

M
R 489 m
2006
4-2

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE NEUROFARMACOLOGÍA

“MODULACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA DE
PARACETAMOL Y PIROXICAM EN EL DOLOR AGUDO VISCERAL
EXPERIMENTAL”

Carlos Alberto Rosas Perea

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

7758



TUTOR PRINCIPAL
Prof. Dr. Hugo Miranda.
TUTOR ASOCIADO
Prof. Dr. Gianni Pinardi.

Santiago – Chile

2006

7758

INTRODUCCIÓN ÍNDICE

	Páginas
Introducción	3
Marco Teórico	5
Hipótesis y Objetivos	19
Material y Métodos	21
Resultados	23
Discusión	29
Conclusiones	32
Resumen	33
Sugerencias	34
Referencias	35

INTRODUCCIÓN

El dolor es el motivo más frecuente de consulta para acudir a un servicio médico y si este dolor no es diagnosticado y manejado en forma apropiada, puede generar insatisfacción del paciente con el sistema de salud y personal de salud, provocar reingresos, y, alterar la calidad de vida familiar y personal del paciente. El mal manejo inicial del dolor agudo complica su pronóstico y tratamiento en el corto plazo, aumenta la cantidad de fármacos y/o técnicas usadas para valorarlo, aumenta los costos y favorece la cronicidad del dolor. La gran mayoría de los pacientes odontológicos, consultan, cuando el síntoma dolor altera su rutina diaria. En la actualidad podemos definir el dolor como: "una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular existente o potencial, descrita en términos de ese daño". Los biólogos reconocen que aquellos estímulos que causan dolor están relacionados a daño tisular. El dolor es siempre subjetivo. Cada individuo aprende el significado de la palabra dolor, a través, de sus experiencias dolorosas que experimenta desde temprana edad. La sensación de dolor es considerada como un mecanismo protector del organismo, que alerta a la persona que lo padece, de que algo "anda mal" y lo incita a iniciar alguna acción destinada a suprimir o disminuir el dolor. Sin embargo cuando se cronifica, pierde el sentido protector y se convierte él mismo en la enfermedad o en elemento fundamental de ella, provocando un estado de sufrimiento. Se ha dicho que el dolor es uno de los "signos más

tempranos de morbilidad en la naturaleza”, y es preeminente entre todas las experiencias sensitivas con las que los seres humanos juzgan la existencia de enfermedad dentro de sí mismos. En realidad el dolor es el síntoma más frecuente de enfermedad. Son relativamente pocas las enfermedades que no tienen una etapa dolorosa, y en muchas, el dolor es una característica sin la cual debe quedar en duda el diagnóstico. La naturaleza doble del dolor es la causa de algunas de las dificultades que se tienen para comprenderlo. Un aspecto, más fácil de comprender, es su evocación por estímulos particulares, y la transmisión de impulsos dolorosos a lo largo de ciertas vías. Más difícil de comprender es su calidad como estado mental íntimamente relacionado con las emociones, por ejemplo, la calidad de la angustia o el sufrimiento, “pasión del alma” en palabras de Aristóteles, que desafía la definición y la cuantificación. Muchas personas reportan dolor en ausencia de daño tisular o cualquier causa psicopatológica semejante; usualmente esto ocurre por razones psicológicas.

Clasificación del dolor según su origen anatómico:

- **Nociceptivo somático:** Si aparece luego de la estimulación nociceptiva de piel, dolor superficial o bien si es después de la estimulación de tejido conectivo, músculo, huesos y membranas sinoviales: dolor profundo. Este tipo de dolor es percibido como una sensación desagradable, intensa y bien localizada (1)

- **Nociceptivo visceral:** Se origina en una estimulación nociceptiva de vísceras siendo usualmente poco localizado y acompañado de reflejos

MARCO TEÓRICO

Se refiere a la relación con el dolor originado en el Sistema Nervioso Periférico (SNP) ya sea por injuria o irritación de una rama nerviosa. Se distinguen tres dimensiones en la experiencia dolorosa: el Sistema Nervioso Central y que es útil para el resguardo de la información.

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

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

3. **Dimensión Cognitivo-evaluativo:** Da significado al dolor en función de la experiencia anterior del sujeto, contexto socio ambiental, valores, etc.

El dolor crónico es de tipo neuropático ya que se origina en la lesión de estructuras nerviosas centrales y/o periféricas del sistema nervioso.

habitualmente podría definir un dolor agudo semejante. El dolor crónico es de tipo neuropático ya que se origina en la lesión de estructuras nerviosas centrales y/o periféricas del sistema nervioso.

TIPOS DE DOLOR

Clasificación del dolor según su origen anatómico:

- **Nociceptivo somático:** Si aparece luego de la estimulación nociceptiva de piel: dolor superficial o bien si es después de la estimulación de tejido conectivo, músculo, huesos y membranas sinoviales: dolor profundo. Este tipo de dolor es percibido como una sensación desagradable, intensa y bien localizada (1).

- **Nociceptivo visceral:** Se origina en una estimulación nociceptiva de vísceras, siendo usualmente poco localizado y acompañado de reflejos autónomos y somáticos (1).

- **Neurogénico:** Dice relación con el dolor originado en el Sistema Nervioso Periférico (SNP) ya sea por injuria o irritación de una rama nerviosa, o con el dolor derivado del daño o enfermedad en el Sistema Nervioso Central (SNC) (1).

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

crónico:

- **Dolor agudo:** Es aquel que comprende el lapso estimado como necesario para que los tejidos sanen. Es un fenómeno de carácter transitorio asociado con daño tisular real o potencial y que es útil para el resguardo de la integridad del organismo. (1)

- **Dolor crónico:** En contraposición al dolor agudo, es aquel que tiene una duración mayor que el agudo, o que por las características de su origen sobrepasa el tiempo que habitualmente podría definir un dolor agudo semejante. El dolor crónico es de tipo neuropático, ya que se origina en la lesión de estructuras nerviosas centrales y/o periféricas del sistema nociceptivo; no tiene valor adaptativo, ya que no es capaz de evocar respuestas reflejas ni conductuales protectoras, por el contrario, su percepción determina cambios psicológicos y cognitivos que influyen negativamente en la sobrevida del afectado (2).

CONCEPTOS RELACIONADOS CON DOLOR

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

Estímulo Nocivo: Un estímulo nocivo es el que daña los tejidos normales.

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

VÍAS DEL DOLOR

La mayoría del comienzo de la información dolorosa es simple, los terminales nerviosos llamados nociceptores que forman una unidad funcional del dolor con tejidos y capilares cercanos. La injuria tisular causa

que los terminales nerviosos se despolaricen, un evento que finaliza en impulsos sensoriales en la espina dorsal que provienen desde la periferia previa sinapsis en una neurona secundaria e interneuronas. En el asta posterior de la médula espinal es donde se procesan e integran por primera vez los estímulos que ingresan. Se produce aquí la transmisión sináptica,

desde la primera a la segunda neurona, mediada por la sustancia P, y aminoácidos, como el ácido glutámico, entre otros. Es importante destacar que las segundas neuronas reciben la información nociceptiva y la someten a transformaciones, mediante las cuales ésta va a ser filtrada y discriminada. Además pueden formar sinapsis con más de una primera neurona, proveniente de la piel o de una víscera, que ocurre en la sustancia gelatinosa de Rolando, cualquiera sea la distribución del soma en el asta posterior. Las segundas neuronas dan origen a tres haces ascendentes contralaterales: el neoespinotalámico, el paleoespinotalámico, que conforman la vía espinotalámica y el espinoreticulotalámico (1,2).

FÁRMACOS ANALGÉSICOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES

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

Los AINEs, corresponden a un grupo muy diverso de sustancias que poseen estructuras químicas diferentes, pero que tienen la particularidad de poseer diversas acciones, como son: analgésicas, antiinflamatorias, antipiréticas, antiagregantes plaquetario, actividad anticancerígena, disminuyen riesgo en enfermedad de Alzheimer, etc (4). Sin embargo,

poseen un mecanismo de acción común con ciertas características terapéuticas y efectos adversos que les son similares.

MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS AINES

AINEs Los AINEs son uno de los agentes más ampliamente usados para reducir la producción de prostaglandinas que sensibilizan terminaciones nerviosas en el sitio de la injuria. Efecto debido a la inhibición de las enzimas ciclooxigenasa (COXs) que convierte el ácido araquidónico liberado desde la membrana fosfolipídica por fosfolipasas, a prostanoides como las prostaglandinas. (3,4). Tres isoformas de COXs han sido caracterizadas, una forma constitutiva (COX-1), una forma que es inducida por mediadores inflamatorios (COX-2) y una tercera que es similar a la COX-1, pero difiere en un intrón, denominada COX-3 (3-6). Las isoformas poseen estructuras casi idénticas, pero tienen importantes diferencias en cuanto a sus sustratos, selectividad de sus inhibidores y ubicación intracelular. COX-1 se encuentra presente en casi todos los tipos celulares cumpliendo tareas fisiológicas tan importantes como sintetizar las PGs citoprotectoras de la mucosa gástrica y mantener una función renal normal en riñones comprometidos, entre otras. COX-2 o *inducida*, está ausente en la mayoría de los tejidos, excepto en el cerebro, médula espinal, próstata, riñones y células neoplásicas del colon. Sin embargo, ella es inducida en la mayoría de los tejidos estimulados con sustancias propias de una reacción inflamatoria. La COX-3 ha sido descrita

selectivamente inhibida por paracetamol.

en diferentes tejidos, especialmente a nivel del SNC como en sustratos periféricos, tanto en diversos animales como en el hombre.

Junto con lo anterior un gran número de ensayos sugieren que los AINEs ejercen antinocicepción al interactuar con neuronas periféricas o centrales involucradas en la transmisión de señales nociceptivas. Es así como existen trabajos que relacionan al sistema colinérgico, mediante el uso de agonistas y antagonistas, con la actividad antinociceptiva de AINEs. Los resultados de dichos estudios proponen que los AINEs aumentarían las concentraciones de acetilcolina tanto a nivel espinal como supraespinal, lo cual sería en parte responsable de su efecto antinociceptivo. Existen evidencias que relaciona el efecto antinociceptivo de los AINEs como ketoprofeno, diclofenaco y piroxicam con la activación de receptores alfa-2-adrenérgicos a nivel espinal y supraespinal (7-9), mientras que paracetamol podría ejercer antinocicepción principalmente por la activación del sistema descendente inhibitorio noradrenérgico vía receptores alfa-1-adrenérgicos (7-9). Otro sistema involucrado en la antinocicepción generada por AINEs es el de los opiodes endógenos, lo cual es particularmente cierto para el caso del diclofenaco pues su analgesia ha sido revertida mediante naloxona, antagonista opioide. Otros estudios sugieren la participación del sistema serotoninérgico en la actividad antinociceptiva de AINEs (8,9). Por otra parte, COX-3, que tiene una distribución predominantemente central, es selectivamente inhibida por paracetamol y dipirona. Esta identificación tiene

el potencial para explicar unos diversos aspectos de la farmacología de AINEs como analgésicos (5,6).

FUNCIONES DE LOS AINEs

Antipirético: La fiebre puede ser el resultado de un estado infeccioso o la secuela de un daño tisular, en ambos casos aumenta la formación de citoquinas tales como IL-1 β , IL-6, TNF α , interferones alfa y beta, estimulando la síntesis de PGE₂. Los AINEs suprimen esta respuesta al inhibir la síntesis de PGE₂.(4)

Anti-inflamatorio: La gran mayoría de los AINEs tienen propiedades anti-inflamatorias, antipiréticas y analgésicas mediadas por la inhibición de distintos pasos en la cascada del ácido araquidónico, particularmente en la vía de las ciclooxigenasas, exceptuando paracetamol y dipirona (4).

Analgésico: Los AINEs son analgésicos de uso importante considerando el tipo de dolor como su intensidad, de dolor leve a moderado. Así, en algunos casos de dolor post operatorio donde los AINEs pueden ser mas eficaces que los analgésicos opioides (4).

Antiagregante plaquetario: En primer lugar se encuentra la aspirina y otros AINEs como la indometacina, sulfinpirazona e ibuprofeno, inhiben la COX plaquetaria; siendo aspirina la única capaz de realizar esta función de manera irreversible. Conocido es el uso de dosis bajas de aspirina para la profilaxis de fenómenos tromboembólicos coronarios y

cerebrovasculares. Estos beneficios se obtienen al favorecer el balance hacia la formación de prostaciclina en lugar de tromboxano, pues la formación de este último se ve disminuida mediante el bloqueo irreversible de la ciclooxigenasa plaquetaria (4).

EFFECTOS ADVERSOS DE LOS AINES

Además de compartir muchas actividades terapéuticas, los AINEs comparten también varios efectos colaterales. La tendencia a producir manifestaciones adversas puede diferir en gran medida entre los distintos AINEs y varias especies. Entre las reacciones adversas de los AINEs se mencionan: ulceración gastro-intestinal; bloqueo de la agregación plaquetaria; nefropatía; reacciones de hipersensibilidad; discrasias sanguíneas (4).

ÓXIDO NÍTRICO

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. El papel esencial del NO en la regulación de diversas funciones incluye: participación en el sistema cardiovascular, nervioso,

muscular e inmune. Este hecho ha abierto grandes expectativas para el tratamiento de diversas enfermedades cuya etiología está relacionada con la biodisponibilidad del NO. 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^-). Las enzimas que catalizan la formación de NO a partir de la L-arginina se denominan nitrosintasa (NOS), que existe en 3 isoformas: n-NOS que es la neuronal; i-NOS que es la inducible y e-NOS que es la isoforma endotelial. Ellas pueden ser inhibidas 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. 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 PGE_2 y carragenina, así como las contorciones inducidas en ratones por el ácido acético (11). Además, los donadores exógenos de NO como nitroprusiato sódico, nitroglicerina y SIN-1, antagonizan la hiperalgesia inducida por carragenina o PGE_2 , lo que sugiere que el efecto antinociceptivo del NO es mediado por GMPc (4). Por el contrario, otros estudios sugieren que el NO tiene más bien un rol pronociceptivo en los estados de dolor inducidos por estímulos

como carragenina, capsaisina, glutamato, formalina o estímulos mecánicos ya que las concentraciones de las NO aumentan notablemente en diferentes modelos de dolor animal (12,13). El NO juega un rol en la percepción del dolor en muchos niveles de la vía nociceptiva: periféricamente las neuronas primarias aferentes y los ganglios del asta dorsal y a nivel central, en el cerebro, el tálamo y 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. Estudios farmacológicos sugieren que la sensibilización central es parcialmente mediada por la activación de receptores NMDA que se relaciona con la producción de NO neural, que se produce por la liberación presináptica de glutamato que activa la nNOS. Basándose en estas observaciones se propuso que el NO neural puede modular la hiperexcitabilidad de neuronas dorsales y jugar por lo tanto un papel pronociceptivo en estados de dolor (12). En soporte de esta propuesta, se demostró que el tratamiento intratecal con inhibidores de la NOS, como el L-NAME, en concentraciones que bloquean por completo la producción de NO estimulada por receptores NMDA, antagonizan significativamente el dolor en animales, lo que demuestra que la activación de los receptores espinales de NMDA, está relacionados con la producción y aumento de GMPc, lo que puede inducir la liberación posterior de neurotransmisores excitatorios, resultando en un proceso de retroalimentación positiva que conduce a

hiperexcitabilidad neuronal dorsal. Estos resultados implican que el NO pueda tener un papel mediador de las neuronas excitatorias. La inhibición de las óxido nítrico sintasas (NOS) puede realizarse mediante sustancias análogas a la L-Arginina como son N^G-metil-L-arginina (L-NMMA), N^G-nitro-L-arginina (L-NNA) y N^G-nitro-L-arginina-metilester (L-NAME) que inhiben a las tres isoenzimas con diferente intensidad (13).

UICAPROS

PARACETAMOL

El maca... ..

No se ha n El paracetamol (acetaminofeno), es el metabolito activo de la fenacetina, un analgésico derivado de la anilina. Se clasifica dentro del grupo de los para-aminofenoles. Después de su ingestión, el paracetamol se absorbe en forma rápida y casi completa en el tracto gastrointestinal. Su concentración plasmática alcanza un máximo en 30 a 60 minutos y su vida media es de 2 horas. El paracetamol se distribuye de manera relativamente uniforme en casi todos los líquidos corporales, se une levemente a proteínas plasmáticas, atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica y se metaboliza en el hígado. Es un fármaco eficaz, que puede utilizarse en vez de la aspirina como analgésico y antipirético en una serie de cuadros como son: dolor leve a moderado, dolor postoperatorio, cefaleas, dolor muscular y articular, dolor post-parto y fiebre. Sin embargo, no es un fármaco útil para combatir trastornos inflamatorios. Estudios recientes señalan que paracetamol oral presenta demostrada eficacia en modelos de dolor

postoperatorio luego de cirugía de terceros molares (14). La ingestión de dosis excesivas de paracetamol puede causar necrosis hepática potencialmente mortal, necrosis tubular renal y discrasias sanguíneas. Sin embargo, presenta una serie de ventajas si se compara con otros analgésicos como la aspirina, ya que carece de efectos en la agregación plaquetaria, no causa irritación gastrointestinal, hemorragia ni agrava las úlceras.

El mecanismo de acción exacto del paracetamol es aún desconocido. No se ha explicado de manera satisfactoria la razón por la cual constituye un eficaz agente analgésico y antipirético. Se piensa que los mayores efectos del paracetamol se producirían a nivel central, por ser mal inhibidor de la ciclooxigenasa a nivel periférico, pero es un potente inhibidor de la COX-3 a nivel central. Más aún, al parecer el paracetamol inhibiría esta enzima sólo en un entorno con poco peróxido (como sucede en el hipotálamo), lo cual explicaría en parte su poca actividad antiinflamatoria, dado que en los sitios inflamados casi siempre contienen altas concentraciones de peróxidos generados por leucocitos. Se ha establecido que el paracetamol tiene una acción preferente central, inhibiendo la isoenzima COX-3. Esta isoenzima, se ha descrito en el cerebro y la médula espinal y es distinta de las dos enzimas ya conocidas COX-1 y COX-2 (5,6,15). En recientes estudios, en relación al mecanismo de acción del paracetamol, utilizando el test del movimiento de la cola, en ratas, se ha informado que la analgesia, debida a

una acción central, es paralela con la reducción de la concentración de PGE-2 en el cerebro. Además, el efecto analgésico de paracetamol está relacionado con la activación de vías descendentes serotoninérgicas, pero el sitio primario de acción puede ser por inhibición de la síntesis de prostaglandinas. La acción del paracetamol a nivel molecular no está claramente definida aún, pero podría ser relacionada a la producción de metabolitos reactivos por la función peroxidasa de la COX-2. También se ha propuesto que paracetamol produciría efecto antinociceptivo mediante la activación de receptores opioides y serotoninérgicos centrales (10,17).

PIROXICAM

Este fármaco es uno de los derivados del oxicam, una clase de ácidos enólicos con propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas. La ventaja principal del piroxicam es su vida media larga que permite administrar una sola dosis al día. Es metabolizado por las enzimas citocromos P-450, fundamentalmente por el CYP2C9., lo que determina sus características farmacocinéticas y farmacodinámicas del compuesto. Este es un antiinflamatorio eficaz y su potencia es casi igual a la de la indometacina como inhibidor de la síntesis de prostaglandinas in vitro. Piroxicam es un fármaco usado en investigaciones para enfermedades periodontales (18).

NALTREXONA

Es un antagonista no selectivo de los receptores opioides, MOR(μ), KOR (κ) y DOR (δ), con mayor afinidad por el receptor MOR, de tal modo que revierten todos los efectos producidos por los fármacos opioides (26). Se

utiliza clínicamente en el tratamiento de intoxicación inducida por opiodes y por alcohol. Tiene una mayor eficacia por vía oral que parenteral, alcanza su concentración máxima en el plasma en un plazo de dos horas, con una vida media de catorce horas (17).

TROPISETRON

La serotonina (5-HT) es un neurotransmisor que comprende 14 subtipos de los cuales el 5-HT₃, que es filogenéticamente el más antiguo, se encuentra en las neuronas periféricas y centrales y por tanto ha sido descrito como el de mayor compromiso en los procesos nociceptivos. La activación de los receptores 5-HT₃ modulan varios neurotransmisores y neuropéptidos tales como dopamina, colecistokinina, acetilcolina, GABA, sustancia P. Entre los fármacos antagonistas selectivo de este subtipo de receptor se encuentra el tropisetron, ondansetrón, granisetron, dolasetron etc (19)

RISPERIDONA

Es un antipsicótico de acción prolongada que es un potente antagonista de receptores serotoninérgico del subtipo 5-HT₂. Tiene también afinidad por los receptores dopaminérgicos del subtipo D₂. Carece de afinidad por los receptores colinérgicos, pero se une a los receptores adrenérgicos del subtipo α_1 y tiene una baja afinidad por los receptores histaminérgicos del subtipo H₁ y por los receptores adrenérgicos α_2 , comparada con la que presenta por el subtipo 5-HT₂ (20).

2. HIPÓTESIS

La administración de paracetamol y piroxicam produce antinocicepción, que es modulada por los sistemas opioides, serotoninérgicos y nitridérgicos.

3. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antinociceptiva de paracetamol y de piroxicam en el ensayo experimental de dolor agudo tónico visceral denominado test de las contorsiones abdominales y el efecto de la administración de drogas que interfieren con los sistemas dopaminérgicos, nitridérgicos, opioides y serotoninérgicos.

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

4.1.- Evaluar la antinocicepción inducida por la administración intraperitoneal de paracetamol y piroxicam en el modelo de las contorsiones abdominales inducidas por la administración intraperitoneal de ácido acético al 0.6 % en ratones.

4.2.- Caracterizar la naturaleza de la modulación dopaminérgica en la antinocicepción producida por la administración i.p. de paracetamol y piroxicam usando el mismo método algesiométrico.

4.3.- Determinar el rol de la modulación nitridérgica en la actividad antinociceptiva de paracetamol y piroxicam, usando el mismo método algesiométrico.

4.4.- Evaluar el papel del sistema opioide en la analgesia inducida por paracetamol y piroxicam en el test de las contorsiones abdominales

4.5.- Determinar el rol del sistema serotoninérgico opioide en la analgesia inducida por paracetamol y piroxicam en el test de las contorsiones abdominales

El presente estudio se realizó en el laboratorio de fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, en un espacio físico de 20 m², con una temperatura ambiente de 22 ± 0,5°C y una humedad relativa de 60 ± 5%. El protocolo de trabajo fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. Se utilizaron 12 ratas machos de la cepa Wistar, con un peso corporal de 250 ± 20 g, distribuidos en tres grupos de cuatro animales cada uno. Los animales fueron sometidos a un periodo de adaptación de 7 días en las condiciones de laboratorio. Durante este periodo, se les suministró agua y comida ad libitum. El día anterior al experimento, se les realizó un ayuno de 12 horas. El día del experimento, los animales fueron anestesiados con una mezcla de ketamina (80 mg/kg) y xilocaína (8 mg/kg) por vía intraperitoneal. Una vez anestesiados, se les realizó una intubación endotraqueal con un tubo de goma número 18. Se realizó una laparotomía abdominal para visualizar el intestino delgado y se le colocó un clip a cada grupo para restringir el movimiento abdominal. Después de la cirugía, se les colocó un apósito estéril en la incisión. La recuperación de la anestesia se realizó con oxígeno al 100% por vía nasal. El método de evaluación de la analgesia fue el test de las contorsiones abdominales, el cual se realizó a las 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150, 165, 180, 195, 210, 225, 240, 255, 270, 285, 300, 315, 330, 345, 360, 375, 390, 405, 420, 435, 450, 465, 480, 495, 510, 525, 540, 555, 570, 585, 600, 615, 630, 645, 660, 675, 690, 705, 720, 735, 750, 765, 780, 795, 810, 825, 840, 855, 870, 885, 900, 915, 930, 945, 960, 975, 990, 1005, 1020, 1035, 1050, 1065, 1080, 1095, 1110, 1125, 1140, 1155, 1170, 1185, 1200, 1215, 1230, 1245, 1260, 1275, 1290, 1305, 1320, 1335, 1350, 1365, 1380, 1395, 1410, 1425, 1440, 1455, 1470, 1485, 1500, 1515, 1530, 1545, 1560, 1575, 1590, 1605, 1620, 1635, 1650, 1665, 1680, 1695, 1710, 1725, 1740, 1755, 1770, 1785, 1800, 1815, 1830, 1845, 1860, 1875, 1890, 1905, 1920, 1935, 1950, 1965, 1980, 1995, 2010, 2025, 2040, 2055, 2070, 2085, 2100, 2115, 2130, 2145, 2160, 2175, 2190, 2205, 2220, 2235, 2250, 2265, 2280, 2295, 2310, 2325, 2340, 2355, 2370, 2385, 2400, 2415, 2430, 2445, 2460, 2475, 2490, 2505, 2520, 2535, 2550, 2565, 2580, 2595, 2610, 2625, 2640, 2655, 2670, 2685, 2700, 2715, 2730, 2745, 2760, 2775, 2790, 2805, 2820, 2835, 2850, 2865, 2880, 2895, 2910, 2925, 2940, 2955, 2970, 2985, 3000, 3015, 3030, 3045, 3060, 3075, 3090, 3105, 3120, 3135, 3150, 3165, 3180, 3195, 3210, 3225, 3240, 3255, 3270, 3285, 3300, 3315, 3330, 3345, 3360, 3375, 3390, 3405, 3420, 3435, 3450, 3465, 3480, 3495, 3510, 3525, 3540, 3555, 3570, 3585, 3600, 3615, 3630, 3645, 3660, 3675, 3690, 3705, 3720, 3735, 3750, 3765, 3780, 3795, 3810, 3825, 3840, 3855, 3870, 3885, 3900, 3915, 3930, 3945, 3960, 3975, 3990, 4005, 4020, 4035, 4050, 4065, 4080, 4095, 4110, 4125, 4140, 4155, 4170, 4185, 4200, 4215, 4230, 4245, 4260, 4275, 4290, 4305, 4320, 4335, 4350, 4365, 4380, 4395, 4410, 4425, 4440, 4455, 4470, 4485, 4500, 4515, 4530, 4545, 4560, 4575, 4590, 4605, 4620, 4635, 4650, 4665, 4680, 4695, 4710, 4725, 4740, 4755, 4770, 4785, 4800, 4815, 4830, 4845, 4860, 4875, 4890, 4905, 4920, 4935, 4950, 4965, 4980, 4995, 5010, 5025, 5040, 5055, 5070, 5085, 5100, 5115, 5130, 5145, 5160, 5175, 5190, 5205, 5220, 5235, 5250, 5265, 5280, 5295, 5310, 5325, 5340, 5355, 5370, 5385, 5400, 5415, 5430, 5445, 5460, 5475, 5490, 5505, 5520, 5535, 5550, 5565, 5580, 5595, 5610, 5625, 5640, 5655, 5670, 5685, 5700, 5715, 5730, 5745, 5760, 5775, 5790, 5805, 5820, 5835, 5850, 5865, 5880, 5895, 5910, 5925, 5940, 5955, 5970, 5985, 6000, 6015, 6030, 6045, 6060, 6075, 6090, 6105, 6120, 6135, 6150, 6165, 6180, 6195, 6210, 6225, 6240, 6255, 6270, 6285, 6300, 6315, 6330, 6345, 6360, 6375, 6390, 6405, 6420, 6435, 6450, 6465, 6480, 6495, 6510, 6525, 6540, 6555, 6570, 6585, 6600, 6615, 6630, 6645, 6660, 6675, 6690, 6705, 6720, 6735, 6750, 6765, 6780, 6795, 6810, 6825, 6840, 6855, 6870, 6885, 6900, 6915, 6930, 6945, 6960, 6975, 6990, 7005, 7020, 7035, 7050, 7065, 7080, 7095, 7110, 7125, 7140, 7155, 7170, 7185, 7200, 7215, 7230, 7245, 7260, 7275, 7290, 7305, 7320, 7335, 7350, 7365, 7380, 7395, 7410, 7425, 7440, 7455, 7470, 7485, 7500, 7515, 7530, 7545, 7560, 7575, 7590, 7605, 7620, 7635, 7650, 7665, 7680, 7695, 7710, 7725, 7740, 7755, 7770, 7785, 7800, 7815, 7830, 7845, 7860, 7875, 7890, 7905, 7920, 7935, 7950, 7965, 7980, 7995, 8010, 8025, 8040, 8055, 8070, 8085, 8100, 8115, 8130, 8145, 8160, 8175, 8190, 8205, 8220, 8235, 8250, 8265, 8280, 8295, 8310, 8325, 8340, 8355, 8370, 8385, 8400, 8415, 8430, 8445, 8460, 8475, 8490, 8505, 8520, 8535, 8550, 8565, 8580, 8595, 8610, 8625, 8640, 8655, 8670, 8685, 8700, 8715, 8730, 8745, 8760, 8775, 8790, 8805, 8820, 8835, 8850, 8865, 8880, 8895, 8910, 8925, 8940, 8955, 8970, 8985, 9000, 9015, 9030, 9045, 9060, 9075, 9090, 9105, 9120, 9135, 9150, 9165, 9180, 9195, 9210, 9225, 9240, 9255, 9270, 9285, 9300, 9315, 9330, 9345, 9360, 9375, 9390, 9405, 9420, 9435, 9450, 9465, 9480, 9495, 9510, 9525, 9540, 9555, 9570, 9585, 9600, 9615, 9630, 9645, 9660, 9675, 9690, 9705, 9720, 9735, 9750, 9765, 9780, 9795, 9810, 9825, 9840, 9855, 9870, 9885, 9900, 9915, 9930, 9945, 9960, 9975, 9990, 10005, 10020, 10035, 10050, 10065, 10080, 10095, 10110, 10125, 10140, 10155, 10170, 10185, 10200, 10215, 10230, 10245, 10260, 10275, 10290, 10305, 10320, 10335, 10350, 10365, 10380, 10395, 10410, 10425, 10440, 10455, 10470, 10485, 10500, 10515, 10530, 10545, 10560, 10575, 10590, 10605, 10620, 10635, 10650, 10665, 10680, 10695, 10710, 10725, 10740, 10755, 10770, 10785, 10800, 10815, 10830, 10845, 10860, 10875, 10890, 10905, 10920, 10935, 10950, 10965, 10980, 10995, 11010, 11025, 11040, 11055, 11070, 11085, 11100, 11115, 11130, 11145, 11160, 11175, 11190, 11205, 11220, 11235, 11250, 11265, 11280, 11295, 11310, 11325, 11340, 11355, 11370, 11385, 11400, 11415, 11430, 11445, 11460, 11475, 11490, 11505, 11520, 11535, 11550, 11565, 11580, 11595, 11610, 11625, 11640, 11655, 11670, 11685, 11700, 11715, 11730, 11745, 11760, 11775, 11790, 11805, 11820, 11835, 11850, 11865, 11880, 11895, 11910, 11925, 11940, 11955, 11970, 11985, 12000, 12015, 12030, 12045, 12060, 12075, 12090, 12105, 12120, 12135, 12150, 12165, 12180, 12195, 12210, 12225, 12240, 12255, 12270, 12285, 12300, 12315, 12330, 12345, 12360, 12375, 12390, 12405, 12420, 12435, 12450, 12465, 12480, 12495, 12510, 12525, 12540, 12555, 12570, 12585, 12600, 12615, 12630, 12645, 12660, 12675, 12690, 12705, 12720, 12735, 12750, 12765, 12780, 12795, 12810, 12825, 12840, 12855, 12870, 12885, 12900, 12915, 12930, 12945, 12960, 12975, 12990, 13005, 13020, 13035, 13050, 13065, 13080, 13095, 13110, 13125, 13140, 13155, 13170, 13185, 13200, 13215, 13230, 13245, 13260, 13275, 13290, 13305, 13320, 13335, 13350, 13365, 13380, 13395, 13410, 13425, 13440, 13455, 13470, 13485, 13500, 13515, 13530, 13545, 13560, 13575, 13590, 13605, 13620, 13635, 13650, 13665, 13680, 13695, 13710, 13725, 13740, 13755, 13770, 13785, 13800, 13815, 13830, 13845, 13860, 13875, 13890, 13905, 13920, 13935, 13950, 13965, 13980, 13995, 14010, 14025, 14040, 14055, 14070, 14085, 14100, 14115, 14130, 14145, 14160, 14175, 14190, 14205, 14220, 14235, 14250, 14265, 14280, 14295, 14310, 14325, 14340, 14355, 14370, 14385, 14400, 14415, 14430, 14445, 14460, 14475, 14490, 14505, 14520, 14535, 14550, 14565, 14580, 14595, 14610, 14625, 14640, 14655, 14670, 14685, 14700, 14715, 14730, 14745, 14760, 14775, 14790, 14805, 14820, 14835, 14850, 14865, 14880, 14895, 14910, 14925, 14940, 14955, 14970, 14985, 15000, 15015, 15030, 15045, 15060, 15075, 15090, 15105, 15120, 15135, 15150, 15165, 15180, 15195, 15210, 15225, 15240, 15255, 15270, 15285, 15300, 15315, 15330, 15345, 15360, 15375, 15390, 15405, 15420, 15435, 15450, 15465, 15480, 15495, 15510, 15525, 15540, 15555, 15570, 15585, 15600, 15615, 15630, 15645, 15660, 15675, 15690, 15705, 15720, 15735, 15750, 15765, 15780, 15795, 15810, 15825, 15840, 15855, 15870, 15885, 15900, 15915, 15930, 15945, 15960, 15975, 15990, 16005, 16020, 16035, 16050, 16065, 16080, 16095, 16110, 16125, 16140, 16155, 16170, 16185, 16200, 16215, 16230, 16245, 16260, 16275, 16290, 16305, 16320, 16335, 16350, 16365, 16380, 16395, 16410, 16425, 16440, 16455, 16470, 16485, 16500, 16515, 16530, 16545, 16560, 16575, 16590, 16605, 16620, 16635, 16650, 16665, 16680, 16695, 16710, 16725, 16740, 16755, 16770, 16785, 16800, 16815, 16830, 16845, 16860, 16875, 16890, 16905, 16920, 16935, 16950, 16965, 16980, 16995, 17010, 17025, 17040, 17055, 17070, 17085, 17100, 17115, 17130, 17145, 17160, 17175, 17190, 17205, 17220, 17235, 17250, 17265, 17280, 17295, 17310, 17325, 17340, 17355, 17370, 17385, 17400, 17415, 17430, 17445, 17460, 17475, 17490, 17505, 17520, 17535, 17550, 17565, 17580, 17595, 17610, 17625, 17640, 17655, 17670, 17685, 17700, 17715, 17730, 17745, 17760, 17775, 17790, 17805, 17820, 17835, 17850, 17865, 17880, 17895, 17910, 17925, 17940, 17955, 17970, 17985, 18000, 18015, 18030, 18045, 18060, 18075, 18090, 18105, 18120, 18135, 18150, 18165, 18180, 18195, 18210, 18225, 18240, 18255, 18270, 18285, 18300, 18315, 18330, 18345, 18360, 18375, 18390, 18405, 18420, 18435, 18450, 18465, 18480, 18495, 18510, 18525, 18540, 18555, 18570, 18585, 18600, 18615, 18630, 18645, 18660, 18675, 18690, 18705, 18720, 18735, 18750, 18765, 18780, 18795, 18810, 18825, 18840, 18855, 18870, 18885, 18900, 18915, 18930, 18945, 18960, 18975, 18990, 19005, 19020, 19035, 19050, 19065, 19080, 19095, 19110, 19125, 19140, 19155, 19170, 19185, 19200, 19215, 19230, 19245, 19260, 19275, 19290, 19305, 19320, 19335, 19350, 19365, 19380, 19395, 19410, 19425, 19440, 19455, 19470, 19485, 19500, 19515, 19530, 19545, 19560, 19575, 19590, 19605, 19620, 19635, 19650, 19665, 19680, 19695, 19710, 19725, 19740, 19755, 19770, 19785, 19800, 19815, 19830, 19845, 19860, 19875, 19890, 19905, 19920, 19935, 19950, 19965, 19980, 19995, 20010, 20025, 20040, 20055, 20070, 20085, 20100, 20115, 20130, 20145, 20160, 20175, 20190, 20205, 20220, 20235, 20250, 20265, 20280, 20295, 20310, 20325, 20340, 20355, 20370, 20385, 20400, 20415, 20430, 20445, 20460, 20475, 20490, 20505, 20520, 20535, 20550, 20565, 20580, 20595, 20610, 20625, 20640, 20655, 20670, 20685, 20700, 20715, 20730, 20745, 20760, 20775, 20790, 20805, 20820, 20835, 20850, 20865, 20880, 20895, 20910, 20925, 20940, 20955, 20970, 20985, 21000, 21015, 21030, 21045, 21060, 21075, 21090, 21105, 21120, 21135, 21150, 21165, 21180, 21195, 21210, 21225, 21240, 21255, 21270, 21285, 21300, 21315, 21330, 21345, 21360, 21375, 21390, 21405, 21420, 21435, 21450, 21465, 21480, 21495, 21510, 21525, 21540, 21555, 21570, 21585, 21600, 21615, 21630, 21645, 21660, 21675, 21690, 21705, 21720, 21735, 21750, 21765, 21780, 21795, 21810, 21825, 21840, 21855, 21870, 21885, 21900, 21915, 21930, 21945, 21960, 21975, 21990, 22005, 22020, 22035, 22050, 22065, 22080, 22095, 22110, 22125, 22140, 22155, 22170, 22185, 22200, 22215, 22230, 22245, 22260, 22275, 22290, 22305, 22320, 22335, 22350, 22365, 22380, 22395, 22410, 22425, 22440, 22455, 22470, 22485, 22500, 22515, 22530, 22545, 22560, 22575, 22590, 22605, 22620, 22635, 22650, 22665, 22680, 22695, 22710, 22725, 22740, 22755, 22770, 22785, 22800, 22815, 22830, 22845, 22860, 22875, 22890, 22905, 22920, 22935, 22950, 22965, 22980, 22995, 23010, 23025, 23040, 23055, 23070, 23085, 23100, 23115, 23130, 23145, 23160, 23175, 23190, 23205, 23220, 23235, 23250, 23265, 23280, 23295, 23310, 23325, 23340, 23355, 23370, 23385, 23400, 23415, 23430, 23445, 23460, 23475, 23490, 23505, 23520, 23535, 23550, 23565, 23580, 23595, 23610, 23625, 23640, 23655, 23670, 23685, 23700, 23715, 23730, 23745, 23760, 23775, 23790, 23805, 23820, 23835, 23850, 23865, 23880, 23895, 23910, 23925, 23940, 23955, 23970, 23985, 24000, 24015, 24030, 24045, 24060, 24075, 24090, 24105, 24120, 24135, 24150, 24165, 24180, 24195, 24210, 24225, 24240, 24255, 24270, 24285, 24300, 24315, 24330, 24345, 24360, 24375, 24390, 24405, 24420, 24435, 24450, 24465, 24480, 24495, 24510, 24525, 24540, 24555, 24570, 24585, 24600, 24615, 24630, 24645, 24660, 24675, 24690, 24705, 24720, 24735, 24750, 24765, 24780, 24795, 24810, 24825, 24840, 24855, 24870, 24885, 24900, 24915, 24930, 24945, 24960, 24975, 24990, 25005, 25020, 25035, 25050, 25065, 25080, 25095, 25110, 25125, 25140, 25155, 25170, 25185, 25200, 25215, 25230, 25245, 25260, 25275, 25290, 25305, 25320, 25335, 25350, 25365, 25380, 25395, 25410, 25425, 25440, 25455, 25470, 25485, 25500, 25515, 25530, 25545, 25560, 25575, 25590, 25605, 25620, 25635, 25650, 25665, 25680, 25695, 25710, 25725, 25740, 25755, 25770, 25785, 25800, 25815, 25830, 25845, 25860, 25875, 25890, 25905, 25920, 25935, 25950, 25965, 25980, 25995, 26010, 26025, 26040, 26055, 26070, 26085, 26100, 26115, 26130, 26145, 26160, 26175, 26190, 26205, 26220, 26235, 26250, 26265, 26280, 26295, 26310, 26325, 26340, 26355, 26370, 26385, 26400, 26415, 26430, 26445, 26460, 26475, 26490, 26505, 26520, 26535, 26550, 26565, 26580, 26595, 26610, 26625, 26640, 26655, 26670, 26685, 26700, 26715, 26730, 26745, 26760, 26775, 26790, 26805, 26820, 26835, 26850, 26865, 26880, 26895, 26910, 26925, 26940, 26955, 26970, 26985, 27000, 27015, 27030, 27045

5. MATERIAL Y MÉTODOS

Se usaron ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*) tanto machos como hembras, de 25 a 30 gramos, aclimatados al ambiente del laboratorio al menos dos horas antes de la experimentación. Los experimentos se realizaron de acuerdo a un protocolo aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina (Protocolo 131). Cada animal recibió solamente una dosis de las drogas, las observaciones se efectúan en forma randomizada, ciega y controladas con salino, se usaron 2 controles por cada grupo experimental y los animales son sacrificados inmediatamente después del experimento mediante dislocación cervical.

La evaluación de la actividad antinociceptiva se realiza mediante el método algiesiométrico agudo del writhing test o test de las contorsiones, en el que se usa un estímulo químico irritativo: la inyección intraperitoneal (i.p.) de 10 ml/kg de una solución de ácido acético al 0.6 %. El dolor producido se mide contando el número de contorsiones que presenta el animal después de 5 minutos de la inyección y durante 5 minutos. Se entiende por contorsión la contracción de la musculatura abdominal junto con una elongación de las extremidades posteriores. Los resultados se expresan como porcentaje de antinocicepción (% AN) de acuerdo con la siguiente expresión:

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

donde:

WE = número de contorsiones de los animales inyectados con droga.

WC = es el número de contorsiones en los animales controles inyectados con salino.

Las dosis de los diferentes fármacos se administraron por vía i.p. en un volumen de 10 ml/kg y el ensayo algiesiométrico se realizó 30 minutos

después, en el momento del efecto máximo de cada droga, tiempo que ha sido determinado por experimentos previos del laboratorio (21,22,27).

Para la evaluación de la modulación opioide, serotoninérgica y nitridérgica, se realizaron curvas dosis-respuesta de los fármacos administrados por vía i.p. 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 de la curva dosis respuesta.

Los analgésicos se administraron 30 minutos después del pretratamiento por vía i.p. con 1 mg/kg de naltrexona (antagonista opioide); 1mg/kg de L-NAME (inhibidor de NOS, enzima que cataliza la biosíntesis de NO); 1mg/kg de tropisetron (bloqueador selectivo de receptores serotoninérgicos del subtipo 5-HT₃) y 0.01 mg/kg de risperidona (antagonista de receptores D₂ y 5-HT₂). En Tabla 1 se esquematiza el diseño experimental.

Tabla 1.- Diseño experimental

Condición	Analgésicos.	Acido acético 0.6 %	Observación
Sin antagonista	0 min	30 min	35-40 min
Con antagonista	30 min	60 min	65-70 min

Los datos obtenidos a partir de las curvas log dosis-respuesta se analizaron mediante regresión lineal por cuadrados mínimos para determinar las dosis efectivas que produce una analgesia del 50% del efecto máximo (DE50). La significación estadística se determinó mediante un análisis de varianza (ANOVA) y pruebas t de Student y fue considerada a un nivel de 5 %.

RESULTADOS

1.- Grupo control:

La administración de 10ml/kg i.p. de solución salina fisiológica produjo 19.8 ± 0.28 contorsiones ($n = 24$), ver tabla 2.

2.- Grupo tratado con paracetamol y piroxicam:

La administración de paracetamol i.p. en el ensayo de las contorsiones abdominales induce una actividad antinociceptiva que es dosis-dependiente. La DE50 de paracetamol resultó ser de 49.4 ± 3.3 mg/kg ($49.4 = 0.18$ Mmoles) la cual produce 9.5 ± 1.23 contorsiones.

Por otra parte, la administración de piroxicam i.p. en el ensayo algesiométrico de las contorsiones abdominales induce una actividad antinociceptiva de naturaleza dosis – dependiente. La DE50 de piroxicam resultó ser de 8.5 ± 1.2 mg/kg ($8.5 = 0.02$ Mmoles) la cual produce 9.0 ± 0.55 contorsiones.

Al analizar estadísticamente las curvas dosis-respuesta de paracetamol y piroxicam, se demostró que no eran paralelas. Todos los resultados anteriores se muestran en la figura 1 y Tabla 2.

3.- Efectos de antagonistas sobre la actividad antinociceptiva de paracetamol.

El pretratamiento de los animales con 0.01 mg/kg (0.24 Mmoles) i.p. de risperidona o con 1mg/kg (1.87 Mmoles) de tropisetron i.p., no produjo cambios en la ED50 de paracetamol. Además, la administración de risperidona o de tropisetron no produce efecto antinociceptivo per se. Ver figura 2 y Tabla 2.

El pretratamiento con 1mg/kg (2.64 Mmoles) i.p. de naltrexona o con 1mg/kg (3.70 Mmoles) i.p. de L-NAME no produjo cambios en la ED50 de paracetamol. Es necesario hacer presente que la administración de naltrexona o de L-NAME no produce actividad analgésica per se. Ver figura 3 y Tabla 2.

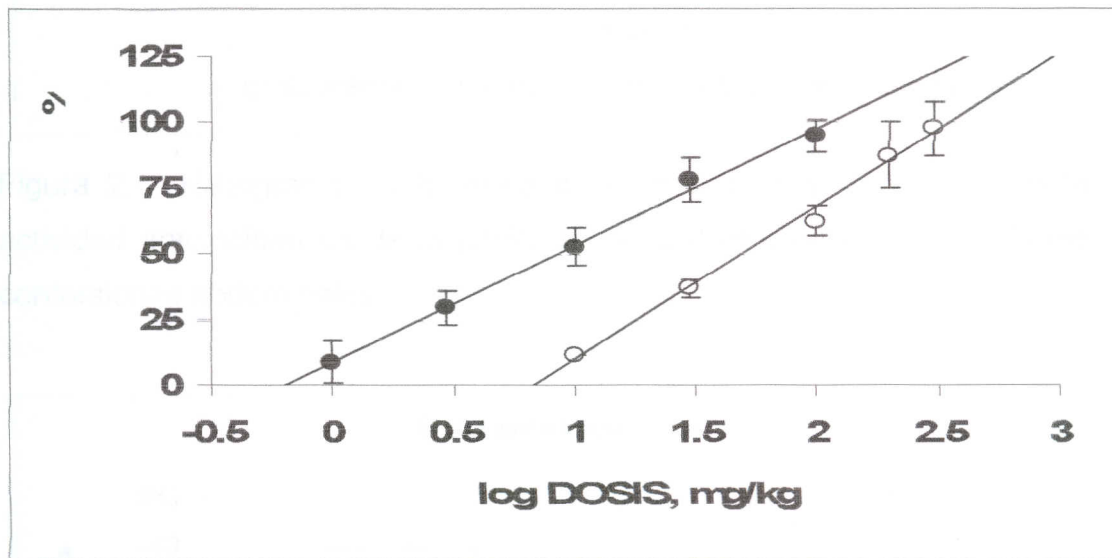


Figura 1.- Curvas dosis-respuesta a piroxicam (●) y paracetamol (○) en el test de las contorsiones. Cada punto es el promedio con sus respectivos E.S. de al menos 6 animales.

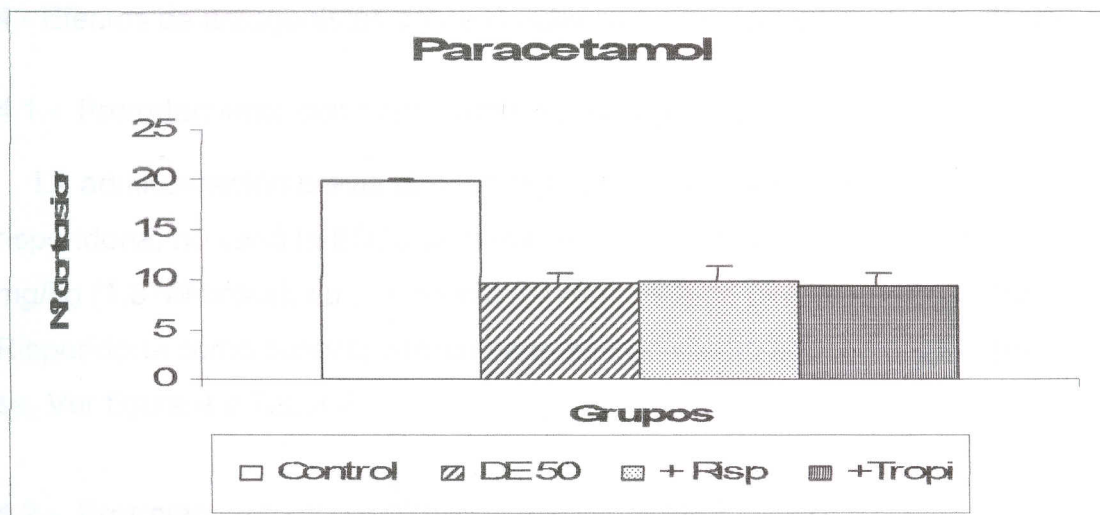


Figura 2.- Histograma de la interacción risperidona y tropisetron en la actividad antinociceptiva de la DE50 de paracetamol en el ensayo de las contorsiones abdominales.

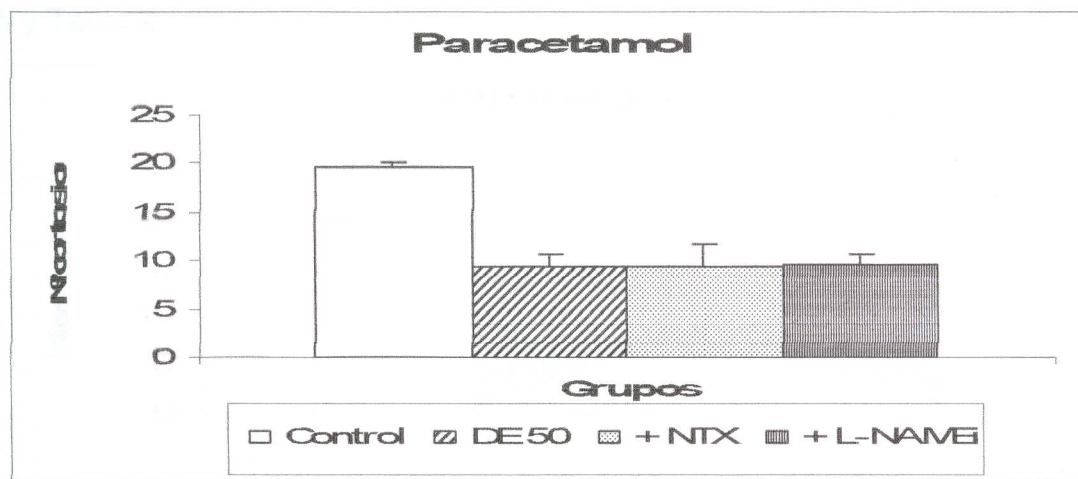


Figura 3.- Histograma de la interacción naltrexona y L-NAME en la analgesia de la DE50 de paracetamol en el ensayo de las contorsiones.

4.- Efectos de antagonistas sobre la actividad antinociceptiva de piroxicam.

4.1.- Pretratamiento con risperidona o con tropisetron.

La administración previa de 0.01mg/kg (0.24Mmoles), i.p., de risperidona, no varió la ED50 de piroxicam; sin embargo, tropisetron 1 mg/kg (1.87Mmoles), i.p., aumentó la analgesia de piroxicam ($P < 0.05$). Risperidona como con tropisteron no indujeron efecto antinociceptivo per se. Ver figura 4 y Tabla 2.

4.2.- Pretratamiento con naltrexona o con L-NAME.

El pretratamiento, por via i.p. con 1mg/kg (2.64Mmoles) de naltrexona o de L-NAME (3.70Mmoles) no cambió la actividad de la ED50 de piroxicam. Naltrexona o de L-NAME o produjo efecto antinociceptivo per se. Ver figura 5 y Tabla 2.

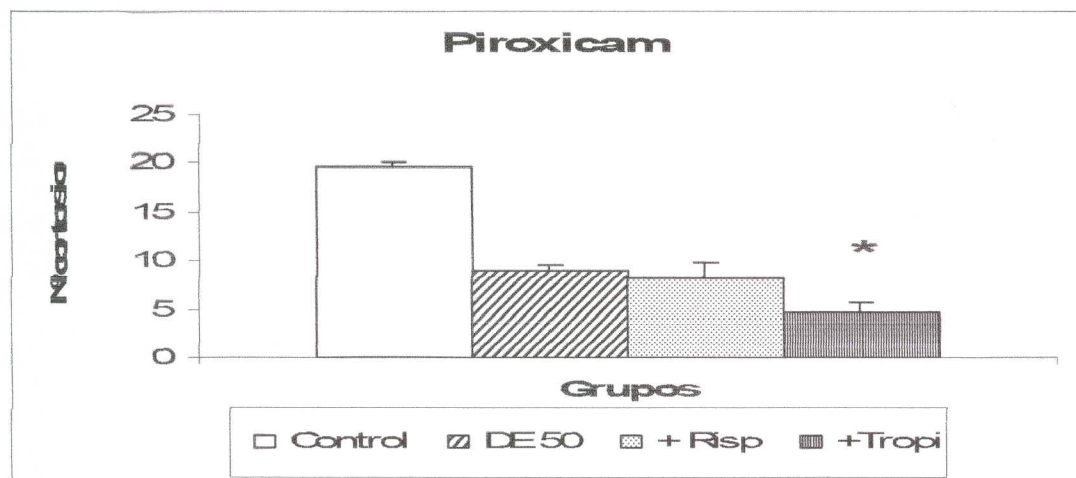


Figura 4.- Histograma del efecto del pretratamiento con risperidona o con tropisetron sobre la DE50 de piroxicam.

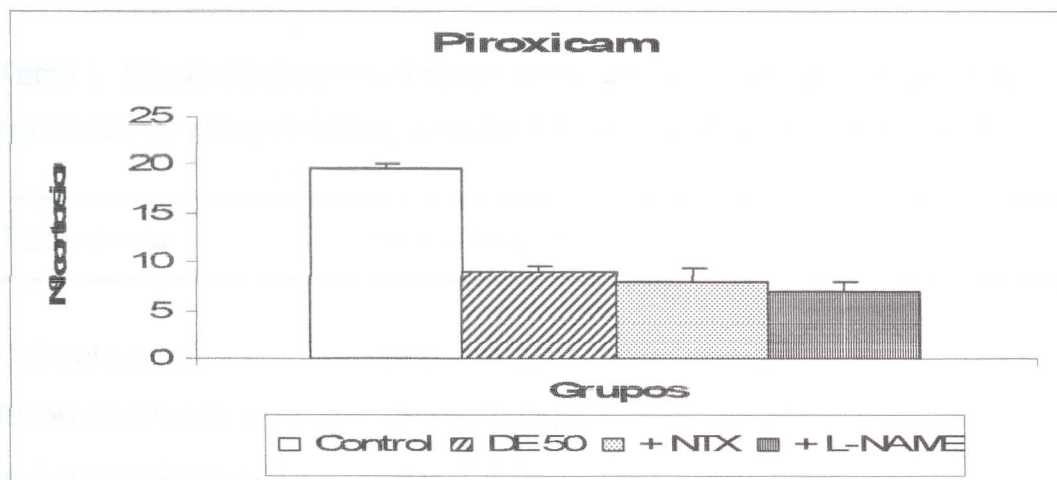


Figura 5.- Histograma del efecto del pretratamiento con naltrexona o con L-NAME en la antinocicepción por la DE50 de piroxicam en el ensayo de las contorsiones abdominales.

Tabla 2. Efecto de diversos antagonistas en el efecto antinociceptivo de paracetamol y de piroxicam, en el test de las contorsiones abdominales.

Tratamiento	Nº contorsiones	N
Control salino	19.8 ± 0.28	24
ED50 paracetamol	9.5 ± 1.23	24
Id + risperidona 0.01	9.6 ± 1.8	6
Id + tropisetron 1	9.4 ± 1.5	6
Id + naltrexona 1	9.5 ± 1.4	6
Id + L-NAME 1	9.6 ± 1.3	6
ED50 piroxicam	9.0 ± 0.5	24
Id + risperidona 0.01	9.2 ± 1.6	6
Id + tropisetron 1	4.5 ± 1.4*	6
Id + naltrexona 1	9.3 ± 1.4	6
Id + L-NAME 1	9.2 ± 1.3	6

* $P < 0.05$ comparado con ED50 piroxicam



DISCUSIÓN

El presente trabajo demuestra que, en el test de las contorsiones, la administración de piroxicam produce una actividad antinociceptiva dosis-dependiente que es 5.8 veces más efectiva para el piroxicam que para el paracetamol, al comparar las dosis expresadas en mg/kg, que refieren una efectividad relativa o bien es 9 veces mayor, al expresarla en Mmoles, que indican una comparación de efectos expresados en términos absolutos. Estos resultados concuerdan con hallazgos previos que demuestran que la administración sistémica de AINEs produce actividad antinociceptiva en diversos modelos algesiométricos utilizados en diversos animales (8, 10, 15, 17, 21,22, 28). El mayor efecto analgésico del piroxicam podría deberse a su mayor y definida actividad inhibitoria sobre la COX-1 y COX-2 (3,4). La falta de paralelismo entre las curvas dosis-respuestas, sugiere que en la actividad analgésica de piroxicam y paracetamol, participarían otros mecanismos complementarios, producida por activación de diferentes vías, sin actuar en un receptor común (23). Esta limitante, falta de paralelismo entre las curvas dosis-respuesta, impide calcular la potencia relativa o absoluta tanto de paracetamol como de piroxicam y su comparación (23).

Puede contribuir a explicar la ausencia de paralelismo entre las curvas-dosis respuesta, el hecho de que para la actividad analgésica del piroxicam se atribuye además de la bioinhibición de las COXs, la

participación del mecanismo serotoninérgico (22). Para el paracetamol, se ha demostrado que actúa centralmente por inhibición de una isoforma de la COX, denominada COX-3 la cual reduce las concentraciones de PGE2 en el cerebro (24). También se ha sugerido que el paracetamol puede aliviar el dolor a través del sistema opioide y que su antinocicepción involucra una interacción entre sitios espinales y supraespinales incluyendo una vía endógena opioide (25).

La falta de efectividad, en la antinocicepción inducida por paracetamol, con el pretratamiento con risperidona, bloqueador de receptores serotoninérgicos y dopaminérgicos, de tropisetron, bloqueador selectivo de receptores del subtipo 5-HT₃, de naltrexona, antagonista de receptores opioides y de L-NAME, inhibidor no selectivo de las isoformas de NOS, demostraría la escasa participación de 5-HT, DA, MOP-R, DOP-R y KOP-R (26), además de la vía NO-GMPc, en el mecanismo de inducción de analgesia por el paracetamol. Sin embargo, los resultados obtenidos, en relación a la serotonina y los subtipos de receptores opioides, son contradictorios a los que se han informado en la literatura (7, 8, 10, 17,22). Las diferencias entre estos resultados, podrían deberse a los distintos protocolos experimentales (dosis, ensayos, vías de administración, etc).

En relación al piroxicam, el incremento de la analgesia inducida por el pretratamiento con tropisetron, estaría indicando que los receptores del

subtipo 5-HT₃, contribuirían significativamente en su actividad analgésica. Esto está en concordancia con resultados previos que indican que el tropisetron es un efectivo agente analgésico (19). El efecto sinérgico obtenido entre piroxicam y tropisetron, se podría explicar por el hecho de que existen numerosos trabajos en que se demuestra que la combinación de 2 agentes que producen el mismo efecto (analgesia), pero usando diferentes mecanismos (inhibición de Coxs y antagonismo de receptores 5-HT₃), suele conducir a un incremento significativo de la analgesia producida por cada uno de los agentes en forma individual: sinergismo o supraaditividad (27).

En resumen, en la actividad antinociceptiva de paracetamol y de piroxicam, desde un punto de vista netamente farmacológico, es posible suponer una contribución diferencial de los diferentes sistemas modulatorios de la antinocicepción.

CONCLUSIONES

La administración de paracetamol y piroxicam i.p. en el ensayo algesiométrico de las contorsiones abdominales induce una actividad antinociceptiva que resulta ser de naturaleza dosis – dependiente siendo de mayor efectividad el piroxicam.

La administración i.p. de risperidona o de tropisetron o de naltrexona o de L-NAME, no produce efecto antinociceptivo per se.

La actividad analgésica del paracetamol no es modificada por el pretratamiento de los animales con risperidona, naltrexona, L-NAME o con tropisetron, lo que sugiere que la acción analgésica de este fármaco no está relacionada con los sistemas serotoninérgicos, dopaminaérgicos, opioides o con la vía NO-GMPc.

Sin embargo, en la analgesia inducida por piroxicam, existe un componente serotoninérgico importante, relacionado con el subtipo de receptores 5-HT₃, ya que el pretratamiento con tropisetron indujo una asociación sinérgica antinociceptiva.

En conclusión, se puede asumir que la actividad antinociceptiva de paracetamol y de piroxicam, está modulada por diferentes sistemas participantes en los mecanismos relacionados con el dolor.

RESUMEN

En este trabajo se evaluó la actividad antinociceptiva de paracetamol y el piroxicam a través del método algiesiométrico agudo del writhing test o test de las contorsiones. En ratones de la cepa CF-1 (*Mus musculus*) se demostró que la administración i.p. de paracetamol o de piroxicam producen actividad antinociceptiva dosis dependiente con similares efectos máximos y de mayor efectividad para el piroxicam. El pretratamiento, ya sea con antagonistas 5-HT₂, D₂, 5-HT₃, opioides y de la vía NO-GMPc no modificó la actividad de paracetamol, en cambio sólo el antagonismo a nivel del subtipo 5-HT₃ incremento la analgesia inducida por piroxicam. Se sugiere que, la analgesia producida por paracetamol es mecanísticamente diferente a la producida por piroxicam, debido a la sinergia inducida con éste AINE por la activación de receptores 5-HT₃.

SUGERENCIAS

En el presente trabajo se ha demostrado la existencia de un aumento en la actividad antinociceptiva del piroxicam al ser tratados previamente los animales con tropisetron y no alterar la actividad de paracetamol. Basados en este hallazgo se sugiere:

- 1) Estudiar la interacción de tropisetron con otros AINEs.
- 2) Evaluar el efecto modulador de los receptores del subtipo 5HT-3 en diversos agentes analgésicos (opioides, antidepresivos, gabapentina, pregabalina, etc) usando otros métodos algesiométricos como: test de la cola, test de la formalina, ensayos de dolor neuropático.
- 3) Estudiar la modulación ejercida sobre los AINEs por otros subtipos de receptores serotoninérgicos: 5-HT1 – 5-HT7.

REFERENCIAS

- 1) Bonica, J.J. "The management of pain". 2 ed. Philadelphia, US, Lea & Febiger. , 1990.
- 2) Millan,M. "the induction of pain: an integrative review". Prog. Neurobiol.57,1-164, 1999.
- 3) Vane JR, Bakhle YS, and Botting RM. "Cyclooxygenases 1 and 2", Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 38, 97- 120, 1998.
- 4) Warner TD, Mitchel J.A. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors and lessons from the clinic. FASEB J. 18, 790-804, 2000.
- 5) Chandrasekharan NV, "DL. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs. Cloning, structure and expression". Proc Natl Acad Sci USA 99:13926-13931, 2002.
- 6) Warner TD and Mitchell JA. "Cyclooxygenase-3 (COX3): filling in the gaps toward a COX continuum". Proc Natl Acad Sci. USA 99:13371-13373, 2002.
- 7) Bjorkman,R., "Central antinociceptive effects of non-steroidal antiinflammatory drugs and paracetamol. Experimental studies in the rat". Acta Anaesthesiol.Scand. 103:1-44. 1995.
- 8) Alloui A, Chassaing C, Schmidt J, Ardid D, Dubray C, Cloarec A, Eschalier A. "Paracetamol exerts a spinal, tropisetron-reversible,

antinociceptive effect in an inflammatory pain model in rats" *Europe Journal Pharmacol.* 17; 443 : 71-77, 2002.

9) Arts KS, Holmes BB, Fujimoto JM. "Differential contribution of descending serotonergic and noradrenergic systems to central DAMGO and morphine-induced antinociception in mice", *Journal Pharmacol. Exp. Ther.* 256: 890-96, 1991.

10) Pini L.A., Sandrini M., Vitale G. "The antinociceptive action of paracetamol is associated with changes in the serotonergic system in the rat brain", *Eur. J. Pharmacol.* 308:31-40, 1996.

11) Moore PK, Handy RL., Selective inhibitors of neuronal nitric oxide synthase--is no NOS really good NOS for the nervous system? *Trends Pharmacol. Sci.* 18,204-11, 1997.

12) Sakurada T, Sugiyama A, Sakurada C, Tanno K, Sakurada S, Kisara K, Hara A, Abiko Y. Involvement of nitric oxide in spinally mediated capsaicin- and glutamate-induced behavioural responses in the mouse. *Neurochem. Int.* 29:271-8, 1996.

13) Malmberg AB, Yaksh TL. Pharmacology of the spinal action of ketorolac, morphine, ST-91, U50488H, and L-PIA on the formalin test and an isobolographic analysis of the NSAID interaction. *Anesthesiology* 79.270-24, 1993.

- 14) P.L.Moller, S.Sindet-Pedersen, "Onset of acetaminophen analgesia: comparison of oral and intravenous routes after third molar surgery" *Br. J. Anaesthesia* 94,642-8, 2005.
- 15) Botting R, Ayoub SS, "COX-3 and the mechanism of action of paracetamol/acetaminophen", *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 72,85-8, 2005.
- 16) Graham GG, Scout KF, "Mechanism of action of paracetamol" *Am J Ther.* 12,46-55, 2005.
- 17) Pini L.A., Sandrini M., Vitale G., Otanni A., Sandrini M. "Naloxone-Reversible antinociception by paracetamol in the rat". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 208, 934-40,1997.
- 18) Salvi GE, Lang NP. The effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs (selective and non-selective) on the treatment of periodontal disease. *Curr. Phar., Dis.* 11, 1757-1769, 2005.
- 19) Wolf H. "Preclinical and clinical pharmacology of the 5-HT₃ receptor antagonist". *Scand J. Rheumatol.* 29 Suppl 113:37-45, 2000.
- 20) Love R.C. y Conley R.J. Long-acting risperidone injection. *Am. J. Health Syst. Pharma.* 61, 1792-1800, 2004.
- 21) Miranda HF, Sierralta F. , Pinardi G. Previous administration of indomethacin or naloxone did not influence ketorolac antinociception in mice. *Anesth. Analg.* 77 :750-3, 1993.

- 22) Miranda HF, Lemus I, Pinardi G. Effect of the inhibition of serotonin biosynthesis on the antinociception induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Brain Res. Bull.* 61:417-425, 2003.
- 23.- Goldstein A, Aronow L, Kalman SM. *Drug Action: The Basis of Pharmacology*. Second Edition. New York: John Wiley & Sons, pp. 811-821, 1974.
- 24.- Kis B, Snipes JA, Busija DW. Acetaminophen and the COX-3 puzzle: sorting out facts, fictions and uncertainties. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 6, 2005.
- 25.- Raffa RB, Stone J, Tallarida RJ. Discovery of "self- synergistic" spinal/supraspinal antinociception produced by acetaminophen (paracetamol). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 295: 291-294, 2000.
- 26.- Waldhoer M, Bartlett SE, Whistler JL. Opioid receptors. *Annu. Rev. Biochem.* 73: 953-990, 2004.
- 27.- 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.