

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA**

**“PARTICIPACIÓN OPIOIDE Y NITRIDÉRGICA EN LA ANTINOCICEPCIÓN DE
DEXIBUPROFENO Y PARACETAMOL EN DOLOR AGUDO VISCERAL
EXPERIMENTAL”.**

Roberto González Chandía.

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA**

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dr. Hugo F. Miranda.

TUTOR ASOCIADO

Prof. Dr. Gianni Pinardi T.

Santiago – Chile

2006

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA**

**“PARTICIPACIÓN OPIÓIDE Y NITRIDÉRGICA EN LA ANTINOCICEPCIÓN DE
DEXIBUPROFENO Y PARACETAMOL EN DOLOR AGUDO VISCERAL
EXPERIMENTAL”.**

Roberto González Chandía.

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA**

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dr. Hugo F. Miranda.

TUTOR ASOCIADO

Prof. Dr. Gianni Pinardi T.

Santiago – Chile

2006

AGRADECIMIENTOS

- Al Maestro por su incondicional ayuda.
- A los doctores Hugo Miranda y Gianni Pinardi por su apoyo tanto en el nivel docente como personal.
- A don José y don Alejandro por su experta ayuda en el laboratorio.
- A Claudia y a mi tía por estar siempre junto a mí.

INDICE

INTRODUCCION.....	1
CLASIFICACION DE DOLOR.....	4
FISIOPATOLOGÍA DEL DOLOR.....	6
Estructuras periféricas.....	6
Estructuras centrales.....	9
Vías del dolor.....	11
Fisiología del dolor.....	12
ANALGÉSICOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES.....	18
Mecanismo de acción de los AINEs.....	18
Principales acciones de los AINEs.....	21
Principales reacciones adversas (RAMs) de los AINEs.....	23
Paracetamol.....	25
Ibuprofeno.....	28
Ibuprofeno y Dexibuprofeno.....	30
OPIOIDES.....	37
Naltrexona.....	39
INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS.....	40
HIPÓTESIS.....	42

OBJETIVO GENERAL.....	42
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	43
MATERIAL Y MÉTODO.....	44
RESULTADOS.....	51
DISCUSIÓN.....	58
CONCLUSIONES.....	61
RESUMEN.....	62
SUGERENCIAS.....	63
BIBLIOGRAFÍA.....	64

INTRODUCCIÓN

El dolor es el síntoma mas frecuente en la mayoría de las enfermedades, sin embargo posee un carácter dual, ya que implica la sensación física de la agresión, junto con la experiencia emocional individual e intransferible del sufrimiento. Debido a la dificultad para cuantificar o caracterizar las sensaciones percibidas, la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP), definió el dolor como: "una sensación sensorial y emocional desagradable con un daño tisular existente o potencial, descrito en términos de ese daño. (1)

Es un fenómeno complejo y variable, que puede ser influenciado por muchos factores. Por esta razón, el entendimiento de los procesos nerviosos responsables y de los factores que puedan modificarlo, son imprescindibles para su efectivo manejo.

Generalmente existe un estímulo que produce daño tisular o eventualmente lo produciría al mantenerse. Por otra parte, muchas personas refieren dolor en ausencia de daño tisular efectivo

Si bien se trata de definiciones que buscan explicar distintos puntos de vista la percepción humana y animal de esta modalidad sensorial, ambas muestran elementos comunes. En efecto, estas definiciones son concordantes en mostrar el dolor como un fenómeno subjetivo e individual, de carácter eminentemente clínico y que no solo posee un componente sensitivo desagradable, sino que también muestra un componente emocional negativo.

Es así como todo dolor es subjetivo, individual, traducido únicamente por la expresión dada por el paciente. El control del dolor otorga al profesional opciones de tratamiento adicionales, que benefician el bienestar físico y espiritual de los pacientes; la administración pre-operatoria de algunos analgésicos, por ejemplo, ha demostrado reducir el dolor post-operatorio. La combinación de analgésicos con diferentes sitios de acción, efecto y o duración, pueden mejorar en gran manera su capacidad para minimizar el dolor, aumentan su tolerancia y reducir el tiempo de recuperación. (2)

La combinación de analgésicos de probada eficacia es una estrategia que busca obtener uno o más objetivos, como facilitar el bienestar del paciente, simplificar la prescripción, mejorar la eficacia sin aumentar los efectos adversos o disminuir los efectos adversos, sin perder la eficacia. (3)

El Ibuprofeno pertenece a una clase de drogas antiinflamatorias no esteroideas (NSAIDs) bien conocida. Es de primera elección en la familia de los profenos debido a la baja incidencia de efectos colaterales. Aunque fue originalmente lanzado al mercado como racémico, su actividad farmacológica reside exclusivamente en su enantiómero-S. Mucha investigación ha confirmado que el ibuprofeno administrado está bajo una farmacocinética estereo selectiva. (4)

El Paracetamol, por su parte, es un AINE, aunque tiene escasa actividad antiinflamatoria, Sin embargo como la mayoría de los AINEs inhibe el dolor y es un de las drogas analgésicas y antipiréticas más populares y usadas en todo el mundo.

Existen algunas referencias que evalúan la actividad antinociceptiva de dexibuprofeno (5) y la del paracetamol(6) .Sin embargo no ha sido estudiada la interacción entre ambos agentes y su modulación por el sistema opioide o nitridérgico en un modelo de dolor agudo tónico visceral , por lo que se ha elegido a estos fármacos para el presente estudio.

MARCO TEÓRICO

1.- CLASIFICACIÓN DEL DOLOR

Clasificación del dolor según sus características clínicas:

- **Dolor agudo:** Es un mecanismo fisiológico de alarma para limitar el daño e iniciar la reparación. En su mayor parte proviene de una inflamación, enfermedad o de un daño al tejido; se caracteriza por aparecer repentinamente y puede estar acompañado por estrés emocional o ansiedad. El dolor agudo, puede dividirse en continuo o recurrente. El continuo permanece estable en una cierta intensidad. En cambio, el dolor agudo recurrente experimenta períodos de alivio y períodos más intensos (8).

Además el dolor agudo puede ser ocasional o previsible. El ocasional, aparece en forma espontánea y su duración es por lo general de algunas horas. El previsible, puede determinarse con relativa seguridad el tiempo en el que constituirá un problema clínico, como por ejemplo extracción de terceros molares, dismenorrea, etc. (7,9)

- **Dolor crónico:** Es aquél que se mantiene por un periodo mayor de tiempo después de la lesión que le dio origen, por lo que el sistema nervioso puede reprogramarse originando un umbral doloroso más bajo. Carece de propiedades fisiológicas reparadoras y es un síntoma de enfermedad continua o en brotes.(7,9)
- **Dolor somático:** Es aquél que aparece cuando un estímulo potencialmente dañino para la integridad física excita los receptores nociceptivos de la piel, músculos o articulaciones. Es habitualmente bien localizado y el paciente no tiene grandes dificultades en describirlo. (7,9)
- **Dolor visceral:** El dolor visceral es producto de la estimulación de receptores de dolor que inervan estructuras viscerales tales como intestinos, órganos internos etc. Clásicamente es referido por el paciente como un dolor inespecífico de localización difusa, mal definido.(7,9)
- **Dolor neuropático:** Es el resultado de lesiones o alteraciones crónicas en vías nerviosas periféricas o centrales. Puede desarrollarse y persistir en ausencia de estímulo nocivo evidente, e involucran al sistema nervioso central.(7,9)

- **Dolor psicogénico:** Ocurre cuando el paciente describe problemas psicológicos como ansiedad o depresión. Si bien el daño estuvo o está presente, el problema central es la amplificación y distorsión de esos impulsos periféricos por el estado psicológico. (7,9)

2.- FISIOPATOLOGÍA DEL DOLOR

Para percibir el dolor es necesaria una estructura periférica que actúe como receptor, una sinapsis en la médula espinal, vías de conducción desde la médula espinal hasta los centros superiores y una vía descendente desde los centros superiores de la médula, además de un centro de integración que involucra a las áreas superiores del sistema nervioso central.

2.1.- Estructuras periféricas.

Se encuentran en el tejido celular subcutáneo, músculos, articulaciones, vísceras y en la piel, deben ser estimuladas por agentes como calor superior a 45⁰ C, presión, lesión de fibras de dolor, inyección de sustancias químicas o daño tisular, para transmitir la sensación dolorosa.

La nocicepción es un mecanismo a través del cual, estímulos nocivos son transmitidos al SNC. El sistema nociceptivo es dual, y la sensación de dolor

que se experimenta llega al sistema nervioso central por medio de dos tipos de fibras:

2.1.1) Fibras A δ , que son fibras mielinizadas de pequeño diámetro. Aquí tenemos los nociceptores mecánicos de umbral alto o nociceptores mecano termales, que se activan por estímulos intensos, sin la mediación de intermediarios químicos. Se caracterizan por tener escasa capacidad de adaptación y la respuesta será mayor a mayor intensidad del estímulo. Se relacionan con el dolor de tipo agudo, bien localizado, cuya duración depende directamente de la presencia del estímulo. El umbral de este dolor se caracteriza por ser uniforme de persona en persona.

2.1.2) Fibras C, que son fibras no mielinizadas. Entre ellas tenemos a los nociceptores poli modales o mixtos que responden a estímulos térmicos, mecánicos y químicos. Están mediados por la liberación de prostaglandinas, sustancia P, serotonina, bradicinina, histamina, péptido relacionado con el gen de la calcitonina, iones hidrógeno, potasio y ATP. Estos nociceptores dan origen al dolor lento o secundario, de tipo crónico, difuso, sordo y quemante. Se relaciona con el aspecto cognitivo afectivo del dolor, cuya tolerancia varía de persona en persona (10,11)

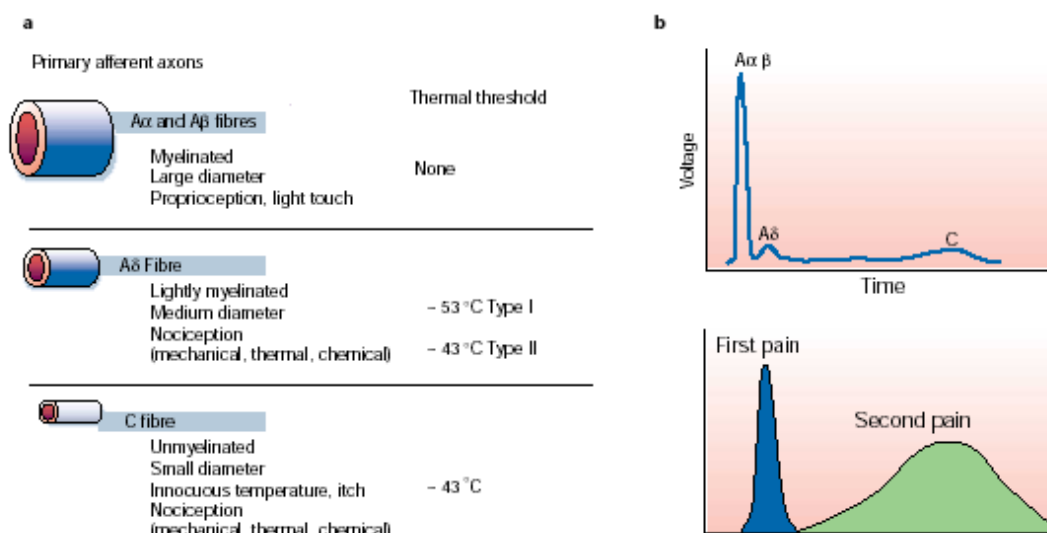


Figura 1.- Diferentes nociceptores detectan diferentes tipos de dolor.

- a)** Nervios periféricos incluyen fibras de pequeño diámetro, A δ y de mediano y gran diámetro como las fibras A-alfa y Beta que son fibras aferentes mielínicas además de las fibras aferentes amielínicas delgadas, las fibras C .(10)
- b)** La velocidad de conducción está relacionada con el diámetro de la fibra. Las fibras Ad poseen una velocidad de 6-25 metros por segundo y dan cuenta del dolor rápido, en cambio las fibras C solo de 1 metro por segundo, nos informan del dolor lento luego de la injuria.(10)

2.2.- Estructuras centrales.

Las fibras A δ y C, luego de entrar por el asta posterior, sinaptan con la segunda neurona, sinapsis que se realiza en la lamina II del asta posterior de la médula, lo cual tiene una gran significación, ya que a este nivel se encuentran una serie de neuronas intermedias encefalinérgicas que cumplen un importante rol en la modulación del dolor. Las fibras C, al entrar a la sustancia blanca de la médula espinal y antes de su ingreso a la sustancia gris, emiten colaterales ascendentes y descendentes las que a su vez sinaptan entre sí, y se ha podido comprobar que por lo menos se prolongan hacia segmentos medulares superiores e inferiores, hecho que podría explicar en parte el dolor irradiado o referido. El soma de la segunda neurona está ubicado en el asta posterior (lámina V) dando origen a tres vías ascendentes. También existen sistemas inhibitorios como son el Gate Control y el Sistema Inhibitorio Centrífugo Descendente, los que modulan la vía del dolor a este nivel. (11,12)

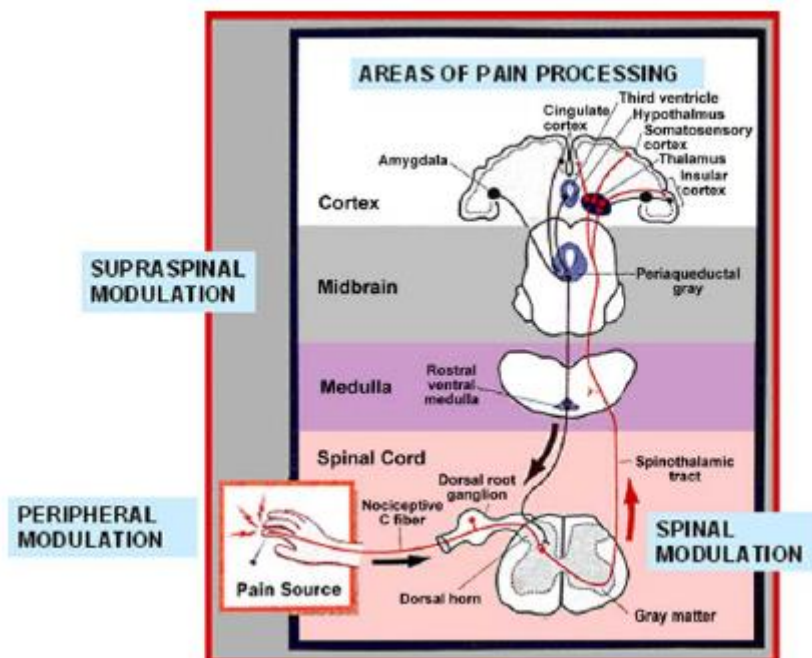


Figura 2.-Las fibras entran por el hasta dorsal de la médula donde existe modulación a este nivel. La vía espinotalámica envía información a los centros moduladores suprasegmentarios. Las vías moduladoras descendentes, principalmente noradrenergicos y serotoninérgicos, inhiben la liberación de sustancia P en la sustancia gelatinosa (lámina II). (12)

2.3.- Vías del dolor.

Una vez realizada la sinápsis con la segunda neurona de la raíz posterior medular, la fibra originada se cruza en la comisura blanca anterior, inmediatamente por delante del epéndimo, para formar las vías espinotalámicas que ascienden hacia las estructuras cerebrales. (13)

Por otro lado, hay evidencia que existe un control de la actividad dolorosa a nivel encefálico, el sistema endógeno supresor del dolor o mecanismo inhibitorio descendente del dolor. Sumado a esto, se describe la acción de las encefalinas (neurotransmisor) que actúa sobre las fibras delgadas C inhibiendo la liberación de sustancia P, que es finalmente la responsable de la transmisión del estímulo doloroso (11, 12,13)

Son tres las vías ascendentes en el hombre, el haz neoespinotalámico, el haz paleoespinotalámico y el haz espinoreticulotalámico. Todos estos hacen sinapsis en el tálamo. El haz neoespinotalámico hace sinapsis con los núcleos ventral posterior y pósterolateral del tálamo, y de allí con la corteza parietal o somestésica, en las áreas SI y SII, zona restringida de la corteza cerebral que nos da la ubicación topográfica del dolor. El haz paleoespinotalámico se proyecta en forma bilateral a los núcleos inespecíficos del tálamo y luego a zonas frontales de la corteza, adquiriendo importancia en la evaluación cualitativa del dolor. El haz espinoreticulotalámico está conformado por fibras

que hacen sinapsis con la formación reticular a diferentes niveles: bulbo, protuberancia, zona reticular mesencefálica y sustancia gris periacueductal y de allí en forma bilateral hacia los núcleos inespecíficos del tálamo, terminando en corteza inespecífica y distribuyéndose ampliamente en ella. Este haz por poseer abundantes relaciones sinápticas con la formación reticular, es el que nos habla del componente afectivo del dolor. (13)

2.4.- Fisiología del dolor.

Después de toda injuria o lesión tisular se liberan diversos mediadores inflamatorios. La inflamación, da lugar a cambios químicos bien definidos que ocurren en el lugar del daño tisular. El pH bajo y una variedad de mensajeros son los causantes del dolor. Los mediadores químicos, entre otros, incluyen los derivados del ácido araquidónico (prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos); aminas vasoactivas (como la histamina y serotonina) y el óxido nítrico, dentro de otros muchos que conforman un verdadero pool o “sopa sensibilizante” que median las diversas reacciones vasculares, celulares y el dolor .(7)

El dolor se inicia con la activación de receptores periféricos debido a estímulos de distintos orígenes como traumáticos, inflamatorios, térmicos o infecciosos, los que producen la liberación de mediadores, entre ellos sustancia P y

posteriormente histamina y serotonina que se encuentran almacenadas en las vesículas de las células cebadas o mastocitos y cuya liberación desencadena la síntesis de prostaglandinas especialmente PGE2 y de los leucotrienos LTC4, LTD4, LTE4. Las prostaglandinas actuarían fundamentalmente sensibilizando las neuronas, lo que facilitaría la acción de aminoácidos excitatorios, como glutamato. También se estimula la síntesis de bradisinina que es una de las sustancias más algógenas de este proceso, en conjunto con los iones potasio e hidrógeno. (10)

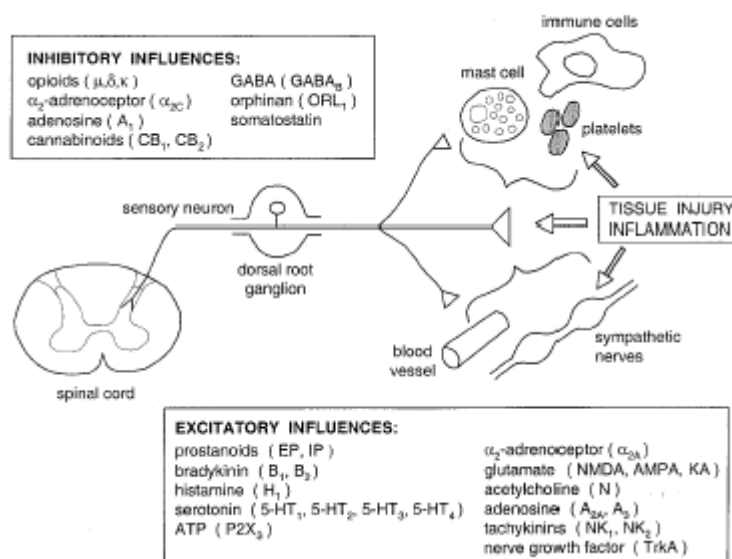


Figura 3.- Influencias excitatorias e inhibitorias que influyen la actividad de un nervio periférico través de mediadores liberados desde el tejido injuriado y una variedad de agentes que actúan sobre los neuroreceptores.(10)

El óxido nítrico (NO) es un gas que se ha visto implicado en la producción de varios procesos fisiológicos a nivel de todo el organismo. En los primeros estudios realizados en 1980 por *Furchgott y Zawadzki* se le denominó Factor Relajante Derivado del Endotelio (EDRF). En estos estudios se demostró que existían un sinnúmero de acciones fisiológicas, bioquímicas y patológicas en las que el NO actuaba directa e indirectamente. Actualmente está demostrado el papel esencial del NO en la regulación de diversas funciones entre las que cuentan: participación en el sistema cardiovascular, nervioso, muscular e inmune. (14,15)

Este hecho ha abierto grandes expectativas para el tratamiento de diversas enfermedades cuya etiología está relacionada con la biodisponibilidad del NO. Se sintetiza partir de la conversión de L-arginina más una molécula de oxígeno en óxido nítrico más L-citrulina. (15)

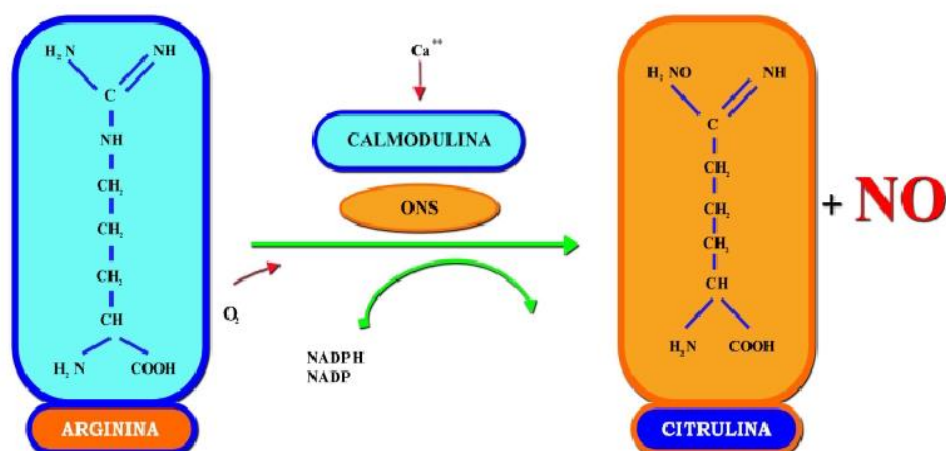


Figura 4.- Biosíntesis del óxido nítrico

La enzima que cataliza esta reacción es la óxido nítrico sintasa (NOS). Se han identificado 3 isoformas de NOS: la neural o tipo I (nNOS), la inducible, calcio independiente o tipo II que se encuentra en macrófagos y otras células inmunológicas (iNOS) y la endotelial o tipo III (eNOS). La NOS I y III se encuentran normalmente en los tejidos, son calcio/calmodulina dependientes, se hallan en el citosol, y sólo producen cantidades pequeñas de NO al ser activadas por una elevación del calcio intracelular, incluyendo los vasodilatadores acetilcolina y bradicinina. La iNOS o tipo II es también denominada inducible o tipo macrófago, normalmente no se encuentra expresada, es inducida por estímulos inmunológicos-inflamatorios. Como un gas, NO difunde con facilidad a las membranas celulares activando la guanidilciclase, catalizando la transformación

de guanosín trifosfato (GTP) en guanosín monofosfato cíclico (GMPc), provocando un aumento intracelular de GMPc, el cual es el mediador de sus efectos fisiológicos, incluyendo dolor y analgesia. El NO tiene una vida media de 4 a 5 segundos en condiciones fisiológicas, siendo inactivado fácilmente por oxidación, dando lugar a la formación de nitritos (NO_2^-) y nitratos (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. 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 E_2 (PGE_2) y carragenina, así como las contorciones inducidas en ratones por el ácido acético. Además, los donadores exógenos de NO como nitroprusiato sódico y nitroglicerina antagonizan la hiperalgesia inducida por un estímulo inflamatorio como la carragenina o la PGE_2 , lo que sugiere que el efecto antinociceptivo del NO en estas condiciones experimentales es mediado a través de la estimulación

de GMPc. Por el contrario, estudios sobre el rol del NO en la nocicepción periférica sugieren que el NO tiene más bien un rol pronociceptivo en los estados de dolor inducidos por estímulos como carragenina, capsaicina, glutamato, formalina o estímulos mecánicos. Estos estudios han demostrado que las concentraciones de las NO aumentan notablemente en diferentes modelos animales de dolor. 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 (ejemplo, calor doloroso), mecánicos (ejemplo; presión en la cola o la pata) o químicos (ejemplo; ácido acético o p-benzoquinona). Hay creciente evidencia que indica el rol del NO en el desarrollo y mantención de los mecanismos que provocan la hiperalgesia, provocada por estímulos mecánicos, químicos o térmicos. El NO juega un rol en la percepción del dolor en muchos niveles de la vía nociceptiva. Periféricamente en las neuronas primarias 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 (N-metil-D aspartato), el cual media la producción de NO. (14,15)

3.- ANALGÉSICOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES. AINEs

Existe una gran variedad de agentes capaces de producir un poderoso y selectivo efecto en la inhibición de la neurotransmisión dolorosa, tanto a nivel preclínico en animales, como a nivel clínico en el hombre. De ellos los más frecuentemente utilizados son los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) que corresponde a un grupo de fármacos de estructura química diferente pero con acciones farmacológicas comunes a nivel periférico y algunos también a nivel central (6).

De todos los grupos de fármacos antes citados, sin duda que los analgésicos anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs) son de los más utilizados en los diferentes tipos de dolor, tanto agudo como crónico, y por lo tanto también los más estudiados. Sin embargo, independientemente de su eficacia, presentan una serie de reacciones adversas que limitan su uso. (6)

3.1.- Mecanismo de acción de los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos.

Estos agentes corresponden a un grupo de sustancias que en su mayoría son ácidos orgánicos débiles derivados de los ácidos carboxílicos y enólicos, que poseen principalmente el siguiente mecanismos de acción:

inhibición de las enzimas ciclooxigenasas (COXs), que son las responsables de la síntesis de prostaglandinas a partir de ácido Araquidónico, tanto a nivel central como periférico. En la actualidad se conocen tres tipos de COXs: ciclooxigenasa 1, ciclooxigenasa 2 y ciclooxigenasa 3 (COX-1, COX-2 y COX-3), con estructuras casi idénticas, pero se diferencian en cuanto a sustratos, ubicación intracelular y selectividad de sus inhibidores. (6,17)

La COX-1 se encuentra en casi todos los tipos celulares cumpliendo diversas funciones, como la síntesis de prostaglandinas (PGs) cito protectoras de la mucosa gástrica, contracción del músculo liso, homeostasis vascular, función renal, etc. Por su parte COX-2 se encuentra ausente en la mayoría de los tejidos, excepto cerebro, médula espinal, riñones, próstata y células neoplásicas de colon. Sin embargo, es inducida en tejidos estimulados con sustancias propias de una reacción inflamatoria. Por lo tanto, COX-2 se expresa en forma posterior a la injuria contribuyendo directamente con la hiperalgesia e inflamación. La COX-3 fue descrita y secuenciada por D. L. Simmons, las dos isoformas de COX conocidas, son codificadas por dos genes que comparten la misma estructura, pero que se sitúan en diversos cromosomas. La COX-3 deriva del gen de la COX-1. En el ser humano el ARNm de la COX-3 es el más abundante en la corteza cerebral, en la médula espinal y el corazón. (6,17)

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 capacidad inhibitoria de los AINEs, se muestra en la figura 5.

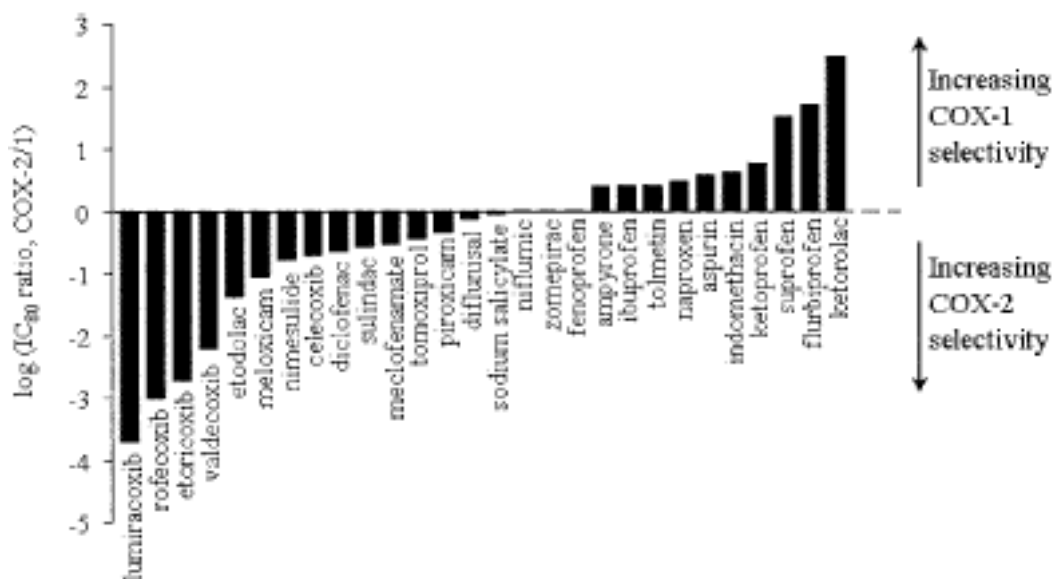


Figura 5.-La selectividad relativa de los AINEs sobre las COX-1 y COX-2. Las proporciones fueron expresadas en logaritmo. El nivel cero (0) representa una actividad igual para COX-1 y COX-2. Los componentes que están sobre la línea son COX-1 selectivos y los que están bajo la línea son COX-2 selectivos. (6)

La actividad de COX-3 es inhibida selectivamente por las drogas analgésicas y antipiréticas como el paracetamol, dipirona, antipirina, fenacetina y otros AINEs, es así, que la inhibición de COX-3 representa un mecanismo central primario por el cual estas drogas disminuyen el dolor y la fiebre. (6,17)

3.2.- Las principales acciones de los AINEs son:

- **Antipirética:** la fiebre puede ser el resultado de un estado infeccioso o la secuela de un daño tisular, en ambos casos aumenta la formación de citoquinas, estimulando la síntesis de PGE2, que mediante el aumento del AMP cíclico, obliga al hipotálamo a incrementar la temperatura corporal. Los AINEs inhiben la síntesis de PGE2 suprimiendo esta respuesta(6)
- **Antiinflamatoria:** por la inhibición de distintas fases en la cascada del ácido araquidónico, particularmente en la vía de las COXs (6)
- **Analgésica:** es importante considerar el tipo de dolor tanto como su intensidad para poder evaluar su eficacia analgésica. Esto queda demostrado, en algunos casos de dolor post operatorio donde los AINEs pueden ser superiores a los analgésicos opioides (6)
- **Antiagregante plaquetario:** esta acción la cumplen el ácido acetilsalicílico y otros AINEs como la indometacina, sulfinpirazona, que

inhiben la COX plaquetaria; siendo el ácido acetilsalicílico el único capaz de realizar esta acción en forma irreversible, con lo cual el efecto antiplaquetario de una sola dosis de esta droga puede persistir durante 5 a 7 días, que es el tiempo de vida plaquetario. Conocido es ya el uso de dosis bajas de ácido acetilsalicílico en profilaxis de fenómenos tromboembólicos coronarios y cerebrovasculares.(6)

- **Antitumorigénica:**

Estudios epidemiológicos han establecido un fuerte vínculo entre la ingestión crónica de ácido acetilsalicílico y un reducido riesgo de desarrollar cáncer de colon. Hoy se cree también que los tumores gástricos y mamarios son susceptibles de ser tratados con inhibidores selectivos COX-2, dado que esta proteína se encuentra en altos niveles en estos tumores a diferencia de los tejidos circundantes (6)

- **Labor de parto:**

Los AINEs retardan el parto prematuro al inhibir la síntesis de prostaglandinas. Un ejemplo de parto prematuro es el que se produce por infección uterina, donde la liberación de factores endógenos incrementa la síntesis de prostaglandinas, desencadenando las contracciones. De esta manera, bloqueadores COX-2 selectivos pueden

ser usados para retardar el parto sin los efectos colaterales de los AINEs tradicionales no selectivos (6)

- **Enfermedad de Alzheimer:**

Existiría una correlación inversa entre la severidad o la incidencia de la enfermedad de Alzheimer y la ingestión de AINEs. Se propone que los AINEs reducen la respuesta inflamatoria de la microglia al B- amiloide proteico causante de la enfermedad (6)

3.3.- Principales reacciones adversas (RAMs) de los AINEs:

- **Gastrointestinales:** hasta un 60% de los pacientes que consumen AINEs por tiempo prolongado, presentan daño gastroduodenal silente, con erosiones intramucosas, úlceras y hemorragias. (6)
- **Renales:** Los AINEs, a través del bloqueo de la síntesis de prostaglandinas disminuyen el flujo renal y la filtración glomerular, y producir retención de sodio, agua y potasio.(6)
- **Hematológicas:** los AINEs prolongan el tiempo de sangría al bloquear la síntesis de tromboxano A2. El efecto se revierte al desaparecer el AINE de la circulación. Sin embargo, el efecto la aspirina es irreversible por lo que altera la función de la plaqueta por el tiempo que esta circule.(6,16)

- **Hepáticos:** aunque casi todos los AINEs se han asociado a daño hepatocelular, las dos drogas que más comúnmente se relacionan a toxicidad son la aspirina(16) y el paracetamol.(6)
- **Agregación plaquetaria:** todos los AINEs, con la excepción de paracetamol, inhiben la agregación plaquetaria aumentando el tiempo de sangrado, provocando hemorragias por interferir con función antiagregante de las plaquetas, neutropenia y otras citopenias por fallo medular .(6,16)
- **Hipersensibilidad:** algunos individuos muestran intolerancia a la aspirina y otros AINEs. El cuadro puede presentarse como una rinitis vasomotora, edema angioneurótico, urticaria generalizada, asma bronquial, edema laríngeo, hipotensión.(6)
- **Sistema nervioso central:** los salicilatos en altas dosis pueden producir tinitus y pérdida de la audición y, en los ancianos, confusión y complicaciones neuropsiquiátricas. La indometacina se asocia a cefalea y vértigo en forma dosis dependiente y, en los ancianos, a depresión, pérdida de memoria y confusión.(6)
- **Embarazo:** los AINEs pueden prolongar el embarazo, por disminución de las contracciones, por bloqueo de la COX-1. Además, la administración prolongada de AINEs durante el tercer trimestre podría provocar un

cierre del ductus arteriosus e inducir hipertensión pulmonar persistente en el recién nacido, por el mismo bloqueo. Se debe evitar el uso de ácido acetilsalicílico en nodrizas por paso del fármaco al recién nacido a través de la leche materna y riesgo de síndrome de Reye.(6,16)

3.4.-Paracetamol

El paracetamol o acetaminofeno es categorizado como droga AINE atípica, porque tiene escasa actividad antiinflamatoria. Sin embargo, como la mayoría de los AINEs inhibe el dolor y es una de las drogas analgésicas y antipiréticas más populares y usadas en todo el mundo. Se absorbe con rapidez y casi por completo en el tracto gastrointestinal. La concentración plasmática alcanza un máximo en 30 a 60 minutos y la vida media es de alrededor de dos horas después de dosis terapéuticas. La unión a proteínas plasmáticas es variable. La eliminación se produce por biotransformación hepática a través de la conjugación con ácido glucurónico (60%), con ácido sulfúrico (35%) o cisteína (3%). El paracetamol en general es bien tolerado. No se ha descrito producción de irritación gástrica ni capacidad ulcerogénica. En raras ocasiones se presentan erupciones cutáneas y otras reacciones alérgicas. Los pacientes que muestran hipersensibilidad a los salicilatos sólo rara vez la

exhiben para el paracetamol. El efecto adverso más grave descrito con la sobredosis aguda de paracetamol es una necrosis hepática, dosis-dependiente, potencialmente fatal. La necrosis hepática (y la tubular renal) son el resultado de un desequilibrio entre la producción del metabolito altamente reactivo y la disponibilidad de glutatión.(6) Con disponibilidad normal de glutatión, la dosis mortal de paracetamol es de 10g aproximadamente; pero hay varias causas que pueden disminuir estas dosis (tratamiento concomitante con doxorrubicina o el alcoholismo crónico . Debe medicarse con cuidado en casos de pacientes alcohólicos, en los tratados con inductores enzimáticos o con drogas consumidoras de glutatión (doxorrubicina). En pacientes alérgicos a la aspirina el paracetamol puede producir reacciones alérgicas tipo broncoespasmo. (18)

A pesar de su uso y renombre el paracetamol por mucho tiempo fue utilizado en la mitigación del dolor pero a diferencia de otros atenuadores del dolor su mecanismo de acción era una incógnita, por la carencia de efectos gastrointestinales indeseados provocados por la inhibición de la COX-1 constitutiva y su baja acción antiinflamatoria que lo diferencia de otros mitigadores del dolor, inhibidores de la COX-2 inducida por el tejido lesionado. Sin embargo, trabajos recientes han

establecido que el paracetamol tiene una acción altamente enfocada en el cerebro, bloqueando una enzima hasta entonces desconocida y altamente implicada en la transmisión del dolor, llamada COX-3 encontrada en el cerebro y la médula espinal, que es inhibida selectivamente por paracetamol, y es distinta de las dos enzimas ya conocidas COX-1 y COX-2 . Ahora se cree que esta inhibición selectiva de la enzima COX-3 en el cerebro y médula espinal explica la eficacia del paracetamol en reducir el dolor y la reducción de fiebre sin tener efectos secundarios gastrointestinales. La COX-3 fue descrita y secuenciada por D. L. Simmons. Hasta entonces las dos isoformas de COX eran conocidos (COX-1 y COX-2) que son codificados por dos genes que comparten la misma estructura, pero son situados en diversos cromosomas. En esa publicación se describe una tercera isoforma activa completa y dos isoformas, PCOX-1 a y b parciales. La COX-3 deriva del gen de la COX-1. En los seres humanos, el ARNm de la COX-3 es el más abundante de la corteza cerebral, en la médula espinal y el corazón. También se expresa en células de insecto. La actividad COX3 es inhibida selectivamente por las drogas analgésicas y antipiréticas como por ejemplo paracetamol, dipirona y otros AINEs más. Es así, que la

inhibición de COX-3 representa un mecanismo central primario por el cual estas drogas disminuyen el dolor y la fiebre. (6,18)

3.5.- Ibuprofeno

Fue marketeado en el Reino Unido en 1969 por la compañía Boot Pure Drug, con el antecedente de que las altas dosis de aspirina en la terapia de la artritis reumática resultaban en una severa reacción. A una dosis de 2400 mg por día, el Ibuprofeno fue confirmado como uno de los AINEs más seguros. Fue introducido en los Estados Unidos en 1974, luego se difundió por todo el mundo. En el reino Unido fue conocido como Nurofen (mr), en los Estados Unidos como Advil(mr). Además de sus conocidos efectos, investigaciones recientes lo han asociado con una disminución en el riesgo de padecer la Enfermedad de Parkinson, y una disminución en el riesgo de algunos cánceres. (4)

El ibuprofeno es un derivado del ácido propiónico que posee propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas. El ibuprofeno se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal, presentándose picos de concentraciones plasmáticas 1-2 horas después de la administración. Su vida media de eliminación es de unas 2 horas aproximadamente. El ibuprofeno se une fuertemente a las proteínas

plasmáticas. El ibuprofeno 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. La farmacocinética de los gránulos de ibuprofeno es comparable a la de los comprimidos, por lo que no debe haber diferencias en la pauta de utilización clínica de ambas presentaciones. (19). En los estudios de toxicidad realizados los efectos tóxicos observados coinciden con los de otros antiinflamatorios no esteroideos. El ibuprofeno no resultó teratogénico en diferentes especies animales. Asimismo, tanto los estudios de mutagénesis como los de cancerogénesis dieron resultados negativos. (20). Se usa en el tratamiento de artritis reumatoide (incluyendo artritis reumatoide juvenil), espondilitis anquilopoyética, artrosis y otros procesos reumáticos agudos o crónicos. (20). Tratamiento de lesiones de tejidos blandos como los esguinces. Tratamiento de procesos dolorosos de intensidad leve y moderada como el dolor dental, el dolor postoperatorio y tratamiento sintomático de la cefalea. (21). Alivio de sintomatología en dismenorrea primaria y tratamiento sintomático de la fiebre en cuadros febriles de etiología diversa. (21)

3.6.- Ibuprofeno y Dexibuprofeno.

Contiene un centro quiral en C-2, adyacente al grupo carboxilo, por lo que existen dos enantiómeros. Aunque fue primeramente lanzado como racémico, su actividad farmacológica reside exclusivamente en su enantiómero- S. (4) Muchas investigaciones han confirmado que el ibuprofeno racémico administrado posee una farmacocinética estéreo selectiva. Por lo que los parámetros farmacocinéticos generados de métodos no estéreo selectivos no pueden ser extrapolados al del enantiómero por sí solo. (4)

En 1980, un debate entre " racémicos versus enantiómeros " derivó en la publicación de ciertas guías que favorecían y aconsejaban el desarrollo de los enantiómeros por la F.D.A. y otras entidades regulatorias. Debido a que las propiedades del ibuprofeno son por completo atribuibles al enantiómero-S, el **Dexibuprofeno** fue introducido al mercado en 1994. (4)

En la investigación quiral se espera que la droga quiral o xenobiótica interactúe con las biomoléculas. Así con el ibuprofeno los procesos enantioselectivos pueden ocurrir en todos los procesos farmacocinéticos, incluyendo la absorción, la unión a proteínas, metabolismo y excreción. El aspecto más investigado es la inversión de R- ibuprofeno en su

antípoda farmacológica, pero no el mecanismo inverso. Otros derivados propiónicos pueden también sufrir inversión quiral, pero en distinta cuantía y tanto sustrato como especie específica. (4)

Además existen evidencias que existe un polimorfismo genético de CYP450, lo que puede ejercer influencia en el metabolismo enantiómero selectivo del xenobiótico. (4)

- **Absorción.**

El ibuprofeno y otras drogas ácidas arylpropionicas se absorben rápidamente en forma pasiva favorecidas por un gradiente de concentración, no se espera una absorción enantioselectiva. Sin embargo la existencia de un transportador de monocarboxilos y protones (MTC) en los enterocitos intestinales y el hecho de que el ibuprofeno puede inhibir la absorción del ácido láctico indican que puede existir un transporte activo del ibuprofeno a través del MTC. Por lo anterior el transporte estereo selectivo a través del tracto gastrointestinal, especialmente en presencia de drogas monocarboxiladas, no puede ser excluida. (4)

- **Unión a proteínas enantioselectiva.**

Se ha demostrado que la unión a proteínas para ambos enantiómeros es mayor a un 99%, esta unión es enantioselectiva y mutuamente competitiva. Existen diferencias sustanciales entre los enantiómeros en relación al sitio de unión a las proteínas, aunque existe una relativamente modesta diferencia en la inhibición mutua. El mecanismo que subyace a esta estereoselectividad y competitividad en relación a la unión a proteínas tiene relación con el sitio de unión a éstas.

Existen dos sitios de unión, uno de alta afinidad y otro de baja afinidad por cada enantiómero. Ambos enantiómeros comparten el mismo lugar de alta afinidad. El sitio de alta afinidad es identificado como sitio I. Contrariamente al ibuprofeno, la estereoselectividad del Ketoprofeno que fue principalmente atribuida al sitio I. (4)

La menor cuantía de unión a proteínas del S- ibuprofeno puede contribuir a la transferencia al líquido sinovial lo que favorece la actividad farmacológica. (4)

- **Metabolismo estéreo selectivo.**

Ambos enantiómeros del ibuprofeno están bajo un metabolismo oxidativo a metabolitos hidroxilados y carboxilados. Todos lo metabolitos

de la fase I y el enantiómero intacto pueden además conjugarse con ácido glucorónico para producir metabolitos de fase II. Datos preliminares indicaron que existía una estereo selectividad en el metabolismo favoreciendo al enantiómero-S. Posteriormente con muestras de plasma y de orina se mostró un perfil de estereo selectividad en la no inversión de los metabolitos, ya que, aunque se administre R-ibuprofeno o el fármaco racémico, la recuperación de los metabolitos, desde la orina, del S- ibuprofeno prevalecieron por los metabolitos de su antípoda. Estudios posteriores confirmaron que esta preferencia, la que es tanto en fase I como en fase II. (4)

- **Excreción.**

La mayor parte, cerca del 60%-70%, de la droga intacta y de sus metabolitos fueron recuperados en la orina dentro de las primeras 24 horas sugiriendo que es la vía renal la principal vía de excreción. La vía biliar es nombrada como otra ruta, aunque de mucha menor importancia en humanos que en ratones. (4)

- **Metabolismo de inversión quiral.**

Esta es una característica común para los derivados del ácido propiónicos, incluyendo el ibuprofeno, Ketoprofeno, flubiprofeno y pantiprofeno, vía los mismos mecanismos, aunque existe son especie-dependiente. El ibuprofeno está bajo una inversión quiral unidireccional desde R-ibuprofeno hacia S-ibuprofeno mayor a un 60%. Se sabe que existen al menos tres enzimas que participan en la inversión quiral. Debido a los complicados mecanismos los resultados de diversas investigaciones son controversiales, en relación al sitio de inversión quiral, y las enzimas envueltas.(4)

3.7.- Propuesta teórica.

Teóricamente el carbono-2, el átomo de carbón adyacente al grupo carboxilo del ibuprofeno se debe hacer planar para que ocurra la epimerización. Como otros derivados propiónicos, esta estructura planar puede ser alcanzada vía

B-oxidación para formar un doble enlace entre el carbono 2 y 3. Aparentemente es necesario la existencia de un intermediario para adquirir la forma planar y así ocurra la epimerización. Considerando la estructura del

ibuprofeno como la de un ácido graso, se postula un ester Co-A, ya que el ester de Co-A es un metabolito convencional de los ácidos grasos. (4)

Primer paso.

Usando el metabolismo de los ácidos grasos como modelo, se sugiere la formación de AMP-ibuprofeno, parece ser que una acyl Co-A sintetasa primero cataliza la formación de ibupropropilpentanoico-AMP seguido por una rápida trioesterificación a ibuprofeno-CoA, todo esto en presencia de ATP. CoA y Mg, siendo éste el paso de control estereoespecífico (4)

Segundo paso.

La incorporación de Co-A en el ibuprofeno para formar un enlace trioester provoca una acidificación del protón en C-2. La disociación de alfa-metin protón del ibuprofeno es facilitada por el anillo aromático y por el enlace trioester de la racemización. Este paso no ocurre espontáneamente sino por la presencia de una epimerasa, la Carnitina-deshidratasa-epimerasa, la cual extrae un protón, para formar una estructura carbónica la que es una estructura inestable, pero por tautomerización se forma un doble enlace entre el carbono 1 y 2, obteniendo así una estructura planar (4)

Tercer paso.

R-ibuprofeno es transformado a S-ibuprofeno luego de los dos primeros pasos de la inversión. El último paso de la inversión unidireccional del ibuprofeno es una simple hidrólisis del ibuprofenoCo-A bajo la catálisis de una triesterasa Co-A (hidrolasa), que tampoco es estereoselectiva. Terminando así con el proceso de inversión quiral.(4)

Sitio de inversión

El sitio de inversión quiral del ibuprofeno aun es materia de controversia. Inicialmente no se observó diferencias en la proporción de inversión entre la administración oral y la intravenosa del ibuprofeno. Posteriormente se vió que la velocidad de absorción determina la proporción de inversión del ibuprofeno. Se puede sostener que la inversión sistémica de ibuprofeno contribuye predominantemente a la inversión total, cuando se administra una formulación de rápida absorción, sin embargo, la inversión pre-sistémica contribuye a aumentar la proporción de inversión si el ibuprofeno está mayor tiempo en el intestino. Es importante enfatizar que el sitio de inversión quiral de los derivados propiónicos es altamente especie específico, en humanos se ha demostrado una alta inversión quiral de R -ibuprofeno a su antípoda

en cultivos de células de colon humanas, por lo que existe evidencia de inversión presistémica del ibuprofeno en humanos.(4)

Por lo tanto la inversión de R-ibuprofeno en su antípoda, incluye a tres tipos de enzimas, aryl-CoA sintetasa, epimrasa y una acyl-CoA trioesterasa , mediando la formación de ibuprofeno-CoA, epimerización y una hidrólisis respectivamente. Las anteriores enzimas son las responsables de la estereoselectividad y la proporción de inversión quiral del ibuprofeno. (4)

4.- OPIOIDES

Estos fármacos producen sus efectos farmacológicos tanto terapéuticos como adversos al estimular receptores específicos que son MOR (μ), DOR (δ) y KOR (κ) (11). Estos se encuentran distribuidos en el SNC especialmente en la médula espinal, estructuras encefálicas y sistema límbico. También predominan en las zonas periféricas relacionadas con el dolor. En los receptores opioides también actúan los péptidos opioides endógenos como son las dinorfinas, encefalinas y β -endorfinas (11,22)

Los fármacos opioides, cuando activan los receptores de ubicación presináptica tienen un rol neuromodulador en la liberación de ciertos neurotransmisores como ACh, NA, GABA, etc. Por ejemplo se ha visto que el mecanismo de acción de la morfina estaría relacionado con una disminución de las tasas de AMPc, en la neurona y en los niveles plasmáticos (23)

Según su capacidad de activar a un determinado receptor los analgésicos opioides se pueden clasificar en:

- **Agonistas completos:** activan los receptores opioides con la misma actividad intrínseca.(11)
- **Agonistas parciales:** tienen menor actividad intrínseca en los diferentes receptores opioides y consecuentemente con efectos clínicos de menor magnitud.(11)
- **Antagonistas:** tienen afinidad por receptores opioides pero carecen de actividad intrínseca. (11)

Estos fármacos tienen efectos farmacológicos principalmente a nivel del SNC y gastrointestinal. La analgesia se produce por ejemplo, a nivel

supraespinal y espinal inhibiendo la transmisión del dolor y los componentes emocionales y afectivos asociados. De hecho la estimulación de receptores μ ubicados en las vías del dolor produce la analgesia de mayor potencia. La acción supraespinal de los opioides se asocia también a somnolencia, sedación, euforia y vértigo. También se ha descubierto que los péptidos opioides participan en las respuestas inflamatorias en los tejidos periféricos (23).

4.1.-Naltrexona

Es un antagonista no selectivo de los receptores opioides, pero tiene mayor afinidad por el receptor μ , por lo tanto, revierte todos los efectos producidos por los fármacos opioides debido a la activación de receptores del subtipo μ . Se usa principalmente en el tratamiento por intoxicación inducida por los opioides y el alcohol. Su mayor eficacia se encuentra a nivel oral que parenteral, alcanzando su concentración máxima a las 2 horas, con una vida media de catorce horas (24)

El estudio de la interacción analgésica entre los AINEs no ha sido muy extenso, refiriéndose fundamentalmente a la interacción sinérgica entre ketorolaco y tramadol en ratas artríticas. (25). Igual efecto sinérgico ha sido demostrado entre tramadol y metamizol (26) y entre paracetamol y codeína (26).

5.- INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS

El estudio de las posibles interacciones entre AINEs podría incrementar la eficacia de su efecto analgésico, disminuir las dosis y bajar a niveles mínimos sus posibles efectos indeseables. La interacción farmacológica entre drogas se puede considerar desde el punto de vista farmacocinético o farmacodinámico, por esto cuando dos drogas se administran en forma conjunta, sus efectos pueden ser:

- **ADITIVOS:** corresponde a la suma de los efectos que producen cada una de ellas separadamente.(27,28)
- **SUBADITIVO O ANTAGONICO:** corresponde a un efecto menor que la suma de cada agente por separado.(27,28)
- **SINERGICO O SUPRA ADITIVO:** que es un efecto mayor que la suma de los efectos separados de cada droga. (27,28).

Las drogas que produzcan sinergismo, presentan un futuro más promisorio en el tratamiento del dolor, sobre todo si a ello se agrega que normalmente el sinergismo va acompañado con una significativa disminución de las reacciones adversas. La exploración de drogas que al ser aplicadas conjuntamente produzcan una interacción sinérgica es de gran interés en Farmacología. (28)

El estudio de la interacción analgésica a nivel preclínico no ha sido muy extenso, por ello en el presente trabajo se evaluará la interacción entre dexibuprofeno y paracetamol en un modelo de dolor agudo tónico visceral: el *writhing test* o test de las contorsiones en ratón.

HIPÓTESIS

La administración sistémica de dexibuprofeno o paracetamol induce antinocicepción que es modulada por el sistema opioide y/o por el sistema NO-GMPc

OBJETIVO GENERAL

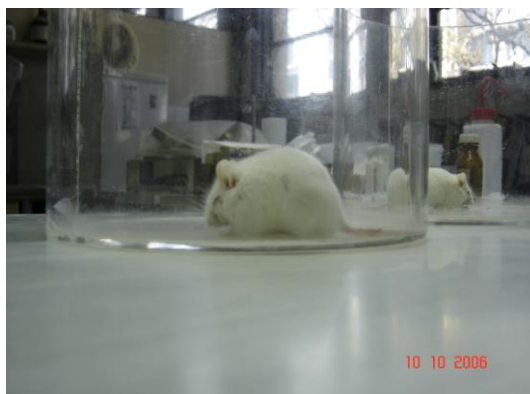
Evaluar la actividad antinociceptiva de dexibuprofeno y de paracetamol en el ensayo experimental de dolor agudo tónico visceral denominado test de las contorsiones abdominales y el efecto del antagonismo de receptores opioides o de los agentes comprometidos en la vía nitridérgica

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la antinocicepción inducida por la administración intraperitoneal de dexibuprofeno y de paracetamol en el ensayo de las contorsiones abdominales inducidas por la administración intraperitoneal de ácido acético al 0.6% en ratones.
- Caracterizar la potencia analgésica de dexibuprofeno y de paracetamol en el mismo ensayo.
- Evaluar la naturaleza de la interacción antinociceptiva de la combinación dexibuprofeno con paracetamol.
- Estudiar el efecto del pretratamiento con naltrexona en la naturaleza de la combinación ya citada.
- Estudiar el efecto del pretratamiento con L-NAME en la naturaleza de la asociación dexibuprofeno con paracetamol

MATERIAL Y MÉTODO

Se utilizaron ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*) tanto machos como hembras, de 25 a 30 gramos de peso. La experimentación se realizó de acuerdo a un protocolo (Nº 131) aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile (cada animal recibirá solamente una dosis de las drogas, las observaciones serán efectuadas en forma randomizada, ciega y autocontroladas, ya que cada animal, es su propio control). Los animales fueron sacrificados inmediatamente después del experimento mediante dislocación cervical.



Fotografía 1.- ratón de la cepa CF/1 *Mus musculus*

Los fármacos, dexibuprofeno (1-30 mg/kg) y paracetamol (1-100 mg/kg) se administraron via intraperitoneal (ip) en un volumen de 10 ml/kg y el ensayo algesiométrico se realizará cuando se produzca el efecto máximo de cada droga (30 minutos post-inyección). Los animales controles fueron tratados con solución salina al 0.9% por vía ip.



Fotografía 2.- Administración de los fármacos.

La evaluación de la actividad antinociceptiva se efectuó usando el método algesiométrico writhing test o test de las contorsiones, en el cual el estímulo nociceptivo, químico irritativo, corresponde a la inyección i.p. de 10 ml/kg de solución de ácido acético al 0.6%, que produce un dolor de tipo visceral. El cual, se midió, contando el número de contorsiones que presentó

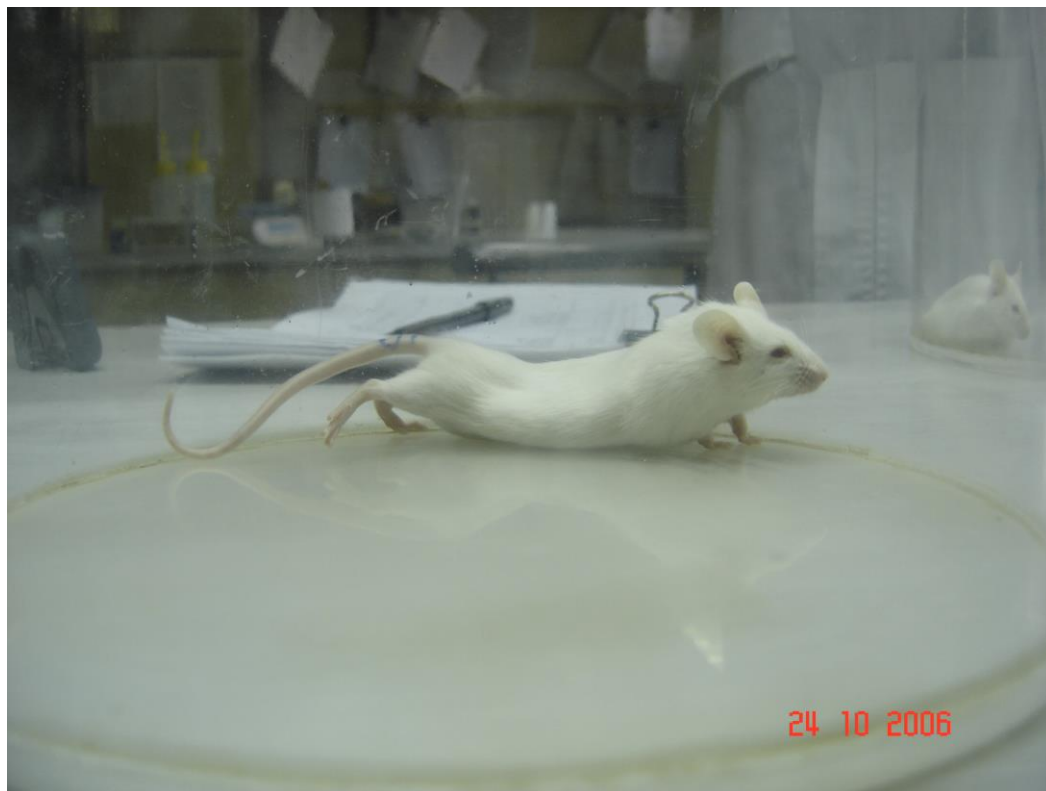
cada animal durante un período de 5 minutos, considerados a partir de los 5 minutos post inyección del ácido acético. Se entiende por contorsión a la contracción de la musculatura abdominal, junto con la elongación de las extremidades posteriores. Los resultados fueron expresados como porcentaje de antinocicepción (% AN) de acuerdo con la siguiente expresión:

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

Donde;

WE, es el número de contorsiones de los animales inyectados con droga, y

WC, es el número de contorsiones en los animales inyectados con salino (controles).



Fotografía 3.- Contracción abdominal

Para la evaluación de la modulación opioide o nitridérgica, se construyeron curvas dosis respuestas de los fármacos administrados por vía ip con un mínimo de 6 animales por cada una de al menos 4 dosis. La dosis que produce un 50% del efecto máximo (DE50), se calculó mediante análisis de regresión lineal por cuadrados mínimos. La administración de los fármacos analgésicos se efectuará en animales antes y después del pretratamiento de ellos con 1.0

mg/kg de naltrexona, para evaluar la participación del sistema opioide o con 1mg/kg de L-NAME, para así evaluar la participación del sistema nitridérgico

Para la evaluación de las interacciones, se usó el método isoblográfico de Tallarida y Murray, modificado por el Laboratorio (3,29). Para ello, se construyeron curvas dosis-respuesta de los fármacos administrados por vía i.p., con un mínimo de seis animales por cada una de al menos 4 dosis. De la cual, se obtuvo, en forma computarizada, la DE_{50} , Estas DE_{50} se usaron para el estudio de las interacciones, la que se evaluó mediante la coadministración i.p. de 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 de las DE_{50} de dexibuprofeno y paracetamol. Para cada mezcla de drogas se determinó la dosis que produce un 50% del efecto máximo (DE_{50}), usando análisis de regresión lineal, de las curvas log dosis-respuesta. Esta dosis se comparó estadísticamente con la dosis que representa teóricamente la simple adición de efectos, que se obtiene según la siguiente fórmula:

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

Donde R, es la relación de potencia entre las drogas paracetamol y dexibuprofeno administradas por si solas; P1, es la proporción paracetamol en la mezcla; y P2, es la proporción de dexibuprofeno en la mezcla.

De la curva dosis-respuesta de la combinación, se obtiene la DE_{50} experimental, que se ubica sobre un sistema de coordenadas cartesianas que contienen la línea que conecta la DE_{50} de paracetamol en la abscisa, con la DE_{50} de dexibuprofeno en la ordenada (línea de aditividad simple). La región del gráfico donde se ubica el valor experimental, en relación, al valor teórico determina el tipo de interacción. Si el valor se ubica bajo la línea de aditividad y es estadísticamente diferente del valor teórico, la interacción es de tipo sinérgica (efecto mayor que la suma de los efectos individuales de las drogas); si se ubica próximo a la línea de aditividad y no estadísticamente diferente del valor teórico, la interacción es de simple aditividad (efecto igual a la suma de cada una de las drogas). Por último, si el valor experimental se ubica sobre la línea de aditividad y es estadísticamente diferente del teórico, la interacción es de naturaleza subaditiva o antagónica.

Al mismo tiempo, el programa, calcula el índice de interacción (I.I.) entre drogas, que se obtiene de la siguiente fórmula:

$$I.I. = DE_{50} \text{ experimental} / DE_{50} \text{ teórica}$$

Cuando este índice es menor que 1, corresponde a una interacción sinérgica; al resultar igual a 1, la interacción es aditiva; y al ser mayor que 1, es antagónica (28).

El análisis estadístico de los datos obtenidos y de los parámetros estadísticos relativos a los isobogramas se calcularán con un programa del Laboratorio y la significación estadística será determinada por análisis de varianza y pruebas de t de Student. La significación será considerada a un nivel de 5%.

RESULTADOS

1) Grupo control writhing test:

La administración de 10 ml/kg de solución fisiológica vía i.p., 30 minutos antes del estímulo nociceptivo, solución de ácido acético al 0.6 %, produjo 18.50 ± 1.36 contorsiones, (n =20).

2) Grupo tratado con AINEs:

Paracetamol: la administración i.p. de paracetamol, en el ensayo algiesiométrico de las contorsiones abdominales, produjo una actividad antinoceptiva dosis-dependiente, cuya curva se muestra en el gráfico 1. Al deducir, a partir de esta curva dosis-respuesta, la DE_{50} del paracetamol resultó ser de 49.4 mg/kg.

Dexibuprofeno: al administrar dexibuprofeno por vía i.p., induce una respuesta antinoceptiva de naturaleza dosis-dependiente, en el mismo test, como se observa en el gráfico 1. Al deducir la DE_{50} de este AINE resultó ser de 3.9 mg/kg.

3) Paralelismo de las curvas dosis-respuesta de los AINEs

Al analizar las curvas dosis-respuesta de la actividad antinociceptiva, de dexibuprofeno y de paracetamol, se encontró que sus pendientes eran: 56.6 para dexibuprofeno y 58.1 para paracetamol, lo que significa que las curvas dosis-respuestas obtenida para cada AINEs, eran estadísticamente paralelas, como se observa en el gráfico 1.

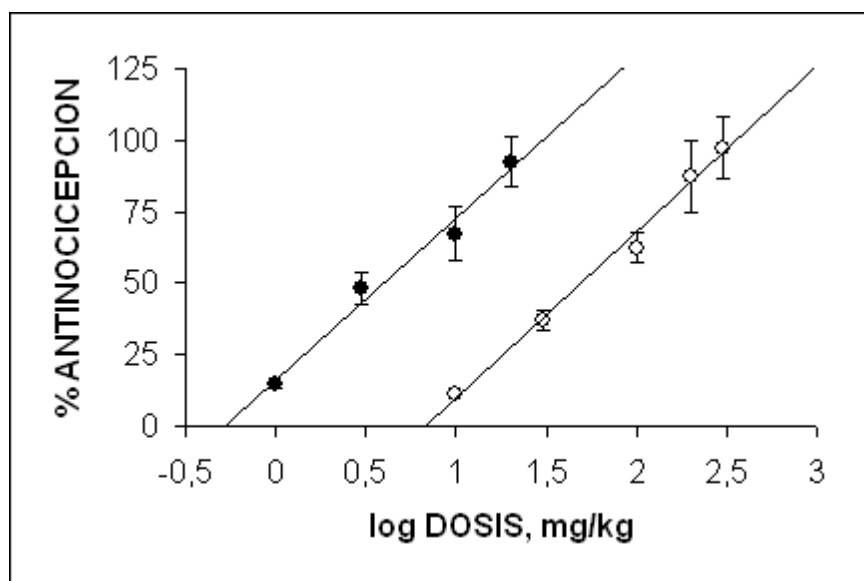


Gráfico 1.- Paralelismo de las curvas dosis respuesta de dexibuprofeno (●) y paracetamol (○) en el ensayo writhing test.

4) Efecto de L-NAME y de naltrexona en la actividad antinociceptiva de dexibuprofeno y de paracetamol

El pretratamiento con 1 mg/kg de L-NAME y de 1 mg/kg de naltrexona, ambas por vía i.p., no modificó la actividad antinociceptiva de la ED50 de cada uno de los AINEs, como se puede observar en los gráficos 2 y 3.

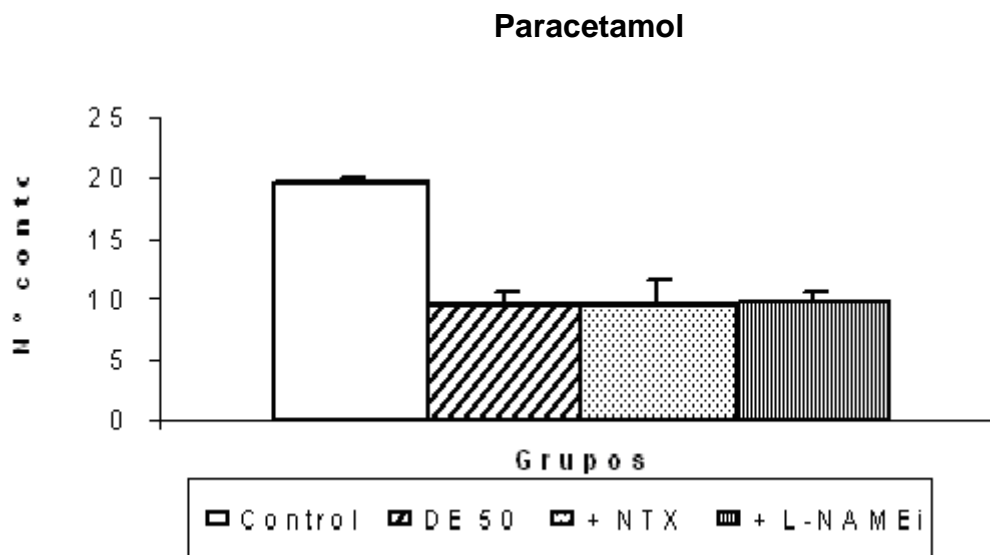


Gráfico 2.- Histograma de la interacción naltrexona y L-NAME en la analgesia inducida por la DE50 de paracetamol en el ensayo de las contorsiones abdominales.

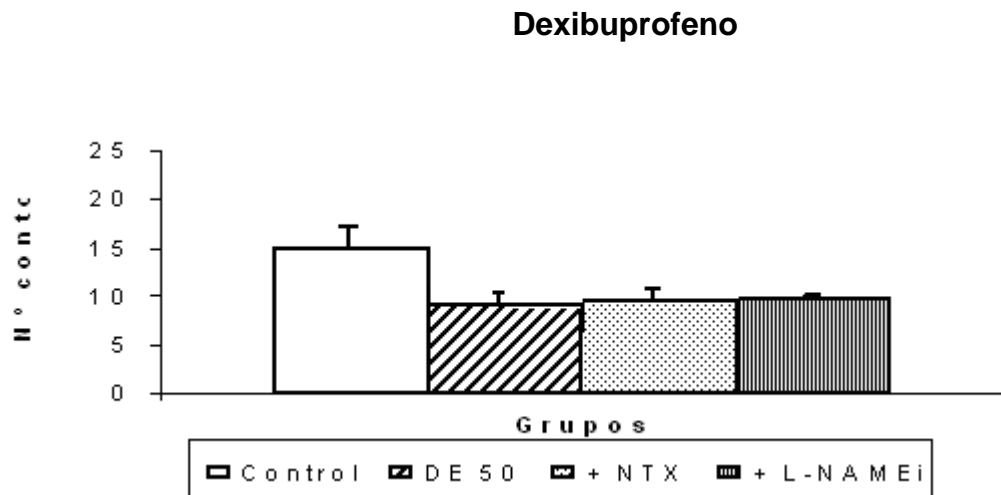


Gráfico 3.- Histograma de la interacción naltrexona y L-NAME en la analgesia inducida por la DE50 de dexibuprofeno en el ensayo de las contorsiones abdominales.

4.- Análisis isoblográfico

El estudio de la interacción analgésica entre paracetamol y dexibuprofeno, administrados por vía i.p. y en proporciones 1:1 de sus DE_{50} 's, fue realizado por el análisis isoblográfico. Los resultados demostraron que dicha interacción antinociceptiva es de naturaleza sinérgica o supraaditiva. Por otra parte, el índice de interacción entre paracetamol y dexibuprofeno resultó ser de 0.49, que corresponde a un índice de interacción sinérgica (índice < que 1).

El pretratamiento de los animales con naltrexona (1 mg/kg i.p.) no modificó la naturaleza de dicha interacción, ya que la DE_{50} de la mezcla paracetamol / dexibuprofeno no es significativamente diferente de la que se obtiene sin la previa administración del antagonista opioide y su ubicación es siempre bajo la línea de aditividad. Estos resultados se observan en el gráfico 4. Además, el índice de interacción de la combinación en presencia de naltrexona fue de 0.62 valor que no es significativamente diferente al obtenido sin el antagonista opioide ($p < 0.05$)

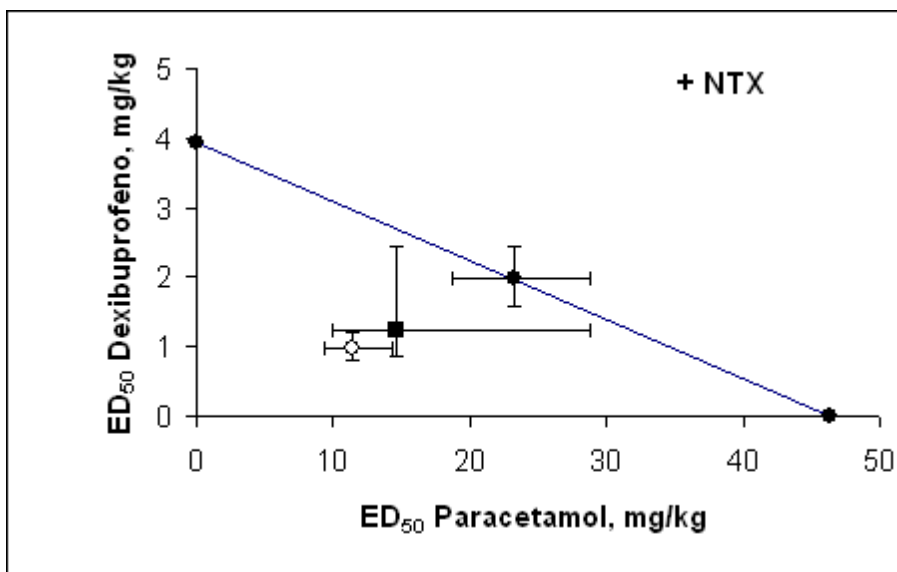


Gráfico 4.- Isoblograma de la interacción analgésica entre dexibuprofeno y paracetamol, administrados por vía intraperitoneal, en el modelo del writing test. El (●) representa el punto de aditividad teórica de la mezcla, el (○) corresponde al punto experimental y el (■) al punto experimental obtenido después del pretratamiento con 1 mg/kg de naltrexona.

Por otro lado, el pretratamiento de los animales con L-NAME (1mg/kg, i.p.) tampoco modifica la interacción entre paracetamol y dexibuprofeno, ya que la DE₅₀ de la mezcla paracetamol / dexibuprofeno no es significativamente diferente de la que se obtiene sin la previa administración de este inhibidor de

NOS, tal como se aprecia en el gráfico 5. Además el pretratamiento con L-NAME no modificó significativamente el índice de interacción de la mezcla, que resultó ser 0.698 ($p < 0.05$)

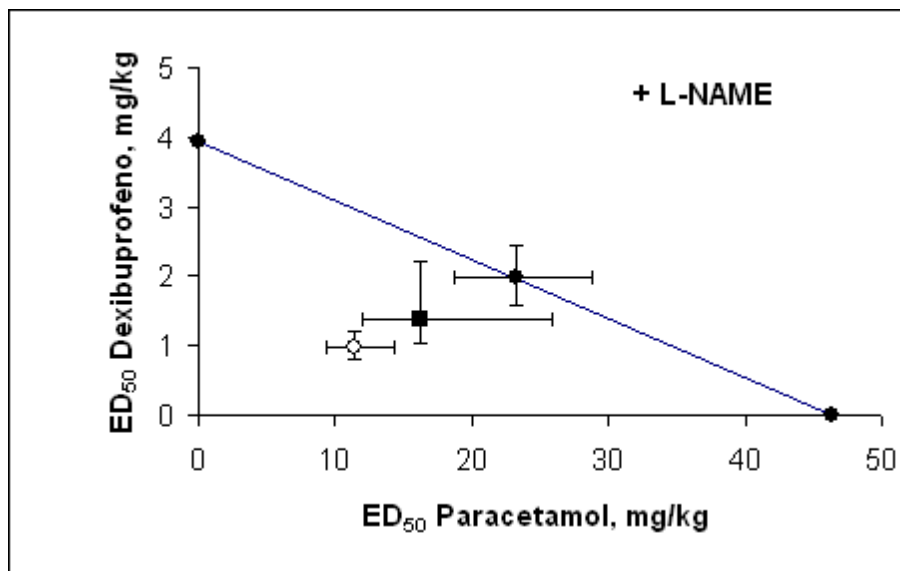


Gráfico 5.-. Isobolograma de la interacción analgésica entre dexibuprofeno y paracetamol, administrados por vía intraperitoneal, en el modelo del writing test. El (●) representa el punto de aditividad teórica de la mezcla, el (O) corresponde al punto experimental y el (■) al punto experimental obtenido después del pretratamiento con 1 mg/kg de L-NAME

DISCUSIÓN

Este trabajo de investigación demuestra que la administración de paracetamol o de dexibuprofeno por vía i.p. produce una actividad antinociceptiva del tipo dosis-dependiente en el test de las contorsiones, resultados que concuerdan con hallazgos previos (3). La potencia relativa del dexibuprofeno resultó ser 11.8 veces mayor que la del paracetamol, esto se podría explicar porque el dexibuprofeno inhibe la actividad tanto de la COX-1 como de la COX-2, bloqueando así la producción de prostaglandinas y de tromboxanos en cambio para el paracetamol, se ha postulado que su actividad analgésica está relacionada con la inhibición preferencial de la COX-3, especialmente en el sistema nervioso central (11, 18). Además el paralelismo de las curvas dosis-respuesta, demuestra un mecanismo de acción común: inhibición de COXs, sin embargo, dada la mayor potencia del isómero S-ibuprofeno, deben concurrir otros mecanismos para explicar la actividad antinociceptiva del dexibuprofeno, entre los cuales se podrían incluir la mayor proporción del isómero activo, en comparación con el racemato y diferentes formas de regulación nerviosa para su acción antinociceptiva, que parecen estar relacionada con la activación de otros sistemas analgésicos (4,19).

La administración de la mezcla de paracetamol y dexibuprofeno por vía i.p., produce una actividad antinociceptiva dosis dependiente de tipo sinérgico o supra aditiva, es decir, el efecto analgésico producido por la mezcla de estos dos fármacos es significativamente mayor que la suma de los efectos por separado de cada uno. La explicación a este fenómeno se puede deber a la posible existencia de mecanismos cooperativos complementarios, donde se suman la inhibición de COX-2 como de COX-3, aumentando así el efecto final.

La administración de un antagonista opioide no selectivo como la naltrexona, en dosis habituales para ensayos algesiométricos (1mg/kg) que usualmente antagonizan los efectos de activación de receptores opioides (11, 22, 23), no alteró significativamente el efecto antinociceptivo de la mezcla de ambos fármacos, lo que nos demuestra la escasa participación del sistema opioide en la sinergia producida por la combinación de las dos drogas.

Por otra parte, la administración i.p., de L-NAME, en la dosis habitual para este tipo de estudios (1mg/Kg.), un fármaco inhibidor no selectivo de NOS (14, 15,) no modificó la sinergia de la combinación de paracetamol con dexibuprofeno en forma significativa, lo que sugiere que la participación del

sistema NO-GMPc en la sinergia de la combinación antes citada tiene escasa relevancia.

Por último, independientemente del mecanismo de acción intrínseco de la sinergia de dexibuprofeno y paracetamol, podemos sugerir de los resultados de este estudio, que la administración de al menos dos fármacos analgésicos es una alternativa viable para el tratamiento farmacológico del dolor. Además la búsqueda de combinaciones analgésicas, con efectos terapéuticos, que sean capaces de reducir la dosis de cada fármaco en particular, para disminuir la posibilidad de reacciones adversas, es una nueva vía terapéutica para el manejo de cuadros dolorosos.

CONCLUSIONES

- El dexibuprofeno induce un efecto analgésico del tipo dosis-dependiente al ser administrado vía i.p. en el test de las contorsiones abdominales.
- El paracetamol produce un efecto antinociceptivo dosis-dependiente al ser administrado vía i.p, en el test.
- La administración i.p. de la combinación de dexibuprofeno y paracetamol produce una interacción sinérgica o supraaditiva.
- El pretratamiento de los animales con naltrexona no altera la interacción sinérgica por lo que se puede suponer una escasa modulación del sistema opioide.
- El pretratamiento con L-NAME no altera la naturaleza de la interacción supraaditiva, lo que permite suponer una escasa modulación del sistema nitridérgico en la interacción.

RESUMEN

Entre los fármacos que inhiben el dolor o la transmisión de él, destacan los analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), los cuales son ampliamente usados, tanto en cuadros agudos como crónicos. La investigación sistemática de la acción combinada de ellos no ha sido completamente estudiada. Con el fin de aportar en esta dirección, se estudió la interacción de dexibuprofeno y paracetamol en un ensayo de dolor agudo llamado test de las contorsiones abdominales. Se usaron ratones a los que se les administró vía i.p. proporciones fijas 1:1 de la DE50 de dexibuprofeno y paracetamol, al tiempo de su máximo efecto y se determinó la naturaleza de la interacción entre ellos, a través del análisis isoblográfico, la cual resultó ser del tipo sinérgica.

La modulación por parte del sistema opioide o del sistema nitridérgico se evaluó con animales pretratados con naltrexona de L-NAME, comprobándose que existe una escasa participación tanto del sistema opioide como de la vía NO-GMPc, en la modulación de la sinergia entre dexibuprofeno y paracetamol.

Se concluye que la administración de al menos dos fármacos analgésicos es una alternativa viable para el tratamiento farmacológico del dolor.

SUGERENCIAS

De los resultados del presente estudio se sugiere:

- 1.- Evaluar la interacción de dexibuprofeno con otros AINEs, usando diferentes modelos algesiométricos, por ejemplo: ensayo del tail-flick, de la formalina, dolor neuropático. etc.
- 2.- Estudiar la naturaleza de su interacción y la modificación por diferentes antagonistas de sistemas opioides, nitridérgicos, colinérgicos, serotoninérgicos.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Pinardi, G. y Miranda, H.F., Estudio isobolográfico del perfil farmacológico del tramadol , *El Dolor*, 23:5-9. 1997.
- (2) Pinardi, G., Neuromodulación de la nocicepción, *Rev. El Dolor Chile*, 8:1-6,1993.
- (3) Miranda H.F.et al, Synergism between paracetamol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental acute pain, *Pain* 121. 22-28. 2006.
- (4) Hao H., Wang G., Sun J. Enantioselective pharmacokinetics of ibuprofen and involved mechanisms", *Drugs Metabolism Reviews*, 1:215-234, 2005.
- (5) Besson M.J. Update on ibuprofen: review article. *Int Med Res*. 14:2 53-62 1986.
- (6) Warner TD, Mitchell JA.Ciclooxigenases;new forms,new inhibitors and lessons from the clinic.*Faseb J.*; 18:790-804. 2004.
- (7) Bonica J.J. The managment of pain. Editorial Lea & Febiger. Philadelphia. p.p. 18-27, 1990.
- (8) Fürst S. Transmitters involved in antinocicepcion in the spinal cord. *Brain Res Bull* , 48: 129-141. 1999.
- (9) Bonica J.J. Neurophysiologic and pathologic aspects of acute and chronic pain. *Arch. Surg*. 112:750-61, 1977.

- (10) Julius D., Basbaum A., Molecular Mechanisms of Nociception . Nature. 413,13 September 2001.
- (11) Waldhoer M. , Bartlett S., Whistler J., “ Opiod Receptors”. Annu. Rev. Biochem. 73:953-90. 2004.
- (12) Joyce A. DeLeo, Basic Science of Pain J. Bone Joint Surg. Am88:58-62, 2006.
- (13) Martin T., Eisenach J., C. Pharmacology of opioid and nonopioid analgesics in chronic pain states. J Pharmacol Exp Ther. 299 :811-7. 2001.
- (14) Esplugues JV. “NO as a signalling molecule in the nervous system”. British J Pharmacol. 135: 1079-1095, 2002.
- (15) Vincenzo Mollace, “Modulation of Prostaglandin Biosynthesis by Nitric Oxide and Nitric Oxide Donors”, Pharmacol. Rev, 57:217-252,2005.
- (16) Vane J.. Aspirin and other anti-inflammatory drugs.J. thorax.;53:3-9. 2000
- (17) Smith W., DeWitt D., Garavito RM. Cyclooxygenase : structural, cellular and molecular biology. Ann. Biochem.;69:154-182.2000.
- (18) Chandrasekharan, N.V., Hu Dai, K. Lamar Turepu Roos. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression. Proc Natl Acad Sci U. S. A. October 15; 99(21): 13926–13931.2002.

- (19) Evans, A.M., Pharmacodynamics and pharmacokinetics of the profens: enantioselectivity, clinical implications, and special reference to S (+)-ibuprofen. *J. Clin. Pharmacol. Dec.* 36:12 Suppl 7S-15S.1996.
- (20) Alpern, 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.
- (21) Ward, J.R., Update on ibuprofen for rheumatoid arthritis. *Am. J. Med.* Jul 13 77:1A 3-9. 1984.
- (22) Geoffrey K. Gourlay, *Advances in Opioid Pharmacology, Support Care Cancer* 13:153-159.2005.
- (23) Bodnar RJ, Klein G. E. "Endogenous opiate and behavior":, 26: 2629-2711. 2005.
- (24). Miranda; H.; Sierralta, F., Pinardi, G., "Neostigmine interactions with non steroidal anti-inflammatory drugs". *Br. J. Pharmacol.*, 135(7): 1591-1597. 2002.
- (25). Poveda R, et al. Interaction between metamizol and tramadol in a model of acute visceral pain in rats. *Eur J. Pain.*; 7(5):439-48. 2003.
- (26). Breivik EK, Barkvoll P, Skovlund E. Combining diclofenac with acetaminophen or acetaminophen-codeine after oral surgery: A randomized, double-blind single-dose study. *Clin Pharmacol Ther*; 66: 625-35. 1999.

- (27) Tallarida R J., Murray R.B., Manual of pharmacologic calculation with Computers Programs Sringer-Verlag, New York, 1997.
- (28) Tallarida R. J., Porreca F., Cowan, A. A statistical análisis of drug-drug and site-site interactions with isobolograms. Life Sci., 45:947-961. 1989.
- (29). Tallarida RJ, Murray RB. Manual of Pharmacologic Calculations with Computer Programs 2nd ed. Springer-Verlag, New York 1986.

