

**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA**

**MODULACION NITRIDERGICA EN LA ACTIVIDAD ANALGESICA DE  
DEXIBUPROFENO E IBUPROFENO EN DOLOR EXPERIMENTAL**

**Mauricio Andrés Flores Martínez**

**Karina Cecilia Sánchez Zobarzo**

**TRABAJO DE INVESTIGACION  
REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE  
CIRUJANO-DENTISTA**

**TUTOR PRINCIPAL**

**Dr. Hugo F. Miranda**

**TUTORES ASOCIADOS**

**Dr. Gianni Pinardi T.**

**Santiago – Chile**

**2006**

“Dedicada a nuestros padres, hermanos y en  
Especial a nuestro hijo Vicente Flores Sánchez”

### Agradecimientos:

Agradecemos la colaboración del departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, a los doctores Hugo Miranda y Gianni Pinardi y a los señores Alejandro Correa y José López quienes nos ayudaron con paciencia y dedicación.

## INDICE

<b>INTRODUCCION</b>	6
<b>MARCO TEORICO</b>	7
• Clasificación del dolor	7
• Fisiopatología del dolor	8
• Mediadores periféricos del dolor	10
• Via Larginina-oxido nítrico - GMPc	13
• Analgésicos Antiinflamatorios no Esteroidales: AINEs	15
• Efecto adverso de los AINEs	19
• Ibuprofeno	19
• Dexibuprofeno	20
• L-NAME	21
<b>HIPÓTESIS</b>	22
<b>OBJETIVOS GENERALES</b>	22
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	22
<b>MATERIALES Y MÉTODO</b>	23
<b>RESULTADOS</b>	26
• Análisis isobolográfico	30
<b>DISCUSIÓN</b>	33

<b>CONCLUSIONES</b>	35
<b>SUGERENCIAS</b>	36
<b>RESUMEN</b>	37
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	38

## INTRODUCCION

En la práctica clínica es importante el conocimiento y control del dolor, ya que es un síntoma frecuente de las patologías generales que afectan al ser humano como mecanismo de alarma ante una noxa, sea esta de cualquier origen. El dolor es la única de las sensaciones que va acompañada de un fuerte componente emocional, intrínsecamente desagradable, cuya interpretación depende de la experiencia previa. Esto condiciona que se desencadene una respuesta de stress, especialmente cuando el dolor es agudo, que consiste fundamentalmente en una respuesta neurovegetativa (elevación de la presión arterial, de la frecuencia cardiaca, etc.). La evaluación del paciente con dolor supone un proceso complejo, debido en gran parte a que el dolor constituye una percepción, de forma que para poder interpretar y tratar correctamente un dolor es necesario un enfoque individualizado, teniendo en cuenta tanto las características y localización del dolor como la enfermedad de base del paciente y la presencia de factores psíquicos asociados. En esencia, el tratamiento ideal de cualquier tipo de dolor es el control de los factores etiológicos que lo desencadenan. Sin embargo esto no siempre es posible, incluso en el caso de dolores agudos en los que, aun habiendo sido realizado correctamente el diagnóstico e iniciado el tratamiento de la causa, existe un periodo de tiempo en el que el dolor persiste. En general, el tratamiento farmacológico mediante el empleo de fármacos analgésicos constituye la pieza fundamental en el manejo del dolor.

## MARCO TEORICO

El dolor ha sido definido por la Asociación Internacional para el estudio del Dolor (IASP) como una experiencia sensorial y emocional no placentera relacionada con daño potencial o real del tejido, o descrito en términos de ese daño. (1) El dolor puede caracterizarse de acuerdo a su localización, duración, frecuencia, intensidad, irradiación, signos acompañantes, síntomas acompañantes, factores atenuantes y factores agravantes. (2)

### Clasificación del Dolor

Puede ser clasificado de acuerdo a:

- Su evolución en el tiempo como dolor agudo, aquel en cual su duración es menor a 3 meses y en dolor crónico en que su evolución es mayor a 3 meses en el tiempo , como el dolor oncológico. (2)
- La fisiología del dolor: puede ser de tipo nociceptivo, provocado por estimulación de los nociceptores del dolor en cualquier tejido. Tipo neuropático debido a la lesión de las vías o centros nerviosos del dolor, ya sean centrales o periféricos, o de tipo psicógeno; donde no se objetiva el daño tisular.
- El nivel somatosensorial: dolor epicrítico; es un dolor superficial de localización precisa y bien determinado, o dolor Protopático; difuso, mal localizado o dolor sordo.

## **Fisiopatología del Dolor**

Los fenómenos que participan en el proceso nociceptivo, o bien desde que un estímulo es potencialmente dañino para el organismo hasta que este sea interpretado en los centros cerebrales superiores se inician en las terminaciones nerviosas libres, las ramificaciones distales de las fibras C amielínicas y fibras A  $\delta$ , allí se inicia la despolarización y la transmisión de los impulsos dolorosos hacia la medula, este fenómeno se denomina transducción. La respuesta de estos receptores puede ser modificada por factores sensibilizadores, que aumentan su respuesta como la acidez del medio, presencia de sustancias algogenas como las prostaglandinas o bradicidinas o por factores que causan fatiga, como estímulos mecánicos repetidos. Los impulsos dolorosos se transmiten por fibras C y A  $\delta$ , en su mayoría, teniendo velocidad de conducción lenta (0,5-2m/s) y rápida (4-30m/s) respectivamente. Estas fibras parten de la neurona T o neurona periférica que tiene su soma en el ganglio espinal y penetran a la médula por el asta posterior de esta. (2-4). Las fibras de tipo C transmiten sensaciones dolorosas vagas, sordas y poco definidas. La sensación dolorosa mas definida, intensa y breve, que se puede percibir ante un estímulo somático es transmitida por fibras A  $\delta$ . Las fibras sensitivas a su ingreso en la médula, lo hacen siguiendo una disposición topográfica de manera que a cada dermatoma que es la representación corporal del organismo en la medula espinal, le corresponde un metamero medular, aun cuando existe un cierto grado de superposición. En el asta posterior de la médula se produce la sinapsis con la segunda neurona en la sustancia gelatinosa de Rolando, aquí también se encuentran interneuronas que modulan esta sinapsis. Muchas fibras antes de su ingreso al asta posterior



emiten colaterales descendentes y ascendentes, constituyendo parte del haz de Lissauer, estas colaterales pueden realizar sinapsis dos segmentos superiores o inferiores, lo que significa que la transmisión de una neurona primaria puede propagarse a varias raíces vecinas. El hecho que existan interneuronas y el fenómeno de emisión de colaterales le da carácter anatómico-fisiológico al dolor y permite explicar el dolor referido y la modulación sobre la transmisión nerviosa. (3,4). Las segundas neuronas dan origen a las vías ascendentes a través de tres haces contralaterales: el neoespinotalámico y el paleoespinotalámico, que conforman la vía espinotalámica y el espinoreticulotalámico. El primero de estos hace sinapsis en el tálamo y posteriormente en la corteza cerebral donde su importancia radica en darle una ubicación topográfica al dolor. El haz paleoespinotalámico hace sinapsis en núcleos inespecíficos del tálamo y luego a zonas frontales de la corteza y adquiere importancia en la evaluación cualitativa del dolor. Al haz espinoreticulotalámico hace sinapsis con la formación reticular a diferentes niveles (bulbo, protuberancia, sustancia gris) y de allí a núcleos inespecíficos del tálamo y se le atribuye mayor injerencia en el componente afectivo del dolor (3,4). Existen también las denominadas vías descendentes, que han sido estimuladas eléctricamente y ha producido analgesia, por lo que se atribuye carácter inhibitorio; sin embargo, estas vías descendentes pueden ser estimuladas por dolor y estrés y provocar alguna modulación medular. A su vez existen sistemas inhibidores descendentes mediados por opiodes y por otros neurotransmisores como noradrenalina y serotonina ( 5).

## **Mediadores Periféricos del Dolor**

Después de un proceso inflamatorio suceden una serie de alteraciones en el sistema somatosensorial que amplifican las respuestas e incrementan la sensibilidad a estímulos periféricos, de manera que el dolor puede ser activado por estímulos normalmente inocuos o de baja intensidad, este tipo de dolor denominado patológico es una muestra de la plasticidad del sistema somatosensorial, definida como la capacidad de estas neuronas de cambiar sus funciones, modular respuestas y cambiar su perfil bioquímico (6). El SNC también se ve afectado por el proceso inflamatorio, es en la médula espinal, donde se observan en su mayoría los cambios, se reduce el umbral de excitabilidad de las neuronas, se altera el patrón temporal de respuesta; de tal manera que estímulos breves pueden desencadenar respuestas sostenidas, se incrementa la respuesta de las neuronas, y se produce la expansión de los campos receptivos lo que permite recordar respuestas, estimulando una mayor área, que en términos generales se conoce como la sensibilización a nivel central. La presencia de una lesión tisular induce la activación de los macrófagos residentes, los cuales cumplen un papel decisivo en la inflamación aguda (6). A partir de un evento inicial se desencadenan una serie de mecanismos que incluyen el reclutamiento de leucocitos que ejercen un papel amplificador y una cascada de activación y liberación de mediadores de diferentes orígenes; como la bradicidina, factores de coagulación, serotonina, histamina, potasio, ATP, prostanoïdes. Otros de las células del sistema inmune o de las plaquetas, como las interleuquinas, factores del complemento, histamina, serotonina, sustancia P, catecolaminas, calcitocina y otros

aminoácidos excitatorios. Y finalmente factores de crecimiento como el factor de crecimiento nervioso (7-12).

En condiciones inflamatorias, los nociceptores, se rodean de la denominada sopa inflamatoria, que producen una alteración intrínseca de las membranas, algunos de estos mediadores producen su activación generando potenciales de acción y otros mediadores los sensibilizan, o reducen su umbral de respuesta, esta es la denominada sensibilización periférica.

Los mediadores inflamatorios que se relacionan con los nociceptores son:

1) las cininas: bradicidina y kalidina, producen relajación del músculo liso con la consecuente vasodilatación y aumento del flujo sanguíneo a la zona injuriada. Se les considera los mediadores algógenos por excelencia y pueden estimular las fibras A  $\delta$  y las fibras C (7). Actúan mediante la activación de receptores B1 y B2. los cuales intervienen en la liberación de neuropéptidos y en la activación de la óxido nítrico sintasa neuronal y endotelial (8). El aumento de la síntesis de bradiquinina, se asocia además al aumento de la síntesis de prostaglandinas (PGS) y leucotrienos (7)

2) Prostaglandinas y otros derivados del ácido araquidónico: durante el proceso inflamatorio diversas citocinas como la IL1 $\beta$  y el TNF $\alpha$ , inducen la producción de la enzima ciclooxigenasa 2 (COX-2), con una subsecuente liberación de eicosanoides, entre las que se encuentran la PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>1</sub>, y el leucotrieno B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>), los cuales participan de manera importante en la sensibilización de las terminaciones nociceptivas ante estímulos dolorosos (5)

3) Serotonina e histamina: causan excitación directa en los nociceptores. También puede sensibilizar nociceptores. Se liberan en presencia de diferentes estímulos como la sustancia P, la IL-1, el factor de crecimiento nervioso (FCN), etc. (9)

4) Mediadores inflamatorios de las células inmunes: durante el proceso inflamatorio las células inmunes liberan interleuquinas como la IL1b, IL6, IL8 y TNFa, que participan en la hiperalgesia inflamatoria, en tanto que otras como la IL10 parecen tener efecto contrario (7,10). La ILb induce la producción de prostaglandinas, estimula a los receptores de bradiquina y aumenta los niveles locales del FNC (10). El TNFa induce la liberación de interleuquinas, reduce el umbral de las fibras C, estimula la liberación de la sustancia P y desencadena las vías dependientes de la COX para la formación de prostaglandinas (11).

5) El Factor de Crecimiento Nervioso (FNC): se asocia a la sensibilización y activación de fibras de pequeño calibre. Interviene en la expresión de otros mediadores como la sustancia P, estableciendo un circuito de retroalimentación con otros neuropéptidos y otras citoquinas (12).

6) Sustancias neurogénicas: durante la inflamación, las neuroquininas, la sustancia P, la neuroquinina A y el gen relacionado con el péptido de la calcitonina contribuyen directamente a la inflamación neurogénica y a la hiperalgesia del sitio lesionado (12).

### Vía L-arginina- Oxido Nítrico-GMPc

El óxido nítrico (NO) es un gas simple, fue inicialmente detectado como un mediador endógeno desde las células endoteliales, con efecto de relajación vascular y como inhibidor de la agregación plaquetaria y adhesión de los neutrófilos (13). Se sintetiza a partir de la conversión de L-arginina más una molécula de oxígeno en óxido nítrico más L-citrulina y la presencia de la óxido nítrico sintasa (NOS), enzima de la cual se han descrito 3 isoformas: la inducible (iNOS), la endotelial (eNOS) y la neuronal (nNOS), que son activadas en estados inflamatorios (8,13,14). Trabajos experimentales establecieron que la acetilcolina, sustancia que estimula la liberación de NO constitutivo, antagoniza la hiperalgesia inducida en ratas por la PGE<sub>2</sub>, así como las contorsiones inducidas por ácido acético (15). Estos efectos son bloqueados por un inhibidor de GMPc, lo que sugiere que el efecto antinociceptivo del NO en estas condiciones experimentales es mediado a través de la estimulación de GMPc. Además, se observó que durante la inflamación experimental inducida por carragenina, la administración local de L-arginina, precursor del NO, producía antinocicepción. (16). Por otra parte, se sugiere que la carencia total de NO en el asta dorsal de la médula, puede inducir un aumento de la actividad nociceptiva de las neuronas en ese sector de la médula y por lo tanto podría contribuir al dolor espontáneo (17). Sin embargo, hay estudios contradictorios, ya que existe un aumento de los niveles de NO en pacientes con enfermedades lumbodegenerativas, pacientes con migrañas y con osteoartritis de la articulación temporomandibular (ATM) (18,19). Estos resultados contradictorios podrían depender de los diversos protocolos usados. Además, estudios sobre el rol del NO en la nocicepción periférica sugieren que tiene más bien un rol pronociceptivo en los estados de dolor

inducidos por estímulos como carragenina, capsaicina, glutamato, formalina o estímulos mecánicos, que se correlacionan con el aumento de las concentraciones de las NOS en los diferentes modelos de estudios del dolor en animales y el aumento de los niveles de calcio  $Ca^{++}$  intracelular, dispara la cascada NO-GMPc, a través de la nNOS (20). Los resultados clínicos y experimentales sugieren que el NO no tiene una participación importante como mediador del dolor bajo condiciones fisiológicas, por producción de las NOS constitutivas, pero bajo una lesión tisular luego de ocurrida la misma, se induce la expresión de la enzima calcio independiente, que lleva a la producción prolongada de NO en diferentes células como macrófagos, células endoteliales, neuronas, células musculares, etc., entonces es cuando la sobreproducción de NO pasa a tener un papel importante en la hiperalgesia, inducida por la lesión tisular, así como por estímulos químicos. Es aquí en donde los inhibidores de la síntesis de NO, suprimen la hiperalgesia resultante ya que se ha demostrado que las concentraciones de NOS aumentan notablemente en diferentes modelos experimentales de dolor en animales (20,21).

En otros aspectos, la liberación y biosíntesis de prostaglandinas y NO tienen similitudes, ya que ambas para su formación requieren la presencia de un sustrato y en condiciones normales las isoformas constitutivas de las enzimas NOS y COX-1 son encontradas en todos los órganos, y regulan muchos procesos fisiológicos (ej.: como actividad antiplaquetaria, vasodilatación y citoprotección (22). En el proceso inflamatorio las isoformas inducibles de estas enzimas son detectadas en una gran variedad de células, por lo que es asociado con un rol patológico de estos mediadores en los procesos de enfermedad lo que ha sido evidenciado con el uso de inhibidores

selectivos. Estudios presentan la posibilidad que las enzimas COX representen un importante receptor endógeno que modula los múltiples roles del NO. Una vez activadas o inducidas estas representan un importante mecanismo de transducción de sus múltiples acciones, y la interacción recíproca NO/COX es relevante en los mecanismos fisiopatológicos que existen bajo muchos estados de enfermedad. Es así como se ha generado el concepto que el NO está involucrado en la vía de las COX. El NO así, puede regular la vía de los eicosanoides actuando en varios niveles (13, 22,23).

### **Analgésicos Antiinflamatorios No Esteroidales: AINES**

Se puede intentar modular o modificar el dolor a diferentes niveles:

- Utilizando infiltración local de anestésicos o por medio de administración intravenosa. Esta analgesia puede ser mejorada utilizando opioides probablemente por la existencia de receptores opiodes morfínicos (MOR) a nivel periférico.
- Bloqueando un nervio periférico con anestésicos locales o bien seccionándolo, con lo cual se impedirá la transmisión del impulso nociceptivo.
- Utilizando analgésicos antiinflamatorios, no esteroidales, que actúan a nivel periférico y también cumplen un mecanismo de tipo central (2).

Los AINEs contribuyen a disminuir y aliviar los síntomas indeseables de la inflamación, como el dolor y lo realizan mediante la inhibición de las enzimas ciclo-oxigenasa (isoformas COX-1, COX-2, COX-3), dando lugar a una disminución de la formación de eicosanoides del tipo prostaglandinas,

tanto a nivel periférico como central. Las manifestaciones clínicas de la inflamación se producen por mediadores químicos, derivados del ácido araquidónico, conocidos como prostanoïdes, que participan activamente en la instauración y mantenimiento del proceso inflamatorio (23-24).

En relación a los COXs, hasta el momento se han descrito tres isoformas. Las más conocidas y estudiadas son la COX-1 y la COX-2, siendo la COX-3 la última en ser descubierta, sensible al paracetamol, se le han asignado propiedades relevantes en el sistema nervioso central, modulando el dolor, con acciones muy similares a la COX-1 (24). La COX-1 es llamada también constitutiva, pues se encuentra presente en casi todos los tipos celulares cumpliendo tareas fisiológicas tan importantes como sintetizar las PGs citoprotectoras de la mucosa gástrica y mantener una función renal normal en riñones comprometidos, entre otras. La COX-2, que también presenta rol constitutivo, se hace más presente inducida en la mayoría de los tejidos estimulados con sustancias propias de una reacción inflamatoria, donde se expresa posterior a la injuria y contribuye directamente con la inflamación e hiperalgesia. Se postulaba que COX-2 sólo se producía inducida por algún daño tisular; sin embargo, el concepto actual es que tanto la COX-1 y COX-2, cumplen roles fisiológicos o constitutivos importantes, como en el riñón, en el SNC, en el epitelio de recubrimiento de las vías eferentes, en el páncreas, en el tubo digestivo, en el sistema cardiovascular, en las vías respiratorias y en el útero (25). Los AINEs comprenden un vasto grupo de moléculas que pertenecen a diferentes estructuras químicas, que poseen propiedades antiinflamatorias, antipiréticas y analgésicas, y en la actualidad se le asigna también un efecto antiagregante plaquetario. La mayoría de los AINEs inhiben



de manera no selectiva ambas isoformas, COX-1 y COX-2, pero algunos poseen cierta selectividad con la isoforma inducible. Por lo tanto, la inhibición de COX-2 es la principal responsable de las acciones analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas de los AINEs y la inhibición simultánea de COX-1 produce reacciones adversas. La actividad de COX-3 es inhibida selectivamente por las drogas analgésicas y antipiréticas como el paracetamol y metamizol, es así, que la inhibición de COX-3 representa un mecanismo central primario por el cual estas drogas disminuyen el dolor y la fiebre (25). El efecto analgésico de los AINEs se explica por un mecanismo de inhibición de las COXs, pero esto no permite justificar la eficacia de estos agentes en el caso del dolor agudo, donde al parecer no existe inflamación. Estudios sugieren que los AINEs ejercen antinocicepción al interactuar con neuronas periféricas o centrales involucradas en la transmisión de señales nociceptivas y también se relaciona la actividad antinociceptiva de los AINEs con el sistema colinérgico. Se ha propuesto que los AINEs aumentarían las concentraciones de acetilcolina tanto a nivel espinal como supraespinal, produciendo el efecto antinociceptivo (26).

Existe un mecanismo analgésico central, que se sumaría a los efectos periféricos antes descritos; éste comprendería la inhibición de la actividad neural, inducida por aminoácidos o quininas. Hay evidencia directa para este componente central en la analgesia de los AINEs, debido a que estos tienen un efecto inhibitorio en la síntesis central de prostaglandinas. Además puede ser necesaria una neurotransmisión serotoninérgica y catecolaminérgica intacta para la antinocicepción mediada por AINEs, puesto que el pretratamiento con ciproheptadina, haloperidol contrarrestan el efecto analgésico de la

administración central de ácido acetilsalicílico. Otros estudios indican la acción de opioides centrales en la antinocicepción mediada por AINEs. Es así como existen trabajos que, mediante el uso de agentes colinérgicos, adrenérgicos, serotoninérgicos, opioides y nitridérgicos, están relacionados con la actividad antinoceptiva de AINEs. Por otra parte, el incremento de sustancias antagonistas del receptor NMDA a nivel espinal y diencefálico podrían contribuir al efecto analgésico de los AINEs. Otro sistema involucrado en la antinocicepción generada por AINEs es el de los opioides endógenos. (26, 27)

Los AINEs, comprenden los siguientes grupos farmacológicos, que se reseñan a continuación, de acuerdo a la clasificación de Warner y Mitchell (25):

- Salicilatos: Aspirina.
- Para-aminofenoles: Paracetamol.
- Derivados ácido indolacético: Indometacina, sulindaco y diclofenaco.
- Derivados pirazolónicos: Fenilbutazona y dipirona.
- Fenamatos: Ácido mefenámico.
- Derivados ácido pirrolacético: Ketorolaco.
- Derivados ácido propiónico: Ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, dexketoprofeno y dexibuprofeno.
- Derivados benzotiacínicos: Piroxicam, tenoxicam y meloxicam.
- Sulfonanilida: Nimesulida.
- Coxibs: Rofecoxib, celecoxib, parecoxib y lumiracoxib.

## **Efectos adversos de los AINEs**

Las reacciones adversas a las drogas incluyen cualquier respuesta no deseada y no intencionada que ocurre con la dosis terapéutica de ella. La tendencia a producir manifestaciones tóxicas puede diferir en gran medida entre los distintos AINEs. Se expresan en todos aquellos sistemas en las que las prostaglandinas cumplen sus funciones fisiológicas. Los AINEs comparten las reacciones adversas comunes. Ellas son: ulceración gastro-intestinal, inhibición de la motilidad uterina, nefropatía, reacciones de hipersensibilidad, discrasias sanguíneas y daño hepático (25).

## **IBUPROFENO**

El ibuprofeno es un derivado del ácido propiónico que posee propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas. Se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal, presentando un pico de concentración plasmática 1-2 horas después de la administración. Su vida media de eliminación es de 2 horas aproximadamente. El ibuprofeno se une fuertemente a las proteínas plasmáticas. Se metaboliza en el hígado, dando lugar a 2 metabolitos inactivos que, junto con el ibuprofeno, se excretan por vía renal bien como tales o como metabolitos conjugados. La excreción renal es rápida y completa (28). Los efectos tóxicos observados coinciden con los de otros antiinflamatorios no esteroideos. El ibuprofeno no resultó teratogénico en diferentes especies animales. En tanto los estudios de mutagénesis como los de cancerogénesis dieron resultados negativos. Se usa en el tratamiento de artritis reumatoide (incluyendo artritis reumatoide juvenil), espondilitis anquilopoyética, artrosis y otros procesos reumáticos agudos o crónicos. En el

tratamiento de lesiones de tejidos blandos como torceduras o esguinces, en procesos dolorosos de intensidad leve y moderada como el dolor dental, el dolor postoperatorio y tratamiento sintomático de la cefalea. Se utiliza también en el alivio en dismenorrea primaria y tratamiento sintomático de la fiebre en cuadros febriles de etiología diversa (29)

## **DEXIBUPROFENO**

El dexibuprofeno es un AINE derivado del ácido propiónico, es el enantiómero S(+) del ibuprofeno (racémico) y corresponde al componente activo farmacológico del ibuprofeno. Se ha investigado su formación que se logra a través de la inversión del R-ibuprofeno mediante una serie de pasos metabólicos que incluyen la incorporación de un grupo CoA al R-ibuprofeno, la disociación de un protón  $\alpha$  metilo, llevada a cabo por una enzima empimerasa y la hidrólisis del ibuprofeno-CoA, por una hidrolasa CoA. Existen estudios que confirman la inversión presistémica a nivel intestinal, sin embargo se acepta que la mayoría del R-ibuprofeno, se invierte en forma sistémica. Es importante enfatizar que la inversión de todas las formas de ácidos propiónicos es especie dependiente. Se absorbe en forma completa y rápidamente a través de modo pasivo, sin embargo hay evidencia en la cual el S(+) ibuprofeno podría absorberse también de modo activo mediante un transportador protón/monocarboxílico TPM, encontrado en células intestinales. (30). Actúa al igual que el resto de los AINE inhibiendo las COXs y por tanto la síntesis de prostaglandinas. Tras la administración oral las concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan a las 2 horas. La unión a proteínas plasmáticas es del 99% y la vida media de 1,9 horas. Se metaboliza a nivel hepático y se elimina

principalmente a través del riñón. El dexibuprofeno ha demostrado ser eficaz y seguro en ensayos clínicos controlados. Uno de ellos, realizado en 178 pacientes y de 15 días de duración, se comparó la eficacia del dexibuprofeno (200 o 400 mg/8h) frente al ibuprofeno (800 mg/8h) en la osteoartritis. Los resultados confirman la equivalencia entre 400 mg/8h de dexibuprofeno y 800 mg/8h de ibuprofeno en la osteoartritis (31).

La experiencia clínica ha demostrado que el riesgo de efectos adversos inducidos por el dexibuprofeno es comparable al del ibuprofeno. Los efectos adversos más frecuentes son los de tipo gastrointestinal y dentro de estos los más habituales son: dispepsia, diarrea, náuseas, vómitos y dolor abdominal. (32). Un estudio en animales, demostró que el dexibuprofeno, tenía mayor efecto analgésico y antiinflamatorio que el ibuprofeno y producía menor daño gástrico como reacción adversa (33).

### **L-NAME**

El NO tiene una vida media de 4 a 5 segundos en condiciones fisiológicas, siendo inactivado por oxidación, dando lugar a la formación de nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ) y nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ). La NOS puede ser inhibida por derivados estructurales del aminoácido arginina, tales como N-mono-metil-L-arginina (L-NMMA) y la N-nitro-L-arginina metilester (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. Inhibidores de la NOS han demostrado ejercer un efecto antinociceptivo y nociceptivo en modelos animales. Así, se ha demostrado la participación de la vía L-arginina-NO en la modulación del dolor (34,35).

## HIPOTESIS

La administración de ibuprofeno y/o dexibuprofeno produce actividad analgésica y antiinflamatoria en el ensayo agudo experimental de la formalina en ratones y está modulada por la vía NO-GMPc.

### **Objetivo general :**

Evaluar la actividad antinociceptiva de ibuprofeno y de dexibuprofeno en el ensayo algesiométrico experimental de la formalina y estudiar la participación de la vía NO-GMP cíclico en dicha actividad.

### **Objetivos específicos:**

1. Evaluar la antinocicepción inducida por la administración intraperitoneal o sistémica de ibuprofeno y de dexibuprofeno en el test de la formalina.
2. Caracterizar la naturaleza de la potencia analgésica de ibuprofeno y de dexibuprofeno.
3. Caracterizar la naturaleza de la potencia antiinflamatoria de ibuprofeno y de dexibuprofeno.
4. Evaluar el componente de la vía NO-GMPc en la actividad de ibuprofeno y de dexibuprofeno en el test de la formalina.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 180 ratones de la cepa CF/ 1 (*Mus musculus*) machos de 28 a 30 g de peso, los que fueron aclimatados al ambiente de laboratorio (22° a 24° C) al menos 2 horas antes de la experimentación. Lo cual se realizó de acuerdo a un protocolo (N° 131) aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina, donde cada animal sólo recibió una dosis de las drogas, las observaciones fueron efectuadas en forma randomizada, ciega y controladas con solución salina. Los animales fueron sacrificados inmediatamente después del experimento mediante dislocación cervical.

La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó por el método de la formalina. Para ello se realizó una inyección subcutánea de 20 µL de una solución de formalina al 5% en la superficie dorsal de la extremidad posterior izquierda del animal. Los cuales se colocaron en un cilindro transparente especialmente diseñado para la observación y se contó el tiempo total en que ellos se lamieron la pata posterior izquierda inyectada durante los 5 primeros minutos inmediatos a la inyección, que corresponde a la fase analgésica. Luego se esperaron 10 minutos, y se volvió a medir el tiempo de lamido, entre los 20 y los 30 minutos posteriores a la inyección, durante el cual los animales se lamieron la pata inyectada y que corresponde a la fase inflamatoria. No se contabilizó el tiempo entre la fase analgésica y la inflamatoria, debido a que el ratón se encontraba en un período de quietud o de no actividad. Los animales controles fueron inyectados, por vía intraperitoneal (i.p.) con solución salina al 0.9%, 30 minutos antes de la administración de la formalina, y la evaluación fue idéntica a la de los animales experimentales.

Los animales tratados o experimentales se inyectaron, por vía i.p. con ibuprofeno (3,10,30 y 100mg/kg) o con dexibuprofeno (3,10,20 y 30 mg/Kg), 30 minutos antes de la administración de la formalina.

Para estudiar la participación del sistema nitridérgico, se administró por la misma vía, 1 mg /Kg de L-NAME, un inhibidor no selectivo de las enzimas nitrosintasas (NOS), 30 minutos antes de la inyección de Ibuprofeno y de dexibuprofeno, constituyendo una mezcla, cuyas dosis fueron obtenidas mediante el estudio del isoblograma para ibuprofeno y dexibuprofeno.

### **Análisis estadístico**

Los fármacos se administraron por vía i.p. en un volumen de 10ml/kg y el ensayo alsegeométrico se realizó cuando se produjo el efecto máximo de cada droga, el que fue determinado previamente.

Para el estudio de las interacciones se utilizaron dosis que producen un 50% de efecto máximo ( $DE_{50}$ ), que se calculó mediante el análisis de regresión lineal de las correspondientes curvas dosis-respuesta de los fármacos administrados por vía intraperitoneal en 48 animales. La interacción entre ibuprofeno con dexibuprofeno se efectuó administrando  $1/2$ ,  $1/4$ ,  $1/8$  y  $1/16$  de las  $DE_{50}$  de cada AINE. La coadministración se efectuó en los animales después del pretratamiento de ellos con 1 mg/kg i.p. de L-NAME. La  $DE_{50}$  de la combinación ( $DE_{50}$  experimental) se comparó estadísticamente 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: relación de potencia entre las drogas 1 y 2 administradas por sí solas.



- P1: proporción de la droga 1 en la mezcla.
- P2: proporción de la droga 2 en la mezcla.

El punto experimental resultante se grafica en un sistema de coordenadas cartesianas que contienen una línea que conecta la  $DE_{50}$  de ibuprofeno en la abscisa con la  $DE_{50}$  de dexibuprofeno en la ordenada (línea de aditividad simple). La región del gráfico donde se ubica el punto experimental determina el tipo de interacción. En el caso de que la interacción sea sinérgica, el punto experimental se ubica bajo la línea de aditividad, y la interacción tendrá una relación de supraaditividad o sinérgica. En el caso contrario, si resultase una interacción antagónica o subaditiva, el punto se ubicará sobre la línea de aditividad, y por último, si el punto se ubica en un sector cercano a la línea de aditividad, la interacción será de simple aditividad. Al mismo tiempo se calcula el índice de interacción entre las drogas, de acuerdo a la siguiente fórmula:

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

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 (26)

El análisis de los parámetros estadístico, expresados ya sea como promedio  $\pm$  SEM o con sus límites de confianza al 95 %, se realizó computacionalmente y la significación estadística se determinó por análisis de varianza (ANOVA) y pruebas t de Student, considerando la significación a un nivel del 5% ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS

### Grupo control

El tratamiento de los ratones con la administración de 10 mL/kg de solución salina fisiológica, vía i.p. 30 minutos antes de la inyección de formalina produjo en promedio 139,71 segundos de lamido en la primera fase (n=34) y 169 segundos de lamido en la segunda fase (n=41).

Dosis	0-5 minutos	20-30 minutos
0.9% solución salina	139,71 s	169 s

Tabla I.- Resultados de la administración de la solución salina 0.9% en ambas fases del test de la formalina.

### Grupos tratados con ibuprofeno:

La administración intraperitoneal de Ibuprofeno, 30 minutos antes de la inyección de formalina, produce una disminución del tiempo de lamido en forma dosis-dependiente con los siguientes valores:

Dosis ibuprofeno	0-5 minutos	20-30 minutos
3mg/kg	119.67 s	125.5 s
10mg/kg	91.17s	112.6 s
30mg/kg	77.33 s	92.65 s
100mg/kg	44.5 s	45.83 s

Tabla II.- Resultados de la administración de Ibuprofeno ip. En el test de la formalina en ratones. Los resultados se expresan como promedio de al menos 6 animales por dosis.

### Grupos tratados con dexibuprofeno

La administración intraperitoneal de dexibuprofeno , 30 minutos antes de la inyección de formalina también produce una disminución del tiempo de lamido en forma dosis-dependiente, como se observa en la siguiente tabla:

Dosis Dexibuprofeno	0-5minutos	20-30 minutos
3mg/kg	133.83 s	121 s
10mg/kg	92.6 s	75 s
20mg/kg	30.5 s	11.67 s
30mg/kg	9.11 s	1.67 s

Tabla III. - Resultados de la administración de dexibuprofeno ip. En el test de la Formalina en ratones. Los resultados se expresan como promedio de al menos 6 animales por dosis.

### Estimación de DE<sub>50</sub>

La administración i.p. de ibuprofeno en ratones que son sometidos al modelo algesiométrico de la formalina, produjo una actividad antinociceptiva dosis-dependiente. Similarmente la administración i.p. de dexibuprofeno, también produjo actividad antinociceptiva dosis-dependiente. Las curvas correspondientes se muestran en la figura 1 y 2. A partir de ellas se calcularon las DE<sub>50</sub>, que resultaron ser de **33 mg/kg** para el ibuprofeno y de **11 mg/kg** para el dexibuprofeno. Es necesario hacer notas que ambas DE<sub>50</sub> fueron obtenidas a partir de los resultados de la primera fase (0-5 minutos luego de la inyección de formalina), porque los resultados obtenidos en la segunda fase, no permiten la inferencia de esta dosis, ya que la secuencia de promedio de lamido en esta fase, no conserva una linealidad proporcional a la dosis, lo que no permite esta deducción, por no ajustarse a las reglas clásicas de la relación dosis-respuesta.

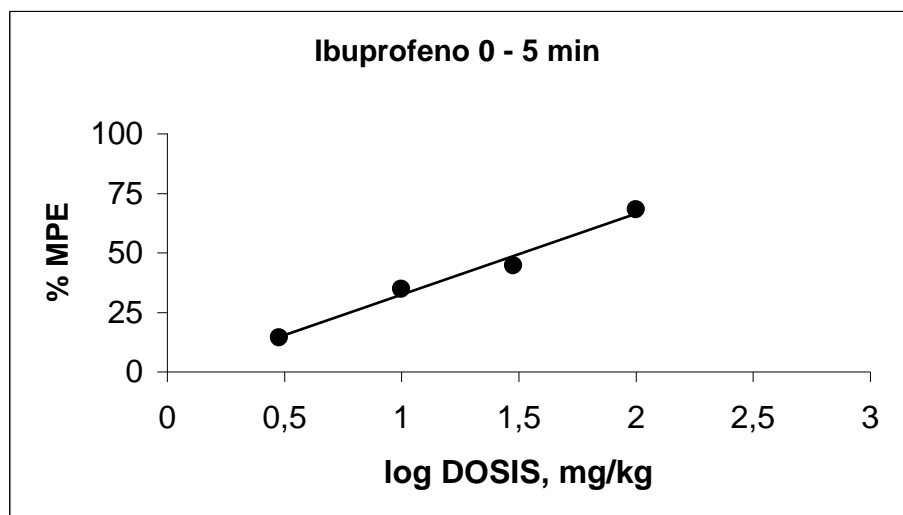


Figura 1- Curva dosis-respuesta del ibuprofeno del porcentaje de máximo efecto posible, en el tiempo de lamido, durante la primera fase en el ensayo de la formalina (0-5 minutos). Cada punto es el promedio de al menos 6 animales

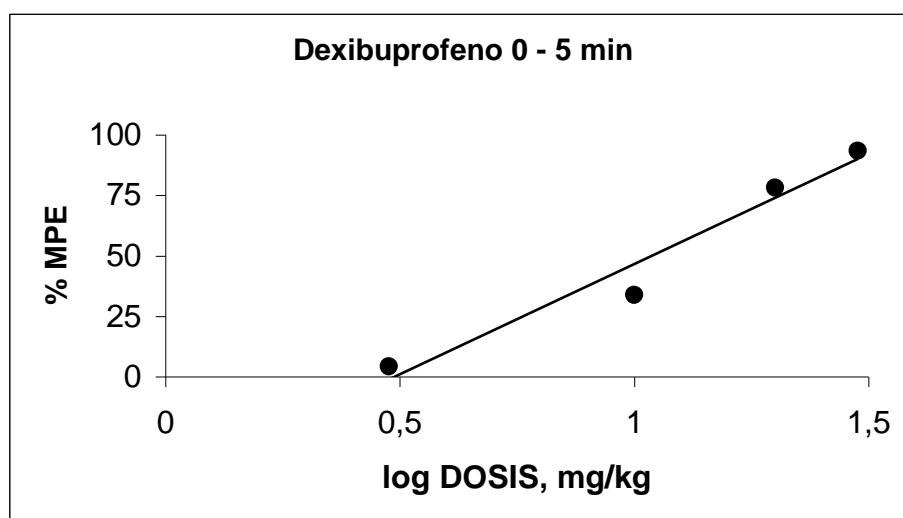


Figura 2.- Curva dosis-respuesta del dexibuprofeno del porcentaje de máximo efecto posible, en el tiempo de lamido, durante la primera fase en el ensayo de la formalina (0-5 minutos). Cada punto representa el promedio de al menos 6 animales

### Análisis Isoblográfico

El estudio de la interacción analgésica entre ibuprofeno y dexibuprofeno administrados por vía i.p. en dosis proporcionales (1:1) de sus  $DE_{50}$  se realizó mediante un análisis isoblográfico. Los resultados obtenidos demostraron que la interacción antinociceptiva de ambos fármacos es de naturaleza aditiva en la primera fase (0-5 minutos) y de supraaditiva en la segunda fase (20-30 minutos), como se observa en la figura 3 y 4, respectivamente.

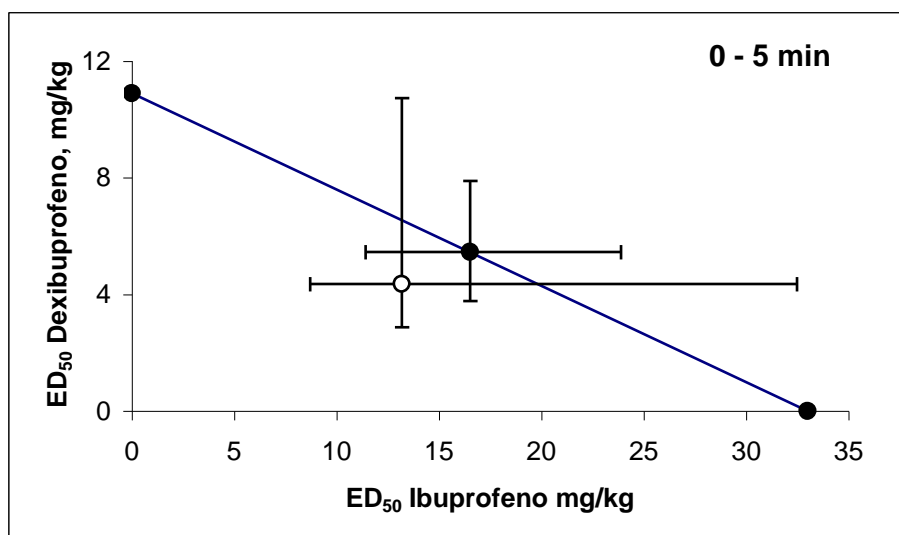


Figura 3.- Isoblograma de la interacción entre dexibuprofeno e ibuprofeno en la primera fase (0-5min) del test de la formalina.

(●) representa el punto de aditividad teórica; (○) corresponde al punto experimental. Las líneas verticales y horizontales de cada punto representan el límite de confianza al 95 %.

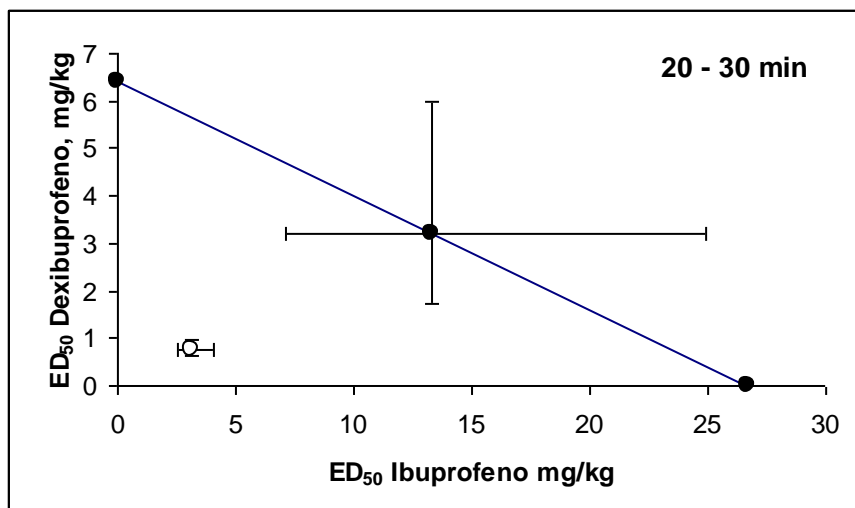


Figura 4.-Isoblograma de la interacción entre dexibuprofeno e ibuprofeno en la segunda fase (20-30min) del test de la formalina.

(●) representa el punto de aditividad teórica; (○) corresponde al punto experimental. Las líneas verticales y horizontales de cada punto representan el límite de confianza al 95 %.

El pretratamiento de los animales con 1 mg/kg, i.p., de L-NAME modificó la naturaleza de la interacción aditiva, a subaditiva en la primera fase y no modificó la sinergia de la segunda fase. Por otra parte, los índices de interacción fueron modificados en la forma siguiente: en la primera fase varió de 0.799 a 1.862, después del pretratamiento con L-NAME. El índice de la segunda fase no se modificó por efecto del pretratamiento con L-NAME, ya que se mantuvo en 0.237.

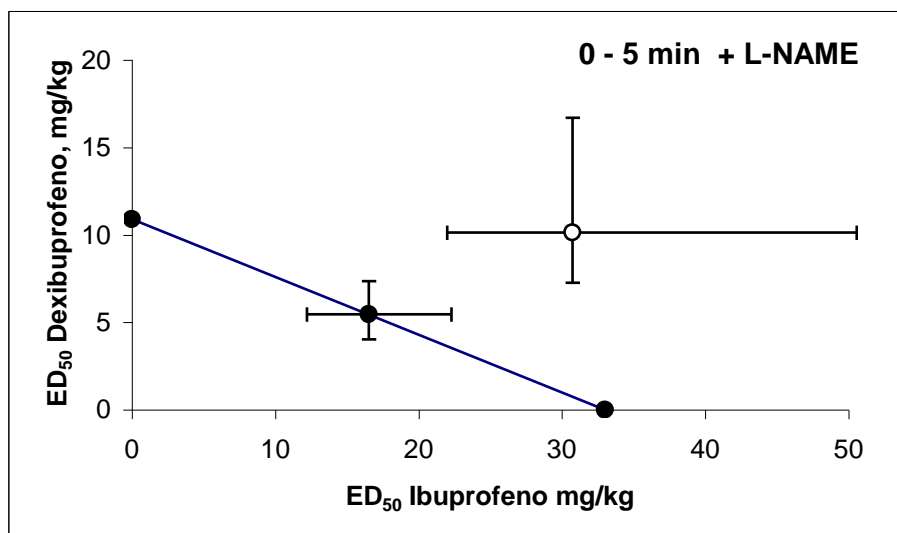


Figura 5.- Isoblograma de la interacción dexibuprofeno e ibuprofeno en la primera fase del test de la formalina. (●) representa el punto de aditividad teórica; el (○) corresponde al punto experimental después de L-NAME. Las líneas verticales y horizontales de cada punto representan el límite de confianza al 95 %. Comparar con figura 3.

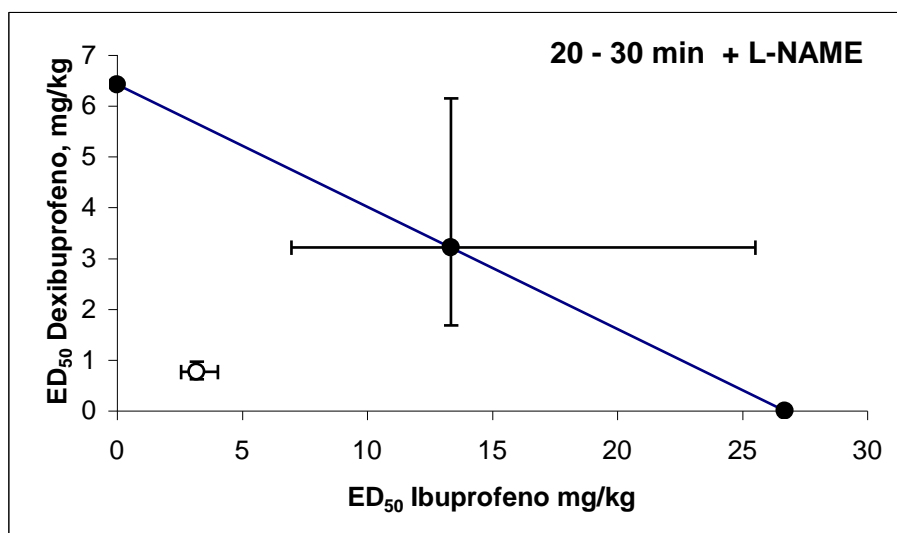


Figura 6.- Isoblograma de la interacción entre dexibuprofeno e ibuprofeno en la segunda fase de la formalina. (●) representa el punto de aditividad teórica; el (○) corresponde al punto experimental después de L-NAME. Las líneas verticales y horizontales de cada punto representan el límite de confianza al 95 %. Comparar con figura 4.



## DISCUSION

El estudio realizado demostró que la administración de ibuprofeno y dexibuprofeno por vía intraperitoneal, produce actividad antinociceptiva dosis-dependiente en el test de la formalina. El dexibuprofeno resultó ser más efectivo que el ibuprofeno, posiblemente debido a que este último es una mezcla racémica y el dexibuprofeno, corresponde a su enantiómero S(+), que ha sido definido como componente terapéutico activo y que en ciertas condiciones es el derivado de la inversión del R-ibuprofeno (30). La administración del enantiómero S(+) (dexibuprofeno), resultó ser más eficaz a menores dosis en comparación con el ibuprofeno tanto en su acción analgésica como antiinflamatoria, medida por intermedio de las 2 fases características del ensayo de la formalina (36).

La aditividad obtenida por la combinación de ibuprofeno y dexibuprofeno durante los primeros 5 minutos del test de la formalina, se podría explicar por la simple suma de la acción antinociceptiva de los AINES al interactuar con neuronas periféricas o centrales involucradas en la transmisión de señales nociceptivas. En cuanto a la supraaditividad demostrada en la segunda fase del test de la formalina, se sugiere que de acuerdo a la teoría general de interacciones farmacológicas (38), la acción de dexibuprofeno y la de ibuprofeno se asocian en forma cooperativa, determinando un efecto mayor que la simple suma de sus efectos individuales. Este sinergismo podría incluir los diferentes aspectos de todas las funciones celulares, tales como actividad de canales iónicos, activación de receptores, control de transcripción de genes,

interacciones entre los constituyentes de las membranas y los AINEs, etc.,(39). Además, hay que tener presente la inversión quiral que sufre el ibuprofeno racémico a S(+) ibuprofeno en algunas especies podría contribuir al efecto sinérgico. Por otra parte ambos enantiómeros ocupan el mismo sitio de alta afinidad en la unión a proteínas plasmáticas, en la que el R- ibuprofeno tiene una constante de afinidad mayor que la del S(+) ibuprofeno, ello podría contribuir a su mayor distribución en el líquido intersticial o sinovial donde ejerce su acción (30). Sin embargo, por la naturaleza de este estudio – farmacológico inicial— es difícil precisar cual de estas posibilidades es la que contribuiría más efectivamente.

Los resultados obtenidos con L-NAME, concuerdan con la dualidad descrita para el efecto de los agentes relacionados con la vía NO-GMPc y su efecto en los niveles de NO (34,35). Así, la primera fase del ensayo de la formalina, para la combinación ibuprofeno con dexibuprofeno, transformada de aditiva a subaditiva concuerda con el efecto antagónico que ejerce el L-NAME en los actividad nociceptiva, convirtiéndose en un agente pronociceptivo o hiperalgésico (40). Por otra parte, la falta de efecto en la segunda fase del ensayo de la formalina, que mide efecto analgésico pero debido a una actividad inflamatoria, revelado por la mantención del índice de interacción, demuestra que el L-NAME no participaría en la analgesia debido a inflamación de la mezcla ibuprofeno/dexibuprofeno, ya que ejercería un rol más analgésico (41). Estos hallazgos confirman el rol tanto pronociceptivo como nociceptivo de los agentes que modifican los niveles de NO (34,35).

## CONCLUSIONES

- Ibuprofeno y dexibuprofeno producen analgesia dosis-dependiente administrados vía intraperitoneal en el modelo algesiométrico de la formalina.
- La administración conjunta de ibuprofeno y dexibuprofeno produce interacción de tipo aditiva en la primera fase del modelo algesiométrico de la formalina y sinérgica en la segunda fase.
- El pretratamiento con L-NAME modifica la interacción transformándola en subaditiva en la primera fase, sin embargo no modifica la naturaleza sinérgica de la segunda fase.
- Este estudio demuestra que administración conjunta de AINEs, como el ibuprofeno y dexibuprofeno, es un avance en la búsqueda de soluciones farmacológicas para el tratamiento del dolor.

### **SUGERENCIAS**

1. Evaluar la acción analgésica de los isómeros de AINEs en diferentes modelos algesiométricos.
2. Estudiar por análisis isoblográfico la combinación de los quirales de cada AINE
3. Evaluar el rol de diferentes antagonistas en las combinaciones anteriores.

## RESUMEN

Los AINEs, constituyen un grupo de fármacos capaces de producir inhibición de la nocicepción y son usados para disminuir el dolor e inflamación. En este trabajo se estudian dos AINEs, ibuprofeno y dexibuprofeno y se evaluó su interacción, vía intraperitoneal, en el ensayo algesiométrico de la formalina, en ratones. Se administró, al tiempo del máximo efecto, proporciones fijas de 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de las  $DE_{50}$  de ibuprofeno y dexibuprofeno, y se determinó a través de análisis isoblográfico el tipo de interacción, que resultó ser aditiva en la primera fase del ensayo algesiométrico de la formalina y sinérgico en la segunda fase. Se evaluó la participación, en dicha interacción, del sistema nitridérgico, vía NO-GMPc, con el uso de L-NAME. Este agente modificó la interacción aditiva a subaditiva en la primera fase y no modificó la interacción sinérgica de la segunda fase.

El presente estudio demuestra que la coadministración de AINEs, constituye un avance en la búsqueda de alternativas farmacológicas para el tratamiento del dolor.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) International Association for the Study of Pain . Classification of Chronic pain : “description of chronic pain syndromes and definition of pain terms”. Pain 1986 ; (Suppl) : 1-222
- (2) Bonica JJ. “Definitions and taxonomy of pain”. En Bonica JJ. The management of pain. 2nd edition. Philadelphia: Lea & Febiger,1990: 18-27.
- (3) Klueber KM. “Neuroanatomy for the dentist in the twenty-first century”. J Dent Educ.,67;3:366-9, 2003
- (4) Schnitzler A., Ploner M. “Neurophysiology and functional neuroanatomy of pain perception”. J Clin Neurophysiol.,17;6:592-603. 2000
- (5) McHugh JM, McHugh WB. Pain: “neuroanatomy, chemical mediators, and clinica”l. AACN Clin Issues, 11:168-78, 2000
- (6) Wolf CJ, Salter MW .Neuronal plasticity : “increasing the gain in pain . Science”,5472 : 1765-9, 2000.
- (7) Calixto J Cabrini D, Ferreira J , Campos M .”Kinins in pain and inflammation” .Pain ;87: 1-5, 2000.
- (8) Omotte K , Kawanata T , Kawanata M et Al. “Activation of pberipheral NMDA nitric oxide cascade in formalin “. Anesthesiology , 93: 173-8, 2000.
- (9) Mobarakeh JI , Sakurada S, Katsumaya S et Al. “Role of Histamine H1 , receptor in pain perception ; a study of a receptor gene knockout mice” .Eur J Pharmacol, 391 :81-9.,2000.
- (10) Dinarello CA.” Proinflammatory citokines “.Chest; 118:503-8, 2000.
- (11) Junger H , Sorkin L .” Nociceptive and inflammatory effects subcutaneous TNFa” .Pain , 85:145-51, 2000.
- (12) Woolf CJ.” Phenotypic modification of primary sensorial neurons , the role of nerve growth factor in the production of persistent pain” .Philos Trans R Soc Lond Biol Sci , 35 : 441-8, 1996.
- (13) Esplugues, J.V. “Review NO as a signaling molecule in the nervous system”. Brithish J. Farmacology,135: 1379-95, 2002.

- (14) Castro da Rocha, F., Da Silva, J. "Effect of nitric oxide synthase in articular inflammatory pain and cellular influx of zymosan-induced arthritis in rats". *Rev Bras Reumatol*, 43, 4:206-17, 2003.
- (15) Duarte IDG, Ferreira SH. "The molecular mechanism of central analgesia induced by morphine or carbachol and the L-arginine-Nitric oxide-cGMP pathway". *Eur J Pharmacol*, 217:225-7, 1992.
- (16) Osborne MG, Coderre TJ. "Effects of intrathecal administration of nitric oxide synthase inhibitors on carrageenan induced thermal hyperalgesia". *Br J Pharmacol*, 126:1840-6, 1999.
- (17) Trudrung P, Wirth U, Mense S., "Changes in the number of nitric oxide-synthesizing neurones on both sides of a chronic transection of the rat spinal cord". *Neurosci Lett*, 23;287:125-8, 2000.
- (18) Shimomura T, Murakami F, Kotani K. "Platelet nitric oxide metabolites in migraine". *Cephalalgia*, 19:218-22, 1999.
- (19) Takahashi T, Kondoh T, Ohtani M. "Association between arthroscopic diagnosis of temporomandibular joint osteoarthritis and synovial fluid nitric oxide levels". *Oral surg oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 88:129-36, 1999.
- (20) Lin Q, Wu J, Peng YB, Cui M, Willis WD. "Nitric oxide-mediated spinal disinhibition contributes to the sensitization of primate spinothalamic tract neurons", 81:1086-94, 1999.
- (21) Callsen-Cencic P, Haheisel U, Kaske A. "The controversy about spinal neuronal nitric oxide synthase under which condition is it up-or down regulated". *Cell Tissue Res*, 295: 183-94, 1999.
- (22) Mollace, V., Muscoli, C., Masini, E., Cuzzocrea, S., Salvemini, D. "Modulation of Prostaglandin Biosynthesis by nitric oxide and nitric oxide donors". *Pharmacol Res*, 57: 217-52, 2005.
- (23) Gilroy DW, Colville-nNach PR. "Inducible cyclooxygenase may have anti-inflammatory properties. *Nat Med*, 5:698-701, 1999.
- (24) Botting RM. "Mechanism of action of acetaminophen: is there a cyclooxygenase 3 *Clin Infect*"; 31:202-10, 2000
- (25) Warner TD, Mitchel JA. "Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic". *FASEB J*, 18: 790-804, 2004

(26) Miranda, HF, Puig, MM, Prieto, JC, Pinardi G. "Synergism between paracetamol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental acute pain". *Pain*, 121, 22-28, 2006.

(27) Euchenhofer, C., Mainhofer, C., Brune, K., et al. "Differential effect of selective ciclooxigenasa-2 (COX-2) inhibitors and diclofenac on formalin duced nociception in the rat". *Neurosci Lett.*, 248:25-28, 1998.

(28) Evans, A.M., "Pharmacodynamics and pharmacokinetics of the profens: enantioselectivity, clinical implications, and special reference to S (+)-ibuprofen". *J. Clin. Pharmacol*, 36:12 Suppl 7-15, 1996.

(29) Halpern, S.M., Fitzpatrick, R., Volans, G.N., "Ibuprofen toxicity. A review of adverse reactions and overdose". *Adverse Drug React. Toxicol. Rev*, 12:2 107-28,1993.

(30) Haping H. Guangji W. Jianguo S. " Enantioselective Pharmacokinetics of Ibuprofen and involved Mechanisms" *Drug metabolism review*; 1 : 225-34, 2005.

(31) Singer F, Mayhofer F, Klein G, Hawel R and Kollenz CJ. "Evaluation of the efficacy and dose-response relationship of dexibuprofen (S(+)-ibuprofen) in patients with osteoarthritis of the hip and comparison with racemic ibuprofen using the WOMAC osteoarthritis index". *Int J Clin Pharmacol*,38(1):15-24, 2000.

(32) Eller N, Kollenz CJ, Schiel H, Kikuta C and Mascher H. "Pharmacokinetics of dexibuprofen administered as 200 mg and 400mg film-coated tablets in healthy volunteers". *Int J Clin Pharmacol*, 36(8):414-17, 1998.

(33) Bonabello . R. Galmozzi, , R. Canaparo, G. C. Isaia, L. Serpe, E. Muntoni, , and G. P. Zara" Dexibuprofen (S(+)-Isomer Ibuprofen) Reduces Gastric Damage and Improves Analgesic and Antiinflammatory Effects in Rodents" . *Anesth Analg*, 97:402-8, 2003

(34) Duarte ID, Lorenzetti BB, Ferreira SH. "Peripheral analgesia and activation of the nitric oxide-cyclic GMP pathway". *Eur J Pharmacol*. 186:289-93, 1990.



(35) Dolan S, Field LC, Nolan AM. "The role of nitric oxide and prostaglandin signaling pathways in spinal nociceptive processing in chronic inflammation". *Pain*. 86: 311-20, 2000.

(36) Le Bars D, Gozariu M, Cadden S, "Animal Models of nociception". *Pharmacol Rev* 53:597-52, 2001.

(37) Hawel R, Klein G, Singer F, Mayrhofer F, Kahler ST "Comparison of the Efficacy and Tolerability of Dexibuprofen and Celecoxib in the Treatment of Osteoarthritis of the Hip". *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 41(4):153-64, 2003.

(38) Chao Chou T, "Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and antagonism in Drug Combination Studies". *Pharmacol Rev*, 58:621-81, 2006.

(39) Barrera NP, Morales B, Torres S, Villalon M. "Principles: Mechanisms and Modeling of synergism in cellular responses". *Trends in Pharmacol Sci*, 26;10:526-32, 2005.

(40) Coutaux A, Adam F, Willer JC, Le Bars D. "Hiperalgesia and allodynia : peripheral mechanisms". *Joint Bone Spine*, 72; 5:359-71, 2005.

(41) Didel W, Neeck G. "Nociception, pain, and antinociception: current concepts". *Z Rheumatol*, 60;6:404-15, 2001.