



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA

**“MODULACIÓN ADRENÉRGICA Y OPIOIDE DE LA ANTINOCICEPCIÓN
INDUCIDA POR KETOROLACO Y NAPROXENO EN DOLOR AGUDO
VISCERAL EXPERIMENTAL”**

Daniela Meyling Cam Loyola.

**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

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ASPECTOS TEÓRICOS:	
Clasificación de dolor.....	3
Fisiopatología del dolor.....	4
Farmacología del dolor.....	6
Analgésicos Anti-Inflamatorios No Esteroidales.....	7
Mecanismos de acción analgésica de los AINES.....	8
Efectos de los AINEs.....	10
Clasificación de los AINEs.....	14
Ketorolaco.....	16
Naproxeno.....	18
Naltrexona.....	19
Prazosin.....	19
Interacciones farmacológicas.....	20
3. HIPÓTESIS.....	22

4. OBJETIVOS.....	24
5. MATERIAL Y MÉTODO.....	25
6. RESULTADOS.....	30
7. DISCUSIÓN.....	37
8. CONCLUSIONES.....	39
9. SUGERENCIAS.....	40
10. RESUMEN.....	41
11. BIBLIOGRAFÍA.....	42

A mi familia y a mi amor con mucho cariño...

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a mi familia, quienes han sido mi pilar durante todos estos años de estudio. Todo el cariño, ayuda y apoyo incondicional que ustedes me han dado, ha sido la fortaleza de cada día de mi vida. Los quiero muchísimo.

También quiero darte las gracias a tí, mi niño, que me has enseñado a ser yo misma sin temores, a vivir la vida con alegrías y sorpresas, y a proyectar mi vida como un sueño.

Finalmente, agradezco sinceramente a mis profesores tutores de tesis, grandes eminencias que tuve la suerte de conocer: Dr. Hugo Miranda y Dr. Gianni Pinardi, quienes me han guiado y apoyado en el desarrollo de este trabajo. También agradezco toda la ayuda y voluntad de los técnicos del laboratorio, los Sres. José y Alejandro, quienes estuvieron conmigo pacientemente cada semana durante el transcurso de los experimentos y sin los cuales no habría sido lo mismo. Agradezco no sólo la gran ayuda que me han brindado en cuanto a las bases teóricas y experimentales de este trabajo, sino también la calidez, alegría, amistad y simpatía con que cada semana me recibieron en el laboratorio, características que hacen de este departamento un equipo de trabajo único e inolvidable. Muchísimas gracias nuevamente por todo, los recordaré con mucho cariño.

1. INTRODUCCIÓN

Los seres vivos se relacionan constantemente con su entorno mediante sistemas sensoriales, los cuales tienen el rol de informar al cerebro acerca del estado del medio ambiente externo e interno del organismo. Dentro de las sensaciones que el organismo debe reconocer está el dolor. El dolor es una percepción que se obtiene como resultado de un sistema nociceptivo desarrollado a lo largo de la evolución de los seres vivos. La nocicepción corresponde al mecanismo a través del cual el estímulo injurante es transmitido hacia el sistema nervioso central (SNC). El sistema nociceptivo forma parte de un set global de control de respuestas homeostáticas del organismo.

El dolor ha sido definido por la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) como: “Una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular existente o potencial, o descrita en términos de ese daño”. Corresponde en sí a una experiencia subjetiva, ya que es un fenómeno multidimensional donde intervienen factores biológicos, cognitivos, emocionales y ambientales. Cada individuo aprende el significado de la palabra dolor a través de las experiencias dolorosas que experimenta desde su infancia. Este puede ser clínicamente evaluado en cuanto a su intensidad, duración, característica, lugar de origen y etiología (1).

En contraste con la naturaleza multidimensional del dolor que se describe en los humanos, el dolor en los animales sólo se puede estimar observando sus reacciones. En general, los signos más indiscutibles de dolor son los signos físicos. Cada especie manifiesta el dolor según su propio repertorio de comportamiento (2).

Se ha re-interpretado la definición de dolor de la IASP para que ésta pueda ser aplicada en animales. El dolor en animales se define como: “Una experiencia sensorial adversa causada por una injuria actual o potencial que produce reacciones motoras y vegetativas progresivas, las cuales dan como resultado comportamientos de evitación aprendido, modificaciones del comportamiento de la especie, incluyendo su conducta social” (2).

El dolor es el síntoma más frecuente de enfermedad. Son relativamente pocas las enfermedades que no tienen una etapa dolorosa. De esta manera, el estudio del dolor y la forma de aliviarlo es un tema de gran relevancia en Farmacología para así aplicar éstos conocimientos en el área de la salud.

2. ASPECTOS TEÓRICOS

Clasificación del dolor

Resulta de gran utilidad clasificar el dolor según sus características clínicas en:

a. Dolor agudo: Constituye un mecanismo fisiológico de alarma para limitar el daño e iniciar los mecanismos de reparación. Incluye sólo el tiempo necesario para que los tejidos sanen. Su curso temporal es propio de la lesión que lo originó y puede presentarse con respuestas neurovegetativas como taquicardia, aumento de presión arterial, taquipnea, sudoración, palidez, cambios en el diámetro pupilar, estados nauseosos llegando incluso a producir vómitos. La causa de este tipo de dolor usualmente puede ser diagnosticada y tratada, además es auto limitante y esta confinado a un periodo dado de tiempo y a su severidad. En algunas ocasiones puede pasar a ser crónico (1,2).

b. Dolor crónico: Es el que se mantiene por un período mayor de tiempo, después que una lesión ha originado la injuria, por lo que el sistema nervioso puede programarse de nuevo para crear un umbral doloroso más bajo. Carece de propiedades fisiológicas reparadoras y es un síntoma de enfermedad continua o en brotes (1,2).

Fisiopatología del dolor

El enfoque terapéutico por el que se optará en el manejo del dolor será tanto más adecuado y eficaz si se conocen las estructuras, neurotransmisores y neuromoduladores que están involucrados en la conducción de un estímulo doloroso. La fisiopatología del dolor involucra distintos mecanismos e interacciones de estructuras periféricas y centrales desde la superficie de la piel hasta la corteza cerebral. 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 a la médula (3).

Bajo condiciones fisiológicas, las señales nociceptivas generadas por estímulos intensos (térmicos, mecánicos o químicos) activan las fibras nociceptivas especializadas denominadas A δ o fibras C. Estas fibras son estructuras periféricas constituidas por una neurona T y corresponden a las neuronas de primer orden dentro de la transmisión del estímulo doloroso. Las fibras A δ son las responsables de transmitir el dolor “rápido” o “primario”, y estas son de diámetro pequeño y mielinizadas. Por otro lado las fibras C, también conocidas como nociceptores C polimodales, son amielinizadas y son las encargadas de transmitir el dolor lento o más difuso (1).

La lesión de los tejidos inicia la producción y liberación de sustancias químicas que interactúan entre sí y estimulan las terminaciones nerviosas de las fibras nociceptivas. Dentro de las sustancias liberadas en el tejido injuriado, se inicia la síntesis de los llamados eicosanoides, entre las cuales se encuentran las prostaglandinas, tromboxanos, prostaciclina y leucotrienos. Estas sustancias químicas se sintetizan a partir del ácido araquidónico, el cual es un ácido graso poliinsaturado que forma parte de los fosfolípidos de la membrana celular. El ácido araquidónico se libera a partir de los fosfolípidos de la membrana catalizados por la enzima fosfolipasa A2. El ácido araquidónico libre es metabolizado por las enzimas ciclooxigenasas (COXs) por medio de las cuales se sintetizarán prostaglandinas (PGs), prostaciclina y tromboxanos. Por otro lado, el ácido araquidónico ingresará a otra vía de metabolización mediante las enzimas lipooxigenasas, donde se llevará a cabo la síntesis de leucotrienos. Las prostaglandinas actuarían fundamentalmente sensibilizando las neuronas, generando cambios en el potencial de membrana, disminuyendo el umbral de excitación de los receptores del dolor. También se estimula la síntesis de bradicinina que es una de las sustancias más algógenas de este proceso. Las prostaglandinas intervienen en una gran variedad de reacciones biológicas, propiciando el dolor, inflamación y fiebre (3, 4).

Farmacología del dolor

En el arsenal terapéutico para tratar el dolor existe una gran variedad de agentes capaces de producir un poderoso y selectivo efecto en la inhibición de la neurotransmisión dolorosa. De esta manera podemos mencionar tres grandes grupos de fármacos analgésicos: (4)

a. Analgésicos anti-inflamatorios no esteroidales (AINEs)

b. Opioides

c. Fármacos coadyuvantes

a. Analgésicos anti-inflamatorios no esteroidales (AINEs): Históricamente los AINEs han sido utilizados para tratar enfermedades reumatológicas. Luego se comenzaron a utilizar para aliviar el dolor después de una extracción dental. Actualmente los AINEs son considerados los medicamentos de elección en el manejo del dolor e inflamación (5). Los AINEs son los fármacos más utilizados en el mundo. Ejercen su acción a nivel periférico e incluye a un grupo de fármacos de estructura química diferente, pero con acciones farmacológicas comunes.

b. Opioides: ejercen su acción en algún nivel del neuroeje al estimular receptores específicos que son MOR: μ , DOR: δ y KOR: κ . La morfina es el fármaco tipo. Estos son hasta hoy los fármacos más efectivos y potentes para inhibir cuadros dolorosos, sin embargo, debido a sus efectos colaterales como la dependencia, se han convertido en sustancias restringidas para su uso masivo (6).

c. Fármacos coadyuvantes: dentro de este grupo se encuentra una serie de fármacos que presentan distintos efectos farmacológicos e incluyen también un efecto analgésico. Se pueden mencionar los fármacos α -adrenérgicos, antidepresivos, antipsicóticos, antiepilépticos, relajantes musculares, anestésicos locales, anestésicos generales, entre otros (4).

Analgésicos Anti-Inflamatorios No Esteroidales (Aines)

La acción de estos fármacos se debe principalmente a la inhibición de la biosíntesis de prostaglandinas mediante la inactivación de las enzimas ciclooxigenasas: COX-1, COX-2 y COX-3. Sin embargo en este efecto pueden estar involucrados otros mecanismos más complejos, ya que existen estudios previos en los cuales hay evidencias experimentales de que en la inhibición del dolor por los AINES participan otros sistemas (7).

Mecanismos de acción analgésica de los AINES

a. Inhibición de las enzimas COX-1, COX-2 y COX-3 a nivel periférico y a nivel central

Las enzimas COXs se encuentran en los tejidos bajo 3 isoformas, denominadas COX-1, COX-2 y COX-3. La diferencia entre ellas radica en la expresión y regulación de su actividad enzimática. En consecuencia, la COX -1 es una enzima de regulación constitutiva, presente en la mayoría de los tejidos, en cambio la COX-2 es inducida durante la inflamación y tiende a facilitar la respuesta inflamatoria. La COX -1 produce PGs que juegan un importante rol en varios procesos fisiológicos tales como la citoprotección gastrointestinal, homeostasis renal y trombocitaria. Por otro lado, la COX-2 es prácticamente indetectable en tejidos normales, porque su actividad parece expresarse bajo circunstancias patológicas como lo sería el curso de un proceso inflamatorio, donde la expresión de la COX-2 puede aumentar hasta 20 veces. Se ha sugerido recientemente que existe otra isoforma de la enzima COX, formada como la variante de COX-1. Esta se conoce con el nombre de COX-3 y se cree que su inhibición podría representar un mecanismo central primario por el cual los AINES disminuyen el dolor y posiblemente la fiebre (8).

b. Interacción con neuronas periféricas y centrales involucradas en la transmisión del dolor

Se ha postulado que existen otros mecanismos por medio de los cuales los AINEs incluirían acciones analgésicas. Estas vías incluyen efectos antinociceptivos en neuronas periféricas o centrales involucradas en la transmisión de señales dolorosas. Entre los mecanismos que se han propuesto, se puede considerar la neuromodulación que ocurre a nivel de la información nociceptiva ejercida por los sistemas adrenérgico, colinérgico y serotoninérgico tanto a nivel espinal como supraespinal. Existe evidencia que relaciona el efecto antinociceptivo de los AINEs como ketoprofeno, diclofenaco y piroxicam con la activación de receptores α_2 -adrenérgicos a nivel espinal y supraespinal, mientras que el paracetamol podría ejercer antinocicepción principalmente por la activación del sistema descendente inhibitorio noradrenérgico vía receptores α_1 -adrenérgicos. 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). Finalmente, un gran número de estudios sugieren la participación del sistema serotoninérgico en la actividad antinociceptiva de AINEs (4).

Efectos de los AINEs

En general, la mayoría de los AINEs se caracteriza por poseer en menor o mayor grado las siguientes acciones: (9)

a. Antipirética: la fiebre puede ser el resultado de un estado infeccioso o la secuela de un daño tisular, con la formación de citoquinas, que estimulan la síntesis de PGE_2 . Estas incrementan la temperatura corporal, que los AINEs reducen al inhibir la síntesis de PGE_2 .

b. Analgésica: acción que tiene lugar preferentemente en las terminaciones nerviosas sensitivas, interfiriendo con ciertas sustancias endógenas, tales como bradicinina, histamina, PGs, prostaciclina.

c. Anti-inflamatoria: los signos clásicos de la inflamación son modulados por la PGE_2 y los AINEs, al inhibir la síntesis de prostanoïdes, interfieren en los mecanismos de la inflamación.

d. Efectos en el riñón: la COX-2 suele expresarse en forma constitutiva en los tejidos vasculares renales. En sujetos sanos los AINEs no alteran las funciones

renales ni la presión arterial. Sin embargo, en sujetos hipertensos o con disfunción renal, el uso de inhibidores selectivos de la COX-2 puede causar disminución de la filtración glomerular con la consecuente retención de sodio y potasio, promoviendo la formación de edema y la elevación de la presión arterial.

e. Antitumorígenos: se ha observado esta actividad especialmente en el cáncer de colon. Aún no se encuentra claro el efecto protector de los AINEs frente a esta patología, pero se piensa que esto ocurre con la inhibición de las COX-2. De esta forma, los inhibidores selectivos de la COX-2 serán las drogas de elección para la prevención y el tratamiento de esta enfermedad.

f. Efectos en la enfermedad de Alzheimer: se ha sugerido que la COX-2 está involucrada tempranamente en el desarrollo del Alzheimer. La actividad antiagregante plaquetaria de los AINEs puede aliviar o prevenir la enfermedad reduciendo el daño isquémico causado por el bloqueo de los capilares cerebrales.

g. Efectos en el sistema reproductivo: las PGs participan en la ovulación, fertilización e implantación del blastocisto. Estudios en humanos han demostrado que el uso de inhibidores selectivos de la COX-2 como el nimesulide reduce partos prematuros y el rofecoxib presenta acciones locales negativas en la ovulación.

h. Efectos en el tracto gastrointestinal: la ulceración del tejido digestivo es el daño más común asociado a este tipo de fármacos. El mecanismo involucrado trata de la irritación local y la inhibición en la síntesis de la COX-1, enzima constitutiva responsable en promover la producción del mucus citoprotectivo en el tracto gastrointestinal (9).

i. Efectos en el sistema cardiovascular: Los AINEs, mediante la liberación de PGI₂, contribuyen al funcionamiento normal del sistema cardiovascular, ya que la PGI₂ promueve la vasodilatación, inhibe la agregación plaquetaria y adhesión, y es un antilipidémico endógeno. Se ha sugerido que la inhibición de la COX-2 puede producir un efecto pro-trombótico, incrementando el riesgo de eventos trombóticos. Estos fármacos podrían ser beneficiosos en algunos pacientes con enfermedad cardiovascular, debido a que mejorarían el proceso

de vasodilatación del endotelio y reducirían la inflamación crónica y el estrés oxidativo en la enfermedad arterial coronaria e hipertensión.

j. Efectos en el sistema respiratorio: El asma y enfermedades respiratorias similares, se caracterizan por una proliferación excesiva de células respiratorias. La inducción de la COX-2 inhibe la proliferación de las células del músculo liso del tracto respiratorio, lo que le confiere un rol protector. Sin embargo, no existe evidencia significativa de que los AINEs selectivos de la COX-2 sean capaces de desencadenar ataques de asma.

k. Cicatrización y consolidación ósea: En pacientes quirúrgicos el uso de AINEs puede influir negativamente en la cicatrización de las heridas y consolidación ósea de fracturas, sin embargo, no existe evidencia suficiente para asegurar que los AINEs presentan efectos inhibitorios en estas funciones fisiológicas (9).

Clasificación de los AINEs

La más paradigmática clasificación de AINEs, se muestra en la Tabla I, adaptada de Warner y Mitchell (9).

Tabla I. Clasificación de AINEs basada en los grupos funcionales

Grupo Farmacológico	Fármaco prototipo
Salicílicos	Ácido acetilsalicílico o aspirina
Pirazolonas	Metamizol o dipirona
Pirrolacético	Ketorolaco
Fenilacético	Diclofenaco
Propiónico	Naproxeno, ibuprofeno y ketoprofeno
Antranílico	Ácido mefenámico
Paraaminofenoles	Paracetamol
Oxicams	Piroxicam, meloxicam y tenoxicam
Indolacético	Indometacina
Piranoindolacético	Etodolaco
Nicotínico	Clonixina
Sulfoanilidas	Nimesulida
Alcanonas	Nabumetona
Pirazolidindionas	Fenilbutazona
Diaryl heterociclos (Inhibidores selectivos de COX-2)	Celecoxib, parecoxib, lumiracoxib.

También es posible clasificar a los AINEs en una tabla según su selectividad COX-1 o COX-2:

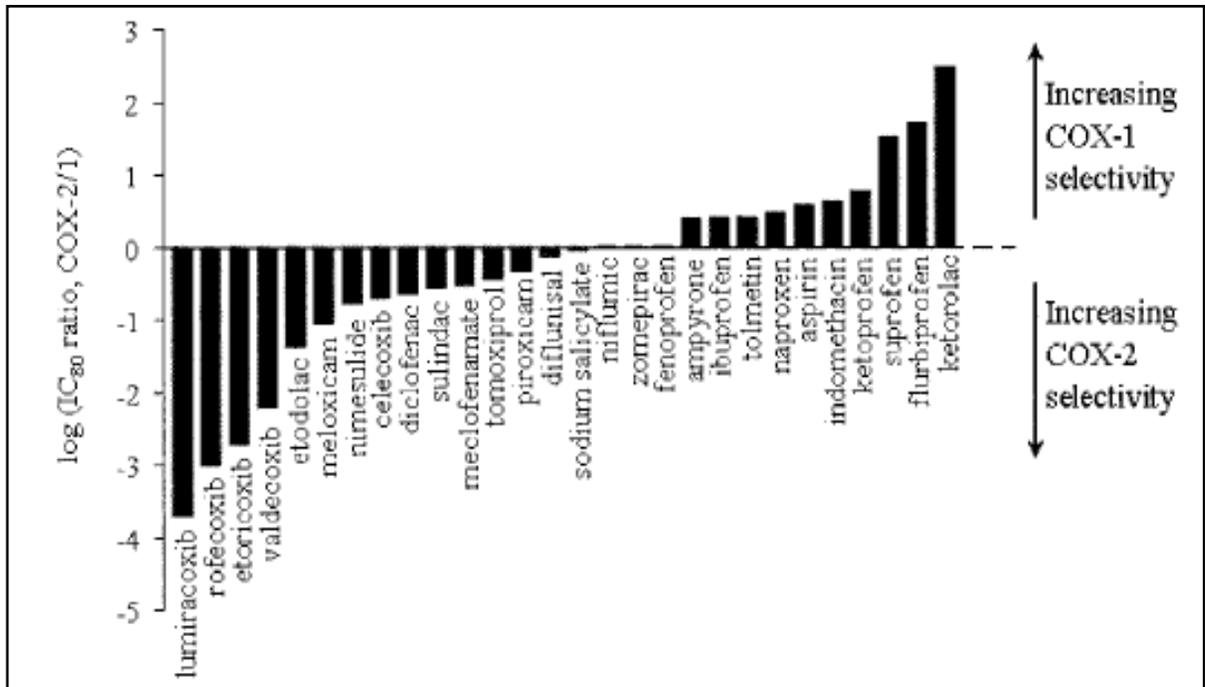


Figura 1. Perfil farmacológico de los inhibidores de COXs, en tejido humano in vitro (9).

Ketorolaco

El ketorolaco es un potente analgésico, pero posee moderada eficacia antiinflamatoria. Puede ser administrado por vía oral y es uno de los pocos AINEs aprobados para su administración parenteral. Esta característica permite una gran oportunidad para ser utilizado en pacientes incapaces de ingerir medicamentos vía oral, principalmente en el manejo del dolor post-operatorio (10). Se administra por vía intramuscular en forma de sal trometamina y es considerado una alternativa más segura que los analgésicos opioides, ya que a diferencia de los opioides, el ketorolaco no genera tolerancia, efectos de abstinencia ni depresión respiratoria. El ketorolaco presenta un alto poder analgésico en comparación con otros AINEs (figura 1). Por ejemplo, éste fármaco es 50 veces más potente que el naproxeno en modelos de analgesia, pero sólo 3 veces más potente que éste en modelos de anti-inflamación. En estudios clínicos se ha demostrado que el uso de 10 a 30 mg de ketorolaco intramuscular es equivalente al uso de 6 a 12 mg de morfina. También se ha comparado la actividad del ketorolaco y la morfina, en cuanto a su rapidez de acción, efectividad analgésica y prolongación del efecto. Los resultados sugieren que la rapidez de acción del ketorolaco es menor a la morfina, sin embargo, su efectividad analgésica es similar y la duración del efecto es mayor (10).

El ketorolaco también puede ser combinado con fármacos opioides como parte de una terapia analgésica. Existen estudios que sugieren que la eficacia analgésica del ketorolaco aumenta al incrementar su dosis, sin embargo, el aumentar la dosis intramuscular de éste medicamento por sobre los 60 mg o 100 a 200 mg vía oral, no mejora el efecto analgésico. El paciente debe recibir siempre la menor dosis efectiva posible con el fin de evitar riesgos de toxicidad (10).

El mecanismo de acción del ketorolaco corresponde a la inhibición de la biosíntesis de PGs. Esto ocurre mediante la inhibición de las enzimas COX-2 y COX-1, presentando principalmente acción sobre la COX-1. La inhibición de la COX-2 permite el efecto analgésico y anti-inflamatorio, sin embargo, la inhibición de la COX-1 genera efectos adversos. El uso prolongado de ketorolaco puede dar origen reacciones adversas tales como: formación de úlcera gástrica, inhibición plaquetaria, posible enlentecimiento en proceso de cicatrización y daño renal agudo, el cual se revierte generalmente al discontinuar el uso del fármaco (10).

Naproxeno

AINE derivado del ácido propiónico. Es un agente antiinflamatorio analgésico y antipirético. Presenta mayor acción anti-inflamatoria que analgésica (11). Sus indicaciones incluyen el tratamiento sintomático de la artritis reumatoide, osteoartritis, espondilitis anquilosante y artritis gotosa aguda; también se utiliza como analgésico en tendinitis y bursitis aguda. Su mecanismo de acción radica en la inhibición de las enzimas COXs, actuando en mayor forma sobre la COX-2 que la COX-1 (10). Después de ser ingerido, el naproxeno se absorbe en su totalidad. Las concentraciones máximas en plasma se obtienen en término de dos a cuatro horas. La absorción puede acelerarse agregando bicarbonato de sodio o reducirse con hidróxido de aluminio. Se une casi por completo (99%) a las proteínas plasmáticas después de dosis terapéuticas normales. Atraviesa placenta y está presente en la leche materna en aproximadamente 1% de la concentración plasmática que presenta la madre. Debido al potencial que existe de reacciones cruzadas de sensibilidad, no deberá administrarse naproxeno sódico a pacientes en quienes el ácido acetilsalicílico u otros anti-inflamatorios/analgésicos no esteroideos hayan provocado manifestaciones alérgicas severas. En pacientes con historia de enfermedad gastrointestinal, el naproxeno deberá darse bajo estrecha supervisión. Las reacciones adversas más comunes son malestar abdominal,

dolor epigástrico, cefalea, náusea, edema periférico moderado, tinnitus y vértigo. Una dosis excesiva del fármaco puede caracterizarse por somnolencia, pirosis, indigestión, náuseas o vómito, disfunción renal, acidosis metabólica, apnea, desorientación (12).

Naltrexona

Es un antagonista no selectivo de los receptores opioides, MOR, DOR y KOR (6), pero tiene mayor afinidad por el receptor MOR, por lo tanto, revierte todos los efectos producidos por los fármacos opioides. Se usa principalmente en el tratamiento por intoxicación inducida por los opioides y el alcohol (13).

Aunque la naltrexona es un antagonista opioide, se ha demostrado experimentalmente que la administración de bajas dosis de esta droga en conjunto con otro analgésico, puede paradójicamente, aumentar el efecto analgésico. Estas evidencias aún se encuentran en estudio (14).

Prazosin

El prazosin corresponde a un fármaco que se emplea en el tratamiento de la hipertensión. Pertenece a la clase de los bloqueadores α -adrenérgicos, los cuales disminuyen la presión mediante la relajación de los vasos sanguíneos. Específicamente, el prazosin es selectivo para los receptores α -1, presentes en

la musculatura lisa vascular. Estos receptores son los responsables de la acción vasoconstrictora de la norepinefrina, la cual eleva la presión sanguínea. La acción vasodilatadora del prazosin se lleva a cabo bloqueando estos receptores (15). Existen estudios en ratones, donde se prueba la capacidad antinociceptiva del prazosin mediante la modulación del sistema adrenérgico. Cuando existe daño neurológico, el sistema nervioso simpático responde atenuando el dolor mediante bloqueadores adrenérgicos o del sistema simpático (4). De esta forma, se ha visto que el prazosin en algunos casos tiene actividad antinociceptiva, lo que indica la modulación del sistema adrenérgico, específicamente mediante los receptores α -1 (16-19).

Interacciones farmacológicas

Cuando dos drogas se administran en forma conjunta, sus efectos pueden ser:

- a. Aditivos:** corresponde a la suma de los efectos que producen cada una de ellas separadamente.
- b. Subaditivo o Antagónico:** corresponde a un efecto menor que la suma de cada agente por separado.
- c. Sinérgico o Supra-activo:** que es un efecto mayor que la suma de los efectos separados de cada droga (20).

La combinación de analgésicos de eficacia probada es una estrategia que permite conseguir más de una meta terapéutica, tales como: aumentar la satisfacción del paciente, simplificar la prescripción, mejorar la eficacia farmacológica sin incrementar los efectos adversos o disminuir efectos adversos sin perder la eficacia de los fármacos utilizados.

En algunos casos, la coadministración de agentes antinociceptivos resulta en efectos sinérgicos, permitiendo reducir sustancialmente las dosis individuales de los medicamentos empleados (7).

De esta manera, el estudio de fármacos con actividad sinérgica resulta ser de gran interés en el campo de la salud, ya que estas asociaciones pueden ser una alternativa viable en el manejo clínico del dolor. Debido a esta razón, en el presente trabajo se evaluará la interacción entre el naproxeno y el ketorolaco, junto a su modulación adrenérgica y opioide, utilizando el modelo de las contorsiones abdominales inducidas por la administración intraperitoneal de ácido acético al 0.6 % en ratones.

3. HIPÓTESIS

La coadministración de ketorolaco y naproxeno produce una interacción antinociceptiva de tipo sinérgica que es modulada por naltrexona y prazosin.

4. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antinociceptiva de ketorolaco y naproxeno en el ensayo algesiométrico experimental de las contorsiones abdominales y estudiar la participación del sistema opioide y adrenérgico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.** Evaluar la antinocicepción inducida por la administración intraperitoneal (i.p.) de ketorolaco y de naproxeno en el test de las contorsiones abdominales.
- 2.** Caracterizar la potencia analgésica de ketorolaco y de naproxeno.
- 3.** Evaluar por isobogramas la interacción de naproxeno y ketorolaco en el test mencionado.
- 4.** Estudiar la participación del sistema opioide y adrenérgico en la actividad de ketorolaco y de naproxeno, en el mismo modelo algesiométrico.

5. MATERIAL Y MÉTODO

Con el fin de llevar a cabo la investigación, se utilizaron ratones de la cepa CF/1 (*Mus musculus*), machos, de 28 a 30 gramos de peso, los cuales fueron aclimatados al ambiente del laboratorio al menos dos horas antes de la experimentación. El procedimiento experimental se realizó de acuerdo al protocolo aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina, el cual indica utilizar para cada ensayo sólo el número de animales necesarios para obtener una significancia estadística, colocar a cada animal solamente una dosis de las drogas y realizar las observaciones de manera randomizada, ciegas y controladas con salino. El tiempo de trabajo fue el menor posible. Los animales fueron sacrificados inmediatamente después del experimento, mediante dislocación cervical.

Para evaluar la actividad antinociceptiva, se efectuó el método algesiométrico agudo del writhing test o test de las contorsiones abdominales. Este test consiste en provocar un estímulo nociceptivo, de tipo químico irritativo al animal manifestado por dolor visceral.

Writhing test o test de las contorsiones abdominales

Este método algesiométrico utiliza como estímulo antinociceptivo la inyección 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 del ácido y durante 5 minutos. Se entiende por contorsión la contracción de la musculatura abdominal, junto con la elongación de las extremidades posteriores (2). El ensayo algesiométrico se realizó al momento del efecto máximo de cada droga, el cual se determinó previamente y resultó ser de 30 minutos. Los resultados se expresaron como porcentaje de antinocicepción (%AN) de acuerdo con la siguiente expresión:

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

Donde:

WE: número de contorsiones de los animales después de la administración del fármaco.

WC: número de contorsiones de los animales inyectados con salino o con glucosa.

Administración de los fármacos

Los animales controles fueron inyectados con solución salina al 0,9% y la evaluación fue idéntica a la de los animales tratados.

Los fármacos analgésicos disueltos en una solución salina e inyectados en un volumen de 10 ml/kg, se administraron por vía i.p. 30 minutos previos al test algesiométrico, para construir una curva dosis-respuesta. Esto se realizó antes y después del pretratamiento de los animales con los fármacos usados para evaluar la modulación opioide o adrenérgica, mediante la administración de 1 mg/kg i.p. de naltrexona y 0,1 mg/kg de prazosin, respectivamente. Estos fármacos se inyectaron 30 minutos antes que la administración de los AINEs.

Fármacos

Los fármacos utilizados fueron: ketorolaco, naproxeno, naltrexona y prazosin.

Evaluación de las interacciones

Para la evaluación de las interacciones se utilizó el método isobolográfico del laboratorio de farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, en la forma descrita por Tallarida y Murray (20), que corresponde a representaciones gráficas de dosis isoefectivas para un efecto determinado, de cada uno de los fármacos utilizados individualmente y combinados. Este tipo de análisis permite conocer si existe interacción, de que tipo y cual es su magnitud.

Para cada combinación de las drogas se determinó la dosis efectiva 50 (DE₅₀) mediante el análisis de regresión lineal de su curva dosis-respuesta. Esta dosis se comparó estadísticamente con la dosis que representa teóricamente la adición simple de efectos, que se obtiene según la siguiente fórmula:

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

Donde:

- R: relación de potencia entre las drogas 1 y 2 administradas por sí solas.
- P1: proporción de la droga 1 en la mezcla.
- P2: proporción de la droga 2 en la mezcla.

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

La región del gráfico donde se ubica el punto experimental determina el tipo de interacción. En el caso de que la interacción sea sinérgica, el punto experimental se ubica bajo la línea de aditividad. En el caso contrario, si resultase una interacción antagónica, el punto se ubicará sobre la línea de aditividad, y por último, si el punto se ubica en un sector cercano a la línea de aditividad, la interacción será de simple aditividad.

Al mismo tiempo, el programa calcula el índice de interacción entre las drogas, de acuerdo a la siguiente fórmula:

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

Si el valor resultante es menor que 1 corresponde a una interacción sinérgica; al resultar igual a 1 la interacción es aditiva, y si es mayor que 1, es antagónica (22).

El análisis estadístico de los datos obtenidos en las curvas log dosis-respuestas se realizó mediante regresión lineal por cuadrados mínimos para determinar las DE_{50} . Los parámetros estadísticos relativos a los isobogramas, se calcularon con un programa computacional del laboratorio, y la significación estadística se determinó por análisis de varianza y pruebas t de Student, considerando la significación a un nivel del 5% ($p < 0,05$) (21).

6. RESULTADOS

Grupo control tratado con solución salina

El pretratamiento de los ratones con la administración de 10 ml/kg de solución salina fisiológica, vía i.p. 30 minutos antes del ensayo algesiométrico, produjo 18.5 ± 1.3 contorsiones (n =24).

Grupo tratado con ketorolaco

En el writhing test, la administración i.p de ketorolaco produjo una actividad antinociceptiva de naturaleza dosis-dependiente. La DE_{50} del ketorolaco resultó ser de $2,9 \pm 0,2$ mg/kg.

Grupo tratado con naproxeno

En el writhing test, la administración i.p de naproxeno produjo una actividad antinociceptiva de naturaleza dosis-dependiente. La DE_{50} del naproxeno resultó ser de $46,4 \pm 3,9$ mg/kg.

Paralelismo de las curvas dosis-respuesta de ketorolaco y de naproxeno

El análisis estadístico de las curvas dosis-respuesta de ketorolaco y naproxeno, demostró que ellas son estadísticamente paralelas como se muestra en la figura 2.

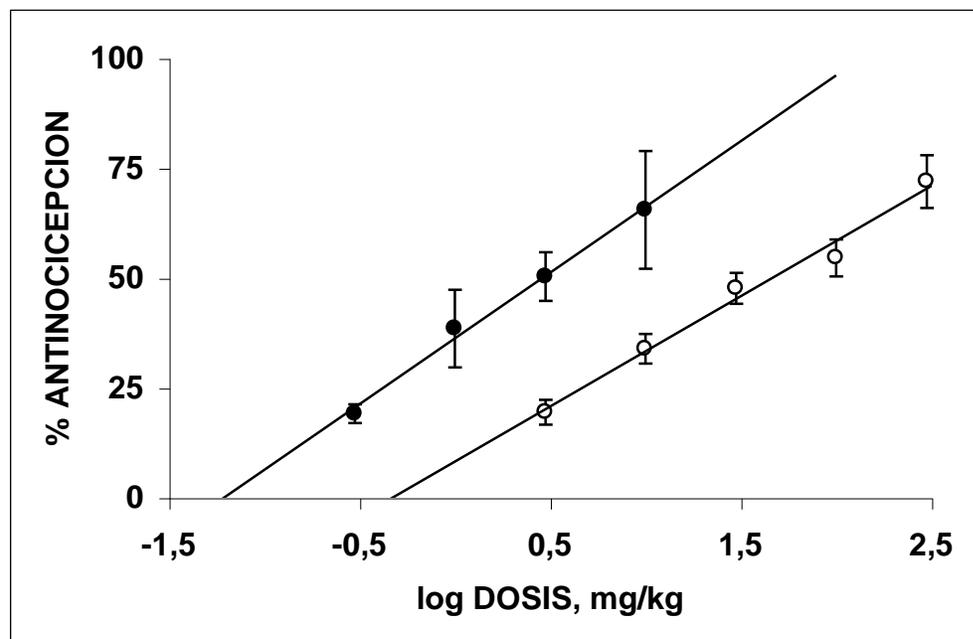


Figura 2. Curvas dosis-respuesta de ketorolaco (●) y de naproxeno (○) en el ensayo algiesiométrico de las contorsiones abdominales inducidas por ácido acético en ratones. Cada punto representa el promedio \pm SEM de al menos 6 animales.

Grupos tratados con ketorolaco o naproxeno y naltrexona.

El pretratamiento de los animales con 1 mg/kg i.p. de naltrexona, no produjo cambio en la actividad antinociceptiva de la DE_{50} del ketorolaco ($p > 0.05$), como tampoco en la del naproxeno ($p > 0.05$). Estos resultados se observan en la figura 3.

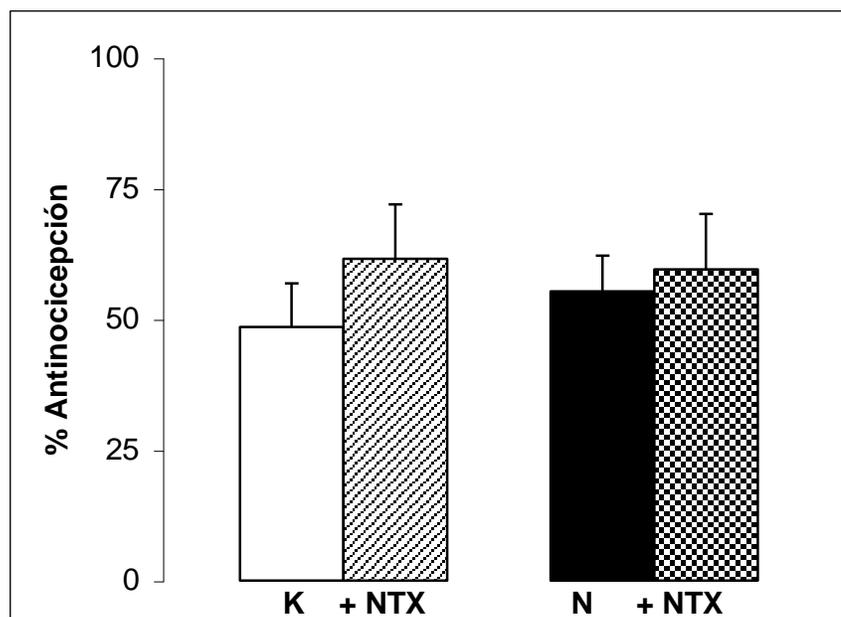


Figura 3. Histograma del efecto de naltrexona (NTX) sobre la actividad analgésica de las DE_{50} 's de ketorolaco (K) y de naproxeno (N) en el test de las contorsiones abdominales.

Grupos tratados con ketorolaco o naproxeno y prazosin

Al pretratar con 0.1 mg/kg, i.p. de prazosin, los animales muestran un significativo aumento de la antinocicepción inducida por la DE₅₀ tanto de ketorolaco como de naproxeno ($p < 0.05$). Ver figura 4.

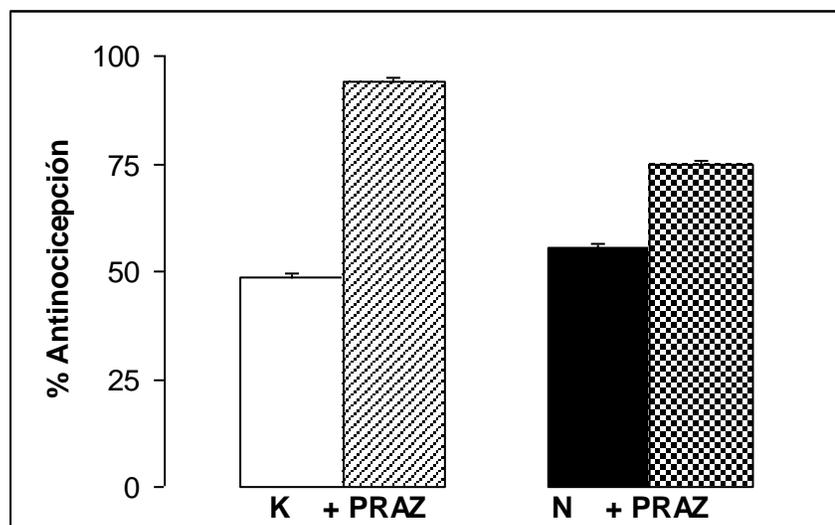


Figura 4. Histograma del efecto de prazosin (PRAZ) sobre la actividad analgésica de las DE₅₀'s de ketorolaco (K) y de naproxeno (N) en el test de las contorsiones abdominales. Ambos resultados son significativos ($p < 0.05$).

Análisis isoblográfico de la combinación ketorolaco y naproxeno

La coadministración de las fracciones: 1/2, 1/4, 1/8, y 1/16 de las DE_{50} de ketorolaco con naproxeno, produce una interacción antinociceptiva, que al ser evaluada isoblográficamente, resultó ser de naturaleza sinérgica o supraaditiva, como se observa en la Figura 5. Además, al calcular el índice de interacción, se confirma la naturaleza de esta interacción, ya que resultó ser de 0,297.

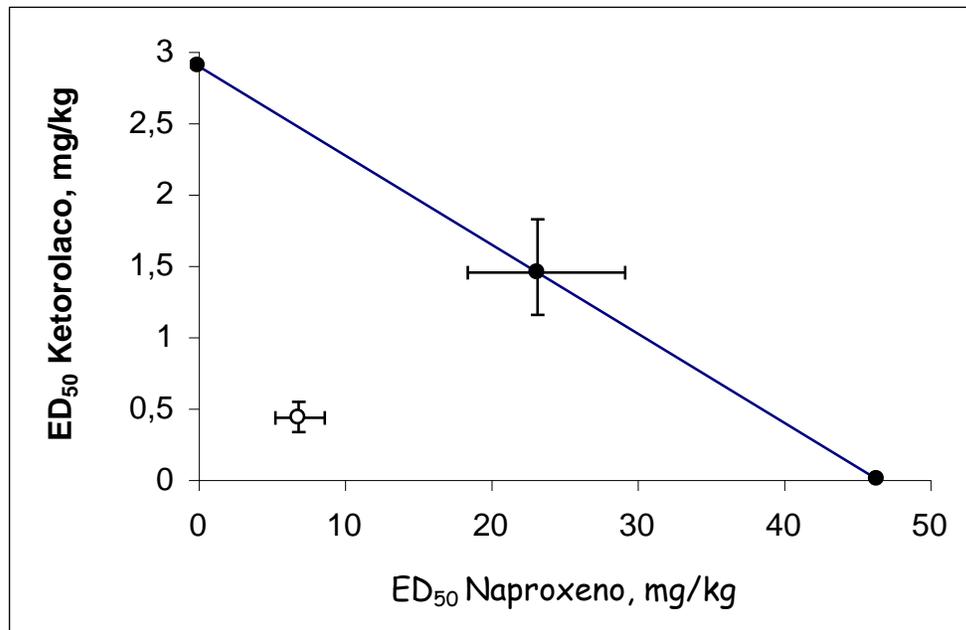


Figura 5. Isoblograma de la interacción analgésica entre ketorolaco y naproxeno. ● punto de aditividad teórica de la mezcla y ○ punto experimental. Las líneas horizontales y verticales alrededor de cada punto representan los respectivos LC al 95 %.

Por otro lado, el pretratamiento con 1 mg/kg i.p. de naltrexona, no produce cambios significativos en la naturaleza de la interacción antinociceptiva de la mezcla, como tampoco del índice de interacción, que resultó ser de 0.284. Ver figura 6.

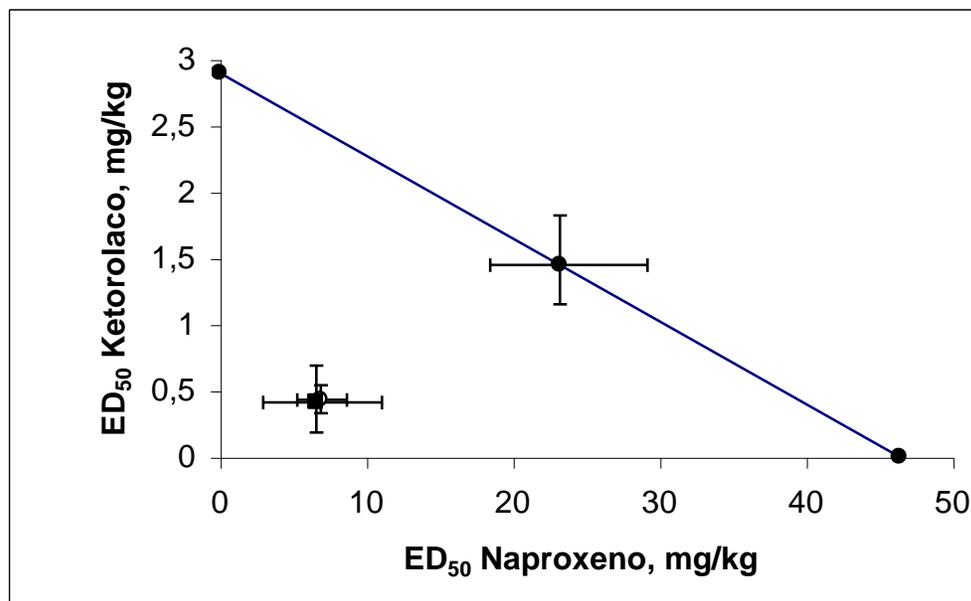


Figura 6. Isoblograma de la interacción analgésica entre ketorolaco y naproxeno en presencia del antagonista opioide naltrexona. ● punto de aditividad teórica de la mezcla; ○ punto experimental y ■ con el pretratamiento de los animales con naltrexona. Las líneas horizontales y verticales alrededor de cada punto representan los respectivos LC al 95 %.

Además, se administró la mezcla de AINEs con un tratamiento previo con prazosin. En este caso, prazosin incrementa en forma significativa la sinergia de la combinación y simultáneamente el índice de interacción varió a 0,056, valor que al ser comparado con los resultados sin la administración previa de prazosin, es estadísticamente significativo, lo que indica una fuerte interacción. Esto se observa en la figura 7.

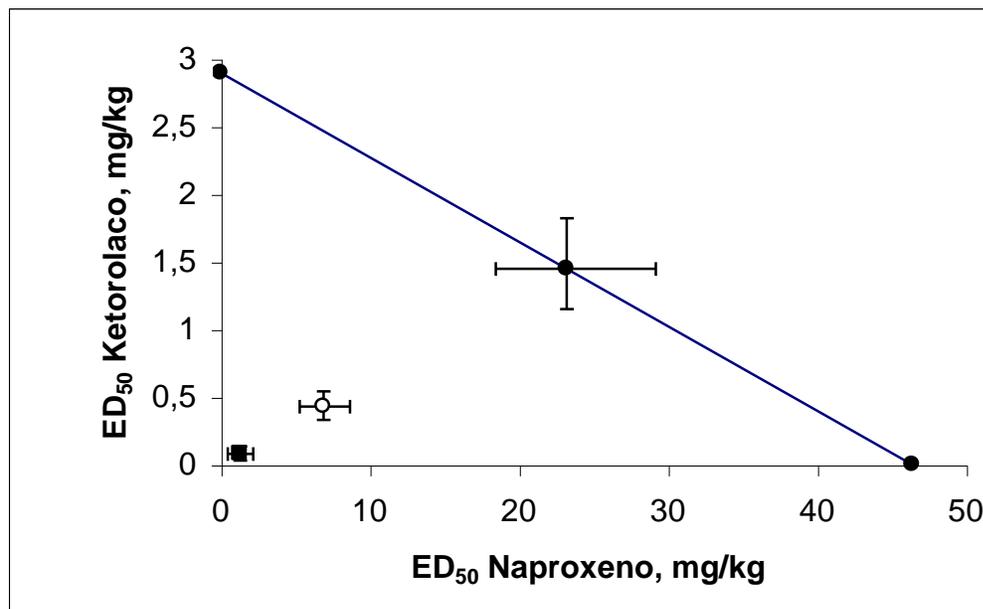


Figura 7. Isoblograma de la interacción analgésica entre ketorolaco y naproxeno en presencia de prazosin. ● punto de aditividad teórica de la mezcla; ○ punto experimental y ■ con el pretratamiento de los animales con prazosin. Las líneas horizontales y verticales alrededor de cada punto representan los respectivos LC al 95 %.

7. DISCUSIÓN

El presente trabajo demuestra que la administración de ketorolaco y naproxeno vía i.p producen actividad antinociceptiva dosis dependiente en el test de las contorsiones abdominales. Además, el ketorolaco presenta una potencia relativa 16 veces mayor que el naproxeno, de acuerdo a:

$$\text{DE}_{50} \text{ del naproxeno} / \text{DE}_{50} \text{ del ketorolaco} = \text{potencia relativa}$$

El paralelismo de las curvas dosis-respuesta de ketorolaco y naproxeno indica que ambos AINEs estarían actuando mediante la activación de vías comunes de transmisión nociceptiva, ya sea a nivel central o periférico. Esta característica sugiere que existe un mecanismo de acción similar, que estaría relacionado con la inhibición de las enzimas COXs, aunque con diferente selectividad, ya que presentan potencia relativa diferente. Ambos analgésicos inhiben tanto a la COX-1 como a la COX-2, sin embargo el ketorolaco inhibe en mayor cantidad a la COX-1 que el naproxeno (9).

La sinergia obtenida con el análisis isoblográfico de la asociación ketorolaco con naproxeno, refuerza la diferente capacidad inhibitoria de las COXs para cada AINE (9), ya que ha sido establecido que si 2 fármacos poseen el mismo efecto pero actúan con diferente mecanismo, es posible obtener sinergia (9).

La ausencia de efecto del antagonista opioide naltrexona, en la sinergia obtenida con la mezcla de ketorolaco y naproxeno es indicativo de la escasa participación del sistema opioide en dicha combinación. Esta acción es confirmada por la carencia de efecto de la naltrexona en la actividad antinociceptiva desarrollada por cada uno de los fármacos de la combinación en forma individual. Estos resultados no son concordantes con los estudios bibliográficos que indican que los antagonistas opioides pueden incrementar la actividad analgésica (14). Las diferencias entre estos estudios podrían radicar, en los protocolos experimentales, ya sea en dosis, vía de administración, ensayos algesiométricos, tipo de antagonista, etc.

La participación del sistema adrenérgico, tanto en la acción analgésica de ketorolaco como de naproxeno y de la combinación de ellos, está representada por un aumento significativo del efecto sinérgico. Los hallazgos obtenidos son concordantes con estudios previos que demuestran que los antagonistas α_1 , como el prazosin, son capaces de incrementar los efectos analgésicos en otros ensayos y con diferentes protocolos experimentales (16-19).

En conclusión, el presente trabajo demuestra la existencia de sinergia antinociceptiva entre ketorolaco y naproxeno, la cual es independiente de la modulación opioide, pero es incrementada por el sistema adrenérgico.

8. CONCLUSIONES

- El ketorolaco y el naproxeno, producen antinocicepción dosis-dependiente al ser administrado por vía i.p en el test de las contorsiones abdominales.
- Las curvas dosis-respuesta de ketorolaco y naproxeno son estadísticamente paralelas.
- La administración conjunta, vía i.p. de naproxeno con ketorolaco, produce una interacción de tipo sinérgica o supraditiva en el mismo ensayo algiesiométrico.
- El pretratamiento con naltrexona no produce cambios significativos en la naturaleza de la interacción antinociceptiva de la mezcla de ketorolaco con naproxeno.
- El pretratamiento con el antagonista α_{1A} -adrenérgico, prazosin, incrementa en forma significativa la sinergia de la combinación de los AINEs estudiados en el presente trabajo.

9. SUGERENCIAS

- A partir de los resultados obtenidos del presente trabajo, se sugiere el estudio de la coadministración de otros AINEs en presencia de prazosin.
- Con el fin de complementar el estudio sinérgico entre el ketorolaco y el naproxeno, se sugiere estudiar otras vías de modulación de la actividad analgésica de la mezcla, como son los sistemas colinérgico y serotoninérgico.

10. RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó la actividad antinociceptiva de los AINEs ketorolaco y naproxeno y de su combinación, en un modelo experimental de dolor agudo: el writhing test o test de las contorsiones abdominales. El ketorolaco y el naproxeno, administrados en forma independiente, producen actividad analgésica dosis-dependiente, siendo de mayor potencia el ketorolaco. La administración conjunta, de ambos AINEs, demostró que se produce una interacción de tipo sinérgica o supraditiva. Naltrexona, antagonista no selectivo de los receptores opioides, no influye significativamente en el efecto antinociceptivo sinérgico, tanto en cada AINE individualmente como en la combinación, lo que excluiría una participación del sistema opioide en el mecanismo de los fármacos. Además, prazosin, antagonista α_1 -adrenérgico, incrementó significativamente en el efecto antinociceptivo de cada AINE por separado, como también de la mezcla. Esto puede indicar que existe una modulación de tipo α_1 -adrenérgica en la actividad analgésica de estos fármacos. Los resultados de este trabajo permiten sugerir proyecciones clínicas terapéuticas, ya que al obtener sinergia con la combinación de los AINEs, se aumenta el efecto analgésico y a su vez se disminuyen las reacciones adversas de cada fármaco constitutivo de la combinación.

11. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Bonica, J.J. "The management of pain". 2 ed. Philadelphia, US, Lea & Febiger. 1990.
- (2) Le Bars D., Gozariu M., Cadden S. W. "Animal Models of Nociception". *Pharmacol. Rev.* 53: 597-652. 2001.
- (3) Fürst S. "Transmitters involved in antinociception in the spinal cord." *Brain Res. Bull.* 48(2):129-141. 1999.
- (4) Sawynok J. "Topical and Peripherally Acting Analgesics". *Pharmacol. Rev.* 55:1-20. 2003.
- (5) Beaver W.T. "Review of the analgesic efficacy of ibuprofen". *Int. J. Pract. Suppl.* 135:13-7. 2003
- (6) Waldhoer M., Bartlett S.E., Whistler J.L. "Opioid receptors". *Annu. Rev. Biochem.* 73: 953-990. 2004.
- (7) Miranda H. F., Puig M.M., Prieto J.C., Pinardi G. "Synergism between paracetamol and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental acute pain". *Pain.* 121:22-28. 2006.
- (8) Chandrasekharan N.V. et al. "COX-3, a ciclooxigenase -1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure and expression". *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99:13926-13931. 2002.

- (9) Warner T., Mitchell J. "Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic". *The FASEB Journal*. 18: 790-804. 2004.
- (10) Macario A., Lipman A.G. "Ketorolac in the Era of Cyclo-Oxygenase-2 Selective Nonsteroidal Anti-inflammatory drugs: A Systematic Review of Efficacy, Side Effects, and Regulatory Issues". *Pain*. 2: 336-351. 2001
- (11) Jeske A.H. "COX-2 inhibitors and dental pain control". *J. Gt. Houst. Dent. Soc.* 71(4):39-40. 1999.
- (12) Ciancio S., Bourgault P. "Farmacología clínica para Odontólogos". 3ª edición. Ed. El manual moderno, S.A. de C.V. México. 1990. p 83- 104.
- (13) Bodnar RJ, Klein G. E. "Endogenous opiate and behaviour". *Peptides*. 26: 2629-2711.2005.
- (14) Gourlay G.F."Advances in opioid pharmacology". *Support care cancer*. (13):153-159. 2005.
- (15) Kim S.K. et al. "Effects of α 1 and α 2-adrenoreceptor antagonists on cold allodynia in a rat model of neuropathic pain". *Brain Res*.1039: 207-210. 2005.
- (16) Zarridast M., Sahebgharani M. "Effect of Alpha-Adrenoceptor Agonists and Antagonists on Imipramine-Induced Antinociception in the Rat Formalin Test". *Pharmacol*. 64:201-207. 2002.
- (17) Tanabe M. et al. "Role of descending noradrenergic system and spinal α 2-adrenergic receptors in the effects of gabapentin on thermal and mechanical

nociception after partial nerve injury in the mouse". Br. J. Pharmacol. 144: 703-714. 2005.

(18) Abdel-Salam O.M.E. "Antinociceptive and behavioural effects of ribavirin in mice". Pharmacol. Biochem. Behav.83: 230-238. 2006.

(19) Sahebgharani M., Hossein-Abad AA., Zarridast M.R. "On the mechanism of carbamazepine-induced antinociception in the formalin test". Int.J.Neurosci. 116(9): 1097-1113. 2006.

(20) Tallarida R. J., Porreca F., Cowan, A. "A statistical analysis of drug-drug and site-site interactions with isobolograms". Life Sci. 45:947-961. 1989.

(21) Ridgway D. "Analgesics for acute pain: Meeting the United States Food and Drug Administration's requirements for proof of efficacy". Clin. J. Pain. 2004 20 (3):123-32.2004.

(22) Miranda HF, Prieto JC, Pinardi G. "Spinal synergy between nonselective cyclooxygenase inhibitors and morphine antinociception in mice". Brain Res. 1049: 165-270. 2005.