos e inflamatorios tales como: el interferón gamma (IFN- γ), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y el lipopolisacárido bacteriano (LPS), citoquinas proinflamatorias y endotoxinas. Esta isoforma cataliza la producción de gran cantidad de NO, que puede ser tóxico en ciertas circunstancias para ciertos grupos celulares (Moncada *et al.*, 1997).

Las tres isoformas de la NOS contienen un dominio carboxi-terminal homólogo al citocromo P450, con una flavina como grupo prostético, y un dominio amino-terminal con un grupo heme como grupo prostético. Estos dominios terminales están conectados por un tercer dominio, que es afín a calmodulina. La unión de la calmodulina a la NOS parece ser el "interruptor molecular" que permite el flujo de electrones desde el dominio reductasa hacia el grupo heme, permitiendo la transformación del O₂ y L-arginina en NO y L-citrulina (Kelly *et al.*, 1996). Las isoformas constitutivas NOS1 (nNOS) y NOS3 (eNOS) se encuentran inactivas hasta que aumenta el calcio intracelular. Por ejemplo, en las células endoteliales, la acetilcolina (ACh), la bradiquinina, el ADP o el estrés de roce son capaces de iniciar la señal que incrementa el calcio celular, el cual regula la unión de calmodulina a su dominio, iniciando la síntesis de NO. Cuando la calmodulina se une a la enzima, los electrones donados por el NADPH fluyen desde el dominio reductasa hacia el dominio oxigenasa y son aceptados por el citocromo C y otros aceptores de electrones. En contraste, en la isoforma inducible (NOS2, o independiente de calcio), la calmodulina permanece fuertemente unida, aún a bajas concentraciones de calcio, actuando esencialmente como una subunidad más (Kelly *et al.*, 1996). En este caso, los electrones donados por el NADPH son transportados por el FAD y por FMN hacia el grupo heme. En estas condiciones, la iNOS cataliza la producción de una mezcla de aniones superóxido (O₂⁻) y de NO en altas cantidades, produciendo peroxinitritos (ONOO⁻), con capacidad para producir citotoxicidad (Ferrer *et al.*, 1998; Moncada *et al.*, 1997).

La enzima constitutiva endotelial (eNOS) tiene un sitio de miristilación, capaz de unirse a un ácido graso. Esto le permite asociarse a la membrana lipídica de las células, a diferencia de las otras isoformas, que no tienen este brazo lipídico, y en consecuencia, son

hidrosolubles y se encuentran libres en el citoplasma. Se cree que la asociación de la eNOS a la membrana facilita que el NO formado esté más cercano al exterior celular y en consecuencia difunda más rápidamente hacia la sangre y hacia el músculo liso adyacente (Gosgnach *et al.*, 2000).

El NO tiene muchos "blancos moleculares" o sitios de unión. Es capaz de ligarse covalentemente al grupo heme de diversas proteínas; interactúa con radicales libres para formar peroxinitritos; interactúa con átomos de hierro o de cobre, presentes en enzimas; se une a grupos tioles libres de varias proteínas y así puede ser transportado. De todos esos sitios potenciales de unión del NO, el más importante en el sistema cardiovascular es el grupo heme de la guanilato ciclasa soluble. Dicha unión causa un desplazamiento alostérico de grupos histidina y un cambio conformacional en la enzima, activándola para producir GMPc (Michel, 1999).

La función del GMPc es fundamental para el NO, ya que este es el mediador de los efectos fisiológicos del NO (Moncada *et al.*, 1991), incluyendo dolor y analgesia (Moore *et al.*, 1991). Las células musculares lisas contienen una fosfodiesterasa V, específica para el GMPc. Esto activa a una protein kinasa dependiente de GMPc, llevando a la extracción de calcio desde el citoplasma, por medio de una bomba calcio/magnesio ATPasa y la consecuente relajación del músculo liso (Dusting, 1995). La biodisponibilidad de GMPc está modulada por esta fosfodiesterasa cuyas isoformas son tejido dependiente, por lo que constituyen blancos farmacológicos para amplificar el efecto de NO, por ejemplo Sildenafil adquiere especificidad por inhibir una fosofodiesterasa que se expresa particularmente en tejido eréctil y pulmonar (Abacioğlu *et al.*, 2000).

La NOS puede ser inhibida por derivados estructurales del aminoácido arginina, tales como N-mono-metil-L-arginina (L-NMMA) y el metilester de N-Nitro-L-Arginina (L-NAME). Usando fármacos activadores e inhibidores de la cascada L-arginina/NO/GMPc, se ha reportado que el NO juega un rol nociceptivo y antinociceptivo en los tejidos periféricos en donde se encuentra esta vía. Así, se ha demostrado la participación de la vía L-arginina-NO

en la modulación del dolor. En ellos se ha establecido que la liberación de acetilcolina, sustancia que estimula la liberación de NO constitutivo, antagoniza la hiperalgesia inducida en ratas por prostaglandina E2 (PGE2) y carragenina, así como las contorsiones inducidas en ratones por el ácido acético (Duarte y Ferreira, 1992; Ferreira *et al.*, 1992). Además, los donadores exógenos de NO como nitroprusiato sódico, nitroglicerina y SIN-I, antagonizan la hiperalgesia inducida por un estímulo inflamatorio como la carragenina o la PGE2, o por estimulación neurogénica, efectos que son bloqueados por azul de metileno, lo que sugiere que el efecto antinociceptivo del NO en estas condiciones experimentales es mediado a través de la estimulación de GMPc (Dolan *et al.*, 2000). Por el contrario, estudios sobre el rol del NO en la nocicepción periférica sugieren que el NO tiene más bien un rol pronociceptivo en el desarrollo y mantención de los mecanismos que provocan la hiperalgesia (Abacioğlu *et al.*, 2000) inducidos por estímulos como carragenina, capsaicina, glutamato, formalina o estímulos mecánicos, químicos o térmicos. Estos estudios han demostrado que las concentraciones de NO aumentan notablemente en diferentes modelos animales de dolor (Lin *et al.*, 1999). Estos resultados contradictorios podrían depender del animal usado en el estudio y el estímulo doloroso utilizado. Los diversos test que miden actividad antinociceptiva en laboratorios utilizan estímulos térmicos (calor doloroso), mecánicos (presión en la cola o la pata) o químicos (ácido acético o p-benzoquinona).

El NO juega un rol en la percepción del dolor en muchos niveles de la vía nociceptiva. Periféricamente, las neuronas aferentes y los ganglios del asta dorsal contienen NOS, a nivel central, en el cerebro y el tálamo, varias estructuras sensoriales también contienen esta enzima. Pareciera ser que los reflejos nociceptivos involucran un receptor de glutamato, el NMDA, el cual media la producción de NO. Existe una serie de evidencias que indican que la activación aferente nociceptiva da como resultado una mayor excitabilidad de las neuronas espinales, fenómeno conocido como sensibilización central. Estudios farmacológicos sugieren que la sensibilización central es parcialmente mediada por la activación de receptores NMDA lo que se relaciona con la producción de óxido nítrico neural. Esto se produce por la liberación presináptica de glutamato el cual produce un flujo transmembrana de calcio y la activación de la NOSn, con la consecuente producción de NO. Este gas difunde, sale de la célula, atraviesa la membrana, y se

introduce en la terminación presináptica estimulando una mayor secreción de glutamato, es decir se produce un “feed back” positivo a nivel central (Abacioğlu *et al.*, 2000). Basándose en estas observaciones se propuso que el NO neural puede modular la hiperexcitabilidad de neuronas dorsales y jugar por lo tanto un papel pronociceptivo en estados de dolor (Beirith *et al.*, 1999). En soporte de esta propuesta, se demostró que el tratamiento intratecal con inhibidores de la NOS como el L-NAME en concentraciones que bloquean por completo la producción de NO estimulada por receptores NMDA antagonizan significativamente el dolor en animales, lo que demuestra que la activación de los receptores espinales de NMDA están relacionados con la producción y aumento de GMPC, lo que puede inducir la liberación posterior de neurotransmisores excitatorios, resultando en un proceso de retroalimentación positiva que conduce a hiperexcitabilidad neuronal dorsal. Estos resultados implican que el NO pueda tener un papel mediador de las neuronas excitatorias. Lo anterior permite realizar estudios de generación de analgesia en base a la utilización de inhibidores de las nitrosintasas, como el L-NAME, un inhibidor no selectivo de las nitrosintasas, el cual bloquea las enzimas que catalizan la conversión del precursor L-arginina en NO.

Fármacos Analgésicos

Existen distintos niveles de acción, de los fármacos que producen analgesia. Así, existen fármacos cuya acción principal ocurre en la terminación nerviosa, los que se conocen como fármacos analgésicos periféricos; otros fármacos actúan sobre la vía de conducción propiamente tal, los cuales se denominan anestésicos locales y por ultimo están los anestésicos centrales que actúan a nivel del sistema nervioso central.

Para el alivio del dolor existen en la actualidad una gran variedad de agentes capaces de producir un poderoso y selectivo efecto de inhibición de la neurotransmisión dolorosa, tanto a nivel preclínico en animales, como a nivel clínico en el hombre. Para su correcto uso en forma efectiva y racional, es necesario tener en cuenta tres conocimientos básicos interrelacionados entre sí: 1- El conocimiento de sus efectos agudos y crónicos y los mecanismos de acción. 2.- Las relaciones entre estas acciones y sus efectos colaterales

potencialmente severos. 3.- La farmacocinética de los fármacos para producir estos efectos en el contexto de la variabilidad de sus acciones en diferentes individuos y enfermedades. Además de lo antes señalado, es necesario conocer los siguientes aspectos: a) Los estímulos, las condiciones y los sitios del dolor. b) La percepción subjetiva del dolor, así como las respuestas objetivas a los estímulos dolorosos (nocicepción). c) Las contrapartes emocionales, psicológicas y de la conducta de la percepción del dolor.

AINEs

Los fármacos llamados antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) corresponden a un grupo muy diverso de sustancias, que para diferenciarlos de los antiinflamatorios esteroideos, en su mayoría son ácidos orgánicos débiles derivados en general de los ácidos carboxílico y enólico, clasificados en los siguientes grupos entre otros (Goodman y Gillman, 1996):

Derivados del ácido salicílico: Ácido Acetil Salicílico.

Derivados de la pirazolona: Metamizol.

Derivados del para-aminofenol, anílicos: Acetaminofeno.

Derivados del fenamato: Ácido Mefenámico.

Derivados del ácido indolacético: Indometacina.

Derivados del ácido propiónico: Ibuprofeno, Ketoprofeno, Naproxeno.

Derivados enólicos: Piroxicam, Tenoxicam, Meloxicam.

Derivados de la metasulfonamidas: Nimesulida.

Derivados del ácido fenilacético: Diclofenaco.

Derivados del ácido pirrolacético: Ketorolaco.

Derivados del ácido piranoacético: Etodolaco.

Derivados del ácido nicotínico: Clonixinato de Lisina.

Inhibidores selectivos COX-2: Rofecoxib, Celecoxib, Parecoxib.

Oxicames: Piroxicam, Tenoxicam, Meloxicam.

Propiedades:

Los numerosos compuestos que conforman los AINEs, se caracterizan por poseer, en mayor o menor grado, las siguientes propiedades (Dubois *et al.*, 1998):

Acción analgésica en dolores de intensidad leve a moderada, particularmente si el dolor se localiza en tejidos y tegumentos, aunque también tienen uso en cefaleas y síndromes jaquecosos. Esta acción tiene lugar preferentemente en estructuras periféricas relacionadas con las terminaciones nerviosas sensitivas, interfiriendo en la acción de ciertas sustancias sobre dichas terminaciones: bradiquininas, prostaglandinas, tromboxanos, prostaciclina, etc.

Acción antiinflamatoria que contribuye a la analgesia cuando la causa del dolor es la inflamación.

Acción antipirética de gran uso y debida principalmente a la interferencia, a nivel hipotalámico, en la síntesis de ciertas sustancias como prostaglandinas, e interleuquinas.

Acción uricosúrica, la cual es consecuencia de la inhibición del transporte de ácido úrico desde la luz del túbulo renal hasta el espacio intersticial, es un proceso apreciable solo con algunos AINEs y a dosis elevadas.

Actividad antiagregante plaquetaria presente en algunos de estos compuestos.

Actividad antitumorogénica, usada para el tratamiento del cáncer colorrectal.

Empleo también en la terapia de la enfermedad de Alzheimer.

Por lo general los AINEs son fácilmente absorbidos desde el tracto gastrointestinal superior. Sin embargo, existen algunos factores capaces de intervenir en este proceso: la especie animal, motilidad gastrointestinal, pH gástrico ya que se disocian fácilmente en un pH ácido, presencia de alimento, lesiones patológicas y concentración de la droga. Se unen fuertemente a proteínas plasmáticas con desplazamientos y prolongación de la vida media de warfarinas, hipoglicemiantes, corticoides, inmunosupresores y psicotrópicos. La vida media varía de 1 a 2 horas y en algunos casos se prolonga 24 horas. Presentan inactivación hepática y eliminación renal (Vásquez, 2005). Los inhibidores selectivos COX-2 se eliminan por metabolismo hepático, describiéndose alteraciones de las pruebas hepáticas hasta en 15% de los casos.

De todas las drogas usadas en animales, la mayor diferencia entre las especies se encuentra en la farmacocinética de eliminación o excreción de los AINEs. Esta diferencia hace de la extrapolación interespecies una situación extremadamente peligrosa puesto que la acumulación de AINEs en los tejidos puede resultar francamente tóxica y potencialmente fatal. El ejemplo clásico de este fenómeno son las diferencias en la vida media de eliminación ($T_{1/2}$) del ácido acetil salicílico, el cual tiene $T_{1/2}$ de 1 hora en el equino, 8 horas en el canino, 38 horas en el gato. En esta última especie, otro fármaco como el paracetamol, en relación a su farmacodinamia, puede generar cuadros de metahemoglobinemias graves y más aún la muerte en dosis que en caninos son consideradas terapéuticas (Jenkins, 1987). Estas diferencias se explican por la deficiencia de los sistemas enzimáticos, requeridos para la inactivación de metabolitos intermediarios tóxicos.

Mecanismo de Acción:

Los AINEs forman un grupo numeroso de drogas que comparten acciones terapéuticas y efectos adversos y tienen la particularidad de tener un mecanismo de acción común propuesto para ellos, el cual se basa fundamentalmente en la inhibición, tanto a nivel central como periférico y en mayor o menor grado, de las isoformas de ciclooxigenasas (COXs), COX-1 y COX-2 (Smith *et al.*, 2000; Warner y Mitchell, 2004), enzimas que

inician la cascada de transformación del ácido araquidónico en prostaglandinas (PG), prostaciclina y tromboxanos. Actualmente se considera que el Paracetamol, es un AINE atípico cuyo blanco de acción sería una nueva isoforma de la COX denominada COX-3 (Botting y Ayoub, 2005). Sin embargo la sola inhibición de las COXs no es suficiente para explicar la actividad analgésica, tanto de AINEs como de Paracetamol (Miranda *et al.*, 2001; Miranda *et al.*, 2002; Pinardi *et al.*, 2002; Pinardi *et al.*, 2003).

La inflamación y consecuentemente la generación de dolor comienza con la injuria, que a nivel celular produce destrucción de membranas celulares y la posterior liberación de fosfolípidos, los cuales, por acción de fosfolipasas, generan ácido araquidónico, el que, en contacto con la ciclooxigenasa, da origen a endoperóxidos cíclicos que rápidamente se convierten en prostaciclina, prostaglandinas y tromboxanos (Figura 5).

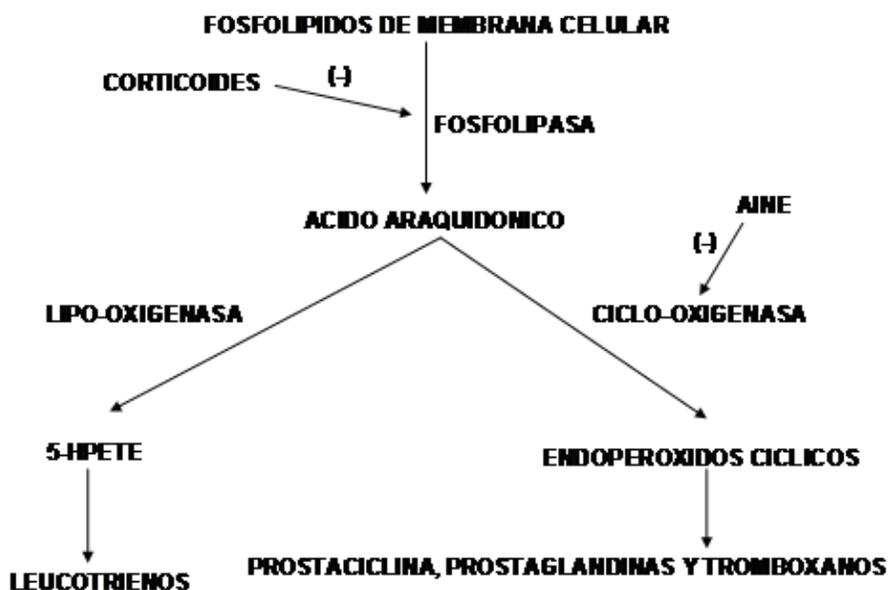


Figura 5 : Muestra el Nivel de Acción de AINE en la Inhibición de la Formación de Prostaciclina, Prostaglandinas y Tromboxanos (González y Dagnino, 1994)

En el hombre cada una de estas isoenzimas (COX-1 Y COX-2) es codificada por un gen distinto, cuya expresión está regulada diferentemente en las células (Hla y Neilson, 1992), pero observamos una homología de alrededor de un 60% a nivel de las secuencias de los aminoácidos. Las dos isoenzimas están presentes en el retículo endoplasmático y la COX-2 está igualmente asociada a la cubierta nuclear. La principal diferencia entre ellas reside en su expresión y en la regulación de su actividad enzimática. En efecto, la COX-1 es una enzima de regulación constitutiva, presente en la mayoría de los tejidos, la COX-2 se encuentra solamente en la próstata, en el cerebro (dendritas y cuerpos celulares de las neuronas de regiones discretas de la corteza y del hipocampo) (Simmons, *et al.*, 1989), en los riñones (Harris *et al.* 1994), y en las células cancerosas del colon (Breder *et al.* 1995), como constitutiva. La COX-2 es inducible en la mayoría de los tejidos estimulados por numerosas sustancias como las citoquinas, la interleuquina-1 α y β y otros mediadores sintetizados en el curso de una reacción inflamatoria (Hla *et al.* 1999). La presencia de la COX-2 ha sido también puesta en evidencia en los tejidos articulares de pacientes con artritis reumatoidea, y las prostaglandinas formadas por la COX-2 juegan un papel importante en la ovulación y en el parto (Vane *et al.* 1998). La COX-1 produce prostaglandinas que juegan un papel importante en varios procesos fisiológicos tales como la citoprotección gastrointestinal, la homeostasis renal y trombocitaria, mientras que la COX-2 parece producir prostaglandinas en el sitio inflamatorio.

De esta manera la acción de las prostaglandinas, expresadas a través de un daño tisular, es como mediador de la inflamación y consecuentemente del dolor, interviniendo en la respuesta inflamatoria generando vasodilatación, aumento de la permeabilidad de los tejidos permitiendo el paso de los leucocitos, antiagregante plaquetario, que luego estimulan las terminaciones nerviosas del dolor.

La acción de las prostaglandinas no es específica, ya que una misma prostaglandina puede estimular determinadas funciones e inhibir otras en normalidad, además las acciones de las prostaglandinas son variadas y múltiples.

A nivel gástrico y duodenal se generan en normalidad prostaglandinas E2, I2, F2, cuyas funciones son: proteger la mucosa frente a diversas agresiones, como el alcohol, el ácido, las sales biliares y la aspirina; las prostaglandinas actúan estimulando la secreción mucosa de bicarbonato y la secreción de mucus; aumentan el flujo sanguíneo a nivel de la mucosa; previenen la ruptura de la barrera mucosa gástrica, acelerando la proliferación celular; estimulan los procesos de transporte iónico celulares y la producción de adenosin monofosfato cíclico (AMPc); la promoción de fosfolípidos de superficie activos; la preservación de los compuestos sulfhidrilos en la mucosa gástrica; la estabilización de los lisosomas y membranas celulares.

Las prostaglandinas E2 y F2 tienen efecto sobre la resistencia vascular cortical renal, produciendo vasodilatación, un aumento del flujo sanguíneo cortical renal con el consiguiente aumento del volumen intracelular y disminución de la resistencia periférica, además generan natruresis. De esta manera, junto con la hormona ADH y con la aldosterona regulan en forma hormonal la presión arterial.

A nivel de los vasos sanguíneos actúan las prostaglandinas I2, E2, H2 y tromboxano A2. La prostaglandina I2, es un potente vasodilatador que se sintetiza a distintos niveles del vaso sanguíneo, pero también inhibe la agregación plaquetaria mediante la activación de la adenil-ciclasa además, es rápidamente degradada en el plasma. La prostaglandina E2 se sintetiza a nivel del músculo liso de los vasos sanguíneos y ejerce en ellos una actividad vasodilatadora (Taddei *et al.*, 2001). El tromboxano A2 además, de generar vasoconstricción, es un potente agregante plaquetario que actúa en condiciones de injuria celular de las paredes de los vasos sanguíneos (Moncada y Vane, 1978) al igual que la prostaglandina H2 (Moncada *et al.*, 1991).

Efectos Adversos de los AINEs

La no producción de las prostaglandinas, especialmente por inhibición de COX-1, de origen constitutivo, genera diversos efectos adversos, entre los cuales los más importantes

son a nivel gástrico, hemostático y renal (Warner y Mitchell, 2004; Botting y Ayoub, 2005), entre otras.

A) Gastrointestinales

Como se mencionó anteriormente, las prostaglandinas normalmente controlan la secreción ácida del estómago, mantienen la barrera mucosa y tienen descritos efectos citoprotectores, regulando la cantidad y espesor de la capa de mucus. También participa en la motilidad gastrointestinal. Estos mecanismos protectores, se alteran con el uso de AINE, principalmente en individuos geriátricos, pacientes con antecedentes de úlcera péptica, abuso de alcohol, uso de AINE por más de una semana (triplica el riesgo) o en combinación con corticoides, anticoagulantes u otro AINE.

El daño generado va desde una gastritis y/o enteritis hasta la generación de úlceras con hemorragias que incluso pueden llegar a perforarse y generar peritonitis.

El mecanismo del daño celular es sistémico y además directo sobre la mucosa, aditivo al anterior. Por lo tanto, en su uso endovenoso también ocurre esta complicación (Simon, 1997).

B) Renales

Existe una población de enfermos, cuyo flujo y filtración glomerular depende de las prostaglandinas. Los pacientes hipovolémicos, portadores de insuficiencia cardíaca, estenosis de arteria renal presentan con el uso de AINE una disminución de los mecanismos de compensación para mantener la homeostasis (Tamblyn *et al.* 1997; Amadio *et al.* 1997). La toxicidad renal se manifiesta por retención de sodio, agua y productos nitrogenados, discreta disminución de función tubular y capacidad de concentrar, hipertensión arterial, llegando hasta una insuficiencia renal irreversible. Es más frecuente esta toxicidad en

mujeres con antecedentes de infección del tracto urinario en forma recurrente y habitualmente es de lenta instalación.

Constituyen factores de riesgo la hepatitis crónica, patología renal previa, diabetes mellitus y usuarios de diuréticos y Beta bloqueadores.

C) Hemostáticos

El TxA2 participa en la formación del tapón primario en el proceso de cascada de coagulación. La inhibición de la síntesis de este, derivada de la acción de AINEs genera coagulopatías, que se manifiestan en una inadecuada coagulación después de un daño en el endotelio vascular, produciéndose hemorragias (Warner y Mitchell, 2004; Botting y Ayoub, 2005).

D) Reacciones de Hipersensibilidad

Constituyen un factor de riesgo aquellos pacientes en edad media, asmáticos, portadores de pólipos nasales, urticaria crónica, hipersensibilidad a la tartrazina o quienes tienen hipersensibilidad previa a cualquier AINE. Se describen cuadros de rinitis vasomotora, urticaria generalizada, asma bronquial, edema laríngeo, broncoconstricción, hipotensión y shock, muy semejante a una anafilaxia, pero por un mecanismo no inmunológico.

E) Hepáticas

Poco frecuentes, dosis dependientes. Descritas con Paracetamol, Ácido Acetil Salicílico, Naproxeno y Sulindaco. Puede producir leve alza enzimática y con menos frecuencia cuadros de hepatitis aguda constituyendo un mayor riesgo, el antecedente de hepatitis.

Perfil Farmacológico de Ketoprofeno:

Aspectos Generales del Ketoprofeno:

El Ketoprofeno es un antiinflamatorio no esterooidal (AINE) derivado del ácido propiónico, ampliamente usado en su formulación de mezcla racémica, como agente analgésico, antiinflamatorio y antipirético por más de 20 años. Posee una efectiva y segura actividad analgésica en diversas situaciones de dolor leve a moderado provocado por la inflamación de los tejidos. Sus efectos antiinflamatorios están relacionados con la inhibición de las ciclooxigenasas (COX-1 > COX-2) con la consecuente reducción de la producción de prostaglandinas (Veys, 1991). En su mezcla racémica participan los enantiómeros *S* (+) y *R* (-), los cuales pese a estar en cantidades equivalentes en la mezcla, tienen diferentes actividades farmacocinéticas y farmacodinámicas. Se ha demostrado que la habilidad de inhibir la formación de prostaglandinas reside casi exclusivamente en el enantiómero *S* (+) de los AINEs racémicos, el cual en el caso de Ketoprofeno es llamado Dexketoprofeno. Si bien el isómero *R* (-) del Ketoprofeno no ejerce inhibición de la ciclooxigenasa, varios estudios han sugerido un mecanismo de acción independiente del bloqueo de la síntesis de prostaglandinas, que también puede ser importante en el efecto analgésico de estos fármacos (Cooper, *et al.*, 1998).

Características Farmacocinéticas:

Después de ingerido, el Ketoprofeno se absorbe en forma rápida en el tracto gastrointestinal, la presencia de alimentos disminuye la rapidez de absorción, pero no su magnitud. Tiene una biodisponibilidad vía oral del 90%.

Una dosis de 50 mg en término de una a dos horas, alcanza concentraciones máximas en el plasma ($T_{máx}$) (Sweetman, 2003). Volumen de distribución aparente (V_{DA}) de 0.1 L/kg. Tiene una vida media de eliminación ($T_{1/2}$) corta de 1-1.5 horas. Su unión a proteínas plasmáticas es alta (99%). Llega también al fluido sinovial y difunde rápidamente a través

de la barrera hematoencefálica. Este fármaco se conjuga con ácido glucorónico en el hígado dando lugar a metabolitos inactivos. El 60-70% se elimina por excreción renal en forma de metabolitos conjugados con ácido glucurónico (Goodman y Gillman, 1996).

Características Farmacodinámicas:

El Ketoprofeno actúa por inhibición competitiva y reversible de la ciclooxigenasa impidiendo la síntesis de prostaglandinas y otros eicosanoides que son liberados en el proceso inflamatorio. La inhibición de la COX previene o reduce la sensibilización de los nociceptores y por consecuencia alivia la hiperalgesia asociada a la inflamación de los tejidos (Herrero *et al.*, 1997). Tiene actividad antibradikinina y actividad estabilizadora de membrana lisosomal. La acción antipirética puede ser secundaria a una acción central de inhibición de la liberación de prostaglandinas inducida por pirógenos y posiblemente también a una acción vasodilatadora periférica de mediación central. La potencia analgésica del Ketoprofeno es similar a la de la Indometacina y unas 20 veces superior a la del Ibuprofeno y la del Ácido Acetil Salicílico (Cooper, 1988).

Evidencias experimentales sugieren que la inhibición de prostaglandinas sintetizadas periféricamente no explica completamente los efectos analgésicos de Ketoprofeno, y por lo tanto deben considerarse posibles los efectos centrales de este fármaco. Así, se postula que los AINEs, como Ketoprofeno podrían producir analgesia actuando en dos niveles: (i) por acción periférica relacionada con el bloqueo de la sensibilización de nociceptores mediante la inhibición de la COX y (ii) por la inhibición de los procesos responsables de la sensibilización central, especialmente a nivel de la médula espinal. Estudios donde se comparan las acciones del Ketoprofeno a nivel central concluyeron que la administración sistémica de Ketoprofeno fue efectiva en deprimir la actividad eléctrica de unidades motoras únicas en el cordón espinal de ratas, provocada por la estimulación nociceptiva térmica y mecánica de la piel, ya sea sana o inflamada (Herrero *et al.*, 1997). Por otro lado, al inyectar Ketoprofeno en diferentes sitios del SNC, se produjo diferentes grados de analgesia, por lo que fue sugerido que ejerce una actividad central independiente de inhibición de COX (Pinaridi *et al.*, 2001).

Perfil Farmacológico de Metamizol

Aspectos Generales de Metamizol:

El Metamizol, es un derivado pirazolónico, tiene efecto analgésico antipirético con poco poder antiinflamatorio (González de Mejía, 2005). Entre los AINEs, Metamizol es ampliamente usado para el manejo del dolor debido a su alta eficacia y su buena tolerabilidad gástrica (Hernández-Delgadillo y Cruz, 2004). El 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 otros AINEs y opiodes suaves (Martínez-Martín *et al.* 2001).

Características Farmacocinéticas:

El 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 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 (Schug *et al.*, 1990; Levy *et al.*, 1995). 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. 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.

Características Farmacodinámicas:

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 al de las drogas antiinflamatorias 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 una posible COX-3 (Campos *et al.*, 1999; Chandrasekharan *et al.*, 2002).

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 (Cohen *et al.*, 1998). Se ha demostrado que la microinyección de Metamizol en la sustancia gris periacueductal (SGP) de la médula induce cambios en la actividad de las neuronas que se proyectan espinalmente, localizadas en la médula rostral ventromedial (MRV), específicamente, en las llamadas células on y off. Al 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 (Fields *et al.*, 1991; Tortorici y Vanegas 1994).

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, al utilizar Metamizol como pretratamiento (Vanegas *et al.*, 1997).

Un estudio realizado inyectando intravenosamente Metamizol mostró que inhibe la nocicepción mecánica en las neuronas de rango dinámico amplio en el APME (Vásquez, 2005). 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 imitan 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 magno 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, a lo largo del sistema de control descendente del dolor (Vásquez, 2005; Hernández y Vanegas 2001). Una posibilidad inexplorada es la posibilidad de que Metamizol genere cambios en el sistema no opioidérgico (es decir, catecolaminérgico, serotoninérgico) en la SGP, la MRV o el cordón espinal (Tortorici y Vanegas 2000).

En relación a las reacciones adversas medicamentosas (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 del Ácido Acetil Salicílico y otros AINEs (Laporte *et al.*, 1991). 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 (Anón, 1986b). Los resultados obtenidos indicaron que el riesgo de agranulocitosis fue menos de 1.1 por millón de usuarios y que el riesgo de anemia aplástica fue virtualmente inexistente. 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. En personas sensibilizadas puede aparecer un shock anafiláctico especialmente después de su administración endovenosa (Lüllmann *et al.*, 2004).

Perfil Farmacológico de Parecoxib

Aspectos Generales de Parecoxib

Dentro de los AINEs, éste fármaco pertenece al grupo de los inhibidores selectivos de la COX-2, El Parecoxib es un profármaco inactivo de Valdecoxib que se convierte rápidamente en Valdecoxib (Talley *et al.*, 2000).

Características Farmacocinéticas:

Tras su administración por vía parenteral, el profármaco es rápidamente hidrolizado por las esterasas hepáticas a Valdecoxib, que es un sustrato de las isoenzimas CYP 3A4 y CYP 2C9 del citocromo P450 (Cheer y Goa, 2001) para generar Valdecoxib y ácido propionico. Esta última, se encuentra también implicada en la metabolización de Celecoxib (Paulson *et al.*, 2000). Valdecoxib se elimina por metabolismo hepático recuperándose menos del 5% de Valdecoxib inalterado en la orina. No se detecta Parecoxib inalterado en la orina, y sólo se detectan trazas en las heces. Alrededor del 70% de la dosis se excreta en la orina en forma de metabolitos inactivos (Ormrod *et al.*, 2002).

La concentración plasmática máxima (C_{max}) de Valdecoxib es entre un 25-30% más elevada tras la administración de Parecoxib por vía endovenosa frente a la administración de 20 o 40 mg. por vía intramuscular. El tiempo que esta tarda en alcanzar la concentración plasmática máxima (t_{max}) es de 0,5 horas tras la administración intravenosa y 1,5 horas tras la administración intramuscular. La vida media de eliminación (T_{1/2}) de Valdecoxib es de 8-11 horas.

Características Farmacodinámicas:

Produce a concentraciones terapéuticas, una inhibición selectiva de la COX-2, con lo que se evitan los efectos secundarios más frecuentes e importantes de los AINEs (toxicidad gastrointestinal, renal y problemas hemorrágicos) relacionados con la inhibición de la COX-1 (Feria, 2003).

Posee actividad analgésica, antiinflamatoria y antipirética comparable a la de los AINEs convencionales. No posee efecto antiagregante plaquetario, al no inhibir la síntesis del tromboxano dependiente de la COX-1 y sí la de prostaciclina, dependiente de la COX-2, tampoco posee efecto uricosúrico.

Son claramente menos lesivos que otros AINEs para la mucosa gastrointestinal, pero no son totalmente inocuos. En ocasiones en su administración crónica se han descrito gastritis, úlceras y hemorragias. Su uso está limitado, con preferencia sobre el resto de los AINEs a los pacientes con riesgo elevado de padecer reacciones adversas gastrointestinales serias. Los efectos adversos más frecuentes son: prurito, dolor abdominal, diarrea, dispepsia, flatulencia, osteítis alveolar, mareo, insomnio, faringitis, rinitis, sinusitis, infección del tracto respiratorio superior, edemas.

Presentan hipersensibilidad cruzada con otros AINEs. Está contraindicado su uso en pacientes con alergia a sulfonamidas o a salicilatos o AINEs. También en pacientes que hayan experimentado asma, rinitis aguda, pólipos nasales, edema angioneurótico, urticaria u otras reacciones de tipo alérgico después de tomar AINEs. No se debe administrar a pacientes afectados de úlcera péptica activa o hemorragia gastrointestinal, enfermedad inflamatoria intestinal, insuficiencia cardíaca grave (por la posible retención de líquidos y edemas), insuficiencia hepática grave, o insuficiencia renal grave.

La administración prolongada de los inhibidores de la COX-2 se ha asociado con un aumento en el riesgo de reacciones adversas cardiovasculares y trombóticas.

Tramadol

Aspectos Generales de Tramadol

El Tramadol es otro de los fármacos utilizados en esta tesis, por lo tanto es conveniente diferenciarla de los AINEs, ya que es un compuesto totalmente distinto.

El Tramadol se encuentra incluido dentro de los analgésicos opiáceos, cuya característica común es actuar selectivamente sobre receptores específicos, ampliamente distribuidos por el sistema nervioso central, así como a nivel periférico (Vidal *et al.*, 2005). La interacción es saturable y competitiva. Se conoce con certeza la existencia de 3 tipos de receptores opioides, μ , κ y δ , y es muy posible que de ellos existan varios subtipos (Dhawan *et al.*, 1996). Estos receptores son moléculas endógenas que pertenecen al grupo de receptores celulares de membrana pre y pos sináptica, constituidos por una cadena proteica con siete segmentos transmembrana, asociados a proteína G (Flórez y Faura, 1997). Los receptores opiáceos se encuentran acoplados a los receptores para proteínas G funcionando como moduladores positivos o negativos de la transmisión sináptica a través de las proteínas G que activan proteínas efectoras. Los receptores μ son los que producen una analgesia más profunda, y también pueden provocar euforia, depresión respiratoria, dependencia física y bradicardia. Los receptores κ desencadenan una respuesta analgésica menor, y pueden causar miosis, efecto sedante y disforia. Los receptores δ modulan la actividad del receptor μ .

Los fármacos opioides pueden actuar como agonistas (que se unen y estimulan el receptor), antagonistas (que se unen y bloquean o inhiben su actividad), agonistas parciales (se unen y estimulan parcialmente la actividad de ciertos subtipos de receptores) y agonistas/antagonistas mezclados (estimulan unos mientras bloquean otros receptores) (Flórez y Faura, 1997).

La estructura química corresponde a una piperidina relacionada con el grupo fenantreno de los alcaloides del opio, entre los que se encuentra la Codeína y la Morfina (Rico *et al.*, 2000).

Características Farmacocinéticas:

Se absorbe bien por vía digestiva, las concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan 1,5-2 horas después de su administración oral siendo su biodisponibilidad del 70%, con una unión a proteínas del 4% (poca posibilidad de interacción). Es convertido en el hígado en el O-desmetiltramadol (M1), el cual es en sí mismo una sustancia activa, de dos a cuatro veces más potente que el Tramadol. Posterior a la biotransformación, resulta en metabolitos inactivos los cuales sufren eliminación renal (90%) y fecal (10%). El Tramadol tiene una vida media plasmática de 6 h. La duración del efecto analgésico es de 4-6 h dependiendo de la dosis administrada y de la intensidad del dolor (Lara *et al.*, 2001).

Características Farmacodinámicas:

El Tramadol es un agonista opiáceo con doble mecanismo de acción (opioide y no opioide), esto permite mezclar en un solo fármaco el efecto opioide sobre receptores μ con una afinidad muy débil sobre ellos, 10 veces menor a la de la codeína (Cuéllar *et al.*, 2001), con el efecto no opioide, basado en la inhibición de la recaptación de serotonina y noradrenalina a nivel las vías descendentes inhibitorias del dolor en la médula espinal (Casals y Samper, 2004). El componente de acción no opioide del Tramadol desarrolla un rol muy importante de su actividad analgésica que está comprendido entre un 60 y un 70% (Casals y Samper, 2004). La interacción del Tramadol (agonista opiáceo) con su receptor lleva a la disminución del AMPc, inhibiendo la adenilato-ciclasa con la consiguiente apertura de canales de potasio y cierre de canales de calcio, que se traduce en una disminución de la actividad neuronal: pierde excitabilidad y pierde capacidad para liberar sus neurotransmisores nociceptivos específicos intracelulares como la sustancia P, la dopamina, la acetilcolina y la noradrenalina. El resultado final es la inhibición del estímulo nociceptivo.

Dentro de las características de los agonistas opiáceos se encuentran la generación de analgesia espinal y supraespinal, euforia, depresión respiratoria, miosis, náuseas y vómitos, estreñimiento y aumento de la presión de las vías biliares (Flórez y Faura 1997).

Tramadol tiene un perfil de efectos adversos bien definido y previsible (Casals y samper, 2004). La mayoría son dosis dependientes, de carácter leve, transitorio y son menos frecuentes que para otros opiáceos (Casals y Samper, 2004). Por su interés cabe destacar el que no afecta el tono del esfínter de Oddi, no induce depresión respiratoria a dosis farmacológicas, no altera los parámetros hemodinámicos, no induce la liberación de histamina y tiene una baja incidencia de constipación, aspectos de relevancia para su aplicación en el postoperatorio (Castro *et al.*, 2000).

La combinación de fármacos permite obtener magnitudes de efectos variables: aditivos, sinérgicos o antagónicos. La asociación de AINEs ha sido escasamente estudiada en medicina veterinaria. Es por esto que, interesa conocer la naturaleza de la interacción entre Ketoprofeno, AINE muy utilizado en clínica veterinaria, con Tramadol o Metamizol o Parecoxib. Además se considera estudiar la modulación que pudiera ejercer el sistema NO-GMPc en dicha interacción, ya que este sistema puede actuar generando hiperalgesia o analgesia cuando es utilizado, según se ha demostrado en estudios experimentales previos (Moncada *et al.*, 1997).

HIPÓTESIS

La actividad analgésica o antinociceptiva de Ketoprofeno, Metamizol, Tramadol y Parecoxib, evaluada en un modelo de dolor agudo experimental, es significativamente aumentada (sinergismo) si se administran combinaciones de estos fármacos. Este sinergismo es modulado por el sistema NO-GMPc.

OBJETIVOS

Objetivo General

Estudiar la magnitud del efecto antinociceptivo de Ketoprofeno, Metamizol, Tramadol y Parecoxib, la naturaleza de la asociación de dichos fármacos y su modulación por el sistema NO-GMPc.

Objetivos Específicos

- Evaluar la actividad antinociceptiva, por vía intraperitoneal, de Ketoprofeno, Metamizol, Tramadol y Parecoxib.
- Evaluar la naturaleza de la interacción analgésica de Ketoprofeno con Metamizol, Tramadol o Parecoxib (Determinar si existe un sinergismo, antagonismo o aditividad).
- Evaluar el efecto de L-NAME (metil ester de N-Nitro-L-Arginina) en la magnitud del efecto analgésico de la asociación de Ketoprofeno con Metamizol, Tramadol o Parecoxib.

MATERIAL Y MÉTODO

Animales a Utilizar en el Modelo de Dolor Agudo:

Se usaron 174 ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*) (Fotografía 1) machos y hembras, entre 25-30 gramos de peso, los cuales fueron aclimatados al ambiente (22-24° C) del Laboratorio de Neurofarmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile por lo menos dos horas antes de la experimentación. Los animales provinieron del Laboratorio de Inmunología del Departamento de Medicina Preventiva Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Chile. La experimentación se realizó de acuerdo al protocolo previamente establecido y aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile en que cada animal fue seleccionado de manera aleatoria y recibió solamente una dosis de las drogas estudiadas, las observaciones fueron efectuadas en forma aleatoria y ciega, utilizando como control ratones inoculados vía intraperitoneal (i.p.) (Fotografía 2) con 10 ml/kg de NaCl 0,9% (se adjunta certificado del Comité de Bioética Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile en el marco de utilización de animales en esta investigación biomédica en el capítulo de anexos). Los animales fueron sacrificados después del experimento mediante dislocación cervical.



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

La evaluación de la actividad antinociceptiva, en un número total de 174 ratones, se efectuó a través del método algesiométrico agudo, en el que se usa un estímulo químico irritativo, llamado “Writhing Test” o Test de las Contorsiones Abdominales (Miranda *et al.*, 2002).



Fotografía 2 Inyección Intraperitoneal (i.p.)

Test Algesiométrico de las Contorsiones Abdominales o Writhing Test

Para el método algesiométrico se utilizó como estímulo nociceptivo, químico irritativo la inyección vía i.p. de 10 ml/kg. de una solución de ácido acético al 0.6 %. El dolor de tipo visceral producido se midió contando el número de contorsiones abdominales (Fotografía 3) que presentó el animal después de 5 minutos de la inyección del ácido y durante 5 minutos. Se entiende por contorsión abdominal a la contracción de la musculatura abdominal acompañada de la elongación del cuerpo y extensión de una o ambas extremidades posteriores (Pinaridi *et al.*, 2001). Los controles se obtuvieron a partir de los registros históricos del laboratorio.

Para todos los fármacos administrados por vía i.p. el tiempo de espera para realizar el test algesiométrico fue de 30 minutos tiempo en el que la actividad antinociceptiva de los fármacos es máxima (Pinaridi *et al.*, 2001). Los resultados se expresaron en número de contorsiones y/o como porcentaje de antinocicepción (% AN) de acuerdo con la siguiente expresión:

$$\% \text{ AN} = 100 - [(\text{WE} / \text{WCS}) \times 100]$$

Donde WE es el número de contorsiones de los animales inyectados con fármaco, WCS es el número de contorsiones en los animales inyectados con suero fisiológico 0,9%.



Fotografía 3 Contorsión Abdominal

Evaluación de las Interacciones (Análisis Isoblográfico)

Para este fin, se usó la dosis que produjo un 50 % de efecto máximo (DE_{50}), pero para la determinación de las DE_{50} de cada fármaco por si solo (Ketoprofeno, Metamizol, Tramadol, Parecoxib, L-NAME), en este proyecto, se usaron los datos de experimentos anteriores (Miranda y Pinardi, 2004; Miranda *et al.*, 2003; Miranda *et al.*, 2006) realizados en el laboratorio, así se obtuvieron las DE_{50} de estos 5 fármacos, las cuales luego fueron comprobadas, sin la necesidad de utilizar un número mayor de animales en este proyecto. Las DE_{50} de la combinación de los fármacos fueron calculadas mediante análisis de regresión lineal a partir de las correspondientes curvas dosis-respuesta (% AN) de los fármacos administrados por vía sistémica (i.p.), con un mínimo de 6 animales por cada

dosis sugerido por la IASP. Se estudian al menos 4 dosis por combinación de fármacos para obtener cada DE_{50} .

Las interacciones entre los diferentes fármacos se evaluaron mediante el análisis isobolográfico en la forma descrita por Tallarida y Murray (Tallarida y Murray, 1987). Para esto se administraron combinaciones en proporciones fijas de dos fármacos (Ketoprofeno y Metamizol; Ketoprofeno y Tramadol; Ketoprofeno y Parecoxib) correspondientes a 1/2, 1/4, 1/8 o 1/16 de la DE_{50}

Para cada combinación de fármacos se determinó la DE_{50} por análisis de regresión lineal de una curva dosis-respuesta. Esta dosis se comparó estadísticamente (Tallarida y Murray, 1987) con la dosis que representa teóricamente la adición simple de efectos que se obtiene según la siguiente fórmula:

$$DE_{50} \text{ aditividad teórica} = DE_{50} \text{ droga } 1 / (P1 + R \times P2)$$

Donde R, es la relación de potencia entre los fármacos 1 y 2 administrados por si solos, P1, es la proporción del fármaco 1 en la mezcla y P2 es la proporción del fármaco 2 en la mezcla.

El punto experimental resultante se graficó en coordenadas cartesianas que contienen una línea que conecta la DE_{50} del fármaco 1 en la abscisa con la DE_{50} del fármaco 2 en la ordenada (línea de aditividad simple).

La región del gráfico donde se ubicó el punto experimental determinó el tipo de interacción. Con este análisis se pudo evaluar si la interacción entre dos fármacos es sinérgica (efecto mayor que la suma de los efectos individuales), antagónica (efecto menor que la adición de los efectos individuales) o de simple aditividad (efecto igual a la suma de cada uno de ellos).

Al mismo tiempo, el programa calculó el índice de interacción entre los fármacos, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$ED_{50} \text{ experimental} / ED_{50} \text{ teórico}$$

Si el valor resultante es menor que 1 corresponde a una interacción sinérgica; al resultar igual a 1 la interacción es aditiva, y si es mayor que 1, es antagónica (Miranda *et al.*, 2005).

El estudio del efecto modulador del sistema NO-GMPc se realizó después del pretratamiento de los animales por vía i.p. con L-NAME con una dosis (DE_{50}) usada y comprobada en el Laboratorio, modificada de Toda y Okamura (Toda y Okamura, 2003) y a los 30 minutos se repiten las curvas dosis-respuesta de las combinaciones de fármacos ya determinadas.

Distribución de los Grupos

Para cada fármaco (Ketoprofeno, Metamizol, Tramadol, Parecoxib y L-NAME) se comprobaron las DE_{50} . Para comprobarlas, se usaron 6 animales para cada fármaco, a los cuales se les administraron las DE_{50} históricas, publicadas por el Laboratorio, del Programa de Farmacología Molecular y Clínica (Pinardi *et al.*, 1998; Miranda *et al.*, 2006).

En una primera etapa con las DE_{50} de Ketoprofeno, Metamizol, Tramadol y Parecoxib se prepararon, en proporción 1:1 las siguientes mezclas o combinaciones:

DE_{50} de Ketoprofeno + DE_{50} de Metamizol

DE_{50} de Ketoprofeno + DE_{50} de Tramadol

DE_{50} de Ketoprofeno + DE_{50} de Parecoxib

El siguiente paso fue calcular las DE_{50} de las combinaciones de estos fármacos, para lo cual se formaron 4 grupos, con 6 animales por grupo, para cada combinación, los que recibieron las dosis que corresponden en el primer grupo a 1/2; el segundo grupo a 1/4; el tercero a grupo 1/8 y el cuarto grupo a 1/16 de las DE_{50} de la combinación de los fármacos. A partir de las curvas dosis-respuesta obtenidas, por análisis de regresión lineal se calcularon las DE_{50} de cada combinación.

El estudio del efecto modulador del sistema NO-GMPc se realizó después del pretratamiento de los animales por vía i.p. con L-NAME con una dosis (DE_{50}) usada y comprobada en el Laboratorio, modificada de Toda y Okamura (Toda y Okamura, 2003) y a los 30 minutos se repiten las curvas dosis-respuesta de las combinaciones ya determinadas. Para esto fue necesario nuevamente obtener DE_{50} , pero integrando ahora a L-NAME formándose nuevas combinaciones:

DE_{50} de la combinación de Ketoprofeno y Metamizol + DE_{50} L-NAME

DE_{50} de la combinación de Ketoprofeno y Tramadol + DE_{50} L-NAME

DE_{50} de la combinación de Ketoprofeno y Parecoxib + DE_{50} L-NAME

Como se dijo anteriormente el siguiente paso fue calcular las DE_{50} de estas nuevas combinaciones para lo cual se formaron 4 grupos, con 6 animales por grupo, para cada combinación, los que recibieron las dosis que corresponden en el primer grupo a 1/2; el segundo grupo a 1/4; el tercero a grupo 1/8 y el cuarto grupo a 1/16 de las DE_{50} de la combinación de los fármacos. A partir de las curvas dosis-respuesta obtenidas, por análisis de regresión lineal se calcularon las DE_{50} de cada nueva combinación.

Estudio Estadístico

Los datos experimentales contenidos en las curvas log dosis-respuesta, se analizaron mediante regresión lineal para determinar las DE_{50} , los errores típicos y las medidas de dispersión de los límites al 95 % (Tallarida y Murray, 1987). Los parámetros estadísticos anteriormente calculados se usaron para la construcción de los isobogramas, los cuales se calcularon con un programa computacional del Laboratorio (modificación del programa *Pharm Tools Pro*, versión 1.27, *The Mc Cary Group Inc.*) junto a la significación estadística que se determinó por análisis de varianza y pruebas t de Student, según correspondiera. La significación fue considerada en un 5 % ($p < 0,05$).

RESULTADOS

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 $19.77 \pm 0,3$ contorsiones, (n= 40) de acuerdo a registros históricos del laboratorio.

DE₅₀ de cada Fármaco y Combinación de ellos:

Como se mencionó en el punto 3. Evaluación de las interacciones del ítem Material y Método, las DE₅₀ de Ketoprofeno, Metamizol, Tramadol, Parecoxib y L-NAME se obtuvieron de registros del laboratorio en donde las condiciones experimentales (material y método) fueron estándar. Las DE₅₀ de los fármacos y combinación de ellas son:

Ketoprofeno:

DE₅₀ $30,300 \pm 3,850$ mg/kg. Obtenida de registros del laboratorio en el ensayo algiesiométrico de las contorsiones abdominales y luego comprobadas en este estudio (Figura 6).

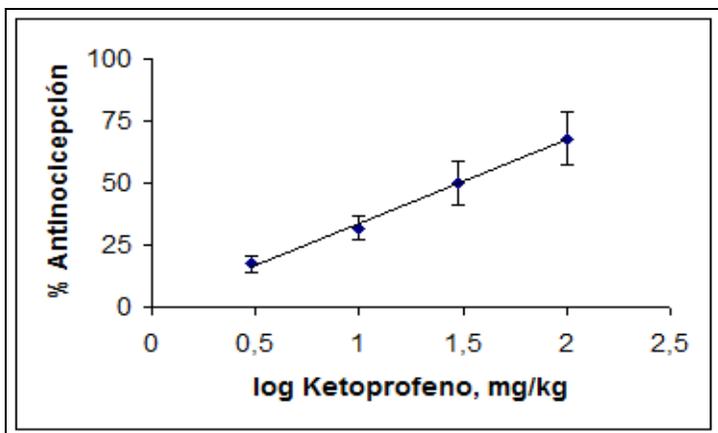


Figura 6 : Curva Dosis-Respuesta de Ketoprofeno en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.

Metamizol:

DE₅₀ 28,500 ± 3,170 mg/kg. Obtenida de registros del laboratorio en el ensayo algesiométrico de las contorsiones abdominales y luego comprobadas en este estudio (Figura 7).

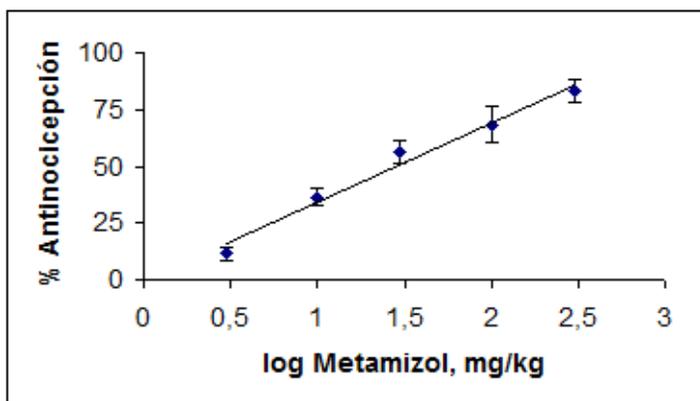


Figura 7 : Curva Dosis-Respuesta de Metamizol en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.

Tramadol:

DE₅₀ 3,904 ± 0,495 mg/kg. Obtenida de registros del laboratorio en el ensayo algesiométrico de las contorsiones abdominales y luego comprobadas en este estudio (Figura 8).

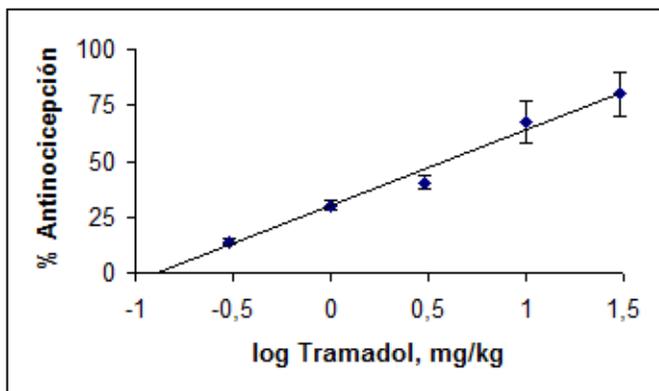


Figura 8 : Curva Dosis-Respuesta de Tramadol en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.

Parecoxib:

DE₅₀ 1,643 ± 0,168 mg/kg. Obtenida de registros del laboratorio en el ensayo algesiométrico de las contorsiones abdominales y luego comprobadas en este estudio (Figura 9).

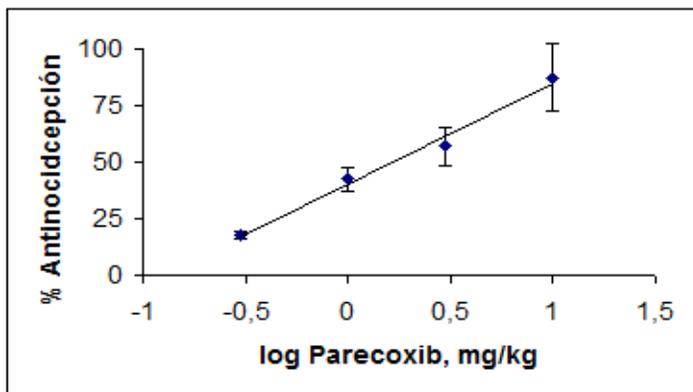


Figura 9 : Curva Dosis-Respuesta de Parecoxib en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.

L-NAME:

DE₅₀ 25,292 ± 2,943 mg/kg. Obtenida de registros del laboratorio en el ensayo algesiométrico de las contorsiones abdominales y luego comprobadas en este estudio (Figura 10).

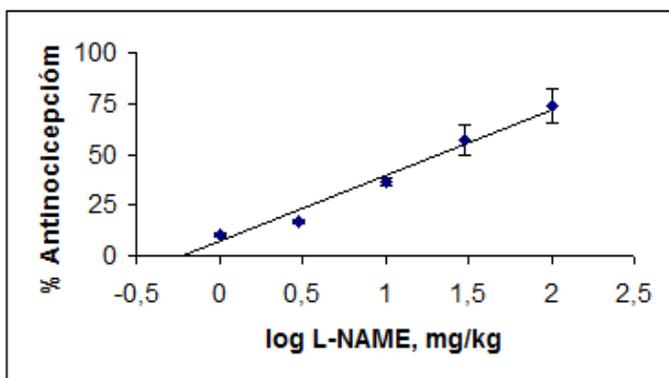


Figura 10 : Curva Dosis-Respuesta de L-NAME en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.

Ketoprofeno/Metamizol:

La administración i.p., de la combinación de Ketoprofeno y Metamizol en proporciones fijas correspondientes a la 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, de las DE₅₀ de ambos fármacos, en el ensayo algiesométrico de las contorsiones abdominales, genera una respuesta antinociceptiva dosis-dependiente (figura 11). De esto se infiere que la DE₅₀ de la combinación de Ketoprofeno y Metamizol es $10,486 \pm 0,551$ mg/kg.

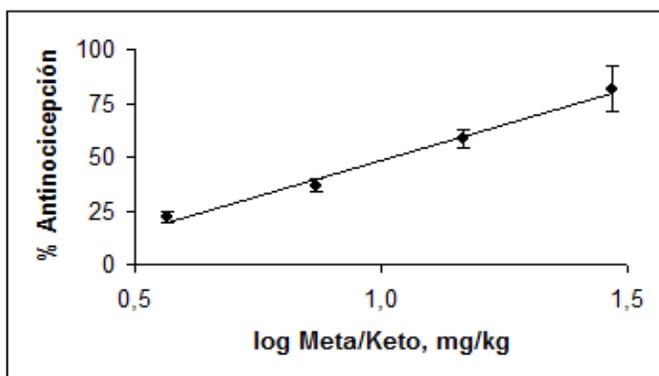


Figura 11 : Curva Dosis-Respuesta de la Combinación Ketoprofeno/Metamizol en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.

Ketoprofeno/Tramadol:

La administración i.p., de la combinación de Ketoprofeno y Tramadol en proporciones fijas correspondientes a la 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, de las DE₅₀ de ambos fármacos, en el ensayo algiesométrico de las contorsiones abdominales, genera una respuesta antinociceptiva dosis-dependiente (figura 12). De esto se infiere que la DE₅₀ de la combinación de Ketoprofeno y Tramadol es $3,697 \pm 0,340$ mg/kg.

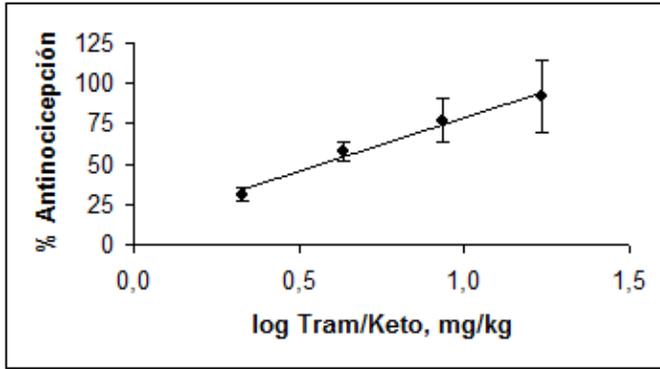


Figura 12 : Curva Dosis-Respuesta de la Combinación Ketoprofeno/Tramadol en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.

Ketoprofeno/Parecoxib:

La administración i.p., de la combinación de Ketoprofeno y Parecoxib en proporciones fijas correspondientes a la 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, de las DE₅₀ de ambos fármacos, en el ensayo algiesométrico de las contorsiones abdominales, genera una respuesta antinociceptiva dosis-dependiente (figura 13). De esto se infiere que la DE₅₀ de la combinación de Ketoprofeno y Parecoxib es $5,962 \pm 0,344$ mg/kg.

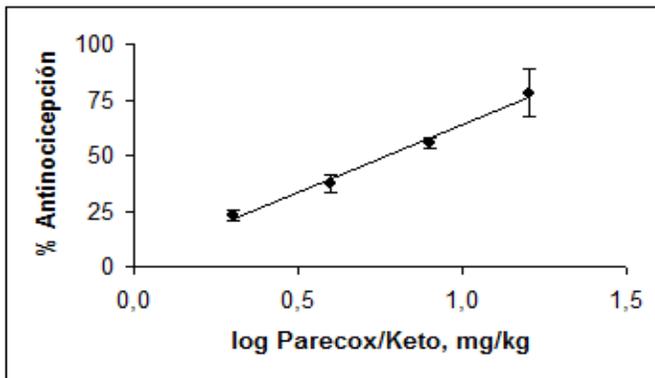


Figura 13 : Curva Dosis-Respuesta de la Combinación Ketoprofeno/Parecoxib en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.

Ketoprofeno/Metamizol + L-NAME:

La administración i.p. de esta combinación en proporciones fijas correspondientes a la 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, de las DE₅₀ de Ketoprofeno/Metamizol y L-NAME, en el ensayo algiesiométrico de las contorsiones abdominales, genera una respuesta antinociceptiva dosis dependiente (figura 14). De esto se infiere que la DE₅₀ de la combinación Ketoprofeno/Metamizol + L-NAME es $0,236 \pm 0,131$ mg/kg.

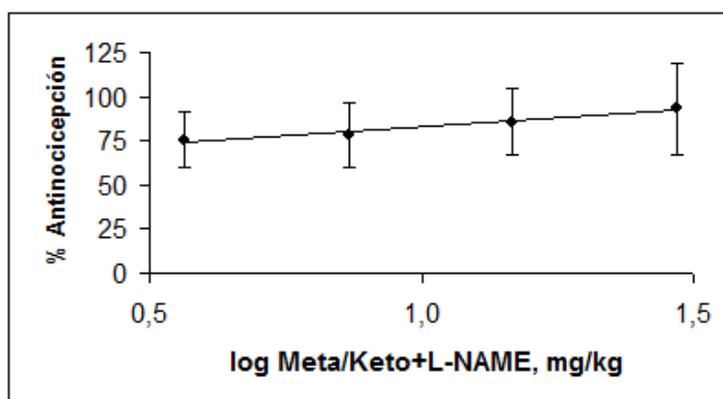


Figura 14 : Curva Dosis-Respuesta de la Combinación Ketoprofeno/Metamizol + L-NAME en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.

Ketoprofeno/Tramadol + L-NAME:

La administración i.p. de esta combinación en proporciones fijas correspondientes a la 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, de las DE₅₀ de Ketoprofeno/Tramadol + L-NAME, en el ensayo algiesiométrico de las contorsiones abdominales, genera una respuesta antinociceptiva dosis dependiente (figura 15). De esto se infiere que la DE₅₀ de la combinación Ketoprofeno/Tramadol + L-NAME es $0,329 \pm 0,213$ mg/kg.

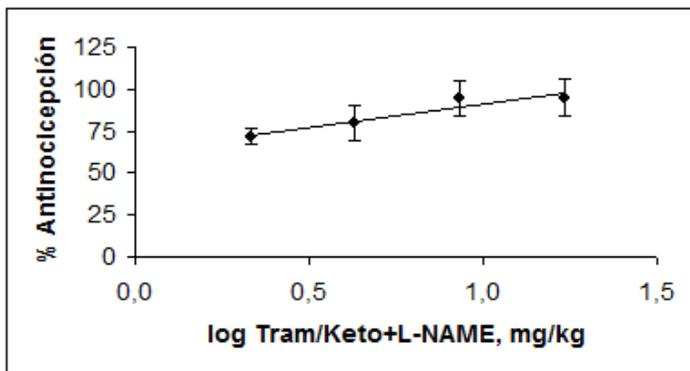


Figura 15 : Curva Dosis-Respuesta de la Combinación Ketoprofeno/Tramadol + L-NAME en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.

Ketoprofeno/Parecoxib + L-NAME:

La administración i.p. de esta combinación en proporciones fijas correspondientes a la 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, de las DE₅₀ de Ketoprofeno/Parecoxib + L-NAME, en el ensayo algiesiométrico de las contorsiones abdominales, genera una respuesta antinociceptiva dosis dependiente (figura 16). De esto se deduce que la DE₅₀ de la combinación Ketoprofeno/Parecoxib + L-NAME es $0,355 \pm 0,078$ mg/kg.

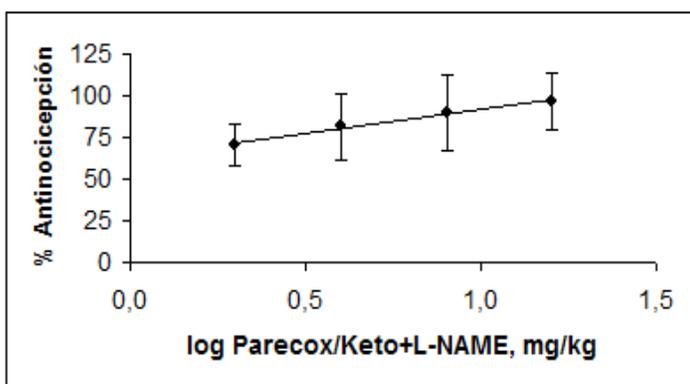


Figura 16 : Curva Dosis-Respuesta de la Combinación Ketoprofeno/Parecoxib + L-NAME en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético.

Análisis Isobolográfico:

Ketoprofeno/Metamizol:

El estudio de la interacción analgésica entre Ketoprofeno y Metamizol, administrados por vía i.p. y en proporciones fijas de sus DE_{50} fue realizado mediante análisis isobolográfico. El índice de interacción fue de 0.357. Con un valor de t observado de 10,322, siendo su valor teórico de 2,828 para una significancia de un 1%. Con estos resultados se establece que dicha interacción antinociceptiva es de naturaleza sinérgica (figura 17).

El pretratamiento de los animales con L-NAME en esta combinación no modificó la naturaleza de dicha interacción, la cual sigue siendo sinérgica de igual manera con un índice de interacción de 0,008 y un valor de t observado de 8,553 con 5% de significancia para un valor teórico de t de 4,256, lo cual indica que existe una modulación a través del sistema NO-GMPc y la acción de este sistema en la combinación de Ketoprofeno y Metamizol es la generación de hiperalgesia.

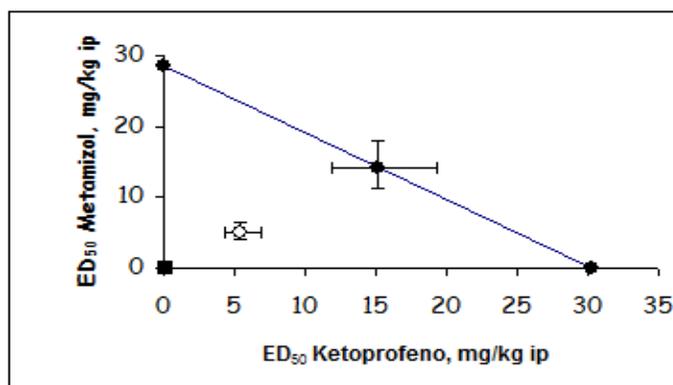


Figura 17 : Isoblograma de la Interacción Analgésica entre Ketoprofeno y Metamizol, Administrados por Vía ip., en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético. El (●) Representa el Punto de Aditividad Teórica de la Combinación de Ketoprofeno y Metamizol, el (○) Corresponde al Punto Experimental de la Combinación y el (■) al Punto Experimental Obtenido Después del Pretratamiento con L-NAME.

Ketoprofeno/Tramadol:

El estudio de la interacción analgésica entre Ketoprofeno y Tramadol, administrados por vía i.p. y en proporciones fijas de sus DE_{50} fue realizada mediante análisis isoblográfico. El índice de interacción fue de 0.216, con un valor de t observado de 10,477, siendo su valor teórico de 5,893 para una significancia de un 1%. Los resultados demostraron que dicha interacción antinociceptiva es de naturaleza sinérgica (Figura 18).

El pretratamiento de los animales con L-NAME en esta combinación no modificó la naturaleza de esta interacción, siendo de igual manera sinérgica, con un índice de interacción de 0,019 y con un valor de t observado de 6,018 con un 5% de significancia, para la cual el t teórico fue de 4,242, lo cual indica que existe una modulación a través del sistema NO-GMPc y el tipo de modulación de este sistema en la combinación de Ketoprofeno y Tramadol es la generación de hiperalgesia.

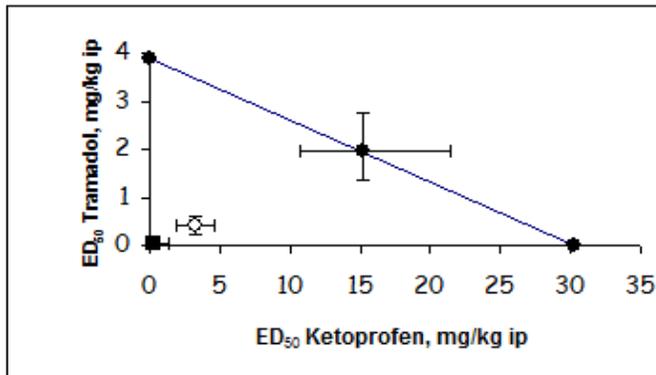


Figura 18 : Isoblograma de la Interacción Analgésica entre Ketoprofeno y Tramadol, Administrados por Vía ip., en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético El (●) Representa el Punto de Aditividad Teórica de la Combinación de Ketoprofeno y Tramadol, el (○) Corresponde al punto experimental de la Combinación y el (■) al Punto Experimental Obtenido Después del Pretratamiento con L-NAME.

Ketoprofeno/Parecoxib:

El estudio de la interacción analgésica entre Ketoprofeno y Parecoxib, administrados por vía i.p. y en proporciones fijas de sus DE_{50} fue realizado mediante análisis isoblográfico. Para este experimento el índice de interacción fue de 0,373 y el valor de t observado fue de 7,359, siendo su valor teórico de 4,580 para una significancia de un 1%. Los resultados demostraron que esta interacción antinociceptiva es de naturaleza sinérgica (Figura 19).

El pretratamiento de los animales con L-NAME en esta mezcla no modifico la naturaleza de dicha interacción, siendo esta sinérgica de igual manera, con un índice de interacción de 0,022 y un valor de t observado de 15,141 con un 5% de significancia, que para la cual el valor de t teórico es de 3,842, lo que indica que existe una modulación del sistema NO-GMPc y el tipo de modulación de este sistema en la combinación de Ketoprofeno y Parecoxib es la generación de hiperalgesia.

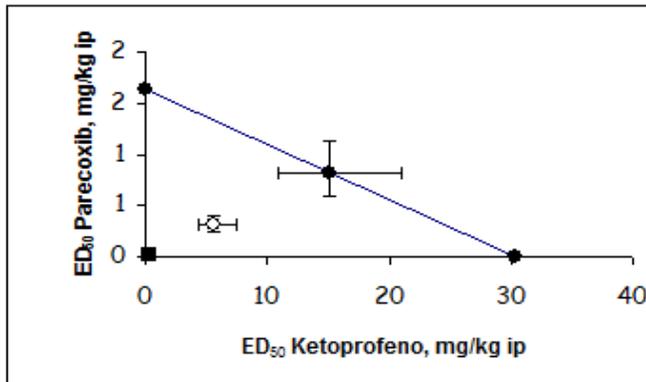


Figura 19 : Isoblograma de la Interacción Analgésica entre Ketoprofeno y Parecoxib, Administrados por Vía i.p., en el Ensayo de las Contorsiones Abdominales Inducidas por Ácido Acético. El (●) Representa el Punto de Aditividad Teórica de la Combinación de Ketoprofeno y Parecoxib, el (○) Corresponde al Punto Experimental de la Combinación y el (■) al Punto Experimental Obtenido Después del Pretratamiento con L-NAME.

DISCUSIÓN

Cuando se administran en combinación dos o más fármacos, estos pueden interactuar o no. Si no interactúan, sus efectos farmacológicos se manifiestan independientemente y el efecto observado corresponderá a la suma de los efectos que cada uno produce por separado. En el caso que el efecto observado sea mayor o menor que el esperado, existe una interacción de tipo sinérgica o antagónica, respectivamente (Tallarida, 2001).

Los estudios destinados a establecer el tipo de interacción permiten definir la proporción óptima de los fármacos en la combinación y/o comparar el tratamiento conjunto con el de un fármaco único en lo referente a la eficacia analgésica, lo cual ayuda en el uso clínico de estas combinaciones de fármacos analgésicos que ayudan al manejo del dolor.

La presencia de una determinada interacción se establece para una combinación específica de fármacos y no puede ser extrapolable a otras combinaciones o situaciones experimentales.

En base a estudios previos (Miranda y Pinardi, 2004; Miranda *et al.*, 2003; Miranda *et al.*, 2006) la capacidad antinociceptiva de cada fármaco utilizado en este estudio es dosis dependiente, expresada a través de sus DE_{50} .

La administración i.p. de Ketoprofeno conjuntamente con cada uno de los distintos AINEs antes mencionados y Tramadol mostró un efecto antinociceptivo dosis-dependiente (figuras 11, 12 y 13). Asimismo, el análisis por isobogramas de la combinación de cada uno de los AINEs con Ketoprofeno, administrados por vía i.p., resultó en interacciones sinérgicas de distinta magnitud, al igual que la combinación de Ketoprofeno con Tramadol.

Existen diferentes estudios previos, que revelan las diferencias entre los distintos AINEs en cuanto a su capacidad analgésica, la cual depende de muchos factores entre otros el método

utilizado para el estudio y los fármacos a utilizar (Urdaneta, *et al.*, 2009; Jovic, *et al.*, 2008; Antila, *et al.*, 2006).

La existencia de cambios estadísticamente significativos en la sinergia establecida con la coadministración de Ketoprofeno y Metamizol producida por el pretratamiento con L-NAME, sugiere la intervención del sistema NO-GMPc, en este caso produciendo una hiperalgesia, lo que determina de cierta forma la participación del NO en la generación de dolor para esta combinación.

El mismo efecto que la combinación de Ketoprofeno-Metamizol-L-NAME tienen las combinaciones de Ketoprofeno-Tramadol con el pretratamiento con L-NAME, mostrando diferencias estadísticamente significativas, generando un sinergismo, con respecto a la combinación sin L-NAME, lo que sugiere la participación del sistema NO-GMPc en la generación de dolor para este tratamiento.

El NO también participa en la generación de hiperalgesia al existir diferencias estadísticamente significativas en la sinergia establecida entre la combinación Ketoprofeno-Parecoxib y la combinación de Ketoprofeno-Parecoxib conjuntamente con L-NAME.

El efecto del NO en las tres combinaciones de fármacos se relaciona con otros estudios realizados en ratas donde el NO participa favoreciendo el dolor (Talarek y Fidecka, 2002; Fischer *et al.*, 2002). Por otro lado se observa su efecto analgésico en otras investigaciones realizadas, otorgándose un efecto dual a la acción del Óxido Nítrico en la vía nociceptiva, tanto como pro como anti nociceptivo (Sousa y Prado, 2001; Espluges, 2002; Mollace *et al.*, 2005).

El NO, producido tras la activación de los receptores NMDA por la NOS neuronal del APME, puede potenciar otros mecanismos de sensibilización central, que activan numerosos procesos bioquímicos postsinápticos y posiblemente presinápticos.

Si bien una serie de estudios sugieren que el Óxido Nítrico participa en el proceso de nocicepción, la complejidad de los mecanismos que regulan la expresión de las diferentes NOS, la producción cuantitativa de NO producida por la enzima, y la célula donde se genera, así como también la diferente respuesta de la neuronas inhibitorias o excitatorias frente al NO, ha determinado que no se tenga bien definido cuál es el papel exacto de este agente en el dolor.

Clínicamente el uso de fármacos analgésicos, más en medicina humana que en medicina veterinaria, está ampliamente masificado siendo esto una ventaja para la obtención de una analgesia potenciada y la disminución de las dosis de dichos fármacos evitando así la aparición de efectos adversos anteriormente mencionados, existiendo en este sentido otro campo de investigación que permita el desarrollo de un mayor conocimiento de estos fármacos y sus asociaciones en este ámbito.

En el desarrollo experimental de esta tesis se puede decir que la asociación de los diferentes AINEs y tramadol resultó efectiva tomando en cuenta el poder analgésico obtenido luego de su administración, sin embargo hacen falta otros estudios que determinen su seguridad.

CONCLUSIÓN

Ketoprofeno, Metamizol, Parecoxib y Tramadol, por si solos, luego de su administración, vía i.p. en ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*), producen actividad antinociceptiva de tipo dosis dependiente, en el test algesiométrico de las contorsiones abdominales.

La coadministración de Ketoprofeno y Metamizol, vía i.p. genera una interacción de tipo sinérgica en el test algesiométrico de las contorsiones abdominales.

La coadministración de Ketoprofeno y Parecoxib, vía i.p. genera una interacción de tipo sinérgica en el test algesiométrico de las contorsiones abdominales.

La coadministración de Ketoprofeno y Tramadol, vía i.p. genera una interacción de tipo sinérgica en el test algesiométrico de las contorsiones abdominales.

El pretratamiento con L-NAME produce un efecto sinérgico, generando un mayor efecto analgésico en la combinación de Ketoprofeno y Metamizol, en este test algesiométrico, lo que sugiere la participación del sistema NO-GMPc en la generación de dolor.

El pretratamiento con L-NAME produce un efecto sinérgico, generando un mayor efecto analgésico en la combinación de Ketoprofeno y Parecoxib, en este test algesiométrico, lo que sugiere la participación del sistema NO-GMPc en la generación de dolor.

El pretratamiento con L-NAME produce un efecto sinérgico, generando un mayor efecto analgésico en la combinación de Ketoprofeno y Tramadol, en este test algesiométrico, lo que sugiere la participación del sistema NO-GMPc en la generación de dolor.

Este estudio sugiere que la combinación de dos analgésicos que difieren en su mecanismo de acción, en este caso las combinaciones Ketoprofeno-Parecoxib y Ketoprofeno-Tramadol inducen sinergismo.

La generación de sinergismo en la administración conjunta de Ketoprofeno y Metamizol, dos fármacos analgésicos cuyo mecanismo de acción es común, sugiere la existencia de un mecanismo más complejo involucrado en el proceso antinociceptivo.

SUGERENCIAS

De los resultados obtenidos en el presente trabajo se sugiere:

Evaluar si existe un efecto sinérgico para las mismas combinaciones de fármacos estudiadas en este trabajo en otros ensayos algesiométricos como: Test del Tail Flick; Test de la Formalina en la Pata; Test de la Formalina Orofacial; Ensayo de la Plancha Caliente.

Estudiar el efecto de otros agentes que modifiquen el nivel de NOS, como por ejemplo: 7-Nitroindazol, L-Arginina; Azul de Metileno, etc.

Evaluar los efectos adversos producidos por la administración de los diferentes AINEs y combinaciones de ellos utilizados en este estudio.

BIBLIOGRAFIA

- **ABACIOĞLU, N.; TUNÇTAN, B.; AKBULUT, E.; ÇAKICI, I.** 2000. Participation of the components of L-arginine/nitric oxide/cGMP cascade by chemically-induced abdominal constriction in the mouse. *Life Sci.* 67(10): 1127-1137.
- **AMADIO, P.; CUMMINGS, D.M.; AMADIO, P.B.** 1997. NSAIDs revisited. Selection, monitoring and safe use. Philadelphia, USA. Thomas Jefferson University, Jefferson Medical College, Postgraduate medicine. 2: 429-438.
- **ANÓN.** 1986a. Classification of chronic pain. Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. Prepared by the International Association for the Study of Pain, Subcommittee on Taxonomy. *Pain Suppl.* 3:1-226.
- **ANÓN.** 1986b. Risks of agranulocytosis and aplastic anemia. A first report of their relation to drug use with special reference to analgesics. The international agranulocytosis and aplastic anemia study. *JAMA.* 256(13):1749-1757.
- **ANTILA, H.; MANNER, T.; KUURILA, K.; SALANterä, S.; KUJALA, R.; AANTAA, R.** 2006. Ketoprofen and tramadol for analgesia during early recovery after tonsillectomy in children. *Paediatr Anaesth.* 16(5):548-553.
- **ARBAIZA, D.** 2005. Neurofisiología del dolor. *Boletín el dolor.* 14: 14-40.
- **ARMERO P., MURIEL C., SANTOS J., SÁNCHEZ-MONTERO F. J., RODRÍGUEZ R. E., GONZÁLEZ-SARMIENTO R.** 2004. Bases genéticas del dolor. *Rev. Soc. Esp. Dolor* 11(7): 64-71.
- **BARRIENTOS, C.A.** 2009. Cambios cardiorespiratorios inducidos por petidina o tramadol (opioides) en el tiempo intraquirúrgico de esterilización canina. Memoria de Título presentada a la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Concepción para optar al Título de Médico Veterinario. Chillan, Chile. Universidad de Concepcion, Facultad de Ciencias Veterinarias, Departamento de Ciencias Clínicas. 5 p.

- **BASBAUM, A.I.; JESSELL, T.M.**, 2000. The perception of Pain. **In:** Kandel, E.R.; Schwartz, J.H.; Jessell, T.M. (eds.). Principles of Neural Science. 4^a ed. McGraw-Hill, New York. Pp. 472-491.

- **BEIRITH, A.; CRECZYNSKI-PASA, T.B.; BONETTI, V.R.; KONZEN, M.; SEIFRIZ, I.; PAULA, M.S.; FRANCO, C.V.; CALIXTO, J.B.** 1999. Antinociceptive properties and nitric oxide synthase inhibitory action of new ruthenium complexes. Eur J Pharmacol. 369(3): 289-297.

- **BONICA, J.J.** 1990. Definitions and taxonomy of pain. **In:** Bonica J.J. The management of pain. 2^a ed. Lea & Febiger. Philadelphia, USA. pp. 18-27.

- **BOTTING, R.; AYOUB, S.S.** 2005. COX-3 and the mechanism of action of paracetamol/acetaminophen. Prostaglandins, Leukot Essent Fatty Acids (PLEFA). 72(2):85-87.

- **BREDER, C.D.; DEWITT, D.; KRAIG, R.P.** 1995. Characterization of inducible cyclooxygenase in rat brain. J Comp Neurol. 355(2):296-315.

- **BUDAI, D.; HARASAWA, I.; FIELDS, H.L.**, 1998. Midbrain periaqueductal gray (PAG) inhibits nociceptive inputs to sacral dorsal horn nociceptive neurons through α_2 -adrenergic receptors. J. Neurophysiol. 80(5):2244-2254.

- **CAMPOS, C.; DE GREGORIO, R.; GARCÍA-NIETO, R.; GAGO, F.; ORTIZ, P.; ALEMANY, S.** 1999. Regulation of cyclooxygenase activity by metamizol. Eur J Pharmacol. 378(3):339-347.

- **CASALS M.; SAMPER D.** 2004. Efectividad, tolerabilidad y calidad de vida en el tratamiento del dolor crónico no oncológico, con tramadol de liberación controlada en dosis única diaria. Rev. Soc. Esp. Dolor. 11(3):129-140.

- **CASEY, K.L.; MINOSHIMA, S.; BERGER, K.L.; KOEPPE, R.A.; MORROW, T.J.; FREY, K.A.** 1994. Positron emission tomographic analysis of cerebral structures activated specifically by repetitive noxious heat stimuli. J Neurophysiol. 71(2):802-807.

- **CASHMAN, J.N.** 1996. The mechanisms of action of NSAIDs in analgesia. Drugs 52(5):13-23.

- **CASTRO, F.; PARDO, D.; MOSQUERA, G.; PELETEIRO, R. CAMBA M.A.** 2000. Tratamiento del dolor postoperatorio con PCA en cirugía del abdomen superior: estudio comparativo, tramadol v/s metamizol y ketorolaco. Rev. Soc. Esp. Dolor 7:12-16.

- **CHANDRASEKHARAN, N.V.; DAI, H.; ROOS, K.L.; EVANSON, N.K.; TOMSIK, J.; ELTON, T.S.; SIMMONS, D.L.** 2002. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. Proc Natl Acad Sci U S A. 99(21):13926–13931.

- **CHEER, S.M.; GOA, K.L.** 2001. Parecoxib (parecoxib sodium). Drugs 61(8):1133-1141.

- **CHIZH, B.A.; DICKENSON, A.H.; WNENDT, S.** 2000. The race to control pain: more participants, more targets. Trend Pharmacol Sci. 20(9):354- 357.

- **COHEN, O.; ZYLBER-KATZ, E.; CARACO, Y.; GRANIT, L.; LEVY, M.** 1998. Cerebrospinal fluid and plasma concentrations of dipyron metabolites after a single oral dose of dipyron. Eur. J. Clin. Pharmacol. 54(7):549-553.

- **COGHILL, R.C.; SANG, C.N.; MAISOG, J.M.; LADAROLA, M.J.** 1999. Pain intensity processing within the human brain: a bilateral, distributed mechanism. J Neurophysiol. 82(4):1934-1943.

- **COOPER S.A.** 1988. Ketoprofen in oral surgery pain: a review. J Clin Pharmacol. 28(12):40-46.

- **COOPER, S.A.; REYNOLDS, D.C.; REYNOLDS, B.; HERSH, E.V.** 1998. Analgesic Efficacy and Safety of (R) - Ketoprofen in Postoperative Dental Pain. J Clin Pharmacol. 38(2):11-18.

- **COURT O.; KUMAR A.; PARRILLO J.E.; KUMAR A.** (2002). Clinical review: Myocardial depression in sepsis and septic shock. Crit Care. 6(6):500-508.

- **CUÉLLAR, E.; MÉNDEZ, D.; MEDINA, A.; HINOJOSA, A.; PARTAL, S.; SABATEL, M.A.; VERA, A.; RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ, S.** 2001. Analgesia

intravenosa controlada por el paciente: tramadol vs tramadol + droperidol en cirugía digestiva. Control de náuseas y vómitos postoperatorios. Rev. Soc. Esp. Dolor. 8:253-259.

- **DAGNINO, J.** 1994. Definiciones y clasificaciones del dolor. Boletín Esc. de Medicina, P. Universidad Católica de Chile 23(3): 148-151.
- **DERBYSHIRE, S.G.; JONES, A.K.; GYULAI, F.; CLARK, S.; TOWNSEND, D.; FIRESTONE, L.L.,** 1997. Pain processing during three levels of noxious stimulation produces differential patterns of central activity. Pain 73(3):431-445.
- **DHAWAN, B.N.; CASSELIN, F.; RAGHUBIR, R.; REISINE, T.; BRADLEY, P.B.; PORTOGHESE, P.S.; HAMON, M.** 1996. Internacional Union of Pharmacology. XII. Classification of opioid receptors. Pharmacol Rev. 48(4):567-592.
- **DICKENSON, A.H.** 1996. Pharmacology of pain transmission and control. In: Campbell, J.N. Pain 1996-An Updated Review: Refresher Course Syllabus. IASP Press. Vancouver, Canada. pp. 113-121.
- **DOLAN, S.; FIELD, L.C.; NOLAN, A.M.** 2000. The role of nitric oxide and prostaglandin signaling pathways in spinal nociceptive processing in chronic inflammation. Pain 86(3):311-320.
- **DUARTE, I.D.; FERREIRA, S.H.** 1992. The molecular Mechanism of central analgesia induced by morphine or carbachol and the L-arginine-nitric oxide-cGMP pathway. Eur J. Pharmacol 221: 171-174.
- **DUBOIS, R.N.; ABRAMSON, S.B.; CROFFORD, L.; GUPTA, R.A.; SIMON, L.S.; VAN DE PUTTE, L.B.; LIPSKY, P.E.** 1998. Cyclooxygenase in biology and disease. FASEB J. 12(12):1063-1073.
- **DUSTING, G.J.** 1995. Nitric oxide in cardiovascular disorders. J Vasc Res. 32(3):143-161.
- **ESPLUGES, J.V.** 2002. NO as a signaling molecule in the nervous system. Br J Pharmacol. 135(5): 1079-1095.

- **FERIA, M.** 2003. Fármacos analgésicos antitérmicos y antiinflamatorios no esteroideos. Antiartríticos. **In:** Flórez, J.; Armijo, J.A.; Mediavilla, A. Farmacología Humana. 4º Ed. Editorial Masson. Barcelona, España. pp.375-407.

- **FERREIRA, S.H.; LORENZETTI, B.B.; FACCIOLI, L.H.** 1992. Blockade of hyperalgesia and neurogenic oedema by topical application of nitroglycerin. Eur J. Pharmacol 217(2-3): 207-209.

- **FERRER, D.; JORGE C.; GARCÍA, R.E.; MARTÍNEZ, P.F.** (1998). Óxido nítrico. Importancia biológica y participación en algunas funciones cardiovasculares y hematológicas. MEDISAN 2(3):45-53.

- **FIELDS, H.L.; HEINRICHER, M.M.; MASON, P.** 1991. Neurotransmitters in nociceptive modulatory circuits. Annu. Rev. Neurosci. 14:219-245.

- **FISCHER, H.S.; ZERNIG, G.; HAUSER, K.F.; GERARD, C.; HERSH, L.B.; SARIA, A.** 2002. Neutral endopeptidase knockout induces hyperalgesia in a model of visceral pain, an effect related to bradykinin and nitric oxide. J Mol Neurosci. 18(1-2):129-134.

- **FLÓREZ, J.; FAURA, C.C.** 1997. Analgésicos opioides. **In:** Torres, L. Medicina del dolor. Ed. Masson S.A. Barcelona, España. pp. 87-100.

- **GARTHWAITE, J.; BOULTON, C.L.** 1995. Nitric oxide signaling in the central nervous system. Annu. Rev. Physiol. 57:683-706.

- **GIESLER, G.J. JR.; KATTER, J.T.; DADO, R.J.** 1994. Direct spinal pathways to the limbic system for nociceptive information. Trends Neurosci. 17:244-250.

- **GONZÁLEZ, J.; DAGNINO, J.** 1994. Analgésicos no narcóticos. Boletín esc. De Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile. 23:164-169.

- **GONZÁLEZ DE MEJIA, N.** 2005. Analgesia multimodal postoperatoria. Rev. Soc. Esp. Dolor. 12(2):112-118.

- **GOODMAN Y GILLMAN.** 1996. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9^a ed. Editorial Mcgraw Hill Interamericana. Buenos Aires, Argentina. pp 557-558; 667-668.

- **GOSGNACH, W.; MESSIKA-ZEITOUN, D.; GONZALEZ, W.; PHILIPPE, M.; MICHEL, J.B.** (2000). Shear stress induces iNOS expression in cultured smooth muscle cells: role of oxidative stress. *Am J Physiol Cell Physiol.* 279(6):1880-1888.

- **HARRIS, R.C.; McKANNA, J.A.; AKAI, Y.; JACOBSON, H.R.; DUBOIS, R.N.; BREYER, M.D.** 1994. Cyclooxygenase-2 is associated with the macula densa of rat kidney and increases with salt restriction. *J Clin invest.* 94(6):2504-2510.

- **HERNÁNDEZ, N.; VANEGAS, H.** 2001. Antinociception induced by PAG-microinjected dipyron (metamizol) in rats: involvement of spinal endogenous opioids. *Brain Res.* 896(1-2):175-178.

- **HERNÁNDEZ-DELGADILLO, G.P.; CRUZ, S.L.** 2004. Dipyron potentiates morphine induced antinociception in dipyron-treated and morphine-tolerant rats. *Eur J Pharmacol.* 502(1-2):67-73.

- **HERRERO, J.F.; PARRADO, A.; CERVERO, F.** 1997. Central and peripheral actions of the NSAID ketoprofen on spinal cord nociceptive reflexes. *Neuropharmacology.* 36(10):1425-1431.

- **HLA, T., NEILSON, K.** 1992. Human cyclooxygenase-2 cDNA. *Proc Natl Acad Sci USA.* 89(16):7384-7388.

- **HLA, T.; BISHOP-BAILEY, D.; LIU, C.H.; SCHAEFERS, H.J.; TRIFAN, O.C.** 1999. Cyclooxygenase-1 and 2 isoenzymes. *Int J Biochem Cell Biol.* 31(5):551-557.

- **JENKINS, W.** 1987. Pharmacologic aspects of analgesic drugs in animals: an overview. *J Am Vet Med Assoc.* 191:1231-1240.

- **JOVIC R, DRAGICEVIC D, KOMAZEC Z, SABO A.** 2008. Ketoprofen is superior to metamizole in relieving postoperative pain after head and neck tumor operation. *J Buon.* 13(4):519-523.

- **KAWACHI, S.; COCKRELL, A.; LAROUX, F.S.; GRAY, L.; GRANGER, D.N.; VAN DER HEYDE, H.C.; GRISHAM, M.B.** 1999. Role of inducible nitric oxide synthase in the regulation of VCAM-1 expression in gut inflammation. *Am J Physiol.* 277(3):572-576.

- **KELLY, R.A.; BALLIGAND, J.L.; SMITH, T.W.** 1996. Nitric oxide and cardiac function. *Circ Res.* 79(3):363-380.

- **LAMONT, L.A.; TRANQUILLI, W.J.; GRIMM, K.A.** 2000. Physiology of Pain. *Vet Clin North Am Small Anim Prac.* 30(4): 703-728.

- **LAPORTE, J.R.; CARNÉ, X.; VIDAL, X; MORENO, V.; JUAN, J.** 1991. Upper gastrointestinal bleeding in relation to previous use of analgesics and non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Lancet.* 337(8733):85-89.

- **LARA, A.; LAVIN, N.R.; ROGERIO-ZAMORA, R.H.; ESQUIVEL, V.M.** 2001. Control del dolor postoperatorio con clorhidrato de tramadol sublingual. *Rev. Soc. Esp. del Dolor.* 8:486-494.

- **LEVY, M.; ZILBER-KATZ, E.; ROSENKRANZ, B.** 1995. Clinical pharmacokinetics of dipyrone and its metabolites. *Clin. Pharmacokinet.* 28(3):216-234.

- **LIN, Q.; WU, J.; PENG, Y.B.; CUI, M.; WILLIS, W.D.** 1999. Nitric oxide-mediated spinal disinhibition contributes to the sensitization of primate spinothalamic tract neurons. *J Neurophysiol.* 81(3):1086-1094.

- **LÜLLMANN, H.; MOHR, K.; WIRTH, J.** 2004. Atlas de farmacología. 2^a ed. Editorial elsevier-masson. Barcelona, España. 202 p.

- **MACFARLANE, B.V.; WRIGHT, A.; O'CALLAGHAN, J.; BENSON, H.A.** 1997. Chronic neuropathic pain and its control by drugs. *Pharmacol Ther.* 75(1):1-19.

- **MARTÍNEZ-MARTÍN, P.; RAFFAELLI, E. JR.; TITUS, F.; DESPUIQ, J.; FRAGOSO, I.D.; DíEZ-TEJEDOR, E.; LIAÑO, H.; LEIRA, R.; CORNET, M.E.; VAN TOOR, B.S.; CÁMARA, J.; PEIL, H.; VIX, J.M.; ORTIZ, P.** 2001. 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(5):604-610.

- **MASSON, P.; LEUNG, C.G.** 1996. Physiological functions of pontomedullary raphe and medial reticular neurons. *Prog Brain Res.* 107:269-282.

- **MCQUAY, H.J.** 1992. Pre-emptive analgesia. *Br J Anaesth.* 69(1):1-3.

- **MELZACK, R.** 1999. From the gate to the neuromatrix. *Pain.* 6:121-126.

- **MICHEL, T.** 1999. Targeting and translocation of endothelial nitric oxide synthase. *Braz J Med Biol Res.* 32(11):1361-1366.

- **MIRANDA, H.F.; LÓPEZ, J.; SIERRALTA, F.; CORREA, A.; PINARDI, G.** 2001. NSAIDs antinociception measured in a chemical and a thermal assay in mice. *Pain Res Manag.* 6(4):190-196.

- **MIRANDA, H.F.; SIERRALTA, F.; PINARDI, G.** 2002. Neostigmine interactions with non steroidal anti-inflammatory drugs. *Br J Pharmacol.* 135(7):1591-1597.

- **MIRANDA, H.F.; LEMUS, I., PINARDI, G.** 2003. Effect of the inhibition of serotonin biosynthesis on the antinociception induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Brain Res Bull.* 61(4):417-425.

- **MIRANDA, H.F.; PINARDI, G.** 2004. Isobolographic analysis of the antinociceptive interactions of clonidine with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Pharmacol res.* 50(3):273-278.

- **MIRANDA, H.F.; PRIETO, J.C.; PINARDI, G.** 2005. Spinal synergy between nonselective cyclooxygenase inhibitors and morphine antinociception in mice. *Brain Res.* 1049(2):165-170.

- **MIRANDA, H.F.; PUIG, M.M.; PRIETO, J.C.; PINARDI, G.** 2006. Synergism between paracetamol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental acute pain. *Pain.* 121(1-2):22-28.

- **MOLINA, C.** 2007. Implicación de la medetomidina y del ácido retinoico en la sensibilización nociceptiva. Interacción con anti-inflamatorios no esteroideos. Tesis

Doctoral. Madrid, España. Universidad de Alcalá, Facultad de Medicina, Departamento de Fisiología. Pp 6-7.

- **MOLLACE, V.; MUSCOLI, C.; MASINI, E.; CUZZOCREA, S.; SALVEMINI, D.** 2005. Modulation of prostaglandin biosynthesis by nitric oxide and nitric oxide donors. *Pharmacol Rev* 57(2):217-252.
- **MONCADA S.; VANE J.R.** 1978. Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin, endoperoxides, thromboxane A₂, and prostacyclin. *Pharmacol Rev.* 30(3):293-331.
- **MONCADA, S.; PALMER, R.M.; HIGGS, E.A.** 1991. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 43(2):109-142.
- **MONCADA, S.; HIGGS, A.; FURCHGOTT, R.F.** 1997. International Union of Pharmacology Nomenclature in Nitric Oxide Research. *Pharmacol. Rev.* 49(2):137-142.
- **MOORE, P.K.; OLUYOMI, A.O.; BABBEDGE, R.C.; WALLACE, P.; HART, S.L.** 1991. L-NG-nitro arginine methyl ester exhibits antinociceptive activity in the mouse. *Br.J.Pharmacol.* 102(1):198-202.
- **MURIEL, C.; MADRID, J.L.** 1994. Bases anatómicas, fisiológicas y biológicas del dolor. **In:** Estudio y tratamiento del dolor agudo y crónico. Editorial libro del año. Madrid, España. pp. 43-76
- **NAKAMURA, A.; SHIOMI, H.** 1999. Recent advances in neuropharmacology of cutaneous nociceptors. *Jpn. J. Pharmacol.* 79(4):427-431.
- **ORMROD, D.; WELLINGTON, K.; WAGSTAFF, A.J.** 2002. Valdecoxib. *Drugs.* 62(14):2059-2071.
- **ORTEGA, E.** 1995. Neurofisiología del dolor. *Cuad. Cir. Universidad Austral de Chile.* 9:50-54.
- **PAEILE, C.; SAAVEDRA, H.** 1990. El dolor: aspectos básicos y clínicos. Editorial Mediterráneo. Santiago, Chile. pp.156-174.

- **PAEILE, C.; BILBENY, N.** 2005. El dolor: de lo molecular a lo clínico. 3ª Edición. Editorial Mediterráneo. Santiago, Chile. pp. 42-52.

- **PALMER, R.M.J.; FERRIGE, A.G.; MONCADA, S.** 1987. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327:524-526.

- **PAULSON, S.K.; HRIBAR, J.D.; LIU, N.W.; HAJDU, E.; BIBLE, R.H. JR.; PIERGIES, A.; KARIM, A.** 2000. Metabolism and excretion of [(14)C]celecoxib in healthy male volunteers. *Drug Metab Dispos.* 28(3):308-314.

- **PERENA, M.J.; PERENA, M.F.; RODRIGO-ROYO, M.D.; ROMERA, E.** 2000. Neuroanatomía del dolor. *Rev Soc Esp. Dolor* 7(2):5-10.

- **PETROVIC, P.; PETERSSON, K.M.; GHATAN, P.H.; STONE-ELANDER, S.; INGVAR, M.** 2000. Pain-related cerebral activation is altered by a distracting cognitive task. *Pain.* 85(1-2):19-30.

- **PETROVIC, P.; INGVAR, M.** 2002. Imaging cognitive modulation of pain processing. *Pain* 95(1-2):1-5.

- **PHILLIPS, G.D.; COUSINS, M.J.** 1986. Neurological mechanisms of pain and the relationship of pain, anxiety, and sleep. **In:** Cousins, M.J.; Phillips, G. D. *Acute pain management.* Churchill Livingstone. New York, USA. pp. 21-48.

- **PINARDI, G.; PELISSIER, T.; MIRANDA, H.F.** 1998. Interactions in the antinociceptive effect of tramadol in mice: an isobolographic analysis. *Eur j pain.* 2(4):343-350.

- **PINARDI, G.; SIERRALTA, F.; MIRANDA, H.F.** 2001. Interaction between the antinociceptive effect of ketoprofen and adrenergic modulatory systems. *Inflammation.* 25(4):233-239.

- **PINARDI, G.; SIERRALTA, F.; MIRANDA, H.F.** 2002. Adrenergic mechanisms in antinociceptive effects of non steroidal anti-inflammatory drugs in acute thermal nociception in mice. *Inflamm Res.* 51(5):219-222.

- **PINARDI, G.; SIERRALTA, F.; MIRANDA, H.F.** 2003. Atropine reverses the antinociception of non steroidal anti-inflammatory drugs in the tail-flick test of mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 74(3):603-608.

- **PUDOVKINA, O.L., WESTERINK, B.H.,** 2005. Functional role of α_1 -adrenoceptors in the locus coeruleus: a microdialysis study. *Brain Res.* 1061:50-56.

- **REYES, J.G.** 2003. Actividad antinociceptiva de las vitaminas B₁, B₆ y B₁₂ solas o en combinación con diclofenáco sódico en modelos de dolor inflamatorio. Tesis de Doctor en Ciencias en Investigación en Medicina. Zacatenco, México. Instituto Politécnico Nacional, Escuela Superior de Medicina, Sección de Estudios de Posgrado e Investigación. 31p.

- **RICO, M.A.; CURA, M.A.; HARBST, H.; PALOMINOS, A.; FIGUEROA, M.; KRAMER, V.** 2000. Evaluación de tramadol como un opioide alternativo a la codeína en el segundo peldaño de la escalera analgésica de la OMS. *Rev. Soc. Esp. Dolor.* 7: 345-353.

- **SCHAIBLE, H.G.; GRUBB, B.D.** 1993. Afferent and spinal mechanisms of joint pain. *Pain.* 55:5-54.

- **SCHMIDT, H.H.; NAU, H.; WITTFOHT, W.; GERLACH, J.; PRESCHER, K.E.; KLEIN, M.M.; NIROOMAND, F.; BÖHME, E.** (1988) Arginine is a physiological precursor of endothelium-derived nitric oxide. *Eur. J. Pharmacol.* 154(2):213-216.

- **SCHUG, S.A.; ZECH, D.; DÖRR, U.** 1990. Cancer pain management according to WHO analgesic guidelines. *J. Pain Symptom Manage.* 5(1):27-32.

- **SIMON, L.** 1997. Biologic effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Curr Opin Rheumatol.* 9(3):178-182.

- **SIMMONS, D.L.; LEVY, D.B.; YANNONI, Y.; ERIKSON, R.L.** 1989. Identification of a phorbol ester-repressible v-src-inducible gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 86(4):1178-1182.

- **SMITH, A.L.; DEWITT, D.L.; GARAVITO, R.M.** 2000. Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. *Annu Rev Biochem.* 69:145-182.
- **SOUSA, A.M.; PRADO, W.A.** 2001. The dual effect of a nitric oxide donor in nociception. *Brain Res.* 897(1-2): 9–19.
- **STAMFORD, J.A.** 1995. Descending control of pain. *Brit J Anaesth.* 75(2):217-227.
- **SWEETMAN, B.J.** 2003. Development and use of the quick acting chiral NSAID dexketoprofen trometamol (keral). *Acute Pain.* 4(3-4):109-115.
- **TADDEI, S.; VIRDIS, A.; GHIADONI, L.; SUDANO, I.; MAGAGNA, A.; SALVETTI, A.** 2001. Role of endothelin in the control of peripheral vascular tone in human hypertension. *Heart Fail Rev.* 6(4):277-285.
- **TALAREK, S.; FIDECKA, S.** 2002. Role of nitric oxide in benzodiazepines-induced antinociception in mice. *Pol J Pharmacol.* 54(1):27-34.
- **TALLARIDA, R.J.; MURRAY, R.B.** 1987. Manual of pharmacologic calculations with computer programs. 2nd ed. Springer-Verlag. New York, U.S.A. pp. 16-44.
- **TALLARIDA, R.J.** 2001. Drug synergism: its detection and applications. *J.Pharmacol Exp Ther.* 298(3):865-872.
- **TALLEY, J.J.; BERTENSHAW, S.R.; BROWN, D.L.; CARTER, J.S.; GRANETO, M.J.; KELLOGG, M.S.; KOBOLDT, C.M.; YUAN, J.; ZHANG, Y.Y.; SEIBERT, K.** 2000. N-[[[5-methyl-3-phenylisoxazol-4-yl)-phenyl]sulfonyl]propanamide, sodium salt, parecoxib sodium: A potent and selective inhibitor of COX-2 for parenteral administration. *J Med Chem.* 43(9):1661-1663.
- **TAMBLYN, R.; BERKSON, L.; DAUPHINEE, W.D.; GAYTON, D.; GRAD, R.; HUANG, A.; ISAAC, L.; MCLEOD, P., SNELL, L.** 1997. Unnecessary prescribing of NSAIDs and the management of NSAID-related gastropathy in medical practice. *Ann Intern Med.* 127(6):429-438.
- **TODA, N.; OKAMURA, T.** 2003. The pharmacology of nitric oxide in the peripheral nervous system of blood vessels. *Pharmacol Rev.* 55(2):271-324.

- **TORREGROSA, S.** 1994. Mecanismos y vías del dolor. Boletín Esc. de Medicina, P. Universidad Católica de Chile. 23(3):202-206.

- **TORTORICI, V.; VANEGAS, H.** 1994. Putative role of medullary off-and on-cells in the antinociception produced by dipyron (metamizol) administered systemically or microinjected into PAG. Pain. 57(2):197-205.

- **TORTORICI, V.; VANEGAS, H.** 2000. Opioid tolerance induced by metamizol (dipyron) microinjections into the periaqueductal grey of rats. Eur J Neurosci. 12(11):4074-4080.

- **TREEDE, R.D.; APKARIAN, A.V.; BROMM, B.; GREENSPAN, J.D.; LENZ, F.A.** 2000. Cortical representation of pain: functional characterization of nociceptive areas near the lateral sulcus. Pain. 87(2):113-119.

- **URDANETA, A.; SISO, A.; URDANETA, B.; CARDENAS, R.; QUINTERO, L.; AVILA, R.; SUAREZ-ROCA, H.** 2009. Lack of correlation between the central anti-nociceptive and peripheral anti-inflammatory effects of selective COX-2 inhibitor parecoxib. Brain Res Bull. 80(1-2):56-61.

- **VALLANCE, P.; COLLIER, J.** 1994. Biology and clinical relevance of nitric oxide. BMJ. 309(6952):453-457.

- **VANE, J.R.; BAKHLE, Y.S.; BOTTING, R.M.** 1998. Ciclooxygenases 1 and 2. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 38:97-120.

- **VANEGAS, H.; TORTORICI, V.; EBLEN-ZAJJUR, A.; VÁSQUEZ, E.** 1997. PAG-microinjected dipyron (metamizol) inhibits responses of spinal dorsal horn neurons to natural noxious stimulation in rats. Brain Res. 759(1):171-174.

- **VÁSQUEZ, V.H.** 2005. Estudio de la Interacción Antinociceptiva entre Ibuprofeno y Paracetamol en Dolor Agudo Experimental. Trabajo de Investigación Requisito para Optar al Título de Cirujano Dentista. Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Medicina, Departamento de Neurofarmacología. Pp.16-17.

- **VEYS, E.M.** 1991. 20 years' experience with ketoprofen. *Scand J Rheumatol.* 19(90):3-44.

- **VIACAVA, A.P.** 2005. Efecto del l-name en la analgesia experimental inducida por dexketoprofeno y ketoprofeno. Trabajo de investigación requisito para optar al título de cirujano dentista. Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Odontología, Departamento de Farmacología. 12 p.

- **VIDAL, M.A.; ARAGÓN, M.C.; TORRES, L.M.** 2005. Opioides como coadyuvantes de la analgesia epidural en pediatría. *Rev. Soc. Esp. Dolor.* 12(6):348-356.

- **WARNER, T.D.; MITCHELL, J.A.** 2004. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *FASEB J.* 18(7):790-804.

- **WARREN, R.A.; GOLSHANI, P.; JONES, E.G.** 1997. GABA(B)-receptor-mediated inhibition in developing mouse ventral posterior thalamic nucleus. *J Neurophysiol.* 78, 550-553.

- **YAKSH, T.L.** 1999. Spinal system and pain processing: development of novel action drugs with mechanistically defined models. *Trends Pharmacol Sci.* 20(8):329-337.

- **YOSHIMURA, M.; NISHI, S.** 1993. Blind patch-clamp recordings from substantia gelatinosa neurons in adult rat spinal cord slices: pharmacological properties of synaptic currents. *Neuroscience* 53(2):519-526.



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

CERTIFICADO

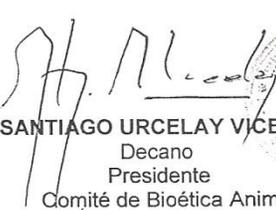
Con relación a los procedimientos propuestos para el uso de animales experimentales en el Proyecto titulado **“ANÁLISIS DE LA INTERACCIÓN ENTRE KETOPROFENO CON METAMIZOL, TRAMADOL O PARECOXIB EN DOLOR AGUDO VISCERAL EXPERIMENTAL Y LA NATURALEZA DE LA INTERACCIÓN DE DICHS FARMACOS Y SU MODULACION POR EL SISTEMA NO-GMPc”**, cuyo investigador principal es el Prof. **HUGO F, MIRANDA**, el Comité de Bioética Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile pueda señalar que:

1. El método algiesiométrico agudo (writhing test) es un test aceptado en la comunidad internacional para estudios de alivio del dolor, especialmente porque corresponde a un Método que desde el punto de vista bioético corresponde a un grado 3, es decir de intenso dolor inicial pero de corta duración, sin efectos colaterales ni secuelas y absolutamente reversible.
2. No obstante lo anterior, se hace imperioso tomar el máximo de recomendaciones que los protocolos sometidos a comités de ética disponen. A este respecto se debería reducir el número de animales a utilizar.
3. Al mismo tiempo se recomienda focalizar el estudio en las interacciones, ya que el efecto individual de la mayoría de las drogas propuestas ya ha sido evaluada con este test por el propio laboratorio del Profesor Tutor o de otros investigadores (ver Padi et al. Eur. J. Pharmacol 491: 69-76, 2004). (Aunque no tiene que ver con el Comité de Bioética Animal, a la referencia Miranda et al. (2001) le faltan autores.



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

Teniendo en consideración lo anterior este Comité puede certificar que éste satisface lo estipulado en la guía de principios directrices internacionales para el uso de animales en investigaciones Biomédicas, elaborada por el Consejo para las Organizaciones Internacionales de las Ciencias Biomédicas, adecuada y adoptada por este Comité.


SANTIAGO URCELAY VICENTE
Decano
Presidente
Comité de Bioética Animal



Santiago, Enero 27 del 2006

Santa Rosa 11735, La Pintana. Santiago, CHILE - Teléfono (56-2) 978 5501 - Fax (56-2) 541 6840